

APLICACIONES Y PRÁCTICA  
DE LA MEDICINA TRANSFUSIONAL  
Tomo I



# Aplicaciones y Práctica de la Medicina Transfusional

## Primera edición

### Tomo I

#### **ARMANDO CORTÉS BUELVAS, MD**

*Patólogo Clínico, Profesor Titular y Jefe del Departamento de Patología, Escuela de Medicina, Universidad del Valle. Director Hemocentro del Valle del Cauca. Director Servicio de Transfusión Hospital Universitario del Valle. Cali, Colombia.*

#### **GRACIELA LEÓN DE GONZÁLEZ, MD**

*Hematóloga. Jefe del Banco de Sangre del Instituto de Diagnóstico, Caracas, Venezuela. Médica Consultiva del Banco Municipal del Distrito Capital. Colaboradora Docente del Postgrado de Hematología de la Universidad Central de Venezuela. Coordinadora del Programa de Educación Continuada en Medicina Transfusional de la Sociedad Venezolana de Hematología. Caracas, Venezuela.*

#### **MANUEL MUÑOZ GÓMEZ, MD**

*Profesor de Medicina Transfusional, Facultad de Medicina, Universidad de Málaga, Málaga (España). GIEMSA (Grupo Internacional de Estudios Multidisciplinarios sobre Autotransfusión). AWGE (Anemia Working Group España). NATA (Network for the Advancement of Transfusion Alternatives).*

#### **SERGIO JARAMILLO VELÁSQUEZ, MD**

*Patólogo Clínico. Director de Laboratorio Clínico y Banco de Sangre del Hospital Pablo Tobón Uribe. Medellín, Colombia.*

**GCIAMT**

*Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional*



Santiago de Cali, Colombia, diciembre de 2012

Aplicaciones y práctica de la medicina transfusional. Tomo I / autor editor Armando Cortés Buelvas ... [et al.]. -- Cali: Armando Cortés Buelvas, 2012.  
716 p.; 21.5 cm x 28 cm.  
ISBN 978-958-46-1552-7 (Obra completa)  
ISBN 978-958-46-1553-4 (Tomo I)  
1. Transfusión de sangre. 2. Sangre – Análisis. 3. Práctica médica.  
I. Cortés Buelvas, Armando, ed.  
612.1 cd 21 ed.  
A1377862  
CEP-Banco de la República-Biblioteca Luis Ángel Arango



APLICACIONES Y PRÁCTICA  
DE LA MEDICINA TRANSFUSIONAL  
Primera edición  
Tomo I

© Armando Daniel Cortés Buelvas

ISBN Obra completa: 978-958-46-1552-7

ISBN Tomo I: 978-958-46-1553-4

ISBN Tomo II: 978-958-46-1554-1

**Director del libro y compilador:**

Armando Cortés Buelvas

**Coordinación editorial:**

Graciela León de González

Manuel Muñoz Gómez

Sergio Jaramillo Velásquez

**Diagramación:**

Departamento de Arte y Diseño de Feriva

Ilustración Sección I:

La primera transfusión de sangre humana.

15 de junio de 1667. Janbaptiste Denys.

[www.historiadelmundomundial.com](http://www.historiadelmundomundial.com)

Ilustración Sección II:

Transfusión de sangre persona a persona en 1882.

[www.quo.es](http://www.quo.es)

Ilustración Sección III:

Transfusión de sangre persona a persona.

[sanafac.com.ar](http://sanafac.com.ar)

Ilustración Sección IV:

Pequeña historia de las transfusiones de sangre. Siglo XVII.

[atrevete.blogspot.com](http://atrevete.blogspot.com)

Ilustración Sección V:

Aparato de Tzanck para transfusión de sangre.

[historiadelamedicina.org](http://historiadelamedicina.org)

Impreso en los talleres gráficos

de Impresora Feriva S.A.

Calle 18 No. 3-33

PBX: 524 9009

[Feriva@feriva.com](mailto:Feriva@feriva.com)

[www.feriva.com](http://www.feriva.com)

Cali, Colombia

#### **Junta Directiva GCIAMT**

Presidente: Dr. Oscar Torres

Vicepresidenta: Dra. Paula Castellanos

Secretaria: Dra. Nelly Vásquez de Martínez

Tesorero: Dr. Alejandro Chiera

Vocales: EBC Julio Martínez

Dra. Ina Pérez

Dra. María García

Dra. Regina Bolaños

Dr. Armando Cortés

Dr. René Cárdenas

Dr. José Ramiro Cruz

#### **Comité de Educación Continuada**

Coordinador: Dr. Armando Cortés *Colombia*

Lic. José Antonio Paredes Arrascue *Perú*

Dra. Ina Pérez H. *Perú*

Dra. Paula Castellanos *Guatemala*

Dr. José Magariños *Argentina*

Dr. Sergio Jaramillo *Colombia*

Dra. Graciela León *Venezuela*

Dr. Oscar Alberto López *Argentina*

La mención de productos o equipos específicos por los colaboradores de esta publicación no representa un aval del GCIAMT, ni indica preferencias por esos productos sobre otros similares.

Prohibida la reproducción total o parcial de esta obra, por cualquier medio, sin autorización escrita del editor.

## Comité Científico

- Armando Cortés Buelvas, MD.** *Patólogo Clínico. Profesor Titular y Jefe del Departamento de Patología, Escuela de Medicina, Universidad del Valle. Director Hemocentro del Valle del Cauca. Director Servicio de Transfusión Hospital Universitario del Valle. Cali, Colombia.*
- Graciela León de González, MD.** *Hematóloga. Jefe del Banco de Sangre del Instituto de Diagnóstico, Caracas Venezuela. Médica Consultiva del Banco Municipal del Distrito Capital. Colaboradora Docente del Postgrado de Hematología de la Universidad Central de Venezuela. Coordinadora del Programa de Educación Continuada en Medicina Transfusional de la Sociedad Venezolana de Hematología. Caracas, Venezuela.*
- Jesús Linares G, MD.** *Hematólogo. Ex-Director del Banco Metropolitano de Sangre, Caracas, Venezuela. Asesor Permanente. Ex-Profesor y Coordinador del Postgrado de Hematología, Universidad Central de Venezuela, Caracas. Fundador, Ex-Presidente y Miembro Honorario del Grupo Cooperativo Ibero Americano de Medicina Transfusional.*
- José Ramiro Cruz, D.Sc.** *Consultor Privado. Organización, Gerencia y Funcionamiento de Sistemas de Sangre. Estados Unidos de América.*
- Manuel Muñoz Gómez, MD.** *Profesor de Medicina Transfusional, Facultad de Medicina, Universidad de Málaga, Málaga, España. GIEMSA (Grupo Internacional de Estudios Multidisciplinarios sobre Autotransfusión). AWGE (Anemia Working Group España). NATA (Network for the Advancement of Transfusion Alternatives).*
- Sergio Jaramillo Velásquez, MD.** *Patólogo Clínico. Director de Laboratorio Clínico y Banco de Sangre Hospital Pablo Tobón Uribe. Medellín, Colombia.*



## Autores y coautores de capítulos

**Alberto M. Borobia Pérez, MD.** Servicio de Urgencias Generales. Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Universitario La Paz, Madrid. IdiPAZ, España.

**Albert Soley Garasa.** Banc de Sang i Teixits. Hospital Universitari Joan XXIII, Tarragona, España.

**Alejandro Óscar Chiera.** Magíster en Biología Molecular e Ingeniería Genética; Jefe del Servicio de Coordinación, Centro Regional La Plata del Instituto de Hemoterapia de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.

**Alexander J. Indrikovs, MD, MBA.** Profesor de Patología y Ciencia de Laboratorio Clínico. Director del Banco de Sangre de la Universidad de Texas en Galveston, USA.

**Alfredo Radillo González.** Hospital General Naval de Alta Especialidad, México.

**Amadeo Sáez-Alquezar.** Asesor científico del Programa Nacional de Control de Calidad de la Sociedad Brasileña de Análisis Clínicos. Consultor de OMS para tamizaje de Chagas en Bancos de Sangre, Sao Paulo, Brasil.

**Amalia Guadalupe Bravo Lindoro.** Hematóloga-pediatra. Subdirectora de Servicios Auxiliares de Diagnóstico y Tratamiento del Instituto Nacional de Pediatría. México DF.

**Ana del Pozo, MD.** Hematóloga y Especialista en Hemoterapia e Inmunohematología. Consultora del Servicio de Hemoterapia y del Banco Público de Sangre de Cordón Umbilical Garrahan.

Coordinadora de educación en seguridad sanguínea del Programa Nacional de Referencia y Contrarreferencia del Hospital Garrahan, Argentina.

**Ana Ruiz.** Servicio de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor, Hospital Clínic, Barcelona, España.

**Antonio Puppo Moreno.** Servicio de Cuidados Críticos y Urgencias. Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España.

**Arfilio A. Mora C.** Profesor de Medicina Transfusional. Escuela de Medicina. Extensión Táchira Universidad Los Andes, Venezuela. Hematólogo Adjunto Banco de Sangre, Hospital Central. San Cristóbal, Venezuela.

**Armando Cortés Buelvas, MD.** Patólogo Clínico. Profesor Titular y Jefe del Departamento de Patología, Escuela de Medicina, Universidad del Valle, Cali. Director Hemocentro del Valle del Cauca, Cali. Director Servicio de Transfusión Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia.

**Armando Luis González Treasure.** Médico Especialista en Hematología (Cuba), Epidemiología e Investigación en Salud. Máster en Salud Pública. Colaborador Docente del Postgrado en Salud. Universidad Autónoma Juan Misael Saracho. Tarija, Estado Plurinacional de Bolivia.

**Arturo Campos Garriges.** Facultativo Especialista de Área. Servicio de Hematología y Hemoterapia, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Vic-

toría, Málaga, España. GIEMSA (Grupo Internacional de Estudios Multidisciplinares sobre Autotransfusión).

**Arturo Pereira Saavedra.** Hematólogo Consultor Senior. Servicio de Hemoterapia y Hemostasia Hospital Clínico. Barcelona, España.

**Asunción Montero Pardillo.** Diplomada en Enfermería. Banc de Sang i Teixits. Sant Pau. Barcelona, España.

**Bernardo Camacho Rodríguez, MD.** Director Hemocentro Distrital, Bogotá, Colombia.

**Carlos Areal Méndez.** Médico Especialista en Hematología y Hemoterapia. Centro de Transfusión de Galicia. Santiago de Compostela, España.

**Carlos Arturo Vallejo Ríos.** Médico Especialista en Medicina de Laboratorio. Especialista en Gerencia de la Salud Pública. Jefe Bancos de Sangre y Tejidos. Hospital Universitario de San Vicente Fundación Medellín, Colombia.

**Carlos Mendoza Gaviria.** Médico Especialista en Medicina Interna y en Hematología, Jefe de la Unidad Académica de Histología. Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

**Carmen Canals.** Facultativa Adjunta. Laboratorio de Inmunohematología. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España.

**Carmenza Macía Mejía.** Médica Patóloga Clínica. Directora Banco de Sangre y Servicio Transfusional. Fundación Valle del Lili Cali-Colombia. Profesora Titular Clínica Universidad ICESI, Docente adscrita. Facultad de Medicina. Universidad CES. Cali, Colombia.

**Catalina Massa.** Magíster en Ciencias Químicas y en Ingeniería en Calidad. Directora Ejecutiva. Laboratorio de Hemoderivados. Universidad Nacional de Córdoba. República Argentina.

**Celso Bianco, MD.** Especialista en Medicina Transfusional y Banco de Sangre. Consultor Privado. Bethesda Maryland; Estados Unidos de América.

**Claudia Fabiana Bastos.** División de Hemoterapia e Inmunohematología. Hospital de Clínicas "José de San Martín". UBA. Argentina.

**Claudia Herrera Garbarini.** Subdirectora Médica Centro de Sangre Concepción, Chile.

**Claudia Rocha Ferreira, MS.** Universidad de Texas. Galveston, USA.

**Cristina Navarrete, PHD, FRCPATH.** Directora Nacional de los Servicios de Histocompatibilidad e inmunogenética, National Health Service Blood and Transplant, England Reino Unido. Profesora Asociada en Inmunología, Department of Immunology and Molecular Pathology, University College London, Reino Unido.

**Cristina Sanz Marcelo.** Hematóloga Consultora Servicio de Hemoterapia y Hemostasia. Hospital Clínico. Barcelona, España.

**Christiane Saltiel.** Especialista en Medicina Interna y en Hematología, Departamento de Clínicas Hematológicas, Banco Metropolitano de Sangre, Caracas, Venezuela.

**Daniel Ariza Villanueva.** Facultativo Especialista de Área. Servicio de Anestesiología y Reanimación, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria, Málaga, España. GIEMSA (Grupo



Internacional de Estudios Multidisciplinares sobre Autotransfusión).

**Dinora Virginia Aguilar Escobar.** Hematóloga Pediatra. Jefe de Departamento de Banco de Sangre. Instituto Nacional de Pediatría. México DF.

**Eduardo Muñiz Díaz.** Jefe de la División de Inmunohematología. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España. Presidente de la Comisión de Hemovigilancia de Cataluña, España. Asesor del Ministerio de Sanidad (Madrid) para la Hemovigilancia en Europa. Miembro del "Working group on definitions" de la Comisión Europea, Bruselas, Bélgica.

**Eduardo Yaksic.** Responsable Gestión de Procesos Centro de Sangre, Concepción, Chile.

**Elena Franco, MD.** Especialista en Hematología y Hemoterapia. Magíster en Gestión Sanitaria. Coordinadora del Programa de Control de Calidad Externo en Inmunohematología de la OPS, España.

**Elvira Bisbe.** Servicio de Anestesiología y Reanimación del Hospital Universitario del Mar. Parc de Salut Mar, Barcelona, España. AWGE (Anemia Working Group España).

**Enric Contreras Barbeta.** Director Territorial de Tarragona. Banc de Sang i Teixits. Hospital Universitari Joan XXIII, Tarragona. Profesor de la Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, España.

**Enrique Gómez Morales, FACP, MASS.** Hospital General Naval de Alta Especialidad. Transfusion & Regenerative Medicine Consulting SC. Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, México.

**Esteban Fernández Hinojosa.** Servicio de Cuidados Críticos y Urgencias. Hospital Universitario "Virgen del Rocío", Sevilla, España.

**Eva Delia Calderón Garcidueñas.** Hospital General Naval de Alta Especialidad. Transfusion & Regenerative Medicine Consulting SC. Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, México.

**Fernando Gomollón.** Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Clínico Lozano Blesa, Zaragoza, España.

**Fernando Martínez, MD.** Profesor Asistente, División de Patología y Medicina de Laboratorio, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, USA.

**Graciela León de González.** Médica Especialista en Hematología, Jefe del Banco de Sangre del Instituto de Diagnóstico, Caracas, Venezuela. Médica Consultiva del Banco Municipal del Distrito Capital, Caracas, Venezuela. Colaboradora Docente del Postgrado de Hematología de la Universidad Central de Venezuela. Coordinadora del Programa de Educación Continuada en Medicina Transfusional de la Sociedad Venezolana de Hematología, Venezuela.

**Gregorio Ángel Martín Henao, MD, PhD.** Banco de Sangre y Tejidos. Barcelona. España.

**Ina Pérez.** Patóloga Clínica. Facultativa del Servicio de Banco de Sangre y Medicina Transfusional del Hospital Edgardo Rebagliati Martins, Seguro Social Peruano. Lima, Perú.

**Irene Oliver Vila.** XCELIA. División de Terapias Avanzadas. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España.

**Jacqueline Juana Perea Ronco, MD, MSc.** Directora del Departamento de Laboratorio Clínico, Patología y Servicio Transfusional. Fundación Clínica Shaio. Profesora Adscrita Módulo Hemoterapia, Postgrado Medicina Crítica y Cuidado Intensivo Universidad de la Sabana. Profesora Asistente, Patología Universidad El Bosque. Bogotá, Colombia.

**Joan Ramón Grífols Ronda.** Banc de Sang i Teixits. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, España.

**Joaquim Vives Armengol.** XCELIA. División de Terapias Avanzadas. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España.

**Jorge Cuenca Espierrez.** Facultativo Especialista de Área. Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, España. GIEMSA (Grupo Internacional de Estudios Multidisciplinares sobre Autotransfusión). AWGE (Anemia Working Group España).

**José A. Páramo.** Catedrático de Hematología. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Co-Director Servicio de Hematología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona, España.

**José Antonio García Erce.** Facultativo Especialista de Área. Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital San Jorge, Huesca, España. GIEMSA (Grupo Internacional de Estudios Multidisciplinares sobre Autotransfusión). AWGE (Anemia Working Group España).

**José García Arroba.** Banc de Sang i Teixits. Hospital Universitari Joan XXIII, Tarragona, España.

**José Luis Salazar Bailón.** Hematólogo-pediatra. Médico adscrito al Banco de

Sangre. Instituto Nacional de Pediatría. México DF.

**José Ramiro Cruz, D.Sc.** Consultor Privado, Organización, Gerencia y Funcionamiento de Sistemas de Sangre. Estados Unidos de América.

**José Ramón López Ezquerdo.** XCELIA. División de Terapias Avanzadas. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España

**Juan García López.** Director de XCELIA. División de Terapias Avanzadas. Banc de Sang i Teixits. Cátedra de Medicina Transfusional y Terapia Celular y Tisular. Universidad Autónoma. Barcelona. España.

**Julia Rodríguez Villanueva.** Directora Técnica de la Fundación CAT. Jefe de Servicio de Transfusión CHOP Pontevedra. España.

**Laia Ramiro Infante.** Banc de Sang i Teixits. Hospital Universitari Joan XXIII. Tarragona, España.

**Lidiette Salazar Palma.** Microbióloga Hematóloga. Jefe Laboratorio Hematología. Hospital Calderón Guardia. San José, Costa Rica,

**Luis Fernando Barrios Flores.** Derecho Administrativo, Facultad de Derecho, Universidad de Alicante. Alicante, España.

**Luis Fernando Palomino Quintana, MD.** Médico Cirujano. Presidente Fundación para el Avance de las Alternativas a la Transfusión de Sangre. Bogotá, Colombia.

**Luis Ledesma.** Ingeniero de Comunicaciones y Director de Tecnoquality Consulting, España.

**Luis Moltó.** Servicio de Anestesiología y Reanimación del Hospital Universi-

tario del Mar. Parc de Salut Mar, Barcelona, España.

**Luis R. Larrea González.** Doctor en Medicina y Cirugía. Médico Especialista en Hematología y Hemoterapia. Jefe del Servicio de Fraccionamiento y Criopreservación. Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana. Valencia, España.

**Manuel Muñoz Gardeta.** Licenciado en Criminología, Málaga, España. GIEMSA (Grupo Internacional de Estudios Multidisciplinares sobre Autotransfusión).

**Manuel Muñoz Gómez.** Profesor de Medicina Transfusional, Facultad de Medicina, Universidad de Málaga, Málaga, España. GIEMSA (Grupo Internacional de Estudios Multidisciplinares sobre Autotransfusión). AWGE (Anemia Working Group España). NATA (Network for the Advancement of Transfusion Alternatives).

**Manuel Quintana Díaz, MD, PhD.** Profesor Asociado Departamento de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid. Coordinador Servicio de Urgencias Generales. Servicio de Medicina Intensiva. Hospital Universitario La Paz, Madrid. IdiPAZ España.

**María Cristina Martínez.** Directora Centro de Sangre. Concepción, Chile.

**María D. Gudiño.** Médica Hematóloga, especializada en Medicina Transfusional. Médica Directora Baxter Healthcare Corporation BioScience/BioLife Plasma Services, Estados Unidos de América.

**María del Mar Pujol Balaguer.** Especialista en Hematología y Hemoterapia. Banc de Sang i Teixits. Vall Hebron. Barcelona, España.

**María Dolores Nieto Gallegos.** Doctora en Medicina y Cirugía, especialista en Hemoterapia e Inmunohematología, máster en Medicina Transfusional y terapia tisular y celular. Directora del Banco Nacional de Tejido y Células. Instituto Nacional de Transplantes de Órganos, Tejidos y Células. Quito, Ecuador.

**María Isabel González.** Especialista en Hematología y Hemoterapia. Banc de Sang i Teixits. Catalunya Central. Hospital General de Catalunya. Barcelona, España.

**María Isabel Sánchez García.** Diplomada en Enfermería. Banc de Sang i Teixits. Sant Pau. Barcelona, España.

**Miguel A. Rodríguez Pineda.** Médico Asistente Hematólogo Hospital Calderón Guardia. Profesor Asociado Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

**Mirta C. Remesar.** Doctora en Ciencias Biológicas (Universidad de Buenos Aires) Responsable del Área de Infecciones Transmisibles por Transfusión, Servicio de Hemoterapia, Hospital de Pediatría Prof Dr. JP Garrahan. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Misericordia Basora.** Servicio de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor, Hospital Clínic, Barcelona, España.

**Montserrat Sáez Bruguera.** Especialista en Hematología y Hemoterapia. Banc de Sang i Teixits. Sant Pau. Barcelona, España.

**Montserrat Tió.** Servicio de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor, Hospital Clínic, Barcelona, España.

**Nelson E. Daza Bolaños.** Hematólogo. Especialista en Medicina Interna y Hematología. Jefe Unidad de Hematología, Director Banco Metropolitano de Sangre Hospital Universitario de Santander. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia.

**Nelly Vásquez de Martínez.** MgSc en Hematología. Directora Banco Municipal de Sangre DC, Colaboradora Docente del postgrado de Obstetricia y Ginecología de la Universidad Central de Venezuela, sede Maternidad Concepción Palacios. Caracas, Venezuela.

**Nuria Nogués.** Facultativa Adjunta. Laboratorio de Inmunoematología. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España.

**Oscar Andrés Peñuela Briceño.** Médico Cirujano. Magíster en Fisiología. Magíster en Medicina Transfusional. Coordinador Servicio de Medicina Transfusional Fundación Clínica Shao. Profesor Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, Colombia.

**Oscar Walter Torres.** Jefe de Unidad de Hemoterapia. Hospital Materno Infantil Ramón Sardá. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina.

**Paula Castellanos Fernández, QB, EIHBS, MA.** Jefe del Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre. Hospital General de Accidentes "Ceibal". Instituto Guatemalteco de Seguridad Social. Coordinadora del Postgrado en Inmunoematología. Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Pedro Rovetto, MD.** Profesor Titular Departamento de Patología. Escuela de Medicina Universidad del Valle. Profesor Historia de la Medicina, Universidad Javeriana, Cali, Colombia.

**Ramón Salinas Argente.** Especialista Hematología y Hemoterapia, BST Catalunya Central. Facultad de Medicina. Universitat Internacional de Catalunya. Barcelona, España.

**Roberto J. Roig Oltra.** Doctor en Medicina y Cirugía. Médico Especialista en Hematología y Hemoterapia. Máster Internacional de Alta Dirección Hospitalaria. Máster Universitario en Auditoría, Acreditación y Evaluación de las organizaciones y prácticas sanitarias. Director de la Cátedra Terumo de Medicina Transfusional y Terapia Celular de la Facultad de Medicina de la Universidad Católica de Valencia. Director del Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana. Valencia, España.

**Rosa Montero.** Diplomada en Enfermería. Coordinadora del Laboratorio de Inmunoematología. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España.

**Ruth Coll Bonet.** XCELIA. División de Terapias Avanzadas. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España.

**Salvador Laglera Trébol.** Doctor en Medicina y Cirugía. Especialista en Anestesiología y Reanimación. Jefe del Servicio de Anestesiología, Reanimación y Terapia del Dolor del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza. España.

**Santiago García López.** Servicio de Aparato Digestivo, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, España.

**Santiago Ramón Leal Noval.** Servicio de Cuidados Críticos y Urgencias. Hospital Universitario "Virgen del Rocío", Sevilla, España.

**Sara Fabra Cadenas, MD.** Servicio de Urgencias Generales. Hospital Universitario La Paz, Madrid. IdiPAZ. España.

**Sarella Garrido.** Responsable Gestión Operativa Centro de Sangre Concepción, Chile.

**Sergio Querol.** Director Técnico del Programa Concordia. Banc Sang i Teixits. Barcelona, España.

**Silvina Laura Kuperman.** Médica Pediatra, Especialista en Hemoterapia e Inmunohematología. Centro Regional de Hemoterapia, Hospital de Pediatría. J. P. Garrahan, Buenos Aires, Argentina.

**Susana Gómez Ramírez.** Facultativa Especialista de Área. Servicio de Medicina Interna, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria, Málaga (España). GIEMSA (Grupo Internacional de Estudios Multidisciplinares sobre Autotransfusión).

**Teodoro Hernández C.** Jefe del Servicio de Inmunohematología del Banco Metropolitano de Sangre de Caracas. Coordinador docente del postgrado de Hematología de la Universidad Central de Venezuela. Profesor de Hemoterapia e Inmunohematología. Caracas, Venezuela.

**Vanesa Bernal.** Aparato Digestivo, Hospital San Jorge, Huesca; España.

**Virginia Callao Molina.** Médica Especialista en Hematología y Hemoterapia. Doctora en Medicina y Cirugía. Jefe de sección. Servicio de Inmunohematología. Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana. Valencia, España

**Vitoria Arellano Orden.** Servicio de Cuidados Críticos y Urgencias. Hospital Universitario “Virgen del Rocío”, Sevilla, España.

## Agradecimientos a

### GIEMSA

(Grupo Internacional de Estudios Multidisciplinares sobre Autotransfusión)

y

### AWGE

(Anemia Working Group España)

por su importante contribución con autores y coautores en esta obra.

También a

### ABBOTT LABORATORIOS

DIVISIÓN DIAGNÓSTICA, ADD

por su contribución a la educación con la financiación para la impresión de este libro.



# Contenido

## Tomo I

Pag.	
23	Prefacio
	<b>SECCIÓN I</b>
	<b>Evolución de la Medicina Transfusional</b>
27	CAPÍTULO 1 Apuntes históricos sobre la medicina de transfusión <i>Pedro Rovetto</i>
41	CAPÍTULO 2 La Bioética en la Medicina Transfusional <i>Claudia Rocha Ferreira</i>
63	CAPÍTULO 3 Economía de la Transfusión <i>Roberto J. Roig Oltra, Luis R. Larrea González</i>
71	CAPÍTULO 4 Suficiencia de sangre <i>María Cristina Martínez, Claudia Herrera Garbarini, Sarella Garrido, Eduardo Yaksic</i>
89	CAPÍTULO 5 Situación de los servicios de sangre en América Latina <i>José Ramiro Cruz</i>
	<b>SECCIÓN II</b>
	<b>Componentes y derivados sanguíneos</b>
103	CAPÍTULO 6 El metabolismo eritrocitario desde la fisiología integrativa <i>Oscar Andrés Peñuela B., Luis Fernando Palomino Quintana</i>
127	CAPÍTULO 7 Grupos sanguíneos eritrocitarios <i>Eduardo Muñiz Díaz, Nuria Nogués, Rosa Montero, Carmen Canals</i>
169	CAPÍTULO 8 Inmunología del glóbulo rojo y pruebas pretransfusionales <i>Claudia Fabiana Bastos</i>
203	CAPÍTULO 9 Transporte de oxígeno y monitoreo <i>Salvador Laglera Trébol</i>
219	CAPÍTULO 10 Anemia y transfusión de glóbulos rojos <i>Armando Cortés Buelvas</i>

Pag.	
241	CAPÍTULO 11 Sustitutos de glóbulos rojos <i>Enric Contreras Barbeta, Virginia Callao Molina, José García Arroba</i>
255	CAPÍTULO 12 Los grupos sanguíneos plaquetarios y su importancia clínica <i>Eduardo Muñiz Díaz, Carmen Canals, Nuria Nogués</i>
277	CAPÍTULO 13 Inmunogenética de los sistemas HLA, HPA y HNA <i>Cristina Navarrete</i>
297	CAPÍTULO 14 Preparación, preservación y almacenamiento del concentrado de plaquetas <i>Paula Castellanos Fernández</i>
319	CAPÍTULO 15 Trombocitopenias y transfusión de plaquetas <i>Miguel A. Rodríguez Pineda</i>
331	CAPÍTULO 16 Colecta de granulocitos y transfusión <i>Fernando Martínez</i>
341	CAPÍTULO 17 Componentes sanguíneos leucorreducidos: laboratorio y aspectos clínicos <i>Luis R. Larrea González, Roberto J. Roig Oltra</i>
371	CAPÍTULO 18 Plasma para fraccionamiento <i>Catalina Massa</i>
387	CAPÍTULO 19 Inmunoglobulinas (Anticuerpos). Estructura, función y aplicaciones médicas <i>María D. Gudiño</i>
	<b>SECCION III</b>
	<b>Prevención y riesgos de la transfusión</b>
403	CAPÍTULO 20 Estado actual de la Hemovigilancia <i>Eduardo Muñiz Díaz</i>
417	CAPÍTULO 21 Importancia clínica y prevención de la aloinmunización de eritrocitos <i>Armando Cortés Buelvas</i>
437	CAPÍTULO 22 Infecciones emergentes <i>Celso Bianco</i>



Pag.	
447	CAPÍTULO 23 Hepatitis virales y transfusión <i>Alejandro Oscar Chiera</i>
463	CAPÍTULO 24 Infección por retrovirus: aspectos vinculados a la transfusión sanguínea <i>Mirta C. Remesar</i>
481	CAPÍTULO 25 Transmisión de parásitos por transfusión <i>Amadeo Sáez Alquezar</i>
527	CAPÍTULO 26 Contaminación bacteriana de productos sanguíneos <i>Armando Cortés Buelvas</i>
553	CAPÍTULO 27 Enfermedad de Creutzfeldt Jacob (CJD) y su variante (vCJD) <i>Celso Bianco</i>
563	CAPÍTULO 28 Inactivación de patógenos <i>Luis R. Larrea González, Roberto J. Roig Oltra</i>
601	CAPÍTULO 29 Reacciones hemolíticas transfusionales <i>Virginia Callao Molina, Roberto Roig Oltra</i>
609	CAPÍTULO 30 Importancia clínica de los sistemas HLA, HPA y HNA en las reacciones adversas a la transfusión <i>Cristina Navarrete</i>
623	CAPÍTULO 31 Reacciones transfusionales no inmunes, alérgica y febril <i>Oscar Walter Torres</i>
643	CAPÍTULO 32 Inmunomodulación relacionada con la transfusión <i>Armando Cortés Buelvas</i>
663	CAPÍTULO 33 Enfermedad injerto contra huésped asociada a la transfusión (EICH-AT) <i>Bernardo Camacho Rodríguez</i>
681	CAPÍTULO 34 Sobrecarga de hierro y quelación <i>Dinora Virginia Aguilar Escobar, Amalia Guadalupe Bravo Lindoro</i>

Pag.	
693	CAPÍTULO 35 Lesión pulmonar relacionada a la transfusión (TRALI) <i>Ina Pérez</i>
713	CAPÍTULO 36 Púrpura postransfusión (PPT) <i>Teodoro Hernández C.</i>

## Tomo II

### SECCIÓN IV Práctica clínica

719	CAPÍTULO 37 Uso de componentes derivados del plasma y recombinantes en la práctica médica <i>Arfilio A. Mora C.</i>
735	CAPÍTULO 38 Anemia hemolítica autoinmune y transfusión <i>Eduardo Muñiz Díaz, Carmen Canals, Nuria Nogués</i>
753	CAPÍTULO 39 Hemoglobinuria paroxística nocturna <i>Christiane Saltiel, Carlos Mendoza Gaviria</i>
765	CAPÍTULO 40 Manejo transfusional de las anemias hemolíticas congénitas <i>Graciela León de González</i>
797	CAPÍTULO 41 Trombocitopenia inmune (PTI) <i>Christiane Saltiel</i>
819	CAPÍTULO 42 Sangrado por defectos de coagulación adquiridos <i>Lidiette Salazar Palma, Miguel A. Rodríguez Pineda</i>
837	CAPÍTULO 43 Alteraciones congénitas de la coagulación <i>Nelson E. Daza Bolaños</i>
865	CAPÍTULO 44 La transfusión en neonatología <i>Silvina Laura Kuperman</i>

Pag.	
891	CAPÍTULO 45 Enfermedad hemolítica perinatal: control perinatal y profilaxis <i>Oscar Walter Torres</i>
905	CAPÍTULO 46 Práctica transfusional en ginecología y obstetricia <i>Nelly Vásquez de Martínez</i>
923	CAPÍTULO 47 Hemorragia gastrointestinal aguda y transfusión <i>José Antonio García Erce, Santiago García López, Vanessa Bernal, Fernando Gomollón, Manuel Muñoz</i>
941	CAPÍTULO 48 Transfusión en el paciente crítico <i>Santiago Ramón Leal Noval, Antonio Puppo Moreno, Esteban Fernández Hinojosa, Vitoria Arellano Orden</i>
955	CAPÍTULO 49 Manejo de la hemostasia en cirugía y procedimientos invasivos <i>José A. Páramo</i>
963	CAPÍTULO 50 Técnicas anestésicas <i>Elvira Bisbe, Luis Moltó</i>
975	CAPÍTULO 51 Manejo de la anemia perioperatoria (Alternativas a la transfusión de sangre alogénica en cirugía) <i>Jorge Cuenca Espierrez, José Antonio García Erce Manuel Muñoz Gómez, Susana Gómez Ramírez</i>
989	CAPÍTULO 52 Medidas farmacológicas para reducir el sangrado (Alternativas a la transfusión de sangre alogénica en cirugía) <i>Montserrat Tió, Ana Ruiz, Misericordia Basora</i>
1003	CAPÍTULO 53 Donación preoperatoria de sangre autóloga y hemodilución normovolémica (Alternativas a la transfusión de sangre alogénica en cirugía) <i>Manuel Muñoz Gómez, José Antonio García Erce</i>
1015	CAPÍTULO 54 Recuperación perioperatoria de sangre autóloga (Alternativas a la transfusión de sangre alogénica en cirugía) <i>Manuel Muñoz Gómez, Arturo Campos Garriges, Daniel Ariza Villanueva</i>
1029	CAPÍTULO 55 Criterios restrictivos de transfusión (Alternativas a la transfusión de sangre alogénica en cirugía) <i>José Antonio García Erce, Santiago Ramón Leal Noval, Manuel Muñoz Gómez</i>

Pag.	
1043	CAPÍTULO 56 Transfusión en cirugía cardiovascular <i>Jacqueline Juana Perea Ronco</i>
1057	CAPÍTULO 57 Transfusión en el cuidado del paciente de trauma con sangrado masivo <i>Alexander J. Indrikovs</i>
1089	CAPÍTULO 58 Transfusión en urgencias generales <i>Manuel Quintana Díaz, Alberto M. Borobia Pérez, Sara Fabra Cadenas</i>
1103	CAPÍTULO 59 Transfusión en trasplante de órganos sólidos <i>Carmenza Macía Mejía</i>
1115	CAPÍTULO 60 Administración de hemocomponentes, los correctos aplicados a la transfusión <i>Carlos Arturo Vallejo Ríos</i>
1131	CAPÍTULO 61 Recambio plasmático terapéutico <i>Enric Contreras Barbeta, Joan Ramón Grífols Ronda, Laia Ramiro Infante, Albert Soley Garasa</i>
1143	CAPÍTULO 62 Eritroaféresis terapéutica y recambio de hematíes <i>Cristina Sanz Marcelo, Arturo Pereira Saavedra</i>
1153	CAPÍTULO 63 Leucoaféresis terapéuticas <i>Ramón Salinas Argente, Montserrat Sáez Bruguera, María del Mar Pujol Balaguer, Asunción Montero Pardillo, María Isabel González, María Isabel Sánchez García</i>
1169	CAPÍTULO 64 Donación por aféresis <i>Carlos Areal Méndez</i>
1183	CAPÍTULO 65 Seguridad y calidad, los puntos críticos del soporte transfusional en el trasplante de progenitores hematopoyéticos <i>Enrique Gómez Morales, Eva Delia Calderón Garcidueñas, Alfredo Radillo González</i>
1199	CAPÍTULO 66 Células progenitoras hematopoyéticas: Trasplante <i>Gregorio Angel Martín Henao</i>

Pag.	
1213	CAPÍTULO 67 Calidad y sostenibilidad de los bancos públicos de sangre de cordón umbilical <i>Sergio Querol</i>
1227	CAPÍTULO 68 Soporte transfusional del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en el paciente pediátrico <i>José Luis Salazar Bailón, Amalia Guadalupe Bravo Lindoro</i>
1241	CAPÍTULO 69 Terapia celular avanzada y su aplicación en la clínica <i>Juan García López, Irene Oliver Vila, Joaquim Vives Armengol, José Ramón López Ezquerdo, Ruth Coll Bonet</i>
	<b>SECCIÓN V</b> <b>Calidad en los servicios de sangre</b>
1289	CAPÍTULO 70 Captación, selección y colecta de donantes de sangre <i>Ana del Pozo</i>
1313	CAPÍTULO 71 Organización de los servicios de sangre <i>María Dolores Nieto Gallegos, Armando Luis González Treasure</i>
1331	CAPÍTULO 72 Comité Hospitalario de Transfusión (CHT) <i>Ana del Pozo</i>
1345	CAPÍTULO 73 Gestión de la calidad en servicios de sangre <i>Elena Franco, Luis Ledesma</i>
1367	CAPÍTULO 74 Certificación frente a acreditación de servicios de transfusión <i>Julia Rodríguez Villanueva</i>
1387	CAPÍTULO 75 El proceso de acreditación en unidades de terapia celular y trasplante de progenitores hematopoyéticos. <i>Eva Delia Calderón Garcidueñas, Enrique Gómez Morales</i>
1395	CAPÍTULO 76 Aspectos legales de la transfusión en España <i>Manuel Muñoz Gómez, Manuel Muñoz Gardeta, Luis Fernando Barrios Flores</i>



# Prefacio

Desde que se descubrió, hace más de 25 años, que el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), puede ser transmitido por la transfusión de sangre, sus componentes y derivados, la Medicina Transfusional ha experimentado un progreso enorme.

Ha evolucionado, en su mayoría de edad, desde la etapa de ser una hija un tanto indeseada y descuidada de la hematología, hasta convertirse en una especialidad independiente y multidisciplinaria que se alimenta de otras especialidades, y a su vez nutre a otras ramas clínicas, como bien lo demuestra este libro.

El lector podrá comprobar que este texto, tan completo, abarca desde los principios esenciales de las ciencias básicas hasta lo clínico, e incluye lo más avanzado: el probable futuro y los sustitutos virtuales y reales de los componentes sanguíneos.

Como se indica en este libro, la importancia de la transfusión de sangre, de sus componentes en particular y de la medicina transfusional en general, radica no solamente en su capacidad de salvar vidas o mejorar la calidad de vida de los pacientes, sino también en su relación íntima con gran parte de las disciplinas de la medicina moderna, tales como la epidemiología, la salud pública, la microbiología, la biología celular y molecular, la inmunogenética, la anestesia, la cirugía y los trasplantes, entre otras.

Su estudio y progreso han contribuido al avance de la medicina en general, al incrementar nuestro conocimiento de la salud, la inmunohematología, la fisiopatología de la hipoxia, la tolerancia a la anemia, las técnicas de almacenamiento de células, las técnicas de aféresis y mucho más.

Este libro, con 76 capítulos escritos por expertos internacionales en la materia, todos de habla española, tanto de las Américas como de España, nos brinda en dos tomos, por primera vez, un recuento acabado y actualizado de todas las áreas prácticas, técnicas, clínicas y teóricas de la Medicina Transfusional, aplicables a América Latina en particular y al mundo en general.

Las secciones ilustran la amplitud del conocimiento en la especialidad. El Tomo I comienza en la Sección I con la historia, la bioética, la suficiencia y la actualización de los servicios de sangre en nuestros países. La Sección II continúa con la inmunohematología y la preparación de componentes sanguíneos y su uso. La Sección III muestra los riesgos de la transfusión y su prevención. En el Tomo II, en la Sección IV aparece la práctica clínica, que incluye las alternativas a la transfusión sanguínea y la terapia celular, para concluir en la Sección V con capítulos relacionados con la calidad en su más amplio sentido, al igual que la acreditación, la certificación y los aspectos legales de los servicios de sangre.

Servirá de gran ayuda como texto de consulta obligada para los profesionales dedicados a las diversas áreas de la especialidad, para los estudiantes de postgrado de carreras clínicas y de laboratorio, como también para los usuarios clínicos de componentes sanguíneos y células madres.

Deberá ser el volumen de referencia infaltable en todos los servicios de sangre, en las unidades de Medicina Transfusional y en las bibliotecas de los hospitales de los países de América Latina, donde la necesidad de un mayor número de expertos en la materia se hace cada vez más evidente.

Lograr la colaboración multidisciplinaria y oportuna de decenas de autores es una tarea ardua y gigantesca, que requiere la tenacidad y perseverancia de un profesional con amplio conocimiento de la materia, con dedicación y energía incansables. Estas características se aglutinan en el doctor Armando Cortés, quien debe ser felicitado por su coraje al emprender esta tarea colosal e incesante, desde la concepción y planificación del contenido del libro hasta la entrega de todos los capítulos, culminando en la compilación de este texto incomparable, autoritativo y tan necesario para nuestros países. Los miembros del GCIAMT deberán sentirse orgullosos por este magnífico logro.

**Professor Dame Marcela Contreras MD.  
FRCPath, FRCP, FMedSci**

Chairman, Blood Transfusion International,  
Professor of Transfusion Medicine Royal Free and University  
College Hospitals Medical School, London, UK.



## Sección I

# Evolución de la Medicina Transfusional





# Apuntes históricos sobre la medicina de transfusión

PEDRO ROVETTO\*

Las especialidades médicas como saberes particulares tienen una historia fundacional en la que están de acuerdo la mayoría de sus practicantes. En esta historia básica se mezclan leyendas antiguas y contemporáneas, interpretaciones personales e imprecisiones que a veces se repiten hasta la verosimilitud. Y todo esto se sintetiza y propone desde diferentes perspectivas: la de las ciencias básicas, la de la clínica y la terapéutica, la de la epidemiología, e incluso la de la economía y la de la política. Pero es un hecho que el discurso histórico no cumple siempre las exigencias de una verdad científica experimental y comprobable. A fin de cuentas la historia no es una ciencia que se rige por leyes inmutables. Si así fuese sería historicismo y nos haría caer en el error de esperar predicciones y de-

\* *Profesor Titular Departamento de Patología. Escuela de Medicina Universidad del Valle. Profesor Historia de la Medicina, Universidad Javeriana, Cali, Colombia.*

terminaciones históricas ineluctables. De allí que no haya un consenso sobre la historia de la medicina de la transfusión. Lo que intentaremos aquí es hilvanar un relato integral y coherente de la transfusión sanguínea, la inmunohematología y los bancos de sangre y esbozar algunos problemas que merecen mayor investigación y discusión.

Por supuesto que bajo el paradigma galénico, que determinó lo correcto en medicina desde el siglo III de nuestra era hasta el siglo XVII y un poco más allá, era inconcebible la transfusión sanguínea.<sup>1</sup> La sangre era uno de los cuatro humores del cuerpo humano (junto con la flema, la bilis amarilla y la bilis negra) y el cuerpo sangraba cuando debía sangrar. Un principio básico de la medicina galénica es el *vis medicatrix naturae*, el poder medicinal de la naturaleza, y la hemorragia sería la respuesta natural del cuerpo ante ciertas situaciones como heridas, ausencia de embarazo en el caso del endometrio, algunas intoxicaciones que exigían la purificación del cuerpo, etc. De hecho, muchas veces era necesario ayudar al cuerpo a sangrar; por ejemplo, se hacían sangrías en los pacientes heridos para “descongestionar”. Como dato curioso, aún en la tauromaquia moderna se pica al toro en el segundo tercio de la lidia para “descongestionarlo”. Con base en este paradigma casi nadie pensó en transfundir.

Casi nadie, precisamos, porque hubo algunas propuestas de transfundir sangre antes del descubrimiento de la circulación. Se dice que el papa Inocencio VIII fue transfundido en 1492 cuando estaba en coma tras un accidente cerebrovascular, sin un buen re-

sultado porque el pontífice murió poco tiempo después.<sup>2,3</sup> En realidad no fue una transfusión sanguínea porque se le administró la sangre por vía oral, y sería más bien un uso terapéutico de la sangre humana. Lo que sí aparece documentado son los primeros donantes de sangre: tres niños de diez años que murieron después de “donar” su sangre, por la que se pagó un ducado a cada uno. Esta curiosidad histórica indica que antes que transfusión de sangre hubo donación de sangre; y valga subrayar que un deber fundamental de la medicina transfusional (*primun non nocere*) es cuidar del donante de sangre, y en el caso en mención no hubo ningún cuidado o interés por los donantes.

Quien, con certeza propone la transfusión sanguínea es Andreas Libavius (1560-1616), médico y alquimista paracelsiano.<sup>4</sup> Conviene traducir sus palabras: “Si uno tiene un joven sano, fuerte, rico en sangre espirituosa y un anciano débil, caquético a quien desea rejuvenecer conviene hacer lo siguiente: preparar tubos de plata que se puedan unir, colocar uno en la arteria de la persona saludable abriendo al mismo tiempo la arteria del enfermo”. Esto es ciertamente transfusión sanguínea, pero no sabemos si Libavius la realizó y cuál fue su resultado. Observemos algunos detalles: el propósito es rejuvenecer, el donante debe ser joven y sano, es importante preparar tubos adecuados. Todas estas son ideas que se debatirán en la medicina transfusional.

Pero todo esto eran especulaciones anteriores al descubrimiento de la circulación sanguínea. William Harvey con su *Motu Cordis* (1628) provocó una

revolución paradigmática tan importante como cuando Copérnico afirmó que la Tierra se movía alrededor del Sol.<sup>1,5</sup> Nada siguió igual después de estos descubrimientos. En los estudios de Harvey hay un aspecto particularmente importante para la medicina transfusional. Su primera observación para demostrar la circulación es cuantitativa, perspectiva importante para este Siglo de la Ciencia (el XVII), cuando Galileo afirmara que el lenguaje del libro de la naturaleza son las matemáticas.

En el antiguo paradigma galénico el hígado, sede del alma vegetativa, producía la sangre de novo a partir de los nutrientes que le proveía la circulación portal y la entregaba al corazón, sede del alma animal. Harvey concluye que esto exigiría del hígado producir más de 200 litros de sangre (540 libras es su cálculo) cada media hora, lo que evidentemente parece imposible.<sup>6</sup> En el nuevo paradigma harveiano la sangre es un volumen menor y continuamente circula por venas y arterias. Descartes, el filósofo y matemático francés, dirá en 1632: “El movimiento de la sangre en el cuerpo no es sino una circulación perpetua”. Esto llevó a considerar la sangre como volumen constante cuya pérdida puede causar la muerte y su exceso producir ciertas enfermedades (la hidropesía, en el lenguaje clásico de la época). Esta perspectiva condujo a los experimentos de Boyle, Wren, Willis, Lower y otros, treinta años después.

En la mitad del siglo XVII se vivía un clima de nuevos experimentos e ideas científicas en Inglaterra.<sup>7</sup> La Royal Society (Real Sociedad de Ciencias de Londres) se fundó en 1660 y varios

de sus miembros intervinieron en la historia de las primeras transfusiones.<sup>8,9</sup> Robert Boyle, el gran químico, y Christopher Wren, el eminente arquitecto de la catedral de San Pablo, perfeccionaron cánulas y vejigas para introducir diversos líquidos en el torrente sanguíneo de animales. Thomas Willis investigó la circulación y describió en la base del cerebro el círculo que lleva su nombre. Uno de sus discípulos, Richard Lower, realizó en 1665 las primeras transfusiones de sangre en animales, para lo cual retiró con cánulas y plumillas todo el volumen sanguíneo de un perro que moría y lo pasó a otro perro. El experimento, la primera transfusión sanguínea de animal a animal pública y reconocida, se repitió en la Royal Society en la noche del 14 de noviembre de 1666. Un “lindo experimento”, escribió Pepys, el gran diarista de esa época.<sup>10</sup> Pero después las cosas se complicaron.

El año 1666 fue llamado “año del diablo” y también fue el primero denominado *annus mirabilis* (año de maravillas, sorpresas) en la historia. Se dice que en ese año Newton observó la caída de su famosa manzana. Pero la capital de Inglaterra fue casi destruida en su totalidad en el Gran Incendio. Todo el país sufrió una gran plaga (causa de que Newton estuviera en su domicilio rural), que es la última recidiva de peste bubónica en Inglaterra tras la Muerte Negra de 1348. Por esta razón se interrumpieron las reuniones de la Royal Society y la publicación de sus *Transactions* (primera revista científica del mundo, que se había comenzado a publicar en 1665). En Inglaterra se detuvieron las transfusiones experimen-

tales de sangre en animales. Pero la noticia de ellas se extendió rápidamente por Europa. Francia, entonces, tomó el liderazgo de la medicina transfusional que es una historia casi novelesca.<sup>10,11</sup>

Sorprende en el siglo XVII la rapidez con que experimentos e ideas se intercambian, a través de cartas y reportes, entre las capitales europeas y sus centros académicos.<sup>5</sup> Es el gran siglo de las academias de ciencia y las demostraciones públicas de ensayos científicos. En París, a comienzos de 1667, varios miembros de la Academia Francesa de Ciencias realizaron experimentos transfusionales en animales. Un joven médico, Jean-Baptiste Denis, inició al mismo tiempo e independientemente transfusiones en perros y otras especies animales en diversas combinaciones (perro-perro, vaca-perro, caballo-chivo, por ejemplo). Denis, graduado en Montpellier y de familia de artesanos, no pertenecía al *establishment* médico parisino pero ambicionaba para sí fama y reconocimiento social. Desde sus inicios la medicina transfusional ha sido ciencia vistosa, objeto de opiniones públicas encontradas y terreno de celos profesionales.

El 15 de junio de 1667 Denis con su colega el cirujano Emmerez realizó la primera transfusión humana con sangre animal.<sup>10</sup> Se trataba de un jovencito de quince años a quien se le infundió sangre de cordero. Aparentemente el adolescente sufría de fiebres, y considerando que la sangre transfundida era más fría, en el concepto de la época, sería el tratamiento apropiado para dichas fiebres. El paciente toleró la transfusión y mejoró. El procedimiento se consideró exitoso. Pero la academia y los médicos

más prestigiosos de la capital francesa no estaban de acuerdo, quizás por celos o por sus ideas conservadoras, con la conducta de Denis y sus colaboradores.

Las noticias de los experimentos transfusionales franceses estimularon la competencia de los científicos ingleses. Los miembros de la Royal Society iniciaron la búsqueda de un paciente con sangre “caliente” que pudiera beneficiarse de la transfusión de sangre “fría”. La búsqueda de un posible receptor en el hospital siquiátrico de Bedlam no dio ningún resultado satisfactorio. Se escogió, por tanto, a un ciudadano londinense apellidado Coga, de conducta extraña y maniática (frecuentemente respondía en latín y bebía mucho, entre otras cosas). En noviembre de 1667 se reunieron unos cuarenta espectadores para observar su transfusión con sangre de oveja. Se le retiraron a Coga siete onzas de sangre (unos 200 ml), que fueron reemplazados con la sangre del animal. Se le preguntó repetidamente al receptor por molestias asociadas a la transfusión y de momento no reportó ninguna (anteriormente otro joven transfundido por los ingleses había reportado calor en el sitio de la infusión), pero esa noche tuvo sudoración intensa. Podemos colegir que presentó una reacción febril post-transfusional. Se observó que la conducta del paciente se había tornado más pacífica. A Coga se le repitió la infusión de sangre de oveja en diciembre del mismo año y volvió a presentar fiebre y sudoración.

Los científicos planearon repetir varias veces la transfusión de sangre de oveja en busca de obtener un mayor efecto en la conducta de Coga. Pero el

paciente se negó a una tercera transfusión arguyendo que los sabios lo habían convertido en oveja y lo habían esquilmado. Firmaba la carta como Agnus Coga (Cordero Coga), lo que nos hace pensar que sus síntomas psiquiátricos en nada habían mejorado. Del experimento se burlaron en el teatro londinense de la época.<sup>12</sup> Los científicos habían demostrado que era posible transfundir a una persona sangre animal pero los resultados terapéuticos eran dudosos.

En Francia la reacción de la academia fue más áspera que en Inglaterra. Se consideró que los experimentos de Denis eran casi heréticos, además de ser una imitación directa de los ingleses. Denis y colaboradores persistieron en buscar un paciente mental para transfundirlo, como habían hecho los ingleses, y al efecto fue escogido un hombre llamado Mauroy, quien había sido mayordomo de la ilustre Madame de Sévigné y caminaba en esos días por las calles de París semidesnudo e incoherente. El 19 de diciembre de 1667 fue transfundido con sangre de ternero. El procedimiento se repitió dos veces en las próximas dos semanas. Aunque en la primera transfusión el paciente se quejó de sudoración y fiebre, en la segunda ocasión fue más grave la reacción con dolor lumbar, náusea, vómito y orinas de color oscuro: “Se le recogió un recipiente de orina negra, como del color del hollín de chimenea”.<sup>10</sup> Pero aparentemente la salud mental del paciente mostró mejoría. No fue muy clara la causa pero Mauroy murió meses después y Denis, su transfusionista, fue acusado de su muerte y juzgado en abril de 1668.

La muerte de Mauroy es hasta hoy un misterio. Parece que sobrevivió a su evidente reacción hemolítica aguda post-transfusional. Autores recientes han investigado el episodio y se cree que fue envenenado.<sup>10</sup> Su viuda acabó en la cárcel, pero hay testimonios de anteriores visitas de extraños que probablemente le sugirieron a ella envenenarlo. El médico Denis fue declarado inocente. El parlamento francés, basándose en la decisión del caso Mauroy, prohibió las transfusiones de sangre en 1670 en Francia hasta no contar con la autorización de la Facultad de Medicina de París. Pero este grupo de académicos conservadores no iba a aprobar fácilmente experimentos de transfusión sanguínea. La Royal Society en Inglaterra y el Vaticano habían prohibido las transfusiones de sangre en 1668 y 1669, respectivamente. Hasta siglo y medio después no se intentaron nuevamente transfusiones de sangre en humanos en Francia e Inglaterra.

Como dato curioso, Denis es considerado, pese sus problemas con las autoridades por la transfusión, el inventor de la barrita hemostática para detener el sangrado en la piel y las mucosas. Mucho de su carrera se consumió en el intento de transfundir sangre y acabó buscando detener la hemorragia, un interesante giro en sus investigaciones. ¿Será que debemos considerar en la actualidad pertinente este cambio de perspectiva terapéutica?

Estos primeros intentos de transfusión humana ponen en evidencia diversas circunstancias y plantean preguntas que acompañan la medicina transfusional desde sus inicios. Primero: ¿Para qué se transfunde? De acuerdo

con el pensamiento médico de la época se pretendía cambiar la conducta de los pacientes enfriando su sangre. Diríamos que se intentaba aquietarlos, tranquilizarlos. Nos preguntamos: ¿No será precisamente por eso, para tranquilizarnos, que en nuestros días médicos, cirujanos y anesthesiólogos decidimos transfundir? ¿No seguimos en algunos casos transfundiendo por razones psicológicas? Llama también la atención de los médicos la temperatura de la sangre: ¿es importante esta característica de la sangre transfundida? Quizás todavía no hemos respondido esta pregunta a satisfacción de todos.

Segundo, es interesante observar cómo fue acogida la transfusión sanguínea por la opinión pública y legal. La transfusión de sangre fue histrionizada en el teatro inglés en 1676. Thomas Shadwell, famoso poeta y escritor de comedias del período de la Restauración, produjo la titulada *El Virtuoso*, en la cual un personaje es transfundido con sangre de oveja y se convierte parcialmente en ovino.<sup>12</sup> Esta comedia estuvo en las tablas por los siguientes treinta años con gran acogida. De otra parte, se da una discusión teológica y moral acerca de la pertinencia de mezclar sangre de distintas especies. El célebre caso de Mauroy es retorcido en todas sus consideraciones y abordado por la jurisprudencia. Tal parece, entonces, que desde sus inicios la medicina transfusional no puede desprenderse de problemas de imagen social y demandas legales.

Por último, había gran interés médico y no médico en los posibles efectos deletéreos de la transfusión sanguínea. Pero la medicina no había desarrolla-

do aún la perspectiva analítica ni los instrumentos para medir los efectos clínicos de terapias tradicionalmente aceptadas como correctas o propuestas como nuevas soluciones (por ejemplo, la transfusión) a viejos problemas. Los clínicos no podían ir más allá de lo anecdótico para justificar su decisión terapéutica.

La situación cambió a comienzos del siglo XIX con los estudios de Pierre Charles Alexandre Louis y su *méthode numérique* o método numérico.<sup>13</sup> Es interesante ver cómo en aquella época aún se usaba la sangría de estirpe galénica para tratar fiebres y enfermedades inflamatorias, incluida la fiebre puerperal. Louis, contando cuidadosamente casos y resultados, probó que la sangría no era efectiva en ciertas condiciones inflamatorias. Con ello se derrumbó otro paradigma; la hemorragia dejó de verse como natural y se probó que sangrar al paciente no ayuda a la naturaleza a descongestionar (como prescribían los cánones galénicos). Quizás de una manera sutil esto despertó el interés médico por ahorrar sangre en muchas situaciones clínicas críticas. Y precisamente esto pensó el médico inglés James Blundell (1791- 1878).<sup>9,14</sup>

En la vida de Blundell hubo dos circunstancias que lo predispusieron a pensar revolucionariamente soluciones diferentes a los problemas médicos. Primero, estudió en Edimburgo, Escocia. Los jóvenes que querían estudiar medicina y no eran admitidos por razones sociales o religiosas (no eran miembros de la iglesia anglicana, por ejemplo) en las universidades de Oxford o Cambridge frecuentemente viajaban a la capital de Escocia para adelantar sus es-



tudios. En su alma mater se graduaron generaciones de médicos que no pensaban tradicionalmente sino *out-of-the-box*, como se dice ahora en inglés. Gran cantidad de médicos y científicos innovadores surgieron durante todo el siglo XIX en Edimburgo (los Bell; Brown, el descubridor del núcleo de las células; Arthur Conan Doyle, creador de Sherlock Holmes y otros). Blundell es uno de ellos.<sup>5</sup>

La segunda circunstancia es que trabajaba a comienzos de siglo en un hospital de Londres, el Guy's Hospital, donde tres médicos importantes en la historia de la medicina (conocidos como *the three guys of Guy's*: Addison, Hodgkin y el padre de la patología clínica Richard Bright, todos ellos graduados en Edimburgo) inauguraban una nueva forma de enfrentar los problemas clínicos. Con esta educación y en este ambiente Blundell volvió a considerar la transfusión humana siglo y medio después de haber sido prohibida.

Blundell trataba en 1817 a una mujer que presentaba una grave hemorragia puerperal. Él mismo cuenta que coligió que el destino de la mujer era, ineludiblemente, la muerte, y que él sería testigo de esa triste escena. Se preguntó, entonces, si hubiera podido hacer algo diferente, y cuenta que decidió reconsiderar aquella “olvidada operación” de la transfusión de sangre y darle “la investigación científica que merecía”. Estas palabras de Blundell retratan vívidamente cómo los médicos de aquella época, rompiendo con las creencias anteriores, se decidían a investigar clínicamente problemas que hasta entonces no tenían solución,

para lo cual recogían casos y resultados. como Louis en Francia y más tarde Semmelweis con la fiebre puerperal en Viena. Debe ser motivo de orgullo para quienes ejercen la medicina transfusional el que su especialidad y saber estuvo en la aurora y ha estado siempre en la frontera de la investigación clínica.

Blundell empezó a publicar sus resultados de transfusiones con sangre animal o sangre humana a animales (*Experiments on the Transfusión of Blood by the Syringe, Medico-Chirurgical Transactions*, 1818), y llegó a la conclusión de que no se puede reemplazar la sangre de una especie animal por la de otra especie, y señaló la importancia de evitar la coagulación de la sangre transfundida. Estas dos observaciones –incompatibilidad sanguínea y necesidad de anticoagulación– fundamentarán la investigación y el desarrollo de la medicina transfusional hasta nuestros días. Luego reclutó trabajadores hospitalarios y esposos como donantes de sangre para mujeres en post-parto. Publicó sus resultados en *The Lancet* en 1828.<sup>15</sup> En once años había transfundido a diez pacientes, de las que habían sobrevivido cinco. Es interesante la escogencia de hombres y cónyuges para transfundir a las madres, porque ese hecho llevará a descubrir la inmunohematopatología de la eritroblastosis fetal por Rh cien años después.<sup>16</sup> En resumen, se puede considerar al obstetra Blundell como iniciador de la transfusión humana propiamente dicha, en la tercera década del siglo XIX.

Durante todo ese siglo se volvió a experimentar la transfusión de diversas sustancias ante distintas situaciones clínicas.<sup>5,17</sup> Casi todos los experimen-

tos fracasaron y el modelo experimental animal repetidamente usado era el mismo: sangrar un perro hasta casi matarlo, y transfundirlo con diversos sustitutos de sangre para buscar su recuperación. Algunos experimentos dieron resultados positivos: se observó, por ejemplo, que las soluciones salinas sustituían la sangre parcialmente. Esto llevó a la medicina a reemplazar el volumen sanguíneo con diversas soluciones, lo cual es, por supuesto, válido hasta hoy. Quiero detallar dos experimentos que ilustran la aparición de un nuevo paradigma en el pensamiento biomédico y el surgimiento de una pregunta que impulsará el desarrollo de la inmunohematología en el siglo XX.

Así como debió de ser difícil para los médicos entender el funcionamiento del cuerpo humano antes de que Harvey descubriera la circulación de la sangre en 1628, es imposible para nosotros imaginar el organismo animal sin la teoría celular propuesta por Schwann y Schleiden en la década de 1830. Hay una experiencia transfusional que puede ayudar a situarnos en aquella visión precelular de los organismos vivos. A mediados del siglo XIX Occidente sufrió varias catastróficas epidemias de cólera. En esas circunstancias, los médicos veían morir a miles de pacientes y más allá de prevenir la enfermedad casi nada se podía hacer como terapia. Este hecho dio lugar, entre otras cosas, al concepto moderno de salud pública.

En una epidemia de cólera en Toronto (1854) se propuso la transfusión de leche como tratamiento para la enfermedad, y durante los siguientes treinta años se siguió haciendo para combatir el cólera, la tuberculosis y

otras enfermedades típicas de esa época. En los años ochenta de ese siglo se dejó de transfundir leche y se reemplazó con soluciones salinas isotónicas. Pero es interesante remitirse a la propuesta original de transfundir leche y las razones para hacerlo. Donné, un fisiólogo francés, había explicado que al entrar la leche en la sangre “las diminutas partículas grasas [...] se convierten en los corpúsculos blancos de la sangre”. Y además estos corpúsculos blancos (hoy leucocitos) se transformaban en rojos (hoy eritrocitos). Difícilmente encuentra uno un mejor ejemplo de la concepción de sangre antes del concepto de célula.

Además, la anécdota aclara por contraste la patología celular de Virchow (1858), paradigma que dominará el discurso biomédico hasta nuestros días. Para Virchow un leucocito era siempre un leucocito y un eritrocito era un eritrocito dentro y fuera del espacio vascular, porque las células eran entidades (*omnis cellula e cellula*) sanas o enfermas. Casualmente Virchow llegó a esta conclusión tras ver el caso de una joven mujer con “sangre blanca” (leucemia, palabra que él inventó). La transfusión de leche ilustra los conceptos primitivos de sangre y es el origen de la hipótesis de transfundir leucocitos, pues ese era el propósito teórico de aquellos experimentos terapéuticos. La posibilidad de transfundir leucocitos sigue siendo una cuestión abierta en la medicina transfusional contemporánea.

El otro experimento de mediados del siglo XIX que quiero resaltar fue realizado por el fisiólogo alemán Leonard Landois y descrito en su libro *Sobre la transfusión de la sangre* (1875).

Landois observó que las células eritrocitarias cuando son mezcladas con suero de sangre de otro animal se aglutinan y hemolizan. También detectó que las células blancas detienen su movimiento ameboideo. La descripción de estos fenómenos plantea la pregunta clave de la inmunohematología: ¿por qué se aglutinan y hemolizan las células sanguíneas en contacto con “otra” sangre? Aunque era ya claro que la sangre es un tejido líquido formado por células y plasma con características propias de la especie y el individuo, aún quedaba por establecer en qué consistía lo característico de cada sangre que impedía su transfusión.

El término anticuerpo fue acuñado por Paul Erlich en 1891.<sup>5</sup> El último tercio del siglo XIX estuvo primariamente interesado en las enfermedades infecciosas, recientemente explicadas por Koch y Pasteur. Algunos de estos anticuerpos fueron llamados aglutininas y eran activamente investigados en relación con la resistencia, innata o adquirida, de ciertos individuos a enfermedades infecciosas.

Karl Landsteiner (1868-1943) era un patólogo de Viena que investigaba estos problemas. Se dice que mezcló el suero de varios colegas con eritrocitos de ellos mismos y descubrió que unos se aglutinaban con ciertos sueros y otros no. En 1901 en un artículo de dos páginas, describió tres grupos sanguíneos: A, B y C (que luego sería el grupo 0) en 22 sujetos investigados.<sup>18</sup> El año siguiente Decastello y Stürli, dos discípulos de Landsteiner, confirmaron los hallazgos en 155 individuos e identificaron un cuarto grupo (2.5% del total) sin aglutininas en el suero, lo que de-

finió el grupo AB.<sup>19</sup> Quizás lo más importante fue su demostración de que la presencia de estos anticuerpos (anti A y anti B) no estaba relacionada con ninguna enfermedad y su presencia en los distintos sueros era normal. Con esto cambió el foco de la investigación y se empezaron a ver estos grupos sanguíneos como una característica personal y genética que podía explicar la incompatibilidad sanguínea observada en algunas transfusiones sanguíneas.

El hallazgo de Landsteiner y sus discípulos pasó relativamente inadvertido probablemente por la brevedad del reporte o por haber sido publicado en una revista poco conocida. Quizás los mismos autores no fueron conscientes de su importancia. El mismo Landsteiner se dedicó después a otras investigaciones microbiológicas y patológicas y es considerado el descubridor del virus de la poliomielitis (1909). De todas formas, se le concedió el premio Nobel en 1930 por descubrir el sistema antigénico ABO e inaugurar el campo moderno de la inmunohematología. Nos parece muy apropiada la mención del “sistema antigénico” en la concesión del premio Nobel, pues ¿qué es la inmunohematología si no el estudio de la sangre como antígeno? Y esto se inició indiscutiblemente, con las investigaciones de Landsteiner, aunque sólo en 1907 se usaron sus hallazgos para realizar una transfusión de sangre compatible (Ottenberg y Schultz, Mount Sinai Hospital, Nueva York). Después de esto la historia de la transfusión ha sido una larga y triunfante sucesión de aciertos. Pero las ideas básicas y las piedras claves de la medicina transfusional ya estaban asentadas.<sup>20</sup>

Otros investigadores por su parte, confirmaron los hallazgos de Landsteiner. La herencia mendeliana de los grupos sanguíneos fue aceptada en la segunda década del siglo y su nomenclatura definitiva (ABO) fue definida en el congreso de la Sociedad Internacional para la Transfusión Sanguínea (París, 1937). El régimen nazi de Alemania les dio una connotación racista a estos grupos: se consideraba el grupo A como típico de la “raza” aria y se asociaba falsamente a laboriosidad e inteligencia; el grupo B era considerado más propio de las “razas” inferiores eslavas y judías. Por supuesto que raza no es un concepto científico y esto era sólo una manipulación propagandística. Pero aun en EEUU la Cruz Roja segregaba las donaciones por raza y no se aceptaba la inclusión de sangre de afrodescendientes en la manufactura de albúmina. Sigue siendo un misterio de la evolución la frecuente diversidad de grupos sanguíneos en distintos grupos humanos pero, por supuesto, ya no se le da esa connotación racista.

Landsteiner que era judío de nacimiento y converso al catolicismo, tuvo que emigrar de Austria bajo la persecución nazi. Levine, uno de sus discípulos en el Instituto Rockefeller, publicó en 1939 el caso de una mujer con historia de eritroblastosis, quien había recibido sangre de su esposo y cuyo suero aglutinaba los eritrocitos de su esposo (ambos eran grupo 0).<sup>16</sup> Esto sugería la presencia de otro tipo de anticuerpos que se demostró aglutinaban el 85% de los eritrocitos humanos. En estudios posteriores de Landsteiner y Weiner con monos Rhesus (1940) se llamó Rh a este nuevo grupo sanguíneo.<sup>21</sup>

Cuando se aceptó que la membrana eritrocitaria tenía muchos antígenos distintos a los ABO se disparó el descubrimiento y publicación de nuevos grupos sanguíneos. En esta investigación fue de gran ayuda la prueba anti globulina o test de Coombs, propuesta por el investigador del mismo nombre en 1945.<sup>22</sup> El grupo Kell fue descrito por el mismo Robert Coombs en 1946.<sup>23</sup> En aquellos años se descubrió que enzimas como la tripsina facilitaban encontrar antígenos eritrocitarios. La era dorada de la inmunohematología prosiguió con la descripción de múltiples antígenos eritrocitarios y su asociación con reacciones post-transfusionales.

Volviendo un poco atrás en la historia, las transfusiones sanguíneas se realizaban a principios de siglo uniéndose directamente los vasos del donante y el receptor. En estos procedimientos fueron de gran ayuda los adelantos en cirugía vascular descritos por el cirujano francés Alexis Carrel, a quien por sus trabajos se le concedió en 1912 el premio Nobel. Pero la Belle Époque terminó con el holocausto de la I Guerra Mundial (1914-1918), terrible guerra de trincheras y ejércitos estacionarios con grandes hospitales de heridos cercanos al frente, que obligó a hacer transfusiones rápidas y por tanto era imperativo encontrar un anticoagulante que permitiera llevar y preservar sangre en esos hospitales. Lewinshon publicó en 1915 sus experimentos de cuatro años que demostraban la viabilidad de anticoagular la sangre con citrato de sodio.<sup>24</sup> Un poco antes, el argentino Luis Agote había sugerido lo mismo en un trabajo de 1914: “Nuevo método sencillo para realizar transfusiones de sangre”. En

1916 se descubrió que al añadir dextrosa a la sangre se alargaba hasta dos semanas la vida útil de los eritrocitos. Todo esto hizo más fácil la transfusión de sangre y demuestra cómo las guerras han impulsado muchas veces el progreso de la ciencia médica. Triste y paradójica realidad. Después de la Gran Guerra el primer servicio de donantes de sangre fue abierto por Percy Oliver, funcionario de la Cruz Roja inglesa, en Londres, en 1921.<sup>9,25</sup>

Por supuesto, no era fácil encontrar donantes de sangre en aquellos días. Ante esta dificultad los soviéticos propusieron en los años treinta usar sangre de cadáveres para la transfusión. Shamov publicó en 1937 una serie de 2.500 de estas transfusiones con sólo 7 muertes.<sup>26</sup> Como curiosidad, Kevorkian y Marra reportaron el uso de sangre cadavérica en siete casos en Michigan, EEUU en 1964.<sup>27</sup> Este doctor Jack Kevorkian es el mismo que luego fue judicializado por ayudar a la muerte asistida de enfermos terminales y como inventor de una “máquina de suicidios”.

Pero fue necesario otro conflicto, la Guerra Civil española, para dar otro salto en la historia de la medicina transfusional.<sup>9</sup> Desde la batalla de Madrid (1936) se menciona a un “Doctor Sangre” que en el campo de batalla ofrecía transfusiones desde una ambulancia. Hay una bella foto de este banco de sangre móvil en la cual se identifica al cirujano canadiense Norman Bethune y su enfermera. Este cirujano canadiense había viajado como voluntario internacional en apoyo a los republicanos de España, y se reporta que realizó la primera transfusión en el frente de

Ciudad Universitaria en Madrid el 23 de diciembre de 1936 (*El País*, 5 de febrero, 2006).

Luego, a mediados de 1937, y de manera independiente, el médico Frederic Durán-Jordà organizó en la Barcelona republicana el Servicio de Transfusión con selección y registro de donantes a quienes se hace la prueba de Wasserman para descartar contagio de sífilis. El doctor Durán se exilió en Inglaterra al ganar Franco y en este país contribuyó a la organización de bancos de sangre y servicios de donación que serían utilísimos durante la II Guerra Mundial.<sup>28</sup>

Creemos que estas dos experiencias de Bethune y Durán deben ser reconocidas como la primera organización de bancos de sangre en la historia de la medicina transfusional. Pero la historia usualmente cita al doctor Fantus como el creador de los bancos de sangre con el del hospital Cook County de Chicago.<sup>29</sup>

La II Guerra Mundial estimuló otro adelanto en la medicina de transfusión: el fraccionamiento de la sangre y el uso de componentes de ella en diversas situaciones. Desde el mismo ataque a Pearl Harbor, el 7 de diciembre de 1941, se evidenció la necesidad de transportar, preservar y transfundir sangre en distintas y lejanas localidades geográficas. Esto, evidentemente, era difícil usando sangre completa, recogida y refrigerada en recipientes de cristal.

El doctor Edwin Cohn había trabajado intensamente en Harvard en la separación de fracciones de sangre en distintas condiciones de salinidad, pH y temperatura y usando etanol.<sup>30</sup> La fracción V del plasma mostró gran

concentración de albúmina. Durante todo el conflicto en Europa y el Pacífico esta se usó como expansor de volumen plasmático en heridas y quemaduras graves. Esto llevó después de la guerra a la creación de una gran industria de recolección y fraccionamiento de sangre para la producción de componentes sanguíneos. Los bancos de sangre se dividieron en comerciales, con este propósito, y médicos, enfocados en el uso de la sangre y sus componentes en situaciones clínicas.

El grupo de Cohn desarrolló en 1951 la primera máquina separadora de sangre. Cohn popularizó la denominación hemoterapia por componentes. En la década de los sesenta del siglo pasado se perfeccionaron diversos separadores automáticos de sangre. Con esto se inició el gran desarrollo de la hemaféresis terapéutica y de colección en la medicina transfusional.

En 1981 se describieron los primeros casos de sida en los EEUU. La asociación entre infección por VIH y transfusión de sangre y componentes llevó a la medicina transfusional a una grave y dolorosa crisis de imagen pública. La sociedad empezó a esperar utópi-

camente una transfusión sanguínea sin riesgos. Los protocolos de colección, preparación y uso de sangre y componentes se hicieron más complejos, eficaces y costosos. Esta es la historia reciente de la medicina transfusional que muchos hemos vivido y sufrido.

Las últimas investigaciones históricas parecen demostrar que si bien el virus se originó en África ecuatorial y llegó a centros urbanos como enfermedad venérea, su salto de Haití a los EEUU estuvo asociado a la colección masiva de plasma en los años sesenta y setenta por la guerra de Vietnam.<sup>31</sup> Las grandes guerras del siglo XX ayudaron al desarrollo técnico de la medicina transfusional, pero causaron graves problemas asociados al uso de sangre y sus componentes.

Hemos intentado hacer un relato integral, coherente y corto de la historia de la transfusión sanguínea, llena de episodios llamativos, heroicos y dolorosos desde sus comienzos. La historia más reciente de la medicina transfusional ha sido vivida por esta generación de inmunohematólogos y testimonios de ella surgirán en otros capítulos de este volumen.

## Referencias

1. Ackernecht EH. A Short History of Medicine. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1982.
2. Clarke TW. The birth of transfusion. Journal of the History of Medicine 1949; 4: 337-338.
3. Gottlieb AM. History of the First Blood Transfusion but a Fable Agreed Upon The Transfusion of Blood to a Pope. Transfusion Medicine Reviews 1991; 5:228-235
4. Maluf NSR. History of Blood Transfusion. Journal of the History of Medicine 1954; 9:59-107
5. Porter R. The Greatest Benefit to Mankind: A Medical History of Humanity New York: W.W. Norton, 1997
6. McMullen ET. Anatomy of a Physiological Discovery: William Harvey and the Circu-

- lation of the Blood. *Journal of the Royal Society of Medicine* 1995; 88: 491-498
7. Gribbin J. *The Fellowship: Gilbert, Bacon, Harvey, Wren, Newton, and the Store of a Scientific Revolution*. New York: Overlook Press, 2007
  8. Farr AD. The First Human Blood Transfusion. *Medical History* 1980; 24:143-162
  9. Giangrande PLF. The history of blood transfusion. *British Journal of Haematology* 2001; 4: 758-767
  10. Tucker H. *Blood work: a tale of medicine and murder in the scientific revolution*. New York: W.W. Norton, 2011
  11. Moore P. *Blood and Justice: The seventeenth century Parisian doctor who made blood transfusion history*. Chichester: John Wiley and Sons Ltd, 2011
  12. Shadwell T. *The Virtuoso University of Nebraska Press*, 1966
  13. Morabia A. P.C.A. Louis and the Birth of Clinical Epidemiology 1996; 49: 1327-1333
  14. Jones HW, Mackmul G. The influence of James Blundell on the development of blood transfusion. *Annals of Medical History* 1928; 10:242-248.
  15. Blundell J. Observations on transfusion of blood by Dr. Blundell with a description of his gravitator. *Lancet* 1828; ii, 321-324.
  16. Levine P, Stetson RE. An unusual case of intragroup agglutination. *Journal of the American Medical Association* 1939; 113: 126-127.
  17. Wintrob MM. *Blood, Pure and Eloquent: A Story of Discovery, of People, and of Ideas*. New York: McGraw-Hill, 1980
  18. Landsteiner K. On agglutination of normal human blood [Translation of article originally published in 1901: Über Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 14, 1132-1134]. *Transfusion* 1961; 1: 5-8.
  19. Decastello A. Stürli A. Über die Iso-agglutine im Serum gesunder und kranker Menschen. *Münchener Medizinische Wochenschrift* 1902; 49:1090-1095
  20. Levine P. A review of Landsteiner's contributions to human blood groups. *Transfusion* 1961, 1:45-52.
  21. Landsteiner KS, Wiener AS. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for rhesus blood. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1940; 43: 223.
  22. Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. A new test for the detection of weak and 'incomplete' Rh agglutinins. *British Journal of Experimental Pathology* 1945; 26: 255-266.
  23. Coombs RRA. Historical Note: past, present and future of the antiglobulin test. *Vox Sang* 1998; 74(2): 67-73
  24. Lewinsohn R. Blood transfusion by the citrate method. *Surgical Gynecology and Obstetrics* 1915; 21:37-47.
  25. Gunson HH, Dodsworth H. Towards a National Blood Transfusion Service in England and Wales, 1900-46. *Transfusion Medicine* 1996a; 6: 4-16.
  26. Shamov WN. The transfusion of stored cadaver blood. *Lancet* 1937, ii: 306-309.
  27. Kevorkian J, Marra, JJ. Transfusion of human corpse blood without additives. *Transfusion* 1964; 4: 112-117.
  28. Grifols JR. The Contribution of Dr. Duran-Jordá to the Advancement and Development of European Blood Transfusion. *ISBT Science Series 2* 2007, 134-138
  29. Fantus B. The therapy of the Cook County Hospital. *Journal of the American Medical Association* 1937; 109: 128-131
  30. Cohn EJ, Strong LE, Hughes WL, Mulford DJ, Ashworth JN, Melin M, Taylor HL. Preparation and properties of serum and plasma proteins. IV. A system for the separation into fractions of the protein and lipoprotein components of biological tissues and fluids. *Journal of the American Chemical Society* 1946; 68:459-475.
  31. Pepin J. *The Origins of AIDS* New York: Cambridge University Press, 2011

## Lecturas sugeridas

- Allen FH, Diamond LK, Niedziela B. A new blood-group antigen. *Nature* 1951, 167: 482.
- Baskett TF. James Blundell: The First Transfusion of Human Blood. *Resuscitation* 2002; 52: 229-233
- Boland CR, Craig NS, Jacobs AL. Collection and transfusion of preserved blood. *Lancet* 1939; i: 388-389.
- Brown H. Jean Denis and the Transfusion of Blood, Paris. *Isis* 1947; 39:15-29
- Cochrane Injuries Group Albumin Reviewers. Human albumin administration in critically ill patients: systematic review of randomized controlled trials. *British Medical Journal* 1998, 317: 235-240.
- Combined Study from Centres in England and Baltimore. Prevention of Rh-haemolytic disease: results of the clinical trial. *British Medical Journal* 1966, ii: 907-913.
- Cutbush M, Mollison PL, Parkin DM. A new human blood group system. *Nature* 1950; 165: 188-189.
- Finn R., Clarke CA, Donohoe WTA, McConnell RB, Sheppard PM, Lehane D, Kulke W. Experimental studies on the prevention of Rh haemolytic disease. *British Medical Journal* 1961; i:1486-1490.
- Gunson HH, Dodsworth H. The Army Blood Supply Depot. *Transfusion Medicine* 1996b; 6: 65-71.
- Hicks JB. On transfusion and a new mode of management. *British Medical Journal* 1868; 2:151.
- Hirszfeld L, Hirszfeld H. Serological differences between the blood of different races. The result of researches on the Macedonian front. *Lancet* 1919; ii: 675-679.
- Kekwick, RA, Wolf P. A concentrate of human antihaemophilic factor - its use in six cases. *Lancet* 1957; i: 647-650.
- Keynes G. Tercentenary of blood transfusion. *British Medical Journal* 1967; iv: 410-411.
- Mollison PL, Sloviter H.A. Successful transfusion of previously frozen red cells. *Lancet* 1951; ii: 862.
- Morton JA, Pickles MM. Use of trypsin in the detection of incomplete anti-Rh antibodies. *Nature* 1947; 159:779-780.
- Moss WL. Studies of isoagglutinins and isohemolysins. *Johns Hopkins Medical Journal* 1910; 21: 63-69.
- Pool JG, Shannon AE. Production of high-potency concentrates of antihemophilic globulin in a closed bag system. *New England Journal of Medicine* 1965; 273: 1443-1444.
- Pool JG, Hershgold EJ, Pappenhagen AR. High-potency antihaemophilic factor concentrate prepared from cryoglobulin precipitate. *Nature* 1964, 203: 312.
- Rous P, Turner JR. Preservation of living red blood corpuscles in vitro. II. The transfusion of kept cells. *Journal of Experimental Medicine* 1916; 23:219.
- Rovetto P. Ideas Médicas: Una mirada histórica. Cali: Programa Editorial Universidad del Valle, 2007
- Stevens RE. The history of haemophilia in the Royal families of Europe. *British Journal of Haematology* 1999; 105: 25-32.
- Tarasov MM. Cadaveric blood transfusion. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1960; 87: 512
- Watkins WM. The ABO Blood Group System: Historical Background *Transfusion Medicine* 2001; 11:243-265
- Wiener AS. Genetic theory of the Rh blood types. *Proceedings of the Society for Experimental Biology of New York* 1943; 54: 316-319



# La Bioética en la Medicina Transfusional

*La sangre es un jugo de un tipo muy especial.*  
GOETHE, FAUSTO (1808)

CLAUDIA ROCHA FERREIRA \*

## I. Historia de la Transfusión Sanguínea

En el último día de su vida, el 14 de diciembre de 1799, George Washington, el primer presidente de Estados Unidos, despertó con un dolor de garganta acompañado por fiebre. Sus doctores acordaron que era el momento para practicarle una sangría. Sin presentar mejoría después de perder aproximadamente 500 ml de sangre, fue sangrado dos veces más y le fue diagnosticada una infección en la epiglotis. Se le realizó, entonces, una traqueotomía seguida de una sangría más. George Washington murió alrededor de las diez de la noche, como

\* Universidad de Texas. Galveston, USA.

“un hombre ahogado, sin poder respirar”.<sup>1</sup>

Lo que siguió luego tuvo un cariz más sorprendente que las prácticas médicas de entonces. Al llegar su nieta a la mañana siguiente trajo consigo al doctor William Thornton, quien sugirió que el Presidente podría ser resucitado si el aire y la sangre fueran devueltos a su cuerpo. Thornton propuso “que fuera abierto un pasaje a los pulmones por medio de la tráquea para inflarlos con aire y producir una respiración artificial, y que fuera *transfundido con la sangre de un cordero*”.<sup>2</sup> Por supuesto, George Washington no fue resucitado pues la familia declinó la proposición de Thornton al pensar, quizá, que más importante sería preservar intacto su legado y su memoria que traerlo de vuelta a una vida que ya había dejado llena de honor.

El carácter aparentemente anecdótico y absurdo del hecho ilustra la complejidad de las prácticas y creencias asociadas a la transfusión sanguínea a través de la historia. No por acaso, trescientos años antes había tenido lugar otro suceso histórico de gran relevancia para la historia de la práctica transfusional. En abril de 1492, el moribundo papa Inocencio VIII (1432-1492) fue transfundido con la sangre de tres niños, en cuya capacidad rejuvenecedora y revitalizante se creía. A los niños, que tenían diez años de edad, les fue prometido un ducado a cada uno. Los tres murieron, al igual que el papa Inocencio. La sangre sacrificial de los niños no fue suficiente para lavar su ambición mundana, públicamente condenada por el fraile dominico Savonarola, otro mártir de

la Inquisición. Además de la sangre de los niños, Inocencio VIII había hecho correr ríos de sangre de miles de inocentes en las mazmorras del Santo Oficio. La transfusión de Inocencio VIII es mencionada como la primera transfusión humana registrada. La sangre le fue administrada por la boca, porque hasta entonces se desconocía el mecanismo de la circulación, y no hay pruebas de que hubiese transfusión parenteral antes del siglo XVII.<sup>3</sup>

Estos episodios de las muertes de Washington e Inocencio VIII indican la compleja trama de la historia de la transfusión sanguínea, entretejida con el imaginario simbólico y cultural de la sangre en nuestra civilización. Digna de anotar es la realización de una transfusión heteróloga –cordero - humano– años después del primer y osado intento de transfusión homóloga –humano - humano–. El caso ilustra, además de la evidente y comprensible falta de comunicación entre la comunidad científica de entonces, el poder determinante de creencias, resistencias al cambio e intereses políticos diversos en las prácticas médico-científicas. Paralelamente, los profundos aspectos simbólicos relacionados con la sangre todavía pueblan el imaginario humano y remiten al carácter multidimensional presente en cualquier actividad humana, incluso de la objetiva y desapasionada comunidad médico-científica. La consideración de todos esos aspectos es imprescindible para una mejor comprensión y apreciación de los dilemas vividos en la práctica médica contemporánea. En ese sentido, la sangre desempeña un rol único en ese contexto.

Precisamente, el contexto histórico de la llamada revolución científica puede ofrecernos una mayor visibilidad y comprensión de los conflictos morales manifiestos en el área de la salud. El punto de partida es el cuestionamiento del concepto mismo de revolución científica como el nacimiento inequívoco de la ciencia moderna, “el momento decisivo en que la ciencia heroicamente suplantó la superstición y jamás miró hacia atrás”, una visión simplista e incompleta.<sup>4</sup> Según Alain G. Debus, el nombre más adecuado para designar tal período sería “renacimiento científico”, por manifestarse con él los “prolongados y variados efectos del humanismo en la medicina y en las ciencias”, incluida “una visión mística de la naturaleza compartida con entusiasmo por alquimistas y herméticos”, los cuales tuvieron profunda influencia en las prácticas transfusionales pretéritas.<sup>5</sup>

Durante el período comprendido entre los siglos XIV y XVIII se observa un continuo diálogo entre los proponentes de una visión mística-oculta del mundo y aquellos que buscaban un nuevo abordaje matemático-observacional de la naturaleza. La recuperación de los textos clásicos latinos y griegos referentes a Aristóteles, Ptolomeo y Galeno, juntamente con los textos neoplatónicos, cabalísticos y herméticos, contribuyó igualmente al desarrollo de lo que se llamaba en los siglos XVI y XVII la “magia natural”, que contrario de lo que se piensa, sería una “nueva investigación de la naturaleza a través de frescas evidencias observacionales”.<sup>6</sup> En verdad, la ciencia contemporánea debe mucho a esa “magia natural” y a

su esfuerzo por unir naturaleza y religión.<sup>7</sup> El legado místico de la Antigüedad ha fertilizado profundamente el pensamiento científico moderno.<sup>8</sup> Ese intento de conciliar principios divinos superiores con las leyes del mundo natural se manifiesta ampliamente en los primeros ensayos experimentales con la sangre, cuyo carácter sacro y místico se encuentra permeado por los modelos mecánicos propuestos para la circulación.

El primer hecho revolucionario en la historia de la transfusión es sin duda la publicación de *De Motu Cordis* por William Harvey en 1628. Su trabajo fue la culminación de esfuerzos diversos iniciados casi doscientos años antes en los estudios anatómicos de Leonardo da Vinci, considerados entonces una actividad estigmatizada por buscar un conocimiento prohibido. Cortar un cuerpo era “verter sangre sagrada y profana”, algo “que debía ser hecho solamente en la más controlada de las circunstancias”.<sup>9</sup> La iniciativa de Leonardo de concebir el cuerpo en términos mecánicos –“Debemos demostrar la estructura mecánica del hombre”<sup>10</sup>– sería fruto de su interés mecanicista que tendría su apogeo en la filosofía cartesiana del siglo XVII, que afirmaba que “cuerpos humanos y animales son fundamentalmente similares, porque funcionan esencialmente como una máquina”.<sup>11</sup> “La visión mecanicista del cuerpo carga ciertas implicaciones: como una máquina, el cuerpo tiene una función y es una unidad constituida por partes subordinadas, cada cual con funciones específicas y distintas de las demás, pero que se correlacionan”.<sup>12</sup> Tal es la visión predominante todavía

en el siglo XXI, profundamente determinante de la comercialización y reemplazo de partes dañadas es el trasplante de órganos y tejidos.

Lo que faltaba en la concepción mecanicista del cuerpo es precisamente “la naturaleza del sistema inmune, la composición de la sangre; en suma, el misterio de una entidad que es un organismo, no una máquina”.<sup>13</sup> Como una máquina el cuerpo requiere energía para funcionar. Leonardo ya sospechaba que “en la sangre y sus movimientos residía el centro de los misterios de la vida”, como atestigua su último diseño anatómico, el corazón de un zorro.<sup>14</sup> La incógnita solo sería descifrada por Harvey poco más de un siglo después, cuando en 1628, contrariando los tratados del médico griego Galeno –doctor del emperador romano Marco Aurelio y quien dominó el conocimiento médico desde el siglo II– propuso su modelo de la circulación sanguínea, que desde entonces impulsó el desarrollo de las investigaciones con animales, que basadas en “la argumentación cartesiana de que los animales no pueden sentir dolor y serían nada más que máquinas sin alma” tuvieron su apogeo en el siglo XVII, “el siglo de la vivisección”.<sup>15</sup> En el escenario de acérrimas disputas político-religiosas entre ingleses y franceses, hombres como Christopher Wren, Robert Boyle y Robert Hooke desarrollarán experimentos para evaluar la hipótesis de Harvey, en un contexto científico internacional lleno de drama y fascinación, en el que subyacía en verdad una disputa entre Francia e Inglaterra por el dominio científico. En el centro del conflicto se libraba una batalla por solucionar “enigmas perte-

necientes al mundo terrenal y divino, tan complejos cuanto controversiales”.<sup>16</sup> Mientras Harvey revoluciona la comprensión del cuerpo humano, Descartes declara “Pienso, luego existo”, y postula que la mente y el alma son independientes del cuerpo. En el corazón de la contienda entre franceses e ingleses, protestantes y católicos, ciencia y superstición, se asienta la transfusión, y la distinción entre los campos no siempre era clara.

Robert Fludd es el primero en dar soporte a la teoría de Harvey “públicamente por escrito en 1629, por sus profundas connotaciones místicas”. El trabajo de Harvey refleja “el interés contemporáneo en nuevas observaciones, en analogías místicas, e incluso en el uso de ejemplos mecánicos,” pero sin ninguna duda su “trabajo fue la primera explicación adecuada de un proceso corporal, el punto inicial al camino de la moderna fisiología”.<sup>17</sup> Además, el concepto de funcionalidad proporcionado por el modelo mecánico para la circulación produjo gran impacto en otras áreas de la actividad humana. El plan de Christopher Wren para la reconstrucción de Londres después del incendio de 1666 daba gran énfasis al libre flujo a través de las “arterias” de la ciudad.<sup>18</sup>

Otro personaje de la época tendría un papel de extrema importancia en la historia de la transfusión. El joven médico Jean-Baptiste Denis sorprendió al mundo con la primera transfusión sanguínea animal-humano. En diciembre de 1667 Denis transfundió sangre de cordero a las venas de un niño de quince años de edad. El resultado fue sorprendente: el niño sobrevivió. Pero

en su próximo intento Denis transfundió a Antoine Mauroy, un hombre mentalmente enfermo, la sangre de una ternera. Mauroy murió después de una serie de transfusiones y Denis fue acusado de homicidio. Las transfusiones sanguíneas fueron, entonces, prohibidas en toda Europa y serían retomadas nuevamente ciento cincuenta años después. Denis fue liberado de las acusaciones en 1668.<sup>19</sup>

En su brillante relato del juicio de Jean-Baptiste Denis, Holly Tucker retrata la “confluencia de ideas, fuerzas culturales, políticas y religiosas que tornaron las transfusiones sanguíneas en un hecho, todavía antes de la anestesia, la antisepsia y el conocimiento de los grupos sanguíneos”. Aunque parezca comprensible que la transfusión fuera suspendida por ciento cincuenta años por su potencial letalidad, otros procedimientos igualmente letales también hubieran sido vetados si la preocupación por la mortalidad fuera la única justificación: Los cálculos renales eran removidos por extracción penéana, o incisiones tan profundas en el perineo que permitían al cirujano insertar completamente su mano en el cuerpo del paciente. Según Jacques Mauriceau, las cesáreas eran un procedimiento “de grande exceso de inhumanidad, crueldad y barbaridad”. Pero el punto crucial en el caso del juicio de Denis es que Mauroy fue envenenado no con la sangre de ternera, sino con arsénico. Diversos doctores, a quienes Denis llamaría “enemigos del experimento”, quizá estuvieron directamente implicados en la muerte; “pero a lo largo del tiempo, el nombre de esos hombres ha sido relegado al olvido”. Su motivación parecía

más determinada por “temores morales-religiosos: el temor de mezclar sangre de especies diferentes no estaría basado en la propia seguridad y bienestar del paciente”. Otros médicos del siglo XVII temían que la ciencia estuviera jugando con fuerzas que no comprendía: “Los transfusionistas se arriesgaban a transformar cuerpos y mentes por transfusión de calidades animales en las venas de humanos. ¿Empezarían los humanos a ladrar?”.<sup>20</sup> Aunque parezca absurda, la misma concepción soportaba la reacción racista en los Estados Unidos a la utilización de la sangre de donantes “de color” para transfusión de blancos en las décadas de 1940 y 1950.<sup>21</sup>

Pero Denis en verdad basaba su preferencia en la sangre de animales para transfusión en humanos por motivos éticos en verdad: “Sería bárbaro interrumpir la vida de un hombre para aumentar la de otro”.<sup>22</sup>

Algunos argumentan que el pasado es un excelente punto de partida para discutir y comprender el futuro: “Esperanzas científicas y temores sociales exacerbados alrededor de las primeras transfusiones sanguíneas parecen reflejar la tensión de nuestro propio tiempo”. ¿La sociedad debería poner límites a la ciencia? ¿Cómo y a qué precio?<sup>23</sup>

## II. La sangre y su carácter mágico, mítico y místico

La sangre siempre ha tenido un carácter extraordinario a lo largo de la historia de las civilizaciones. Desde la noche de los tiempos nuestros ancestrales cazadores/colectores empezaron a ritualizar el proceso natural muerte-vida, y ello devino en dar un sentido

transcendente y sacrificial al mantenimiento de la existencia y en considerar la sangre un elíxir sagrado que unía el mundo terrenal con el sobrenatural, un vínculo con las fuerzas desconocidas de la naturaleza que dominaban los ciclos de la muerte y de la vida. El acto de matar y alimentarse de la carne de un animal dado tenía un carácter reverente y violento al mismo tiempo, pues a través de él se comulgaba con la naturaleza más profunda del ser sacrificado, impregnada en su carne y en su sangre, las cuales pasaban a ser parte de quien de él se alimentaba y mantenían su vida.

Los sacrificios humanos crueles y sangrientos hacen parte de la historia de la mayoría de los pueblos, no solo de los erróneamente considerados bárbaros y primitivos, sino incluso de los que han fecundado la cultura occidental, como los hebreos, cuya historia está lavada con la sangre de los sacrificios descritos en la Biblia; el primero y más célebre, la intención de Abraham de inmolar a su propio hijo para testimoniar su fe y sumisión a Dios. Curiosamente, hasta el presente el hecho es celebrado de una manera u otra en algunas culturas contemporáneas judaico-cristianas, ejemplo de lo cual son los sacrificios rituales de carneros en el feriado del Id-Adha (celebración del sacrificio de Isaac), y aunque prohibidos por la ley, los padres llevan a sus hijos a presenciar la muerte de los carneros en las carnicerías de Marsella, cuando no los sacrifican en sus propias casas.<sup>24</sup> En el cristianismo el sacrificio ha asumido un carácter más o menos metafórico en la liturgia de la comunión.<sup>25</sup> Sacrificios de animales han sido comunes en

muchas prácticas religiosas pasadas y presentes. En los templos judíos, entre otros, se ha vertido la sangre de animales como ofrenda divina por siglos. En los templos mayas, aztecas y celtas el sacrificio humano era utilizado para aplacar la ira de los dioses asociados a las fuerzas de la naturaleza.

Lo sagrado y lo profano están íntimamente entrelazados con la representación de la sangre y la idea del sacrificio (incluso remite a ello el acto altruista y voluntario de la donación de sangre en los tiempos modernos). Mirando aún hacia el pasado, al tiempo en que las demostraciones de anatomía humana eran ejecutadas como un espectáculo ceremonial teatralizado en las iglesias del Renacimiento científico en Europa, llegaban los relatos de los descubridores acerca de las tribus caníbales de Sudamérica (en especial, los tupi-guaraní de Brasil) para fertilizar el imaginario humano todavía con un carácter de misterio, temor y fascinación.<sup>26-27</sup> Sagrado y profano están siempre entrelazados en las diversas manifestaciones que involucran la sangre a través de los tiempos. Desde la sangre mística vertida por el Cordero de Dios para lavar los pecados del mundo hasta las representaciones de la búsqueda de la inmortalidad en la cultura popular moderna, para lo cual el aspecto ominoso de la sangre se alegoriza con los vampiros que ávidamente buscan la sangre que les restituya el alma y la vida que han perdido. En verdad, como suele pasar, hay alguna verdad entre el mito y la historia: médicos italianos renacentistas recomendaban succionar la sangre de los brazos de jóvenes con fines de rejuvenecimiento.<sup>28</sup>

La sangre siempre estuvo cargada de connotaciones relacionadas con el mantenimiento y renovación de la vida. Algunas creencias y supersticiones de antaño parecen hoy, a los ojos de la ciencia, próximas a la verdad. Los aspectos relativos a la nutrición fueron descubiertos con las experimentaciones con animales a partir del renacimiento científico, y sus poderes regeneradores y renovadores, con el uso de la sangre periférica y de cordón umbilical, se pregonan en las terapias celulares modernas.

La sangre también está profundamente asociada al alma humana. De acuerdo con el Antiguo Testamento, “el alma era parte de la sangre misma”. Para Galeno residía en el hígado, donde pensaba se producía la sangre (de nuevo, no estaba completamente engañado, puesto que eso es verdad durante el período embrionario del desarrollo humano). En la doctrina cristiana más tardía, el alma se trasladaría de la sangre a los ventrículos del cerebro, donde estaría libre de las pasiones humanas y protegida de “fuerzas terrenales y corruptas”. Descartes, aunque predicó que alma y cuerpo eran entidades distintas, tenía cierta dificultad con el hecho de que el pensamiento y las emociones se manifiestan físicamente. Dijo que “el alma tiene su asiento principal en el centro del cerebro, en la glándula pineal, y desde allí se irradia al resto del cuerpo por medio de ‘humores animales’, nervios e incluso la sangre”; afirmación esta no en total desacuerdo con las concepciones budistas acerca de la consciencia.<sup>29</sup>

La noción animista de la naturaleza, aunque parezca hoy anacrónica, dominó gran parte de la cultura occidental europea desde la Edad Media hasta los siglos XVIII - XIX. Pero la creencia de que el mundo físico estaría animado por fuerzas o principios espirituales acompaña al hombre desde la prehistoria y todavía está presente en el mundo moderno. Curiosamente, el mismo principio animista que orientaba la administración de sangre de animales dóciles para apaciguar el estado conturbado de un paciente<sup>30</sup> en cierta forma alimentó la idea de que se presentaban reacciones adversas por la transfusión de la sangre de afroamericanos a hombres blancos, en los años cuarenta del siglo XX, cuando “la retórica subliminar de la segregación racial hizo su camino en los bancos de sangre americanos”.<sup>31</sup>

Todavía en la cultura popular contemporánea, “sangre fría, hermanos de sangre, sangre azul, lazos de sangre”, de alguna manera aluden a lo que somos o pensamos ser”.<sup>32</sup>

### III. Bioética y conflictos morales relativos a la transfusión

Al contrario de la ética deontológica médica, cuyo objeto es el mantenimiento y protección de la relación médico-paciente, la bioética es una verdadera “Ética de la Vida”: orgánica, multidimensional y compleja. En lugar del carácter imperativo-normativo de la ética médica clásica, la bioética ofrece una instancia de mediación de los conflictos morales propios de la moderna sociedad contemporánea: diversa, plu-

ral, en la cual la comprensión mutua, el respeto y la tolerancia son su base inalienable.

Es una pretensión equivocada, por tanto, esperar de la bioética una visión reduccionista del complejo y difícil contexto de los conflictos morales en la práctica médico-científica. Lejos de presentar una lista de documentos, procedimientos y normativas a cumplir, la bioética pretende ampliar y profundizar los contextos personales, grupales, sociales y culturales donde se desarrolla el drama de la vida y sus conflictos. Los sujetos del drama –profesionales de salud y ciencia, pacientes, ciudadanos–, aunque circunstancialmente se vean como extraños morales, se reconocen entonces como seres humanos que comparten la misma condición, en la cual tragedia y dilema constituyen un elemento cotidianamente presente con el cual hay que aprender a convivir. La fantasía de una ética escapista que pretenda minimizar el inmenso desafío de la diversidad moral de los conflictos médicos no produce más que un “disfrace ético que disimula la diversidad de creencias y ameniza la inquietud inherente a la toma de decisiones; una especie de narcótico para la duda”.<sup>33</sup> La ética médica clásica está fundamentada en la tradición de los cuatro principios del Principialismo americano establecidos por Beauchamp y Childress en su proposición para una ética aplicada: autonomía, beneficencia, no-maleficencia y justicia.<sup>34</sup> Aunque dieron el impulso inicial a la ética médica, los cuatro principios no se han mostrado suficientes para abordar la gran diversidad cultural y pluralidad moral de las sociedades contem-

poráneas. La pretensión de determinar una base sólida y universal de estándares morales que ofreciera un soporte operacional a la ética médica clásica se ha mostrado demasiado simplista e ilusoria. El abordaje pragmático americano ha abierto definitivamente un espacio y contribuido para orientar la ética médica desde un plan teórico y exclusivamente filosófico hacia el campo concreto de la vida cotidiana. Entretanto, la ha reducido a un carácter técnico-científico inadecuado para la compleja dimensión de valores que son el objeto de su interés. La tecnificación de la bioética compromete su naturaleza orgánica y vital. La comunicación, su principal vehículo de actuación, se hace mecánica y está poblada de jargones vacíos de postulados relevantes que esterilizan el discurso y entorpecen las percepciones.<sup>35</sup>

El principio de la autonomía, uno de los primeros y principales pilares de la ética médica clásica, se ha construido a partir del contexto producido por las dos guerras mundiales en el siglo XX. Las pesquisas de los médicos alemanes nazistas, los tratados internacionales que se siguieron (Declaración de Helsinki y Declaración Universal de los Derechos Humanos), los cambios socioculturales en los países occidentales que culminaron con la publicación del Reporte Belmont (organizado por la Comisión Nacional para la Protección de los Seres Humanos en la Pesquisa Biomédica y Conductual) en los Estados Unidos, han contribuido a poner al individuo y la defensa de su libertad en una posición hasta entonces inédita. El concepto de la autonomía del individuo, como dueño de su vo-



luntad, de su cuerpo y de su vida, estaba pautado, como los demás principios éticos de entonces, en la estructura del pensamiento del tradicionalismo filosófico inspirado en Kant, Platón, Hipócrates, Aristóteles, Rawls y Mill. Estos “concebían un hombre ideal insertado en una estructura decisoria también fantasiosa”; una teorización inspirada en un “ser humano trascendental apuntando una salida ética para los conflictos morales por sublimación de las contingencias del individuo”.<sup>36</sup> Ese fue el impulso inicial y necesario para la estructuración de la ética médica en los centros académicos del mundo. Entretanto, según afirma Marcio Fabri, si el concepto de autonomía no es considerado como un referencial teórico, sino como ética aplicada, “puede convertirse fácilmente en una trampa para ocultar la cara de los desposeídos y cultivar un pensamiento liberal que refuta la consideración de los desafíos de la estructura social”. La bioética no se puede convertir en una Bioética episódica que trata aisladamente sus diversas áreas como si no estuvieran relacionadas e ignora los factores responsables por las desigualdades.<sup>37</sup> Actualmente la autonomía de los individuos pasa por el saber tecnológico y por el poder político y económico. El que no tiene acceso a ellos se vuelve vulnerable. Nuevas categorías, como vulnerabilidad, responsabilidad y protección surgen en el contexto de la discusión bioética en América Latina, como resultado de los patrones sociales de desigualdad ahí existentes. El precepto de la vulnerabilidad es indispensable para apreciar bien el panorama de los conflictos morales, sobre todo en Latinoamérica,

y amplía la visibilidad para la apropiada toma de decisiones. Para Kottow, el ser humano es vulnerable por naturaleza.<sup>38</sup> A veces, las circunstancias socio-económico-culturales lo vuelven eventualmente vulnerable, lo vuelven susceptible, lo cual trae al campo de las discusiones los conceptos de responsabilidad –según Hans Jonas– y protección –según Kottow y Fermin Roland Schramm–. Además, la responsabilidad frente a las nuevas tecnologías y a la aplicación de nuevos conocimientos deja de ser un problema individual (de personas o instituciones) y pasa también a tener una dimensión pública, que impone la participación del Estado dada la inmensa dimensión de sus consecuencias.<sup>39</sup> En ese sentido, la justicia distributiva establece un grupo de normas para repartir beneficios, riesgos y costos de forma justa y, sobre todo, responsabilidad en la aplicación de los escasos recursos públicos. En ese contexto, la ética de la protección viene a dar amparo a los necesitados que no tienen sus capacidades y autonomía plenamente desarrolladas, como un acto de responsabilidad del Estado para con sus ciudadanos. Partir de la técnica y alcanzar la ética por medio de la eficacia, la efectividad y la eficiencia implica un análisis que seguramente trasciende la mera consideración de la ética como un conjunto de principios morales que dictan códigos de conducta individual.<sup>40</sup>

### La exclusión de donantes voluntarios

En los Estados Unidos es prohibido que los homosexuales donen sangre, durante toda su vida, si pertenecen a

un grupo de riesgo. El veto por el comportamiento de riesgo, entretanto, es de solamente doce meses si se trata de un heterosexual.<sup>41</sup> La afirmación de que el contacto sexual entre hombres es potencialmente una cuestión de “elección de estilo de vida” (reporte del BPAC – *Blood Products Advisory Committee*—Comité de Recomendaciones de Productos Sanguíneos) tiene un carácter discriminatorio, además de contribuir a estigmatizar a los hombres que tienen sexo con hombres.<sup>42</sup> Pero la misma recomendación considera la posibilidad de negar tal condición en el momento de la donación por parte de donantes homosexuales (BPAC 1992, 309). Una cuestión compleja y delicada, como lo ilustra el proceso a Kyle Freeman por Servicios de Sangre Canadienses (CBS) por haber mentido acerca de su condición sexual y quien donó sangre dieciocho veces. Freeman ha demandado al CBS argumentando que el veto viola sus derechos como ciudadano canadiense.<sup>43</sup>

¿Por qué existe el temor de que los hombres mentirían para donar?

No hay, en verdad, el derecho humano de donar sangre; tampoco existe ningún precepto que prescriba la donación de sangre como un imperativo moral. Pero las campañas de publicidad para la donación usan el argumento de que la donación de sangre hace al ciudadano moralmente virtuoso. Los homosexuales no quieren verse excluidos de ese grupo. La estrategia también puede sugerir que los que no donan son moralmente sospechosos, sobre todo en culturas más conservadoras. Además, donar sangre es donar vida, tener el poder de garantizar la vida, según muchas

campañas de donación (“Done vida. Done sangre”. Cruz Roja, entre otras) que tienen un gran poder de formación de opinión, principalmente en culturas donde la vida es valorada como un bien supremo que debe ser protegido y preservado. La interdicción de la donación para los homosexuales sería, entonces, otra forma de exclusión además de su condición reproductiva limitada. Consecuente con la metáfora publicitaria, su decisión por su “estilo de vida” implicaría también su decisión de “no donar vida”. El carácter subliminar estigmatizante de esas campañas tendría otras importantes implicaciones en la formación de opiniones y valores. La consigna de que “donantes saludables son la única fuente de sangre” (Cruz Roja Americana, 2009), además de hacer sentir al público seguro respecto de la sangre donada, lleva implícito el mensaje de que “los donantes de sangre son personas saludables, y personas saludables deben donar sangre; si se les impide hacerlo es porque no son saludables”. En otras palabras: su sangre es “impura, contaminada, sospechosa”.<sup>44</sup>

Según Susan Sontag, personas con tuberculosis, síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida) y cáncer suelen mentir acerca de su condición para evitar la exclusión por la sociedad.<sup>45</sup> Por consiguiente, el uso de metáforas y eufemismos para designar esas enfermedades resulta de la consideración de estas condiciones como obscenas (según la definición: de naturaleza maligna, abominable, repugnante a los sentidos). La condición homosexual es calificada de abominable y repugnante a los sentidos por muchos grupos sociales. La homosexualidad es todavía

reputada por muchos una enfermedad. Padecer una de las enfermedades mencionadas es considerado una debilidad moral.

Otro aspecto de gran relevancia en la estrategia de promoción de las donaciones de sangre es lo que Sontag llama el “método del pánico moral”, que asocia algo sospechoso con algo definitivamente malo. Según muchas campañas de donación, no se debe donar sangre si “uno ha hecho algo que lo pone en riesgo de infectarse con VIH (Cruz Roja Americana, 2009), como: usar drogas intravenosas o esteroides, tener hombres contacto sexual con otros hombres, prostitución, desórdenes de sangrado, nacer o vivir en África ecuatorial, entre otros”. Poner a todos en la misma categoría implica decir que ser homosexual o africano los hace iguales a prostitutas y drogadictos, dos grupos profundamente estigmatizados en la mayoría de los contextos culturales modernos. La claridad de los principios e intenciones implícitos en las campañas de donación es de extrema relevancia en el contexto más amplio de la educación respecto a la donación de sangre. ¿Debe el compromiso irrefutable de proteger a los pacientes herir la propia integridad y salud de la comunidad? ¿No es eso lo que conlleva la alusión a un “comportamiento de riesgo”?

La idea de que “donar sangre nos hace héroes para alguien” es publicitada en muchas campañas de donación. Y cuando una persona está impedida de donar, además de ser considerada impura, tampoco puede actuar como un héroe. Los héroes son modelos de excelencia y virtud para los demás. Los impedidos de donar son, con esa

lógica, personas de menor valor que las otras. Para Sontag, la medida extrema de la FDA de calificar el comportamiento homosexual masculino como una enfermedad tan grave que implica una prohibición de por vida refleja un problema social que anatematiza el comportamiento sexual de los hombres. Kyle Freeman pretendió rebelarse contra este dictamen y hacer lo que consideró su deber moral de donar vida. ¿Es su pretensión soberana de vincularse a la comunidad a la cual pertenece donando sangre opuesta al derecho del paciente de ser protegido? Pregunta para ser cuidadosamente examinada, así como sus implicaciones.

Pese a que se pretende minimizar el problema, el pánico moral funciona de manera inversa y lo torna más visible. El lenguaje es un instrumento de mantenimiento de la cultura. La bioética demanda objetividad y transparencia en el abordaje de los conflictos y de los prejuicios que les son inherentes. Es de fundamental importancia el desarrollo de un lenguaje neutro para establecer una comunicación racional y productiva para enfrentar las discusiones y con el claro objetivo de promover la tolerancia y la inclusión, en lugar de fomentar la ignorancia y la segregación.

### Costo-beneficio de la seguridad transfusional

Actualmente las transfusiones sanguíneas son uno de los procedimientos médicos más comunes en el mundo. En los Estados Unidos se donan actualmente cerca de siete millones de litros de sangre por aproximadamente diez millones de personas.<sup>46</sup> La transfusión

se ha convertido en un tratamiento estándar seguro que ha salvado la vida de incontable número de personas.<sup>47</sup> Por esa razón, la habilidad de afianzar una oferta suficiente de sangre segura para sus ciudadanos es un papel fundamental de gobiernos e instituciones de salud, especialmente crítica después de la contaminación de productos sanguíneos con virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y hepatitis C (HCV) entre los años 1980 y 1990. En Canadá, más de 2.000 personas fueron infectadas con VIH y más de 160.000 con HCV a través de productos sanguíneos contaminados, en especial la población de hemofílicos – con más de 1.000 infectados con VIH, y muchos más de HCV.<sup>48</sup> Derivados contaminados fueron responsables de la contaminación de 6.000 a 10.000 hemofílicos en los Estados Unidos.<sup>49-50</sup> Los primeros casos se debieron sobre todo a la falta de seguridad en las pruebas de tamizaje de entonces y al no cumplimiento de los estándares de seguridad, pero también al utilizar personas que vendieron su sangre, provenientes de poblaciones de alto riesgo (prisioneros, drogadictos).<sup>51</sup> En Francia el escándalo de la contaminación de hemofílicos con VIH fue de grandes proporciones a través del trabajo de la doctora y escritora Anne-Marie Casteret, que reveló la distribución de productos sabidamente contaminados a la población hemofílica entre los años 1984 y 1985, lo que llevó a juicio a los ministros de Estado responsables.<sup>52</sup>

En Perú, siete niños fueron infectados con HIV en 2004. El hecho se dio después de tres años de implementado el programa de seguridad transfusional promovido por la PAHO y financiado

por la Fundación Bill Gates. El hecho de que en Perú, así como en Panamá, Honduras y Bolivia todavía se permitiera el pago por la sangre ha sido determinante en lo ocurrido. En Latinoamérica la situación es aún delicada. En países más pobres su población es más vulnerable por no contar con un sistema de colección eficiente, con mayor disponibilidad de sangre y con más donantes.<sup>53</sup> Esto en algo ha mejorado con la implementación de sistemas de colección de sangre centralizados, los cuales pueden ofrecer mejor atención a los donantes, estableciendo que los donantes deben ser voluntarios, velando por la calidad del servicio y promoviendo el entrenamiento de sus profesionales dentro de estrictos estándares de calidad. Además, son más costoefectivos, lo que ha disminuido el costo de producción de la sangre en más de cinco veces.<sup>54</sup>

Actualmente la seguridad transfusional con respecto a la transmisión de enfermedades infecciosas ha llegado a un nivel de excelencia por la disponibilidad de pruebas específicas, sensibles y seguras. La inversión en implementación de la calidad debe involucrar la integralidad del sistema centralizado, para aumentar su eficiencia y accesibilidad para la población. Un punto focal de extrema importancia consiste, entonces, en inversión en educación y promoción de una cultura de donación voluntaria, lo cual es todavía problemático en países económicamente vulnerables, donde el sentido de solidaridad está muchas veces comprometido por las grandes distorsiones y asimetrías socio-económicas, además de condiciones precarias de salud que compro-

meten la seguridad. En ese caso es aun más relevante el criterio de responsabilidad social y justicia distributiva por parte de los gobiernos e instituciones de salud. El principio de la precaución no puede sacrificar la integridad de la totalidad de la salud pública básica. Debe ser aplicado con base en el contexto más amplio de las necesidades básicas de la sociedad. La asignación de recursos debe considerar prioridades y demandas reales de la comunidad, dado que los recursos financieros son limitados y escasos. En ese contexto es fundamental la colaboración entre las partes para identificar incompatibilidades y conflictos de intereses existentes entre diferentes clases de una misma sociedad/comunidad, múltiple y plural por naturaleza.<sup>55</sup>

Importante es reconocer la transfusión como un procedimiento de alto riesgo, a pesar de los avances en la medicina transfusional. La transfusión más segura es la no ejecutada. Pero otros aspectos de extrema importancia están involucrados en la seguridad transfusional. Estos incluyen asegurar la confidencialidad de los datos de los donantes, garantizar el consentimiento informado y esclarecido, notificar a los donantes en caso de necesidad y contar con su debida asistencia al sistema de salud.

El Código de Ética para Donación de Sangre y Transfusión (ISBT) contiene los principios y procedimientos que aseguran la calidad de la sangre y sus derivados a nivel mundial, adoptados por la Organización Mundial de Salud (OMS).<sup>56</sup>

## El principio de la no-comercialización de la sangre

El principio de la no-comercialización de la sangre no es universal. Además de las condiciones de asimetría socio-económica que la determinan en países pobres, otras culturas liberales defensoras de la libre iniciativa –como la norteamericana– consideran que las demandas de mercado son soberanas y solo la dinámica del libre mercado puede regir la oferta de sangre para suplir sus necesidades, siempre crecientes.<sup>57</sup>

Las críticas contra esa política controvertida son en algunos casos violentas.<sup>58-59</sup> En su brillante abordaje del problema, Giovanni Berlinguer considera que en la tentativa de conciliar los principios morales con los intereses comerciales e industriales, “la Unión Europea recurre a la hipocresía y los Estados Unidos a las sutilezas de las leyes: su *National Organ Transplant Act* penaliza la comercialización de órganos, pero excluye la sangre por no considerarla como tal”.<sup>60</sup> Pero más que una crítica ácida, Berlinguer hace un profundo análisis de la dimensión histórica de la esclavitud y su impacto en los valores y demandas de la cultura occidental contemporánea, incluidas las demandas de consumo en sus sistemas de salud.

Muchos fueron los avances relacionados con la valorización del cuerpo, entre ellos el reconocimiento del paciente como un sujeto moral y la posibilidad de “retirar, modificar, conservar, transferir y utilizar, en beneficio de otros, partes separadas del cuerpo humano”, un suceso en el campo de

la biomedicina.<sup>61</sup> Empero, a la par con la destinación benéfica de esos “materiales” se ha dado su transformación en mercadería. Aparece, entonces, la nefasta “Bioética Justificativa”, aquella que busca legitimar la adquisición, venta, alquiler y préstamo del cuerpo humano.<sup>62</sup> Berlinguer considera amoral la práctica por asimilarse a otras formas tradicionales de comercio humano, como la prostitución y la esclavitud sexual. Pero, más que eso, el libre comercio del cuerpo compromete el propio desarrollo tecno-científico, así como en el tiempo de la esclavitud esta se justificaba en nombre del bien común, de la demanda del mercado, y en beneficio de los propios esclavos por su condición de inferioridad.<sup>63</sup> Las ventajas para la economía son todavía más insostenibles: se ha verificado que en verdad las sociedades esclavistas retrasaron su desarrollo por la falta de interés e iniciativa en incrementar la producción a través de la utilización de nuevas tecnologías. Permitir la compra y venta de sangre y órganos humanos, por tanto, es un obstáculo para las donaciones, criterio mínimo para la seguridad y salud moral de una sociedad. La solidaridad estaría profundamente comprometida en un contexto donde el mercado decide quién puede ser curado o no con base en su patrimonio: los excluidos, vulnerables; y los dominantes, consumidores de la fragilidad ajena. La institución de un mercado de esta naturaleza, además, inhibiría la búsqueda de soluciones alternativas, como el estímulo a las donaciones, la prevención de enfermedades que llevan al trasplante, la mejoría de servicios relacionados, y la pesquisa cientí-

fica de otras soluciones como sangre y órganos artificiales.<sup>64</sup>

### El derecho a rehusar la transfusión

La organización religiosa de los Testigos de Jehová es un grupo con más de siete millones de miembros en todo el mundo. Según su creencia, la vida solo tiene sentido si es vivida en total obediencia a la voluntad divina, tal como se manifiesta en las Escrituras. Cuatro pasajes bíblicos justifican la exclusión del consumo de sangre, sea en la dieta o a través de transfusiones sanguíneas.<sup>65</sup> El hecho de que los Testigos de Jehová son cristianos pero “no comparten valores relativos a lo que debe ser hecho para salvar la vida” –aunque también la consideran como sagrada– genera profundos conflictos en las sociedades donde el valor sagrado de la vida es soberano.<sup>66</sup> No obstante, los Testigos de Jehová evidentemente “no buscan la muerte”, pero para ellos “la corrupción de la transfusión sanguínea puede ser peor que la muerte”.<sup>67</sup>

El meollo de la cuestión no está en juzgar si es esa una interpretación adecuada de las Escrituras, como sostienen los Testigos de Jehová, que no aceptan transfusión de sangre alógena total o de cualquiera de sus componentes primarios: glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas y plasma. El problema reside en el abuso moral que significa violar su autonomía por la consideración de que “un procedimiento médico debe ser ejecutado aun en contra de la voluntad de un paciente adulto, capaz y lúcido, eso es, un individuo autónomo”.<sup>68</sup>

No se trata de la defensa de las creencias de los Testigos de Jehová, sino de reivindicar el derecho a la libertad de creencias, común a las sociedades democráticas y plurales modernas.

Los Testigos de Jehová son un claro caso en que la aplicación del principio de la autonomía no lesiona ningún otro principio o abordaje. Las razones morales en que sustentan su negativa a la transfusión comportan la protección judicial para que su derecho a elegir sea garantizado, como también a que se les informe acerca de tratamientos alternativos a la transfusión sanguínea. Aquí se delinearán situaciones en que la justicia distributiva ejerce un papel importante, pero no limitante en verdad, dado que los tratamientos alternativos no son absurdamente caros, ni es mayor el número de pacientes que los necesitan: “No hay ninguna pérdida moral o económica en reconocer la autonomía del paciente”.<sup>69</sup>

Una situación más difícil en que la decisión del paciente puede acarrear su muerte debe abordarse con base en patrones estándares de protección a la autonomía, soportados por el abordaje del comunitarismo, que considera a los “seres humanos como entes sociales, no individuos aislados, cuyas vidas están determinadas por instituciones y prácticas sociales, políticas y culturales”.<sup>70</sup> En ese sentido, se requiere un análisis más profundo -además de meros procedimientos de decisión basados en el consentimiento informado- para la mejor comprensión y aceptación de las dimensiones del problema. Para los Testigos de Jehová el sentido de pertenencia a su grupo es vital. La exclusión o excomunión por desobediencia es,

según su código de valores, un tipo de muerte. Los instrumentos analíticos del comunitarismo también ofrecen herramientas de apreciación importantes, tales como la racionalidad, la imaginación y la percepción, para establecer una relación entre sujetos considerados como extraños morales. El ejemplo claro es la posición de los Testigos de Jehová, que aunque parezca absurda, sigue al razonamiento de que cabe a cada uno “establecer los términos de su autonomía”, aquello por lo que cree que vale la pena vivir o morir.<sup>71</sup> Para muchos dar la vida en los campos de batalla puede parecer igualmente sin sentido. El caso extremo es la decisión respecto a personas no competentes, como niños o adolescentes. Para los padres, su convicción es que es su deber proteger a sus hijos de la existencia y sobrevida con sangre “corrompida”. Aunque ya aparecen indicios de que la comunidad de Testigos de Jehová pretende revisar sus doctrinas en esos casos, cuando se presenta el impedimento judicial para librarlos de la situación.<sup>72</sup>

Un hecho indiscutible es que, no obstante su posición particular con respecto a las transfusiones sanguíneas, los Testigos de Jehová no están sujetos a más riesgos o mayores índices de mortalidad que el ciudadano común. Los requerimientos transfusionales son muchas veces sobrestimados.<sup>73</sup>

### Conflictos morales en el uso autólogo de sangre de cordón umbilical

El uso de células madre en terapias celulares diversas es hoy objeto de amplios debates. Al contrario de las demás células madre, cuyo uso promisorio todavía está sujeto al desarrollo de

investigaciones que testifiquen su eficacia y seguridad, las células de cordón umbilical vienen siendo bastante utilizadas. Además, los conflictos morales implicados en su utilización son menos dramáticos que aquellos que involucra el uso de células madre embrionarias, pues las investigaciones al respecto no conllevan manipulación de embriones. Diversos aspectos de naturaleza moral y ética emergen con el uso de la terapia celular a partir de células madre de sangre del cordón umbilical. Se trata de un campo nuevo, no solamente desde el punto de vista tecno-científico, sino respecto a las políticas públicas y su reglamentación. Las fronteras no están claramente delineadas y se mantienen en constante transformación.

La dinámica del mercado para el uso público o privado de la sangre de cordón umbilical muestra un cambio constante en distintos países conforme el desarrollo de nuevas políticas de salud. La consideración de las implicaciones bioéticas, involucradas a la luz de una óptica novedosa, no es suficiente. Vulnerabilidad, protección y precaución, además del referente de la responsabilidad, son lineamientos que deben guiar las decisiones a este respecto en un contexto comunitario para tomar las decisiones apropiadas para abordar el problema.

En el panorama latinoamericano el Estado surge, entonces, como un relevante agente de protección. En ese sentido, muchos países han adoptado posiciones concretas acerca de la actividad de los bancos de cordón umbilical privados para uso autólogo de sangre de cordón, considerada por muchos como

una actividad comercial oportunista que no se justifica ni moral, ni técnica ni científicamente. A nivel internacional el cuadro es más diverso.

En la Unión Europea, aunque sea prácticamente una regla la no-comercialización de material biológico humano, se encuentran sistemas mixtos, en que existen los dos modelos; pero en muchos países la actividad comercial de bancos privados para uso autólogo está restringida o prohibida (Francia, Italia, Bélgica y Rusia). Mientras la red de bancos públicos para uso alogénico crece en Francia, la revisión de la leyes bioéticas en 2010 ha reavivado la discusión acerca de la legislación de bancos comerciales de uso autólogo.<sup>74</sup> La Comunidad Europea ha publicado recomendaciones y normativas (Directiva 2004/23/CE) para sus países miembros en el sentido de reglamentar y restringir la actividad de los bancos privados, considerada por ellos como estrictamente comercial. Diversos aspectos han sido resaltados para minimizar los riesgos que comporta la actividad de los bancos privados.

En América todavía los bancos privados para uso autólogo de la sangre de cordón umbilical no tienen restricciones. A excepción de Canadá (que sigue el modelo europeo), son pocos los países que disponen de un sistema público de sangre de cordón umbilical para uso alogénico, como Estados Unidos de América, México, Brasil y Argentina.

Más recientemente la actividad de los bancos privados se ha expandido de manera inusitada, sobre todo en países latinoamericanos y asiáticos, donde han hecho su entrada bancos privados para uso autólogo de sangre de cordón



umbilical con grandes resultados (monetarios), especialmente en Singapur, Japón, India y China. En China, desde 2004, cuando el número de casos de leucemia llegaba a cuatro millones, el precio de las acciones de los bancos de cordón umbilical privados era uno de los más altos en el mercado de acciones según la bolsa de valores de Hong Kong.

Diversas ideas sintetizadas como principios y conceptos discutidos en el abordaje bioético se ven implicadas en la colecta, almacenamiento y utilización de células madre de cordón umbilical y placentario. Los dos modelos adoptados para aplicación de sangre de cordón umbilical –el uso autólogo o alogénico– suscitan conflictos morales diversos.

El planeamiento de hijos HLA compatibles, donantes potenciales para familiares enfermos, tiene repercusiones profundas porque implica manipulación de embriones y procedimientos eugénicos.

La privacidad y confidencialidad con respecto a las pruebas requeridas, la autonomía para la toma de decisiones sobre la donación, el stock de células de cordón umbilical para uso autólogo son otros aspectos controversiales.

El escrutinio para enfermedades infecciosas y genéticas brinda informaciones que cuando son mal manejadas pueden herir el principio de confidencialidad y privacidad y exponer a los sujetos a riesgos sociales considerables como pérdidas / restricciones de seguros de salud y oportunidades de trabajo. Las instituciones también tienen responsabilidad sobre el consejo genético de los padres, sobre todo en casos de condiciones graves o sin tratamiento disponible. La autonomía del indivi-

duo es cuestionable cuando las informaciones no son claras o suficientes.

Entre los aspectos más controversiales relacionados con el uso de células madre de cordón umbilical están los que se refieren a las informaciones utilizadas por los bancos autólogos privados para captación de clientes. Las prácticas de mercadeo adoptadas por las empresas demandan atención especial, así como el proceso de obtención de consentimiento informado.<sup>75</sup> La propaganda agresiva de esas empresas, que explota la susceptibilidad de los padres en un momento delicado para la toma de decisiones, divulga informaciones equivocadas e imprecisas acerca del uso de células madre con fines terapéuticos. Muchas de esas informaciones atribuyen a la sangre de cordón umbilical la capacidad de regenerar funciones de tejidos y órganos diversos, además de la conocida regeneración de la función medular en pacientes con enfermedades congénitas o adquiridas de la médula ósea. Hasta el presente esos aspectos son mera especulación, toda vez que el uso potencial de sangre de cordón como fuente de células madre todavía está en etapa de investigación. Diversos profesionales de la salud se preguntan si es éticamente aceptable cobrar por un servicio cuya aplicación terapéutica todavía está en fase de investigación.

Pero esas empresas se abstienen de informar que las células progenitoras hematopoyéticas también pueden ser obtenidas del individuo adulto en caso de necesidad, y que el trasplante autólogo muchas veces no es indicado para el tratamiento de algunas enfermedades hematológicas. En verdad, apenas los pacientes con tipos específicos de

tumores sólidos y anemia aplásica adquirida califican para el uso autólogo de sangre de cordón umbilical.

La baja tasa de utilización de unidades de sangre de cordón umbilical para uso autólogo hace que los bancos privados no sean costo-efectivos desde un punto de vista sanitario. El costo de colecta cobrado por las empresas privadas en la actualidad es cercano a US\$3,6 mil y a una media de US\$200 de anualidad (o 2.500 euros por 20 años de almacenamiento).

Estudios recientes revelan que la probabilidad de que un niño necesite su propia sangre es 0,04%; y de que la requiera un hermano (y le sirva), 0,07%. Esto implica un costo de 1,37 millones de dólares (casi un millón de euros) por año de vida salvada. Los investigadores también han calculado cuáles serían las condiciones para hacer rentable el modelo: el costo para la familia tendría que ser 7% del actual (262 dólares, 177 euros), y la probabilidad de que el niño necesitara la sangre guardada sería del 0,9% (22,5 veces la normal).<sup>76</sup>

Los bancos privados de sangre de cordón umbilical para uso autólogo, además de su improbable utilización (una en cada 20 mil unidades colectadas es usada) y alto costo, compiten por donantes para uso alogénico, tornando disponible el tratamiento para aquellos que en verdad no lo necesitan y comprometiendo el sistema solidario y altruista de donación ya implantado en muchos países.<sup>77, 78</sup>

Otro aspecto poco ético que surge del uso autólogo de la sangre de cordón umbilical es la distancia socio-económica entre los que pueden y los que

no pueden pagar por el servicio. En ese sentido, es fundamental la consideración bioética de la justicia distributiva para que el desarrollo tecnológico no venga a profundizar las desigualdades con respecto a los derechos humanos básicos, incluido el derecho a la salud.

Sin el principio de la precaución las razones del mercado se imponen de manera soberana y aumentan las asimetrías producidas por la biotecnología, lo que fragiliza todavía más al individuo.

La implementación de programas nacionales públicos para trasplantes alogénicos de sangre de cordón umbilical podría contribuir a la regularización de la actividad de los bancos autólogos en países de América Latina. Esos programas ofrecen una alternativa viable para la población y también actúan como importante agente de educación al ofrecer información precisa a quienes se encuentran vulnerables frente a la propaganda masiva de las empresas privadas.

Además, el sistema público de colecta incrementa las donaciones que favorecen la diversidad étnica propia de cada país y aumenta de modo relevante la probabilidad de obtención de muestras compatibles. En Brasil, con el Brasilcord, el costo de la búsqueda de unidades compatibles ha caído de U\$23 mil por cordón para U\$2 mil por cordón.<sup>79</sup> El Estado tiene, por tanto, un papel incuestionable como regulador, no solo desde el punto de vista normativo sino especialmente como mediador entre fuerzas y asimetrías propias de sociedades económicamente frágiles.

Según Morin, “*Los avances tecnológicos crecen de manera avasalladora, sobrepasando el proceso natural de*

*maduración valorativo que los acompaña. Cuando se amplían las posibilidades se magnifican los riesgos, y cada alternativa biotecnológica que se ofrece abre un campo extenso de conflictos morales. Ya lo dice el aforismo: Todo lo que conlleva oportunidad conlleva riesgo, y se deben reconocer las oportunidades del riesgo, así como los riesgos de la oportunidad”.*<sup>80</sup>

El progreso científico, por rediseñar continuamente sus fronteras, ofrece soluciones a través de dilemas. La evaluación de riesgos lidia cada vez más con incertidumbres crecientes que imponen enormes dificultades a la toma de decisiones. Si el riesgo es imputable a la decisión humana, la decisión humana debe ser colocada al servicio del bien común para minimizar el riesgo y proteger a los susceptibles. La bioética contribuye, por tanto, de modo significativo con juicios de valor que permitan percibir los riesgos en una complejidad ética creciente, como exige el panorama mundial en la actualidad. Es cierto que si el Occidente debe salvaguardar, regenerar y propagar lo mejor de su cultura —que ha producido la democracia, los derechos humanos, la protección de la esfera privada del ciudadano—, también debe incorporar las virtudes de otras culturas a fin de corregir el activismo, el pragmatismo, el “cuantitativismo” y el consumismo desenfrenados. Un problema se impone en este inicio del siglo XXI: ciencia, técnica y burocracia se asocian en una enorme máquina que no produce solamente conocimiento y elucidación; sino ignorancia y ceguera. La política se fragmenta en diversos campos, y así “fragmentada pierde la comprensión

de la vida, de los sufrimientos, de los desamparados, de las necesidades no cuantificables”.<sup>81</sup>

Es fundamental que la bioética sirva de instrumento para la búsqueda de transparencia en la definición de políticas públicas de salud, para que no se vean reducidas a imposiciones tecnocráticas. Cuando el imperativo tecnológico produce conocimiento no sujeto a la reflexión crítica, se transforma en reglas impuestas a la sociedad, distantes de una búsqueda meditada y ponderada de la calidad de vida humana.<sup>82</sup>

Como pretendía el visionario Van Rensselaer Potter, el proponente del término “Bioética” en la década de los setenta: la Bioética es el puente para el futuro.

El futuro es ahora.

## Referencias

1. Schmidt, Paul J. “Transfuse George Washington!” *Transfusion* 42 (2002): 275-277.
2. Tucker, H. *Blood Work: A Tale of Medicine and Murder in the Scientific Revolution*. New York, US and London, UK: W. W. Norton & Company, 2011.
3. Maluf, N.S.R. “History of Blood Transfusion.” *Journal of the history of medicine and allied sciences* (1954): 59-107.
4. Tucker, xx
5. Debus, A. G. *Man and Nature in the Renaissance*, ed. George Basalla and William Coleman (Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1978), ix- x.
6. *Ibid*, 6.
7. Debus, 13-14.
8. *Ibid*, 133.
9. Turner, A. R. “The Body as Nature and Culture”, in *Inventing Leonardo* (Berkeley and Los Angeles, CA: University of California Press, 1994):197.

10. Ibid.
11. Tucker, H., 28.
12. Turner, A. R., 198
13. Ibid.
14. Ibid, 203.
15. Tucker, H., 28 - 31.
16. Tucker, H., xxi.
17. Debus, A. G. "The Study of Man" in *Man and Nature in the Renaissance*: 54, 67, 73.
18. Tucker, 50 - 56.
19. Ibid, xix.
20. Ibid, xxii-xxiv.
21. Ibid, xxv-xxvi.
22. Ibid, 132.
23. Ibid, xxix.
24. <http://ngm.nationalgeographic.com/2012/03/marseille/kashi-photography#/14-watching-sheep-being-butchered-670.jpg>.
25. Brault, P. "La symbolique du sang dans l'histoire", *Soins* n. 716 (2007): 43-45.
26. Winkler, M.G., "The Anatomical Theater", *Literature and Medicine* 12, n. 1, Johns Hopkins University Press (1993): 65-80.
27. Montaigne, M., "Of Cannibals", in *The complete Essays of Montaigne*, Stanford University Press (1976): 150-159.
28. Maluf, 59.
29. Tucker, 32-32.
30. Ibid, 133.
31. Ibid, xxv-xxvi.
32. Ibid, xxiv.
33. Diniz, D., "Henry Beecher e a Gênese da Bioética, in *O Mundo da Saúde*, vol. 23, n. 5 (1999): 334.
34. Beauchamp TL, Childress JF. *Principles of Biomedical Ethics*. 5ªEd. New York: Oxford; 2001.
35. Cowley, C., "The Dangers of Medical Ethics", *J Med Ethics* 31 (2005): 739-742. doi: 10.1136/jme.2005.011908.
36. Diniz, 334.
37. Fabri M. *Bioética nas Desigualdades Sociais. A Bioética no século XXI*. Brasília: Ed. UnB, 2000.
38. Kottow M.H. "The Vulnerable and the Susceptible". *Bioethics* vol. 17, n. 5-6, 2003.
39. Garrafa Volnei, Oselka Gabriel; Diniz Débora. *Saúde Pública, "Bioética e Equidade"*. *Bioética*, Volume 5 Nº 1, 1997 p. 27-33 apud JONAS, H. *II principio responsabilità*. Turim: Einaudi Editore, 1990.
40. Morin E. *Os Sete Saberes Necessários à Educação do Futuro*. Ed. Cortez. 8ª ed. UNESCO 2000.
41. Klugman, C.M., "Blood Donations and its Metaphores", *The American Journal of Bioethics*, vol. 10, n. 2 (2010): 46-47.
42. Galarneau, C., "Blood donation, deferral, and discrimination: FDA donor deferral policy for men who have sex with men". *American Journal of Bioethics* 10, 2 (2010): 29-39.
43. Gillis, M. 2009. Blood services sues gay donor. *cnews* 2009. Available from <http://cnews.canoe.ca/CNEWS/Canada/2009/09/28/11181301.html> (accessed March, 2012).
44. Klugman, 46.
45. Sontag, S. *Illness as Metaphor and AIDS and Its Metaphors*. New York: Anchor Books. 1990.
46. Hillyer, K.L. "The Blood Donor," in *Transfusion Medicine and Hemostasis*, Ed. Elsevier (2009): 25-32, and <http://www.redcrossblood.org/learn-about-blood/blood-facts-and-statistics>
47. Tucker, H., 225.
48. Fiddler, J. *Negotiating Trust in the Canadian Blood System: Governance and the Politics of Public Accountability in the Wake of the Tainted Blood Scandal*, The university of British Columbia (2011): 1, in [https://circle.ubc.ca/bitstream/.../ubc\\_2011\\_fall\\_fiddler\\_jay.pdf?...1](https://circle.ubc.ca/bitstream/.../ubc_2011_fall_fiddler_jay.pdf?...1) in <http://cnews.canoe.ca/CNEWS/Canada/2009/09/28/11181301.html>
49. Meier, B., "Blood, Money and AIDS: Hemophiliacs are Split" (1996), in <http://www>.

- nytimes.com/1996/06/11/business/blood-money-aids-hemophiliacs-are-split-liability-cases-bogged-down-disputes.html
50. Zamora, J.H., "Bad Blood between Hemophiliacs, Bayer: Patients sue over tainted transfusions spreading HIV, hep. C" (2003), in <http://ww2.aegis.com/news/sc/2003/SC030603.html>
  51. Bogdanich, W. & KOLI, E. "2 Paths of Bayer Drug in 80's: Riskier One Steered Overseas" (2003), in <http://www.nytimes.com/2003/05/22/business/2-paths-of-bayer-drug-in-80-s-riskier-one-steered-overseas.html>
  52. Casteret, A.M., *L'affaire du sang*. Ed. La découverte (1992).
  53. Fraser, B. "Seeking Safer Blood Supply", *The Lancet*, vol 365, n. 9459, (2005): 559-560. doi: 10.1016/S0140-6736(05)17927-6.
  54. *Ibid.*
  55. Fiddler, 149.
  56. <http://www.isbt-web.org/documentation/default.asp>.
  57. Campbell, A.V., *The Body in Bioethics, Biomedical Law and Ethics Library* (2009): 1-147.
  58. Garrafa, V. et al, "Between the needy and the greedy: the quest for a just and fair ethics of clinical research," *J Med Ethics*; 36 (2010): 500-504. doi: 10.1136/jme.2009.032656.
  59. Garrafa, V., Lorenzo, C., "Moral Imperialism and Multi-centric Clinical Trials in Peripheral Countries", *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 24(2008): 1-8.
  60. Berlinguer, G., "O Corpo Humano: da Escravidão ao Biomercado", *Bioética Cotidiana*, Ed, UnB (2004): 203.
  61. *Ibid*, 176.
  62. *Ibid*, 179 -180.
  63. *Ibid*, 185.
  64. *Ibid*, 187-188.
  65. Fonseca, A.C.C., "Autonomia, pluralismo e a recusa de transfusão de sangue por Testemunhas de Jeová": uma discussão filosófica", *Rev. Bioet (impr.)* 19 (2) (2011): 485-500.
  66. Fonseca, 487.
  67. Campbel, A.V., "The virtue (and vices) of the four principles", 29 (2003): 294.
  68. Fonseca, 486.
  69. Calahan, D., "Principlism and communitarianism," *J Med Ethics* 29 (2003): 289.
  70. Calahan, 288.
  71. Fonseca, 489.
  72. CampbeL, 294.
  73. Hughes, D.B., Ullery, B.W., Barie, P.S., "The contemporary approach to the care of Jehovah's witnesses," *J Trauma* 65, 1(2008): 237-247.
  74. Katz, G. & Mills, A., "Cord Blood Banking in France: Reorganizing the national network," *Transfusion and Apheresis Science*, 42, n. 3 (2010):307-316.
  75. Sugarman, J. et al, "Ethical issues in umbilical cord blood banking. Working Group on Ethical Issues in Umbilical Cord Blood Banking. *JAMA* 278, 11 (1997):938-943.
  76. Kaimal, A.J. et al, "Cost-effectiveness of private umbilical cord blood banking", *Obstet Gynecol. Oct*; 114, n. 4 (2009): 848-855.
  77. Burgio, GR; Gluckman, E & Locatelli, F. Ethical reappraisal of 15 years of cord-blood transplantation, *Lancet* (2003): 250-252.
  78. Usanos, R.A., "The banks of umbilical cord blood: biomedical and bioethical issues", *Cuad Bioet. May-Aug*; 20, n.69 (2009): 231-40.
  79. Ferreira C. R. et al, "Uso Autólogo e Alogênico de Células de Cordão Umbilical e suas implicações Bioéticas," in Garrafa, V., Raposo de Melo, D., Porto, D. *Bioética e Vigilância Sanitária. ANVISA* (2007): 125-143.
  80. Morin.
  81. *Ibid.*
  82. *Ibid.*



# Economía de la Transfusión

ROBERTO J. ROIG OLTRA\*  
LUIS R. LARREA GONZÁLEZ\*\*

A pesar de lo amplio y vago como suele definirse el concepto de bien económico, no existe duda alguna de que la sangre se ubica dentro de esa definición, sin ninguna ambigüedad. La sangre satisface necesidades, es valorada y es un bien escaso. Las dos primeras características parecen evidentes, pero es conveniente precisar el concepto de escasez.

Para el economista el concepto de escasez tiene un sentido amplio; en términos económicos se dice que un bien es escaso por el mero hecho de que su obtención implica la utilización de recursos escasos, independientemente del nivel de satisfacción de la demanda potencial y de los desajustes temporales que puedan darse en el flujo suministro-utilización del bien en cuestión.

\* *Doctor en Medicina y Cirugía. Médico Especialista en Hematología y Hemoterapia. Máster Internacional de Alta Dirección Hospitalaria. Máster Universitario en Auditoría, Acreditación y Evaluación de las organizaciones y prácticas sanitarias. Director de la Cátedra Terumo de Medicina Transfusional y Terapia Celular de la Facultad de Medicina de la Universidad Católica de Valencia. Director del Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana. Valencia, España.*

\*\* *Doctor en Medicina y Cirugía. Médico Especialista en Hematología Hemoterapia. Jefe del Servicio de Fraccionamiento y Criopreservación. Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana. Valencia, España.*

Por otra parte, la mayoría creemos que las cuestiones económicas son importantes y que, por tanto, existen fundadas razones para entender cuánto cuesta la provisión de servicios médicos. Hay un creciente interés en conocer el costo de las cosas, pero no es claro cómo se deben incluir los datos económicos en las decisiones políticas o establecer prioridades en el cuidado de la salud.

Como en todas las disciplinas, en Economía hay diferentes diseños y aproximaciones para responder a las diferentes cuestiones que se pueden plantear. En Economía de la Salud se puede investigar el costo de la prestación de la salud, las tasas de reembolso para la prestación de la asistencia, el impacto presupuestario de determinados tipos de intervenciones o el análisis comparativo del costo-efectividad.

Lamentablemente, en medicina transfusional no existe un análisis económico global. A este respecto, tanto la industria farmacéutica como la de instrumentación médica están lejos de nuestro nivel con más consumidores informados y una amplia participación de profesionales de la evaluación económica. Se han publicado guías que establecen las bases necesarias para la toma de decisiones y la aprobación o el uso de productos específicos.<sup>1-5</sup>

En medicina transfusional es progresivo el reconocimiento de la necesidad de la evaluación económica, aunque todavía existe una falta de integración y consistencia en las técnicas de evaluación. A pesar de que se ha investigado el costo de adquisición de sangre<sup>6-7</sup> o el de la transfusión,<sup>8-11</sup> los métodos

utilizados, para uno u otro caso, no han sido los mismos. Ya en 2003 los participantes en la Conferencia de Consenso sobre el costo de la sangre desarrollaron una minuciosa descripción de todos los pasos en el proceso de la transfusión, empezando por el reclutamiento de donantes y finalizando con las consecuencias, a largo plazo, de la transfusión en los pacientes y en el sistema de salud.<sup>12</sup>

Una reciente publicación<sup>13</sup> trasladada nuestra atención al costo de la transfusión en el entorno quirúrgico. El análisis que se muestra sobrepasa los análisis previos y proporciona resultados de un estudio costo-actividad llevado a cabo en tres países y cuatro hospitales distintos al evaluar, desde la perspectiva hospitalaria, el costo total de la transfusión. Al realizar el análisis en cuatro hospitales diferentes (uno en Austria, uno en Suiza y dos en Estados Unidos) los investigadores han eliminado una de las limitaciones que existían en los análisis previos como es la generalización. Esta estimación de costos en cuatro hospitales de tres países desarrollados no convierte el estudio en representativo en todas las configuraciones y localizaciones pero, utilizando el mismo método, permite algo nuevo y sorprendente como es la comparación directa y la similitud de los costos en un ámbito internacional.

Este ambicioso e ilustrativo proyecto tuvo un resultado inesperado: por una parte se observó que el costo de la transfusión en los procedimientos quirúrgicos es mayor que el previamente comunicado y, por otra, que los costos de compra de hematíes por parte de



los bancos de sangre es una muy pequeña contribución al costo total de la transfusión, y en todo caso representa menos de un tercio del costo en cada uno de los cuatro hospitales que contribuyeron al estudio. Otros autores<sup>14</sup> han manifestado resultados similares cuando la transfusión se realiza en las unidades de cuidados intensivos.

## Costo-Efectividad en medicina transfusional

En medicina transfusional el costo-eficiencia del tratamiento con sangre y derivados significa alcanzar un efecto terapéutico específico utilizando un producto que procede de una unidad de sangre donada. El costo incluye no solo el precio del producto sino el de todo el proceso que, como sabemos, se inicia con el reclutamiento del donante, la obtención del producto, el proceso analítico en el centro o servicio de transfusión, y finalmente en la transfusión del hemocomponente al enfermo. La efectividad clínica de todo el proceso se mide bien por el efecto de la transfusión sobre la vida o bien por la reducción de la estancia hospitalaria del paciente.

El costo-efectividad de la transfusión es un tema de discusión cada vez más importante en los congresos de la Sociedad Internacional de Transfusión Sanguínea (ISBT) y en otros congresos internacionales relacionados con la transfusión.

La seguridad de los componentes sanguíneos ha alcanzado tal nivel que el desarrollo técnico del material y equipamiento, los nuevos métodos analíticos y, además, la eliminación

de agentes transmisibles por la transfusión solo mejora la seguridad de un modo marginal.

Por otra parte, sabemos que añadir nuevos métodos a los ya existentes aumenta considerablemente los costos de producción. Esto, unido a la dificultad de eliminar métodos antiguos, aumenta la importancia de la discusión del costo-efectividad de los nuevos desarrollos y el papel de los costos a la hora de decidir la implantación de nuevos métodos y tecnología.

Incluso con la adición de nuevas medidas de seguridad que eliminen casi todos los agentes transmitidos por transfusión, no se alcanza la seguridad absoluta. Estamos cada vez más cerca del riesgo “0”.

Actualmente existe entre los expertos en esta materia una opinión unánime sobre que el nivel de seguridad es suficiente e incluso superior cuando se compara con cualquier otra actividad médico-quirúrgica. Sin embargo, parece que existe todavía presión para implantar cualquier nuevo método que suponga una “imaginaria” mejora en la seguridad.

## Costo de la transfusión

El costo de un producto sanguíneo (precio de adquisición) es únicamente una parte del costo total de la transfusión sanguínea. En un estudio multicéntrico<sup>15</sup> se observó que el precio del producto representa el 37%; los costos de manejo en el banco de sangre, el 13%; las pruebas de laboratorio, el 43%, y los costos de administración, un 7%.

En otro estudio<sup>16</sup> que revisó el costo de la transfusión en pacientes onco-

lógicos ambulatorios se descubrió que solo una pequeña proporción del total (19%) recae sobre el producto en sí mismo. Los costos variables de la mano de obra directa (personal directamente involucrado en cualquier fase del proceso transfusional, que varía con el número de transfusiones, p. ej., técnicos de laboratorio, flebotomistas, enfermeras) fueron 17% y los costos fijos (servicios que no varían con el número de transfusiones, p. ej, administradores) 18%.

Una elevada proporción del costo (alrededor del 46%) se debió a la sobrecarga, lo que incluye todos los costos como: 1) propiedad y equipamiento; 2) empresas de servicios públicos; y 3) personal de otros departamentos, como por ejemplo: administradores, recepcionistas, celadores, conserjes, etc. Dicho estudio fue desarrollado sobre pacientes con cáncer que requerían transfusión y que, por otra parte, pueden ser más costosos que los pacientes quirúrgicos. Sin embargo, incluso considerando esto, está justificado concluir que sobre la base de sus resultados el costo directo de los productos sanguíneos es sólo una parte muy pequeña del total del proceso. Además, en el mismo estudio se señala que el costo-efectividad de las alternativas a la transfusión (p.ej.: factores de crecimiento o eritropoyetina) puede haber sido subestimado dado que el costo de la transfusión está sólo parcialmente incluido en dichos cálculos.

Existe, por otra parte, un gran número de estudios de costo-efectividad,

que generalmente se realizan cuando se introducen nuevos enfoques e iniciativas para mejorar la seguridad transfusional.

Los cálculos sobre el beneficio de la terapia transfusional deben basarse sobre: 1) riesgo estimado (p. ej.: transmisión de enfermedades y otros efectos deletéreos del tratamiento con hemocomponentes); 2) gravedad de la enfermedad para la que se indica la transfusión; 3) grado de supervivencia de los pacientes y otros factores.

El QALY (Quality Adjusted Life Years – Calidad en Años de Vida Ajustados)\* es un indicador utilizado en la valoración del costo-efectividad de la práctica clínica y también ha sido utilizado como indicador en terapia transfusional. La suma de US\$ 50.000/QALY es el punto de corte, por encima del cual no se considera una medida costo-efectiva.

## Procesos en el servicio de transfusión

### 1. Captación de donantes y donación

El reclutamiento de donantes es una función esencial y un elemento de costo inevitable en medicina transfusional. El proceso de reclutamiento es una tarea bastante diferente a las de la actividad hospitalaria convencional, y en ocasiones explica la dificultad que tiene el director del banco de sangre en convencer al director de la institución a la hora de elaborar el presupuesto

\* El año de vida ajustado por calidad es una medida de la carga de la enfermedad, e incluye tanto la calidad como la cantidad de años que se vive. Se utiliza para evaluar la relación calidad-precio de una intervención médica concreta.

anual. El desarrollo de los actuales sistemas electrónicos e informáticos ayuda y puede ofrecer un ahorro de costos.

La extracción de sangre convencional sigue siendo prácticamente igual, y en este caso el ahorro de costos no es previsible. Por el contrario, las nuevas tecnologías (por ejemplo: instrumentos para obtener hematíes o plaquetas de forma automatizada) tienden a ser más costosas que los procedimientos clásicos. La mejora de la seguridad y calidad del producto obtenido por este procedimiento impulsa la utilización de estos sistemas. Por último, se deben añadir los nuevos y costosos sistemas de aféresis introducidos con la finalidad de compensar la falta de donantes.

## 2. Costo de las pruebas analíticas

Las medidas básicas de seguridad realizadas sobre las donaciones, tales como el tipaje ABO, HBsAg, anti-VIH y anti-VHC son extremadamente costo-efectivas. Por ejemplo, en Estados Unidos se ha estimado que la prueba de anticuerpos anti-VIH resulta con un costo-efectividad de US\$3600/QALY. Estas cifras todavía son mejores en aquellos países que tienen una elevada prevalencia de VIH. Por otra parte, si se añade la determinación del antígeno p24 el costo llega a ser de US\$2,3 millones/QALY; y por último, la adición de la biología molecular para el VIH es de US\$2,0 millones/QALY. Se ha visto que si introducimos la determinación del antígeno p24 en aquellos países en donde el grado de transmisión del VIH excede a 1/12.500 el costo-efectividad podría mejorar a menos de US\$50.000/QALY.<sup>17</sup>

En los Países Bajos, con una frecuencia de un donante HIV positivo/año, se estimó que la introducción de la biología molecular para el HIV tendría un costo de US\$77.500 QALY/año de vida ganado; en la misma publicación se comenta que si se detectara una infección en dos años la cifra correspondiente se iría a US\$171.000.<sup>18</sup>

En una revisión<sup>19</sup> realizada en 2002 se comparan diferentes relaciones de coste-efectividad en los métodos de detección de VHC:

1. La determinación, exclusivamente, de la transaminasa ALT para la prevención de la transmisión se presenta costo-efectiva; sin embargo, para la detección de la hepatitis fue más pobre.
2. La determinación de anticuerpos anti-VHC fue muy efectiva; sin embargo, añadir la ALT no mejoró el efecto. Evidentemente, estos cálculos permitieron al Instituto Nacional de la Salud Americano recomendar la retirada de la determinación de la transaminasa.

La implantación de nuevas técnicas de seguridad transfusional no afecta exclusivamente al terreno científico o al económico. La FDA (Food and Drug Administration) y la EMEA (European Agency for the Evaluation of Medical Products) recomiendan el uso del NAT en la determinación analítica del VHC. En una publicación del año 2000<sup>20</sup> se estima que los protocolos que utilizan biología molecular para VHC tienen un costo de US\$1,8 millones/QALY. En cualquier caso, y aunque la introducción de la biología molecular en la detección del VHC produce poco beneficio, un gran número de países anali-

zan las muestras de forma individual o en pool de diferentes tamaños (24 a 96 muestras). La detección mediante técnicas de biología molecular del VHC es obligatoria en los países de la Unión Europea.

Un trabajo realizado en Suecia en 1998<sup>21</sup> revela que el Instituto Sueco de Salud y Bienestar tomó la decisión de cribar para el HTLV solamente a donantes de primera vez. En este caso la decisión fue sencilla, dado que la prevalencia del virus en donantes suecos es baja (2/100.000 donantes) y el costo de analizar a todos los donantes era 18 veces superior (alrededor de US\$3 millones anuales). Se estimó que el análisis de todos los donantes podría prevenir una muerte cada 200 años a un costo de, al menos, US\$36 millones. Esta misma medida ha sido adoptada en todos aquellos países en los que la prevalencia de HTLV es baja.

### Componentes

La leucorreducción de plaquetas y hematíes, médicamente indicada, suele ser costo-efectiva.<sup>19-22</sup> No existe costo-efectividad ni indicación médica clara en aquellos pacientes que a lo largo de su vida reciben pocas unidades de sangre.

La filtración pre-almacenamiento de hematíes y plaquetas es obligatoria en muchos países. El riesgo de transmisión del vCJD puede haber influido en tal decisión. También pueden haber influido razones públicas o políticas al aceptar estos considerables costos de utilización del plasma virus atenuado vs el plasma estándar.<sup>23</sup>

En otras publicaciones<sup>24,25</sup> sobre costo-efectividad del plasma tratado con solvente-detergente se informó que

se había pasado, en cinco años, de US\$ 290.000/QALY a multiplicar por cinco dicha cifra. Esto, fundamentalmente, se debe a la introducción de mejoras en las técnicas analíticas para VIH, VHB y VHC y, lógicamente, pudo haber influido la retirada, en 2002, del mercado norteamericano del plasma tratado con solvente-detergente.

Varios autores<sup>26-29</sup> entienden el bajo costo-efectividad como debido a un actual bajo riesgo de infección por virus transmitidos por transfusión y a la elevada edad y mal pronóstico a corto plazo de los receptores de hemocomponentes.

### Manejo de la sangre

Los estudios de Forbes y Cremieux<sup>15,16</sup> muestran unos costos de manejo y administración, y de laboratorio, del 73% y 81%, respectivamente en referencia al costo total de la transfusión. De este modo sería posible que la atención principal en la reducción de costos se diera en estos conceptos. En los hospitales es complicado el cálculo de todos estos aspectos puesto que faltan modelos para poder realizarlos.

### Manejo de las reservas

Estudios recientes<sup>30</sup> han revelado que el personal del banco de sangre puede disminuir (por la vía administrativa y de organización) la caducidad y la pérdida (debida al mal manejo) del plasma fresco congelado y de las unidades de plaquetas. El mismo grupo<sup>31</sup> encontró que la relación sangre cruzada: sangre transfundida (C:T) varía de 1,5 a 2,4 o más en un estudio realizado en 1639 instituciones públicas y privadas de los

Estados Unidos. Las tasas de caducidad de los concentrados de hematíes varían de 0,1% a 3,5% o más, y las tasas de pérdida, de 0,1% a 0,7%. Estos autores concluyen que el personal del banco de sangre puede mejorar la relación C:T y rebajar la pérdida de concentrados de hematíes mediante el establecimiento de un umbral sobre C:T y la monitorización de las peticiones de hemoderivados.

## Referencias

1. Sullivan SD, Chitwood-Dagner K, Gritar JA, Mather D. Formulary submission guidelines(monograph on the internet), 2002 (cited 2010 Jan 4). Available from: URL: <http://www.fmcpcnet.org/data/resource/formatv20.pdf>.
2. Mauskopf JA, Sullivan SD, Annemans L, Caro, J, Mullins CD, Nuijten M, Orlewska E, Watkins J, Trueman P. Principles of good practice for budget impact analysis: report of ISPOR Tak Force on good research practices – budget impact analysis. *Value Health* 2007; 10:336-46.
3. Morgan SG,McMahon M,Mitton C, Roughead E, Kirk R, Knavos P, Menon D. Centralized drug review processes in Australia, Canada, New Zealand, and the United Kingdom. *Health Aff (Milwood)* 2006; 25: 337-47.
4. Clement FM, Harris A, Li JJ, Yong K, Lee KM, Manns BJ. Using Effectiveness and cost-effectiveness to make drug coverage decisions: a comparison of Britain, Australia and Canada. *JAMA* 2009; 302:1437-43.
5. Neumann PJ. The arrival of economic evidence in managed care formulary decisions: the unsolicited request process. *Med Care* 2005; 43:27-32.
6. Amin M, Ferguson D, Wilson K, Tinmouth A, Aziz A, Coyle D, Hebert P. The societal unit cost of allogenic red blood cells and red blood cell transfusion in Canada. *Transfusion* 2004; 44:1479-86.
7. Custer B, Johnson ES, Sullivan SD, Hazlet TYK, Ramsey SD, Murphy EL, Busch MP. Community blood supply model: development of a new model to assess the safety, sufficiency and cost of the blood supply. *Med Decis Making* 2005;25:571-82.
8. Cremieux PY, Barrett B, Anderson K, Slavin MB. Cost of outpatient blood transfusion in cancer patients. *J Clin Oncol* 2000;18:2755-61.
9. Guest JF, Munro CV, Cookson RF. The annual cost of blood transfusions in the United Kingdom. *Clin Lab Haematol* 1998;20:111-18.
10. Varney SJ, Guest JF. The annual cost of blood transfusions in the UK. *Transfus Med* 2003;13:205-18.
11. Tretiak R, Laupacis A, Riviere M, McKerracher K, Souetre E,. Cost of allogenic and autologous blood transfusion in Canada. Canadian Cost Study Group. *CMAJ* 1996; 154:1501-8.
12. Shander A. The cost of blood: multidisciplinary consensus conference for a standard methodology. *Transfus Med Rev* 2005;19:66-78.
13. Shander A, Hofmann A, Ozawa S, Theusinger OM, Gombotz H, Spahn DR. Activity-based costs of blood transfusion in surgical patients at four hospitals. *Transfusion* 2010; 50:753-65.
14. Agrawal S, Davidson N, Walker, Gibson S, Lim C, Morgan CL, Cowell W. Assessing the total costs of blood delivery to hospital oncology and haematology patients. *Cur Med Res Opin* 2006; 22:1903-9.
15. Forbes JM, Anderson MD, Anderson GF, Bleeker GC, Rossi EC, Moss GS. Blood transfusion costs: a multicenter study. *Transfusion* 1991; 30:318-23
16. Cremieux P-Y, Barret B, Anderson K, Slavin MB. Cost of outpatient blood transfusion in cancer patient. *J Clin Oncol* 2000; 18:2755-2661
17. AuBuchon JP, Birkmeyer JD, Busch MP. Cost-effectiveness of expanded human immunodeficiency virus-testing protocols for donated blood. *Transfusion* 1997; 37: 45-51.
18. Postma MJ, Los APH, Ruitenberg EJ, Sint Sibinga CTh. Cost-effectiveness of HIV NAT screening for Dutch donors. In Smit Sibinga

- CTh, Cash JD (ed), *Transfusion Medicine: Quo vadis? What has been achieved, what is to be expected*. Kluwer Academic Publishers, 45-51, 2001.
19. van Hulst M, de Wolf JTM, Staginnus U, Ruitenber EJ, Postma MJ. Pharmacoeconomics of blood transfusion safety: review of the available evidence. *Vox Sang* 83:146-155, 2002.
  20. Pereira A, Sanz C. A model of the health and economic impact of post transfusion hepatitis C: application to cost-effectiveness analysis of further expansion of HCV screening protocols. *Transfusion* 2000; 40: 1182-1191
  21. Tynell E, Anderson S, Lithander E, Ameborn M, Blomberg J, Hanson HN, Krook A, Nomberg M, Ramstedt K, Shanwell A, Bjorkman A. Screening for human T cell leukaemia// Lymphoma virus among blood donors in Sweden: cost-effectiveness analysis. *BMJ* 1998; 316:1417-1422
  22. Blumberg N, Heal JM, Cowles JW, Hicks GL Jr, Risher WH, Samuel PK, Kirkley SA. Leukocyte-reduced transfusions in cardiac surgery. Results of an implementation trial. *Am J Clin Pathol*, 2002; 118: 376-381
  23. Pereira A. Cost-effectiveness of transfusing virus-inactivated plasma instead of standard plasma. *Transfusion* 1999; 39:479-487.
  24. Jackson BR, AuBuchon JP, Birkmeyer JD. Update of cost-effectiveness analysis for solvent-detergent-treated plasma. *JAMA*, 1999 281(4): 329.
  25. AuBuchon JP, Birkmeyer JD. Safety and cost-effectiveness of solvent-detergent-treated plasma. *JAMA*, 1994 272: 120-1214.
  26. Lopez-Plaza I, Weissfeld J, Triulzi DJ. The cost-effectiveness of reducing donor exposures with single-donor versus pooled random-donor patient. *Transfusion* 1999; 39:925-932
  27. Monk TG, Goodnough LT, Birkmeyer JD, Brecher ME, Catalona WJ. Acute normovolemic hemodilution is a cost-effective alternative to preoperative autologous blood donation by patients undergoing radical retropubic prostatectomy. *Transfusion*, 1995 35: 559-565.
  28. Goodnough LT, Grishaber JE, Birkmeyer JD, Monk LT, Catalona WJ: Efficacy and cost-effectiveness of autologous blood predeposit in patients undergoing radical prostatectomy procedures. *Urology*, 1994, 44:226-231.
  29. Etchason J, Petz L, Keeler E, Calhoun L, Kleinman S, Snider C, Fink A, Brook R. The cost-effectiveness of preoperative autologous blood donations. *NEJM*, 1995, 332: 719-724.
  30. Novis DA, Renner S, Friedberg RC, Walsh MK, Saladino AJ. Quality indication of fresh frozen plasma and platelet utilization. *Arch. Pathol. Lab. Med*, 2002. 126: 527-532. .
  31. Novis DA, Renner S, Friedberg RC, Walsh MK, Saladino AJ. Quality indicators of blood utilization: three College of American Pathologist Q-Probes studies of 12.288.404 red blood cells units in 1639 hospitals. *Arch. Pathol. Lab. Med*, 2002. 126: 150-156.

# Suficiencia de sangre

MARÍA CRISTINA MARTÍNEZ\*  
CLAUDIA HERRERA GARBARINI\*\*  
SARELLA GARRIDO\*\*\*  
EDUARDO YAKSIC\*\*\*\*

## Importancia del suministro de sangre

La importancia de la transfusión de sangre y componentes sanguíneos como medio de salvar vidas humanas quedó demostrada ya en la Segunda Guerra Mundial, y desde esa época pasó a incorporarse a las actividades hospitalarias habituales. Sin transfusión el manejo de hemorragias graves resulta difícil y muchas intervenciones quirúrgicas no podrían efectuarse con seguridad. Los trasplantes y ciertos trastornos hematológicos no es posible tratarlos sin el apoyo de un servicio de transfusión adecuado.

Cubrir la demanda de sangre y componentes sanguíneos es el objetivo principal de los servicios de sangre, y es alcanzable con la buena voluntad

- \* *Directora Centro de Sangre. Concepción, Chile.*
- \*\* *Subdirectora Médica Centro de Sangre Concepción, Chile.*
- \*\*\* *Responsable Gestión Operativa Centro de Sangre Concepción, Chile.*
- \*\*\*\* *Responsable Gestión de Procesos Centro de Sangre, Concepción, Chile.*

y generosidad de los donantes altruistas, una gestión eficiente de inventarios, un uso apropiado de la sangre y sus componentes y el uso de alternativas farmacológicas por parte de los clínicos.

La cadena de suministro incluye: el donante voluntario, el servicio de sangre, el laboratorio del hospital (o de servicio transfusional), el médico que prescribe y el receptor de los componentes sanguíneos. Es responsabilidad de los servicios de sangre minimizar las pérdidas en la producción y la eliminación por caducidad y adoptar una buena práctica de gestión de inventarios tanto en los centros como en los hospitales. Por otra parte, los clínicos son responsables de prescribir componentes sanguíneos cuando no existe otra alternativa y los beneficios superen los riesgos. La sangre es un recurso donado libremente y se requiere una estrecha colaboración en toda la cadena para asegurar que esté siempre disponible y se use para el máximo beneficio terapéutico del paciente.

### La autosuficiencia en el suministro de sangre y componentes sanguíneos

La donación de sangre total (450 ml  $\pm$  10%) se procesa y transforma en concentrado de glóbulos rojos y, de acuerdo con el requerimiento, concentrados de plaquetas, plasma fresco congelado y crioprecipitado. En muchos países desarrollados la sangre se somete a una leucodepleción universal por varias razones: para reducir el riesgo de transmisión de la variante de la enfermedad de Creutzfeld Jacob, para remover los

virus asociados a los leucocitos (por ejemplo, el citomegalovirus) y para reducir otras complicaciones de la transfusión asociadas a la presencia de los glóbulos blancos [por ejemplo, el desarrollo de anticuerpos contra los antígenos leucocitarios humanos (HLA)], responsables de la refractariedad a la transfusión de plaquetas o de problemas con futuros trasplantes.

Posterior a la leucodepleción, los concentrados de glóbulos rojos son resuspendidos en una solución aditiva para mantener su viabilidad con un volumen final de 220 ml a 340 ml. Los concentrados de glóbulos rojos se pueden almacenar por cuarenta y dos días en un rango de temperatura controlada de 2 – 6 °C. Los cambios que se pueden producir durante el almacenamiento incluyen la pérdida de viabilidad, cambios en el metabolismo, reducción del pH y un aumento del nivel de potasio en el plasma. Las plaquetas pueden obtenerse a partir de la donación de sangre total, a través del *pool de buffy coat* de cuatro (o más) donaciones de sangre total o por medio de una donación de plaquetas por aféresis. El porcentaje de plaquetas preparadas a partir de *buffy coat* y por aféresis varía en los distintos países. La administración de plaquetas por aféresis puede orientarse a receptores pediátricos a fin de reducir el riesgo de transmisión de infecciones transmitidas por la transfusión reduciendo su exposición a varios donantes. Las plaquetas de aféresis se deben someter a las mismas exigencias de estudios que las donaciones de sangre total.

El beneficio importante de la colección de plaquetas por aféresis en los donantes que tienen tipaje HLA y estu-



dio para antígenos plaquetarios humanos, es que estas donaciones se pueden usar para cubrir los requerimientos de los pacientes con refractariedad a plaquetas y para cubrir requerimientos específicos en la transfusión intrauterina del feto o en la transfusión del neonato que presente una trombocitopenia aloinmune.

Los concentrados de plaquetas son suspendidos en plasma para su conservación (o un medio de conservación de plaquetas) y se pueden almacenar por un período de hasta cinco días en agitación continua entre 20 °C a 24 °C. Las plaquetas tienen una vida media más corta por la pérdida de la viabilidad durante el almacenamiento y por la potencial contaminación bacteriana. En consecuencia, estas tienen exigencias distintas para la gestión de inventarios. Para asegurar su suficiencia en períodos de feriados legales prolongados es necesario que los servicios de sangre generen políticas de abastecimiento extraordinarias. Si se cuenta con técnicas de detección de contaminación bacteriana para plaquetas previo a su uso y se cuenta con plaquetas filtradas, su vida media puede ser extendida hasta siete días para cubrir los períodos de días festivos. Esto se debe mirar de acuerdo con la legislación de cada país, y si está universalmente aceptado. En relación con el plasma, a causa del riesgo de transmisión de infecciones virales muchos países han adoptado la inactivación viral. El plasma fresco congelado puede ser viro inactivado con un tratamiento con azul de metileno o tratamiento con solvente detergente. El azul de metileno es utilizado para cada unidad de plasma en forma indi-

vidual, mientras que el tratamiento con solvente detergente solo es aplicable a grandes cantidades de plasma. Ambos métodos han probado una buena protección viral, pero se asocian con una pérdida de factores de coagulación. Un suministro adecuado de los cuatro componentes sanguíneos básicos de la sangre (glóbulos rojos, plaquetas, plasma y crioprecipitado) es parte esencial de todo sistema moderno de atención sanitaria. Por su origen y naturaleza estos componentes sanguíneos son recursos escasos sujetos a varios condicionantes. Las características específicas de cada uno de ellos determina un tiempo válido de uso, después del cual deben desecharse. Sus implicaciones en cualquier programación para lograr un suministro adecuado son claras: si no se hace una planificación adecuada se presentará una situación de carencia y no se podrá cubrir la demanda, o bien se tendrá un exceso de producción que no se podrá utilizar por caducidad. Por otra parte, la utilización de los productos sanguíneos no es constante a lo largo del año. Las fluctuaciones pueden corresponder a factores distintos en función de las actividades de los hospitales (períodos vacacionales), o bien totalmente ajenas al trabajo asistencial como son las zonas de gran afluencia turística estacional. Se define como un suministro adecuado aquel que basta para atender las necesidades de un sistema de salud de un país. Sin embargo, ello no depende exclusivamente de la cantidad absoluta, sino también de la calidad y del tipo de componentes sanguíneos disponibles. La autosuficiencia de sangre y productos sanguíneos significa que un país es capaz de proveer

a partir de su propia población sangre suficiente y plasma para cubrir las necesidades clínicas de componentes sanguíneos y de todos los productos derivados del plasma. Todos los países deben aspirar a la autosuficiencia en el suministro. La falta de una producción adecuada puede conducir a situaciones de escasez o a la importación en el caso de los derivados del plasma obtenidos a partir del fraccionamiento industrial.

Muchos países pueden preparar componentes sanguíneos lábiles pero carecen de recursos para el fraccionamiento del plasma. En consecuencia no hay autosuficiencia de los derivados del plasma como la albúmina, las inmunoglobulinas, el factor VIII, el factor IX y otros.

Existen diversas posibilidades para lograr la suficiencia del plasma en un país:

- Desarrollo de las actividades completas de fraccionamiento del plasma, con producción de los principales derivados (Francia, España). Un buen servicio de fraccionamiento depende de la provisión de plasma idóneo y suficiente, de la disponibilidad de recursos financieros, de profesionales adecuados, y de la existencia de un mercado viable.
- Compra de los derivados del plasma en el exterior: los altos costos lo hacen inaplicable en muchos países.
- Compra del plasma en el exterior para fraccionarlo en su país (Inglaterra).
- Obtención del plasma y envío al exterior para que sea fraccionado por contrata: esta opción ha tenido éxito en muchos países en desarrollo.<sup>1</sup>

## Estimación de las necesidades de sangre y componentes sanguíneos

En octubre del año 2008 la Organización Panamericana de la Salud (OPS) en su 48 Consejo Directivo recomienda lo siguiente:

“Deben emprenderse iniciativas para calcular la necesidad anual de sangre y de componentes sanguíneos por zona geográfica y por mes. Para estos cálculos deben utilizarse las guías nacionales para el uso clínico de la sangre y el número posible de casos de afecciones clínicas que requieren transfusiones, incluyendo los traumatismos voluntarios e involuntarios. Para hacer frente a las emergencias imprevistas –desastres naturales provocados por el hombre, brotes de enfermedades infecciosas, campañas de vacunación de emergencia– se recomienda que los sistemas nacionales de sangre dispongan de una reserva suplementaria equivalente al 4%, es decir, dos semanas, de la cantidad que se necesita cada año”.

En la Resolución CD 48.R7 OPS sobre “Mejoramiento de la disponibilidad de sangre y la seguridad de las transfusiones en las Américas”, insta a los Estados Miembros a “calcular las necesidades nacionales anuales de componentes sanguíneos de sangre considerando emergencias imprevistas, los aumentos previstos de la población general y de los ancianos, la inclusión social de las poblaciones actualmente excluidas, los traumatismos por accidente de tránsito, y la adopción local de tecnologías médicas como los trasplantes y ciertos tratamientos del cán-

cer, y los recursos económicos necesarios para satisfacer esas necesidades”.

Hay muchas razones por las cuales es difícil predecir la demanda, ya que depende de los cambios demográficos de la población y de la adopción de estrategias de conservación. La mayoría de los pacientes que requiere transfusión hoy día pertenecen al grupo de edad mayores de sesenta años.<sup>2</sup>

A fin de predecir la demanda en forma más precisa se pueden usar modelamiento matemático, tendencias y otros.

Las necesidades de sangre de un país dependen de la fase de desarrollo de su estructura asistencial, de los tratamientos de sustitución y apoyo y del tipo de intervenciones quirúrgicas que se practiquen. En muchos países la necesidad de sangre durante la cirugía ha disminuido en forma significativa a causa de varios factores que incluyen mejores técnicas quirúrgicas y anestésicas, tratamiento de las anemias corregibles, el uso de agentes antifibrinolíticos, el uso de recuperadores de sangre intra y postoperatorio y protocolos transfusionales estrictos. Sin embargo, se observa a través de auditorías continuas una considerable variabilidad en el uso de la sangre para un determinado procedimiento quirúrgico entre distintos hospitales.<sup>3</sup>

Hay un aumento de la demanda de glóbulos rojos y plaquetas en pacientes de medicina interna y hematooncología, y algunos de ellos son completamente dependientes de la transfusión. En los sistemas asistenciales en países desarrollados es posible satisfacer las necesidades de componentes sanguíneos si el número de unidades de san-

gre donada anualmente corresponde del 3% al 5% de la población, aunque se puede extraer más plasma para fines de obtener derivados del plasma.

## Estimación de la necesidad de donantes

Cuando el sistema asistencial no está plenamente operativo, conviene relacionar las necesidades de sangre no con el tamaño de la población sino con otros factores indicativos de la calidad y extensión de los servicios sanitarios.

La estimación de las necesidades puede basarse en un porcentaje fijo de la población, pero este supuesto no tiene en cuenta la disparidad que existe en muchos países entre el tamaño de la población y el número de camas de hospital. Es más ajustado a la realidad basar el cálculo de las necesidades en el número de camas de hospital para casos agudos, cifra que puede variar de cinco a quince unidades por cama por año. Las proporciones más bajas son aplicables a los hospitales de nivel primario, donde la sangre se necesita principalmente para el tratamiento de hemorragias por complicaciones del embarazo o por traumatismos. Las cifras más altas son aplicables a los hospitales de alta complejidad, que tienen grandes servicios de oncología, efectúan trasplantes y utilizan técnicas quirúrgicas complejas.<sup>1</sup> También pueden influir otras variables como la dificultad para obtener estadísticas sanitarias fidedignas, comparables entre distintos países.

La OMS ha informado que el número de donaciones de sangre por cada 100 habitantes es de 3 a 5 como prome-

dio en los países con un buen desarrollo de los servicios sanitarios, y puede oscilar del 1% a 2% en países con sistemas sanitarios más básicos.<sup>4</sup>

Los donantes de sangre son los protagonistas principales del mundo transfusional. Sin donantes no hay transfusión posible, y solo el poder contar con un número importante de donantes permitirá conseguir los objetivos propuestos.

Además de la incorporación de nuevos donantes es necesaria la fidelización de los ya existentes, entendiendo como tal que los donantes que han hecho alguna donación lo hagan regularmente. Esta estrategia aporta la ventaja de que los donantes regulares son más seguros desde el punto de vista transfusional (estudios microbiológicos repetidos en cada donación y administración de estos productos a múltiples pacientes a través del tiempo).

En un sistema en expansión el número de donantes de sangre es relativamente alto, pero en un sistema plenamente desarrollado la mayoría deberían ser donantes regulares. Teniendo en cuenta a todos los donantes, la media de donaciones anuales se espera que oscile de 1,5 a 2 por donante para cubrir la demanda de glóbulos rojos. Lo que significa que con alrededor de un 3,5% de donantes activos en la población se atenderían todas las necesidades de componentes sanguíneos.<sup>5</sup>

En el año 1975 la Asamblea Mundial de Salud instó a los Estados miembros a “promover el desarrollo de los servicios nacionales de sangre basados en la donación de sangre voluntaria no remunerada”. Resultado de esta propuesta, los países fueron motivados

para lograr una autosuficiencia a partir de donaciones voluntarias no remuneradas y no donaciones colectadas a partir de donantes pagados. Países como Inglaterra y Francia ya habían optado por la autosuficiencia a partir de donantes voluntarios no remunerados a fin de preservar un sistema que había operado así desde el inicio de las colectas de sangre.

La captación y la selección de los donantes de sangre y componentes son de importancia crítica para el buen éxito de un programa, y hay que velar en todo momento por la seguridad de estas personas y por la inocuidad de la transfusión para el receptor. El proceso de selección de donantes sólo será eficaz cuando pueda confiarse en la información que aquéllos facilitan, y se ha demostrado que esto ocurre cuando no se obtiene ganancia material por el acto de donar. Estos problemas de selección de los donantes se reducen cuando el sistema se rige por el principio de la donación voluntaria no remunerada. La donación familiar o de reposición suele someter a las familias a una presión excesiva, lo cual puede llevar a pagar a donantes profesionales. Estos donantes pueden pertenecer a grupos de riesgo y ocultar información lo que agrava el riesgo de transmisión de enfermedades.

## Programación de las colectas de sangre

La cadena productiva de un centro de sangre comienza con la promoción de la donación de sangre y finaliza con la distribución de componentes sanguíneos, por lo que es imperativo que

exista una buena coordinación entre el equipo que planifica las colectas y el equipo responsable de satisfacer la demanda transfusional. Si este equilibrio se rompe habrá problemas de carencia o de caducidad.

Entre la promoción y la distribución de los productos existe el área de las colectas de sangre, el área de la calificación microbiológica e inmunohematológica de las donaciones y el área de producción de componentes sanguíneos. Todas estas áreas deben mantener entre ellas una estrecha colaboración con una comunicación dinámica y fluida para que no se produzcan desajustes importantes. No sirve planificar una colecta si después no existe el material y el personal necesario para atender a los donantes. En el caso que se efectúe la colecta programada, de nada serviría si no existe el dispositivo necesario para su producción. Y finalmente, en el supuesto de que todo llegue a su fin, de poco servirá si no hay necesidad de los productos elaborados.

Para poder calcular y establecer las metas de las donaciones de sangre, base de la planificación de las colectas, se usa la predicción de la demanda de glóbulos rojos.

Cuando se aborda la programación de las colectas de sangre se debe considerar:

- **Aumento anual progresivo de la demanda.** Los tratamientos médicos y quirúrgicos precisan cada vez más soportes transfusionales importantes. En general, los niveles de donación y de consumo en países en desarrollo están todavía algo alejados del sistema transfu-

sional de un país desarrollado; es, por tanto, lógico que la utilización de productos sanguíneos aumente de año en año. Para una región determinada deberá considerarse en primer lugar el análisis de la demanda de años previos. Se tendrá en cuenta la puesta en marcha de nuevos servicios hospitalarios y nuevas técnicas (ej.: cirugía cardiovascular, trasplante hepático, trasplante de médula ósea) y en ciertos casos, la apertura de nuevos hospitales.

- **Definir un inventario de productos sanguíneos.** Hay que definir un nivel de inventarios para cada uno de los productos sanguíneos, teniendo en cuenta su disponibilidad por grupos, de tal manera que cuando los inventarios se sitúen por encima o por debajo de los límites definidos, se desencadenan automáticamente una serie de acciones (ej.: llamadas selectivas a donantes de un grupo concreto, programaciones extraordinarias o suspensión de colectas).
- **Fijar un calendario anual.** El conocimiento de la demanda generada en años anteriores, así como las fluctuaciones en determinados períodos del año, evitan la improvisación. Las colectas deben preverse para todo un año o en su defecto para el período más largo posible. Es una buena política acudir todos los años a un determinado lugar de colecta en las mismas fechas.
- **Tener colectas de reserva para situaciones de disminución de los inventarios.** Ante esta eventualidad es imprescindible contar con

lugares de colecta donde se pueda acudir con facilidad y con resultados garantizados. Estas situaciones se dan sobre todo en colectivos cerrados, donde con mínimas acciones se consigue una buena difusión y fácil sensibilización de los futuros donantes.

- **Cubrir adecuadamente los fines de semana, lunes y festivos.** Muchos establecimientos procesan la sangre de lunes a viernes. Así, las unidades extraídas el viernes y los productos obtenidos no están disponibles para ser transfundidos hasta el lunes siguiente. Por ello se deben tomar las previsiones pertinentes para que las donaciones de sangre efectuadas un jueves cubran sin dificultad la demanda del fin de semana, incluida la del lunes en la mañana. La misma previsión se debe aplicar con ciertos festivos o generar turnos de trabajo extraordinarios para extraer la sangre y procesarla.
- **Optimizar los desplazamientos.** El atender donaciones fuera de los puntos fijos de donación es complejo por el desplazamiento del personal y de material, y muy costoso económicamente, por lo que es conveniente conseguir el mayor rendimiento posible en cada una de las colectas. Hay lugares que por su escaso número de donaciones no son aconsejables. Una planificación cuidadosa que permita acudir a varios de estos sitios próximos entre sí con la misma unidad móvil, posibilitará mantener eficientes donaciones de sangre que no ocurrirían o serían muy costosas.

- **Apertura de nuevos lugares de colecta.** La donación de sangre puede incrementar en la medida que se le ofrezca a la población facilidades para donar. Hay que ir a buscar a los donantes potenciales.
- **Educar al público a utilizar con mesura los medios de difusión social.** La donación de sangre tiene que ser conocida y percibida positivamente por toda la sociedad como una necesidad de todos. Los establecimientos transfusionales deben ser los principales agentes encargados de difundir este mensaje por todos los medios a su alcance (charlas, documentos, visitas de grupos de las instalaciones). Los medios de difusión social pueden ayudar a conseguir este objetivo a solicitud de los centros y suministrar información específica sobre colectas concretas. Los medios también deben estar educados y evitar hacer llamados a donar en épocas de catástrofes sin estar coordinados por el centro de sangre.
- **Previsión de los períodos críticos.** Las épocas de crisis, caracterizadas por un descenso importante de las disponibilidades de productos sanguíneos, sea por escasez de donaciones o por aumento del consumo en ocasiones, son inevitables. Aunque es imposible prever períodos críticos, otros que en general coinciden con períodos vacacionales son conocidos perfectamente. Además, hay que tener presente que a partir de ciertos volúmenes de actividad, la disminución importante de un determinado producto o de un grupo concreto rara vez ocurre

repentinamente. Para evitar los desajustes se pueden adoptar algunas de las siguientes medidas:

1. Reservar colectas de buenos rendimientos para las épocas inmediatas anteriores a los periodos críticos conocidos.
2. Identificar colectivos de donantes que puedan estar disponibles para una respuesta rápida.
3. En aquellos centros donde las donaciones provenientes de centros educativos representen un volumen importante, tener previstas colectas en otros ámbitos durante los períodos vacacionales aunque tengan bajos rendimientos.
4. Utilizar intensivamente el teléfono, mensajes electrónicos (email y mensajes de texto) para convocar a donantes tanto en puntos fijos como en las colectas móviles.
5. Cuando ninguna de estas medidas da resultados, informar de la situación de carencia a través de los medios de comunicación.

## Gestión de Inventarios

La gestión adecuada de los componentes sanguíneos en un centro que debe abastecer un área sanitaria es fundamental para la administración de recursos tanto humanos como materiales. Además, constituye un índice de calidad, ya que de una adecuada gestión se derivan diversas consecuencias: éticas, al evitar desperdicio de sangre humana no justificado; sanitarias, al utilizar componentes sanguíneos en condiciones lo más semejantes a los recién extraídos; y económicas, al evitar consumos innecesarios de

material y reactivos. Pero sobre todo no malgastar el tiempo tanto de donantes como de personal que trabaja en el centro.

Una gestión correcta debe asegurar, en primer lugar, que todos los pacientes tengan los componentes disponibles en el momento que los necesitan; que la obtención de sangre se ajuste al consumo, lo que implica una adecuada programación de colectas; y que el excedente desechado de unidades por caducidad sea el mínimo posible. Para llevar a cabo esta gestión es fundamental determinar las condiciones locales del área, tener datos propios del centro y de cada uno de los servicios de transfusión hospitalarios participantes, crear una base de datos para realizar este análisis, disponer de un programa estadístico, y contar con tiempo suficiente de desarrollo para sacar conclusiones como estacionalidad, impacto de diferentes variables, etc.

Las conclusiones que se pueden obtener de un estudio sistemático de estos datos aportan conocimiento sobre la atención del centro a los servicios de transfusión hospitalarios de su área, evolución de la demanda, características de las reservas en el centro y cantidad óptima de ellas; la gestión de los componentes sanguíneos en cada uno de los hospitales y sus posibles relaciones con variables específicas, así como las causas de disfunción. Un dato importante relativo a la calidad de los componentes puede ser la edad media de ellos en el momento de su salida del centro.

Una vez conocidos los datos reales se pueden tomar decisiones concretas en cuanto a los siguientes puntos:

1. Planificación de colectas para cubrir reservas definidas como óptimas.
2. Definición de las reservas adecuadas de los servicios de transfusión hospitalarios a los que suministra.
3. Análisis de la evolución de las reservas a lo largo del periodo estudiado.
4. Adecuación entre la disponibilidad del centro y las solicitudes de los hospitales tanto en cantidad como en distribución por grupos sanguíneos.
5. Valoración de las posibles causas de desviación.

A partir de esta información se pueden diseñar diferentes estrategias para cada área y medir su eficiencia con los indicadores de calidad oportunos como índice de caducidad, vida media útil del producto despachado, etc. Además, se puede establecer una estrategia de comunicación entre el centro y los servicios de transfusión hospitalarios para aquellas situaciones de disminución puntual en las reservas.

Se puede desarrollar un sistema de predicción de necesidades adecuado a cada situación específica, mediante modelos estadísticos de series temporales.

En principio, las predicciones pueden ser subjetivas y objetivas. Las primeras, aunque tienen su valor, se basan en la experiencia de personas en los procesos que manejan y difícilmente pueden objetivarse en modelos que se puedan seguir por otras personas. Sus resultados no son susceptibles de racionalización y por tanto son difíciles de sustentar. Las de tipo objetivo se consiguen a partir de modelos estadísticos

elaborados de tal forma que puedan ser diseñados, obtenidos y utilizados por cualquier investigador para establecer predicciones. Sin embargo, se conocen técnicas estadísticas que permiten combinar de forma óptima ambos tipos de predicciones, por lo que éstas no deben verse como antagónicas sino como complementarias.

La obtención de datos de manera metódica, así como su análisis sistemático, permite evaluar los sistemas de gestión de inventarios en un centro en varios puntos cruciales. Se puede así observar la evolución de su actividad y tomar decisiones con anticipación que aseguren el funcionamiento correcto. De los datos obtenidos en un estudio realizado por L. Barbolla<sup>6</sup> se puede concluir que las previsiones teóricas son de utilidad y se puede con ellas llevar a cabo una gestión que cumpla con los indicadores de calidad establecidos para el centro y los hospitales.

Como reservas apropiadas se consideró las que cumplen con los siguientes requisitos:

- a) En los establecimientos hospitalarios:
  - Las reservas acordadas fueron atendidas en el 100% de los casos.
  - La necesidad de solicitar unidades de urgencia fue menor que 3% de las unidades solicitadas.
  - La correlación entre unidades solicitadas y despachadas con respecto al grupo ABO y Rh fue de 0,999.
  - Caducidad muy reducida.
- b) En los centros se consideró como inventario apropiado:
  - Si se logró satisfacer el 100% de las solicitudes de los establecimientos hospitalarios.



- Si el inventario estuvo menos de 1% de los días por debajo del stock crítico.
- Si el índice de caducidad de los seis últimos meses fue menor que 1%.
- Si la edad útil de los glóbulos rojos fue mayor de 35 días promedio para todos los hospitales.

Los servicios de sangre necesitan equilibrar la necesidad de contar con un inventario suficiente para cubrir la demanda versus tener un exceso de inventario que lleve a usar glóbulos rojos envejecidos y a la eliminación por caducidad. Un inventario muy elevado en los servicios de sangre implica que los hospitales recibirán componentes con una vida media útil reducida, lo que limita su manejo y distribución dentro del hospital y por consiguiente aumenta la caducidad. En algunos países se ha adoptado la política de mover los inventarios de un centro a otro para asegurar un suministro equitativo a través del territorio. Sin embargo, la falta de una correcta validación de la cadena de frío para el suministro de sangre, que incluye al hospital, hace difícil devolver los inventarios desde un hospital al centro.

## Gestión de inventarios en los hospitales

Los hospitales también requieren equilibrar sus niveles de inventarios a fin de tener suficientes glóbulos rojos para cubrir las demandas clínicas y evitar el exceso que pueda conducir a un aumento de la eliminación por caducidad. Hay varios factores que inciden en los inventarios de glóbulos rojos en los

hospitales, entre ellos el tamaño del establecimiento, el tiempo necesario para el traslado de los productos desde el centro de sangre más cercano, y la presencia de unidades clínicas como trauma y ortopedia.

Una característica de un inventario de glóbulos rojos, y la que más contribuye a diferenciarlo de otros inventarios de bienes perecederos, es la existencia de un subinventario de unidades cruzadas que se mantienen reservadas para pacientes concretos durante un período, tras el cual son devueltas al inventario general si no han sido transfundidas.

Las políticas del servicio transfusional hospitalario también pueden tener un impacto sobre el inventario, como lo describió Chapman J.<sup>7</sup> para los glóbulos rojos Rh D positivos, pues un aumento en el periodo de reserva de las unidades con pruebas cruzadas genera un aumento en el nivel de inventarios, y se ha demostrado una diferencia significativa entre reservas de 24 horas versus reservas de 48 y 72 horas. También se ha demostrado que los hospitales que realizan despacho electrónico en reemplazo de la prueba cruzada serológica reducen el inventario de glóbulos rojos.

## Pérdidas en la cadena de suministro

Hay muchos factores por los cuales se pueden producir pérdidas en la cadena de suministro. Además de las pérdidas por caducidad se observan pérdidas a lo largo de toda la cadena por distintas razones. Las venas inadecuadas, por ejemplo, llevan a una donación in-

completa. Dentro de las pérdidas en el proceso productivo están las atribuidas a fallas en el sellado de tubuladuras y a test microbiológicos de tamizaje repetidamente reactivos. También se pueden perder unidades enviadas para el control de calidad. Entre las razones de eliminación en los hospitales se incluyen las unidades de glóbulos rojos devueltas y que han permanecido por más de media hora fuera de los refrigeradores con temperatura controlada, y las fallas de los refrigeradores que almacenan los componentes.

Merecen destacarse algunos principios generales que han guiado la gestión de inventarios en las últimas décadas:

- Existe una relación inversa entre la tasa de caducidad y la de desabastecimiento. Las iniciativas destinadas a reducir la primera tenderán a incrementar la segunda, y viceversa.
- El despacho de glóbulos rojos para transfusión debe guiarse por un criterio FIFO (*first-in, first-out*: es decir, seleccionar las unidades más viejas), salvo en los casos particulares en que exista una indicación médica en contra.
- Para un nivel de demanda de sangre, las tasas de caducidad y desabastecimiento serán tanto mayores cuanto más prolongado sea el período de reserva y menor la probabilidad de que las unidades asignadas acaben siendo transfundidas a los pacientes para los que fueron reservadas (razón *transfusión reserva*).
- La elección de las unidades de sangre para reserva debe guiarse por un criterio FIFO cuando la razón

transfusión-reserva sea alta. Cuando la razón transfusión-reserva es baja resulta más eficaz el empleo del criterio LIFO (*last-in, first-out*: seleccionar preferentemente las unidades más jóvenes).

Además de estos principios generales se han descrito otras políticas de gestión de inventarios que pueden contribuir a disminuir las tasas de desabastecimiento y caducidad en los hospitales.

- Generalizar el uso del “grupaje y escrutinio de anticuerpos”—el *Type and Screen* (T&S) de la bibliografía anglosajona— como método de compatibilidad para las reservas de sangre. Cuando se emplea el T&S no es necesario mantener subinventarios asignados salvo para la minoría de pacientes que posean anticuerpos irregulares clínicamente significativos. Algunas observaciones indican que los hospitales que emplean este procedimiento consiguen atender la demanda de transfusiones con inventarios y tasa de caducidad y desabastecimiento más reducidas.<sup>8,9</sup>
- Emplear un sistema fiable de predicción que permita estimar con antelación cuál va a ser el promedio y la variabilidad de la demanda diaria de glóbulos rojos para un período dado, y actualizar las previsiones con regularidad.
- De acuerdo con el centro, ajustar el volumen de las remesas de glóbulos rojos, así como la frecuencia de los envíos y la vida útil media de los glóbulos, a las estimaciones de la demanda transfusional del hospital.

- Contribuir a la optimización del inventario regional de componentes mediante la participación en sistemas de rotación de inventarios entre hospitales cercanos que presenten características transfusionales complementarias.<sup>10</sup>
- Determinar el nivel mínimo y óptimo de inventario que cubra las necesidades de los pacientes de la población asignada.
- Almacenar los inventarios para asegurar que los vencimientos próximos queden en el frente del refrigerador/congelador.
- Los servicios de transfusión de los hospitales pueden generar un reporte informático de los productos “prontos a vencer” y pegar este recordatorio en la puerta del refrigerador/congelador para recordar al personal utilizar esos componentes primero.
- Siempre que sea posible, administrar glóbulos rojos y plasma isogrupo a los pacientes; esto ayuda a tener siempre disponible glóbulos O y plasma AB para casos de emergencia.
- Para minimizar el vencimiento de glóbulos rojos Rh D negativo, considerar transfundir estos productos próximos a vencer (<5 días vida útil) a pacientes Rh D positivos.
- Un recuento regular de inventario puede ayudar a la pronta resolución de discrepancias de inventario. Para servicios con un recuento informático, esto puede consistir en comparar el inventario informático con el inventario físico.
- Establecer un esquema de reserva máxima de sangre para distintos tipos de cirugía, basado en el uso histórico. Este esquema debe estar aprobado por el comité de transfusión hospitalario y comunicarse a través de una guía a los médicos y cirujanos. Si el número de pruebas cruzadas solicitadas excede el máximo del esquema el médico debe justificar dicha situación.
- La revisión de la Programación quirúrgica del día siguiente puede ayudar con los pedidos de sangre habituales al centro de sangre.
- Monitorear la tasa prueba cruzada–transfusión (C:T). Un objetivo de C:T de menos de dos se considera aceptable. Clasificar las tasas C:T por médico. El servicio puede destacar prácticas transfusionales que no cumplen con lo publicado en las guías para la transfusión.

### Uso apropiado de la sangre

El uso apropiado de la sangre ha sido definido como el uso correcto de sangre y componentes sanguíneos con el objetivo de minimizar su uso.<sup>11</sup> Aun cuando actualmente la transfusión alogénica está considerada como “más segura que nunca”, este nivel de seguridad se ha alcanzado mediante el aumento de los costos y la disminución de los depósitos.

### Anemia y transfusión

Hay variados trabajos que demuestran que es seguro y efectivo no utilizar la transfusión en una amplia gama de pacientes con trastornos médicos o quirúrgicos. El rol de la transfusión en el manejo de las anemias se ha cuestiona-

do en los últimos años. Se ha demostrado una evolución similar al emplear estrategias transfusionales liberales versus estrategias restrictivas en pacientes críticos normovolémicos que no presentan sangramiento activo ni isquemia coronaria, y que son transfundidos con niveles más altos de hemoglobina.

La Organización Mundial de la Salud establece que en adultos se debe considerar anemia si los niveles de hemoglobina son  $<13$  g/100ml (hombres) y  $<12$  g/100ml (mujeres).

Se sabe que las intervenciones quirúrgicas tienen peores resultados en pacientes anémicos que en aquellos pacientes que cursan con niveles normales de hemoglobina, y la anemia preoperatoria constituye un factor de riesgo mayor de recibir una transfusión alogénica en el perioperatorio. La Asociación Británica de Ortopedia postuló en 2005 que una hemoglobina preoperatoria  $<12$  g/dl aumenta tres veces las posibilidades de transfusión.

En las cirugías electivas generalmente hay un tiempo suficiente entre la programación de la cirugía y su realización, lo que permite el diagnóstico y tratamiento de la anemia preoperatoria. Los exámenes preoperatorios se deben solicitar con una anticipación prudente (30 días), para una adecuada identificación, evaluación y manejo de anemias, al igual que evaluar una historia de sangramiento personal y familiar (extracciones dentales, cirugías previas, partos).

Un estudio de Yazer y Waters<sup>12</sup> mostró que el 27% de los pacientes enfrentaron la cirugía electiva de rodillas con anemia, y en ellos el riesgo de reci-

bir una transfusión aumentó en 7,5 veces en comparación con los pacientes sin anemia preoperatoria ( $p \leq 0.0001$ ). Implementaron un programa computacional que relaciona los resultados de laboratorio con los pacientes que serán sometidos a cirugía electiva en la etapa más precoz posible; si se detecta anemia se genera un correo automático al cirujano que sugiere investigar la anemia antes de la cirugía. Con esto el médico evalúa el beneficio de efectuar la cirugía versus las pérdidas de sangre esperadas y decide tratar al paciente él mismo o derivarlo a un especialista.

Otras medidas simples a las que se puede recurrir son disminuir las muestras de sangre para exámenes diagnósticos en volumen y cantidad; manejar la anticoagulación suspendiendo o reemplazando los medicamentos cuyos efectos sean anticoagulantes durante el perioperatorio: aspirina, antiinflamatorios no esteroideos, agentes antiplaquetarios y anticoagulantes, evaluando costos-beneficios.

## Manejo intraoperatorio

Durante el acto quirúrgico se han desarrollado diferentes estrategias para el manejo de las anemias agudas y graves usando técnicas de conservación de sangre para disminuir la exposición de los pacientes a la transfusión alogénica. Estas estrategias comprenden el uso combinado de medicamentos, equipamientos tecnológicos y técnicas quirúrgicas y médicas.

Una de ellas es la recuperación de células, que se puede realizar en diferentes tiempos: recuperar la sangre que se pierde en el sitio quirúrgico,

utilizando una bomba de succión, que luego filtra, lava y reinfunde la sangre al paciente; o recuperar la sangre que drena de las heridas después de la cirugía usando dispositivos que colectan, filtran y en algunos casos lavan la sangre drenada. El valor de estos procedimientos en un programa de gestión de uso apropiado de la sangre radica en la capacidad que tienen de disminuir el uso de sangre alogénica; también han logrado reducir o eliminar los programas de transfusión autóloga programada con el beneficio de que los pacientes enfrentan la cirugía con niveles más altos de hemoglobina. Son procedimientos con pocas contraindicaciones y requieren, además del equipamiento, un personal entrenado y una adecuada estandarización de los procesos.

Otras medidas utilizadas durante el acto quirúrgico son la electrocauterización, el uso de productos sellantes como la cola de fibrina, la elevación del sitio quirúrgico, el uso de torniquetes, la infiltración con vasoconstrictores locales, el uso de hemostáticos tópicos, el mantenimiento de la normotermia, y otros.

La hemodilución normovolémica aguda es una técnica efectiva y de bajo costo, que lleva a reducir la pérdida de glóbulos rojos en casos de cirugías con alta probabilidad de sangramiento. Consiste en colectar una o más unidades de sangre del paciente inmediatamente antes de la inducción anestésica o durante ella, y reemplazarlas por fluidos. La sangre perdida durante la intervención, al estar diluida, contendrá menos glóbulos rojos y factores de coagulación. Al final de la cirugía o cuando los umbrales de hemoglobina

lo aconsejan se reinfunde la sangre colectada del paciente.

## Estrategias farmacológicas

En los pacientes con déficit de hierro confirmado se debe buscar la causa y deben ser tratados con hierro oral; si no responden o no lo toleran bien, con hierro endovenoso.

Los fármacos antifibrinolíticos aprotinina, ácido tranexámico (ATX) y ácido épsilon aminocaproico (EACA) reducen la pérdida de sangre y la necesidad de transfusiones de glóbulos rojos durante la cirugía y después de ella. Son ampliamente utilizados, en particular en la cirugía cardíaca, aunque en los últimos años se han planteado interrogantes con respecto al efecto comparativo de los fármacos. En 2008 se cuestionó la seguridad de la aprotinina, por el aumento del riesgo de complicaciones cardiovasculares y muerte.

La eritropoyetina, cuyo uso establecido es para anemia en pacientes con insuficiencia renal crónica, se ha utilizado en personas con anemias muy agudas y que no pueden recibir transfusiones. Para que el efecto de la eritropoyetina sea el esperado, es necesario que el paciente se encuentre con adecuados depósitos de hierro; si hay déficit, se puede utilizar hierro endovenoso.

## Mirando hacia el futuro

Hasta el día en que los componentes sanguíneos estándar puedan ser reemplazados por productos de bioingeniería celular, los enfermos seguirán dependiendo de los donantes voluntarios sanos. Los sistemas modernos de salud

requieren de un suministro adecuado y seguro de sangre para lograr cubrir su demanda. Es posible que en el futuro los requerimientos de productos sanguíneos que hoy son predecibles para procedimientos estándar, se vean enfrentados a cambios inesperados de la demanda, que la cadena de suministro se haga cada vez más sensible a los problemas logísticos y que las tasas de pérdida aumenten.

Para hacer frente a los desafíos de las futuras demandas de sangre se debe evaluar en forma constante la población activa de donantes, los donantes rechazados y la población de donantes inactiva. Es necesario realizar investigaciones conducentes a identificar las razones por las cuales la gente se niega a donar.

Los cambios demográficos actuales están causando un doble impacto: reducción de la población de adultos jóvenes candidatos a transformarse en donantes, y aumento de la población mayor de sesenta años. Se está generando un aumento de la demanda de sangre por el aumento de pacientes en edad avanzada, que coincidirá con la reducción de los donantes. Esto inevitablemente podría generar escasez en el suministro de la sangre si no se aumenta el porcentaje de donantes en todos los grupos etarios.

El aumentar las tasas de donación requiere una investigación sistemática sobre los donantes, intervenciones basadas en la evidencia, con grupos multidisciplinarios que incluyan epidemiólogos, científicos sociales y expertos en medicina transfusional. Un ejemplo en esta línea es la decisión que adoptó el Blood and Transplant (NHSB) en Inglaterra

de permitir a los donantes masculinos donar cuatro veces en el año con un plazo de doce semanas entre las donaciones. Este cambio les podría significar, según declaración de Sheldon A., responsable de enfermería del NHSBT, un potencial extra de 100.000 unidades de sangre cada año, con una mejoría de los inventarios que les permitirá hacer frente a la demanda diaria de los hospitales de 7.000 unidades de glóbulos rojos.

Por otra parte, es necesario optimizar la práctica médica a fin de disminuir las transfusiones innecesarias cuando esto sea posible. Los médicos que transfunden deberán ser cada vez más conscientes del valor de la donación de sangre entregada en forma altruista por un donante sano voluntario fidelizado, y deberán aplicar todas las medidas necesarias para disminuir al mínimo el mal uso y las pérdidas de este producto escaso.

Los criterios de selección de los donantes y los procedimientos de estudio deben buscar un equilibrio entre proveer una seguridad óptima para el donante y el receptor y asegurar un adecuado suministro de productos sanguíneos. Las nuevas estrategias y métodos de reducción de patógenos ayudarán a mejorar en esta línea.

## Referencias

1. Gibbs W, Britten A. Pautas para la Organización de un Servicio de Transfusión de Sangre OMS 1993;8-9.
2. Greinacher A. Demographic changes: the impact for safe blood supply. *Vox Sanguinis* 2010;5:239-243.
3. Chapman JF, Cook R. The Blood Stocks Management Scheme, a partnership venture between the National Blood Service of

- England and North Wales and participating hospital for maximizing blood supply chain management. *Vox Sanguinis* 2002;83:239-246.
4. Dhingra N. Global Perspectives in Transfusion Medicine, *The Blood Supply Worldwide* 2006;5-23.
  5. Hollán S, Wagstaff W, Leikola J. Gestión de Servicios de Transfusión de sangre OMS 1991;8-9.
  6. Barbolla L, Monsalve F. Gestión de Stocks: Planificación en un Centro de Transfusión. *Haematologica/edición española* 2005;90(Supl 1)163-168.
  7. The Blood Stocks Management Scheme. [www.bloodstocks.co.uk](http://www.bloodstocks.co.uk)
  8. Georgsen J, Kristensen T. From serological to computer crossmatching in nine hospitals. *Vox Sang.* 1998;74 Suppl 2 :419-425.
  9. Pereira A. Performance of time series methods in forecasting the demand for red blood cell transfusion. *Transfusion.* 2004;44:739-46.
  10. Lau P., Morand PG. Regional blood inventory management development, implementation and 30 month follow up. *Vox Sang.* 1981;41:50-5.
  11. Goodnough L, Shander A. Blood Management. *Arch Pathol Lab Med* 2007 131: 695-701.
  12. Yazer M., Waters J. How do I Implement a Hospital Based Blood Management Program *Transfusion* 2012; 52(8):1640-5





# Situación de los servicios de sangre en América Latina

JOSÉ RAMIRO CRUZ\*

## Propósito

El presente documento resume la situación de los servicios de sangre en América Latina, de acuerdo con información publicada hasta el año 2011, y pretende analizar su desarrollo durante la primera década del siglo XXI.

## Introducción

Los servicios de sangre en América Latina han avanzado en forma significativa durante el siglo XXI.<sup>1</sup> Esto se puede aseverar gracias a la existencia de datos que las autoridades de salud de cada uno de los países reúne en forma regular y que la Organización Panamericana de la Salud resume y publica periódicamente.<sup>2-5</sup> Los datos oficiales han sido usados por varios autores para

\* *Consultor Privado, Organización, Gerencia y Funcionamiento de Sistemas de Sangre. Estados Unidos de América.*

analizar la disponibilidad y la seguridad de los hemocomponentes, así como la organización, el marco legal y el funcionamiento de los sistemas nacionales de colecta y procesamiento de sangre.<sup>6-9</sup> Información adicional publicada en artículos de revistas

científicas y en documentos técnicos permite hacer un análisis más detallado del nivel de desarrollo de los servicios de sangre y los factores que lo afectan.<sup>10-12</sup>

El Cuadro 1 contiene algunos indicadores que ilustran cómo los servicios

**Cuadro 1.** Progreso de los sistemas de sangre, América Latina 2001-2009

Indicador	2001	2005	2009
<b>COLECTA DE SANGRE</b>			
Número de unidades colectadas	6.256.568	7.976.737	9.077.212
Tasa de donación/10.000 habitantes	126,8	147,5	162,1
Países con tasa de donación < 100	10	9	5
Promedio nacional de tasa de donación	134,2	132,5	146,1
desviación estándar	119,8	93,3	74,7
mediana aritmética	97,0	109,3	129,6
<b>DONACIÓN VOLUNTARIA</b>			
Número de donaciones voluntarias	952.658	2.950.018	3.570.185
Proporción de donaciones voluntarias	15,2%	36,6%	39,3%
Países con < 10%	10	9	5
Países con >50%	1	4	5
Promedio de donación voluntaria	18,6%	26,3%	31,4%
desviación estándar	24,3	27,4	30,6
mediana aritmética	10	10	19
<b>TAMIZAJE DE ITT</b>			
Número de unidades no tamizadas para VIH	6.519	87.875	1.708
para hepatitis C	53.956	91.311	1.392
para <i>T. cruzi</i>	1.119.382	959.662	288.405
Número de países con tamizaje universal	5	11	17
<b>PREVALENCIA DE MARCADORES<sup>1</sup></b>			
Intervalo	0,34-8,10	0,40-6,68	0,49-9,70
Promedio	2,60	2,51	2,63
Desviación estándar	1,75	1,50	2,11
Mediana aritmética	2,31	2,39	1,96
Número de países con >2,00	13	12	9
<b>PREPARACIÓN DE COMPONENTES<sup>2</sup></b>			
Número de países con ≥ 90 %	1/16	2/19	10/17
Intervalo	1-94	32-95	39-100
Promedio	64,19	69,26	83,65
Desviación estándar	24,19	21,94	18,01
Mediana aritmética	71,5	78	90

1 Suma de prevalencias de VIH, HBsAg, HCV y sífilis.

2 Proporción de separación de concentrados de eritrocitos

Referencias 1,2-5.

de sangre de Latinoamérica progresaron durante el periodo 2001-2009.<sup>2,4,5</sup> El número de unidades de sangre colectadas aumentó de 6.256.568 en 2001 a 9.077.212 en 2009, cifra que representa el 45% de incremento. Es claro que con el tiempo la población de América Latina creció, por lo que es importante hacer notar que durante el mismo periodo la tasa de donación por 10.000 habitantes para el conjunto de países latinoamericanos pasó de 126,8 a 162,1. Es más, en 2001 hubo 10 países con tasas de donación menores que 100 por 10.000 habitantes, mientras que en 2009 fueron solo cinco los países que colectaron menos de 100 unidades de sangre por cada 10.000 habitantes.

El Cuadro 1 también resume los adelantos en cuanto a la donación voluntaria de sangre.<sup>2,4,5</sup> En 2001 únicamente 15% de las unidades de sangre colectadas provino de donaciones voluntarias, proporción que alcanzó 36,6% en 2005 y 39,3% en 2009. En el año 2001, 10 países tenían menos del 10% de donantes voluntarios altruistas, mientras que en 2009 fueron apenas cinco los países que no alcanzaron el 10%. En contraste, en 2001 solo un país, Cuba, colectaba más del 50% de sus unidades de donantes voluntarios, cifra que aumentó a cinco en 2009. Hubo también aumento en el promedio y en la mediana de las proporciones nacionales de donación voluntaria (Cuadro 1).

Otro aspecto que mejoró del año 2001 al 2009 fue la cobertura del tamizaje de unidades para detectar marcadores de infecciones transmisibles por transfusión (ITT).<sup>2,4,5</sup> El número de unidades no tamizadas se redujo drásticamente, mientras que el número de países con

tamizaje universal subió de 5 a 17 durante los nueve años. (Cuadro 1).

Por último, el Cuadro 1 describe cómo se incrementó la proporción de unidades de las cuales se prepararon concentrados de eritrocitos.<sup>1,2,4,5</sup> En el año 2001, 16 países incluyeron este dato en su informe anual a la Organización Panamericana de la Salud.<sup>2</sup> De los 16 países, solo Venezuela informó haber preparado concentrados de glóbulos rojos de más de 90% de las unidades que se colectaron. Los demás países lo hicieron de 1% (México) a 84% (Costa Rica) de su colecta. En el año 2005,<sup>4</sup> El Salvador (93%) y Chile (95%) fueron los dos países que prepararon concentrados de eritrocitos en más de 90% de sus unidades (promedio= 69,26, mediana = 78), mientras que 10 países lo hicieron en 2009<sup>5</sup> (promedio= 83,65, mediana= 90).

Es evidente que la disponibilidad y la seguridad de la sangre mejoraron significativamente en América Latina durante los primeros años del siglo XXI. Es claro también que el progreso no fue homogéneo en los 19 países, como lo demuestra la alta variabilidad de los indicadores resumidos en el Cuadro 1.<sup>1-5</sup> Es preciso, por lo tanto, revisar la situación actual de los países y analizar los posibles factores que determinan su grado de avance individual.

## Situación actual de los servicios de sangre

### Disponibilidad de glóbulos rojos para transfusión

La disponibilidad de hemocomponentes en cada país depende primordialmente de la cantidad de unidades que

son colectadas, del número de unidades que son descartadas por no cumplir con los requisitos de calidad y de seguridad, del número de unidades que alcanzan su caducidad, además de la proporción de unidades que son separadas en componentes.

*a. Colecta de sangre en los países de Latinoamérica*

En el año 2009 los 19 países de Latinoamérica colectaron 9.077.212 unidades

de sangre completa,<sup>1</sup> lo que equivale a 161,4 unidades por cada 10.000 habitantes. Las tasas nacionales de donación estuvieron entre 65,3, en Guatemala y 359,7 en Cuba (mediana= 129,6; promedio= 146,1; desviación estándar =74,7, Cuadro 2). Guatemala, Bolivia, Perú, Honduras y República Dominicana tuvieron tasas inferiores a 85; Paraguay, Nicaragua, Chile, Ecuador, Costa Rica, El Salvador, México y Panamá colectaron entre 100 y 150 unidades por

**Cuadro 2.** Disponibilidad de sangre completa y glóbulos rojos, América Latina 2009

<b>País</b>	<b>Unidades colectadas (N)</b>	<b>Tasa/ 10,000</b>	<b>Donaciones voluntarias (N)</b>	<b>Unidades con marcadores (N)</b>	<b>Separación eritrocitos (%)</b>	<b>Eritrocitos caducados (N)</b>
Argentina	926.941	230,0	171.059	66.889	90	142.168
Bolivia	69.073	70,0	23.104	3.483	89	5.230
Brasil	3.661.647	189,0	2.102.834	60.783	95	701.572
Chile	206.676	121,8	36.030	2.183	100	5.828
Colombia	692.487	151,7	523.830	29.479	90	68.141
Costa Rica	59.336	129,6	38.593	3.022	94	5.804
Cuba	403.060	359,7	403.060	10.842	95	26.681
Ecuador	174.960	128,4	61.230	3.869	Sin dato	13.363
El Salvador	82.757	134,3	9.652	2.805	96	6.425
Guatemala	91.554	65,3	3.918	8.080	87	13.933
Honduras	58.317	78,1	7.108	4.005	39	Sin dato
México	1.602.071	146,2	43.943	31.041	94	138.502
Nicaragua	69.932	121,2	60.650	1.079	90	5.982
Panamá	51.539	149,21	2.519	3.539	91	4.072
Paraguay	66.873	105,3	9.095	11.072	74	13.297
Perú	221.266	75,9	10.597	12.099	79	11.478
República Dominicana	85.169	84,4	20.770	2.059	39	3.970
Uruguay	92.073	273,9	22.026	2.831	Sin dato	19.673
Venezuela	461.481	161,4	20.167	33.088	80	25.289
<b>Total</b>	<b>9.077.212</b>	<b>162,1</b>	<b>3.570.185</b>	<b>292.248</b>		<b>1.201.388</b>

Referencias 1, 5

cada 10.000 habitantes, mientras que Colombia, Venezuela, Brasil, Argentina, Uruguay y Cuba mostraron tasas entre 151 y 360<sup>1</sup>.

*b. Prevalencia de marcadores de infecciones transmisibles por transfusión (ITT)*

A pesar de que la Segunda Edición de los Estándares de Trabajo para Servicios de Sangre, aplicable a Latinoamérica y vigente de 2005 a 2010,<sup>13</sup> requería que las unidades de sangre colectadas en todos los países fuesen examinadas para detectar el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B y anticuerpos contra el VIH, contra el virus de la hepatitis C y contra la sífilis, así como anticuerpos contra *T. cruzi* en los países en donde la infección por este parásito es prevalente, algunas instituciones agregaron las pruebas para HTLV y los anticuerpos contra el antígeno “core” de hepatitis B.<sup>5</sup> Ya que la intención de esta sección es resumir la disponibilidad de glóbulos rojos y no comparar las tasas de prevalencia de marcadores de ITT entre los países, el Cuadro 2 lista el número de unidades que cada uno de los países informó que resultaron positivas en las pruebas de tamizaje. En el caso de Chile se presenta el número de resultados positivos por pruebas de confirmación.<sup>1</sup>

Los 19 países latinoamericanos detectaron al menos 292.248 unidades con marcadores de ITT durante el año 2009, equivalente a 3,22% de la colecta.<sup>1,5</sup> Como consecuencia, el número de unidades disponibles para transfusión disminuyó a 8.784.964, es decir, a 156,9 por 10.000 habitantes. El número de unidades descar-

tadas por reactividad en las pruebas de tamizaje en cada país fluctuó entre 1.079 en Nicaragua y 66.889 en Argentina (Cuadro 2). La proporción de unidades positivas varió entre 1,05% en Chile y 16,57% en Paraguay. (mediana= 4,26; promedio= 5,31; desviación estandar = 4,24).

*c. Preparación de concentrados de eritrocitos*

El Plan Regional de Acción para la Seguridad Transfusional de la Organización Panamericana de la Salud<sup>14</sup> consideró necesario que los países separaran en hemocomponentes al menos el 95% de las unidades colectadas. La proporción de unidades de las que se separaron los glóbulos rojos varió entre 39% en Honduras y República Dominicana, y 100% en Chile (mediana= 90; promedio= 83,64; desviación estándar =18,06). Solo Cuba, Brasil, El Salvador y Chile alcanzaron la meta de 95% en 2009<sup>5</sup> (Cuadro 3). Argentina, Colombia, Nicaragua, Panamá, Costa Rica y México prepararon concentrados de eritrocitos de al menos 90% de sus unidades (Cuadro 2).<sup>1,5</sup>

La tasa nacional de colecta de sangre en 2009 segrega claramente a los 19 países de Latinoamérica en tres grupos significativamente diferentes (Cuadro 3, Prueba de Kruskal Wallis: valor de H ajustado= 15,805; 2 grados de libertad; p=0,00037).<sup>5</sup> El primero de los grupos, formado por Guatemala, Bolivia, Perú, Honduras y República Dominicana, tiene tasas de colecta menores que 85 unidades por 10.000 habitantes. El segundo grupo, compuesto por Paraguay, Nicaragua, Chile, Ecuador, Costa Rica, El Salvador, México y Panamá, tiene tasas que van de 105 a 150 unidades

**Cuadro 3.** Disponibilidad de glóbulos rojos en América Latina, de acuerdo con la tasa de colecta, 2009

País	Tasa de colecta	% unidades con marcadores	% separación eritrocitos	Tasa concentrados eritrocitos
Guatemala	65,3	8,83	87	51,8
Bolivia	70,0	5,05	89	59,2
Perú	75,9	5,48	79	56,7
Honduras	78,1	6,87	39	28,4
República Dominicana	84,4	2,42	39	32,1
Paraguay	105,3	16,57	74	65,0
Nicaragua	121,2	1,55	90	107,9
Chile	121,8	1,05	100	120,5
Ecuador	128,4	2,21	Sin dato	
Costa Rica	129,6	5,10	94	115,6
El Salvador	134,3	3,39	96	124,5
México	146,2	1,94	94	134,7
Panamá	149,2	6,89	91	126,4
Colombia	151,7	4,26	90	130,7
Venezuela	161,4	14,46	80	119,9
Brasil	189,0	1,66	95	176,6
Argentina	230,0	7,42	90	192,2
Uruguay	273,9	3,07	Sin dato	
Cuba	359,7	2,69	95	332,6

Referencias 1, 5

por 10.000 habitantes; y el tercer grupo, que incluye a Colombia, Venezuela, Brasil, Argentina, Uruguay y Cuba, tiene tasas de colecta que van de 151 a 360 unidades por 10.000 habitantes. Adicionalmente, ninguno de los cinco países en el primer grupo separó eritrocitos de más del 90% de las unidades (Cuadro 3), mientras que 10 de los otros 12 países sí alcanzan esa meta<sup>1,5</sup> (Prueba de Kruskal Wallis: valor de H ajustado=7,163; 2 grados de libertad; p=0,028). No es sorprendente, por lo

tanto, que la disponibilidad de concentrados de eritrocitos se vea drásticamente reducida en los países del primer grupo (Prueba de Kruskal Wallis: valor de H ajustado= 12,202; 2 grados de libertad; p= 0,0002357) en comparación con los otros países.<sup>1,5</sup>

El Cuadro 4 muestra la evolución del 2001 al 2009 de la colecta de sangre y de la preparación de concentrados de eritrocitos en cada uno de los países, agrupados de acuerdo con su tasa de colecta de sangre en el año 2009.<sup>2, 4,5</sup> Puede no-

**Cuadro 4.** Colecta de sangre y separación de eritrocitos, América Latina 2001-2009

País	Tasa de colecta			Preparación de eritrocitos		
	2001	2005	2009	2001	2005	2009
Guatemala	41	60,8	65,3	67	84	87
Bolivia	50	50,9	70,0	53	67	89
Perú	97	64,6	75,9	75	72	79
Honduras	53	75,9	78,1	25	32	39
R.Dominicana	30	65,2	84,4	58	78	39
Paraguay	79	79,7	105,3	59	55	74
Nicaragua	90	99,2	121,2	69	78	90
Chile	154	109,3	121,8	76	95	100
Ecuador	90	95,5	128,4	74	77	Sin dato
Costa Rica	149	125,2	129,6	84	89	94
El Salvador	111	132,3	134,3	79	93	96
México	97	128,3	146,2	1	88	94
Panamá	153	132,3	149,2	87	33	91
Colombia	104	122,6	151,7	Sin dato	39	90
Venezuela	112	151,0	161,4	94	81	80
Brasil	161	200,9	189,0	Sin dato	38	95
Argentina	90	94,3	230,0	81	87	90
Uruguay	350	287,8	273,9	Sin dato	87	Sin dato
Cuba	538	442,5	359,7	45	43	95

Referencias 1,2,4,5

tarse claramente que, con la excepción de Perú, los países del primer grupo tuvieron tasas más bajas de colecta de sangre desde el inicio del siglo XXI, y que la brecha entre los tres grupos de países se amplió al correr la década (Prueba de Kruskal Wallis: 2 grados de libertad; valor ajustado de H para 2001=9,325;  $p=0,009443$  y valor de H ajustado para 2005= 12,067;  $p=0,002387$ ). Por el contrario, la proporción de unidades de las que se prepararon concentrados de eritrocitos no fue diferente entre los

tres grupos de países en los años 2001 y 2005 <sup>2,4</sup> (Prueba de Kruskal Wallis: 2 grados de libertad, valor ajustado de H para 2001= 2,829;  $p=0,243$ ; Valor ajustado de H para 2005= 2,167;  $p= 0,338$ ) pero, como ya se mencionó en el párrafo anterior, sí fue significativamente diferente en 2009.<sup>5</sup>

El Cuadro 5 presenta la proporción de donaciones voluntarias y de unidades que tuvieron marcadores de VIH, hepatitis B, hepatitis C y sífilis.<sup>1, 2, 4,5</sup> No existe diferencia estadísticamente

**Cuadro 5.** Donación voluntaria y marcadores de ITT, América Latina 2001-2009

País	Donación voluntaria (%)			VIH, HBV, HCV y sífilis (%)		
	2001	2005	2009	2001	2005	2009
Guatemala	1	4	4	8,10	4,99	4,28
Bolivia	11	28	33	2,85	2,39	2,43
Perú	19	5	5	2,31	3,35	3,43
Honduras	23	Sin dato	12	2,17	2,51	2,08
R.Dominicana	14	20	24	3,12	3,74	2,42
Paraguay	2	10	14	5,73	6,68	9,70
Nicaragua	41	44	87	2,03	2,92	1,43
Chile	0	9	17	1,21	0,77 <sup>1</sup>	0,49 <sup>1</sup>
Ecuador	36	Sin dato	35	1,23	2,29	1,62
Costa Rica	49	59	65	0,80	0,40	1,79
El Salvador	10	10	12	1,81	1,58	1,46
México	5	4	3	0,34	1,39	1,53
Panamá	2	3	5	2,80	1,16	1,77
Colombia	19	58	76	2,85	2,70	1,96
Venezuela	6	7	4	3,15	3,10	5,99
Brasil	0	52	57	2,82	2,34	1,46
Argentina	7	8	19	2,36	2,74	2,10
Uruguay	8	26	24	1,80	1,06	1,29
Cuba	100	100	100	2,00	1,65	2,69

Referencias 1,2,4,5

significativa en las cifras de donación voluntaria entre los países de los tres grupos en los tres años, a pesar de que ninguno de ellos en el primer grupo alcanzó el 50% de donaciones voluntarias (Prueba exacta de Fisher:  $p=0,5193$  y  $p=0,2565$  para los años 2005 y 2009, respectivamente). Así mismo, no hubo diferencias significativas en las proporciones de unidades con marcadores de ITT en 2001 y 2005<sup>2,4</sup> (Prueba Exacta de Fisher,  $p=0,1280$  y  $p= 0,1060$  para 2001 y 2005, respectivamente). Sin

embargo, la proporción de unidades positivas para ITT siempre fue mayor que 2% en los cinco países del primer grupo, mientras que solo cuatro de los restantes 14 países tuvieron una prevalencia similar (Prueba exacta de Fisher:  $p= 0,0108$ ).

### Eficiencia de los servicios de sangre

En el año 2009, 11 países incluyeron en sus informes el número de donantes



potenciales atendidos y el número de donantes diferidos en la entrevista pre-donación.<sup>5</sup> Estas cifras están resumidas en el Cuadro 6 e indican que se difirieron 836.369 donantes potenciales. La proporción de donantes diferidos en cada país varió de 5,2% en Paraguay a 32,6% en Bolivia (mediana= 22,6; promedio= 21,4%; desviación estándar= 9,44). Es más: al comparar la proporción de donantes diferidos en los cinco países con las menores tasas de colecta de sangre (Guatemala, Bolivia, Perú,

Honduras y República Dominicana) con la proporción de diferidos en Paraguay, Nicaragua, El Salvador, México, Venezuela y Argentina, se encontró que los países del primer grupo no aceptaron a un número estadísticamente mayor (Prueba de Kruskal Wallis: valor de H ajustado= 4,8; un grado de libertad; p=0,028). A pesar de esta diferencia, el primer grupo de países tiene mayores prevalencias de marcadores de ITT entre sus donantes.<sup>1,5</sup> Es de hacer notar que Paraguay difirió apenas a 1 de

**Cuadro 6.** Donantes diferidos y unidades de eritrocitos caducadas, América Latina 2009

País	Donantes diferidos		Unidades de eritrocitos caducadas	
	Número	Proporción (%)	Número	Proporción (%)
Guatemala	41.954	31,4	13.993	16,6
Bolivia	33.396	32,6	5.230	7,6
Perú	96.428	30,4	11.478	5,4
Honduras	17.703	23,3	Sin dato	
Rep Dominicana	22.663	21,0	3.970	4,7
Paraguay	3.658	5,19	13.277	19,8
Nicaragua	9.250	11,7	5.982	8,5
Chile	Sin dato		5.828	2,8
Ecuador	Sin dato		3.363	1,9
Costa Rica	Sin dato		5.840	9,8
El Salvador	35.181	29,9	6.425	7,8
México	467.251	22,6	138.502	8,9
Panamá	Sin dato		4.072	9,5
Colombia	Sin dato		68.141	9,8
Venezuela	96.203	17,2	25.289	11,0
Brasil	Sin dato		701.572	19,2
Argentina	99.265	9,9	142.168	16,2
Uruguay	Sin dato		19.673	21,4
Cuba	Sin dato		26.681	14,4

Referencias 1, 5

cada 20 donantes potenciales e informó la mayor proporción de unidades con marcadores de ITT entre todos los países: 16,57%. (Cuadro 3).

Es posible usar esta información para examinar la eficiencia de los servicios de sangre en América Latina. Si se considera que el personal de los servicios invierte 15 minutos en la entrevista de cada donante, los 836.369 donantes diferidos consumieron 209,092 horas, equivalentes a 104,5 empleos de tiempo completo, o 9,5 empleados por país. Aun así, hubo 292.248 unidades con marcadores de ITT durante el mismo año.<sup>5</sup> (Cuadro 2).

Por otro lado, durante el año 2009 los países de América Latina descartaron 1.201.388 unidades de glóbulos rojos, ya sea en forma de sangre completa o como concentrados de eritrocitos, por haber llegado a su fecha de caducidad.<sup>5</sup> Esta cantidad de unidades representa el 13,2% de la colecta anual. El Cuadro 6 muestra las cifras informadas por 18 de los países, las que fluctúan de 1,9% en Ecuador a 21,4 en Uruguay (promedio= 10,8%, desviación estándar 5,8; mediana= 9,7%). El grupo de los países con mayores tasas de colecta de sangre (Colombia, Venezuela, Brasil, Argentina, Uruguay y Cuba) tuvo una tendencia estadísticamente significativa a descartar una mayor proporción de unidades de glóbulos rojos (Prueba de Kruskal Wallis: valor ajustado de  $H=6,447$ , 2 grados de libertad,  $p=0,04$ ).

El número de unidades descartadas por haber sido positivas en las pruebas de tamizaje para ITT (292.248) más las unidades descartadas por haber caducado (1.201.388) suman 1.493.636. Si se usa la media de descarte para estimar

la cifra de unidades que caducaron en Honduras, se agregan 5.563 unidades más, para un total de 1.499.199 descartadas. La Organización Panamericana de la Salud ha estimado que el costo directo de colecta y procesamiento de una unidad de sangre es de US\$ 56<sup>1</sup>, lo que significa una pérdida anual de US\$ 83.955.144.

## Consideraciones, comentarios y reflexiones

La información que se usó para preparar este capítulo representa consolidados nacionales que esconden diferencias que puedan existir entre los servicios individuales, entre las instituciones involucradas en la colecta y procesamiento de sangre o entre las provincias, estados o municipios de cada uno de los países. Por ejemplo, Barroso Sepúlveda<sup>12</sup> presentó datos sobre la donación voluntaria de sangre en Chile en 2008. En ese documento la cifra nacional reportada fue 10%, muy similar pero no exacta a la contenida en el informe de la Organización Panamericana de la Salud<sup>5</sup> para 2007, que es 8%. Barroso Sepúlveda encontró que las 16 regiones administrativas del país tenían donación voluntaria de 1,0% a 24,2% (Promedio= 8,89; desviación estándar= 7,35; mediana 6,0), situación que puede traducirse en diferencias en la prevalencia de marcadores y de disponibilidad y acceso a hemocomponentes en cada región.

Por otro lado, la información de algunos servicios individuales confirma y da validez a las conclusiones a las que se llega después de analizar los datos nacionales. En el caso de Argentina,

Berini y colaboradores<sup>11</sup> documentaron que un servicio público de Buenos Aires dependía casi exclusivamente (99%) de donantes de reposición, mayoritariamente hombres menores de 35 años de edad. Entre estos donantes la prevalencia de marcadores de VIH fue 0,2%, con una tendencia a mantenerse al mismo nivel durante los cinco años del estudio. Los resúmenes regionales de la Organización Panamericana de la Salud muestran que las prevalencias nacionales de VIH en donantes argentinos para el periodo 2003 a 2008 fueron 0,18%, 0,27%, 0,25%, 0,30%, 0,25%, 0,21% y 0,24%.<sup>2,5</sup>

Di Lorenzo Oliveira y colaboradores<sup>15</sup> evaluaron las razones para diferir donantes en 19 centros de Minas Gerais en 2006. Resulta de mucho interés que la tasa de diferidos entre 335.109 donantes potenciales fue 21,6%, prácticamente idéntica al promedio reportado para 11 países de América Latina que no incluyen a Brasil, que fue 21,4%.<sup>5</sup> De igual forma, la proporción de unidades con marcadores de ITT en Minas Gerais (2,9%), es similar al promedio regional para 2005: 2,5%.<sup>4</sup> (Cuadro 2).

La alta proporción de donantes diferidos y los altos números de unidades con marcadores para ITT y de unidades descartadas por haber alcanzado su fecha de caducidad merecen atención especial. Es claro que las formas de reclutar a los donantes potenciales no son eficientes, ya que se acercan a donar muchas personas que no llenan los requisitos o que representan riesgo para los pacientes, factores que están asociados a la donación de reposición. Cuando el reclutamiento de donantes es responsabilidad de los pacientes o

sus círculos familiares y sociales resulta muy probable que sea el nivel de cercanía emocional el que determina la decisión de donar sangre, sin tomar en cuenta los requisitos establecidos para poder darla. En Minas Gerais<sup>15</sup> los donantes repetidos mostraron comportamientos sexuales menos riesgosos que quienes no habían donado sangre previamente.

Es claro, también, que sin conocer las necesidades de hemocomponentes en los servicios de atención a los pacientes es imposible planificar el número de unidades de sangre que se debe colectar y, por lo tanto, el número de donantes que se debe reclutar. Es lamentable que 1.201.388 unidades de glóbulos rojos hayan caducado en un solo año, sobre todo cuando se considera que no hay suficiente sangre para transfusión. Por otro lado, basar el estimado de necesidades en el uso histórico hospitalario no toma en cuenta la pertinencia de la práctica transfusional ni la demanda real no satisfecha.<sup>16</sup> Es imprescindible que los servicios de atención a los pacientes estimen sus necesidades de hemocomponentes, que los servicios de sangre conozcan esas necesidades, que planifiquen sus metas de colecta, y que recluten y atiendan adecuadamente a sus donantes de tal forma que se logre la donación voluntaria repetida.<sup>17</sup> Para alcanzar estas metas es necesario integrar los servicios nacionales, regionales, provinciales e institucionales de sangre a los sistemas de salud. Para ello, la contribución de los profesionales de la medicina transfusional y de los servicios de sangre de América Latina es vital. El grado de progreso observado en los servicios de sangre en

los países de América Latina durante la primera década del siglo XXI permite tener optimismo y debe convertirse en un aliciente para el trabajo futuro.

## Referencias

1. Organización Panamericana de la Salud. 51er Consejo Directivo. Iniciativa Regional y Plan de Acción para la Seguridad Transfusional 2006-2010: Evaluación Final. Documento CD51/INF/5; 2011. p 32-49. Washington DC.
2. Pan American Health Organization. Transfusion Medicine in the Caribbean and Latin American Countries 2000-2003. Technical Documents. Access to Quality Products. THS\EV-2005\005 I. Washington DC
3. Pan American Health Organization. National Blood Systems in the Caribbean and Latin American Countries: Basic Indicators of their Status in 2004. Technical Documents. Access to Quality Products. THS\EV-2006\002. Washington DC.
4. Organización Panamericana de la Salud. Suministro de Sangre para Transfusiones en los Países del Caribe y Latinoamérica en 2005. Datos Basales para el Plan Regional de Acción de Seguridad Transfusional 2006-2010. Documentos Técnicos. Acceso a Productos de Calidad. THS\EV-2007\01 E. Washington DC.
5. Organización Panamericana de la Salud, Suministro de Sangre para Transfusiones en los Países del Caribe y de Latinoamérica 2006, 2007, 2008 y 2009. Avances desde 2005 del Plan Regional de Seguridad Transfusional. 2010. Washington DC
6. Cruz JR, Perez-Rosales MD. Availability, safety, and quality of blood for transfusion in the Americas. *Pan Am J Pub Health* 2003; 13:103-10.
7. Martinez C, Vinelli E. Setting transfusion standards in developing countries: A Latin American perspective. En Lozano M, Contreras M, Blajchman (eds.). *Global Perspectives in Transfusion Medicine*. Bethesda, MD: AABB Press; 2006. p 181-207
8. Schmunis G, Cruz JR. Safety of the blood supply in Latin America. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18:12-29.
9. Cruz JR, Perez-Rosales MD, Zicker F, Schmunis GA. Safety of blood supply in the Caribbean countries: Role of screening blood donors for markers of hepatitis B and C viruses. *J Clin Virol* 2005; 34:S75-80.
10. Rodrigues de Araujo FM, de Oliveira Feliciano KV, de Medeiros Mandes M. Aceitabilidades de doadores de sangue no hemocentro publico de Recife, Brasil. *Cienc Saude Colect* 2011; 16:4823-32.
11. Berini CA, Gendler SA, Pascuccio S, et al. Decreasing trends in HTLV-1/2 but stable HIV-1 infection among replacement donors in Argentina. *J Med Virol* 2010;82:873-7.
12. Barroso Sepúlveda HE. Diseño de un modelo de gestión para el centro de sangre de Concepción "Dra. Marcela Contreras Arriagada". Tesis para optar al grado de "Magister en Ingeniería Industrial". Universidad de Bio-Bio, Concepcion. Chile. 2009.
13. Organización Panamericana de la Salud. Estándares de Trabajo para Servicios de Sangre. Segunda Edición. Documentos Técnicos. Políticas y Regulación. THS\EV2005/001. 2005. Washington DC
14. Organización Panamericana de la Salud. 46o. Consejo Directivo. Informe sobre los Progresos Realizados por la Iniciativa Regional para la Seguridad Sanguínea y Plan de Acción para 2006-2010. Documento CD46/16, 2005. Washington DC.
15. Di Lorenzo Oliveira C, Laureiro F, de Bastos MR, Proietti FA, Carneiro Proietti AB. Blood donor deferral in Minas Gerais. *Transfusion* 2009; 49:851-7.
16. Organización Panamericana de la Salud. Recomendaciones para la Estimación de las Necesidades de Sangre y sus Componentes. Washington DC, 2010.
17. Organización Panamericana de la Salud. Elegibilidad para la Donación de Sangre: Recomendaciones para la Educación y Selección de Donantes Potenciales de Sangre. Washington DC, 2009.

## Sección II

# Componentes y derivados sanguíneos





# El metabolismo eritrocitario desde la fisiología integrativa

OSCAR ANDRÉS PEÑUELA B.\*  
LUIS FERNANDO PALOMINO Q.\*\*

El objetivo del presente capítulo es revisar los aspectos sobresalientes del metabolismo celular del eritrocito humano a partir de una perspectiva global que integra las características bioquímicas de estas células con el impacto sobre la fisiología humana. Pretende, por tanto, describir la complejidad de su funcionamiento y demostrar los múltiples papeles que juega esta especializada célula, diferentes al transporte y entrega de oxígeno a los tejidos.

## Generalidades

Los eritrocitos maduros de los seres humanos consumen glucosa a una tasa baja, comparada con las células de otros tejidos; por ejemplo, los leucocitos tienen una tasa 500 veces superior.<sup>1</sup> En condiciones controladas de pH,

\* *Médico Cirujano. Magíster en Fisiología. Magíster en Medicina Transfusional. Coordinador Servicio de Medicina Transfusional Fundación Clínica Shaio. Profesor Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, Colombia.*

\*\* *Médico Cirujano. Presidente Fundación para el Avance de las Alternativas a la Transfusión de Sangre. Bogotá, Colombia.*

temperatura y hematocrito, una masa eritrocitaria de 3 L requiere 12 – 25 g de glucosa por día. Pero la glucosa no es el único sustrato energético de los eritrocitos, pues también pueden usar galactosa, fructosa y manosa. Ni las pentosas ni los disacáridos pueden ser metabolizados.

La glucosa pasa rápidamente a través de la membrana celular por un proceso de difusión facilitada, que no requiere energía y que no es afectado por la insulina. Sólo los monosacáridos son permeables a la membrana. Es claro que la entrada de glucosa a la célula no es el factor que limita su utilización. Dentro del rango fisiológico de glicemia (50 – 150 mg/dL), la concentración intracelular de glucosa es similar a la del plasma. Ni los eritrocitos jóvenes ni los maduros tienen depósitos de glucógeno; aun así, estas células poseen todas las enzimas necesarias para el anabolismo y catabolismo del glucógeno.<sup>2</sup>

### La vía de Embden-Meyerhof (EM)

Esta es la principal ruta de consumo de glucosa en el eritrocito (95%); el resto de la glucosa pasa a través de la vía de las hexosas monofosfato. La vía EM difiere cualitativamente de otras vías, en otras células, solo por la presencia de enzimas para la producción e hidrólisis del 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG). La presencia de este compuesto en los eritrocitos es de vital importancia en el transporte de oxígeno.

Todas las enzimas de la vía EM están asociadas con la membrana, de la que depende el flujo de glucosa a través de la vía y el mantenimiento de los

niveles de los intermediarios glicolíticos.<sup>3</sup> Tres de estos intermediarios son de particular importancia para el eritrocito: 2,3-DPG, ATP y NAD<sup>+</sup>.

La concentración intracelular de 2,3-DPG es de 3,0 – 5,7 mmol/L. El segundo compuesto más abundante de la vía EM es el ATP, cuya concentración es 0,7 – 1,8 mmol/L. Estos dos compuestos juntos suman casi el 93% de los fosfatos orgánicos del eritrocito. Es relevante mencionar que su concentración molar es cercana a la concentración de Hb, con la que pueden reaccionar de manera estequiométrica. Ninguno de los fosfatos orgánicos de la vía EM puede difundir desde la célula, en contraste con el piruvato y el lactato, que cruzan fácilmente la membrana.

La tasa de consumo de glucosa en los eritrocitos a 37°C, es de 2 µmol/ml de células/hora, mientras que la tasa de consumo del lactato es el doble. Esto significa que el flujo glicolítico opera normalmente a una tasa bien por debajo de la máxima calculada. La mayoría de las enzimas funcionan en condiciones de equilibrio, pero las tres quinetas (hexoquinasa, fosfofructoquinasa y piruvatoquinasa) funcionan lejos del equilibrio termodinámico. El cálculo del cambio de energía libre de cada paso de la glicólisis muestra que los cambios más grandes ocurren a nivel de las 3 quinetas, que son las más importantes en la tasa de regulación de la glicólisis. Además, cuando se comparan con las demás enzimas de la vía glicolítica, aquellas tienen las actividades máximas más bajas y son las encargadas de responder a diversos cambios impuestos sobre la tasa glicolítica.



## Regulación de la glicólisis

La tasa glicolítica del eritrocito está regulada por tres enzimas: hexoquinasa, fosfofructoquinasa y piruvatoquinasa, que a su vez se encuentran normalmente reguladas por varios efectores que actúan directa o indirectamente sobre cada una de ellas, en especial sobre la fosfofructoquinasa.<sup>4</sup>

El control general de la vía se puede definir a partir de la retroalimentación negativa del ATP sobre la fosfofructoquinasa. Así, cuando la concentración de ATP cae, la inhibición de dicha enzima desaparece y se incrementa la glicólisis para repletar los niveles de ATP; si la concentración de ATP aumenta, crece la inhibición de la fosfofructoquinasa y disminuye la glicólisis.

La tasa de consumo de glucosa es sensible al pH: un incremento del pH aumenta la tasa y viceversa. La actividad máxima se logra con pH cercano a 8,1. A pH alcalino, la inhibición que ejerce el ATP sobre la fosfofructoquinasa desaparece y se incrementa la tasa glicolítica. Por su parte, la disminución del pH reduce el flujo a través de la glicólisis. Poco cambia el nivel de ATP, pero sí hay un aumento significativo de la concentración de glucosa 6 fosfato, que ejerce un efecto inhibitorio sobre la hexoquinasa.

El incremento de la concentración de fosfato inorgánico intracelular aumenta la tasa glicolítica a pH fisiológico. El efecto máximo se logra cuando las células se suspenden en una solución tampón de fosfato 150 mM a pH 7,4, caso en el cual el consumo de glucosa puede llegar a 4,1 mmol/l de cé-

lulas/hora. Los niveles de fosfato por debajo del rango fisiológico deprimen la tasa glicolítica y disminuyen los niveles tanto de ATP como de 2,3-DPG.

Cuando los eritrocitos son incubados en condiciones anaeróbicas, tanto la tasa glicolítica como la producción de lactato son mayores que en condiciones aeróbicas: cercanas a 0,25 – 0,5 mmol/l de células/hora.<sup>5</sup> Dicha diferencia se atribuye al pH intracelular: en condiciones anaeróbicas, los protones se combinan con la hemoglobina, que es una base más fuerte que la oxihemoglobina, lo cual incrementa el pH intracelular y la tasa glicolítica.

Finalmente, la tasa de glicólisis se incrementa tras un aumento de la temperatura y tiene un máximo a 48 °C, independientemente de la temperatura. A 2 – 6 °C (temperatura habitual de preservación de los eritrocitos en condiciones estándar de banco de sangre) la tasa de consumo de glucosa es de solo 0,05 mmol/l de células/hora, lo que corresponde a una cuarta parte de la tasa a 37 °C. La capacidad de la hexoquinasa, en tanto, desciende a solo 33% de su valor a 37 °C.<sup>6</sup>

La incapacidad funcional de cualquiera de las enzimas de la vía EM implica un pobre pronóstico para la supervivencia celular, dado que una vez el eritrocito ha madurado más allá de reticulocito, la vía EM se convierte en la única forma de mantener los niveles de ATP y NADH. Los eritrocitos maduros poseen toda la maquinaria enzimática para sintetizar ATP a partir de adenina, pero los niveles plasmáticos de esta base son tan bajos que representan una fuente menor para reponer el ATP celular.<sup>7</sup>

## La hemoglobina en el metabolismo del eritrocito

El entendimiento actual del metabolismo del eritrocito maduro anucleado de mamífero involucra un modelo que incluye una relación estrecha entre sus funciones metabólicas y la hemoglobina y conforma una célula con función dual como transportadora de oxígeno y como reguladora del flujo sanguíneo.<sup>8</sup>

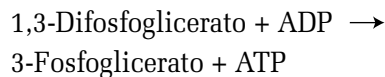
### Ligandos respiratorios y metabólicos de la hemoglobina

Los ligandos respiratorios de la hemoglobina (Hb), el oxígeno (O<sub>2</sub>), el anhídrido carbónico (CO<sub>2</sub>) y el monóxido de carbono (CO) presentan interacciones (efectos Haldane incluidos), muchas de ellas de carácter alostérico, que se reflejan en cambios en la afinidad de la Hb por el O<sub>2</sub> (P50) y por el CO<sub>2</sub>.<sup>9-11</sup> Otro ligando con interacciones alostéricas sobre la Hb es el ion H<sup>+</sup>. Esta interacción es la responsable del efecto Bohr, el cual consiste en una disminución de la afinidad de la Hb por el oxígeno (aumento de la P50) a medida que disminuye el pH.<sup>12</sup> Una parte de los iones H<sup>+</sup> del eritrocito proviene de la disociación del ácido carbónico derivado de la hidratación del CO<sub>2</sub>, reacción acelerada por la anhidrasa carbónica (AC),<sup>13</sup> la segunda proteína más abundante en los eritrocitos.

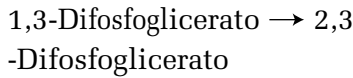
Benesch,<sup>14</sup> Chanutin<sup>15</sup> y Lenfant<sup>16</sup> descubrieron que además de los mencionados, la Hb posee otros ligandos como fosfatos orgánicos, especialmente el 2,3-DPG. En condiciones basales, su concentración en los glóbulos rojos humanos es aproximadamente equi-

molar con la Hb; se une de manera reversible a la Hb y muestra una afinidad elevada por la Hb desoxigenada y una muy baja por la Hb oxigenada (HbO<sub>2</sub>).<sup>17</sup> La unión del 2,3-DPG a la Hb sucede en el segmento amino terminal de las cadenas de la globina de Hb A.<sup>18, 19</sup> La unión de 2,3-DPG a la Hb A se refleja en un aumento de la P50, de suerte que, si se mantienen constantes los demás parámetros, la P50 es directamente proporcional a la concentración de 2,3-DPG.<sup>20, 21</sup> Por tanto, en ausencia de 2,3-DPG la P50 de Hb A es tan pequeña que la entrega de O<sub>2</sub> a los tejidos resulta improbable en las condiciones de pO<sub>2</sub> de los capilares sistémicos. Esto lleva a que el 2,3-DPG sea considerado quizá como el más importante efector alostérico de la Hb A.<sup>22</sup> Otras hemoglobinas, como la Hb F, tienen una baja afinidad por el 2,3-DPG. La baja afinidad de la Hb F por el 2,3-DPG resulta en una menor P50 de la Hb F en comparación con la Hb A,<sup>23</sup> crucial para el paso de O<sub>2</sub> a través de la placenta<sup>24</sup> y la adaptación neonatal.<sup>25</sup>

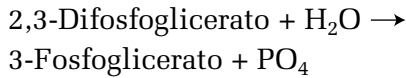
Uno de los pasos de la vía glicolítica es la reacción catalizada por la fosfoglicérico kinasa:



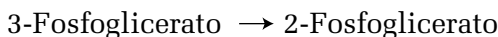
En el eritrocito de mamífero existe una vía metabólica particular que permite la síntesis y posterior degradación del 2,3-DPG, conocida universalmente como cortocircuito de Rapoport-Luebering<sup>26, 27</sup> y conformada por la actividad de dos enzimas: una sintasa, la difosfoglicérico mutasa (DPGM), ahora conocida como difosfoglicerato sintasa, la cual cataliza la reacción



y una hidrolasa, la difosfoglicérico fosfatasa, que cataliza la reacción



Este cortocircuito, entonces, se origina en un intermediario de la vía glicolítica y termina en el siguiente intermediario de dicha vía, pero sin la generación de ATP, de tal manera que cuanto mayor sea la actividad de este cortocircuito, mayor deberá ser el consumo de glucosa para mantener estable la concentración intracelular de ATP. La concentración intracelular de 2,3-DPG en un momento dado es el balance entre la actividad generadora de este metabolito y la actividad que lo degrada, esto es, entre la actividad de la DPGM y la de la fosfatasa. El metabolito producido por la vía glicolítica o por la vía del cortocircuito de Rapoport Luebering, 3-Fosfoglicerato (3-PG), es luego convertido por la acción catalítica de la monofosfoglicerato mutasa (MPGAM) en el siguiente intermediario de la vía glicolítica, 2-Fosfoglicerato (2-PG):



Dado el impacto sistémico que tiene la modificación de la afinidad de la Hb por O<sub>2</sub>, las enzimas de esta vía metabólica han sido cuidadosamente estudiadas.<sup>28,29</sup> Desde el punto de vista molecular, se describieron dos enzimas multifuncionales como las responsables de la síntesis y degradación de 2,3-DPG. Ambas enzimas son capaces de catalizar, aunque con velocidades relativas muy diferentes, las tres reacciones: la

síntesis de 2,3-DPG a partir de 1,3-DPG, la degradación de 2,3-DPG a 3-PG, y la conversión de 3-PG a 2-PG.<sup>30-36</sup>

El pH del glóbulo rojo puede modificarse como consecuencia de varias circunstancias; una de éstas es el cambio del pH del plasma como reflejo de cualquiera de las formas de acidosis o alcalosis;<sup>37</sup> otra, de la mayor relevancia, es el grado de saturación de la Hb con O<sub>2</sub> (Sat HbO<sub>2</sub>). Una disminución sostenida de la SatHbO<sub>2</sub> arterial (hipoxemia) se refleja en una mayor actividad de síntesis de 2,3-DPG con el consecuente incremento de la P50, lo cual facilita la entrega de O<sub>2</sub> a los tejidos periféricos. El efecto de la desaturación de la HbO<sub>2</sub> sobre la tasa de síntesis de 2,3-DPG parece ser mediado también por el pH. La Hb es un ácido más débil que la HbO<sub>2</sub>,<sup>38</sup> si se mantienen constantes otros parámetros, una disminución en la SatHbO<sub>2</sub> conlleva un incremento en el pH del medio y en el interior del eritrocito, un aumento en la actividad de DPGM.

La modulación de la P50 mediada por los niveles de 2,3-DPG juega un papel importante en varias condiciones fisiológicas como la aclimatación a la altitud<sup>39-42</sup> y el entrenamiento físico,<sup>43,44</sup> así como en ciertas condiciones que cursan con hipoxemia arterial,<sup>45-48</sup> disminución crónica en la perfusión periférica<sup>49</sup> o anemia.<sup>50-52</sup>

Desde hace ya más de cincuenta años se documentó el hecho de que la sangre almacenada en condiciones de banco de sangre muestra cambios en la afinidad de la Hb por el O<sub>2</sub>, cambios que dependen del tiempo de almacenamiento.<sup>53</sup> Aunque existen diferencias

según el medio de conservación,<sup>54</sup> la concentración de 2,3-DPG decae de forma marcada durante el almacenamiento,<sup>55-57</sup> con la consecuente baja de la P50, hecho que puede tener relevancia clínica en los pacientes.<sup>58</sup> Por fortuna, los glóbulos rojos transfundidos recuperan en pocas horas el nivel fisiológico correspondiente de 2,3-DPG.<sup>59, 60</sup>

Desde que se estableció que el gas NO era la molécula responsable del potente efecto vasodilatador del factor relajante vascular derivado del endotelio (EDRF),<sup>61,62</sup> descrito por primer vez en 1980<sup>63</sup> y caracterizado como un factor humoral inestable en 1984,<sup>64</sup> se ha venido acumulando una ingente cantidad de datos experimentales y de interpretaciones sobre el metabolismo y el papel fisiológico de esta sustancia.<sup>65, 66</sup>

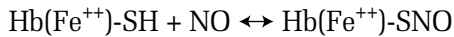
Hasta el momento se han reconocido tres vías para la generación de NO. La primera de estas son las enzimas conocidas como NO sintasas (NOS), con tres isoformas.<sup>67</sup> Las NOS endotelial y neuronal (eNOS y nNOS) son expresadas de forma continua en las células endoteliales y las neuronas, respectivamente, y son referidas como constitutivas o cNOS. eNOS está ligada a la membrana asociada a estructuras conocidas como caveolas, se activa por eventos como el flujo turbulento en la interfase célula endotelial/sangre y produce NO que difunde desde la luz vascular y actúa relajando el músculo liso de los vasos sanguíneos o, dentro del lumen, inhibiendo la adhesión de plaquetas y leucocitos a la pared vascular. La inhibición de eNOS causa hipertensión, incremento de la agregabilidad plaquetaria y adhesión de leucocitos.<sup>68</sup> La tercera isoforma (iNOS o

NOS2) es inducible y primero se detectó en macrófagos y luego en neutrófilos y plaquetas.<sup>69</sup> La síntesis de iNO es inducida por varias señales, en particular aquellas relacionadas con el mecanismo de la inflamación.

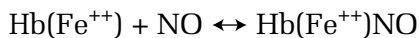
Todas las isoformas de NOS convierten arginina a citrulina y NO<sup>70</sup> en presencia de tetrahidrobiopterina.<sup>71</sup> Los niveles plasmáticos de arginina afectan la tasa de producción de NO, pero probablemente sea más importante la proporción de arginina a dimetil arginina asimétrica (ADMA), un inhibidor endógeno de la enzima inicialmente descrito en pacientes con falla renal crónica<sup>72</sup> y cuya acumulación puede contribuir a la hipertensión de la insuficiencia renal,<sup>73</sup> así como a la pre-eclampsia,<sup>74</sup> entre otras. Se descubrió que los eritrocitos pueden ser un reservorio importante de ADMA, la cual puede ser liberada durante la hemólisis intravascular<sup>75</sup> y contribuir a las manifestaciones de este fenómeno. Hace unos años se describió la presencia de eNOS funcional en los eritrocitos humanos,<sup>76</sup> actividad enzimática que se incrementa en los eritrocitos murinos en presencia de eritropoyetina (EPO).<sup>77</sup> Estos hallazgos inducen a considerar los glóbulos rojos como una fuente intravascular de NO proveniente de la arginina.

En la sangre el NO está presente en al menos dos formas: 1) en forma acuosa, como un gas disuelto tal como es producido; y 2) combinado con grupos sulfidrilo (tiol).<sup>78, 79</sup> Por varias razones es poco probable que, fuera de un fugaz efecto estrictamente local, el NO acuoso pueda actuar como un factor sistémico modulador del tono vascular o de la agregación plaquetaria.<sup>80</sup>

La Hb posee grupos –SH reactivos gracias a residuos de cisteína que no participan en la formación de puentes disulfuro que estabilizan la estructura terciaria y, por lo tanto, puede combinarse con NO para formar S-nitrosohemoglobina.<sup>81,82</sup> Con base en experimentos que mostraron que los glóbulos rojos eran capaces de inducir dilatación en vasos sanguíneos agudamente hipóxicos, se postuló la teoría de que el NO puede unirse de manera reversible a Hb y ser liberado por cambios alostéricos cuando la HbO<sub>2</sub> se desoxigena.<sup>83,84</sup> Se considera, entonces, el NO como el cuarto ligando gaseoso de la Hb:



El comportamiento alostérico de la formación/disociación de S-nitrosohemoglobina llevó a postular un modelo en el cual la incorporación de NO a Cys 93 de la Hb incrementa la afinidad de ésta por el O<sub>2</sub> y éste, a su vez, la afinidad de la Hb por NO. En condiciones de hipoxia marcada, la desoxigenación de la HbO<sub>2</sub> conllevaría la liberación de NO y produciría vasodilatación y aumento de la P50 de la HbO<sub>2</sub>, con lo cual se incrementaría el aporte tisular de O<sub>2</sub>. Esta teoría, que considera el NO como un ligando alostérico gaseoso de la Hb, incluye la unión reversible con el grupo hem de la Hb desoxigenada.<sup>85</sup>



Este modelo implica que el glóbulo rojo funciona como un sensor de hipoxia y genera una vía de señalamiento por NO que regula el tono vascular y con ello la resistencia periférica y el

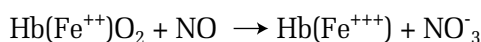
flujo sanguíneo. Por otro lado, los glóbulos rojos en áreas hipóxicas liberan ATP, el cual es potente vasodilatador,<sup>86</sup> lo que significa otra vía de señalamiento por medio de la cual los eritrocitos modulan el tono vascular, particularmente en condiciones de hipoxia local o de flujo turbulento,<sup>87-89</sup> gracias a la regulación de la concentración extracelular de ATP.<sup>90</sup> La única fuente en el eritrocito para generar ATP es la glicólisis. En este sentido, esta vía de señalamiento depende del metabolismo de la glucosa.

Se documentó que los niveles intraeritrocitarios de ATP son relativamente elevados en comparación con otras células, pero durante el almacenamiento de sangre/glóbulos rojos en soluciones anticoagulantes-presevantes la concentración de ATP declina de manera brusca al cabo de unas pocas semanas,<sup>91-94</sup> por lo cual es este uno de los parámetros de la “lesión por almacenamiento”. Esto explica, al menos de forma parcial, algunos de los efectos hemodinámicos de la transfusión masiva de eritrocitos almacenados.

Partiendo de la evaluación de los efectos vasodilatadores observados luego de la administración de inhibidores de la AC, se describió una segunda vía para la generación de NO, particularmente importante en los eritrocitos dada la gran actividad de AC en estas células: generación enzimática de NO a partir de anión nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) catalizada por anhidrasa carbónica.<sup>95</sup> Este descubrimiento podría reforzar el papel del eritrocito como un generador de NO más que como un degradador del NO, y relacionar el control del tono vascular vía nitritos con el transporte sanguíneo de CO<sub>2</sub> como bicarbonato.<sup>96</sup>

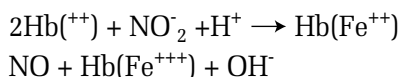
## Actividades enzimáticas de la hemoglobina

La Hb posee varias actividades enzimáticas caracterizadas durante las últimas décadas. La HbO<sub>2</sub> expresa actividad de *óxido nítrico oxigenasa*, reacción en la cual el NO es convertido a nitrato y la Hb se oxida a metahemoglobina:

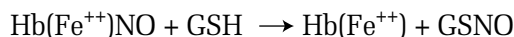
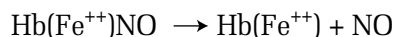


Esta reacción es rapidísima, por lo cual la vida media del NO en presencia de HbO<sub>2</sub> es del orden de microsegundos. Sin embargo, *in vivo* esta reacción es más lenta (vida media del orden de milisegundos) debido, entre otros factores, a barreras de difusión que incluyen la membrana plasmática del glóbulo rojo.<sup>97-99</sup> El nitrato es, entonces, considerado como el producto principal del catabolismo de NO; en este sentido, la HbO<sub>2</sub> (y el eritrocito) ha sido tradicionalmente considerada como una “barrerera” de NO.<sup>100-102</sup> En el modelo de regulación hipóxica del tono vascular arriba mencionado, dado que la Hb desoxigenada no posee actividad de NO oxigenasa, cuanto mayor sea la desoxigenación de HbO<sub>2</sub> sería de esperar un menor catabolismo de NO y con ello una mayor permanencia de éste, lo que causaría vasodilatación. La verdadera significancia fisiológica de este hecho no se ha podido establecer, dado que aun en la sangre venosa casi el 75% de la Hb total es HbO<sub>2</sub>, lo cual haría muy corta la presencia de NO como gas disuelto,<sup>103-104</sup> a menos que el NO quedara “protegido” mediante la formación de compuestos s-nitrosos, como se verá luego.

Hace unos pocos años se descubrió que la Hb también posee actividad de *óxido nítrico reductasa/anhidrasa*:



mediante la cual se cataliza la reducción del anión nitrito a óxido nítrico unido a la Hb desoxigenada.<sup>105, 106</sup> Constituye esta la tercera vía conocida para generación de NO. Se ha postulado la formación de un compuesto intermedio, trióxido de dinitrógeno (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), unido a la Hb en esta reacción.<sup>107</sup> El NO es a continuación liberado como NO acuoso o bien como un compuesto S-nitroso, por ejemplo con glucagón reducido, lo que sucede habitualmente en condiciones fisiológicas<sup>108</sup> gracias a otra actividad enzimática de la Hb: la de *S-nitrosotiol sintasa* dependiente de nitrito.<sup>109</sup>



Estas actividades catalíticas convierten el eritrocito en condiciones hipóxicas en un generador neto de NO,<sup>110</sup> dando así un soporte adicional al modelo de regulación hipóxica del tono vascular, del flujo sanguíneo<sup>111-113</sup> y de la función plaquetaria (y por ende de la hemostasia/trombosis)<sup>114-117</sup> por parte del eritrocito, tanto local como sistémica. Estas reacciones permitieron explicar también el mecanismo de la acción vasodilatadora de varios medicamentos que contienen o liberan nitrito. Además, todos los fenómenos arriba mencionados hacen necesario revisar los conceptos sobre la lesión por almacenamiento<sup>118</sup> y sobre los beneficios de la transfusión de eritrocitos.<sup>119</sup>

Hay dos fuentes de  $\text{NO}_2^-$ : dietaria y metabólica (reducción del nitrato a nitrito). Los eritrocitos parecen constituir como un reservorio de nitrito<sup>120, 121</sup> provee *in situ* la materia prima para la producción de NO en condiciones de desoxigenación de la Hb, la cual se sumaría a la ya mencionada síntesis de NO a partir de arginina en esta célula.<sup>122</sup>

### La hemoglobina como substrato metabólico

Los átomos de hierro presentes en la molécula de Hb se encuentran en estado ferroso divalente ( $\text{Fe}^{++}$ ). Dada la concurrencia de concentraciones particularmente elevadas de  $\text{O}_2$  y de hierro, el eritrocito es blanco de múltiples fenómenos de oxidación. En solución acuosa la  $\text{HbO}_2$  se autooxida y se transforma en metahemoglobina (MetHb;  $\text{HbFe}^{+++}$ ).<sup>123</sup> Diversas circunstancias como el aumento de temperatura, la disminución del pH y la exposición a sustancias oxidantes endógenas o exógenas (v.gr. ciertas drogas), incrementan la tasa de este proceso.<sup>124</sup> Se estimó que cada día entre 0,5% y 3% de la  $\text{HbO}_2$  circulante es oxidada a MetHb;<sup>125,126</sup> a pesar de esta producción constante, en el adulto promedio la concentración de MetHb es alrededor de 0,4% del total de la Hb circulante, lo cual muestra la eficacia de los mecanismos metabólicos del eritrocito que reducen nuevamente la MetHb a  $\text{HbFe}^{++}$ .

Los cuatro átomos de Fe en la molécula de  $\text{HbO}_2$  no se oxidan todos al mismo tiempo; los compuestos intermedios entre la Hb completamente reducida y la completamente oxidada se denominan híbridos de valencia.<sup>127</sup> Por

cada mol de oxígeno molecular ( $\text{O}_2$ ) que participa en la oxidación de la Hb se produce un mol de anión superóxido ( $\text{O}_2^-$ ).<sup>128</sup> Además del  $\text{O}_2$ , el  $\text{O}_2^-$  y el producto de su reducción, el peróxido ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), también son oxidantes de la  $\text{HbO}_2$ , así como el singleton  $\text{O}_2$  ( $^1\text{O}_2$ ). En este sentido, la propia  $\text{HbO}_2$  al autooxidarse produce radicales del oxígeno que a su vez son capaces de oxidar otras moléculas de Hb,<sup>129</sup> así como proteínas y lípidos celulares. De riesgo particular puede ser la oxidación de enzimas de las vías glicolítica y de las pentosas, con lo cual se compromete seriamente la producción de energía metabólica y la generación de *poder reductor* representado en coenzimas de nicotinamida reducidas (NADH y NADPH).<sup>130</sup>

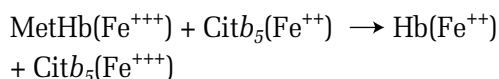
Además de la oxidación causada por el oxígeno y los radicales derivados de éste, la reacción de  $\text{HbO}_2$  con NO también conlleva la producción de MetHb. A medida que el proceso oxidativo continúa se generan compuestos caracterizados por la formación de un enlace covalente en la posición 6 de coordinación del hierro, así como por cambios denaturativos en las cadenas de globina: los hemicromos.<sup>131</sup> En los eritrocitos intactos, los precipitados constituyen los llamados cuerpos de Heinz,<sup>132,133</sup> los cuales causan daño a la membrana celular que eventualmente termina en hemólisis intravascular.<sup>134,135</sup> La continuación del proceso oxidativo de la MetHb mediado por  $\text{H}_2\text{O}_2$  puede llevar a la formación de FerrilMetHb( $\text{Fe}^{++++}$ )<sup>136</sup> y de sus derivados por denaturación oxidativa de la globina; a su turno, la reacción de FerrilMetHb( $\text{Fe}^{++++}$ ) con  $\text{H}_2\text{O}_2$  lleva a la producción de anión  $\text{O}_2^-$  y a la degrada-

ción del grupo hem.<sup>137</sup> Tanto la MetHb como los hemicromos y la FerrilMetHb son compuestos altamente tóxicos y con capacidad de desencadenar el mecanismo de la inflamación.<sup>138-141</sup> De forma ocasional se genera otro compuesto durante la desnaturación oxidativa de la Hb: la sulfohemoglobina.

El metabolismo del glóbulo rojo posee varios mecanismos que previenen o revierten la desnaturación oxidativa de la Hb: 1) metahemoglobina reductasas, 2) superóxido dismutasa, 3) glutatión peroxidasa y 4) catalasa. Los defectos en estos mecanismos son la base de las denominadas metahemoglobinemias congénitas. Bajo la denominación de metahemoglobina reductasas agrupamos actividades tanto enzimáticas como no enzimáticas (glutatión, ácido ascórbico) que representan buena parte de lo que podríamos denominar “poder reductor” del eritrocito. Todas estas reacciones implican la transferencia de electrones desde un dador hasta la MetHb como receptora final de ellos, lo que la reduce entonces a Hb.

La mayor parte de la MetHb eritrocitaria se reduce por acción de la citocromo  $b_5$  metahemoglobina reductasa. El poder reductor de este sistema está dado por nicotinamida-adenina dinucleótido reducido (NADH), el cual se genera en el metabolismo eritrocitario a partir de las reacciones de deshidrogenación de la vía glicolítica. La reducción de la MetHb por la enzima purificada y en presencia de NADH resultó ser un proceso bastante lento, lo que llevó a postular que la reacción fisiológica requiere además de la enzima de un portador de electrones.<sup>142, 143</sup> Trabajos posteriores llevaron a caracterizar

al citocromo  $b_5$  (Cit $b_5$ ) como el portador de electrones *in vivo*,<sup>144-146</sup> lo que condujo, entre otras, a la nomenclatura actual de la enzima. La proteína Cit $b_5$  posee un grupo hem y su forma soluble dentro del eritrocito establece un complejo macromolecular no covalente con la MetHb,<sup>147, 148</sup> donde sucede la reacción



que es un par de oxidorreducción en el cual el Cit $b_5$  se oxida y la MetHb se reduce. La transferencia de electrones para volver a reducir el Cit $b_5$  sucede desde el NADH usando como intermediaria la actividad de la FAD reductasa, coenzima que se reduce a FADH<sub>2</sub> y que es el grupo prostético de la metahemoglobina reductasa (diaforasa I).<sup>149</sup>

Dada la secuencia de la transferencia de electrones descrita arriba, la actividad enzimática real corresponde a una NADH-citocromo  $b_5$  reductasa ( $b_5$  R). La isoforma eritrocitaria soluble de  $b_5$  R es una proteína de 31.260 dalton, conformada por 275 residuos de aminoácido.<sup>150</sup> Se caracterizaron dos formas de  $b_5$  R: una unida a membranas y otra soluble. La forma unida a membranas está presente en el retículo endoplásmico, las mitocondrias, el núcleo, los peroxisomas y la membrana plasmática de las células somáticas;<sup>151-153</sup> la forma soluble de  $b_5$  R se encuentra fundamentalmente en los eritrocitos de varias especies, incluidos los humanos.<sup>154</sup> Las dos formas de  $b_5$  R localizadas en diferentes compartimientos celulares están involucradas en diferentes vías metabólicas. En los eritrocitos, el complejo NADH/citocromo  $b_5$



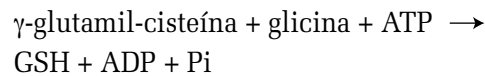
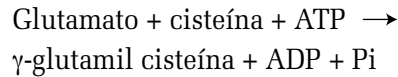
reductasa/citocromo  $b_5$  presente en forma soluble es responsable de la reducción de la MetHb.<sup>155</sup> En los tejidos no eritroides la isoforma soluble  $b_5$ R es un componente menor. La isoforma  $b_5$ R unida a las membranas transfiere electrones desde NADH hacia el citocromo  $b_5$  ligado a la membrana, el cual luego cede los electrones a diferentes procesos aceptores en el metabolismo celular, como por ejemplo la desaturación de ácidos grasos.<sup>156</sup> La isoforma unida a la membrana celular de los eritrocitos humanos parece estar implicada en el reciclaje de la vitamina E.<sup>157</sup>

Ambas formas (soluble y ligada a membrana) de la proteína  $b_5$ R tienen un dominio hidrofílico catalítico y difieren solo en sus segmentos amino-terminales. Las isoformas ligadas a membrana poseen una secuencia adicional hidrofóbica de 25 residuos de aminoácido, con una secuencia N-terminal de miristoilación (ausente en la isoforma unida a la membrana de glóbulos rojos). Ambas secuencias hidrofóbicas están ausentes en las formas solubles de la proteína.<sup>158,159</sup> En humanos, todas las isoformas conocidas de  $b_5$ R son codificadas por un mismo gen único localizado en el cromosoma 22; las diferentes expresiones fenotípicas son el resultado de la combinación de procesos de transcripción y traducción alternativos sucedidos durante la diferenciación de los precursores eritroides.<sup>160-164</sup>

Los eritrocitos poseen una segunda actividad de metahemoglobina reductasa pero dependiente de NADPH (NADPH-MetHb reductasa, diaforasa II).<sup>165</sup> La actividad de este sistema parece ser responsable de un 5% de la reducción de MetHb; su déficit hereditario

no provoca metahemoglobinemia, mientras que el déficit de diaforasa I sí lo hace.<sup>166-168</sup>

El glutatión en su forma reducida (GSH) es un tripéptido cuya síntesis en el glóbulo rojo requiere de dos pasos dependientes de ATP:



La primera reacción está catalizada por la glutamil cisteína sintetasa y la segunda, por la glutatión sintetasa.<sup>169</sup> El glutatión reducido (GSH) reacciona con la Hb para formar enlaces covalentes disulfuro Hb-S-S-G; esta reacción sucede sobre los residuos de cisteína 93 de la globina y conlleva varios cambios en su conformación y función: incremento de la afinidad por  $O_2$  y disminución del potencial redox, como los más importantes.<sup>170,171</sup> La disminución del potencial redox hace que, para las mismas condiciones de pH y temperatura, sea más difícil la oxidación de la HbO<sub>2</sub>; además, dicha disminución del potencial redox se refleja en un incremento de la relación HbFe<sup>++</sup>/HbFe<sup>+++</sup>. Si bien la concentración intraeritrocitaria de glutatión es elevada en comparación con otros tipos celulares, solo una fracción insignificante se halla ligada a la Hb en condiciones fisiológicas,<sup>172</sup> debido a que los compuestos GSH-Hb son constantemente destruidos, y con gran eficiencia, por la actividad de glutatión reductasa.<sup>173</sup> Lo anterior hace poco probable que *in vivo* la reducción directa no enzimática de la MetHb por glutatión juegue algún papel fisiológico.

co, lo cual también aplica a la reducción por el ácido ascórbico.<sup>174</sup>

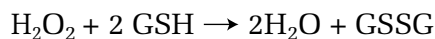
El glutatión oxidado (GSSG), en cualquiera de sus formas, es extraído rápidamente del eritrocito mediante un sistema de transporte activo asociado a la membrana plasmática.<sup>175</sup> Por otro lado, el GSSG es reducido nuevamente a GSH en la reacción



que es catalizada por la glutatión reductasa. Esta enzima es una flavoproteína de 478 residuos de aminoácido; al parecer su actividad depende de la ingesta dietaria de riboflavina.<sup>176</sup> La totalidad de la coenzima reducida NADPH + H<sup>+</sup> usada en la reacción anterior proviene de las dos primeras reacciones de la vía de las pentosas (Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) y ácido 6-fosfogluconico deshidrogenasa) y por lo tanto, la reducción del GSSH a GSH depende del metabolismo de la glucosa por la vía de las pentosas.<sup>177</sup>

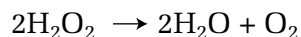
Las *superóxido dismutasas* catalizan la dismutación del anión peróxido a oxígeno y peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). La superóxido dismutasa eritrocitaria humana ha sido cuidadosamente caracterizada:<sup>178</sup> se trata de una enzima soluble, con un peso molecular cercano a 32.000 dalton, que contiene cobre y zinc. Cuando todavía no se conocía su actividad se la denominaba hemocupreína o eritrocupreína. El cobre es necesario para la actividad catalítica de esta enzima, la cual, gracias a catalizar la reacción de dismutación, puede proteger la HbO<sub>2</sub> de la oxidación, aunque el producto final sea también un ROS, si bien menos reactivo.

En los glóbulos rojos la descomposición del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> es catalizada por enzimas diferentes. Una de estas es la *glutatión peroxidasa* (GSHPx) que cataliza la reacción



La GSHPx es la principal selenioproteína en el humano, lo cual podría explicar las propiedades antioxidantes del selenio como micronutriente, el cual es indispensable para la actividad de esta enzima.<sup>179</sup>

La *catalasa* cataliza la reacción



Esta enzima es un tetrámero integrado por subunidades de unos 60.000 dalton, cada una de estas con un hem como grupo prostético,<sup>180</sup> cuyo átomo de hierro se encuentra en la forma férrica. La catalasa está ampliamente distribuida en plantas y animales; la isoenzima eritrocitaria humana se asocia a la banda 4,5 de la membrana-citoesqueleto y contiene NADPH ligado, que no es esencial para la actividad catalítica pero sí para proteger la enzima de la oxidación causada por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, por lo que el mantenimiento de la actividad de la catalasa en el eritrocito depende del metabolismo de la glucosa por la vía de las pentosas.

Durante casi medio siglo existió una controversia sobre cuál de las dos enzimas, GSHPx o catalasa, tiene el papel fisiológico relevante en la protección del eritrocito contra el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; discusión que perdió relevancia con el descubrimiento de las *peroxiredoxinas* eritrocitarias.<sup>181</sup> Las peroxiredoxinas (Prxs) conforman una familia de peroxidases homodiméricas multifuncionales que

reducen el  $H_2O_2$  y los alquil hidropéroxidos y dependen de un residuo específico de cisteína para catalizar la reducción del peróxido. Se conocen seis isoformas en los mamíferos (Prx1-6). Cuando la peroxiredoxina 2 (Prx2) reacciona con peróxido, el residuo de cisteína en una de las subunidades es oxidado a ácido sulfénico; luego, el residuo de cisteína conservado en la otra subunidad reacciona con el ácido sulfénico para formar un puente disulfuro.<sup>182</sup> La reducción del enlace disulfuro es catalizada por la enzima *tioiredoxina* (Trx), regenerándose así la Prx2 y completándose el ciclo de óxido-reducción.

La Prx2 es la tercera más abundante proteína en los eritrocitos y era denominada previamente calpromotina por su capacidad de regular el flujo de potasio activado por calcio,<sup>183</sup> hasta cuando se identificó su actividad antioxidante asociada a la misma proteína que había también recibido los nombres de proteína antioxidante tiol-específica (TSA) (Lym 1994) y de proteína protectora (PRP).<sup>184</sup> La síntesis de Prx2 comienza temprano durante la diferenciación de los precursores eritroides, antecedendo a la que la Hb.<sup>185</sup> Evidencia reciente permitió considerar la Prx2 como un factor importante en la protección del eritrocito circulante contra el daño oxidativo<sup>186</sup> y también como un probable eslabón en las vías de señalamiento que implican al  $H_2O_2$ .<sup>187</sup> Los glóbulos rojos también poseen, aunque en baja concentración, Prx1 y Prx6, aunque su papel fisiológico no ha sido dilucidado.

La Trx es una proteína ubicua: está presente en todas las especies estudiadas desde Archebacteria hasta mamíferos, con una secuencia altísimamente

conservada Trp-Cys-Cly-Pro-Cys en el sitio activo.<sup>188</sup> Mediante los dos residuos de cisteína del sitio activo, la Trx cataliza la reducción de los cuatro ribonucleótidos a deoxirribonucleótidos (paso esencial para la síntesis de DNA), así como la reducción de enlaces disulfuro -S-S- en péptidos y proteínas. La Trx reducida -Trx-(SH<sub>2</sub>)- es oxidada a Trx-S<sub>2</sub> en estos procesos catalíticos,<sup>189</sup> transfiriendo así poder reductor a un aceptor (ribonucleótido o péptido).

La Trx oxidada (Trx-S<sub>2</sub>) es regenerada a su vez a su forma reducida mediante la acción de otra enzima, también ampliamente distribuida, la *tioiredoxina reductasa* (TrxR), la cual es una flavoproteína que utiliza como coenzima NADPH. En el eritrocito maduro anucleado humano, el sistema Trx/TrxR cataliza la reducción de enlaces disulfuro en proteínas que han sido oxidadas, particularmente la Prx.<sup>190</sup> En este sentido, la degradación del  $H_2O_2$  por parte de la Prx depende de la generación de poder reductor en la forma de NADPH + H<sup>+</sup>. La TrxR es una proteína homodimérica cuya estructura cristalina es similar a la de la glutatión reductasa con dominios de unión para FAD y para NADPH, y un dominio intermedio pero con la adición de una elongación C-terminal de 16 residuos que contienen la secuencia de sitio activo seleniotiol,<sup>191</sup> por lo cual la TrxR puede considerarse como la segunda selenioproteína de importancia en el eritrocito.

Por otro lado, la TrxR cataliza la reducción NADPH-dependiente del ácido dehidroascórbico a ascorbato, proporcionando así un mecanismo metabólico para la regeneración del ascorbato oxidado, mecanismo también depen-

diente del metabolismo de la glucosa por la vía de las pentosas.<sup>192</sup> No se han descrito mutaciones específicas asociadas con deficiencia eritrocitaria de TrxR; sin embargo, las mutaciones dirigidas sobre la isoforma mitocondrial en ratones se reflejan en cardiomiopatía dilatada, entre otros trastornos.<sup>193</sup>

### La vía de la hexosa monofosfato

La actividad de esta vía en los eritrocitos maduros en estado de reposo da cuenta hasta del 11% de la glucosa consumida por las células. La tasa de la vía está regulada en el primer paso, catalizado por la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD), por la relación NADP+/NADPH. El producto más destacado de esta vía, también conocida como la vía de la pentosa fosfato, es el NADPH. Los eritrocitos carecen de las reacciones necesarias para emplearlo como fuente de energía; por contraste, opera como cofactor en la reducción del glutatión oxidado (GSSG), agente reductor fundamental que protege las células de la oxidación.<sup>194</sup>

El NADPH aporta el potencial reductor necesario para prevenir o revertir las reacciones de oxidación de la Hb en la metahemoglobina (MetHb). La imposibilidad para mantener el glutatión en su forma reducida (GSH) conduce a la oxidación de los grupos SH de las proteínas, lo cual implica su degradación y la formación de los cuerpos de Heinz, agregados de globina desnaturalizada. Además, la oxidación de las proteínas de la membrana y de la maquinaria enzimática metabólica conduce a lisis celular.<sup>195</sup>

El segundo paso de la vía es la conversión de 6 fosfogluconato (6PG) en ribulosa 5 fosfato, en una reacción de dos pasos catalizada por la 6 fosfogluconato deshidrogenasa. Como consecuencia de la oxidación del 6PG, un azúcar de 6 carbonos se convierte en uno de 5, lo cual implica la liberación de una molécula de CO<sub>2</sub>. Este es el único sitio de producción de CO<sub>2</sub> en el eritrocito maduro y es un mecanismo de cuantificación de la actividad de la vía.

Otra función relevante de la vía de la hexosa monofosfato se refiere a la producción de ribosa 5 fosfato. En células nucleadas se relaciona con el metabolismo de los ácidos nucleicos; en los eritrocitos maduros tiene un papel restringido en el metabolismo de las purinas.

### Referencias

1. Guest GM, Mackler B, Graubarth H, Amentorp PA. Rates of utilization of glucose in erythrocytes and leukocytes. *Am J Physiol* 1953;172:295.
2. Moses SW, Bashan N, Gutman A. Glycogen metabolism in the normal red blood cell. *Blood* 1972;40:836.
3. Green DE, Murer E, Hultin HO, Richardson SH, Salmin B, Brierley GP, et al. Association of integrated metabolic pathways with membranes. *Arch Biochem Biophys* 1965;112:635.
4. Jacobasch G, Minakami S, Rapoport SM. Glycolysis of the erythrocyte. En: Yoshikawa H, Rapoport SM (eds.). *Cellular and Molecular Biology of Erythrocytes*. Baltimore: University Park Press; 1974. p.55.
5. Asakuta T, sato Y, Minakami S, Woshikawa H. Effect of deoxygenation of intracellular hemoglobin on red cell glycolysis. *J Biochem* 1966;5:524.

6. Minakami S, Suzuki C, Saito T, Yoshikawa H: Studies on erythrocytes glycolysis. *J Biochem* 1965;58:543.
7. Brewer GJ: Genetic and population studies of quantitative levels of adenosine triphosphate in human erythrocytes. *Biochem Genet* 1967;1:25.
8. Jensen FB: The dual roles of red blood cells in tissue oxygen delivery: oxygen carriers and regulators of local blood flow. *J Exp Biol* 2009; 212: 3387-3393.
9. Christiansen J, Douglas CG, Haldane JS: The absorption and dissociation of carbon dioxide by human blood. *J Physiol* 1914; 48: 244-271.
10. Henderson LJ, Bock AV, Field H, Stoddard JL: Blood as a physicochemical system. II. *J Biol Chem* 1924; 59: 379-431.
11. Ferguson JKW, Roughton FJW: The chemical relationships and physiological importance of carbamino compounds of CO<sub>2</sub> with haemoglobin. *J Physiol* 1934; 83: 87-102.
12. Astrup P: Editorial: Red-cell pH and oxygen affinity of hemoglobin. *N Engl J Med* 1970; 283: 202-204.
13. Stadie WC, O'Brien H: The catalysis of the hydration of carbon dioxide and dehydration of carbonic acid by an enzyme isolated from red blood cells. *J Biol Chem* 1933; 103: 521-529.
14. Benesch R, Benesch RE: Effects of organic phosphates from human erythrocytes on the allosteric properties of haemoglobin. *Biochem Biophys Res Commun* 1967; 26: 162-167.
15. Chanutin A, Curnish R: Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes. *Arch Biochem Biophys* 1967; 121: 96-102.
16. Lenfant C, Torrance J, English E, Finch CA, Reynafarje C, Ramos J, Faura J: Effect of altitude on oxygen binding by hemoglobin and on organic phosphate levels. *J Clin Invest* 1968; 47: 2652-2656.
17. Benesch R, Benesch RE, Yu CI: Reciprocal binding of oxygen and diphosphoglycerate by human hemoglobin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1968; 59: 526-532.
18. Bunn HF: Differences in the interaction of 2,3-diphosphoglycerate with certain mammalian hemoglobins. *Science* 1971; 172: 1049-1050.
19. Arnone A: X-ray diffraction study of binding of 2,3-diphosphoglycerate to human deoxyhaemoglobin. *Nature* 1972; 237: 146-149.
20. Tomita S, Riggs A: Studies of the interaction of 2,3-diphosphoglycerate and carbon dioxide with hemoglobins from mouse, man, and elephant. *J Biol Chem* 1971; 246: 547-554.
21. Salhany LM, Keitt AS, Eliot RS: The rate of deoxygenation of red blood cells: effect of intracellular 2,3-diphosphoglycerate and pH. *FEBS Lett* 1971; 16: 257-261.
22. Brewer GJ, Eaton JW: Erythrocyte metabolism: interaction with oxygen transport. *Science* 1971; 171: 1205-1211.
23. Tyuma I, Shimizu K: Different response to organic phosphates of human fetal and adult hemoglobins. *Arch Biochem Biophys* 1969; 129: 404-405.
24. Hill EP, Power GG, Lungol D: A mathematical model of placental O<sub>2</sub> transfer with consideration of hemoglobin reaction rates. *Am J Physiol* 1972; 222: 721-729.
25. Ohis RK: Core concepts: The biology of hemoglobin. *Neo Reviews* 2011; 12: e29-e38.
26. Rapoport S, Guest GM: The decomposition of diphosphoglycerate in acidified blood: its relationship to reactions of the glycolytic cycle. *J Biol Chem* 1939; 129: 781-790.
27. Rapoport S, Luebering J: The formation of 2,3-diphosphoglycerate in rabbit erythrocytes: the existence of a diphosphoglycerate mutase. *J Biol Chem* 1950; 183: 507-516.
28. Rose ZB: The enzymology of 2,3-bisphosphoglycerate. *Adv Enzymol* 1980; 51: 211-253.
29. Fothergill-Gilmore LA, Watson HC: The phosphoglycerate mutases. *Adv Enzymol* 1989; 62: 227-313.
30. Haggarty NW, Dunbar B, Fothergill LA: The complete amino acid sequence of human erythrocyte diphosphoglycerate mutase. *EMBO J* 1983; 2: 1213-1220.
31. Somoza R, Beutler E: Phosphoglycolate phosphatase and 2,3-diphosphoglycerate in red

- cells of normal and anemic subjects. *Blood* 1983; 62: 750-753.
32. Reynolds CH: Activation of human erythrocyte 2,3-biphosphoglycerate phosphatase at physiological concentrations of substrate. *Arch Biochem Biophys* 1986; 250: 106-111.
  33. Fujita T, Suzuki K, Tada T, Yoshihara Y, Hamaoka R, Uchida K, Matuo Y, Sasaki T, Hanafusa T, Taniguchi N: Human erythrocyte biphosphoglycerate mutase: inactivation by glycation *in vivo* and *in vitro*. *J Biochem* 1998; 124: 1237-1244.
  34. Wang Y, Wei Z, Bian Q, Cheng Z, Wan M, Liu L: Crystal structure of human biphosphoglycerate mutase. *J Biol Chem* 2004; 279: 39132-39138.
  35. Cho J, King JS, Quian X, Harwood AJ, Shears SB: Dephosphorilation of 2,3-biphosphoglycerate by MIPP expands the regulatory capacity of the Rapoport-Luebering glycolytic shunt. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 5998-6003.
  36. Desformes JF, Slawsky P: Red cell 2,3-diphosphoglycerate and intracellular arterial pH in acidosis and alkalosis. *Blood* 1972; 40: 740-746.
  37. Van Slyke DD, Hastings AB, Heildelberger M, Neil JM: Studies of gas and electrolyte equilibria in the blood: III. The alkali-binding and buffer values of oxyhemoglobin and reduced hemoglobin. *J Biol Chem* 1922; 54: 481-506.
  38. Hastings AB, Van Slyke DD, Neil JM, Heildelberger M, Harington R: Studies of gas and electrolyte equilibria in blood: IV. The acid properties of reduced and oxygenated hemoglobin. *J Biol Chem* 1924; 60: 89-153.
  39. Samaja M, Veicsteinas A, Cerretelli P: Oxygen affinity of blood in altitude Serpas. *J Appl Physiol* 1979; 47: 337-341.
  40. Winslow RM, Monge CC, Statham NJ, Gibson CG, Charache S, Whittembury J, Moran O, Berger RL: Variability of oxygen affinity of blood: human subjects native to high altitude. *J Appl Physiol* 1981; 51: 1411-1416.
  41. Winslow RM, Samaja M, West JB: Red cell function at extreme altitude on Mount Everest. *J Appl Physiol* 1984; 56: 109-116.
  42. Rojas JA: Aspectos fisiológicos en la adaptación a la hipoxia altitudinal. *Acta Biol Col* 2002; 7: 5-16.
  43. Mairbaurl H, Humpeler E, Schwabberger G, Pessenhofer H: Training-dependent changes of red cell density and erythrocytic oxygen transport. *J Appl Physiol* 1983; 55: 1403-1407.
  44. Schmidt W, Dahners HW, Correa R, Ramírez R, Rojas J, Bonning D: Blood gas transport properties in endurance trained athletes living at different altitudes. *Int J Sports Med* 1990; 11: 15-21.
  45. Oski FA, Gottlieb AJ, Delivoria-Papadopoulos M, millar WW: Red-cell 2,3-diphosphoglycerate levels in subjects with chronic hypoxemia. *N Engl J Med* 1969; 280: 1165-1166.
  46. Oski FA, Marshall BE, Cohen PJ, Sugerman HJ, Miller LD: The role of the left-shifted or right-shifted oxygen-hemoglobin equilibrium curve. *Ann Intern Med* 1971; 74: 44-46.
  47. Berman W Jr, Word SC, Yabek SM, Dillon T, Fripp R, Burstein R: Systemic oxygen transport in patients with congenital heart disease. *Circulation* 1987; 75: 360-368.
  48. Clause D, Detry B, Rodenstein D, Liistro G, Stability of oxyhemoglobin affinity in patients with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome without daytime hypoxemia. *J Appl Physiol* 2008; 105: 1809-1812.
  49. Bersin RM, Kwasmann M, Lau D, Klinski C, Tanaka K, Khorrami P, et al: Importance of oxygen-hemoglobin binding to oxygen transport in congestive heart failure. *Br Heart J* 1993; 70: 443-447.
  50. Torrance J, Jacobs P, Restrepo A, Eschbach J, Lenfant C, Finch CA: Intraerythrocytic adaptation to anemia. *N Engl J Med* 1970; 283: 165-169.
  51. Beard JL, Haas JD, Tufts D, Spielvogel H, Vargas E, Rodríguez C: Iron deficiency anemia and steady-state work performance at high altitude. *J Appl Physiol*; 1988; 64: 1878-1884.
  52. Poillon WN, Kim BC: 2,3-diphosphoglycerate and intracellular pH as interdependent determinants of the physiologic solubility of deoxyhemoglobin. *Blood* 1990; 76: 1028-1036.

53. Valtis DJ, Kennedy AC: Defective gas-transport function of stored red blood cells. *Lancet* 1954; 1: 119-124.
54. Jesch F, Webber LM, Dalton JW, Carey JS: Oxygen dissociation alter transfusion of blood stored in ACD or CPD solution. *Torca Cardiovasc Surg* 1975; 70: 35-39.
55. Beutler E, Meul A, Word LA: Depletion and regeneration of 2,3-diphosphoglyceric acid in stored red blood cells. *Transfusion* 1969; 9: 109-114.
56. Dawson RB Jr, Kocholaty WF, Gray JL: Hemoglobin function and 2,3-DPG levels of blood stored at 4° C in ACD and CPD. *Transfusion* 1970; 10: 299-304.
57. Moore GL, Peck CC, Sohmer PR, Zuck TF: Some properties of blood stored in anticoagulant CPDA-1 solution. A brief summary. *Transfusion* 1981; 21: 135-137.
58. Collins JA: Problems associated with the massive transfusion of stored blood. *Surgery* 75: 274-295, 1974.
59. Beutler E, Word L: The in vivo regeneration of red cell 2,3-diphosphoglyceric acid (DPG) alter transfusion of stored blood. *J Lab Clin Med* 1969; 74: 300-304.
60. Valeri CR, Hirsch NM: Restoration in vivo of erythrocyte adenosine triphosphate, 2,3-diphosphoglycerate, potassium ion, and sodium concentrations following the transfusion of acid-citrate-dextrose-stored human red blood cells. *J Lab Clin Med* 1969; 73: 722-733.
61. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327: 524-526.
62. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE: Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 9265-9269.
63. Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-376.
64. Griffith TM, Edwards DH, Lewis MJ, Newby AC, Henderson AH: The nature of endothelium-derived vascular relaxant factor. *Nature* 1984; 308: 645-647.
65. Wallis JP: Nitric oxide and blood: a review. *Transfusion Medicine* 2005; 15: 1-11.
66. Hill BG, Dranka BP, Bailey SM, Lancaster JR, Darley-Usmar VM: What part of NO don't understand? Some answers to the cardinal questions in nitric oxide biology. *J Biol Chem* 2010; 285: 19699-19704.
67. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG: Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001; 357: 593-615.
68. Huang PL, Huang Z, Mashimo H, Bloch K, Moskowitz MA, Bevan JA, Fishman MC: Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase. *Nature* 1995; 377: 239-242.
69. Sethi S, Dikshit M: Modulation of polymorphonuclear leukocytes function by nitric oxide. *Thromb Res* 2000; 100: 223-247.
70. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988; 333: 664-666.
71. Gilchrist M, Hesslinger C, Befus AD: Tetrahydrobiopterin: critical factor in the production and role of nitric oxide in mast cells. *J Biol Chem* 2003; 278: 50607-50614.
72. Vallance P, Collier J, Leone A, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in renal failure. *Lancet* 1992; 339: 572-575.
73. Levey AS, Coresh J. Chronic kidney disease. *Lancet* 2012; 379: 165-180.
74. Savvidou MD, Hingorani AD, Tsikas D, Frolich J, Vallance P, Nicolaidis KH. Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *Lancet* 2003; 361: 1511-1517.
75. Davids M, van Hell AJ, Visser M, Nijveldt RJ, van Leewen PAM, Teerlink T. Role of human erythrocyte in generation and storage of asymmetric dimethylarginine. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012; published on line before printing, doi: 10.1152.
76. Kleinbongard P, Schulz R, Rassaf T, Lauer T, Dejam A, Jax T, et al. Red blood cells ex-

- press a functional endothelial nitric oxide synthase. *Blood* 2006; 107: 2943-2951.
77. (Mihov D, Vogel J, Gassmann M, Bogdanova A: Erythropoietin activates nitric oxide synthase in murine erythrocytes. *Am J Physiol Cell Physiol* 2009; 297: C378-C388)
  78. Stamler JS, Simon DI, Osborne JA, Mullins ME, Jaraki O, Michel T, et al. S-Nitrosylation of proteins with nitric oxide: synthesis and characterization of biologically active compounds. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 444-448.
  79. Stamler JS, Jaraki O, Osborne JA, Simon DI, Keaney J, Vita J, et al. Nitric oxide circulates in mammalian plasma primarily as an S-nitroso adduct of serum albumin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 7674-7677.
  80. Liu X, Yan Q, Baskerville KL, Zweier JL: Estimation of nitric oxide concentration in blood for different rates of generation. Evidence that intravascular nitric oxide levels are too low to exert physiological effects. *J Biol Chem* 2007; 282: 8831-8836.
  81. Mamone G, Sannolo N, Malorni A, Ferranti P: In vitro formation of S-nitrosohemoglobin in red cells by inducible nitric oxide synthase. *FEBS Lett* 1999; 462: 241-245.
  82. Herold S, Rock G: Reactions of deoxy-, oxy-, and methemoglobin with nitrogen monoxide: mechanistic studies of the S-nitrosothiol formation under different mixing conditions. *J Biol Chem* 2003; 278: 6623-6634.
  83. Stamler JS, Jia L, Eu JP, McMahon TJ, Demchenko IT, Bonaventura J, Gernet K, Piantadosi CA: Blood flow regulation by S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient. *Science* 1997; 276: 2034-2037.
  84. Jia L, Bonaventura C, Bonaventura J, Stamler JS: S-nitrosohemoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control. *Nature* 1996; 380: 221-226.
  85. Gladwin MT, Ognibene FP, Pannell LK, Nichols JS, Pease-Fye ME, Shelhamer JH, et al. Relative role of heme nitrosylation and  $\beta$ -cysteine 93 nitrosation in the transport and metabolism of nitric oxide by hemoglobin in the human circulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 9943-9948.
  86. McCullough WT, Collins DM, Ellsworth ML: Arteriolar responses to extracellular ATP in striated muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1997; 272: H1886-H1891.
  87. Burnstock G, Kennedy C: A dual function for adenosine 5'-triphosphate in the regulation of vascular tone. Excitatory cotransmitter with noradrenaline from perivascular nerves and locally released inhibitory intravascular agent. *Circ Res* 1986; 58: 319-330.
  88. Dietrich HH, Ellsworth ML, Sprague RS, Dacey RG Jr: Red blood cell regulation of microvascular tone through adenosine triphosphate. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 278: H1294-H1298.
  89. Forsyth AM, Wan J, Owrutsky PD, Abkariam M, Stone HA: Multiscale approach to link red blood cell dynamics, shear viscosity, and ATP release. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 10986-10991.
  90. Montalbetti N, Denis MFL, Pignataro OP, Kobakate E, Lazarowski ER, Schwarzbaum PJ: Homeostasis of extracellular ATP in human erythrocytes. *J Biol Chem* 2011; 286: 38397-39407.
  91. Penuela OA, Palomino F, Gómez L. Eritropoyetina humana recombinante y lesión de almacenamiento de eritrocitos. *Medicina transfusional al día* 2010;9(1):44-49.
  92. Penuela OA, Palomino F, Gomez L. Recombinant Human EPO Beta Improves Storage Lesion and Decreases Apoptosis-Like Indices on Blood Bank Erythrocytes. *Transfusion* 2007; 47(suppl.):85A.
  93. Beutler E, Duron O. Factors influencing the preservation of red cell ATP on storage. *Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch.* 1965;83(4):509-15.
  94. Gabrio BW, Finch CA. Erythrocyte preservation. I. The relation of the storage lesion to in vivo erythrocyte senescence. *J Clin Invest.* 1954 Feb;33(2):242-6.
  95. Aamand R, Dalsgaard T, Jensen FB, Simonsen U, Roepstorff A, Fago A: Generation of nitric oxide from nitrite by carbonic anhydrase: a possible link between metabolic activity and vasodilation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 297: H2068-H2074.



96. Patel RP, Hogg N, Lim-Shapiro DB: The potential role of the red blood cell in nitrite-dependent regulation of blood flow. *Cardiovasc Res* 2011; 89: 507-515.
97. Liu X, Miller MJ, Joshi MS, Sadowska-Krowicka H, Clark DA, Lancaster JR Jr: Diffusion-limited reaction of free nitric oxide with erythrocytes. *J Biol Chem* 1998; 273: 18709-19713.
98. Liu X, Samouilov A, Lancaster JR, Zweier JL: Nitric oxide uptake by erythrocytes is primarily limited by extracellular diffusion not membrane resistance. *J Biol Chem* 2002; 277: 26194-26199.
99. Azarov I, Liu C, Reynolds H, Tsekouras Z, Lee JS, Gladwin MT, Kim-Shapiro DB: Mechanisms of slower nitric oxide uptake in red blood cells and other hemoglobin-containing vesicles. *J Biol Chem* 2011; 286: 33567-33579.
100. Martin W, Villani GM, Jothianandau D, Furchgott RF: Selective blockade of endothelium-dependent and glyceril trinitrate-induced relaxation by hemoglobin and by methylene blue in the rabbit aorta. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 232: 708-716.
101. Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM, Wood KD: Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ Res* 1987; 61: 866-879.
102. Azarov I, Huang KT, Basu S, Gladwin MT, Hogg N, Kim-Shapiro DB: Nitric oxide scavenging by red blood cells as a function of hematocrit and oxygenation. *J Biol Chem* 2005; 280: 39024-39032.
103. Huang K-T, Han TH, Hyduke DR, Vaughn MW, Van Herle H, Hein TW, et al. Modulation of nitric oxide bioavailability by erythrocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 11771-11776.
104. Joshi MS, Ferguson TB Jr, Han TH, Hyduke DR, Liao JC, Rassaf T, et al. Nitric oxide is consumed, rather than conserved, by reaction with oxyhemoglobin under physiological conditions. *Proc Natl Acad Sci* 2002; 99: 10341-10346.
105. Cosby K, Partovi KS, Crawford JH, Patel RP, Reiter CD, Martyr S, et al. Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation. *Mat Med* 2003; 9: 1498-1505.
106. Nagababu E, Ramsamy S, Albernathy DR, Rifkind JM: Active nitric oxide produced in the red cell under hypoxic conditions by deoxyhemoglobin mediated nitrate reduction. *J Biol Chem* 2003; 278: 46349-46356.
107. Basu S, Grubina R, Huang J, Conradie J, Huang Z, Jeffers A, et al. Catalytic generation of  $N_2O_3$  by the concerted nitrite reductase and anhydrase activity of hemoglobin. *Nat Chem Biol* 2007; 3: 785-794.
108. Giustarini D, Milzani A, Colombo R, Dalle-Donne I, Rossi R: Nitric oxide and S-nitrosothiols in human blood. *Clin Chim Acta* 2003; 330: 85-98.
109. Angelo M, Singel DJ, Stamler JS: An S-nitrosothiol (SON) synthase function of hemoglobin that utilizes nitrite as a substrate. *Proc Natl Acad Sci* 2006; 103: 8366-8371.
110. Pawloski JR, Hess DT, Stamler JS: Export by red blood cells of nitric oxide bioactivity. *Nature* 2001; 409: 622-626.
111. Crawford JH, Isbell TS, Huang Z, Shiva S, Chacko BK, Schechter AN, et al. Hypoxia, red blood cells, and nitrite regulate NO-dependent hypoxic vasodilation. *Blood* 2006; 107: 566-574.
112. Isbell TS, Gladwin MT, Patel RP: Hemoglobin oxygen fractional saturation regulates nitrite-dependent vasodilation of aortic ring bioassays. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293: H2565-H2572
113. Sonveaux P, Lobysheva II, Feron O, McMahon TJ: Transport and peripheral bioactivities of nitrogen oxides carried by red blood cell hemoglobin: role in oxygen delivery. *Physiology* 2007; 22: 97-112.
114. Chen LY, Mehta JL: Evidence for the presence of L-arginine-nitric oxide pathway in human red blood cells: relevance in the effects of red blood cells on platelet function. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998; 32: 57-61
115. Pawloski JR, Swaminathan RJ, Stamler JS: Cell-free and erythrocytic S-nitrosohemo-

- globin inhibits human platelet aggregation. *Circulation* 1998; 97: 263-267.
116. Loscalzo J: Nitric oxide insufficiency, platelet activation, and arterial thrombosis. *Circ Res* 2001; 88: 756-762.
  117. Crane MS, Olsson R, Moore K, Rossi AG, Megson IL: Novel role for low molecular weight plasma thiols in nitric oxide-mediated control of platelet function. *J Biol Chem* 2002; 277: 46858-46863.
  118. Benett-Guerreo 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: 17063-17068.
  119. Somani A, Steiner ME, Hebbel RP: The dynamic regulation of microcirculatory conduit function: features relevant to transfusion medicine. *Transfus Apher Sci* 2010; 43: 61-68.
  120. Dejam A, Hunter CJ, Pelletier MM, Hsu LL, Machado R, Shiva S, et al. Erythrocytes are the major intravascular storage sites of nitrite in human blood. *Blood* 2005; 106: 734-739
  121. Jensen FB, Rohde S: Comparative analysis of nitrite uptake and hemoglobin-nitrite reactions in erythrocytes: sorting out uptake mechanisms and oxygenation dependencies. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; 298: R972-R982.
  122. Jubelin BC, Gierman JL. Erythrocytes may synthesize their own nitric oxide. *Am J Hypertension* 1996; 9: 1214-1219.
  123. Walkins JA, Kawanishi S, Caughey WS: Autoxidation reactions of hemoglobin A free from other red cell component: a minimal mechanisms. *Biochem Biophys Res Commun* 1985; 132: 742-748.
  124. Rachmilewitz EA, Peisach J, Blumberg WE: Studies on the stability of oxyhemoglobin A and its constituent chains and their derivatives. *J Biol Chem* 1971; 246: 3356-3366.
  125. Eder HA, Finch C, McKee RW: Congenital methemoglobinemia. A clinical and biochemical study of a case. *J Clin Invest* 1949; 28: 265-272.
  126. Waisman HA, Bain JA, Richmond JB, Munsey FA: Laboratory and clinical studies in congenital methemoglobinemia. *Pediatrics* 1952; 10: 293-305.
  127. Ilan YA, Samuni A, Chevion M, Czapski G: Quaternary status of methemoglobin and its valence-hybrid. A pulse radiolysis study. *J Biol Chem* 1978; 253: 82-86.
  128. Misra HP, Fridovich I: The generation of superoxide radical during the autoxidation of hemoglobin. *J Biol Chem* 1972; 247: 6960-6962.
  129. Sutton HC, Roberts PB, Winterbourn C: The rate of reaction of superoxide radical ion with oxyhaemoglobin and metahaemoglobin. *Biochem J* 1975; 155: 503-510.
  130. Morgan PE, Dean RT, Davies MJ: Inhibition of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase by peptide and protein peroxides generated by singlet oxygen attack. *Eur J Biochem* 2002; 269: 1916-1925.
  131. Rachmilewitz EA: Denaturation of the normal and abnormal hemoglobin molecule. *Semin Hematol* 1974; 11: 441-462.
  132. Harley JD, Mauer AM: Studies on the formation of Heinz bodies. I. Methemoglobin production and oxyhemoglobin destruction. *Blood* 1960; 16: 1722-1735.
  133. Allen DW, Jandl JH: Oxidative hemolysis and precipitation of hemoglobin. II. Role of tiols in oxidant drug action. *J Clin Invest* 1961; 40: 454-475.
  134. Lubin A, Desforges JF: Effect of Heinz bodies on red cell deformability. *Blood* 1972; 39: 658-665.
  135. Jarolim P, Lahav M, Liu SC, Palek J: Effect of hemoglobin oxidation products on the stability of red cell membrane skeletons and the association of skeletal proteins: correlation with a release of hemin. *Blood* 1990; 76: 2125-2131.
  136. Giulivi C, Davies KJ: A novel antioxidant role for hemoglobin. The comproporation of ferrilhemoglobin with oxyhemoglobin. *J Biol Chem* 1990; 265: 19453-19460.
  137. Nagabadu E, Rifkind JM: Reaction of hydrogen peroxide with ferrylhemoglobin: superoxide production and heme degradation. *Biochemistry* 2000; 39: 12503-12511.
  138. Harrison HE, Bunting H, Ordway NK, Albrink WS: The pathogenesis of the renal injury produced in the dog by hemoglobin

- or methemoglobin. *J Exp Med* 1947; 86: 339-356.
139. Goldman DW, Breyer RJ III, Yeh D, Broker-Ryan BA, Alayash AI: Acellular hemoglobin-mediated oxidative stress toward endothelium: a role for ferryl iron. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1998; 275: H1046-H1053.
  140. Rother RP, Bell L, Hillmen P, Gladwin MT: The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin. A novel mechanism of human disease. *JAMA* 2005; 293: 1653-1662.
  141. Silva G, Jenny V, Chora A, Larsen R, Balla J, Soares MP: Oxidized hemoglobin is an endogenous proinflammatory agonist that targets vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 2009; 284: 29582-29595.
  142. Sugita Y, Nombra S, Yoneyama Y: Purification of reduced pyridine nucleotide dehydrogenase from human erythrocytes and methemoglobin reduction by the enzyme. *J Biol Chem* 1971; 246: 6072-6078.
  143. Kuma F, Inomata H: Studies on methemoglobin reductase. II. The purification and molecular properties of reduced nicotinamide adenine dinucleotide-dependent methemoglobin reductase. *J Biol Chem* 1972; 247: 556-560.
  144. Tomoda A, Yubisui T, Tsuji A, Yoneyama Y: Kinetic studies on methemoglobin reduction by human red cell NADH cytochrome  $b_5$  reductase. *J Biol Chem* 1979; 254: 3119-3123.
  145. Abe K, Sugita Y: Properties of cytochrome  $b_5$ , and methemoglobin reduction in human erythrocytes. *Eur J Biochem* 1979; 101: 423-428.
  146. Kuma F: Properties of methemoglobin reductase and kinetic study of methemoglobin reduction. *J Biol Chem* 1981; 256: 5516-5523.
  147. Gacon G, LOSTANLEN D, Labie D, Kaplan JC: Interaction between cytochrome  $b_5$  and hemoglobin: involvement of 66 (E10) and 95 (FG2) lysyl residues of hemoglobin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 1917-1921.
  148. Poulos TL, Mauk AG: Models for the complexes formed between cytochrome  $b_5$  and the subunits of methemoglobin. *J Biol Chem* 1983; 258: 7369-7373.
  149. Yubisui T, Takeshita M: Characterization of the purified NADH-cytochrome  $b_5$  reductase of human erythrocytes as a FAD-containing enzyme. *J Biol Chem* 1980; 255: 2454-2456.
  150. Yubisui T, Miyata T, Iwanaga S, Tamuta M, Takeshita M: Complete amino acid sequence of NAD-cytochrome  $b_5$  reductase purified from human erythrocytes. *J Biochem* 1986; 99: 407-422.
  151. Borgese N, Pietrini G: Distribution of the integral membrane protein NADH-cytochrome  $b_5$  reductase in rat liver cells, studied with a quantitative radioimmunoblotting assay. *Biochem J* 1986; 239: 393-403.
  152. Borgese N, D'Arrigo A, De Silvestres A, Pietrini G: NADH-cytochrome  $b_5$  reductase and cytochrome  $b_5$  isoforms as models for the study of post-translational targeting to the endoplasmic reticulum. *FEBS Lett* 1993; 325: 70-75.
  153. Gutiérrez C, Okita R, Krisans S: Demonstration of cytochrome reductases in rat liver peroxisomes: biochemical and immunochemical analyses. *Lipid Res* 1988; 29: 613-628.
  154. Passon PG, Hultquist DE: Soluble cytochrome  $b_5$  reductase from human erythrocytes. *Biochim Biophys Acta* 1972; 275: 62-73.
  155. Hultquist DE, Passon PG: Catalysis of methemoglobin reduction by erythrocyte cytochrome  $b_5$  and cytochrome  $b_5$  reductase. *Nature* 1971; 229: 252-254.
  156. Strittmatter P, Spatz L, Corcovan D, Rogers MJ, Setlow B, Redine R: Purification and properties of rat liver microsomal stearyl coenzyme A desaturase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974; 71: 4565-4569.
  157. Constantinescu A, Han D, Packer L: Vitamin E recycling in human erythrocyte membranes. *J Biol Chem* 1993; 268: 10906-10913.
  158. Shirabe K, Landi M, Takeshita M, Uriel G, Fedrizzi E, Borgese N: A novel mutation in a 3' splice site of the NADH-cytochrome  $b_5$  gene results in immunologically undetectable enzyme and impaired NADH-dependent ascorbate regeneration in cultured fibroblasts of a patient with type II hereditary methemoglobinemia. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 302-310.

159. Pietrini G, Aggularo D, Carrera P, Malysko J, Vitale A, Borgese N: A single mRNA transcribed from an alternative, erythroid-specific promoter, codes for two non-myristylated forms of NADH-cytochrome *b<sub>5</sub>* reductase. *J Cell Biol* 1992; 117: 975-986.
160. Yubisui T, Naitoh Y, Zenno S, Tamura M, Takeshita M, Sakaki Y: Molecular cloning of cDNA of human liver and placenta NADH-cytochrome *b<sub>5</sub>* reductase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 3609-3613.
161. Bull PC, Shephard EA, Povey S, Santisteban I, Phillips IR: Cloning and chromosomal mapping of human cytochrome *b<sub>5</sub>* reductase (DIA1). *Ann Hum Genet* 1988; 52: 263-268.
162. Bulbarelli A, Valentín A, De Silvestres M, Cappellini MD, Borgese N: An erythroid-specific transcript generates the soluble form of NADH-cytochrome *b<sub>5</sub>* reductase in humans. *Blood* 1998; 92: 310-319.
163. Leroux A, Viera M, Kahn A: Transcriptional and translational mechanisms of cytochrome *b<sub>5</sub>* reductase isoenzyme generation in humans *Biochem J* 2001; 355: 529-535
164. Takeshita M, Tamura M, Yubisui T, Yoneyama Y: Exponential decay of Cytochrome *b<sub>5</sub>* and cytochrome *b<sub>5</sub>* reductase during senescence of erythrocytes: relation to the increased methemoglobin content. *J Biochem* 1983; 93: 931-934.
165. Kuma F, Ishizawa S, Hirayama K, Nakajima H: Studies on methemoglobin reductase. I. Comparative studies of diaphorases from normal and methemoglobinemic erythrocytes. *J Biol Chem* 1972; 247: 550-555.
166. Bloom GE, Zarkowsky HS: Heterogeneity of the enzymatic defect in congenital methemoglobinemia. *N Engl J Med* 1969; 281: 919-922.
167. Kitao T, Sugita Y, Yoneyama Y, Hattori K: Methemoglobin reductase (Cytochrome *b<sub>5</sub>* reductase) deficiency in congenital methemoglobinemia. *Blood* 1974; 44: 879-884.
168. Percy MJ, Gillespie MJS, Savage G, Hughes AE, McMullin MF, Lappin TRJ: Familial idiopathic methemoglobinemia revisited: original cases reveal 2 novel mutations in NADH-cytochrome *b<sub>5</sub>* reductase. *Blood* 2002; 100: 3447-3449.
169. Minnich V: Glutathione biosynthesis in human erythrocytes. *J Clin Invest* 1971; 50:507.
170. Craescu CT, Poyart C, Schaeffer C, Garel M-C, Kister J, Beuzard Y: Covalent binding of glutathione to hemoglobin. II. Functional consequences and structural changes reflected in NMR spectra. *J Biol Chem* 1986; 261: 14710-14716.
171. Wodak SJ, De Coen JL, Edelstein SJ, Demarne H, Beuzard Y: Modification of human hemoglobin by glutathione. III. Perturbations of hemoglobin conformation analysed by computer modeling. *J Biol Chem* 1986; 261: 14717-14724.
172. Garel M-C, Domenget C, Caburi-Maryin J, Prehu C, Galacteros F, Beuzard Y: Covalent binding of glutathione to hemoglobin. I. Inhibition of hemoglobin polymerization. *J Biol Chem* 1986; 261: 14704-14709.
173. Srivastava SK, Beutler E: Glutathione metabolism of the erythrocyte. The enzymic cleavage of glutathione-haemoglobin preparations by glutathione reductase. *Biochem J* 1970; 119: 353-357.
174. Tomoda A, Tsuji A, Matsukawa S, Takeshita M, Yoneyama Y: Mechanism of methemoglobin reduction by ascorbic acid under anaerobic conditions. *J Biol Chem* 1978; 253: 7420-7423.
175. Srivastava SK, Beutler E: The transport of oxidized glutathione from human erythrocytes. *J Biol Chem* 1969; 244: 9-16.
176. Beutler E: Glutathione reductase: stimulation in normal subjects by riboflavin supplementation. *Science* 1969; 165: 613-615.
177. Cohen G, Hochtein P: Glucose-6-phosphate dehydrogenase and detoxification of hydrogen peroxide in human erythrocytes. *Science* 1961; 134: 1756-1757.
178. Jabusch JR, Farb DL, Kerschensteir DA, Deutsch HF: Some sulfhydryl properties and primary structure of human erythrocyte superoxide dismutase. *Biochemistry* 1980; 19: 2310-2316.
179. Takahashi K, Newburger PE, Cohen HJ: Glutathione peroxidase protein. Absence in selenium deficiency states and correlation with enzymatic activity. *J Clin Invest* 1986; 77: 1402-1404.

180. Schroeder WA, Shelton JR, Shelton JB, Apell G, Evans L, Bonaventura J, et al. The partial amino acid sequence of human erythrocyte catalase. *Arch Biochem Biophys* 1982; 214: 422-424.
181. Lim YS, Cha MK, Yun CH, Kim HK, Kim KW, Kim LH: Purification and characterization of thiol-specific antioxidant protein from human red cells: a new type of antioxidant protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 199: 199-206.
182. Wood ZA, Schroder E, Harris JR, Poole LB: Structure, mechanism and regulation of peroxiredoxins. *Trends Biochem Sci* 2003; 28: 32-40.
183. Moore R, Plishker G, Shriver S: Purification and measurement of calpromotin, the cytoplasmic protein which activates calcium-dependent potassium transport. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 166: 146-153.
184. Kristensen P, Rasmussen DE, Kristensen BI: Properties of thiol-specific anti-oxidant protein or calpromotin in solution. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 262: 127-131.
185. Rabilloud RT, Berthier BR, Vincon M, Ferbus D, Goubin G, Lawrence J-J: Early events in erythroid differentiation: accumulation of the acidic peroxidoxin (PRP/TSA/NKEF-B). *Biochem J* 1995; 312: 699-705.
186. Lee T-H, Kim S-U, Yu S-L, Kim SH, Park DS, Moon H-B, Dho SH, Kwon K-S, Han Y-H, y cols.: Peroxiredoxin II is essential for sustaining life span of erythrocytes in mice. *Blood* 2003; 101: 5033-5038.
187. Rhee SG, Woo HA, Kil IS, Bae SH: Peroxiredoxin functions as a peroxidase and a regulator and sensor of local peroxides. *J Biol Chem* 2012; 287: 4403-4410.
188. Wollman EE, d'Auriol L, Rimsky L, Shaw A, Jacquot JP, Wingfield P, Graber P, Dessarps F, Robin P, Galibert F: Cloning and expression of a cDNA for human thioredoxin. *J Biol Chem* 1988; 263: 15506-15512.
189. Holmgren A: Thioredoxin structure and mechanism: conformational changes on oxidation of the active-site sulfhydryls to a disulfide. *Structure* 1995; 3: 239-243.
190. Cha M-K, Kim I-H: Thioredoxin-linked peroxidase from human red blood cell: evidence for the existence of thioredoxin and thioredoxin reductase in human red blood cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 217: 900-9070.
191. Zhong L, Arnér ESJ, Ljung J, Aslund F, Holmgren A: Rat and calf thioredoxin reductase are homologous to glutathione reductase with a carboxyl-terminal elongation containing a conserved catalytically active penultimate selenocysteine residue. *J Biol Chem* 1998; 273: 8581-8591.
192. May JM, Cobb CE, Mendiratta S, Hill KE, Burk RF: Reduction of the ascorbyl free radical to ascorbate by thioredoxin reductase. *J Biol Chem* 1998; 273: 23039-23045.
193. Sibbing D, Pfeufer A, Perisic T, Mannes AM, Fritz-Wolf K, Unwin S, Sinner MF, Gieger C y cols: Mutations in the mitochondrial thioredoxin reductase gene TXNRD<sub>2</sub> cause dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2011; 32: 1121-1133.
194. Davidson WD, Tanaka KR. Factors affecting pentose phosphate pathway activity in human red cells. *Br J Haemathol* 1972; 23:371.
195. Szeinberg A, Marks PA. Substances stimulating glucose catabolism by the oxidative reactions of the pentose phosphate pathway in human erythrocytes. *J Clin Invest* 1961; 40



# Grupos sanguíneos eritrocitarios

EDUARDO MUÑIZ DÍAZ\*  
NURIA NOGUÉS\*\*  
ROSA MONTERO\*\*\*  
CARMEN CANALS\*\*\*\*

## Introducción

Los grupos sanguíneos son caracteres heredados, localizados en estructuras polimórficas de la membrana del eritrocito, y son reconocidos por anticuerpos específicos. Hablamos de *polimorfismo* cuando en una determinada población existen, como mínimo, dos variantes alélicas de un mismo gen. Los *alelos*, por tanto, no son más que versiones alternativas de un gen que difieren entre sí en su secuencia nucleotídica. Los cambios en la secuencia nucleotídica original se producen como consecuencia de *mutaciones*. Estas diferencias estructurales de los alelos van a comportar también diferencias estructurales en los productos que codifican. Un gen constituido por múltiples alelos es un gen polimorfo o alelomorfo.

- \* *Jefe de la División de Inmunohematología. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España. Presidente de la Comisión de Hemovigilancia de Cataluña, España. Asesor del Ministerio de Sanidad (Madrid) para la Hemovigilancia en Europa. Miembro del "Working group on definitions" de la Comisión Europea, Bruselas, Bélgica.*
- \*\* *Facultativa Adjunta. Laboratorio de Inmunohematología. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España.*
- \*\*\* *Diplomada en Enfermería. Coordinadora del Laboratorio de Inmunohematología. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España.*
- \*\*\*\* *Facultativa Adjunta. Laboratorio de Inmunohematología. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España.*

Actualmente se han definido treinta y tres sistemas de grupos sanguíneos eritrocitarios <sup>1-5</sup> (Tabla 1). Cada sistema está integrado por un conjunto de antígenos que son producto de los alelos

pertenecientes a un mismo locus genético (representado por un solo gen o por un “cluster” de dos o más genes estrechamente ligados), independientemente de los locus genéticos que co-

**Tabla 1.** Sistemas de grupos sanguíneos eritrocitarios

Nº	Nombre del sistema	Símbolo	Nombre del gen	Localización cromosómica
001	ABO	ABO	<i>ABO</i>	9q34.2
002	MNS	MNS	<i>GYPA, GYPB, GYPE</i>	4q31.21
003	P1PK	P1PK	<i>A4GALT</i>	22q11.2-qter
004	Rh	RH	<i>RHD, RHCE</i>	1p36.11
005	Lutheran	LU	<i>LU</i>	19q13.32
006	Kell	KEL	<i>KEL</i>	7q34
007	Lewis	LE	<i>FUT3</i>	19p13.3
008	Duffy	FY	<i>DARC</i>	1q23.2
009	Kidd	JK	<i>SLC14A1</i>	18q12.3
010	Diego	DI	<i>SLC4A1</i>	17q21.31
011	Yt	YT	<i>ACHE</i>	7q22.1
012	Xg	XG	<i>XG, MIC2</i>	Kp22.33
013	Scianna	SC	<i>ERMAP</i>	1p34.2
014	Dombrock	DO	<i>ART4</i>	12p12.3
015	Colton	CO	<i>AQP1</i>	7p14.3
016	Landsteiner-Weiner	LW	<i>ICAM4</i>	19p13.2
017	Chido/Rodgers	CH/RG	<i>C4A, C4B</i>	6p21.3
018	H	H	<i>FUT1</i>	19q13.33
019	XK	XK	<i>XK</i>	Xp21.1
020	Gerbich	GE	<i>GYPC</i>	2q14.3
021	Cromer	CROM	<i>CD55</i>	1q32.2
022	Knops	KN	<i>CR1</i>	1q32.2
023	Indian	IN	<i>CD44</i>	11p13
024	Ok	OK	<i>BSG</i>	19p13.3
025	Raph	RAPH	<i>CD151</i>	11p15.5
026	John Milton Hagen	JMH	<i>SEMA7A</i>	15q24.1
027	I	I	<i>GCNT2</i>	6p24.2
028	Globoside	GLOB	<i>B3GALT3</i>	3q26.1
029	Gill	GIL	<i>AQP3</i>	9p13.3
030	Rh-associated glycoprotein	RHAG	<i>RHAG</i>	6
031	Forsman	FORS	<i>GBGT1</i>	9q34.13
032	Junior	JR	<i>ABCG2</i>	4q22
033	Langereis	LAN	<i>ABCB6</i>	2q36



difican para los otros sistemas de grupo sanguíneo y, por tanto, transmitidos de forma independiente. La posibilidad de un entrecruzamiento entre estos genes es imposible o muy remota, dada su proximidad. Además, se han definido siete “colecciones” de antígenos relacionados entre sí por sus características genéticas, bioquímicas o serológicas (Tabla 2). Y, finalmente, dos series de antígenos, una de baja frecuencia (serie 700) y otra de alta frecuencia (serie 901) que no han podido adscribirse a ningún sistema o colección (Tablas 3 y 4). Para conseguir una nomenclatura

unificada la Sociedad Internacional de Transfusión Sanguínea ha establecido que cada antígeno está representado por seis dígitos.<sup>6,7</sup> Los tres primeros corresponden al sistema (001-030) (por ejemplo, 006 para Kell), a la colección (205-210), o a las series 700 o 901. Los otros tres números identifican el antígeno (por ejemplo, 006003 para Kp<sup>a</sup>). Cada sistema tiene además un símbolo alfabético. Esta terminología ha resultado muy útil para unificar criterios y para el almacenamiento electrónico de la información; sin embargo, resulta compleja para la comunicación verbal,

**Tabla 2.** Colecciones de grupos sanguíneos

Colección			Antígeno		
Nº	Nombre	Símbolo	Nº	Símbolo	Incidencia %
205	Cost	COST	205001	Cs <sup>a</sup>	95
			205002	Cs <sup>b</sup>	34
207	li	I	207002	i	*
208	Er	ER	208001	Er <sup>a</sup>	>99
			208002	Er <sup>b</sup>	<1
			208002	Er3	>99
209		GLOB	209003	LKE	98
210			210001	Le <sup>c</sup>	1
			210002	Le <sup>d</sup>	6
212	Vel	VEL	212001	Vel	>99
			212002	ABTI	>99
213		MN CHO	213001	Hu	
			213002	M1	
			213003	Tm	
			213004	Can	
			213005	Sext	
			213006	Sj	

\* Con test serológicos estándar, suele ser de baja incidencia

**Tabla 3.** Antígenos de baja incidencia (serie 700)

Nº	Nombre	Símbolo
700002	Batty	By
700003	Christiansen	Chr <sup>a</sup>
700005	Biles	Bi
700006	Box	Bx <sup>a</sup>
700017	Torkildsen	To <sup>a</sup>
700018	Peters	Pt <sup>a</sup>
700019	Reid	Re <sup>a</sup>
700021	Jensen	Je <sup>a</sup>
700028	Livesay	Li <sup>a</sup>
700039	Milne	
700040	Rasmussen	RASM
700043	Oldeide	OI <sup>a</sup>
700044		JFV
700045	Katagiri	Kg
700047	Jones	JONES
700049		HJK
700050		HOFM
700052		SARA
700054		REIT

**Tabla 4.** Antígenos de alta incidencia (serie 901)

Nº	Nombre	Símbolo
901003	August	Ata
901008		Emm
901009	Anton	AnWj
901011	Sid	Sda
901013	Duclos	
901014		PEL
901016		MAM

por lo que se sigue aceptando en este entorno el uso del nombre clásico de los antígenos.

La importancia clínica de los grupos sanguíneos en hematología se debe a la posibilidad de que los aloanticuer-

pos (dirigidos contra antígenos no presentes en el individuo que los produce) pueden ocasionar la destrucción de los hematíes transfundidos, o atravesar la placenta e inducir una hemólisis en el feto y en el recién nacido. Esto va a depender de la frecuencia con la que cada aloanticuerpo se produce, de sus características funcionales (amplitud térmica, clase de inmunoglobulina, capacidad de fijar el complemento), y de la frecuencia con la que el aloantígeno está presente en la población.

## Conceptos básicos en la genética de grupos sanguíneos

El término *genotipo* se refiere al conjunto de alelos heredados provenientes de un determinado gen (por ejemplo AA, AO), mientras que el *fenotipo* se refiere, exclusivamente, al producto reconocible de estos alelos. Los antígenos producidos por diferentes alelos de un determinado locus se denominan antitéticos.

Todos los cromosomas están dispuestos en parejas –y por ello son diploides– en el núcleo celular. Cuando un par de alelos perteneciente al mismo gen de ambos cromosomas son idénticos decimos que el individuo es *homocigoto*. Por el contrario, cuando este par de alelos difiere decimos que el individuo es *heterocigoto*.

Un alelo puede ser *dominante* respecto a su pareja. Esto implica que sólo se expresará la versión de la proteína codificada por este alelo. El alelo suprimido se conoce como alelo *recesivo*. Sólo cuando el alelo recesivo esté presente en ambos cromosomas (el individuo será homocigoto para este alelo recesivo) será posible reconocer

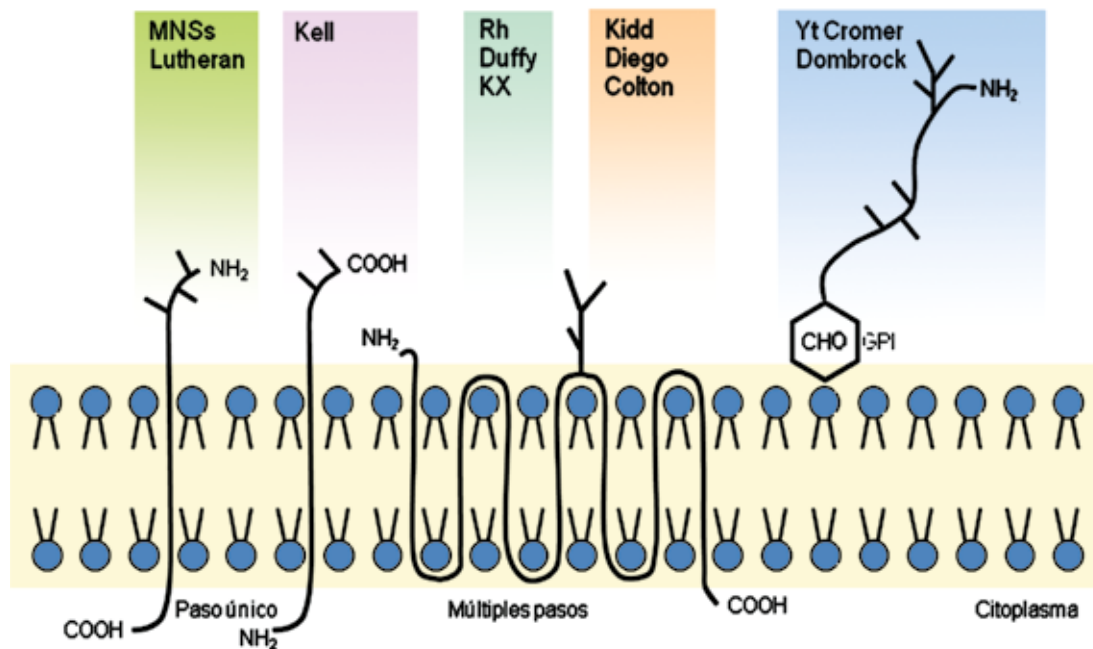
la correspondiente versión de la proteína. También puede suceder que ambos alelos sean *codominantes*. Esta es la situación que concierne a la mayoría de alelos que codifican para los diferentes productos polimórficos responsables de los grupos sanguíneos. Algunos genes tienen alelos que no codifican ningún producto: son los *alelos silentes*.

Los alelos de genes muy próximos se heredan conjuntamente y constituyen lo que conocemos por *haplotipo*.

### Antígenos eritrocitarios

Pueden expresarse exclusivamente en los hematíes (antígenos Rh), o adicionalmente en otras células sanguíneas (el antígeno P1), en otros tejidos (antígenos MNS), o en las células sanguíneas y en los tejidos (antígenos ABO). La mayoría de los antígenos eritrocitarios son producto directo del gen que los codifica y

se ubican en proteínas, glicoproteínas y glicolípidos de la membrana eritrocitaria. Los antígenos de los sistemas ABO, Lewis y P constituyen una excepción, porque los genes correspondientes codifican para una enzima (transferasa) responsable de catalizar la reacción por la que un determinado monosacárido o azúcar se une a un sustrato (oligosacárido) para constituir una determinada estructura antigénica. Las proteínas que expresan antígenos eritrocitarios se insertan en la membrana a través de las siguientes opciones: como proteínas de un solo paso, como proteínas de múltiples pasos, o bien como proteínas ancladas a la membrana a través de enlaces glucosilfosfatidilinositol (GPI) (Figura 1). La distribución y la frecuencia de los diversos fenotipos eritrocitarios varían según las poblaciones y grupos étnicos (Tabla 5).



**Figura 1.** Representación esquemática de la membrana eritrocitaria y del modo de inserción de las proteínas donde se localizan los diferentes grupos sanguíneos eritrocitarios.

**Tabla 5.** Principales sistemas de grupo sanguíneo, fenotipos y frecuencias en población caucásica y de raza negra

Sistema (símbolo ISBT)	Fenotipo	Frecuencia en población caucásica (%)	Frecuencia en raza negra (%)
ABO (ABO)	O	44	49
	A	42	26
	B	11	20
	AB	4	5
MNS (MNS)	S-s+	45	68
	S+s+	44	24
	S+s-	11	6
	S-s-	Raro	1.5
Rh (RH)	Dce	2	47
	DCcEe	13	4
	dce	15	6
	Dce	19	2
	Dcce	35	21
	DcE	2	0.2
	DcE	12	19
Kell (KEL)	K-k+	91	98
	K+k+	9	2
Duffy (FY)	Fy(a-b+)	34	22
	Fy(a+b+)	49	1
	Fy(a+b-)	17	9
	Fy(a-b-)	Raro	68
Kidd (JK)	JK (a-b+)	23	9
	JK (a+b+)	49	41
	JK (a+b-)	27	50

## Anticuerpos eritrocitarios

Casi todos los anticuerpos dirigidos contra los antígenos eritrocitarios son inmunoglobulinas de clase IgG, o bien IgM, y una minoría muestran especificidad IgA. Las inmunoglobulinas de clase IgM tienen mayor capacidad para activar el Complemento que las de clase IgG, ya que se requieren dos dominios Fc para activar la porción C1q de la fracción C1. La estructura de las mo-

léculas IgM permite que una sola molécula sea capaz de unirse a la porción C1q; en el caso de las IgG se requieren como mínimo dos moléculas adyacentes para que se produzca una correcta unión.

Las subclases IgG1 e IgG3 activan fuertemente el complemento, IgG2 lo hace débilmente e IgG4 no es capaz, en general, de activarlo. Los anticuerpos que son activos a 37 °C son capaces de

destruir o de secuestrar los hematíes alogénicos transfundidos. Los anticuerpos de clase IgG también son capaces de atravesar la placenta y, en teoría, de producir enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN).

### Anticuerpos “naturales”

Los llamados anticuerpos “naturales” son habitualmente de clase IgM, pero también pueden ser de clase IgG, y se detectan en personas que no han sido nunca transfundidas con hematíes, y que carecen de antecedentes de gestación, en el caso de las mujeres. Se supone que su aparición ha tenido lugar como respuesta a la exposición a ciertas sustancias que están presentes en el medio ambiente o en la dieta y que muestran una estructura similar al antígeno eritrocitario en cuestión. Algunos anticuerpos naturales de especificidad anti-A, anti-B y anti-A,B son reactivos a 37 °C, pero la mayoría de anticuerpos naturales no lo son, y se considera que carecen de importancia clínica.

### Anticuerpos adquiridos o inmunes

Son predominantemente de clase IgG, aunque pueden contener un componente IgM y/o IgA. Se producen tras la exposición a un antígeno extraño en el curso de una transfusión o del embarazo. La incidencia viene dada por la frecuencia del antígeno en la población y por su inmunogenicidad. La relativa inmunogenicidad de un antígeno se ha deducido de los estudios efectuados en pacientes transfundidos y en gestantes. Entre los antígenos que no inducen an-

ticuerpos “naturales”, el antígeno D es de lejos el más inmunogénico, seguido de los antígenos K y c. La capacidad de respuesta varía de unos individuos a otros, pero no se ha encontrado una base genética que justifique estas diferencias.

Los pacientes con enfermedades autoinmunes son más propensos a desarrollar aloanticuerpos; por ejemplo, en más de un 32% de los pacientes con anemia hemolítica autoinmune se detectan aloanticuerpos. Igualmente sucede con los pacientes con hemoglobinopatía S. Por el contrario, son poco habituales en los pacientes afectados de hipogammaglobulinemia (LLC, niños en los primeros meses de vida).

La actividad de los anticuerpos tiende a reducirse con el tiempo si el paciente no se expone nuevamente al antígeno. La concentración de los anticuerpos dirigidos frente al sistema Kidd disminuye muy rápidamente.

En las Tablas 6 y 7 se reflejan algunas de las principales características de los anticuerpos específicos relacionados con los antígenos eritrocitarios pertenecientes a los diferentes sistemas, colecciones y series.

## Sistema ABO

Descubierto por Landsteiner en 1900, continúa siendo el sistema más importante en la transfusión sanguínea, debido a la presencia sistemática de anticuerpos regulares reactivos a 37 °C, fijadores de complemento y dirigidos contra los antígenos de los que carece el portador de los anticuerpos. Estos anticuerpos pueden producir reaccio-

**Tabla 6.** Significado clínico de algunos anticuerpos antieritrocitarios

Clínicamente significativos siempre	Clínicamente significativos a veces	No significativos por debajo de 37°C	Generalmente sin significación clínica
A y B	At <sup>a</sup>	A1	Bg
Diego	Colton	H	Chido-Rogers
Duffy	Cromer	Le <sup>a</sup>	Cost
H en Oh	Dombrock	Lutheran	JMH
Kell	Gerbich	M, N	Knops
Kidd	Indian	P1	Le <sup>b</sup>
P, PP1Pk	Jr <sup>a</sup>	Sd <sup>a</sup>	Xg <sup>a</sup>
Rh	Lan		
S, s, U	LW		
Vel	Scianna		
	Yt		

**Tabla 7.** Datos complementarios de algunos anticuerpos antieritrocitarios distintos de los sistemas ABO y Rh

Ag	Proteína	Temperatura óptima	Medio reacción	Fijación complemento
Lewis	IgM	20 – 37°C	Variable	Sí
I	IgM	4°C	Salino	Algunos
P	IgM	4 – 20°C	Salino	Sólo Tj <sup>a</sup>
MNSs	IgM	4 – 20°C	Salino	Algún Ss
Lutheran	IgM – IgA	Variable	Salino	No
Kell	IgG	37°C	AGH	No
Duffy	IgG	37°C	AGH	No
Kidd	IgG	37°C	AGH	Todos

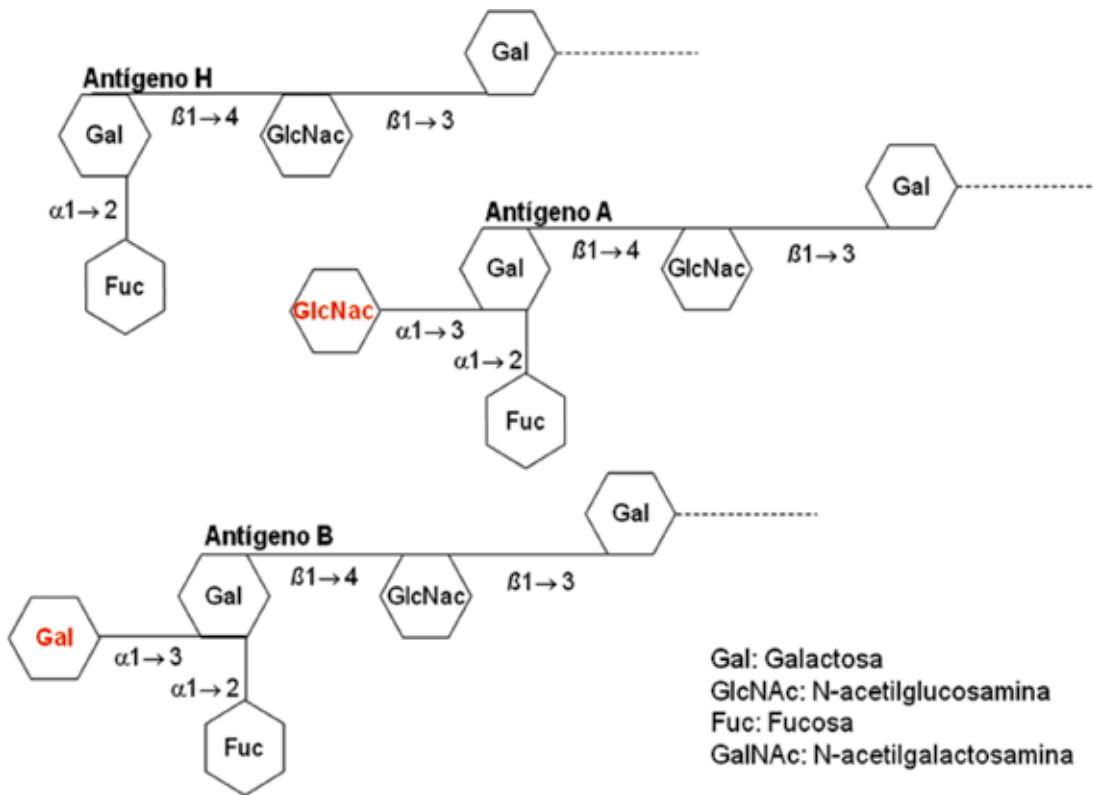
nes hemolíticas muy graves de tipo intravascular cuando se transfunden hematíes ABO incompatibles.

## Genes y antígenos

Como ya ha sido comentado, a diferencia de otros sistemas de grupo sanguíneo en que los genes codifican directamente para los correspondientes antígenos, en este sistema los genes *A* y

*B* codifican para unas enzimas que van a catalizar la reacción que permite la unión de determinados carbohidratos a precursores glicoproteicos o glicolipídicos para configurar la estructura antigénica propia de lo que conocemos como antígenos *A* y *B* (Figura 2).

Los antígenos ABH se encuentran ampliamente distribuidos en nuestro organismo en los hematíes; podemos encontrarlos en linfocitos, en plaquetas



**Figura 2.** La adición de N-acetilgalactosamina a la cadena precursora H por acción de una transferasa A implica la aparición del antígeno A. La adición de galactosa por acción de la transferasa B implica la aparición del antígeno B.

(adsorbidos del plasma), en la mayoría de tejidos endoteliales y epiteliales, y en algunos órganos como los riñones. Por este motivo, en el trasplante de órganos sólidos ABO incompatibles puede producirse una grave reacción hiperaguda del injerto. Asimismo, en el caso del trasplante de progenitores hematopoyéticos con incompatibilidad ABO mayor (por ejemplo, receptor O, donante A), puede ocurrir una hemólisis aguda, a menos que los hematíes incompatibles sean separados de las células progenitoras. Los antígenos ABH también pueden encontrarse en forma soluble, y podemos localizarlos en las secreciones y en todos los fluidos con excepción del líquido cefalorraquídeo.

En la membrana del hematíe están presentes como moléculas glicolípídicas o glicoproteicas, y en la forma soluble se hallan fundamentalmente como glicoproteínas. A las 5 ó 6 semanas de vida intrauterina ya pueden ser detectados, pero no alcanzan su máxima expresión hasta los 2-4 años de vida, por lo que pueden reaccionar débilmente en las muestras de cordón umbilical y durante los primeros años de vida.

Existen cuatro posibles fenotipos ABO, y en la práctica cotidiana se dice que un individuo pertenece al grupo A, al B, al AB o al O. En los grupos A y B pueden diferenciarse diversos subgrupos, pero raras veces tienen significado clínico. En la Tabla 8 se muestra la rela-

ción de fenotipos y posibles genotipos en el sistema ABO, y en la Tabla 9 la distribución de los mismos en un grupo de 215 donantes de sangre españoles.<sup>5</sup> Globalmente, en la raza caucásica los grupos O y A son los más frecuentes (45% y 40%, respectivamente), seguidos del grupo B (11%) y del grupo AB (4%). La frecuencia del grupo B en las razas negra y asiática es claramente superior (20% y 27%, respectivamente) a las de la raza blanca (11%).

El gen del antígeno A está constituido por 1062 pb que codifican un total de 353 aminoácidos (AAs). La proteína resultante es una enzima (transferasa A) encargada de facilitar la unión del azúcar N-acetilgalactosamina a las cadenas activas H (Figura 2). El gen del antígeno B es idéntico en un 99% al gen A, y con-

tiene 4 nucleótidos distintos que comportan un cambio de aminoácido (AA) en los residuos 176, 235, 266 y 268. La proteína resultante es también una enzima (transferasa B) que añade galactosa a las cadenas H activas (Figura 2). El gen O es amorfo y codifica para una proteína funcionalmente inactiva de solo 116 AAs, como consecuencia de la delección de una base (G) cerca del extremo 5´terminal de la secuencia codificante, en la posición 261; este cambio comporta la aparición anticipada de un triplete de finalización que interrumpe el proceso de transcripción<sup>8,9</sup> (Figura 3).

Los subgrupos de A y B (Tablas 10 y 11) también se producen como consecuencia de mutaciones similares que comportan cambios en los AAs. Por ejemplo, A<sub>2</sub> se produce como conse-

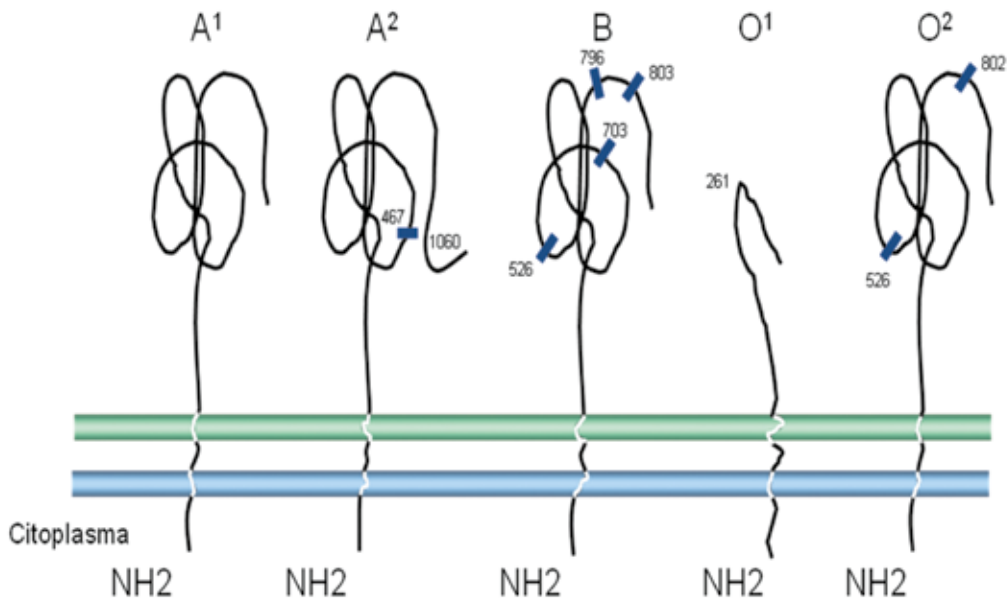
**Tabla 8.** Relación de fenotipos y posibles genotipos en el sistema ABO

Fenotipo	Antígenos	Anticuerpos	Gen	Genotipos
O	Ninguno	Anti-A	O	O <sup>1</sup> O <sup>1</sup>
		Anti-A <sub>1</sub>		O <sup>2</sup> O <sup>2</sup>
		Anti-B		O <sup>1</sup> O <sup>2</sup>
		Anti-A,B		
A <sub>1</sub>	A+A <sub>1</sub>	Anti-B	A <sup>1</sup>	A <sup>1</sup> A <sup>1</sup>
				A <sup>1</sup> A <sup>2</sup>
				A <sup>1</sup> O <sup>1</sup>
				A <sup>1</sup> O <sup>2</sup>
A <sub>2</sub>	A	Anti-B	A <sup>2</sup>	A <sup>2</sup> A <sup>2</sup>
		Anti-A <sub>1</sub> ( a veces)		A <sup>2</sup> O <sup>1</sup>
				A <sup>2</sup> O <sup>2</sup>
B	B	Anti-A	B	BB
				BO <sup>1</sup>
				BO <sup>2</sup>
A <sub>1</sub> B	A+A <sub>1</sub> +B	Ninguno	A <sup>1</sup> B	A <sup>1</sup> B
A <sub>2</sub> B	A+B	A menudo anti-A <sub>1</sub>	A <sup>2</sup> B	A <sup>2</sup> B



**Tabla 9.** Distribución de los fenotipos y posibles genotipos del sistema ABO en una serie de 212 donantes de sangre españoles

Fenotipo	n	Genotipos	n
A <sub>1</sub>	56	A <sup>1</sup> A <sup>1</sup>	8
		A <sup>1</sup> A <sup>2</sup>	2
		A <sup>1</sup> O <sup>1</sup>	42
		A <sup>1</sup> O <sup>2</sup>	4
A <sub>2</sub>	15	A <sup>2</sup> A <sup>2</sup>	3
		A <sup>2</sup> O <sup>1</sup>	10
		A <sup>2</sup> O <sup>2</sup>	2
B	21	BB	1
		BO <sup>1</sup>	19
		BO <sup>2</sup>	1
A <sub>1</sub> B	4	A <sup>1</sup> B	4
A <sub>2</sub> B	2	A <sup>2</sup> B	2
O	117	O <sup>1</sup> O <sup>1</sup>	111
		O <sup>2</sup> O <sup>2</sup>	5
		O <sup>1</sup> O <sup>2</sup>	1



**Figura 3.** Representación esquemática de la estructura de los productos de los alelos ABO

En la figura se indica la localización de las mutaciones responsables de las diferencias estructurales entre los alelos ABO. Cuatro mutaciones puntuales diferencian el alelo B de A<sup>1</sup> y dos solamente a A<sup>2</sup> de A<sup>1</sup>. El producto O<sup>1</sup> se debe a la delección de una base (G) en la posición 261 de la secuencia, lo que produce la aparición de un triplete de finalización precoz (stop codon). La estructura del alelo O<sub>2</sub> es muy similar a la de los productos del gen B, pero entre ambos existen diferencias como resultado de dos mutaciones puntuales en el gen O<sup>2</sup>.

**Tabla 10.** Fenotipos débiles de A

Subgrupo de A	Reactividad* frente a:				Sustancias en saliva†	Suero Anti-A <sup>1</sup>	Frecuencia (%)
	Anti-A	Anti-A,B	Anti-A1	Anti-H			
A <sub>1</sub>	++++	++++	++++	0	A,H	No	ND
A <sub>2</sub>	++++	++++	0	++++	A,H	A veces	ND
A <sub>int</sub>	++++	++++	++(+)	+++	A,H	No	ND
A <sub>3</sub>	++(+) <sup>mf</sup>	++(+) <sup>mf</sup>	0	++++	A,H	A veces	0.01
A <sub>x</sub>	0/+	++(+)	0	++++	H	A menudo	0.03
A <sub>end</sub>	+	+	0	++++	H	A veces	0.003
A <sub>m</sub>	0/+	0/+	0	++++	A,H	No	0.0007
A <sub>finn</sub>	+	+	0	++++	H	Sí	ND
A <sub>bantu</sub>	+(+)	+(+)	0	++++	H	Sí	ND
A <sub>1ae</sub>	0 <sup>±</sup>	0	+++ <sup>**</sup>	++++	H	Sí <sup>***</sup>	ND
A <sub>y</sub>	0 <sup>±</sup>	0	0	++++	A,H	No	ND
A <sub>el</sub>	0 <sup>±</sup>	0	0	++++	H	A veces	ND

Una reacción negativa se denota por 0. Las reacciones positivas se indican como desde + (aglutinación débil) a ++++ (aglutinación máxima).

\*\* *Dolichos biflorus* solamente ; \*\*\*Reactividad del suero contra A<sup>1</sup> y A<sup>2</sup> RBC.

† Sustancias de grupos sanguíneos ABO en la saliva y otros fluidos corporales del secretor.

+ A pesar de la falta de aglutinación, anti-A puede ser adsorbido y eluido por células en este subgrupo.

mf: Aglutinación en campo mixto ; ND: no determinada (muy infrecuente).

**Tabla 11.** Fenotipos débiles de B.

	Tipaje en placa								Sustancias en saliva	Frecuencia
	Prueba globular (Beth-Vincent)				Prueba sérica (Simonin)					
	Anti-B	Anti-A	Anti-AB	Anti-H	A1	A2	B	B		
B <sub>3</sub>	±±	-	±±	+++	+++	++	-	+	+	Poco frecuente
B <sub>x</sub>	(+)	-	(+)	+++	+++	++	(+)	(B <sub>x</sub> )	++	Raro
B <sub>m</sub>	-	-	-	+++	+++	++	-	+++	(+)	Raro
B <sub>el</sub>	-	-	-	+++	+++	++	+0-	-	+++	Muy raro

± ± 0 ±:doble población;(+) :aglutinación débil;(B<sub>x</sub>):sustancia B detectada en la saliva de los individuos B<sub>x</sub> por inhibición con sus propios eritrocitos.

Nota: Esta clasificación es aproximativa, sólo para definir de una manera práctica los fenotipos débiles de B, dado el gran polimorfismo de éstos (mutaciones familiares)

cuencia del cambio de leucina por pro-lina en el residuo 156 de la proteína. Serológicamente, esto se traduce en la aparición de una transferasa n-acetilgalactosamina que posee un pH óptimo alterado, pero que todavía es capaz de generar la suficiente sustancia A para

configurar el antígeno A. Los hematíes poseerán, en este caso, menos lugares antigénicos A que en los individuos de grupo A<sub>1</sub>. Igualmente, otros cambios de AA son responsables de la producción de glucosiltransferasas alteradas que

dan lugar a otros subgrupos de A y B, como  $A_3$ ,  $A_x$ , y  $B_3$ .

El estudio molecular de los genes ABH ha permitido el descubrimiento de nuevos alelos, como  $O^2$ , en el que no existe el cambio de base presente en los alelos  $O$  “normales”. Este alelo es idéntico al alelo  $A^1$ , pero con dos AAs distintos: Arg $\rightarrow$ Gli en el residuo 176 y Gli $\rightarrow$ Arg en el residuo 268 de la proteína, lo que resulta determinante para abolir la actividad biológica de la enzima resultante (Figura 3).

### Relación entre los genes *ABO*, *FUT1(H)* y *FUT2(Se)* y la expresión de los antígenos ABO

La expresión de los antígenos ABO está controlada desde tres locus genéticos distintos: el gen *ABO*, localizado en el cromosoma 9; el gen *FUT1(H)* y el gen *FUT2(Se)*, ambos localizados en el cromosoma 19. Cada uno de estos genes codifica para diferentes enzimas (glucosiltransferasas) encargadas de la unión de monosacáridos específicos a cadenas precursoras de disacáridos.

Como ya se ha mencionado, los antígenos A y B se originan cuando las correspondientes transferasas producidas por los genes *A* y *B* facilitan la unión de un nuevo monosacárido a su oligosacárido precursor, que no es otro que la estructura que corresponde al antígeno H (Figura 2). A su vez, el antígeno H se origina a partir de un disacárido previo cuando la enzima fucosiltransferasa producida por el gen *FUT1(H)* permite la unión de un nuevo monosacárido (fucosa) a un oligosacárido precursor (Figura 2). Este mismo oligosacárido precursor

es el substrato sobre el que se van a producir los antígenos de los sistemas Lewis, I y P. En la Tabla 12 se muestra la relación de glucosiltransferasas producidas por los genes que codifican para los antígenos pertenecientes a los sistemas ABO, H y Lewis, los azúcares incorporados y la especificidad serológica final.

Los individuos portadores del raro fenotipo Bombay son homocigotos para el alelo *h* del gen *FUT1*, de manera que no pueden producir antígeno H y, en definitiva, tampoco producen antígenos A ni B. Sus hematíes suelen tipificarse como O, pero un meticuloso estudio de su suero muestra la presencia de anti-H, además de anti-A, anti-B y anti-A,B. En el resto de individuos, a partir del gen *H* aparecen los antígenos correspondientes A, B o AB en función de su estructura genómica ABO. No obstante, el antígeno H se conserva en una cierta proporción en los individuos de grupos A y B, y siempre en una proporción mucho menor que la presente en los individuos de grupo O.

El gen *FUT2 (Se)* es responsable de la expresión del antígeno soluble H en las estructuras glicoproteicas de las secreciones, como sucede en el caso de la saliva. Los individuos de genotipo (*SeSe* o *Sese*) se denominan secretores, lo que ocurre en, aproximadamente, un 80% de la población. El 20% restante de individuos (genotipo *sese*) son no secretores. El alelo *se* es amorfo.

En la Tabla 13 se muestran ejemplos de la interacción entre los genes *ABO*, *FUT1(H)* y *FUT2(Se)* y la expresión de los antígenos del sistema ABO en los hematíes y en la saliva.

**Tabla 12.** Glucosiltransferasas producidas por los genes que codifican para los antígenos pertenecientes a los sistemas ABO, H y Lewis, azúcares incorporados y especificidad serológica.

Genes	Producto del gen por la enzima	Azúcar incorporado del oligosacárido	Estructura terminal	Especificidad serológica
H(Se)	a-L-fucosiltransferasa (1)	Fuc	Galβ (1-3)GlcNAc-R	LNT
			Galβ (1-3)GlcNAc-R	H
			1	
			2	
			α-Fuc	
Le	a -L-fucosiltransferasa (2)	Fuc	Galβ (1-3)GlcNAc-R	Le <sup>a</sup>
			1	
			4	
			α-Fuc	
H(Se) y Le	a -L-fucosiltransferasa (1 y 2)	Fuc	Galβ(1-3)GlcNAc-R	Le <sup>b</sup>
			1	1
			2	4
			α-Fuc	α-Fuc
A	a -N-acetil- D-galactosaminil transferasa	GalNAc	αGalNAc(1-3)Galβ(1-3)GlcNAc-R	A
			1	
			2	
			α-Fuc	
B	a-D- galactosiltransferasa	Gal	α-Gal(1-3)Galβ(1-3)GlcNAc-R	B
			1	
			2	
			α-Fuc	

Abreviaturas: LNT = lacto-N-tetraosa; Gal = D-galactosa; GlcNAc = N-acetil-D-glucosamina; Fuc = fucosa; GalNAc = N-acetil-D-galactosamina; R = cadena restante de oligosacárido. Según Morgan y Watkins, 1969.

**Tabla 13.** Relación entre los genes *ABO*, *FUT1(H)* y *FUT2(Se)* y la expresión de los antígenos del sistema ABO.

Ejemplo 1		
Genes Heredados	Antígenos Expresados	
	Hematíes	Saliva
AB HH SeSe	A,B,H	A,B,H
AB HH sese	A,B,H	Ninguno

Ejemplo 2		
Genes Heredados	Antígenos Expresados	
	Hematíes	Saliva
OO HH Sese	H	H
OO HH sese	H	Ninguno

## Anticuerpos

Los anticuerpos ABO aparecen en los primeros meses de vida tras el contacto con diversas sustancias presentes en la dieta o en el medio ambiente (bacterias, plantas, polen) que presentan una estructura similar a los antígenos ABH. Aunque su aparición está relacionada con una exposición antigénica, su carácter precoz hace que se les considere como anticuerpos “naturales”. Habitualmente son una combinación de moléculas IgM e IgG y, a menudo, fijan Complemento.<sup>10</sup>

Una nueva inmunización puede producirse como resultado de una transfusión de hematíes incompatible, de plasma que contiene antígenos solubles A o B incompatibles, de un embarazo de un feto ABO incompatible con la madre, o por inoculación de vacunas que contienen antígenos A o B. Esta reinmunización va a incrementar el contenido del componente IgG y su capacidad para reaccionar a 37 °C.

El título de anticuerpos ABO decrece en las personas de edad avanzada y pueden producirse discordancias entre los resultados de la prueba hemática y la prueba sérica que dificultan la correcta catalogación del grupo sanguíneo ABO. Una situación similar puede producirse con los pacientes afectados de diferentes patologías que cursan con inmunodepresión: leucosis linfática crónica, mieloma múltiple, hipogammaglobulinemia y agammaglobulinemia congénita o adquirida, pacientes en tratamiento inmunosupresor o trasplantados con progenitores hematopoyéticos.

El anti-A producido por los individuos de grupos O y B puede separarse con técnicas de adsorción y elución en dos componentes: anti-A y anti-A<sub>1</sub>. Anti-A<sub>1</sub> es específico para el antígeno A<sub>1</sub> y no aglutina los hematíes A<sub>2</sub>. Su temperatura óptima de reacción suele ser por debajo de los 37 °C, por lo que no es considerado clínicamente significativo. Sin embargo, puede ocasionar discordancias hemático-séricas en la tipificación ABO. El anticuerpo anti-A<sub>2</sub> no existe, porque los individuos de fenotipo A<sub>2</sub> poseen el mismo antígeno A que las personas de fenotipo A<sub>1</sub>, aunque en menor proporción. Esto explica por qué los individuos de fenotipo A<sub>1</sub> no responden inmunológicamente tras la exposición a hematíes de fenotipo A<sub>2</sub>.

El anti-H producido por los individuos de fenotipo Bombay es muy potente y puede producir reacciones transfusionales hemolíticas inmediatas muy graves. Solamente los hematíes de otro individuo de fenotipo Bombay resultan compatibles. Los individuos secretores que carecen de antígeno H en sus hematíes presentan antígeno H soluble en las secreciones, motivo por el cual cuando se sensibilizan no producen anti-H sino un anticuerpo similar de especificidad anti-IH que no acostumbra reaccionar a 37 °C, por lo que no es considerado clínicamente significativo. Esta misma especificidad anti-IH también puede detectarse en los individuos de grupo A, por ser los que poseen menor cantidad de antígeno H.

## Sistema ABO y enfermedades

Los individuos de grupo A pueden, excepcionalmente, adquirir un grupo B y

transformarse en un grupo AB, aunque la expresión de este nuevo antígeno es más débil, al igual que la del antígeno A que también se ve debilitada. En la mayoría de los casos se trata de pacientes con afecciones del aparato digestivo, mayoritariamente carcinoma de colon (cinco de los siete pacientes descritos en el artículo original presentaban esta patología). La explicación a este fenómeno reside en que ciertas enzimas bacterianas (enzima diacetilasa) tienen la capacidad de convertir N-acetilgalactosamina en  $\alpha$ -galactosamina, que es similar a la galactosa, el azúcar inmunodominante del grupo B. El riesgo que conlleva esta situación es que el paciente sea incorrectamente transfundido con hematíes de grupo AB y que sufra una reacción hemolítica fatal por la intervención de un anti-B hiperinmune.

El debilitamiento del antígeno A es característico de los pacientes de grupo A con leucosis mieloide aguda. En algunos pacientes lo que se observa es una doble población de hematíes A y O. Los cambios en los antígenos B y H en los pacientes con leucosis no son tan comunes. En algunas ocasiones la disminución en la expresión de estos antígenos precede al diagnóstico de la leucosis y actúa como indicador de un estado preleucémico.

La herencia de los antígenos ABH parece estar débilmente asociada a la predisposición a ciertas enfermedades:

- Carcinoma gástrico: los individuos de grupo A tienen un riesgo 1.2 veces superior al de los de grupo B u O. También es superior el riesgo para el carcinoma de colon.

- Úlcera péptica: los de grupo O tienen 1.4 veces mayor riesgo que los de los restantes grupos.
- Úlcera duodenal: los individuos no secretores tienen 1.5 veces mayor riesgo que los secretores.
- Los individuos de grupo B tienen mayor riesgo de sufrir infecciones por *Streptococcus pneumoniae* y *Escherichia coli*.

Muy poco se conoce de la función de los antígenos ABH presentes sobre los hematíes y otras células y tejidos de nuestro organismo. No obstante, sabemos que contribuyen con su presencia a lo que conocemos como glicocálix, la matriz extracelular compuesta de carbohidratos que protege a los hematíes de una posible lesión mecánica y del ataque de los diversos microorganismos.

## Sistema Rh

En 1930, Levine identificó por primera vez un anticuerpo en el suero de una mujer que acababa de dar a luz a su segundo hijo, que aglutinaba el 85% de las sangres humanas ABO compatibles. Se trataba de un anticuerpo propio de su especie. Sin embargo, en 1940 Landsteiner y Wiener, inyectando eritrocitos del *Macacus rhesus* a conejos y cobayas, aislaron un anticuerpo que también aglutinaba el 85% de los hematíes humanos. Los sujetos cuyos eritrocitos aglutinaban con el suero anti-rhesus se catalogaron como Rh positivo, y el 15% restante, como Rh negativo. Hasta 1961 no quedó completamente aclarada la confusión entre el anticuerpo de origen humano y el anticuerpo anti-rhesus de origen animal.

Sin embargo, en aquel momento ya se había generalizado tanto el término Rh en la práctica transfusional que resultaba imposible modificarlo. Levine sugirió entonces dar el nombre de anti-LW al anticuerpo anti-rhesus de conejo, en honor a sus descubridores.<sup>1-4</sup>

Hoy en día se sabe que se trata de dos sistemas genéticamente independientes, cuyos antígenos pueden ser reconocidos por anticuerpos diferentes.

El sistema Rh es muy complejo y hasta el momento se han descrito un total de 50 antígenos, y a nivel molecular se han definido unos 170 alelos, de manera que su estructura genómica es muy polimórfica.<sup>7</sup> Además del antígeno D, otros cuatro antígenos (C,c,E,e) destacan por su importancia en la práctica transfusional relacionada con su capacidad de inducir la producción de aloanticuerpos cuando no se respeta la compatibilidad donante-receptor para cada uno de ellos. Estos cuatro antígenos constituyen dos pares de antígenos antitéticos (C/c y E/e), estrechamente relacionados entre sí y a la vez con el antígeno D, lo que condujo a Fisher a postular que en el sistema Rh estos cinco antígenos más el inexistente antígeno d, antitético de D, se transmitirían en forma de tres pares de alelos D/d, C/c y E/e, ligados entre sí en forma de haplotipo, y que las diferentes combinaciones posibles entre estos antígenos serían responsables de los diversos fenotipos.

A lo largo de la historia se han venido empleando distintas nomenclaturas para definir los genotipos y fenotipos de este sistema en función de la concepción de estructura genómica y patrón de herencia aceptada en cada momen-

to.<sup>11,12</sup> La nomenclatura de Fisher-Race denomina los antígenos por separado y los haplotipos resultantes se expresan por la conjunción de tres letras. Es la nomenclatura D C c E e. Wiener asignó un nombre a cada haplotipo, empleando la letra R mayúscula para los haplotipos D positivo y la r minúscula para los D negativo. La letra se acompaña de un número (0,1,2) o de un carácter (‘, ’) para definir la presencia o ausencia de los otros cuatro antígenos mayores. La nomenclatura de Rosenfield no tiene en cuenta la estructura genética y trata de construir un sistema práctico que facilite la clasificación de los antígenos que se determinan. Cada antígeno se expresa por un número determinado (1, 2, 3, etc.), y su ausencia, por el mismo número, pero precedido del signo (-1, -2, -3, etc.). Actualmente sigue siendo habitual el uso de la nomenclatura de Fisher en la escritura ordinaria, y la nomenclatura de Wiener en el lenguaje oral. En 1986, Tippett propuso otro modelo genético para el Sistema Rh, según el cual existirían dos loci estrechamente ligados, *D* y *CcEe*, con dos alelos en el primer locus: *D* y *no D*, y cuatro alelos en el segundo locus, *CcEe*, que incluyen *ce*, *Ce*, *cE* y *CE*.

Poco después, Colin y cols. demostraron que el locus Rh de los individuos Rh positivo está compuesto por dos genes diferentes.<sup>13</sup> En los individuos D negativo uno de estos genes se halla ausente. Se apunta a que uno de estos genes *RH* codifica el polipéptido D y el otro gen codificaría los polipéptidos C/c y E/e. Estos hallazgos confirmarían el modelo de Tippett si exceptuamos que ahora sabemos que el alelo *d* (*no D*) no existe.

En la Tabla 14 se exponen las diferentes nomenclaturas empleadas, a falta de un acuerdo internacional para utilizar una nomenclatura única, y en

la Tabla 15 los genotipos más probables del sistema Rh, deducidos a partir de los fenotipos más frecuentes.

**Tabla 14.** Antígenos del sistema Rh. Nomenclaturas de Rosenfield, Fisher- Race y Wiener.

Rosenfield	Fisher	Wiener	Otros nombres	Rosenfield	Fisher	Wiener	Otros nombres
Rh1	D	Rh <sub>0</sub>	-	Rh31	-	hr <sup>B</sup>	Bastiaan
Rh2	C	rh'	-	Rh32	-	R <sup>N</sup>	-
Rh3	E	rh''	-	Rh33	-	-	D <sup>Har</sup>
Rh4	c	hr'	-	Rh34	-	Hr <sup>B</sup>	Bas
Rh5	e	hr''	-	Rh35	-	-	III4
Rh6	f,ce	Hr	-	Rh36	-	-	Bea
Rh7	Ce	rh <sub>i</sub>	-	Rh37	-	-	Evans
Rh8	C <sup>w</sup>	rh <sup>w</sup>	Willis	Rh39	C-like	-	-
Rh9	C <sup>x</sup>	rh <sup>x</sup>	-	Rh40	-	-	Tar
Rh10	V,ce <sup>s</sup>	hr <sup>v</sup>	-	Rh41	Ce-like	-	-
Rh11	E <sup>w</sup>	rh <sup>w2</sup>	-	Rh42	Ce <sup>s</sup>	rh <sub>i</sub> <sup>s</sup>	Cce <sup>s</sup>
Rh12	G	rh <sup>G</sup>	-	Rh43	-	-	Crawford
Rh13	*	RhA	-	Rh44	-	-	Nou
Rh14	*	RhB	-	Rh45	-	-	Riv
Rh15	*	RhC	-	Rh46	-	-	Sec
Rh16	*	Rh0	-	Rh47	-	-	Dav
Rh17	**	Hr <sub>0</sub>	-	Rh48	-	-	Jal
Rh18	-	Hr	-	Rh49	-	-	STEM
Rh19	-	hrs	-	Rh50	-	-	FPTT
Rh20	VS,e <sup>s</sup>	-	-	Rh51	-	-	MAR
Rh21	C <sup>G</sup>	-	-	Rh52	-	-	BARC
Rh22	CE	-	Jarvis	Rh53	-	-	JAHK
Rh23	D <sup>w</sup>	-	Wiel	Rh54	-	-	DAK
Rh26	c-like	-	Deal	Rh55	-	-	LOCR
Rh27	cE	-	-	Rh56	-	-	CENR
Rh28	-	hr <sup>H</sup>	Hernandez	Rh57	-	-	CEST
Rh29	-	-	Total Rh	Rh58	-	-	CELO
Rh30	D <sup>Cor</sup>	-	Go <sup>a</sup>	Rh59	-	-	CEAG

\* corresponde a algunos anti-D parciales formados por sujetos D positivos

\*\* corresponde a un anticuerpo D formado por sujetos D-/-D--



**Tabla 15.** Genotipos más probables del sistema Rh deducibles a partir de los fenotipos más frecuentes

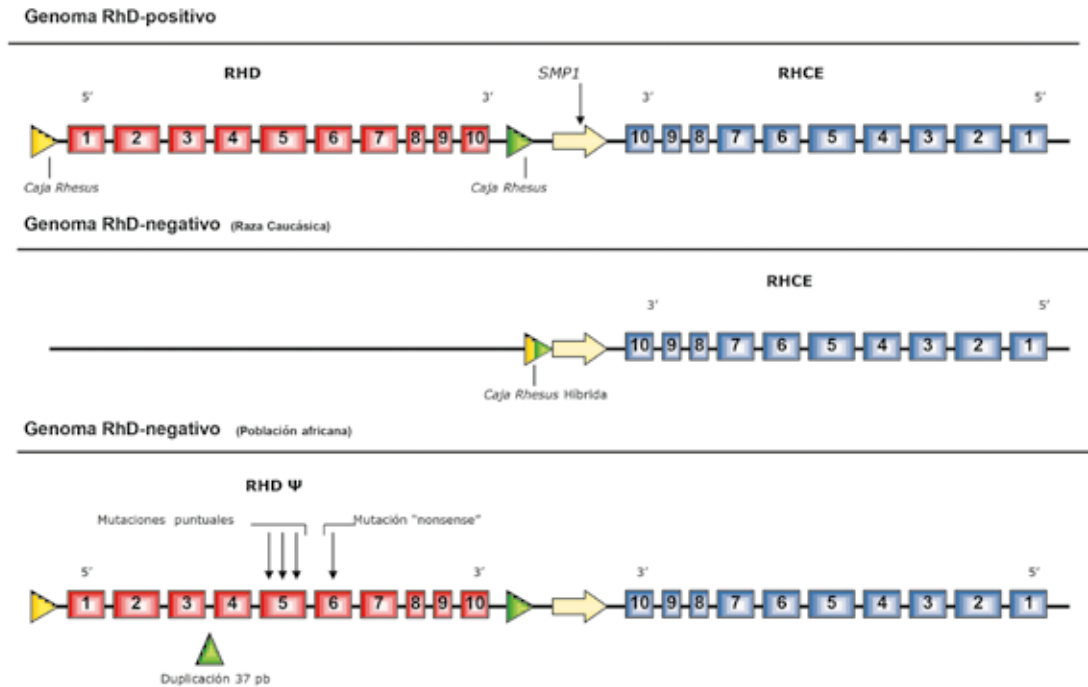
Fenotipo Rh	Genotipo probable	Frecuencia genotípica*
DCcee	DCe/dce(R <sup>1</sup> r)	34,39
DCCee	DCe/DCe(R <sup>1</sup> R <sup>1</sup> )	19,94
DccEe	DcE/dce(R <sup>2</sup> r)	12,24
DccEE	DcE/DcE(R <sup>2</sup> R <sup>2</sup> )	0,95
DCcEe	DCe/DcE(R <sup>1</sup> R <sup>2</sup> )	12,87
ddccee	dce/dce(rr)	15,40

\* Según Salmon, Ch

### Genes y antígenos

El locus *RH* está constituido por dos genes homólogos, *RHD* y *RHCE*, de 10 exones cada uno, con una extensión cercana a 60 kb de DNA genómico. Están ubicados en el cromosoma 1, en la posición 1p34-36, y distribuidos en forma de tándem (uno a continuación del

otro), pero con orientaciones opuestas (5'*RHD*3'-3'*RHCE*5'). El gen *RHD* está flanqueado por dos regiones de 9 kb y un 98.6% de homología denominadas "cajas Rhesus", que tienen un papel primordial en la formación del haplotipo *RHD* negativo en la raza caucásica (Figura 4). La delección del gen *RHD*



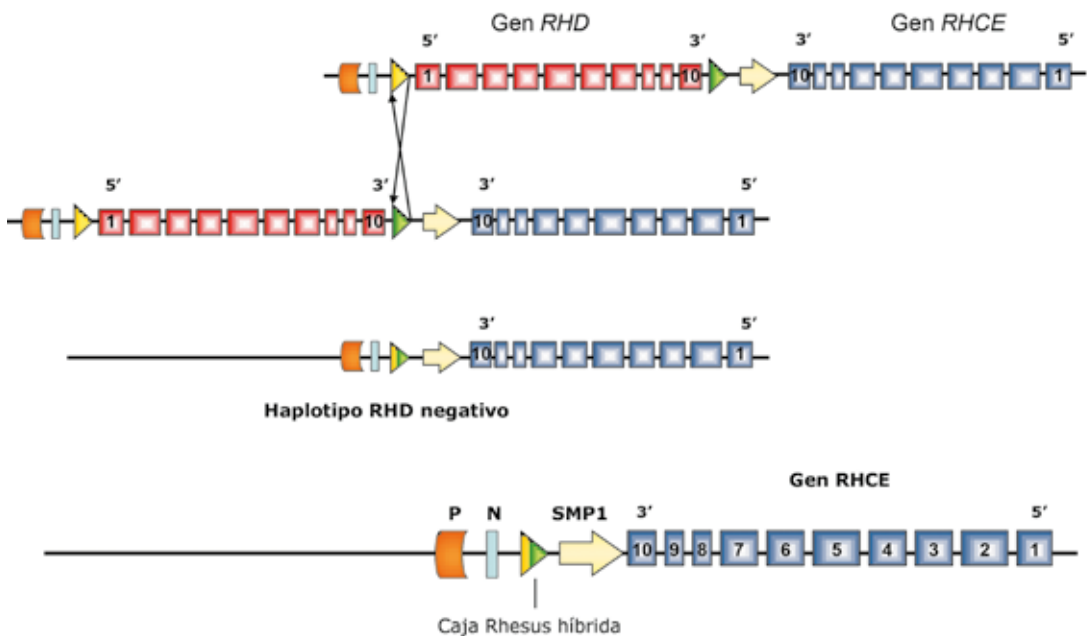
**Figura 4.** Organización genómica del locus RH humano

responsable del fenotipo negativo se produjo, probablemente, por el entrecruzamiento desigual de las “cajas Rhesus” de dos haplotipos *RH* mal alineados en “*trans*”, lo que dio lugar a una caja Rhesus híbrida<sup>11,12</sup> (Figura 5). Los individuos de fenotipo D positivo pueden ser homocigotos para el gen *RHD*, o bien, hemicigotos (una sola copia del gen). Algunos individuos de fenotipo Rh(D) negativo, mayoritariamente de poblaciones no caucásicas, conservan secuencias propias del gen *RHD* en el locus *RH*, lo que suele comportar discordancias entre fenotipo y genotipo. En la población de raza negra, la variante alélica *RHDψ*, o pseudogén *RHD*, está presente hasta en un 66% de los individuos Rh(D) negativo. Esta variante corresponde a un gen *RHD* inactivo que no es capaz de dar lugar a la proteína RhD, ni al antígeno Rh(D) correspondiente.

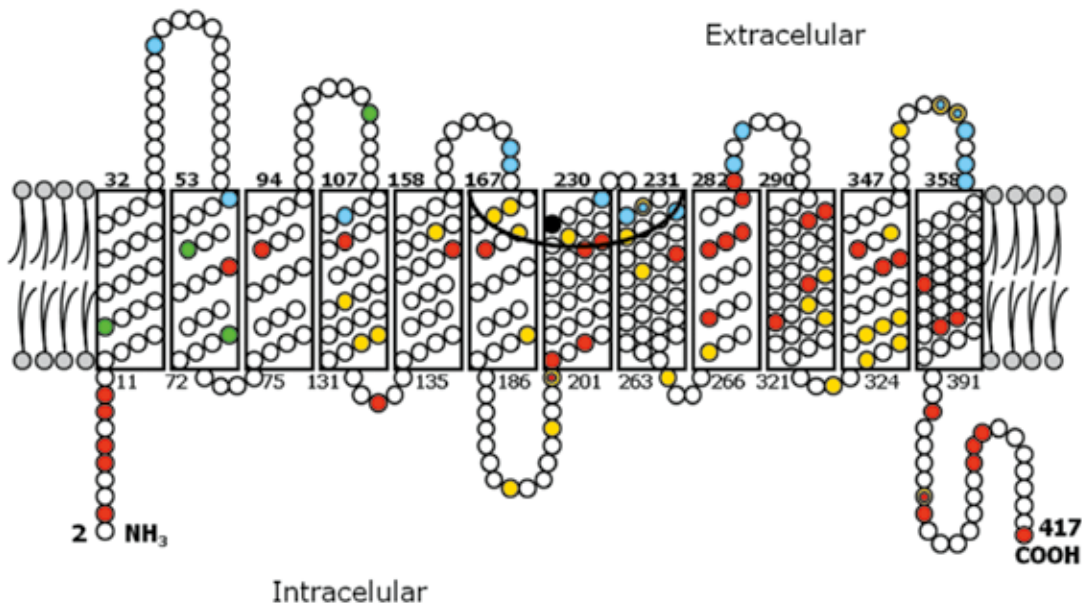
En cuanto al gen *RHCE*, existen cuatro formas alélicas de este gen: *RHce*,

*RHcE* y *RHCE*. Los alelos que codifican para el antígeno C se diferencian en 6 nucleótidos (4 AAs) de los alelos que codifican para el antígeno c, aunque parece ser que es la posición aminoacídica 103 la que determina la especificidad. Los alelos *RHE* y *RHe*, en cambio, se diferencian en un único nucleótido que comporta un cambio de AA en la posición 226.

Las proteínas resultantes, RhD y RhCE, son proteínas transmembrana no glicosiladas de múltiples pasos, compuestas, cada una de ellas, por 417 AAs que difieren entre sí en un total de 32 a 35 AAs. A lo largo de las proteínas se distinguen 6 bucles extracelulares, 12 segmentos transmembrana y 7 segmentos intracelulares. Cada uno de los exones del gen codifica para un segmento de la proteína, de manera que los 10 exones dan lugar a una proteína completa (Figura 6). Las proteínas Rh forman complejo en la membrana con



**Figura 5.** Recombinación genética en “*trans*”.



**Figura 6.** Modelo de las proteínas Rhesus (RhD y RhCE) en la membrana del hematíe.

una glicoproteína denominada RHAG (Rh-associated glycoprotein).

Tras el descubrimiento de la base molecular del locus *RH* se han ido sucediendo en cascada numerosos hallazgos relacionados con las bases moleculares de los diferentes fenotipos Rh(D), incluidos los fenotipos D parcial y D débil. Precisamente, las similitudes moleculares subyacentes en ambos fenotipos han propiciado el cambio hacia una visión unitaria de ellos y a su inclusión dentro de lo que actualmente conocemos como variantes *RHD*.<sup>14,15</sup>

### D parcial

Hasta que fueron definidas las bases moleculares del fenotipo D parcial se suponía que los individuos portadores de este fenotipo carecían de un fragmento de proteína lo suficientemente importante como para sensibilizarse tras la exposición a un antígeno Rh(D) completo y desarrollar el correspon-

diente anticuerpo. Las bases moleculares que explican este fenotipo pueden ser de tres tipos: alelos híbridos *RHD/RHCE*, mutaciones puntuales en los segmentos extracelulares de la proteína y, finalmente, mutaciones puntuales dispersas (Figura 7).<sup>14</sup>

Los alelos híbridos son responsables de la mayoría de fenotipos D parcial (Figura 8). La estructura tandémica y la orientación en direcciones opuestas de los genes *RHD* y *RHCE* facilita las recombinaciones genéticas entre ellos y dan lugar a alelos híbridos de tipo *RHD-CE-D* o *RHCE-D-CE* (Figura 7). La proteína híbrida resultante puede no expresar el antígeno Rh(D) o ver reducida su expresión, según los exones comprometidos en la recombinación y cómo ésta afecte la configuración que resulta necesaria para la correcta expresión del antígeno Rh(D). Los AAs que caracterizan el antígeno Rh(D) forman parte de la región extra-

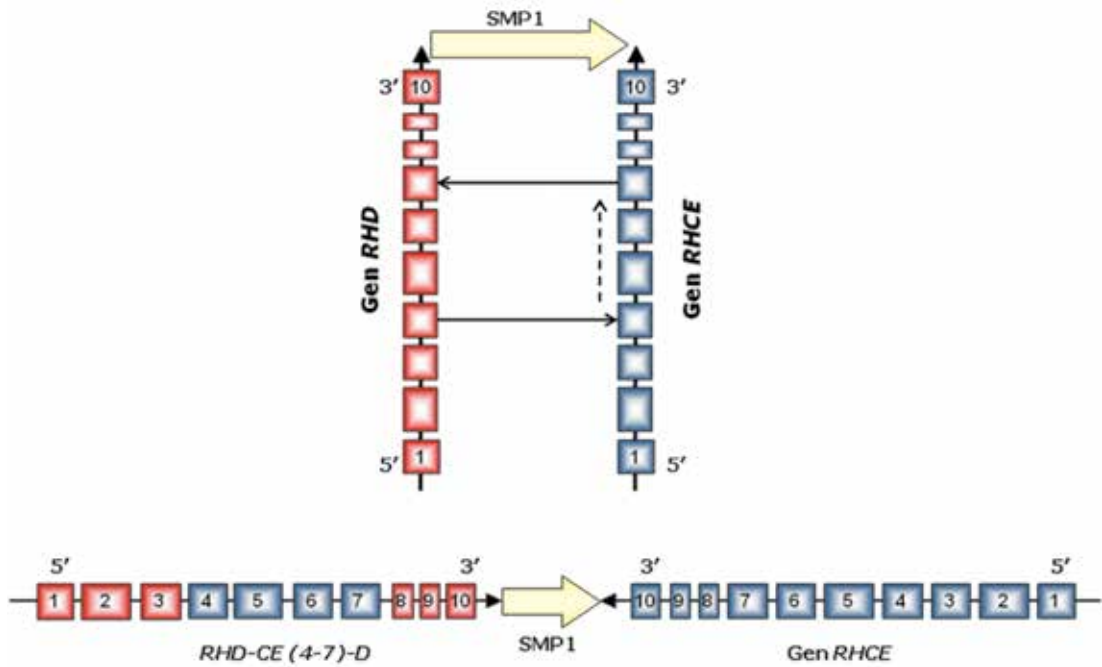


Figura 7. Recombinación genética en “cis”



Figura 8. Bases moleculares de diferentes variantes *RHD* que determinan un fenotipo D parcial.

celular de la proteína y están ubicados en los bucles externos 3, 4 y 6. Así mismo, las diferencias externas entre las proteínas Rh(D) y Rh(CE) residen en estos bucles que están codificados, respectivamente, por los exones 4, 5 y 7 del gen *RHD*. Por tanto, si un gen *RHD*, a través de una recombinación en “*cis*”, cambia sus exones 4, 5 y 7 por los exones correspondientes al gen *RHCE*, el producto resultante de este gen híbrido será una proteína con los bucles 3, 4 y 6 propios de la proteína Rh(CE) y, por ello, con una expresión alterada del antígeno Rh(D).<sup>16</sup>

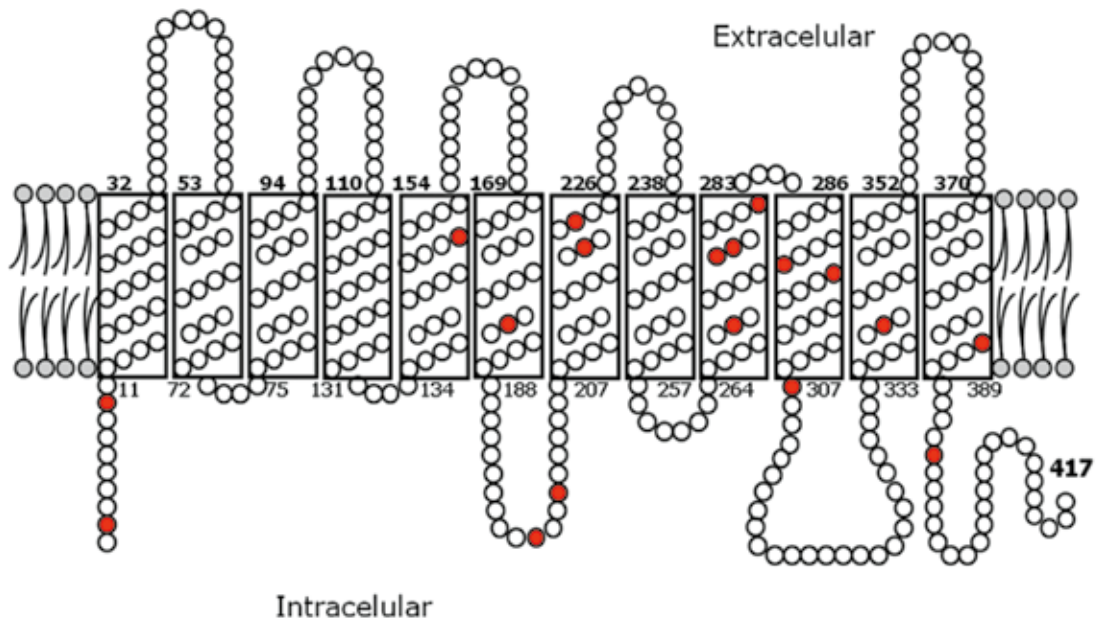
Considerando que los exones 4, 5 y 7 son críticos para la construcción de los fragmentos de proteína más comprometidos con la expresión del antígeno Rh(D), existen seis posibles combinaciones de estos exones que dan lugar a seis alelos híbridos, los que corresponden a las categorías DIVb, DVa, DVI, DFR, DBT y DHAR, que expresan, respectivamente, los antígenos inmunogénicos de baja frecuencia Rh37 (Evans), Rh23 (D<sup>w</sup>), Rh52 (BARC), RH50 (FPTT), Rh32 y Rh33. La expresión del antígeno Rh(D) puede variar entre alelos pertenecientes a una misma categoría, al igual que la reactividad frente a diferentes anticuerpos anti-Rh (D), según la densidad antigénica de las proteínas resultantes.

Las mutaciones puntuales y las mutaciones puntuales dispersas [múltiples mutaciones ubicadas en diferentes regiones de la proteína Rh(D)] son responsables del resto de fenotipos D parcial. Las variantes DII, DVII y DNB son algunos ejemplos de fenotipos debidos a mutaciones puntuales, y las va-

riantes DIIIa, DIII tipo IV, DIVa y DAR lo son de los fenotipos debidos a mutaciones puntuales dispersas.

### D débil

La información actualmente disponible sobre las bases moleculares del fenotipo D débil ha puesto de manifiesto su gran heterogeneidad y confirmado que bajo el término D débil se ha ido incluyendo a lo largo del tiempo una amplia variedad de fenotipos D de expresión débil, como si todos ellos correspondieran a una sola entidad serológica. Esto explica también por qué los intentos de establecer un protocolo de actuación uniforme frente a los diversos fenotipos D débil han resultado insatisfactorios. Todos los ejemplos publicados hasta el momento obedecen a mutaciones puntuales del gen *RHD* en la región transmembrana o intracelular<sup>17</sup> (Figura 9). Aunque esta localización, en general, no resulta inmunogénica, puede suponer una dificultad en la inserción de la proteína en la membrana del hematíe y afectar su interacción con la glicoproteína Rh50 (RhAG), produciendo un fenotipo D débil. Se han descrito más de 70 alelos distintos, y entre todos ellos el D débil tipo 1 es el más frecuente en la población europea. La forma más débil corresponde al fenotipo DEL, anteriormente *Del*, en el que la expresión del antígeno es tan extremadamente débil que sólo puede demostrarse con una técnica de adsorción-elución.<sup>18</sup> En Europa el fenotipo DEL es el menos frecuente en el conjunto de fenotipos D débil, pero en el este asiático más de un 30% de los donantes son portadores de un fenotipo DEL ligado a la variante *RHD*(K409K).<sup>19,20</sup>



**Figura 9.** Localización de los AAs sustituidos en algunas de las variantes RHD que determinan un fenotipo D débil.

Los fenotipos D débil de los tipos 1 al 4 representan aproximadamente el 94% de los fenotipos D débil detectados en europeos.<sup>21-23</sup> El D débil tipo 4 se ha dividido a su vez en varios subtipos. En la raza negra africana, el D débil tipo 4.2, también conocido como DAR, se detecta con una frecuencia muy superior a la encontrada en raza caucásica europea.

### D parcial y D débil: más similitudes que diferencias

La definición de las bases moleculares de los fenotipos D parcial y D débil, y algunas observaciones clínicas publicadas en los últimos años de individuos portadores de estos fenotipos, han cuestionado los criterios clásicos empleados para su clasificación y han demostrado que las fronteras que los

separan son en realidad virtuales. Por ejemplo, algunos fenotipos D parcial son debidos, tal como sucede con los fenotipos D débil, a mutaciones puntuales y no sólo a fenómenos de recombinación genética. Y, lo que es más importante, aunque en la mayoría de los fenotipos D débil descritos no se ha detectado aloinmunización anti-D, ésta ya no se considera patrimonio exclusivo de los fenotipos D parcial, y han sido publicados algunos ejemplos de individuos de fenotipo D débil portadores de anti-D. De la misma forma, existen numerosos fenotipos D parcial en los que nunca se ha documentado aloinmunización anti-D, probablemente porque los epítomos de los que carecen son poco o nada inmunogénicos.

Hasta el momento no se ha detectado aloinmunización anti-D en ninguno de los pacientes transfundidos

portadores de los fenotipos D débiles tipos 1, 2, 3, 4.1 y 5. Por tanto, los individuos portadores de las variantes más prevalentes en la población europea no parecen presentar riesgo de inmunización cuando son transfundidos con hematíes Rh(D) positivo. Por el contrario, los fenotipos D débil tipo 4.2, 11 y 15 parecen asociarse a un riesgo probado o posible de inmunización. Respecto a otros fenotipos D débil menos comunes, no existe por el momento una información definitiva. Probablemente, algunos individuos portadores de estos fenotipos son catalogados como Rh(D) negativo, ya que la densidad antigénica es muy escasa, por lo que difícilmente podremos documentar el riesgo de aloinmunización subyacente. No obstante, de conocerse la presencia de esta variante en el paciente, es preferible que éste sea transfundido con componentes Rh(D) negativo.<sup>11</sup>

## Otros antígenos Rh

Antígenos compuestos: ce, Ce, cE, CE y G

Estos antígenos se han definido con anticuerpos que reaccionan con hematíes en los que los antígenos a C/c y E/e están codificados por el mismo gen. Por ejemplo, anti-ce (también conocido como anti-f) sólo reconoce los hematíes que poseen un haplotipo *dce* o *Dce*, es decir, cuando c y e se encuentran en posición *cis*. Por tanto, los hematíes de fenotipo D+C+c+E+e+ reaccionarán con anti-ce, pero no con anti-Ce si el genotipo es DCE/*dce* y, por el contrario, reaccionarán con anti-Ce y no con anti-ce si el genotipo es DCE/DcE. Anti-ce

es un componente frecuente en mezclas de anticuerpos que contienen anti-c y anti-e y, ocasionalmente, puede detectarse como especificidad aislada. La mayoría de sueros con anti-C y anti-C+D contienen una porción de anti-Ce. Las especificidades anti-CE y anti-cE son muy poco frecuentes.

Anti-G reacciona con los hematíes que expresan D o C, es decir, D+C+, D+C- y D-C+. El AA primario que define al antígeno C es serina<sup>103</sup> en la proteína RhCcEe. La proteína RhD también presenta una serina en la misma posición. Por esta razón, el anti-G reconoce la presencia de serina 103, ya sea en el contexto de la proteína D o de la proteína CcEe, en contraste con anti-C que es más conformacional y sólo reconoce la presencia de serina 103 en el contexto de una proteína CcEe. Anti-G se detecta a menudo en sueros que contienen anti-D más anti-C, y puede ser motivo de confusión en las investigaciones de anticuerpos irregulares que se realizan en las gestantes dentro del protocolo de prevención de la enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN).

## Cw, Cx, MAR

Cw es un antígeno de relativa baja frecuencia en todas las poblaciones, aunque su incidencia es variable. En España la frecuencia estimada es de un 1.9%, muy similar a la de otras poblaciones estudiadas en Europa. Cx es un antígeno raro, con una incidencia de 0.1% y 0.3% en población caucásica. Cw y Cx suelen estar presentes en haplotipos DCe en los que C se expresa débilmente. Cw está asociado al

cambio de glutámico por arginina en el residuo 41 de la proteína, y Cx con el de alanina por treonina en el residuo 36 de la proteína CcEe, lo que implica en ambos casos cambios conformacionales que inducen una expresión más débil del antígeno C.

El antígeno MAR es un antígeno de alta incidencia. La prevalencia de individuos MAR negativo en finlandeses es del 0.2%. Los hematíes MAR negativo pueden expresar Cw y Cx. Su localización está comprendida entre los residuos 36-41 de la proteína RhCe.

## VS, V

El antígeno VS tiene una frecuencia de 30%-40% en la población africana de raza negra, pero es muy raro en otros grupos étnicos. VS resulta del cambio leucina<sup>245</sup>valina en la proteína CcEe y se asocia con un antígeno e débil. Los hematíes VS+ son habitualmente V+, aunque hasta un 20% de ellos carecen del antígeno V, y además del cambio de AA mencionado tienen añadido el cambio glicina<sup>336</sup>cisteína. El haplotipo del gen alterado que con frecuencia se asocia con un fenotipo VS+ V- no contiene *RHD*, pero posee un gen híbrido *RHD-CE-D* que no produce D pero sí un C anormal.

## Fenotipos Rh-deficitarios. Rh<sub>null</sub> y Rh<sub>mod</sub>

Los hematíes de los individuos de fenotipo Rh<sub>null</sub> son excepcionales y se caracterizan por la ausencia de antígenos Rh en su membrana. Estas personas cuando se inmunizan producen un anticuerpo anti-Rh<sub>29</sub> que reaccio-

na con todos los hematíes, excepto con los del mismo fenotipo. Este fenotipo se explica a través de dos posibles modelos de herencia: 1) Homocigocidad para haplotipos Rh inactivos. Estos individuos carecen de gen *RHD* como la mayoría de individuos D negativo y son homocigotos para un *RHCE* que contiene mutaciones inactivas, por lo que ninguna de las dos proteínas Rh puede ser producida. 2) Los genes *RHD* y *RHC* son activos, pero los individuos portadores de un fenotipo nulo son homocigotos para mutaciones inactivadoras en el gen *RHAG*. La proteína RhAG no expresa antígenos Rh, pero está íntimamente asociada a la proteína Rh en la membrana, y su presencia es necesaria para que los antígenos Rh puedan expresarse con normalidad. En algunos casos el gen *RHAG* es capaz de producir una mínima cantidad de proteína RhAH, lo que explica la presencia de antígenos Rh de expresión muy débil, como sucede con el fenotipo Rh<sub>mod</sub>.

Las células Rh<sub>null</sub> son anómalas, tanto morfológicamente como funcionalmente. La mayoría de individuos de fenotipo Rh<sub>null</sub> y Rh<sub>mod</sub> presentan un cierto grado de anemia hemolítica que, en algunos casos, puede ser subsidiaria de una esplenectomía.

## Anticuerpos

Los anticuerpos Rh son habitualmente de clase IgG (IgG1 y/o IgG3) y la mayoría no fijadores de Complemento. El anti-D suele acompañarse de anti-C en un 30% de casos y de anti-e en un 2%. La inmunización primaria de una persona RhD negativo, después de una transfu-



sión RhD positivo, suele conllevar la aparición de un aloanticuerpo de especificidad anti-D a las 20 semanas aproximadamente de la transfusión hasta en un 20% de individuos. En ocasiones, la exposición a una pequeña cantidad de hematíes D positivo no permite que el anticuerpo sea detectable, como puede suceder durante la gestación o en el postparto inmediato; sin embargo, una nueva exposición a hematíes D incompatibles provocará una rápida e intensa respuesta anamnésica.

Anti-D puede causar reacciones transfusionales hemolíticas, en algunas ocasiones de carácter grave, y EHRN. Las gestantes portadoras de una variante de D que se sensibilizan pueden producir EHRN cuando el feto es portador de un antígeno D completo. Si se conoce que la gestante es portadora de una de estas variantes, y da a luz un recién nacido D positivo, la gestante es candidata a recibir la dosis preceptiva de gammaglobulina anti-D.

De los restantes anticuerpos Rh, anti-c ha venido considerándose el segundo más frecuente, seguido de anti-E; sin embargo, en los últimos años y coincidiendo con la utilización de técnicas más sensibles de detección de anticuerpos irregulares, los anticuerpos anti-E parecen detectarse con mayor frecuencia que los de especificidad anti-c, aunque muchos de ellos suelen ser de origen “natural”. La presencia aislada de la especificidad anti-C es muy rara en ausencia de anti-D. Clínicamente, anti-c es el más importante, ya que es capaz de producir EHRN grave; por el contrario, anti-C, anti-E y anti-e raramente la producen, y cuando lo hacen,

los recién nacidos presentan una clínica moderada.

## Función putativa de las proteínas Rh y RhAG

Las proteínas Rh y RhAG son estructuras homólogas con idéntica conformación en la membrana y un 33% de identidad en la secuencia de AAs. Su conformación característica de proteínas de múltiples pasos de entrada y salida en la membrana es característica de las moléculas transportadoras.<sup>24,25</sup> Además, la secuencia proteica de ambas también es homóloga con la de los transportadores de amonio en animales inferiores y plantas. Las células de levadura, que carecen de transportadores de amonio, no son capaces de desarrollarse en un medio bajo en amonio, pero la situación cambia cuando se efectúa una transfección de la célula con *RHAG*. De confirmarse la hipótesis de que ambas proteínas actúan como transportadoras de amonio, cabe imaginar que los hematíes transportan amonio desde el cerebro hasta el hígado o el riñón para su metabolización o excreción.

Una hipótesis alternativa es que las proteínas Rh y RhAG, junto a la proteína Banda 3, podrían actuar como proteínas de intercambio entre el oxígeno y el dióxido de carbono. Esta hipótesis estaría alineada con la función primordial del hematíe, la de transporte de oxígeno y conversión del dióxido de carbono a bicarbonato mediante la acción de la anhidrasa carbónica en el citoplasma del propio hematíe.

## Sistemas Kell y Kx

### Genes y antígenos

El sistema Kell está constituido por 27 antígenos numerados del 1 al 27, de los que tres han sido considerados obsoletos, y que se agrupan en 5 sets de antígenos antitéticos (K y k; Kp<sup>a</sup>, Kp<sup>b</sup> y Kp<sup>c</sup>; Js<sup>a</sup> y Js<sup>b</sup>; K11 y K17; K14 y K24), 4 antígenos de baja frecuencia (Ul<sup>a</sup>, K23 y VLAN, VONG), y 8 antígenos más de alta frecuencia (Ku, K12, K13, k-like, K18, K19, Km, K22, TOU, RAZ, KALT y KTIM). Todos estos antígenos se localizan en una proteína integral de membrana eritrocitaria de Pm 93000.<sup>1-5</sup> Las características estructurales y la secuencia de la proteína Kell es homóloga a la de las endopeptidasas zinc-dependientes que intervienen en el procesamiento de diversas hormonas peptídicas. La función de esta proteína no se conoce plenamente, pero parece comportarse como una enzima activa encargada de catalizar la reacción que convierte el péptido inactivo endotelina-3 en un vasoconstrictor activo.<sup>24-25</sup>

El gen *KEL* se localiza en el cromosoma 7q32-q36, y se extiende a lo largo de una secuencia de 21.5 kb de DNA organizada en 19 exones codificantes. La producción de los diferentes antígenos

está también ligada a genes pertenecientes al locus *XK* del cromosoma X.

El antígeno K se detecta con una frecuencia del 9% en norteeuropeos, un 2% en individuos de origen africano y, muy raramente, en los de origen asiático; por el contrario, el antígeno k es de alta frecuencia en todas las poblaciones (Tabla 16). El antígeno Kp<sup>a</sup> se detecta en un 2% de individuos de raza blanca, y está ausente en raza negra y en japoneses, y el antígeno Kp<sup>b</sup> es de alta frecuencia en todas las poblaciones examinadas. El antígeno Js<sup>a</sup> parece exclusivo de la raza negra. Su frecuencia en negros americanos de origen africano es un 16%. El antígeno Js<sup>b</sup> es de alta incidencia en todas las poblaciones.

Los antígenos K y k resultan de un cambio de base (C->T) en el exón 6 que comporta un cambio de AA en el residuo 193 de la proteína (metionina, en los individuos K -->; treonina, en los k).

Las bases moleculares del fenotipo Kell nulo (K<sub>0</sub>) son muy diversas, y se atribuyen a diferentes tipos de mutaciones (mutaciones puntuales, mutaciones sin sentido y mutaciones en lugares de "splicing", en individuos en los que la mutación está presente en forma homocigota.

Los antígenos Kp<sup>a</sup>, Kp<sup>b</sup> y Kp<sup>c</sup> surgen de un cambio de base en el exón 8: Kp<sup>a</sup>

**Tabla 16.** Relación de fenotipos y frecuencia en el sistema Kell

Reacciones con anti-		Frecuencia (%)		
K	k	Fenotipo	Raza blanca	Raza negra
+	0	K+k-	0.2	Raro
+	+	K+k+	8.8	2
0	+	K-k+	91.0	98
0	0	K <sub>0</sub>	Muy raro	

TGG-->Trp281; Kp<sup>b</sup> CGG-->Arg281; Kp<sup>c</sup> CAG-->Gln281. Actualmente también se han definido las bases moleculares de los antígenos Js<sup>a</sup>/Js<sup>b</sup> (KEL 6 y KEL 7), K11/K17 y del antígeno Ul<sup>a</sup> (KEL 10).

Al igual que sucede con los sistemas ABO y RH, existen individuos en los que la expresión del sistema Kell aparece deprimida por diferentes causas:

1. Existe una relación, cuyo mecanismo íntimo se desconoce, entre ciertos fenotipos Gerbich y la deprimición de los antígenos Kell.
2. El alelo codificante de Kp<sup>a</sup> induce en ocasiones una expresión débil del resto de antígenos; es posible que la presencia de Trp281 produzca un cambio de conformación en la molécula que afecte la expresión de los demás antígenos.
3. Los fenotipos K<sub>mod</sub> no son más que un cajón de sastre que engloba una variedad de fenotipos Kell débiles.
4. El síndrome de McLeod, en el que todos los antígenos Kell están deprimidos, y Km ausente, cursa ausencia de la proteína XK en la que reside el sistema Kx y su único antígeno (Kx). La relación entre las proteínas Kell y XK se establece a través de un único puente disulfuro. El gen XK, responsable de la proteína XK, es un gen ligado al cromosoma X, motivo por el cual este síndrome habitualmente sólo se presenta en varones. Se debe a la aparición de mutaciones en el gen XK que pueden afectar el proceso de transcripción del RNAm, o bien a una deleción parcial del cromosoma X que incluye o afecta al gen XK. Los pacientes que sufren este síndrome presen-

tan acantocitosis y una amplia variedad de defectos musculares y neurológicos.

5. El síndrome de granulomatosis crónica ligado al cromosoma X también se debe a una deleción del cromosoma X que incluye los genes XK y al gen responsable de esta patología.

### Anticuerpos

El aloanticuerpo anti-K es el más común tras las especificidades pertenecientes a los sistemas ABO y Rh. Generalmente es de clase IgG1 y, ocasionalmente, fijador de Complemento. Los restantes aloanticuerpos son menos habituales, y la presencia de anticuerpos anti-k, anti-Kp<sup>b</sup> y anti-Js<sup>b</sup> suele plantear problemas cuando se requieren hematíes carentes de estos antígenos para la transfusión, ya que se ha demostrado su capacidad para producir reacciones transfusionales y EHRN.<sup>10</sup> La proteína Kell se expresa en fases muy precoces del proceso de maduración eritroide, y ello permite que los anticuerpos anti-K puedan inhibir la eritropoyesis y provocar una anemia aplásica que puede superar el componente hemolítico de la anemia fetal.

Los individuos de fenotipo K<sub>0</sub> pueden producir un anticuerpo de especificidad anti-Ku cuando se sensibilizan, que aglutina todos los hematíes, excepto los de otros individuos de fenotipo idéntico.

Los individuos con síndrome de McLeod y enfermedad granulomatosa crónica, cuando se sensibilizan producen un anticuerpo anti-Kx más anti-Km que hace prácticamente inviable el encontrar hematíes de idéntico fenotipo para la transfusión. Por esta razón la

indicación de transfundir a niños con estas patologías debe ser valorada con mucha cautela a fin de evitar su sensibilización.

## Sistema Duffy (Fy)

### Genes y antígenos

El sistema Fy está constituido en los individuos de raza caucásica por dos antígenos, Fy<sup>a</sup> y Fy<sup>b</sup>, que se combinan y dan lugar a tres posibles fenotipos; y en los individuos de origen africano existe un alelo adicional, Fy, que origina un cuarto fenotipo, Fy(a-b)<sup>-1-5</sup> (Tabla 17).

Los antígenos de este sistema se localizan en una glicoproteína codificada por el gen *Duffy* o *DARC* que se localiza en el cromosoma 1. Tiene un Pm de 35-45 kD y está constituida por un total de 338 AAs.

El polimorfismo Fy<sup>a</sup>/Fy<sup>b</sup>, que se encuentra tanto en individuos de raza blanca como de raza negra, resulta de un cambio de base que da lugar a la presencia del AA glicina en el residuo 44 de la proteína Fy<sup>a</sup> y de aspártico en la proteína Fy<sup>b</sup>.

La región codificante del alelo Fy es idéntica a la del alelo Fy<sup>b</sup>, pero en cambio los individuos con fenotipo Fy(a-b-)

carecen de este antígeno en sus hematíes. Tournaville y col.<sup>26</sup> encontraron una mutación en el gen *Duffy* de las personas con este fenotipo, situada en la región promotora del gen, a una distancia de 41 nucleótidos del inicio de la transcripción. Esta mutación afecta a una secuencia consensus para la unión de los factores de transcripción GATA, de tal manera que impide la unión del factor de transcripción específico eritroide GATA-1 y, en definitiva, no resulta posible la expresión del producto génico en los hematíes, aunque sí en otros tejidos. Esto explica por qué cuando estos individuos se sensibilizan lo hacen desarrollando un anti-Fy<sup>3</sup> y no un anti-Fy<sup>b</sup>. El fenotipo Fy(a-b-) en la raza negra oscila entre el 70% en americanos de origen africano y el 100% en Gambia. Aunque infrecuente, este fenotipo también se ha descrito en individuos de raza caucásica. En este caso la mutación responsable difiere de la propia de la raza negra, y el resultado es la ausencia de la proteína Duffy en los hematíes y en todos los tejidos del organismo. En un estudio realizado en España se verificó que un 2.4% de los donantes de sangre analizados presentaban la mutación responsable del fenotipo Fy(a-b-).<sup>27</sup>

**Tabla 17.** Polimorfismos del sistema Duffy y frecuencia de los diferentes genotipos en la población africana y europea.

Europeos			Africanos	
Fenotipo	Genotipo	Frecuencia	Genotipo	Frecuencia
Fy (a+b+)	Fy <sup>a</sup> /Fy <sup>a</sup>	20%	Fy <sup>a</sup> /Fy <sup>a</sup> o Fy <sup>a</sup> /Fy	10%
Fy (a+b+)	Fy <sup>a</sup> /Fy <sup>b</sup>	48%	Fy <sup>a</sup> /Fy <sup>b</sup>	3%
Fy (a-b+)	Fy <sup>b</sup> /Fy <sup>b</sup>	32%	Fy <sup>b</sup> /Fy <sup>b</sup> o Fy <sup>b</sup> /Fy	20%
Fy (a-b-)	Fy/Fy	Muy raro	Fy/Fy	67%

El alelo  $Fy^x$ , responsable de un antígeno  $Fy^b$  débil, se debe a una mutación adicional sobre la secuencia del alelo  $Fy^b$  (265C>T). La incidencia de este fenotipo  $Fy^b$  débil en población de raza blanca oscila entre un 2-3%.

La glicoproteína Duffy actúa como receptor de múltiples quimiocinas, incluida la interleucina-8, por lo que se le atribuye un papel en el curso de la cascada inflamatoria. Además, en los hematíes actúa como receptor para *Plasmodium vivax* y *Knowlesi*, responsables de la malaria, una infección ampliamente difundida en el continente africano. Los hematíes de fenotipo  $Fy(a-b-)$  y, por tanto, carentes de la glicoproteína Duffy, son resistentes a la invasión de este tipo de *Plasmodium*. La ausencia de esta glicoproteína no sólo no es esencial para la vida sino que la mutación detectada en esta raza representa una ventaja selectiva en las áreas donde la malaria terciaria es endémica.<sup>24,25</sup>

### Anticuerpos

Anti- $Fy^a$  es mucho más común que anti- $Fy^b$ . El resto de posibles aloanticuerpos son muy poco comunes. Son predominantemente IgG1 y, ocasionalmente, fijadores de C. Ambos anticuerpos pueden producir reacciones transfusionales hemolíticas inmediatas y retardadas, en general de carácter moderado, y EHRN que puede oscilar entre formas clínicas moderadas y graves.<sup>10</sup>

Anti- $Fy^3$  es uno de los anticuerpos desarrollados por los individuos de fenotipo  $Fy(a-b-)$  y, a diferencia de anti- $Fy^a$  y anti- $Fy^b$ , es resistente a la acción de proteasas. Anti- $Fy^5$  también puede

ser producido por los individuos de fenotipo  $Fy(a-b-)$  y, más concretamente, por los de raza negra repetidamente transfundidos. A diferencia de anti- $Fy^3$  no reacciona con las células  $Rh_{null}$ . No se conoce la causa de esta asociación entre las proteínas Rh y Duffy. Anti- $Fy^3$  ha producido reacciones transfusionales inmediatas y retardadas, y anti- $Fy^5$ , reacciones retardadas.

## Sistema Kidd (Jk)

### Genes y antígenos

El sistema Kidd surge del conjunto de alelos producidos por el gen *HUT11* (*JK*) localizado en el cromosoma 18, que da lugar a una proteína de varios pasos en la que se localizan los diversos antígenos Jk y el transportador eritrocitario de urea. Los antígenos codominantes  $Jk^a$  y  $Jk^b$  resultan de un polimorfismo del gen *HUT11* consistente en un cambio de base en la secuencia de DNA que determina un cambio de AA en la posición 280 (Asp/Asn) de la proteína.<sup>1-5</sup>

El fenotipo  $Jk(a-b-)$  es muy raro y se debe a la presencia en estado homocigoto de un alelo silente, *Jk*, en el locus *JK*, o bien a la herencia de un gen dominante inhibidor *In* (*Jk*), independiente del locus *JK*. Los hematíes  $Jk(a-b-)$  son resistentes a la lisis inducida por la urea y muestran un defecto selectivo en el transporte de urea (Tabla 18). En la Polinesia, el fenotipo nulo puede llegar a detectarse en 1 de cada 400 individuos.

### Anticuerpos

Anti- $Jk^a$  es más común que anti- $Jk^b$ . Suelen ser de clase IgG, o bien IgG más IgM, y ambos fijadores de Complemento.

**Tabla 18.** Distribución de los diferentes fenotipos del sistema Kidd en población caucásica y en un grupo de 197 donantes de sangre españoles.

Reacciones con anti-				Frecuencia (%)	
Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Fenotipo	Genotipo	Caucásicos en gral.	Españoles
+	0	Jk (a+b-)	<i>JK<sup>a</sup>JK<sup>a</sup></i>	26	26
+	+	Jk (a+b+)	<i>JK<sup>a</sup>JK<sup>b</sup></i>	51	50
0	-	Jk (a-b+)	<i>JK<sup>b</sup>JK<sup>b</sup></i>	23	24
0	0	Jk (a-b-)	<i>Jk nulo</i>	Muy raro	

to, por su componente IgG3. La detección de estas especificidades resulta, en ocasiones, complicada debido a su efecto de dosis que hace que los anticuerpos reaccionen exclusivamente con las células en las que el antígeno se encuentra en estado homocigoto, o bien a su presencia en una concentración prácticamente indetectable. Pueden producir reacciones hemolíticas inmediatas muy graves y reacciones retardadas. Por el contrario, raramente producen EHRN.<sup>10</sup>

Los individuos con fenotipo nulo, Jk(a-b-), desarrollan un anti-Jk<sup>3</sup> cuando se inmunizan, y también pueden pro-

ducir reacciones hemolíticas inmediatas y retardadas.

### Sistema MMS

#### Genes y antígenos

Los genes *GYP A* y *GYP B* están íntimamente relacionados en el cromosoma 4 y codifican para las glicoforinas respectivas GPA y GPB. Ambas son sialoglicoproteínas de un solo paso y en ellas se expresan los antígenos M y N (GPA) y Ss (GPB), respectivamente <sup>1-5</sup> (Tabla 19). Las bases moleculares de este sistema son muy complejas. El gen *GYP A* tiene varias posiciones polimórficas

**Tabla 19.** Fenotipos y frecuencias en el sistema MMS.

Reacciones con anti-					Frecuencia (%)	
M	N	S	s	Fenotipo	Raza Blanca	Raza Negra
+	0			M+N-	28	26
+	+			M+N+	50	44
0	+			M-N+	22	30
		+	0	S+s-	11	3
		+	+	S+s+	44	28
		0	+	S-s+	45	69

que según la secuencia nucleotídica determinan la expresión del antígeno M o N. Concretamente, el alelo que codifica para el antígeno N presenta los siguientes cambios respecto al alelo M: 59C>T; 71G>A; 72T>G. En cuanto al gen *GYPB*, presenta una única posición polimórfica que distingue los alelos *S* y *s* (143C>T).

La complejidad de este sistema radica en que los genes que codifican para estas dos proteínas son altamente homólogos, lo que favorece los fenómenos de recombinación entre ambos y la formación de numerosos alelos híbridos. Algunos antígenos de baja incidencia, pero clínicamente significativos, son precisamente fruto de estas recombinaciones, como el antígeno Mur, cuya frecuencia en algunas poblaciones orientales llega a ser de un 10%.

El antígeno U se encuentra en los hematíes de todos los individuos de raza caucásica y en el 99% de los de raza negra. Los individuos U negativo son, con pocas excepciones, S-s- y carecen de la GPB, o poseen una GPB alterada.

### Anticuerpos

Anti-M es un aloanticuerpo relativamente frecuente que puede ser de clase IgM o IgG. En algunos casos puede resultar reactivo a 37 °C y potencialmente podría ocasionar una reacción transfusional hemolítica. Excepcionalmente puede causar EHRN.

Anti-N es muy poco común y carece de trascendencia clínica.

Anti-S y anti-s son habitualmente de clase IgG y ambos pueden ocasionar reacciones hemolíticas y EHRN.

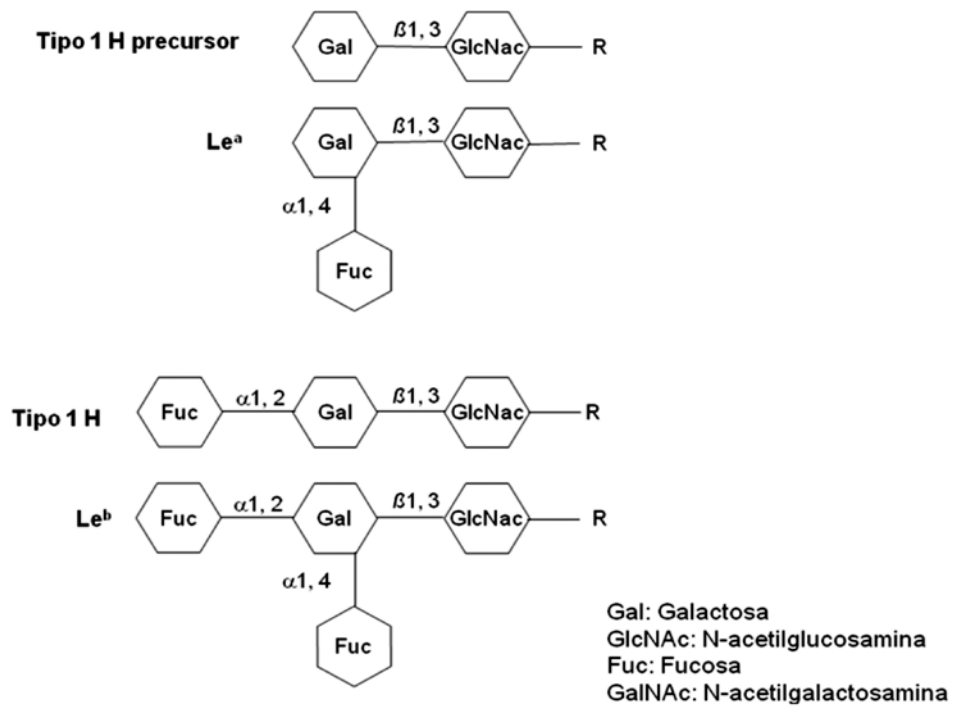
Anti-U es muy poco común y habitualmente contiene la fracción IgG1. Se

han descrito casos de reacciones transfusionales hemolíticas fatales y de EHRN grave debidos a este anticuerpo.<sup>10</sup>

### Sistema Lewis

Está constituido por los antígenos Le<sup>a</sup> y Le<sup>b</sup>. Como en el caso de los antígenos ABH, estos tampoco son productos alélicos. El gen *FUT3* produce una enzima fucosiltransferasa que cataliza la unión de fucosa a un disacárido precursor que puede coincidir con precursor del que también deriva el antígeno H (precursor tipo 1H), lo que da lugar al antígeno Le<sup>a</sup>, o bien al precursor que representa el propio antígeno H (tipo 1H) y dar lugar al antígeno Le<sup>b</sup> (Figura 10). Existen 4 posibles fenotipos<sup>1-5</sup> (Tabla 20):

1. Le(a+b-). Sólo presente en los individuos ABH no secretores. El gen *FUT2* es inactivo, por lo que sólo existe precursor tipo 1H y sólo antígeno Le<sup>a</sup> acabará incorporándose a la membrana del hematíe.
2. Le(a-b+). Sólo en individuos ABH secretores. La mayor parte de la estructura correspondiente al precursor tipo 1H se convierte en el tipo 1H en las secreciones mediante la enzima fucosiltransferasa codificada por el gen *FUT2*, por lo que predominantemente detectaremos Le<sup>b</sup> y muy poco Le<sup>a</sup>, y sólo Le<sup>b</sup> se detectará sobre los hematíes.
3. Le(a+b+). Sólo detectable en individuos ABH secretores con un gen *FUT2* débil. La cantidad de precursor tipo 1H convertido a tipo 1H es menor que en el caso anterior, por lo que la presencia de ambos antígenos en las secreciones es abundante y



**Figura 10.** Representación del antígeno Le<sup>a</sup> y su precursor Tipo 1H, y de Le<sup>b</sup> y su precursor, Tipo 1H.

**Tabla 20.** Fenotipos y genotipos del sistema Lewis

Fenotipo	Genotipo		Frecuencias aproximadas (%)		
	Lewis (FUT3)	Secretor (FUT2)	Caucásicos	Afro-amer.	Chinos
Le(a+b-)	Le/Le Le/le	se/se	22	20	0
Le(a-b+)	Le/Le Le/le	Se/Se Se/se	72	55	62
Le(a+b+)	Le/Le Le/le	Se <sup>w</sup> /Se <sup>w</sup> Se <sup>w</sup> /se	0	0	27
Le(a-b-)	le/le	Ninguno	6	25	11

pueden detectarse sobre los hematíes.

- Le(a-b-). Independientemente del tipo ABH secretor, los hematíes Le(a-b-) carecen de antígenos Lewis debido a la homocigocidad de las mutaciones responsables de la inactivación del gen *FUT3* que com-

porta la no producción de transferasas.

Los anticuerpos anti-Lewis sólo son producidos por los individuos de fenotipo Le(a-b-), y no suelen ser clínicamente significativos porque raramente reaccionan a 37 °C.



## Otros grupos sanguíneos

### Sistema Lutheran

Originalmente fue descrito como un sistema con un “locus” y dos alelos,  $Lu^a$  y  $Lu^b$ , el cual daría lugar a las combinaciones fenotípicas habituales (Tabla 21). La base molecular de estos dos antígenos antitéticos es un cambio nucleotídico (230G→A) en la secuencia del gen *LU*, que comporta a su vez un cambio de aminoácido (Arg77His). La frecuencia génica del alelo que codifica para el antígeno  $Lu^a$  es de 0,035, y la

del alelo que codifica para  $Lu^b$ , de 0,96, por lo que este último se considera un antígeno de alta frecuencia.<sup>1-5</sup>

El mayor interés del sistema Lutheran radica en el fenotipo  $Lu(a-b-)$ , también conocido como  $In(Lu)$ . Este fenotipo, heredado con carácter dominante, se ha asociado durante mucho tiempo a un gen inhibidor (*In*) que inhibía al mismo tiempo el sistema P, el antígeno i y el sistema Auberger. Hoy en día se conoce que la causa del fenotipo  $Lu(a-b-)$  son mutaciones en el gen que codifica para el factor EKLK (erythroid Krüppel-

**Tabla 21.** Relación de fenotipos y frecuencia en los sistemas Lutheran (*Lu*), Cartwright (*Yt*), Colton (*Co*), Dombrock (*Do*)

Sistemas	Reacciones con anti-		Fenotipo	Frecuencia (%) Raza blanca
	$Lu^a$	$Lu^b$		
Lu				
	+	0	$Lu(a+b-)$	0.15
	+	+	$Lu(a+b+)$	7.5
	0	+	$Lu(a-b+)$	92.35
	0	0	$Lu(a-b-)$	Muy raro
Yt				
	+	0	$Yt(a+b-)$	91.9
	+	+	$Yt(a+b+)$	7.9
	0	+	$Yt(a-b+)$	0.2
Co				
	+	+	$Co(a+b-)$	89.3
	+	+	$Co(a+b+)$	10.4
	0	+	$Co(a-b+)$	0.3
Do				
	+	0	$Do(a+b-)$	17.2
	+	+	$Do(a+b+)$	49.5
	0	+	$Do(a-b+)$	33.3

like factor), un factor de transcripción que resulta crítico para la expresión de diversos genes en los eritrocitos.

Los antígenos del sistema Lutheran no están bien desarrollados en el momento de nacer.

El anti-Lu<sup>a</sup> es poco común y, muy raramente, clínicamente significativo. Por el contrario, anti-Lu<sup>b</sup> puede ocasionar hemólisis intravascular.

### Sistema Cartwright (Yt)

Los antígenos Yt<sup>a</sup> y Yt<sup>b</sup> (His353Asn) se expresan en una enzima acetilcolinesterasa que se une a la membrana eritrocitaria a través de una molécula GPI<sup>1-5</sup> (Tabla 21). Se han descrito algunos ejemplos de anti-Yt<sup>a</sup> con capacidad para producir reacción hemolítica, pero en general no son clínicamente significativos.

### Sistema Colton

El antígeno Co<sup>a</sup> (Ala45) es un antígeno de alta incidencia, y Co<sup>b</sup> (Val145) es su antitético con una frecuencia en caucásicos del 8%, y algo inferior en otras etnias (Tabla 21). Se expresan en una proteína transportadora de agua (Aqua-porina 1 o CHIP-1).<sup>1-5</sup> Los anticuerpos de especificidad anti-Co<sup>a</sup> y el más raro, anti-Co<sup>b</sup>, han estado implicados en reacciones hemolíticas graves y EHRN. Anti-Co3 es el anticuerpo producido por los individuos de fenotipo Colton nulo.

### Sistema Dombrock

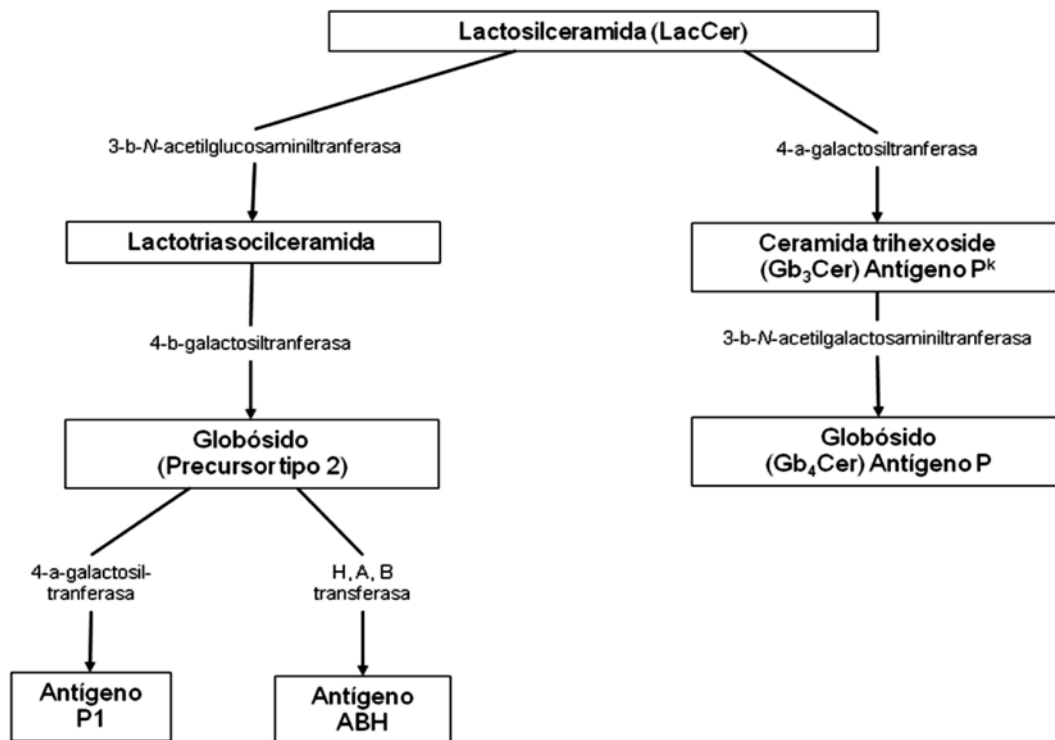
Este sistema incluye los antígenos Do<sup>a</sup> y Do<sup>b</sup> (Asn265Asp), así como los antígenos de alta incidencia Gy<sup>a</sup>, Hy y Jo<sup>a</sup> (Tabla 21). Anti-Gy<sup>a</sup> es el anticuerpo

característico producido por los individuos de fenotipo Dombrock nulo. Los anticuerpos anti-Do<sup>a</sup> y anti-Do<sup>b</sup> han ocasionado reacciones transfusionales hemolíticas. La estructura de la proteína Dombrock es propia de una ADP-ribosiltransferasa.<sup>1-5</sup>

### Sistema GLOB y Sistema P1P<sup>k</sup>

El antígeno P (GLOB1), que originalmente formaba parte de la colección Globósido junto con los antígenos P<sup>k</sup> y LKE, pasó a constituir el sistema GLOB cuando, en 2002, se establecieron sus bases moleculares.<sup>1-5</sup> Recientemente,<sup>27</sup> también se han descrito las bases moleculares del antígeno P1 que han puesto de manifiesto su estrecha relación con el antígeno P<sup>k</sup>. Esta observación ha hecho que el antígeno P<sup>k</sup> haya pasado a formar parte del mismo sistema que el antígeno P1, ahora denominado sistema P1P<sup>k</sup> (anteriormente, sistema P). Por su parte, el antígeno LKE permanece en la colección Globósido. En la Figura 11 se resume la relación entre los sistemas GLOB, P1P<sup>k</sup> y ABH.

El antígeno P está considerado de alta incidencia en todas las poblaciones estudiadas. El significado clínico de los anticuerpos anti-P es incierto, aunque se han relacionado con reacciones transfusionales, algunas de ellas de carácter grave, y EHRN de perfil moderado. Por su parte, el antígeno P1 está presente en aproximadamente un 80% de individuos de raza caucásica. La mayoría de anticuerpos anti-P1 no aglutinan los hematíes por encima de los 25 °C, por lo que no se consideran clínicamente significativos.<sup>10</sup>



**Figura 11.** Relación entre los sistemas GLOB, P<sub>1</sub>P<sub>k</sub> y ABH.

Relacionado con estos sistemas se encuentra el fenotipo p, que resulta de la ausencia de los antígenos P, P<sub>1</sub> y P<sup>k</sup>. Estos individuos cuando se inmunizan desarrollan un potente anticuerpo conocido como anti-PP1P<sup>k</sup>, anteriormente anti-Tj<sup>a</sup>.

## Sistema Diego

Los 21 antígenos del sistema Diego se localizan en la proteína Banda 3, o AE1, término empleado para denominar la proteína que actúa como intercambiador de aniones en los hematíes. Está considerada una de las glicoproteínas mayores de la membrana, con un número de copias por hematíe muy elevado, del orden de 10<sup>6</sup>. Tiene, como mínimo, dos funciones: la del intercambio de aniones y el transporte de

CO<sub>2</sub> y como elemento de sostén, fundamental en la estructura de la membrana al anclarla al citoesqueleto.<sup>1-5</sup> Probablemente, algunos tetrámeros de la Banda 3 forman parte del macrocomplejo Rh de proteínas de membrana.

El antígeno Di<sup>a</sup> (Leu854) es muy poco frecuente en europeos y africanos, pero alcanza una frecuencia de un 5% en chinos y japoneses, y una incidencia alta en nativos del norte y sur de América, del orden de un 54% en indios brasileños. Di<sup>b</sup> (Pro854) es un antígeno de alta incidencia en prácticamente todas las poblaciones.

Anti-Di<sup>a</sup> y anti-Di<sup>b</sup> son habitualmente de clase IgG1 más IgG3. Anti-Di<sup>a</sup> puede ocasionalmente fijar complemento. En pacientes politransfundidos de Brasil se detecta hasta en un 3.6%, y puede ocasionar EHRN grave. Anti-Di<sup>b</sup>

también puede, ocasionalmente, producir EHRN.<sup>10</sup>

Wr<sup>a</sup> (Lys658) es un antígeno de baja frecuencia, antitético de Wr<sup>b</sup> (Glu658) que es de alta incidencia. Los anticuerpos anti-Wr<sup>a</sup> son relativamente frecuentes, mayoritariamente de clase IgG1, pero en ocasiones pueden ser de clase IgM, o IgM más IgG. Puede producir EHRN grave y reacciones transfusionales hemolíticas. Anti-Wr<sup>b</sup> es raro, y su significado clínico no se conoce bien; sin embargo, como autoanticuerpo es relativamente común y puede estar implicado en la anemia hemolítica autoinmune.

Los 17 antígenos restantes son todos de baja frecuencia.

### Sistema Xg

El antígeno Xg<sup>a</sup> está codificado por *XG*, un gen ligado al cromosoma X que tiene una frecuencia del 66% en hombres y de 89% en mujeres. Anti-Xg<sup>a</sup> no es clínicamente significativo.<sup>1-5,10</sup>

### Sistema Scianna

Está constituido por siete antígenos localizados en una proteína de adhesión de la membrana eritrocitaria (ERMAP), y todos ellos son de muy alta o de muy baja frecuencia. Los anticuerpos anti-Scianna no se han relacionado, hasta el momento, con reacciones transfusionales ni EHRN.<sup>1-5,10</sup>

### Sistema Landsteiner-Wiener

LW<sup>a</sup> y LW<sup>b</sup> (Gln70arg) son un par de antígenos antitéticos, de alta y baja frecuencia, respectivamente. Anti-LW<sup>ab</sup> reacciona con todos los hematíes, excepto con los de fenotipo LW nulo y

Rh<sub>null</sub> que también son LW(a-b-). Los anticuerpos anti-LW no son en general clínicamente significativos. La glicoproteína LW, también llamada molécula de adhesión intercelular 4 (ICAM-4), es una molécula de adhesión perteneciente a la superfamilia de inmunoglobulinas.<sup>1-5,10</sup>

### Sistema Chido/Rodgers

Los nueve antígenos Chido/Rodgers no son verdaderos antígenos eritrocitarios porque no son producidos por las células eritroides. Se localizan en el cuarto componente del Complemento (C4), presente originalmente en el plasma, pero que se acaba uniendo a los hematíes.<sup>1-5,10</sup> Los anticuerpos anti Chido no son clínicamente significativos.

### Sistema Gerbich

Está constituido por tres antígenos de muy alta incidencia y cinco de muy baja incidencia que residen en sialoglicoproteínas de las glicoforinas C (GPC) y D(GPD), o en ambas. Anti-Ge<sup>3</sup> ha producido EHRN.<sup>1-5,10</sup>

### Sistema Cromer

Está constituido por once antígenos de alta incidencia y tres de baja frecuencia, y residen en una glicoproteína reguladora del complemento (DAF o CD55). Los anticuerpos anti-Cromer no son por lo común clínicamente significativos.<sup>1-5,10</sup>

### Sistema Knops

Los siete antígenos Knops se localizan en una glicoproteína reguladora de Complemento, el receptor-1 (CR1 o

CD35). Los anticuerpos anti-Knops no son clínicamente significativos.<sup>1-5,10</sup>

## Sistema Indian

Está formado por un antígeno de baja frecuencia, In<sup>a</sup> (Arg46), y su antitético In<sup>b</sup> (Pro46), más dos antígenos de alta incidencia. Estos antígenos se localizan en la proteína CD44, una proteína capaz de desempeñar múltiples funciones y que se une al ácido hialurónico de la matriz extracelular. Los anticuerpos anti-Indian no se consideran, habitualmente, clínicamente significativos.<sup>1-5,10</sup>

## Sistema I

El antígeno I es el único antígeno incluido en este sistema. El producto del gen *I* (*GCNT2*) es una enzima ( $\beta$ 1,6-N-acetilglucosaminil-transferasa) que cataliza la unión de N-acetilactosamina y forma cadenas de polilactosaminas. Las cadenas lineales no ramificadas expresan antígeno i. Los hematíes de los recién nacidos son I negativo y expresan intensamente antígeno i. La unión de las nuevas cadenas comporta el debilitamiento del antígeno i y un incremento de la expresión de I que alcanza su máxima expresión entre los seis y los dieciocho meses de vida. Algunos individuos, muy poco comunes, homocigotos para diversas mutaciones inactivadoras del gen *GCNT2*, nunca convierten i en I y muestran un fenotipo i que suele conducir a la producción de un aloanti-I.<sup>1-5</sup> Estos anticuerpos suelen ser de clase IgM y no acostumbran reaccionar a 37 °C. En el este asiático el fenotipo i suele asociarse a cataratas congénitas, pero no es el caso de los

caucásicos. Esto se debe a que las mutaciones de *GCNT2* en los individuos de fenotipo i se producen en transcritos de mRNA que expresan los tejidos hematopoyéticos y epiteliales responsables del correcto funcionamiento del cristalino, mientras que en los caucásicos las mutaciones sólo se dan en los transcritos del tejido hematopoyético.

Algunos autoanticuerpos anti-I muy potentes pueden resultar hemolíticos y causar el síndrome de aglutininas frías. Los anticuerpos con especificidad anti-i acostumbran ser autoanticuerpos que a menudo se detectan en pacientes con mononucleosis infecciosa.<sup>10</sup>

Anti-i es el único antígeno de una de las colecciones de grupos sanguíneos. (Colección 207). No es parte del sistema I porque su biosíntesis no está regulada por el gen *GCNT2* y no ha sido definido por un aloanticuerpo.

## Antígenos no pertenecientes a ningún sistema de grupo sanguíneo

Se trata de un grupo de antígenos de alta o baja incidencia que no han podido adscribirse a ninguno de los 30 sistemas de grupo sanguíneo bien definidos<sup>6,7</sup> (Tablas 2-4).

Entre los anticuerpos dirigidos contra antígenos de alta incidencia cabe señalar a anti-Vel, anti-Lan y anti-Wj, por haber causado EHRN grave. Anti-Vel resulta especialmente peligroso por tratarse de anticuerpos de clase IgM, fijadores de Complemento, que pueden ocasionar reacciones transfusionales hemolíticas inmediatas de carácter muy grave. Anti-MAM puede producir también EHRN grave.

La mayoría de anticuerpos dirigidos contra antígenos de baja frecuencia no

suelen ser clínicamente significativos, con la excepción de anti-JFV, -Kg, -JONES, -HJK y -REIT que han producido EHRN.

El término Bg se emplea para referirnos a los antígenos HLA de clase I expresados en los hematíes. Bg<sup>a</sup> corresponde a HLA-B7; Bg<sup>b</sup>, a HLA-B17, y Bg<sup>c</sup>, a HLA-A28 (con reacción cruzada con A2). No obstante, algunos individuos no expresan antígenos Bg en sus hematíes aunque expresen sobre linfocitos los correspondientes antígenos HLA. Su papel en las reacciones hemolíticas transfusionales, a pesar de algunas publicaciones que lo apoyan, continúa siendo incierto. El mayor problema reside en que su presencia en las muestras a estudio puede confundir en la interpretación de los resultados al obtenerse reacciones inesperadas en los paneles de identificación de anticuerpos.

## **Función biológica de los grupos sanguíneos**

Cuando hablamos de la función biológica de los grupos sanguíneos, en realidad nos referimos a la función desempeñada por las estructuras de membrana donde se localizan los diferentes grupos sanguíneos eritrocitarios.<sup>24,25</sup> Los grupos sanguíneos, en rea-

lidad, no son más que polimorfismos de estas estructuras y, por el momento, la presencia de uno u otro antígeno no parece incidir directamente, y salvo excepciones, en la función desarrollada por la proteína que lo alberga. Cada función no es patrimonio de una sola proteína y éstas pueden desempeñar múltiples funciones. Entre las funciones que se les atribuyen se encuentran las de: transportadoras de moléculas biológicamente importantes a través de la membrana; receptores de estímulos externos y de células de adhesión; reguladores autólogos del complemento para evitar la destrucción de los hematíes; enzimas; anclaje de la membrana con el citoesqueleto; y contribuyentes a la matriz extracelular de carbohidratos que protegen al hematíe de las lesiones mecánicas y del ataque de microorganismos. En la Tabla 22 se muestra una relación de algunas de las funciones mencionadas por diversas proteínas eritrocitarias.

A pesar del gran avance en nuestros conocimientos en torno a la función biológica de los grupos sanguíneos, todavía nos queda por conocer la razón de la aparición de los diferentes polimorfismos eritrocitarios en el curso de la evolución y su posible relación con diversas enfermedades.

**Tabla 22.** Funciones putativas asignadas a algunas de la proteínas de membrana donde se expresan los grupos sanguíneos eritrocitarios.

Tipo de Función	Grupo sanguíneo	Estructura (producto génico)	Función concreta
Transporte/Canal	Kidd	Proteína múltiples pasos (PMP)	Transporte de urea
	Colton	PMP (CHIP-1)	Transporte de agua
	Drego	PMP (Banda 3)	Intercambio de aniones
Receptores	Duffy	PMP (DARC)	Receptor de quimiocinas/ P.Vivax
	Indian	Proteína paso único (PUP)	(CD44) Receptor Ac. Hialurónico
Complemento	Chido/Rodgers	C4	Componente del C
	Cromer	GPI (DAF)	Regulador del C
	Knops	PUP (CD35 o CR1)	Regulador del C
Adhesión	LW	PUP, superfamilia de las Igs	Se liga a las integrinas, CD11/CD18
	Lutheran	PUP, superfamilia de las Igs	Puede unirse a la laminina
Enzimas	Yt	GPI (acetilcolinesterasa)	Desconocida en los hematíes
	Kell	PUP (endopeptidasa)	¿Metaloproteínasa?
Estructurales	Gerbich	PUP (Glicoforinas C y D)	Anclaje al citoesqueleto

## Referencias

- Issitt PD, Anstee DJ. Applied blood group serology. 4<sup>th</sup> ed. Durhan NC. Montgomery Scientific publications, 1998.
- Reid M, Lomas-Francia C. The Blood Group Antigen Facts Book. 2<sup>nd</sup> ed. Facts Book Series. Elsevier. Academic Press 2004.
- Roback JD, Grossman BJ, Harris T, Hillyer CD. Technical Manual. 17<sup>th</sup> ed. AABB, 2011.
- Daniels G. Human Blood Groups. 2<sup>nd</sup> ed. Blackwell Science, 2002.
- Muñiz-Díaz E, Martín-Vega C. Grupos sanguíneos e inmunohematología. En: "Medicina Interna". Farreras P, Rozman C. 16 ed. Elsevier, 2009: 1819-1827.
- Daniels G, Fletcher A, Garratty G, Henry S, Jorgensen J, Judd WJ et al. Blood group terminology 2004: from the International Society of Blood Transfusion committee on terminology for red cell surface antigens. Vox Sang 2004;87:304-316.
- Storry JR, Castilho L, Daniel G, Flegel WA, Garratty G, Francis CL et al. International Society of Blood Transfusion Working Party on red cell immunogenetics and Blood group terminology: Berlin report. Vox Sang 2011; 101: 77-82.
- Chester AM, Olsson ML. The ABO Blood group gene: a locus of considerable genetic diversity. Transfus Med Rev 2001; 15: 177-200.
- Yamamoto E. review: ABO Blood group system-ABH oligosaccharide antigens, anti-A and anti-B, A and B glycosyltransferases, and ABO genes. Immunohematology 2004; 20: 3-22.
- Klein H, Anstee DJ. Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine. 11th ed. Oxford, Blackwell Science, 2005.
- Avent ND, Reid M. The Rh blood group system: a review. Blood 2000; 95:375-387.
- Avent N. New insight in the Rh system: structure and function. Vox Sanguinis, ISBT Science Series 2007; 2:35-43.
- Colin Y, Chèrf-Zahar B, Le van Kim C, Raynal V, Van Huffel V, Cartron JP. Genetic basis of the RhD-positive and Rh-D negative blood group polymorphism as determined by Southern analysis. Blood 1991; 78: 2742-2752.

14. Flegel W, Wagner F. Molecular biology of partial D and weak D: implications for blood bank practice. *Clin Lab* 2002; 48:53-59.
15. Flegel W. How I manage donors and patients with a weak D phenotype. *Curr Opin Hematol* 2006; 13: 476-483.
16. Flegel W. Homing on D antigen immunogenicity. *Transfusion* 2005;45:466-468.
17. Wagner FF, Gassner C, Müller TH, Schönitzer D, Schunter F, Flegel WA. Molecular basis of weak D phenotypes. *Blood* 1999; 93: 385-393.
18. Okubo Y, Yamaguchi H, Tomita T, Nagao N. A D variant, Del (letter). *Transfusion* 1984; 24: 542.
19. Singleton BK, Green CA, Kimura T, Minami A, Okubo Y, Daniel GL. Two new *RHD* mutations associated with the *DEL* phenotype (abstract). *Transfus Clin Biol* 2001;8 (Suppl 1):9s.
20. Wagner FF, Frohmajer A, Flegel W. *RHD* positive haplotypes in D negative Europeans. *BMC Genet* 2001;2:10.
21. Müller TH, Wagner FF, Trockenbacher A, Eicher NI, Flegel W. PCR screening for common weak D types shows different distributions in three central European populations. *Transfusion* 2001; 41: 45-52.
22. Ansart-Pirenne H, Asso-Bonnet M, Le Pennec P-Y, Roussel M, Patereau C, Noizat-Pirenne F. RHD variants in whites: consequences for checking clinically relevant alleles. *Transfusion* 2004; 44: 1282-1286.
23. Frey BM, Mendez A. Testing for weak D. *Vox Sang* 2006; 90: 150-151.
24. Cartron JP. Groupes sanguins et relation structure-fonction. En: Bases moléculaires des antigènes des groupes sanguins. Cartron JP, Rouger Ph, eds. Masson (Paris) 1998: 473-509.
25. Daniels G. Functional aspects of red cell antigens. *Blood Rev* 1999; 13: 14-35.
26. Tournamille C, Le Van Kim C, Gane P, Cartron JP, Colin Y. Molecular basis and PCR-DNA typing of the *Fya/Fyb* blood group polymorphism. *Hum Genet* 1995; 95: 407-410.
27. Thuresson B, Westman JS, Olsson ML. Identification of a novel *A4GALT* exon reveals the genetic basis of the P1/P2 histo-blood groups. *Blood* 2010;117(2):678-687.



# Inmunología del glóbulo rojo y pruebas pretransfusionales

CLAUDIA FABIANA BASTOS\*

## Introducción

La inmunohematología es el área de la medicina transfusional que estudia los procesos inmunitarios relacionados con las reacciones entre los antígenos de las células sanguíneas y sus respectivos anticuerpos. Nos centraremos aquí en las reacciones entre los antígenos presentes en los glóbulos rojos (GR) y los anticuerpos que se encuentran en el plasma. Uno de los aspectos más importantes a este respecto es el estudio de los grupos sanguíneos, las pruebas de detección e identificación de anticuerpos irregulares y las pruebas de compatibilidad pretransfusional destinadas a prevenir los accidentes hemolíticos relacionados con la transfusión.

Las combinaciones de antígenos y anticuerpos en la serología de grupos

\* *División de Hemoterapia e Inmunohematología. Hospital de Clínicas "José de San Martín". UBA. Argentina.*

sanguíneos se ponen en evidencia mediante aglutinación o hemólisis.

La aglutinación es la formación de agregados visibles producto de la unión de los anticuerpos a los determinantes antigénicos presentes en la superficie de los GR adyacentes y es el punto final de la mayoría de las pruebas de grupos sanguíneos.

La hemólisis es la destrucción de los GR con la consiguiente liberación de la hemoglobina, lo que produce un sobrenadante rosado o rojo. Ciertos anticuerpos de grupos sanguíneos, denominados hemolisinas, producen la lisis de los GR a expensas del complemento, por lo cual, la lisis puede no evidenciarse si se utiliza suero sin complemento o plasma anticoagulado con quelantes de calcio o magnesio, ya que son necesarios para su activación. La hemólisis debe ser interpretada como un resultado positivo.

Desde 1945,<sup>1-3</sup> muchos inmunohematólogos han buscado métodos para mejorar las reacciones antígeno-anticuerpo, ya sea para detectar anticuerpos que son normalmente indetectables, o para hacer más fuertemente visibles las reacciones de aglutinación.

Muchos factores influyen en la dinámica de las reacciones de hemaglutinación.<sup>4-6</sup> Brevemente, la hemaglutinación se lleva a cabo en dos etapas. La primera etapa es la sensibilización, o sea, la unión de moléculas de anticuerpos a determinantes antigénicos sobre la superficie del GR. La segunda etapa es la aglutinación, producida por la presencia de las moléculas de anticuerpos y resulta de las colisiones aleatorias entre GR sensibilizados. Ambas etapas ocurren simultáneamente.

Las reacciones antígeno-anticuerpo son influenciadas por varios factores.

**1. Tamaño del anticuerpo.** La distancia entre dos GR suspendidos en medio salino es de aproximadamente 350 Å. La inmunoglobulina M (IgM) es un pentámero con un diámetro aproximado de 300 Å; en cambio, las moléculas de IgG por ser monoméricas, cubren una distancia de 140 Å.

Las reacciones antígeno-anticuerpo que conducen a la aglutinación de los GR pueden producirse espontáneamente en medio salino cuando están involucradas las moléculas de IgM (por ejemplo, anti-A); en cambio, las moléculas de IgG requieren de una reducción de la distancia entre las células, de la carga neta negativa o de la formación de un puente de unión entre las moléculas de IgG que sensibilizan los GR al unirse a los antígenos correspondientes mediante el agregado de suero antiglobulina humana (SAGH) o suero de Coombs.

**2. Repulsión eléctrica entre los glóbulos rojos.** Los GR suspendidos en solución fisiológica tienen una carga eléctrica negativa en su superficie que hace que las células se repelan entre sí y atraigan iones de sodio cargados positivamente (cationes), lo que resulta en una nube iónica alrededor de cada GR. Algunos de estos cationes viajan como una configuración constante alrededor de cada GR y se convierten en parte de la unidad cinética de la célula. Esta nube de carga positiva provoca una reducción en la carga neta negativa de la célula; en consecuencia, las células se repelen entre sí y son inca-

paces de aproximarse más estrechamente.

El borde de la nube de cationes se conoce como el plano de deslizamiento o de corte; este límite teórico separa los cationes que se mueven con la célula de los que no lo hacen. El potencial zeta es una medida (en mV) de la carga neta ejercida por la célula en el límite de corte (que difiere según el tipo de medio en el que las células se suspenden). Por lo tanto, el potencial zeta está directamente relacionado con la repulsión electrostática entre las células. Existen varios métodos para reducir esta carga.

3. **Efecto del número de moléculas de anticuerpo.** Para que la aglutinación ocurra es indispensable la presencia de un número de moléculas de anticuerpo por GR. Economidou<sup>7</sup> encontró que se requieren alrededor de 7000 moléculas de IgM anti-A por GR para que la aglutinación se produzca.
4. **El número de sitios antigénicos.** Aunque muchos de los anticuerpos IgG humanos son incapaces de aglutinar GR suspendidos en medio salino, hay algunas excepciones, sobre todo las IgG anti-A y anti-B. Probablemente esto se debe a la cantidad de sitios antigénicos A y B en la membrana celular (100 veces más que el número de sitios de Rh).<sup>8</sup>
5. **Proyección de la membrana celular.** El grado en que un antígeno se proyecta más allá de la membrana celular también puede influir en la aglutinación. Se cree que algunos antígenos sobresalen de la superficie celular y otros están profundamente

ocultos en ella, lo que dificulta la accesibilidad del anticuerpo.

6. **La proximidad de los sitios de anti-génicos.** La aglutinación es influenciada por la proximidad de los sitios antigénicos en la membrana del GR, aunque esta variable dependerá del número de sitios antigénicos por célula, del grado en que los sitios se presentan agrupados normalmente, y del grado en que los antígenos son capaces de formar conglomerados después de combinarse con el anticuerpo. Aunque está probado que la movilidad del antígeno puede ser un requisito previo para la hemaglutinación mediada por anticuerpos, esto no parece ser absoluto.
7. **Efecto de “dosis”.** El número de sitios antigénicos en la membrana del GR puede afectar la fuerza de una reacción antígeno-anticuerpo. En algunos casos, la cantidad de antígeno presente en el GR es directamente proporcional al genotipo del individuo, es decir, que la superficie de la célula de aquellos que han heredado un solo alelo en un determinado locus contiene una “doble dosis” del correspondiente antígeno. Las células que expresan los antígenos como heterocigotas provienen de individuos que heredan dos diferentes alelos en un locus. Estos alelos comparten los sitios antigénicos disponibles en la superficie celular; por ejemplo, los GR M-positivos de un individuo homocigoto para esa característica, de genotipo MM, poseen mucho más antígeno M que los de un individuo heterocigoto MN. La diferencia en la fuerza de reacción relacionada con la cantidad de antígeno presente en

el GR se conoce como “efecto dosis”. Los anticuerpos del sistema Rh, sobre todo anti-C, anti-c y anti-E, Kidd, y Duffy, pueden mostrar un marcado efecto de dosis.<sup>9</sup> Es importante tener en cuenta esta condición, ya que algunos ejemplos de anticuerpos pueden reaccionar solo con las células homocigotas, lo que provoca errores en la interpretación de los resultados de las pruebas de compatibilidad pretransfusionales, con el riesgo de transfundir GR incompatibles.

- 8. Efecto de las enzimas.** El uso de enzimas en la serología de grupos sanguíneos fue descrito por primera vez por Pickles en 1946.<sup>10</sup> La carga de la superficie del GR se debe a la presencia de una glicoproteína de membrana denominada ácido siálico, más precisamente al grupo carboxilo de dicha proteína. El tratamiento de los glóbulos rojos con enzimas proteolíticas (por ejemplo, tripsina, ficina, bromelina o papaína) libera un sialomucopéptido que contiene ácido N-acetilneuramínico (un ácido siálico), lo que resulta en una reducción de la carga neta negativa de la superficie celular y, por lo tanto, del potencial zeta; esto permite que las células se aproximen entre sí.<sup>11-12</sup> Se ha postulado que el tratamiento con proteasas puede promover el contacto célula-célula y permitir que los anticuerpos IgG de grupos sanguíneos aglutinen en medio salino, simplemente por la reducción de la distancia entre las células. Si bien este contacto se confirmó mediante estudios de microscopía electrónica,<sup>13</sup> no es la única causa. Se ha sugerido que los cambios en la de-

formabilidad y la plasticidad de la membrana celular tratada con enzimas pueden variar la accesibilidad y la distribución de los determinantes antigénicos.<sup>14-15</sup> El tratamiento con enzimas aumenta la movilidad del antígeno Rh y permite que se aproximen, lo cual mejora la aglutinación debido a la formación de múltiples puentes entre dos sitios adyacentes.

- 9. Efecto de los coloides.** Los anticuerpos que son incapaces de aglutinar glóbulos rojos en medio salino pueden hacerlo si son suspendidos en albúmina bovina o coloides sintéticos (por ejemplo, dextrans). En 1965, Pollack<sup>16-17</sup> propuso que el efecto potenciador de estos coloides se debe al aumento de la constante dieléctrica del medio, lo que reduce el potencial zeta, aunque esto quizá no sea la única causa. Estudios posteriores sugieren que el efecto puede deberse a la absorción reversible de los polímeros sobre la superficie de los glóbulos rojos que produce un puente entre las estructuras celulares adyacentes. También podría intervenir la influencia osmótica y causar ya sea la deformación de la membrana celular, la disminución del potencial químico del agua intercelular, o ambos. Se cree que la albúmina bovina absorbe iones del medio circundante.

- 10. Efecto de la fuerza iónica.** La tasa de asociación del anticuerpo aumenta con la disminución de la fuerza iónica del medio. Se ha demostrado que el título de la mayoría de los anticuerpos de grupo sanguíneo aumenta si el suero se diluye en un medio de baja fuerza iónica (0,2%

de NaCl en 7% de glucosa) en lugar de solución salina normal.<sup>18</sup>

**11. Efecto del pH.** La mayoría de los anticuerpos de grupo sanguíneo muestran una actividad óptima a pH 6,5 y 7,5. Fuera de este rango, las reacciones antígeno-anticuerpo pueden disminuir o fallar por completo; con la excepción de algunos ejemplos de anti-M, que reaccionan mejor a pH ácido inferior a 6,5.<sup>19</sup>

**12. Efecto de la temperatura.** Los anticuerpos de grupo sanguíneo reaccionan en un rango térmico determinado que habitualmente se divide en dos categorías: anticuerpos reactivos en “frío”, generalmente IgM, que actúan de 4 °C a 22 °C y los reactivos en “caliente”, por lo común IgG, que lo hacen de 30 °C a 37 °C. En general, los anticuerpos que reaccionan a 37 °C *in vitro* son considerados clínicamente significativos, ya que pueden producir hemólisis *in vivo* de los GR incompatibles transfundidos. Sin embargo, la temperatura de reacción antígeno-anticuerpo se vincula con el tipo de reacción y la naturaleza química de los antígenos: los proteicos se relacionan con anticuerpos calientes y los anticuerpos fríos se relacionan con los antígenos formados por hidratos de carbono.

Los cambios de temperatura en el medio circundante pueden afectar la constante de equilibrio, la tasa de asociación antígeno-anticuerpo, o ambos.

Debido a que las reacciones antígeno-anticuerpo se acompañan de la absorción o liberación de calor, se

puede calcular un valor  $\Delta H^\circ$ , lo que representa una medida del cambio en la temperatura durante la reacción para las diferentes especificidades de los anticuerpos. Este valor  $\Delta H^\circ$  normalmente se expresa como un parámetro negativo. Si el valor de  $\Delta H^\circ$  es cercano a cero (como es el caso con los anticuerpos calientes), la constante de equilibrio no es afectada por los cambios de temperatura. La velocidad de reacción, sin embargo, aumenta con la elevación de la temperatura debido a un aumento en el movimiento browniano. Por otro lado, si el  $\Delta H^\circ$  tiene un valor negativo significativo (como es el caso con anticuerpos fríos), disminuye la temperatura, mejora la constante de equilibrio y se reduce la velocidad de la reacción.

Los anticuerpos y antígenos hidrocarbonatados se unen mediante puentes de hidrógeno; son reacciones exotérmicas que prefieren temperaturas bajas. La unión a los antígenos proteicos por su parte, se produce a través de enlaces hidrófobos que prefieren temperatura de 37 °C. Los efectos de las variaciones térmicas sobre la constante de equilibrio de los anticuerpos calientes son escasos o nulos; lo que se modifica es la velocidad o tasa de reacción. Es posible que los anticuerpos calientes puedan ser detectados aun si la incubación se realiza por debajo de 37 °C, pero para que esto se produzca es necesario prolongar el tiempo de incubación.

Los cambios térmicos afectan mucho las reacciones por anticuerpos fríos, ya que el aumento de la tem-

peratura lleva a la disociación de los complejos antígeno-anticuerpo.<sup>20-21</sup>

**13. Efecto de la centrifugación.** Algunos anticuerpos IgG que no aglutinan GR suspendidos en solución salina en condiciones normales pueden hacerlo si las mezclas se centrifugan. En la mayoría de los casos, sin embargo, esta mejora sólo es evidente cuando las células se suspenden en solución salina y la fuerza centrífuga es lo suficientemente alta.<sup>22-23</sup>

**14. Efecto del tiempo.** El tiempo de incubación de un sistema salino puede afectar la asociación antígeno-anticuerpo. Si el tiempo de incubación es demasiado corto, las reacciones serán generalmente más débiles, pero si el tiempo de incubación se prolonga, la velocidad de disociación de los complejos antígeno-anticuerpo puede superar la tasa de asociación.

## Detección de anticuerpos

La detección de anticuerpos irregulares es una prueba habitual que se utiliza en las siguientes situaciones:

- Como parte de las pruebas pretransfusionales en todos los receptores. Los estándares de la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) requieren el uso de un panel para detectar anticuerpos clínicamente significativos.<sup>24</sup> El método recomendado y utilizado universalmente es la prueba de antiglobulina indirecta.
- Como prueba habitual en todas las pacientes obstétricas, con el fin de evaluar el riesgo de enfermedad he-

molítica fetoneonatal y la necesidad de realizar la profilaxis con inmunoglobulina anti-D.<sup>25</sup>

- En todos los donantes de sangre y hemocomponentes, y en todos los donantes de células progenitoras hematopoyéticas.

Si bien el porcentaje de la población en la cual se detectan anticuerpos irregulares es pequeño (entre 0,2% y 2%),<sup>26-28</sup> la importancia clínica relacionada con su presencia en ciertas poblaciones requieren un análisis más cuidadoso.

El método utilizado para la detección de anticuerpos irregulares se basa en la prueba de antiglobulina indirecta, descrita por Coombs, Mourant y Race en 1945.<sup>1</sup>

## Técnica en tubo

### Método

En este método el suero o plasma del paciente se enfrenta a un panel de glóbulos rojos. En esta prueba se puede agregar una fase de lectura inmediata para detectar anticuerpos que reaccionan a la temperatura ambiente, aunque esto puede conducir a la detección de anticuerpos fríos sin relevancia clínica. La prueba debe incluir una fase de incubación a 37 °C, cuyo objetivo es permitir que las moléculas de inmunoglobulina G (IgG) se fijen a los glóbulos rojos portadores de los antígenos correspondientes. Esta fase de captación de IgG se denomina de sensibilización y la tasa de fijación del anticuerpo puede ser aumentada utilizando diferentes medios potenciadores.

Según el medio utilizado, los tubos deben ser centrifugados para poder ob-

servar la presencia de hemólisis o aglutinación, considerada como el punto final visible de la interacción antígeno-anticuerpo. Una vez finalizada la incubación se procederá a retirar cuidadosamente el tubo de la centrífuga a fin de evitar la resuspensión del botón de glóbulos rojos. La presencia de complejos antígeno-anticuerpo puede ocasionar hemólisis o aglutinación; por lo tanto, se debe observar el sobrenadante en busca de hemoglobina libre y luego resuspender suavemente el botón globular para observar la aglutinación. La manera como se resuspende el botón afecta la detección de la aglutinación; por lo tanto, deberá agitarse con suavidad manteniendo un ángulo que permita que el líquido atraviese el botón celular, ya que una agitación en extremo vigorosa puede dispersar aglutinaciones débiles o romper aglutinatos grandes. La intensidad de la reacción se determina cuando todas las células han sido resuspendidas. El grado o intensidad de la reacción se clasifica en una escala que va desde negativo (0) en ausencia de aglutinación; débil o *weak* (d o w), cuando es apenas visible a simple vista hasta 4<sup>+</sup> cuando se observa un único aglutinato. A continuación los tubos deben ser lavados al menos tres veces con solución salina de cloruro de sodio antes de agregar el suero antiglobulina humano (SAGH) o suero de Coombs a cada tubo. Los anticuerpos presentes en el SAGH reconocen moléculas de IgG (ya sean libres o unidas a los antígenos) o fracciones del complemento y crean un puente entre los eritrocitos sensibilizados, lo cual resulta en la aglutinación observable. La finalidad de los lavados previos al agregado del

SAGH es eliminar todo el anticuerpo libre que pueda neutralizar el suero que se añade. Luego del agregado del SAGH se debe realizar la lectura en busca de aglutinación (que puede ser observada macroscópicamente o microscópicamente) o hemólisis, que en este caso se visualiza como la pérdida del botón globular. Si no hay anticuerpos que sensibilicen los eritrocitos, no habrá aglutinación.

Todas las pruebas negativas deberán ser confirmadas mediante la adición de control de Coombs.

## Reactivos globulares

Los glóbulos rojos que conforman el panel selector utilizado para la detección de anticuerpos provienen de personas de grupos O (para evitar que interfieran los anticuerpos naturales ABO), tipificados para los antígenos hacia los cuales se observan con mayor frecuencia los anticuerpos clínicamente relevantes.

Las células se encuentran suspendidas en una solución conservante, que mantiene los antígenos y evita la hemólisis, en una concentración del 2% al 5%.

Cada lote de panel está compuesto por dos o tres frascos de suspensiones globulares de donantes únicos, combinados de manera tal que al menos una célula exprese uno de los siguientes antígenos: D, C, c, E, e, K, k, Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup>, JK<sup>a</sup>, Jk<sup>b</sup>, Le<sup>a</sup>, Le<sup>b</sup>, P<sub>1</sub>, M, N, S, y s. Cada lote de panel se acompaña por una hoja que detalla el perfil antigénico presente en cada célula. Estos perfiles son específicos para cada lote, por lo cual no se deben intercambiar.

Para permitir la detección de anticuerpos que muestran “efecto de dosis”, un panel ideal debe contener la mayor cantidad de células que expresen los antígenos como homocigotos. Como ciertos anticuerpos, por ejemplo los del sistema Kidd, suelen reaccionar con mayor intensidad o lo hacen exclusivamente cuando se los enfrenta a una célula homocigota, es preferible realizar la detección de anticuerpos debido a que si la unidad elegida es heterocigota para el antígeno correspondiente, el anticuerpo puede no ser detectado si solo se realiza la prueba de compatibilidad, y llevar a transfundir una unidad incompatible.

## Medios potenciadores

Varios reactivos potenciadores pueden ser agregados a la mezcla de suero y glóbulos rojos antes de la fase de incubación a 37 °C para aumentar la sensibilidad de la prueba y permitir a su vez acortar el tiempo de incubación.

**Albúmina:** En una solución electrolítica, los eritrocitos cargados negativamente están rodeados por cationes, que a su vez están rodeados por aniones, lo que produce una nube iónica alrededor de cada GR y los mantiene separados. La diferencia de potencial eléctrico entre la superficie de los glóbulos rojos y la capa externa de la nube iónica se llama potencial zeta. La albúmina dispersa las cargas al reducir dicho potencial, permitiendo así que los glóbulos rojos se acerquen entre sí, lo cual aumenta la posibilidad de aglutinación. Si bien se utilizó durante años como medio potenciador, no actúa durante la primera

etapa de la hemaglutinación. Su uso en la actualidad es limitado.

**Solución de baja fuerza iónica:** LISS es una solución tamponada que contiene glicina, albúmina y una mínima cantidad de sales. Además de reducir el potencial zeta, aumenta la tasa de captación de anticuerpos durante la fase de sensibilización; esto incrementa la posibilidad de aglutinación y reduce el tiempo de incubación necesario para la detección de anticuerpos.<sup>29-30</sup> Aunque fue utilizado por mucho tiempo en pruebas automatizadas de grupos sanguíneos,<sup>31</sup> en un principio hubo renuencia para adoptarlo en el método manual debido a los resultados falsos positivos.<sup>32</sup> Estos resultados indeseados prácticamente desaparecieron con el uso de soluciones LISS 0,03 M en las pruebas habituales de detección de anticuerpos y de compatibilidad.<sup>33</sup> La solución de LISS puede ser utilizada de dos maneras: como medio para realizar la suspensión globular o como aditivo.

El mecanismo de acción del LISS se basa en la capacidad de disminuir la fuerza iónica del medio. Si las moléculas orgánicas tienen cargas opuestas, entonces la atracción será rápida; en cambio si tienen igual carga se repelen y disminuye la velocidad de reacción.<sup>34</sup> Por ejemplo, si un antígeno en la superficie del GR contiene un grupo carboxilo cargado negativamente, y el sitio de combinación del anticuerpo contiene un grupo amino cargado positivamente, estas cargas opuestas se atraen y producen un aumento de la velocidad de reacción antígeno-anticuerpo. Si los GR se encuentran suspendidos en medio salino, los iones sodio se acumulan alrededor de la carga negativa del anti-



geno y los iones cloruro formarán una nube alrededor de la carga positiva del anticuerpo, neutralizándolos parcialmente. Si los iones son removidos, las cargas positivas y negativas quedan expuestas, lo cual acelera la tasa de asociación entre los anticuerpos y el antígeno y aumenta el valor de la constante de equilibrio.

La reducción de la fuerza iónica produce no solo un aumento de la tasa de asociación de los anticuerpos sino también una disminución de la tasa de disociación, y también favorece la absorción cuantitativa de anticuerpos de baja afinidad.<sup>35</sup> Si se utiliza LISS para evaluar un anticuerpo con una constante de equilibrio alta, el aumento del 70% al 90% de la cantidad de anticuerpo unido, apenas será detectable en fase SAGH, mientras que si el anticuerpo en cuestión tiene una constante de equilibrio baja, el aumento del 5% al 90% causará un incremento considerable de la fuerza de aglutinación en la fase antiglobulínica.

Se han reportado algunos ejemplos de anti-K que no han sido detectados. A fin de soslayar este inconveniente, se describieron modificaciones de la prueba LISS-SAGH que se traducen en el aumento de la reactividad de los anticuerpos del sistema mediante el incremento de la relación suero-GR manteniendo constante la fuerza iónica.<sup>36-37</sup>

**Polietilenglicol (PEG):** El PEG en una solución LISS elimina el agua del sistema de prueba, lo cual concentra los anticuerpos presentes y aumenta de esta manera el grado de sensibilización de los GR. El PEG puede causar agregación no específica de los GR, por lo que no se debe centrifugar luego de la

incubación a 37 °C. Generalmente, los sistemas de ensayo de PEG son más sensibles que el LISS o los sistemas salinos. Sin embargo, en pacientes con niveles elevados de proteínas plasmáticas, como en el mieloma múltiple, no se aconseja su uso debido a que el PEG tiende a incrementar la precipitación de proteínas. Cuando se utiliza PEG el SAGH utilizado debe ser monoespecífico anti-IgG.<sup>38-41</sup>

**Prueba de policaciones en baja fuerza iónica:** Rosenfield<sup>42</sup> describió esta prueba utilizando sulfato de protamina, mientras que el uso de polybrene (bromuro de hexadimetrina) fue descrito por Lee, Ho<sup>43</sup> y Lelasari y Jiang.<sup>44</sup> Esta prueba fue utilizada inicialmente para procedimientos automatizados y requiere tres etapas. Primero se incuba el suero con los GR en LISS para inducir la sensibilización,<sup>45</sup> y luego se agrega el policación para producir la agregación de los GR por alteración de las cargas de superficie. Si el anticuerpo está presente podrá formar puente entre los GR durante esta fase. Por último se añade una sustancia desagregante, como heparina o citrato de sodio, a fin de revertir el efecto del policación. Después de la centrifugación solo permanecerá la aglutinación producida por el anticuerpo presente. Puede utilizarse SAGH, previo lavado del sistema tres veces en solución salina. Este método ha demostrado gran sensibilidad para la detección de anticuerpos de los sistemas Rh, Kidd y Duffy, no así para los anticuerpos del sistema Kell. El agregado de la fase antiglobulina ha mostrado aumentar la reactividad de dichos anticuerpos.

## Suero antiglobulina humana (SAGH)

El agregado de suero antiglobulina humana produce la aglutinación de los GR sensibilizados por anticuerpos incompletos. Las normas de la AABB prescriben que el SAGH debe tener actividad anti-IgG cuando se utiliza para la detección de anticuerpos y las pruebas de compatibilidad pretransfusionales.<sup>46</sup> El SAGH poliespecífico contiene anticuerpos anti-IgG y anticomplemento, ya sea C3 y C4 o C3b y C3d. De todos, es más deseable la presencia de anti-C3d en el reactivo, ya que es la fracción más abundante en la superficie del GR durante la activación del complemento, lo que da lugar a un menor número de reacciones falso positivo.<sup>47</sup> La presencia de anticomplemento en el suero de Coombs puede producir la detección de anticuerpos sin significado clínico, por lo cual muchos laboratorios eligen utilizar reactivo SAGH monoespecífico anti-IgG, con el fin de evitar la demora en la selección de sangre para transfusión debido al estudio de dichos anticuerpos. Existen sólo algunos ejemplos de anti-Jk<sup>a</sup> clínicamente significativos, dependientes de complemento para su detección.<sup>48-49</sup>

Siempre que se obtenga un resultado negativo luego de la lectura en la fase de SAGH es necesario colocar una gota de Control de Coombs (CC), a fin de verificar que la falta de reacción se debe a la ausencia de anticuerpos y no a errores de la técnica. El CC es una suspensión del 2% al 5% de GR Rh positivo sensibilizados con Anti-D. Estas células recubiertas de anticuerpos deben aglutinar cuando se añaden a la

prueba negativa debido a la presencia de anti-IgG en el reactivo SAGH. Si los lavados son insuficientes, si se omite colocar el reactivo o este no funciona adecuadamente, las células del CC no se aglutinan, lo cual indica que la prueba debe ser repetida.

La prueba en tubo sigue siendo la más popular debido a la flexibilidad del sistema, el uso de equipamiento de laboratorio comúnmente disponible, y el costo relativamente bajo. Sus desventajas son inestabilidad de las reacciones, la subjetividad de la lectura, el tiempo para realizar la prueba y los problemas relacionados con el fracaso de la fase de lavado para eliminar todo el anticuerpo no unido.

## Técnica en gel

La detección de anticuerpos también puede realizarse utilizando una técnica en gel de Sefadex.<sup>50</sup> Estos sistemas comerciales suelen emplear tarjetas o tiras de microtubos que permiten realizar varias pruebas simultáneas. Las células del panel detector usadas para esta técnica cumplen con los mismos criterios que las utilizadas en la prueba en tubo, salvo que la suspensión celular se realiza en LISS a una concentración de 0,8%. Con esta técnica el suero o plasma del paciente y las células del panel se colocan en la cámara de reacción que se encuentra en la parte superior de la columna. La tarjeta se incuba a 37° C entre 15 minutos y una hora, para permitir que se produzca la sensibilización; luego se centrifuga durante 10 minutos. En este tiempo, los glóbulos rojos son forzados a salir de la cámara de reacción y atravesar la columna de

gel que contiene SAGH anti-IgG. Si la sensibilización ha ocurrido durante la fase de incubación, el SAGH reacciona con las células recubiertas de anticuerpo, resultando en la aglutinación. Las células aglutinadas quedarán atrapadas dentro del gel, ya que los aglutinados son demasiado grandes para pasar a través de los espacios entre sus partículas. Si no se produjo aglutinación, las células formarán un botón en la parte inferior del microtubo.

El uso de la técnica gel tiene numerosas ventajas: Es tan sensible como la prueba en tubo con PEG,<sup>51-53</sup> acorta el tiempo de la prueba, ya que no es necesario realizar los lavados previos al agregado de SAGH ni usar CC; las reacciones son estables hasta por 24 horas, y puede ser capturada electrónicamente, lo que permite tanto la estandarización de la gradación de la lectura como la revisión por un supervisor.

Una de las mayores ventajas de este método es la posibilidad de automatizar el pipeteado y la lectura, lo que permite estandarizarla. Su desventaja es que necesita incubadoras y centrífugas diseñadas especialmente para colocar las tarjetas de gel. Si bien existen en el mercado otros métodos para realizar las pruebas, como la técnica en fase sólida, su uso no se ha generalizado en nuestro medio.

## Interpretación

Independientemente del método utilizado, la aglutinación o hemólisis en cualquier etapa de la prueba se interpreta como un resultado positivo, lo que indica la necesidad de identificar la especificidad de los anticuerpos. Sin

embargo, la evaluación de los resultados de la prueba de detección (y del control autólogo, si se realiza en este momento) puede proporcionar pistas y orientarnos a la hora de resolver la identificación. Una herramienta eficaz es responder a las siguientes preguntas:

1. ¿En qué fase ocurrió la reacción? Los anticuerpos de tipo IgM se ponen en evidencia luego de la lectura inmediata a temperatura ambiente, ya que este tipo de anticuerpos tienen la capacidad de aglutinar glóbulos rojos suspendidos en solución salina y reaccionar a baja temperatura. Los anticuerpos de la clase IgG reaccionan mejor en la fase antiglobulina. De los anticuerpos que se encuentran comúnmente, con frecuencia los anti-N, anti-I y anti-P<sub>1</sub> son IgM; los dirigidos contra los antígenos Rh, Kell, Kidd y Duffy son generalmente IgG, mientras que los anticuerpos Lewis y M pueden ser IgG, IgM, o una mezcla de ambos.
2. ¿Cuál es el resultado del control autólogo? El control autólogo se realiza enfrentando los glóbulos rojos del paciente con su propio suero de la misma manera que la detección de anticuerpos. Si el resultado de la detección de anticuerpos es positivo y el control autólogo negativo, estamos en presencia de un aloanticuerpo. En cambio, si el resultado del control autólogo fuese positivo, esto puede indicar la presencia de autoanticuerpos o anticuerpos antidrogas. Si el paciente ha sido recientemente transfundido, el control autólogo positivo puede deberse a un aloanticuerpo que reacciona con los GR circulantes provenientes del

donante. El estudio de muestras que presentan autocontrol o prueba de antiglobulina directa positiva es una tarea compleja que exige experiencia al investigador y puede demandar gran cantidad de tiempo para su resolución. El autocontrol puede ser omitido durante las pruebas de detección de anticuerpos e incluirse solo cuando se realiza la identificación.

3. ¿Cuántas células reaccionan? Y si es así, ¿reaccionan con la misma intensidad y en la misma fase? Cuando un paciente es portador de un anticuerpo único, las reacciones positivas y negativas son definidas y responden a un patrón antigénico neto. En cambio, cuando hay más de un anticuerpo, es posible observar que varias células reaccionan en diferentes fases y con diferente intensidad.
4. ¿Se observa hemólisis o campo mixto? Se ha descrito que ciertos anticuerpos, tales como anti-Le<sup>a</sup>, anti-Le<sup>b</sup>, anti-PP<sub>1</sub>P<sup>k</sup> y anti-Vel, causan hemólisis *in vitro* y que los anticuerpos anti-Sd<sup>a</sup> y -Lutheran se asocian con reacciones de campo mixto.
5. ¿Realmente se encuentran aglutinados los glóbulos rojos o se observa fenómeno de *Rouleaux*? El uso de expansores plasmáticos de alto peso molecular (por ejemplo, dextrán) o la alteración en la relación albúmina-globulina producida en ciertas entidades como el mieloma múltiple, puede producir agregación no específica de los glóbulos rojos, fenómeno conocido como de *Rouleaux*. Este fenómeno se observa en aquellas reacciones que involucran suero del paciente (incluido el con-

trol autólogo y la prueba inversa de grupo ABO).

La observación microscópica revela la formación de “pilas de monedas”.<sup>54</sup> Este fenómeno no interfiere con la fase antiglobulínica de la prueba, ya que el suero del paciente es removido durante los lavados previos al agregado de SAGH, y a diferencia de la aglutinación, el agregado de 1 a 3 gotas de solución fisiológica puede dispersarlo.

## Limitaciones

Los reactivos y métodos utilizados en la prueba están diseñados para detectar la mayor cantidad de anticuerpos clínicamente significativos pero no aquellos que no lo son. Cuando se utilizan paneles de tres tubos, un resultado negativo con las tres células produce un 95% de certeza sobre la ausencia de anticuerpos clínicamente significativos. Sin embargo la prueba tiene limitaciones. Cuando el título de anticuerpos se encuentre por debajo del límite inferior de sensibilidad de la prueba, aunque esté presente en el suero no podrá ser detectado. Un estudio que revisó los anticuerpos detectados en un periodo de veinte años mostró que el 26% de los casos se hacen indetectables en aproximadamente siete meses.<sup>55</sup>

Otra limitación se relaciona con la presencia de anticuerpos dirigidos contra los antígenos de baja frecuencia, que pueden no estar presentes en las células que conforman el panel.

Existen, además, varios factores que pueden influir en la sensibilidad del método, ya que diversas variables

determinan la velocidad y el grado de adsorción de anticuerpos:

*Proporción suero-células:* Los resultados falsos negativos de las pruebas de detección pueden deberse a un desequilibrio en la relación suero-glóbulos. Si hay un exceso de anticuerpos en el sistema puede ser por efecto de prozona, y si el antígeno se encuentra en exceso puede ser debido a postzona. La cantidad de anticuerpos adsorbidos por el GR alcanza el máximo cuando la relación suero:GR es de aproximadamente 1000:1,<sup>56</sup> aunque en condiciones normales la relación es mucho menor. Una relación de dos gotas de suero a una gota de suspensión globular normalmente asegura el equilibrio adecuado entre el antígeno y el anticuerpo para permitir la sensibilización de los glóbulos rojos y su posterior aglutinación. Esta proporción suero:GR varía entre 19:1 a 70:1.<sup>57</sup> En ocasiones, cuando un anticuerpo es débil, la cantidad de suero en el sistema de prueba se puede incrementar a cuatro gotas, lo cual proporciona más anticuerpos para reaccionar con los antígenos disponibles 130:1. Esto no debe hacerse cuando se utilizan medios potenciadores en la prueba.

*Temperatura:* La temperatura óptima en la que un anticuerpo reacciona puede ser una herramienta para la detección e identificación. Las pruebas cruzadas de compatibilidad pretransfusionales buscan anticuerpos clínicamente significativos, que generalmente reaccionan a 37 °C o en SAGH. La lectura a temperatura ambiente puede ser omitida a fin de evitar la detección de anticuerpos fríos sin significado clínico.<sup>58</sup>

*Tiempo de incubación:* Las reacciones antígeno-anticuerpo se encuentran

en un equilibrio dinámico que se alcanza en un tiempo determinado que depende de la concentración de antígeno y anticuerpo, del tipo de inmunoglobulina y de la configuración antigénica y el sitio de unión Fab de los anticuerpos. Si el tiempo de contacto es demasiado corto, no habrá suficiente cantidad de células sensibilizadas. Si, por el contrario, los tiempos de incubación se alargan demasiado, el anticuerpo unido puede comenzar a disociarse de la célula. De acuerdo con el trabajo publicado por Hughes-Jones en 1962,<sup>59</sup> la absorción máxima de anticuerpos se logra después de cuatro horas; el 40% de esta cantidad, después de 15 minutos; el 87%, después de una hora y el 99% después de dos horas. El tiempo de incubación dependerá del medio en el cual se realiza la prueba. Si se hace en medio salino, es necesario incubar el sistema durante 30 a 60 minutos; en cambio, si se utilizan medios potenciadores, como por ejemplo LISS, el tiempo de incubación será de tan solo 10 minutos.

*pH:* La mayoría de los anticuerpos reaccionan mejor a un pH neutro, entre 6,8 y 7,2. Sin embargo, algunos ejemplos de anti-M muestran una mejor reactividad a un pH de 6.5. La acidificación del sistema de prueba puede ayudar a distinguir anti-M de otros anticuerpos.

## Identificación de anticuerpos

Una vez que un anticuerpo ha sido detectado, es necesario realizar pruebas adicionales para identificarlo y determinar su significado clínico. El método utilizado para la identificación debe ser tan sensible como el de la de-

tección. Para realizar la correcta interpretación de los resultados obtenidos es necesario conocer ciertos datos de la historia del paciente y seguir una serie de pasos que aseguren la correcta identificación.

### Historia del paciente

La información relativa a la edad del paciente, el sexo, la raza, el diagnóstico, historia de transfusiones y embarazos previos, los medicamentos y soluciones endovenosas utilizados, son datos valiosos que nos pueden proporcionar pistas que ayuden a la identificación de anticuerpos. La raza del paciente puede ser de gran valor, ya que algunos anticuerpos aparecen en una etnia en particular, debido a las diferencias en la frecuencia de aparición de antígenos eritrocitarios. Por ejemplo, el anti-U se asocia con las personas de ascendencia africana; anti-Di<sup>a</sup> con pueblos originarios americanos.

La exposición a GR, ya sea por transfusiones o embarazos previos, aumenta la probabilidad de producir anticuerpos inmunes; por lo tanto, en pacientes sin estos antecedentes debemos sospechar de la presencia de anticuerpos de origen natural (por ejemplo, anti-H, Le<sup>b</sup>). La infusión de medicamentos hemoderivados de plasma humano, como la gamaglobulina polivalente endovenosa, la gamaglobulina hiperinmune anti-D y la gamaglobulina antilinfocítica puede transferir anticuerpos pasivamente: anti-A y anti-B, anti-D y anticuerpos antiespecie, respectivamente, y dar lugar a la presencia en el suero de un anticuerpo inesperado que probable-

mente nos confunda a la hora de interpretar los resultados.

La historia clínica del paciente es especialmente importante cuando el control autólogo o la prueba de anti-globulina directa (PAD) son positivos, ya que ciertos trastornos autoinmunes o infecciosos se asocian con la producción de autoanticuerpos eritrocitarios, y la administración de ciertos medicamentos puede causar PAD positiva. Por otra parte, si el paciente ha sido transfundido en los últimos tres meses, el resultado positivo de la PAD puede indicar una reacción hemolítica/serológica postransfusional tardía. Este antecedente transfusional debe ser tenido en cuenta también al realizar la tipificación antigénica, ya que las reacciones positivas pueden ser causadas por la presencia de glóbulos rojos de los donantes en la circulación del paciente. Estas reacciones generalmente son de campo mixto, evidencian la presencia de más de una población eritrocitaria y dependen de la cantidad de glóbulos rojos transfundidos.

### Reactivos

Un panel utilizado para la identificación de anticuerpos es una colección de 11 a 20 suspensiones globulares de individuos de grupo O, tipificados para varios antígenos diferentes. El patrón de expresión de los antígenos debe ser lo suficientemente diferente como para permitir distinguir una especificidad de otra y debe incluir células con expresión homocigótica para los antígenos Rh, Duffy, Kidd y MNSs. Cada lote de panel debe contar con una hoja en que se especifique el perfil antigénico de cada célula y la presencia de células raras (es decir, que son

positivas para antígenos de baja frecuencia y negativas para antígenos de alta frecuencia) y con un espacio para registrar las reacciones obtenidas. De la misma forma que con las células del panel detector, la hoja es específica de cada lote y no debe ser intercambiada con la de otro panel.

### Evaluación de los resultados del panel

Cuando se interpreta el resultado del panel es necesario seguir una serie de pautas para asegurar la correcta identificación de los anticuerpos presentes. Utilizaremos los resultados del panel a fin de graficar la explicación.

	Rh					Kell		Duffy		Kidd		Lewis		P	MNSs				Lutheran		Xg	TA	SAG	CC		
	D	C	E	c	e	Cw	K	k	Fya	Fyb	Jka	Jkb	Lea	Leb	P1	M	N	S	s	Lua	Lub	Xga			Li	10'
1	+	+	0	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	0	2+		
2	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	+	0	0	0	+	+	0	+	0	0	+	+	0	0	3+	
3	+	0	+	+	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	3+	
4	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	0	0	3+	
5	0	+	0	+	+	0	0	+	0	0	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	0	0	0	3+	
6	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	2+	
7	0	0	0	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	2+	
8	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	0	0	3+	
9	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	3+	
10	0	0	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	0	0	3+	
11	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	0	0	3+	
Auto																							0	0	0	3+

### Exclusión

Es el primer paso del método y consiste en examinar las células que dieron una reacción negativa en todas las fases de la prueba y proceder a excluir aquellos anticuerpos que no podrían ser responsables de la reactividad. Los antígenos presentes en las células que no reaccionaron, probablemente no sean el blanco del anticuerpo. A fin de evitar la exclusión de un anticuerpo débil que pueda mostrar efecto de dosis, solo deberán ser excluidas definitivamente las células homocigotas, con la excepción de antígenos de baja frecuencia, que rara vez se expresan como tales, como por ejemplo K, Kp<sup>a</sup>, Js<sup>a</sup> y Lu<sup>a</sup>.

En nuestro ejemplo, la reacción negativa con la célula 2 nos permite

excluir las siguientes especificidades: D, C, e, Cw, K, Fy<sup>b</sup>, Jk<sup>a</sup>, P<sub>1</sub>, M, S, Lu<sup>b</sup> y Xg<sup>a</sup>; con la célula 5 excluimos C, c (ambas como heterocigotas), e, k, Jk<sup>b</sup>, P<sub>1</sub>, Le<sup>b</sup>, M, S y s (ambas como heterocigotas), Lua y Lub. La célula 8 excluye c, e, k, Fy<sup>b</sup>, Jk<sup>a</sup>, Le<sup>a</sup>, P<sub>1</sub>, M y N (ambas como heterocigotas), S, Lu<sup>a</sup> y Lu<sup>b</sup>. Por último, la célula 9 excluye C, c (ambas como heterocigotas), E, e (ambas como heterocigotas), k, Fy<sup>b</sup>, Jk<sup>a</sup>, Le<sup>b</sup>, P<sub>1</sub>, N, s, Lu<sup>b</sup> y Xg<sup>a</sup>. De esta manera quedan no excluidos anti-Fy<sup>a</sup> y anti-E, este último debido a que la única célula que lo excluye es heterocigota.

### Inclusión

Después de realizar la exclusión se deberá evaluar el perfil que forman los

antígenos restantes y cotejar estos resultados con los diferentes patrones de reactividad que permitirán definir la especificidad de los anticuerpos. La evaluación de los resultados debe ser llevada a cabo utilizando un método que nos asegure definir todas las especificidades involucradas y evitar la omisión de ciertos anticuerpos que pueden ser enmascarados por la presencia de otros. Podemos plantear un método lógico basado en una serie de preguntas cuya respuesta nos permita avanzar paso a paso hacia la correcta e inequívoca identificación de los anticuerpos.

1. ¿En qué fase y con que intensidad ocurrieron las reacciones? La fuerza con la cual reaccionan los anticuerpos no es indicativa de su importancia, sino de la cantidad disponible para participar en la reacción. Las reacciones de mayor intensidad pueden obedecer a alguna de las siguientes causas:

Efecto de dosis: mayor reactividad con células con expresión homocigota para el antígeno (debemos evaluar si la no exclusión del anti-E se debe a este efecto).

Que una célula posea más de un antígeno diana, y por lo tanto reaccionará con mayor intensidad que aquella célula que solo posee un antígeno diana (la célula 3 del ejemplo).

Antígenos de expresión variable, por ejemplo I, P<sub>1</sub>, Le<sup>a</sup>, Le<sup>b</sup>, Vel, Ch / Rg, y Sd<sup>a</sup> se expresan con más fuerza en algunas células que en otras lo que produce la variabilidad en la reacción de los anticuerpos.

2. ¿Todas las células reaccionan en una misma fase, o en fases diferentes o múltiples? La presencia de más de

un anticuerpo puede evidenciarse si algunas células reaccionan en una fase y otras células diferentes, en otra. También el efecto de dosis puede evidenciarse por la reacción más temprana con las células homocigotas, por ejemplo, antes del agregado de SAGH.

La fase en la cual reaccionan los anticuerpos puede ser de utilidad para establecer su importancia clínica, ya que en general los anticuerpos IgM no son clínicamente significativos y reaccionan más a menudo en la lectura inmediata a temperatura ambiente o más fría. En cambio, los anticuerpos IgG considerados clínicamente significativos, se detectan con mayor frecuencia durante la fase de SAGH. Algunos anticuerpos IgG potentes, tales como anti-D, -E y -K, pueden llegar a evidenciarse luego de la fase de incubación, previo al agregado de SAGH.

3. ¿La reactividad del suero coincide con alguna de las especificidades no excluidas? Cuando está presente un solo aloanticuerpo, el patrón de reactividad obtenido generalmente coincide exactamente con la clave de una especificidad determinada. En nuestro ejemplo, la reactividad del suero se adapta perfectamente a la clave del Fya. El suero dio resultados positivos uniformes con todas las células Fy<sup>a</sup> positivas (células 1, 3, 4, 6, 7, 10 y 11), y los resultados negativos con todas las células Fy<sup>a</sup> negativas (células 2, 5, 8 y 9).

La variación en la intensidad de reacción en la fase SAGH se debe al efecto dosis ya que todas las células que reaccionan 2+ son heterocigotas para Fy<sup>a</sup>,



mientras que las células homocigotas reaccionan con una intensidad de 3+.

4. ¿Han sido excluidos todos los anticuerpos encontrados comúnmente? En este caso no se ha podido descartar la presencia de anti-E, ya que la única célula que descarta su presencia es heterocigota y por lo tanto no es la mejor opción. Debería probarse el suero con una célula E + e-Fya – que, en caso de arrojar un resultado negativo, excluiría anti-E. También se podría probar el suero con las mismas células tratadas con enzimas.
5. ¿Cuál es el resultado del control autólogo? El resultado negativo del autocontrol en este ejemplo indica que las reacciones positivas son causadas por aloanticuerpos. La presencia de autoanticuerpos que complican la identificación se pone de manifiesto por el resultado positivo del autocontrol.
6. ¿Hay evidencia suficiente para demostrar la presencia del anticuerpo que se sospecha? La identificación concluyente requiere de una cantidad suficiente de muestras positivas y negativas para el antígeno en cuestión a fin de asegurar que el patrón de reactividad observado no es el resultado de la casualidad. Para ello es necesario probar el suero del paciente con al menos tres células negativas y tres positivas para el antígeno y calcular la probabilidad mediante el método exacto de Fischer. Este método compara el número de reacciones positivas y negativas en relación con las células que expresan el antígeno correspondiente o carecen de él. El valor de  $p$  obtenido es una

medida estadística de la probabilidad de que un determinado conjunto de hechos ocurran por azar. Para considerar como válido el resultado de la identificación, el valor de  $p$  deberá ser menor o igual que 0.05, lo que significa que existe 1 en 20 posibilidades de que el patrón observado se produjo por razones distintas a un anticuerpo específico que reacciona con su antígeno correspondiente. Dicho de otro modo, significa que la interpretación de los datos será correcta el 95 por ciento del tiempo. Cuando estén presentes múltiples anticuerpos, la regla deberá ser aplicada para cada especificidad. El uso de células adicionales será necesario cuando el número de células portadoras y carentes del antígeno correspondiente presentes en el panel sea insuficiente.

7. ¿Cuál es el fenotipo del paciente para el sistema en cuestión? Como premisa básica, solo es posible sintetizar aloanticuerpos hacia antígenos que están ausentes en la membrana del GR; por lo tanto, el último paso en los estudios de identificación es poner a prueba los eritrocitos del paciente para el antígeno correspondiente. La tipificación negativa indica que los resultados de la identificación son correctos; en cambio, la presencia del antígeno probablemente se explica por la identificación errónea del anticuerpo o la presencia de resultados falsos positivos. La tipificación del antígeno también es útil en la resolución de casos complejos, ya que elimina muchas posibilidades. Por ejemplo, un individuo cuyo fenotipo

tipo extendido sea  $R_1R_1$ , K (K-k+) Fy (a-b+), Jk(a+b+), M + N + S + S + sólo podría formar anti-c, anti-E, anti-K, o anti-Fy<sup>a</sup>. Si bien no es práctico realizar este procedimiento habitualmente, puede ser útil especialmente en pacientes con enfermedad de células falciformes o talasemia, ya que reciben transfusiones de forma crónica y están en riesgo de aloinmunización.

En caso que el paciente tenga una PAD positiva, el uso de reactivos para tipificación que emplean la prueba de antiglobulina indirecta (PAI) puede producir resultados falsos positivos debido a la detección de IgG que recubre las células o por bloqueo de los sitios antigénicos a expensas del anticuerpo, lo que impide la reacción con el suero hemotipificador. En estos casos será necesario eluir el anticuerpo utilizando difosfato de cloroquina y glicina ácida/EDTA, a fin de conservar la membrana del GR intacta para la posterior tipificación. Si el anticuerpo resiste la elución se deberá realizar técnicas de consumo de anticuerpo.

Los pacientes transfundidos recientemente representan un desafío distinto, ya que es común encontrar reacciones de campo mixto durante la fenotipificación. En estos pacientes, las células del donante que estimulan la formación de anticuerpos reaccionan con el suero hemotipificador, mientras que las células autólogas del paciente pueden no reaccionar. Por lo tanto, será necesario realizar la tipificación de los reticulocitos a fin de interpretar correctamente los resultados. La técnica para aislar reticulocitos es bastante sencilla y solo requiere el uso

de una centrifuga de microhematocrito. Debido a que los reticulocitos son menos densos que los GR maduros, pueden ser recuperados de la parte superior de la capa de GR a fin de ser usados para la tipificación, que podrá realizarse con cualquier método, ya sea tubo, microtipificación en gel o fase sólida.

La citometría de flujo ha sido utilizada para detectar pequeñas cantidades de antígenos, y también es posible utilizar técnicas de reacción en cadena de polimerasa.<sup>60</sup>

### Técnicas adicionales para resolver la identificación de anticuerpos

En ciertas ocasiones es posible que con una primera identificación no pueda determinarse la especificidad debido, por ejemplo, a la presencia de más de un anticuerpo. En estos casos es necesario realizar pruebas adicionales.

#### *Selección de células adicionales*

Quizás la técnica más sencilla sea probar células adicionales. Las células seleccionadas deben tener la mínima superposición posible de los antígenos sospechados. En nuestro ejemplo, los resultados del panel inicial han dejado sin excluir anti-E y anti-Fy<sup>a</sup>. Si se seleccionan células que porten solo uno de los antígenos mencionados, es decir, E+ Fy<sup>a-</sup> y E- Fy<sup>a+</sup>, y ambas células reaccionaran, confirmaría la presencia de anti-E y anti-Fy<sup>a</sup>.

También es de utilidad seleccionar células cuando un paciente tiene un anticuerpo conocido y se está tratando de determinar si hay anticuerpos adicionales presentes.

### *Enzimas*

Cuando existen múltiples anticuerpos presentes en una muestra, el tratamiento de los GR con enzimas puede ayudar a separar las especificidades y permitir la identificación. Al modificar la superficie de los GR mediante la eliminación de residuos de ácido siálico, desnaturalización o eliminación de glicoproteínas, se destruyen ciertos antígenos y mejora la expresión de los demás.

Existen dos métodos diferentes para utilizar las enzimas: un método de un solo paso de prueba, en el cual se coloca el suero en estudio, los GR de prueba y las enzimas; y un segundo método, más sensible, utiliza GR tratados con enzimas previo al agregado del suero.

Una condición importante a la hora de comparar los resultados del panel con enzimas y sin enzimas es utilizar las mismas células tratadas y sin tratar, a fin de que el único parámetro que se compare sea el efecto de las enzimas sobre los antígenos y no las diferencias que puedan existir entre una y otra célula. Debido a que las enzimas pueden destruir algunos antígenos, la técnica de exclusión no puede ser utilizada teniendo en cuenta solo los resultados obtenidos en este medio.

Las diferencias en las reacciones obtenidas con GR tratados es de gran ayuda en la identificación puesto que algunos anticuerpos que fallan en aglutinar GR no tratados pueden reaccionar con células “enzimatizadas”, mientras que otros anticuerpos pueden no reaccionar con GR tratados ya que los antígenos blanco se han desnaturalizado con dicho tratamiento.

El método enzimas SAGH es particularmente adecuado para la detección de anticuerpos del sistema Kidd <sup>61</sup>

### *Neutralización*

En la naturaleza y en el cuerpo existen otras sustancias que tienen estructuras antigénicas similares a los antígenos de GR. Estas sustancias se pueden utilizar para neutralizar anticuerpos en el suero, lo que permite la separación o confirmación de que un anticuerpo en particular está presente. El suero en estudio se incuba previamente con la sustancia neutralizante, lo que permite que los antígenos solubles en la sustancia se unan al anticuerpo y de esta manera se inhiban las reacciones entre el anticuerpo y los GR del panel al realizar la identificación de anticuerpos. Debe realizarse un control utilizando suero diluido en solución salina o plasma normal inerte, a fin de probar que la pérdida de reactividad se debe a la neutralización y no al efecto de dilución producido por la sustancia añadida. Esta técnica es útil cuando se sospecha la presencia de varios anticuerpos. Algunos de los anticuerpos que pueden ser neutralizados son: anti-P<sub>1</sub> con fluido de quiste hidatídico<sup>62</sup> o clara de huevo de paloma;<sup>63</sup> anti-Lewis y anti-Chido/Rodgers por plasma o suero humano; anti-Sda inhibido por orina y anti-I por leche humana. Existen preparados comerciales de sustancia Lewis y P.

### *Adsorción*

Los anticuerpos pueden ser removidos del suero mediante la adición del antígeno diana, lo que permite que el anticuerpo pueda unirse al antígeno de manera similar a la técnica de neutra-

lización. Típicamente se utilizan GR, pero existen otras sustancias que sirven de soporte del antígeno. Una vez completada la adsorción, el complejo antígeno/anticuerpo precipita y se elimina del sistema de ensayo por centrifugación. El suero absorbido se prueba con el panel identificador.

#### *Reactivos comerciales para la adsorción*

Los anticuerpos anti-Bg pueden ser adsorbidos usando un concentrado de plaquetas humanas, mediante la unión de dichos anticuerpos a los antígenos HLA presentes en las plaquetas<sup>64</sup> dejando otras especificidades en el suero. Los anticuerpos se pueden identificar en el suero adsorbido.

Una función igual con algunos anticuerpos que reaccionan en frío la realiza el estroma de eritrocitos de conejo (RESt en inglés), ya que posee estructuras similares a los antígenos I, H, e IH y también B y P1. El suero del paciente se incuba a 4 °C con RESt para eliminar los anticuerpos fríos no significativos que pueden interferir con la detección de aquellos anticuerpos calientes clínicamente significativos. La mayoría de las otras especificidades de anticuerpos no se verán afectados por la adsorción.<sup>65</sup> El uso de suero absorbido no es recomendable para realizar la inversa de ABO, ya que puede absorber el anti-B.

#### *Autoadsorción*

Cuando un paciente portador de autoanticuerpos requiere una transfusión, la búsqueda de sangre compatible puede ser complicada, ya que el autoanticuerpo puede enmascarar la presencia de aloanticuerpos.<sup>66</sup> En estos pacientes

es necesario remover el autoanticuerpo, y quizás el método más simple para ello sea la adsorción utilizando los GR propios del paciente. Las células autólogas deben ser previamente lavadas para eliminar el anticuerpo no unido y luego tratadas para quitar cualquier capa de autoanticuerpos a las células. Luego se procede a la incubación con su propio suero durante un máximo de una hora a la temperatura adecuada al rango térmico del autoanticuerpo, generalmente a 4 °C para anticuerpos fríos y a 37 °C para autoanticuerpos calientes. Se deberá examinar la muestra para detectar signos de aglutinación durante el período de incubación. Si la aglutinación aparece, implica que todos los sitios de unión de GR se encuentran saturados con autoanticuerpos, por lo tanto el suero debe ser removido y enfrentado a una nueva alícuota de GR autólogos. Este procedimiento puede repetirse varias veces y en ocasiones puede ser imposible eliminar el autoanticuerpo por completo. En esos casos, la disminución de la reactividad del autoanticuerpo puede ser de utilidad para revelar la presencia de aloanticuerpos que se encontraban enmascarados, al enfrentar el suero autoadsorbido a un panel identificador.

#### *Adsorción homóloga y adsorción diferencial*

Existen dos categorías de pacientes en quienes es imposible realizar autoadsorciones: aquellos gravemente anémicos, en los cuales la masa de GR disponibles para efectuar el procedimiento puede ser insuficiente, y quienes han sido recientemente transfundidos, ya que hay en ellos circulación GR del do-

nante que pueden adsorber aloanticuerpos. En estos casos se procederá a efectuar adsorción homóloga o diferencial.

Para la adsorción homóloga es necesario hacer el fenotipo extendido del paciente y seleccionar GR idénticos o al menos carentes de los antígenos hacia los cuales el paciente puede formar los anticuerpos y realizar la adsorción.

Cuando no pueda hacerse la fenotipificación del paciente, ya sea debido a una PAD positiva o a una transfusión reciente, debe realizarse adsorción diferencial. El suero del paciente es enfrentado al menos a tres alícuotas de células diferentes. En general se eligen GR R<sub>1</sub>R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>R<sub>2</sub> y rr; de estas, una debe ser negativa para K; otra negativa para Jk<sup>a</sup>, y la tercera, negativa para las Jk<sup>b</sup>. Las células son tratadas con enzimas para negativizar los antígenos de los sistemas Duffy y MNSs. Después de la adsorción se realiza un panel identificador por separado en cada alícuota y las reactividades son comparadas para revelar la presencia de aloanticuerpos subyacentes.

Este método de adsorción es factible cuando existen múltiples aloanticuerpos con el fin de separar las especificidades. La célula utilizada para adsorber debe ser negativa para el antígeno de una de las especificidades sospechadas pero negativa para las demás. Después de la adsorción, el suero se analiza para ver qué aloanticuerpos adicionales se han desenmascarado.

#### *Prueba de antiglobulina directa y técnicas de elución*

La detección de los anticuerpos que recubren los GR es una herramienta valiosa en la investigación de las reacciones hemolíticas postransfusionales,

la enfermedad hemolítica feto-neonatal y las anemias hemolíticas autoinmunes o provocadas por drogas. La PAD se utiliza para detectar GR sensibilizados *in vivo*. Luego de lavar los GR del paciente para eliminar cualquier anticuerpo libre, se enfrenta una gota de suspensión globular al 3% con dos gotas del reactivo SAGH. Luego de la centrifugación, la presencia de anticuerpos IgG o complemento fijado al GR se pone en evidencia al observar la aglutinación. En caso de resultar la prueba negativa se deberá agregar células de CC a fin de validar el resultado.

Una vez detectada la presencia de anticuerpos IgG, el siguiente paso es separar los anticuerpos de la superficie celular para permitir su identificación. Las técnicas de elución se utilizan para liberar, concentrar y purificar los anticuerpos. Para eliminar el anticuerpo de la membrana del GR se puede cambiar la termodinámica del medio ambiente, cambiar las fuerzas de atracción entre antígeno y anticuerpo, o cambiar la estructura de la superficie del GR. El anticuerpo se libera entonces en una solución conocida como un eluato, el cual podrá ser utilizado como si fuera suero o plasma para enfrentarlo a un panel identificador.

Una elución puede ser total cuando la liberación de los anticuerpos se realiza a expensas de la destrucción de los GR, o parcial cuando los anticuerpos son removidos pero los GR permanecen intactos, ya sea para utilizarlos para realizar autoadsorciones o para fenotipificarlos.

#### **Temperatura**

Es el método más sencillo de elución e implica cambiar la temperatura del

medio ambiente donde se produjo la unión antígeno/anticuerpo. Utilizar calor suave, realizado a 45 °C, permite eliminar anticuerpos y recuperar los GR intactos,<sup>67</sup> mientras que a 56 °C la elución es total y permite la identificación del anticuerpo.<sup>68</sup>

El método de congelación de Lui<sup>69</sup> también produce una elución total. Los métodos de elución dependientes de la temperatura son los más adecuados para detectar anticuerpos IgG dirigidos contra los antígenos del sistema ABO.

### pH

Un método común y relativamente rápido y fácil para detectar anticuerpos diferentes del ABO es el de elución ácida.<sup>70-71</sup> En este método, los GR sensibilizados lavados se mezclan con una solución de glicina ácida a un pH de 3,0. La unión antígeno/anticuerpo se interrumpe, y el anticuerpo se libera en el sobrenadante ácido. Este se recoge en un tubo limpio y se neutraliza el pH para poder realizar el panel identificador. Puede usarse también ácido cítrico y digitonina ácido.

### Los disolventes orgánicos

Para la elución total se han utilizado varios disolventes, entre ellos cloroformo, xileno y éter. Estos disolventes actúan sobre los lípidos en la membrana del GR y reducen la tensión superficial, lo cual revierte las fuerzas de Van der Waal que mantienen unidos los antígenos y anticuerpos.<sup>72-73</sup> Los eluatos obtenidos por estos métodos son muy potentes en comparación con los eluatos dependientes de la temperatura y son los mejores para la detección

de anticuerpos no ABO. Sin embargo, estos procedimientos son lentos, y los productos químicos comportan riesgos para la salud y la seguridad, ya que son cancerígenos e inflamables.

El paso crítico en la preparación de cualquier eluido es el lavado que se realiza para eliminar inmunoglobulinas libres. Si dicho lavado es insuficiente o deficiente, los anticuerpos libres permanecen en el sistema de prueba y contaminan el eluido final, lo que producirá resultados falsos positivos. Por lo tanto, para detectar este error el sobrenadante del último lavado se deberá enfrentar a GR de panel en paralelo con el eluato. La reacción positiva de este control detecta la presencia de anticuerpos libres y por lo tanto invalida el resultado positivo del eluato.

### Titulación de anticuerpos

Una vez identificados los anticuerpos presentes, en ciertas ocasiones es útil cuantificar su cantidad. Si bien las técnicas de citometría de flujo, radioinmunoensayo o enzimoimmunoensayo arrojan resultados más precisos, no están disponibles en todos los laboratorios.

La titulación es un método semicuantitativo que permite determinar la concentración de anticuerpos en muestras de suero. Se deben preparar diluciones seriadas del suero que contiene el anticuerpo y enfrentarlas a una suspensión de GR que posee el antígeno diana. El título se expresa como la inversa de la mayor dilución en la que se observa aglutinación macroscópica de 1+. El *score* de Marsh permite asignar un valor a cada reacción basado en la fuerza de la reactividad, y la puntua-

ción se determina por la suma de los valores individuales.

Se considera significativa la diferencia de dos o más tubos (lo que representa un aumento de cuatro veces) o un aumento de más de 10 puntos del *score*. Siempre se deberá congelar una alícuota de la muestra de suero titulada a fin de confrontarla en forma paralela con nuevas muestras para controlar la variabilidad entre los operadores. Otro punto fundamental a tener en cuenta es la selección de los GR que se utilizarán para la prueba. Siempre se deberá seleccionar GR homocigotos para el antígeno diana. A fin de que la comparación del título sea válida, los sistemas de prueba deben ser lo más idénticos posible. Se deberá utilizar siempre el mismo método, ya que la diferencia de sensibilidad entre el método en tubo y en gel puede llevar a interpretar las diferencias como el aumento del título del anticuerpo cuando en realidad se debe a la mayor sensibilidad del método en gel.<sup>74</sup>

Los estudios de titulación tienen las siguientes aplicaciones prácticas:

- Estudio de embarazadas aloinmunizadas con IgG capaces de causar EHFN. Un aumento en el título de anticuerpos durante el embarazo sugiere que el feto es portador del antígeno diana y por lo tanto corre el riesgo de desarrollar la enfermedad; también puede indicar la necesidad de transfusión intrauterina.
- La presencia de anti-D inmune adquirido pasivamente con la administración de profilaxis anti-D produce títulos que rara vez superan 4.75
- Confirmar la presencia de anticuerpos pertenecientes al grupo, conocidos colectivamente como HTLA

(alto título, baja avidéz). Estos anticuerpos de alta frecuencia producen reacciones débilmente positivas en fase antiglobulínica que persisten a través de diluciones extensas (hasta el 2048).<sup>76</sup> Los ejemplos de estos anticuerpos incluyen anti-Ch, Rg, Cs<sup>a</sup>, Yk<sup>a</sup>, Kn<sup>a</sup>, McCa y JMH. Estos anticuerpos no son por lo general clínicamente significativos, pero pueden enmascarar otros anticuerpos importantes.

- Definir la especificidad relativa de los autoanticuerpos, comparando el título obtenido con GR de fenotipo conocido R1R1, R2R2 y rr.

## Pruebas de compatibilidad pretransfusional

Realizar una prueba de compatibilidad pretransfusional no es solo enfrentar los GR del donante al suero del paciente, sino ejecutar una serie de procedimientos que tienen como objetivo alcanzar la seguridad transfusional al garantizar una tasa de supervivencia aceptable de los GR transfundidos.

La necesidad de la transfusión deberá evaluarse teniendo en cuenta sus beneficios y riesgos potenciales, ya que no siempre puede evitarse la ocurrencia de reacciones adversas asociadas, aun si las pruebas de laboratorio no demuestran incompatibilidad entre el paciente y el donante.

Uno de los pasos más importantes de la seguridad transfusional es la correcta identificación del receptor. La mayor amenaza para la seguridad transfusional es, sin duda, el error administrativo. Entre las causas de error se incluyen la mala identificación del receptor cuando se extrae la muestra de sangre, confusión

de muestras durante la manipulación en el laboratorio, y equivocada identificación del receptor al momento de efectuar el acto transfusional en sí mismo.

### Identificación del paciente

El primer paso es, entonces, identificar inequívocamente al paciente. Para ello debemos comparar los datos filiatorios de la solicitud de transfusión con la identidad del paciente de la siguiente manera:

- Cotejando con los datos de la pulsera identificadora.
- Preguntándole nombre y apellido, si el estado de conciencia lo permite.
- Preguntándole a un familiar o al personal a cargo del paciente, si es menor, incoherente o está inconsciente.

El formulario de solicitud de sangre debe indicar de manera legible: nombre completo del receptor, número de historia clínica, número de documento de identidad, edad, fecha de nacimiento, y nombre del médico solicitante. Cualquier discrepancia entre los datos que figuran en el pedido y los obtenidos al pie de la cama del paciente debe ser resuelta completamente antes de tomar la muestra.

Nunca deberán utilizarse para verificar la identidad los datos que aparecen en las placas de identificación en la pared o en la cama, porque pueden pertenecer a un paciente que ya no ocupa esa cama.

Si la identidad del paciente es desconocida, como puede ocurrir en situaciones de catástrofe o accidente con ingreso de víctimas múltiples, deberá implementarse alguna forma de identificación positiva antes de la toma de

muestras, por ejemplo, colocar una etiqueta o una banda en la muñeca o el tobillo, que no deberá ser retirada hasta la identificación apropiada del paciente.

Otra causa posible de error es la concurrencia de dos pacientes con el mismo nombre.

Es de buena práctica preguntarle al paciente su nombre y no “¿es usted el señor Pérez?”, ya que algunos pacientes desorientados pueden responder “sí” a cualquier pregunta.

Sea cual sea el procedimiento de identificación que se adopte, éste debe ser una parte integral del manual de procedimientos operativos estándar.

### Recolección de muestras de pacientes

Una vez identificado correctamente el paciente se deberá recoger una muestra de sangre utilizando una técnica que evite la hemólisis traumática de la muestra, ya que puede enmascarar la hemólisis causada por los complejos antígeno-anticuerpo que activan el complemento. Para realizar la prueba de compatibilidad pretransfusional se puede utilizar suero o plasma, pero la mayoría de los operadores prefieren el uso de suero ya que la presencia de pequeños coágulos de fibrina en el plasma pueden ser confundidos con aglutinación verdadera. Además, la ausencia de complemento en el plasma hace que algunos anticuerpos no sean detectados. Generalmente la extracción de aproximadamente 10 ml de sangre es suficiente para realizar todos los procedimientos de prueba. Los tubos deben estar etiquetados antes de retirarse de la habitación del paciente. Los rótulos



de los tubos con indicación de apellido y nombre del paciente, número de identificación y fecha de extracción deben ser legibles e indelebles. Si se utilizan etiquetas impresas, los datos deben ser comparados con la pulsera del receptor y el formulario de solicitud. Las etiquetas deberán fijarse a los tubos en la cabecera del paciente.

No es aconsejable tomar las muestras de vías de infusión, para evitar la contaminación con materiales que pueden interferir con las pruebas de laboratorio. Si es necesario tomar la muestra del mismo brazo en el que el paciente tenga colocada una vía de infusión, la muestra debe extraerse por debajo del sitio de punción. Si la única posibilidad es tomar la muestra de una vía intravenosa, la línea debe ser desconectada y se deberán descartar los primeros 10 ml de sangre y luego tomar la muestra para las pruebas.

Si el manual de procedimientos operativos incluye el ingreso de muestras remitidas que han sido extraídas por personal que no pertenece al servicio de medicina transfusional, quien recibe dicha muestra deberá confirmar que la información del rótulo coincida con la solicitud, y cualquier discrepancia ha de resolverse antes de ser aceptada, y si hay la menor duda, se tomará una nueva muestra. No se permitirá ingresar ejemplares sin rótulo.

Una vez obtenida, la muestra debe ser analizada de inmediato y proceder a la separación del suero de los GR del paciente tan pronto como sea posible una vez que ha coagulado. Si las pruebas no pueden realizarse inmediatamente, las muestras deben mantenerse entre 1 °C y 6°C.

Los antecedentes de embarazo o transfusión reciente indican la posibilidad de sensibilización. La síntesis de anticuerpos se produce en un intervalo que varía de un paciente a otro, y es deseable que las muestras utilizadas en las pruebas de compatibilidad se recojan durante las fases críticas de la respuesta inmune. En un intento de capturar este momento tan importante para cada paciente, se deberán obtener muestras cada 72 horas para la detección de anticuerpos y pruebas de compatibilidad cruzada en pacientes con antecedentes de inmunización o historia desconocida.

Los glóbulos rojos del paciente deben ser lavados para eliminar el plasma o suero que pueda interferir con las pruebas. Hay que realizar una suspensión de 2% al 5% en solución salina.

### Las muestras de los donantes

Las muestras de GR de los donantes se obtienen a partir de los segmentos de la tubuladura que acompaña la bolsa y se utilizan para confirmar grupos ABO y Rh, y preparar las suspensiones globulares para realizar las pruebas de compatibilidad pretransfusionales enfrentándolas con el suero del paciente. Si se utiliza el método en tubo se deberá lavar una alícuota con solución fisiológica y suspender del 2% al 5%.

Es necesario almacenar al menos siete días postransfusión un segmento de la tubuladura de la bolsa transfundida, debidamente rotulado, al igual que la muestra de volumen adecuado del receptor, para que puedan ser reevaluadas si el paciente experimenta alguna reacción adversa a la transfusión.

Es necesario mantener un registro de todas las prácticas realizadas a los pacientes, esto es, el resultado de los ensayos y la historia transfusional de los receptores. La legislación vigente en cada país define el tipo de registro y el tiempo de archivo obligatorio.

En la actualidad el uso de soporte informático permite almacenar los datos y facilita el acceso a la información de cada paciente, aunque debe llevarse también un sistema de archivo en papel.

De manera ideal cada paciente deberá tener un número de identificación único en el sistema. De esta manera puede ser utilizado como un método para la identificación positiva comparando los resultados históricos de las pruebas realizadas. La verificación de los resultados anteriores ayuda a establecer si las muestras obtenidas son de la persona correcta. Cualquier discrepancia entre los resultados anteriores y los actuales deberá ser resuelta antes de realizar la transfusión, y si es necesario se deberá tomar una nueva muestra para resolver el problema.

El registro debe incluir ABO, Rh y detección de anticuerpos irregulares, y la identidad de los mismos, si es pertinente. Este puede ser un dato importante a tener en cuenta, ya que a veces el título del anticuerpo puede caer por debajo de niveles detectables en el suero del paciente, y los registros anteriores son la única fuente de información con respecto a su presencia, la especificidad y significado clínico. Si el paciente ha recibido una transfusión o si es mujer, ha estado embarazada en los últimos tres meses o si la historia no está disponible o es incierta, la muestra obtenida no deberá tener más de tres

días. La historia clínica precisa, incluida información sobre medicamentos, transfusiones y embarazos anteriores, puede ayudar a explicar los resultados inusuales.

### Determinación grupo ABO y Rh

La correcta determinación del grupo ABO del paciente es la prueba más importante, ya que un error que conduzca a la transfusión de sangre incompatible en este sistema puede desencadenar la muerte del paciente. Cualquier discrepancia entre la determinación por prueba directa e inversa debe ser resuelta antes de la transfusión, con la excepción de situaciones de emergencia en las cuales se deberá utilizar GR grupo O por seguridad y completar los estudios posteriormente. En estos casos es aconsejable tomar una muestra pretransfusional suficiente como para completar los estudios sin que interfieran los GR transfundidos.

La determinación Rh en los receptores debe hacerse sin tener en cuenta la prueba de D débil. Los individuos tipificados como Rh negativos en las pruebas en placa o tubo deben ser transfundidos con GR Rh negativo.

### Detección de anticuerpos irregulares

En las pruebas pretransfusionales habituales se debe realizar la detección de anticuerpos irregulares clínicamente significativos. La aparición de aloanticuerpos está relacionada con la exposición a antígenos diferentes presentes en los GR transfundidos, embarazos o trasplante y a la capacidad de respuesta de los pacientes. Según la población es-

tudiada, la incidencia varía entre 0,78% y 1,64% en la población general<sup>77-78</sup> al 29% en pacientes pediátricos y 47% en adultos portadores de anemia drepanocítica politransfundidos.<sup>79</sup>

La detección de anticuerpos irregulares es importante para la selección de GR que tengan la mejor tasa de supervivencia en la circulación del paciente, a fin de reducir el riesgo de reacción hemolítica asociada a la transfusión.

Las pruebas de detección deben demostrar la presencia de todos los aloanticuerpos clínicamente significativos en el suero del receptor. Una vez detectados, se debe proceder a identificarlos con el objetivo de seleccionar unidades carentes del antígeno correspondiente.

### Selección de unidades para la transfusión

En casi todos los casos, la primera opción es la transfusión de sangre y componentes isogrupo, esto es, del mismo grupo ABO y Rh del paciente. Cuando no hay disponibilidad de los componentes isogrupo o por alguna otra razón no pueden ser usados se deben seleccionar unidades carentes de cualquier antígeno hacia el cual el receptor presente anticuerpos clínicamente significativos.

En caso de no contar con GR isogrupo se podrán utilizar GR ABO compatibles.

Si bien es posible el uso de GR Rh negativo en receptores Rh positivos, no es una práctica común pues se reserva para los pacientes Rh negativo. No deberá utilizarse GR Rh positivo en mujeres en edad fértil. Es aceptable el uso de GR Rh positivo en hombres, o en las

mujeres pos menopáusicas, siempre que no presenten anti-D demostrable en el suero. Si bien se ha documentado que alrededor del 80% de los pacientes Rh negativos que reciben 200 ml o más de sangre Rh positiva responden con la producción de anti-D, puede haber variaciones de acuerdo con la población evaluada. Existen circunstancias en la práctica diaria en las que es necesario sopesar los riesgos de sensibilización cuando las existencias de GR Rh negativo se han agotado y es imperioso transfundir al paciente. Puede ser prudente el uso de sangre Rh positivo en pacientes en los cuales la formación de anticuerpos anti-D es poco probable, por ejemplo, en un paciente anciano Rh negativo.

Cuando se identifica un anticuerpo irregular las unidades de donantes seleccionadas deben de carecer del antígeno correspondiente; por ejemplo, un receptor portador de anti-K deberá recibir unidades compatibles en la prueba cruzada y tipificadas con anti-K de origen comercial para asegurar la ausencia del antígeno K. No hay necesidad de proporcionar GR antígeno negativo en pacientes cuyos sueros contienen anticuerpos que son reactivos sólo por debajo de 37 °C ya que estos anticuerpos son incapaces de causar hemólisis significativa, como por ejemplo los anti-Lewis. Pero para aquellos pacientes portadores de anticuerpos que muestran efecto de dosis o cuyo título haya caído por debajo de niveles detectables, pero que se sabe con anterioridad que son anticuerpos IgG clínicamente significativos, tales como anti-JK<sup>a</sup>, anti-K, o anti-E, se deberán tipificar las unidades para los antígenos correspondientes.

Antes de realizar las pruebas de compatibilidad, las unidades deberán ser examinadas y si se detecta cambio de color, turbidez, formación de coágulos, información de la etiqueta incompleta o incorrecta, o fugas de cualquier tipo no deberán utilizarse con fines transfusionales.

### Prueba cruzada

Tradicionalmente se conoce como prueba de compatibilidad o cruzada el ensayo que enfrenta los GR del donante con el suero del receptor y que incluye una fase de lectura inmediata, a fin de confirmar la compatibilidad ABO, y la fase antiglobulínica en busca de anticuerpos irregulares.

Los tubos deben ser correctamente rotulados, y registrados los resultados en los libros correspondientes.

En realidad, la prueba cruzada serológica es sólo una parte de las pruebas de compatibilidad pretransfusionales. Teniendo en cuenta que más del 99% de anticuerpos irregulares clínicamente significativos aparecen durante la detección, muchos servicios de medicina transfusional abrevian o eliminan por completo la prueba cruzada serológica. Entonces, ¿por qué se justifica realizar pruebas cruzadas serológicas entre el paciente y las muestras de donantes?

- Para la comprobación final de la compatibilidad ABO entre el donante y el paciente.
- Para detectar la presencia de anticuerpos en el suero del paciente que reacciona con antígenos presentes en los glóbulos rojos de donantes pero no en el panel detector, ya que

el antígeno correspondiente estaba ausente en las células de prueba.

Los estándares de la AABB<sup>24</sup> indican que es suficiente realizar las pruebas para detectar la incompatibilidad ABO si:

- La detección de anticuerpos es negativa.
- No existe antecedentes de la existencia de anticuerpos clínicamente significativos

En muchos centros se ha eliminado las pruebas cruzadas en pacientes sometidos a procedimientos quirúrgicos, ya que el porcentaje de uso de sangre es bajo, y se utiliza el método de tipificación y detección *type and screen*. Varios estudios han demostrado que este procedimiento tiene un 99,9% de efectividad en la prevención de la administración de una transfusión incompatible.<sup>81</sup> La frecuencia con la que se detecta una prueba cruzada reactiva luego de una detección de anticuerpos negativa es del 0,06%.<sup>82-86</sup>

Para prevenir la incompatibilidad ABO es necesario realizar una prueba abreviada que puede ser la centrifugación inmediata (suero del paciente enfrentado a suspensión de GR del donante en salino), o una prueba cruzada no serológica, es decir, computarizada (pacientes sin anticuerpos irregulares detectados) y con al menos dos resultados ABO y Rh concordantes.<sup>87-88</sup>

Si se obtiene un resultado positivo de la prueba cruzada, el receptor no debe recibir una transfusión hasta que la causa de la incompatibilidad haya sido determinada.<sup>89-90</sup>

Las causas de una prueba cruzada positiva pueden ser las siguientes:

- Error en la determinación del grupo ABO del receptor o del donante.
- Presencia de anticuerpo en el suero del receptor que reacciona con los antígenos en los GR del donante.
- Anticuerpos irregulares únicos o múltiples.
- Anticuerpo hacia antígeno de baja frecuencia presente en el dador pero no en los GR del panel detector.
- Anticuerpos naturales.
- Transferencia de anticuerpos por transfusión o infusión de gamma globulina, etc.
- Presencia de autoanticuerpos en el suero del receptor.
- El donante presenta una PAD positiva.
- Anormalidades del suero del paciente.
- Alteración de la relación albúmina-globulinas (mieloma múltiple, macroglobulinemia).
- Presencia de proteínas de alto peso molecular y expansores plasmáticos.
- Anticuerpos dirigidos contra sustancias aditivas.
- Presencia de sustancias contaminantes en el sistema de prueba.
- Material de vidrio sucio.
- Contaminación bacteriana de las muestras.
- Coágulos de fibrina.

La transfusión de una unidad incompatible es el resultado de un error ocurrido en alguna de las siguientes etapas:

1. Durante la identificación de la muestra tomada al paciente.
2. Durante la realización de las pruebas en el laboratorio.
3. Al liberar la unidad de GR a transfundir.
4. Durante la identificación del receptor previo a la transfusión.

Es importante recordar que la prueba cruzada es solo una parte del proceso transfusional y que no debe ser sobrevaluada. La seguridad transfusional de los pacientes se basa en garantizar que todo el proceso se realice adecuadamente, desde la tipificación ABO y Rh de pacientes y donantes, la realización de las pruebas cruzadas y la detección de anticuerpos irregulares, hasta la correcta identificación tanto de la unidad a transfundir como del paciente. Es fundamental asegurar la trazabilidad de todo el proceso llevando un adecuado registro de todas las prácticas realizadas.

Aun cuando las pruebas cruzadas resulten compatibles *in vitro*, algunas unidades transfundidas pueden ser hemolizadas en la circulación del paciente. La compatibilidad *in vivo* puede determinarse<sup>91</sup> utilizando GR marcados con <sup>51</sup>Cr o <sup>99</sup>Tc.

## Pruebas de compatibilidad en circunstancias especiales

### Emergencia

La transfusión de emergencia obliga al médico tratante a responsabilizarse de la indicación, ya que puede obligar a transfundir sin disponer de muestra del enfermo, o sin completar las pruebas de compatibilidad.

Es necesario tomar una muestra del paciente y realizar la tipificación ABO y Rh a fin de administrar sangre isogrupo, y realizar la detección de anticuerpos irregulares, aunque no se espere el resultado previo a la administración de las unidades. En caso de detectarse la transfusión de unidades incompatibles,

se deberá comunicar al médico tratante. En situaciones de emergencia extrema y si no se dispone de una muestra del paciente, es adecuado utilizar GR O Rh negativos.

Cuando se transfunde un volumen igual o mayor a la volemia del paciente en 24 horas, las pruebas de compatibilidad pueden omitirse. Si el paciente presenta anticuerpos irregulares, siempre que sea posible las unidades utilizadas deberán ser antígeno negativas.

### *Transfusión a neonatos*

Se deberá obtener una muestra del recién nacido (RN) para determinar ABO, Rh y PAD. Las pruebas de compatibilidad pretransfusionales y la detección de anticuerpos irregulares deberán realizarse con el suero materno, ya que los anticuerpos presentes en el RN provienen de la madre. En caso de no contar con dicha muestra, se deberá utilizar suero y eluido del RN. La transfusión de unidades no O obliga a realizar la detección de anti-A y anti-B inmunes en el RN.

## Referencias

1. Coombs RA, Mourant AE, Race RR. A new test for the detection of weak and "incomplete" antibodies. *Brit J Exp Path* 1945 26:255-266.
2. Diamond LK, Denton RL. Rh agglutination in various media with particular reference to the value of albumin. *J Lab Clin Med* 1945;30:821-830.
3. Cameron JW, Diamond LK. Chemical, clinical and immunological studies on the products of human plasma fractionation. XXIX. Serum albumin as a diluent for Rh typing reagents. *J Clin Invest* 1945;24:793-801.
4. Steane EA. The physical chemistry of hemagglutination. In: Walker RH, ed. A seminar on polymorphisms in human blood. Washington, DC: American Association of Blood Banks, 1975. p.105-127.
5. Steane EA. The interaction of antibodies with red cell surface antigens: kinetics, noncovalent bonding, and hemagglutination. In: Dawson RB; ed. Blood bank immunology. Washington, DC: American Association of Blood Banks, 1977.p.61-86.
6. Steane EA. Red blood cell agglutination: a current perspective. In: Bell CA, ed. Seminar on antigen-antibody reactions revisited. Arlington, VA: American Association of Blood Banks, 1982. p.67-98.
7. Economidou J, Hughes-Jones NC, Gardner B. The functional activities of IgG and IgM anti-A and anti-B. *Immunology*.1967; 13: 227.
8. Leikola J, Pasanen VJ. Influence of antigen receptor density on agglutination of red blood cells. *Int Arch Allergy* 1970; 39:352.
9. Phillips PK, Whitton CM. Detection of anti-Fya, anti-D and anti-Jka in relation to the genotypes of the panel red cells. Report of a UK NEQAS survey. *Transfus Med* 1993;3:123-127.
10. Pickles MM. Effect of cholera filtrate on red cells as demonstrated by incomplete Rh antibodies. *Nature* 1946;158:880.
11. Ellisor SS. Enzymes used in immunohematology. In: Rolih S, Albietz C, eds. Enzymes, inhibitions and absorptions. Washington, DC: American Association of Blood Banks, 1981.p.1-37.
12. Ellisor SS. Action and application of enzymes in immunohematology. In: Bell CA, ed. Seminar on antigen-antibody reactions revisited. Arlington, VA: American Association of Blood Banks, 1982.p.133-174.
13. Voak D, Cawley JC, Emmines JP, Barker CR. The role of enzymes and albumin in haemagglutination reaction. *Vox Sang* 1974;27: 156-170.
14. Stratton F, Rawlinson VI, Gunson HH, Phillips PK. The role of zeta potential in Rh agglutination. *Vox Sang* 1973;24:273-279.
15. Scott ML, Voak D, Phillips PK, Hoppe A, Kochman SA. Review of the problems involved in using enzymes in blood group serology: provision of freeze-dried ICSH/ISBT protease enzyme and anti-D reference standards. *Vox Sang* 1994;67:89-99.

16. Pollack W Some physicochemical aspects of hemagglutination. *Ann NY Acad Sci* 1965;127:892.
17. Pollack W, Hager HJ, Reckel R et al. A study of the forces involved in the second stage of the hemagglutination. *Transfusion* 1965;5:158.
18. Hughes-Jones NC, Gardner B, Telford R. The effect of ionic strength on the reaction between anti-D and erythrocytes. *Immunology* 1964;7:72-81.
19. Beattie KM, Zuelzer WW. The frequency and properties of pH-dependent anti-M. *Transfusion* 1965;5:322.
20. Olesen H Thermodynamics of the cold agglutinin reaction. *Scand J Clin Lab Invest* 1966;18:1.
21. Hughes-Jones NC. Red-cell antigens, antibodies and their interaction. *Clin Haematol* 1975;4:29.
22. Hirszfeld L, Dubiski S. Untersuchungen über die Struktur der inkompletten Antikörper. *Schweiz Z AllgPath* 1954;17:73.
23. Munk-Andersen G. Demonstration of incomplete ABO-antibody with special reference to its passage through the placenta. I. The content of complete ABO-antibody in umbilical cord serum. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1956;39:407.
24. Standards for Blood Banks and Transfusion Services, ed 28. American Association of Blood Banks, Bethesda, MD, 2011.
25. Judd, WJ, Luban, NLC, Ness, PM, et al. Prenatal and perinatal immunohematology: Recommendations for serologic management of the fetus, newborn infant, and obstetric patient. *Transfusion* 1990;30:175.
26. Giblett, ER: Blood group alloantibodies: An assessment of some laboratory practices. *Transfusion* 1977;17:299.
27. Boral, L, and Henry, IB: The type and screen: A safe alternative and supplement in selected surgical procedures. *Transfusion* 1977; 17:163.
28. Mollison, PL, Engelfreit, CP, and Contreras, M: *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, ed 9. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England, 1993. p. 111.
29. Hughes-Jones NC, Gardner B, Telford R. The effect of ionic strength on the reaction between anti-D and erythrocytes. *Immunology* 1964;7:72-81.
30. Elliot M, Bossom E, Dupuy ME, Masouredis SP. Effects of ionic strength on the serological behavior of red cell isoantibodies. *Vox Sang* 1964; 9:396-414.
31. Lalezari P. A new method for detection of red cell antibodies. *Transfusion* 1968; 8:372-380.
32. Mollison PL, Polley MJ. Uptake of gamma globulin and complement by red cells exposed to serum at low ionic strength. *Nature* 1964;203:535-536.
33. Low B, Messeter L. Antiglobulin test in low-ionic strength salt solution for rapid antibody screening and cross-matching. *Vox Sang* 1974;26:53-61.
34. Hughes-Jones NC. Factors affecting enhancement of serological reactions. In: Tills D, ed. *Enhancement of serological reactions*. Birmingham, England: Biotest Bulletin, 3 Supplement:1-2, 1974.
35. Hughes-Jones NC, Polley MJ, Telford R, Gardner B, Kleinschmidt G. Optimal conditions for detecting blood group antibodies by the antiglobulin test. *Vox Sang* 1964;9:385-395.
36. Voak D, Downie M, Haigh, Cook N. Improved antiglobulin tests to detect difficult antibodies: detection of anti-Kell by LISS. *Med Lab Sci* 1982;39:363-370.
37. Merry AH, Thomson EE, Langar J, Howell P, Voak D, Downie M, Stratton F. Quantitation of antibody binding to erythrocytes in LISS. *Vox Sang* 1984;47:125-132.
38. Slater JL, Griswold DJ, Wojtyniak LS, Reisling MJ. Evaluation of the polyethylene glycol-indirect antiglobulin test for routine compatibility testing. *Transfusion*. 1989 ;29(8):686-688.
39. Nance SJ, Garratty G. A new potentiator of red blood cell antigen-antibody reactions. *Am J Clin Path* 1987; 87: 633-635.
40. de Man AJM, Overbeeke MAM. Evaluation of the polyethylene glycol antiglobulin test for detection of red blood cell antibodies. *Vox Sang* 1990; 58: 207-210.
41. Shirley RS, Boyd JS, Ness PM. Polyethylene glycol versus low ionic strength solution in pre-transfusion testing: a blinded comparison study. *Transfusion* 1994; 34: 368-370.

42. Rosenfield RE, Shaikh SFI, Innella F, Kaczera Z, Kochwa S. Augmentation of hemagglutination by low ionic conditions. *Transfusion* 1979;19:499-510.
43. Lee CL, Ho E. A three-step test for rapid detection of erythrocyte antigens and antibodies. *Lab Med* 1974;5:47-49.
44. Lalezari P, Jiang AF. The manual polybrene test: a simple and rapid procedure for detection of red cell antibodies. *Transfusion* 1980;20:206-211.
45. Rosenfield RE, Spitz C, Bar-Shany P, Permod P, DuCros M. Low ionic concentration to augment hemagglutination for the detection and measurement of serologic incompatibility. In: *Automation in analytical chemistry*, (1967 Technicon Symposia), White Plains, NY Medical Inc., 1968.
46. Standards for Blood Banks and Transfusion Services, 27th edition. AABB Bethesda 2011
47. Mollison, PL, Engelfreit, CP, and Contreras, M: *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, ed 9. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England, 1993. p. 337.
48. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 10th ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1997.p 326.
49. Yates J, Howell P, Overfield J et al. IgG anti-Jka/Jkb antibodies are unlikely to fix complement. *Transfus Med* 1998;8:133-140.
50. Lapierre Y, Rigal D, Adam J et al. The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions. *Transfusion* 1990; 30: 109-113
51. Ciavarella, D, Pate, L, and Sorenson, E: Serologic comparisons of antibody. detection and titration methods: LISS, PeG, gel (abstract). *Transfusion* 2002; 42:108S.
52. Bromilow IM, Eggington JA, Owen GA et al. Red cell antibody screening and identification. A comparison of two column technology methods. *Br J BioMed Sci* 1993;50:329-333
53. Lillevang ST, Georgsen J, Kristensen T An antibody screening test based on the antiglobulin gel technique, pooled test cells and plasma. *Vox Sang* 1994;66:210-215
54. Klein HG, Anstee DJ. *Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 11th edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 2005 p 283-284.
55. Schonewille, H, Haack, HL, and van Zijl, AM: RBC antibody persistence. *Transfusion* 2000;40:1127.
56. Hughes-Jones NC, Polley MJ, Telford R Optimal conditions for detecting blood group antibodies by the antiglobulin test. *Vox Sang* 1964;9:385
57. Beattie KM Control of the antigen-antibody ratio in antibody detection/compatibility tests. *Transfusion* 1980;20:277-284
58. Klein HG, Anstee DJ. *Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 11th edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 2005. P. 316.
59. Hughes-Jones NC, Gardner B, Telford R The kinetics of the reaction between the blood-group antibody anti-c and erythrocytes. *Biochem J* 1962;85:466.
60. Bennett, PR, Le Van Kim, C, Dolon, Y, et al: Prenatal determination of fetal RhD type by DNA amplification. *N Engl J Med* 1993; 329:607-610.
61. van der Hart M, van Loghem JJ A further example of anti-Jka. *Vox Sang* (OS) 1953;3:72.
62. Cameron GL, Staveley JM Blood group P substance in hydatid cyst fluids. *Nature (Lond)* 1957;179:147
63. François-Gérard C, Brocteur J, André A Turtle-dove: a new source of P1-like material cross-reacting with the human erythrocyte antigen. *Vox Sang* 1980;39:141-148
64. Aster, RH, Miskovich BH, and Rodey GE: Histocompatibility antigens of human plasma; localization to HLD-3 lipoprotein fraction. *Transplantation* 1973;16:205.
65. Marks, MR, Reid, ME, and Ellisor, SS: Adsorption of unwanted cold autoagglutinins by formaldehyde-treated rabbit red blood cells (abstract). *Transfusion* 1980;20:629.
66. Maley M, Bruce DG, Babb RG, Wells AW, Williams M The incidence of red cell alloantibodies underlying panreactive warm autoantibodies. *Immunohematology*. 2005;21(3):122-5.
67. Brecher, M (ed): *Technical Manual*, ed 14. American Association of Blood Banks, Bethesda, MD, 2002. p. 682.
68. Landsteiner, K, and Miller, CP: Serologic studies on the blood of primates: II. The blood group of anthropoid apes. *J Exp Med* 1925 42:853.



69. Feng, CS, Kirkley, KC, and Eicher, CA, et al: The Lui elution technique: A simple and efficient method for eluting ABO antibodies. *Transfusion* 1985;25:433.
70. Rekkvig, OP, and Hannestad, K: Acid elution of blood group antibodies from intact erythrocytes. *Vox Sang* 1977;33:280.
71. Judd, WJ: *Methods in immunohematology*, ed 2. Montgomery Scientific Publications, Durham, NC, 1994.
72. van Oss, CJ, Absolom, DR, and Neumann, AW: The "hydrophobic effect": Essentially a van der Waals interaction. *Colloid Polymer Sci* 1980;1:424.
73. van Oss, CJ, Absolom, DR, and Neumann, AW: Applications of net repulsive van der Waals forces between different particles, macromolecules, or biological cells in liquids. *Colloid Polymer Sci* 1980;1:45.
74. Ciavarella, D, Pate, L, and Sorenson, E: Serologic comparisons of antibody detection and titration methods: LISS, PeG, gel (abstract) *Transfusion* 2002;42:108S.
75. Brecher, M (ed): *Technical Manual*, ed 14. American Association of Blood Banks, Bethesda, MD, 2002. p. 417.
76. Schulman, IA, and Petz, LD. Red cell compatibility testing: Clinical significance and laboratory methods. In Petz, LD, Swisher, SN, and Kleinman, S (eds): *Clinical Practice of Transfusion Medicine*, ed 3. Churchill Livingstone, New York, 1996. p. 199.
77. Giblett, ER: Blood group alloantibodies: An assessment to some laboratory practices. *Transfusion*. 1977;17:299.
78. Spielmann, W, and Seidl, S: Prevalence of irregular red cell antibodies and their significance in blood transfusion and antenatal care. *Vox Sang*. 1974;26:551.
79. Aygun B, Padmanabhan S, Paley C, Chandrasekaran V. Clinical significance of RBC alloantibodies and autoantibodies in sickle cell patients who received transfusions. *Transfusion*. 2002;42(1):37-43.
80. Mollison, PL: *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, ed 11. Blackwell Scientific, Oxford, England, 2005. p. 183.
81. Alexander D, and Henry JB: Immediate spin crossmatch in routine use: A growing trend in compatibility testing for red cell transfusion therapy. *Vox Sang*, 1996;70:48, 1996.
82. Walker, RH: On the safety of the abbreviated crossmatch. In Polesky, HF, and Walker, RH (eds): *Safety in Transfusion Practices; CAP Conference*, Aspen, 1980. College of American Pathologists, Skokie, IL, 1982. p 75.
83. Shulman IA, Nelson JM, Saxena S, Thompson JC, Okamoto M, Kent DR, Nakayama RK.: Experience with the routine use of an abbreviated crossmatch. *Am J Clin Pathol* 1984;82:178.
84. Dodsworth, H, and Dudley, HAF: Increased efficiency of transfusion practice in routine surgery using pre-operative antibody screening and selective ordering with an abbreviated crossmatch. *Br J Surg* 1985;72:102.
85. Garratty, G: Abbreviated pretransfusion testing. *Transfusion* 1986;26:217.
86. Shulman IA, Nelson JM, Kent DR, Jacobs VL, Nakayama RK, Malone SA.: Experience with a cost-effective crossmatch protocol. *JAMA* 1985;254:93.
87. Judd, JW: Requirements for the electronic crossmatch. *Vox Sang* 1998;74:409.
88. Butch SH, Judd WJ, Steiner EA, Stoe M, Oberman HA.: Electronic verification of donor-recipient compatibility: The computer crossmatch. *Transfusion* 1994;34:105.
89. Maffei LM, Johnson ST, Shulman IA, Steiner EA.: Survey on pretransfusion testing. *Transfusion* 1998;38:343.
90. Garratty, G: Evaluating the clinical significance of blood group alloantibodies that are causing problems in pretransfusion testing. *Vox Sang* 1998;74:285.
91. Marcus, B.A. Myhre, M.C. Angulo, R.D. Salk, C.E. Essex and S.H. Demianew: Radiolabeled red cell viability II.  $^{99m}\text{Tc}$  and  $\text{mIn}$  for measuring the viability of heterologous red cells in vivo. *Transfusion* 1986; 27: 420.



# Transporte de oxígeno y monitoreo

SALVADOR LAGLERA TRÉBOL\*

## Introducción

El oxígeno es el elemento químico más abundante en la naturaleza y su presencia es esencial en el mantenimiento de la vida celular. Las células del organismo obtienen su energía a partir del ATP mediante la oxigenación mitocondrial de diferentes sustratos (hidratos de carbono, grasas o aminoácidos).<sup>1</sup>

El oxígeno necesario para realizar esta función debe ser transportado desde los alvéolos hasta las mitocondrias. El oxígeno es transportado fundamentalmente unido a la hemoglobina (Hb) de los hematíes, y al llegar a la micro-

\* *Doctor en Medicina y Cirugía. Especialista en Anestesiología y Reanimación. Jefe del Servicio de Anestesiología, Reanimación y Terapia del Dolor del Hospital Universitario Miguel Servet, de Zaragoza, España.*

circulación lo difunde mediante un gradiente de presión hasta el interior de las células.

El oxígeno no es almacenable, por lo que la disminución de su aporte (hipoxia) o su ausencia produce lesiones en los tejidos en un tiempo muy breve y causa la disfunción del órgano afectado o de todo el organismo, e incluso la muerte del paciente.<sup>2,3</sup>

La función principal de los hematíes es transportar el oxígeno desde los pulmones hasta los tejidos y el dióxido de carbono desde los tejidos hasta los pulmones. El objetivo final de una transfusión de hematíes es aumentar la capacidad de transporte de oxígeno en el organismo para mejorar la oxigenación tisular.<sup>2,4-7</sup>

Como se puede deducir, la transfusión de hematíes es una terapia esencial a nuestra disposición que puede salvar la vida de nuestros pacientes. Sin embargo, la disponibilidad de sangre es limitada y no está exenta de riesgos para el receptor (infecciones, lesión pulmonar aguda, sobrecarga circulatoria, inmunosupresión, etc., así como errores de administración). Además, ¿existe evidencia de que la transfusión sanguínea mejore la oxigenación tisular? Esto hace que el debate sobre su uso permanezca abierto (valoración del riesgo/beneficio, *trigger* transfusional, efectividad y monitorización de resultados, ahorro de hemoderivados, costo económico, etc.) y justifique el motivo de este capítulo.<sup>3,6-8</sup>

## Fisiopatología

Al llegar a los pulmones el oxígeno se difunde de los alvéolos a la sangre ca-

pilar debido a que la presión de oxígeno ( $PO_2$ ) en los alvéolos es superior a la  $PO_2$  en la sangre pulmonar. El oxígeno se combina con la Hb de los hematíes de una forma reversible para ser transportado por todo el organismo hasta las células de los diferentes tejidos donde va a ser utilizado. Al llegar a los capilares de los tejidos este fenómeno se invierte debido a la mayor  $PO_2$  en los capilares (próxima a los 95 mmHg) que en la célula (el  $PO_2$  en el líquido intersticial es inferior a los 40 mmHg) y el oxígeno pasa al interior de la célula.<sup>9,10</sup>

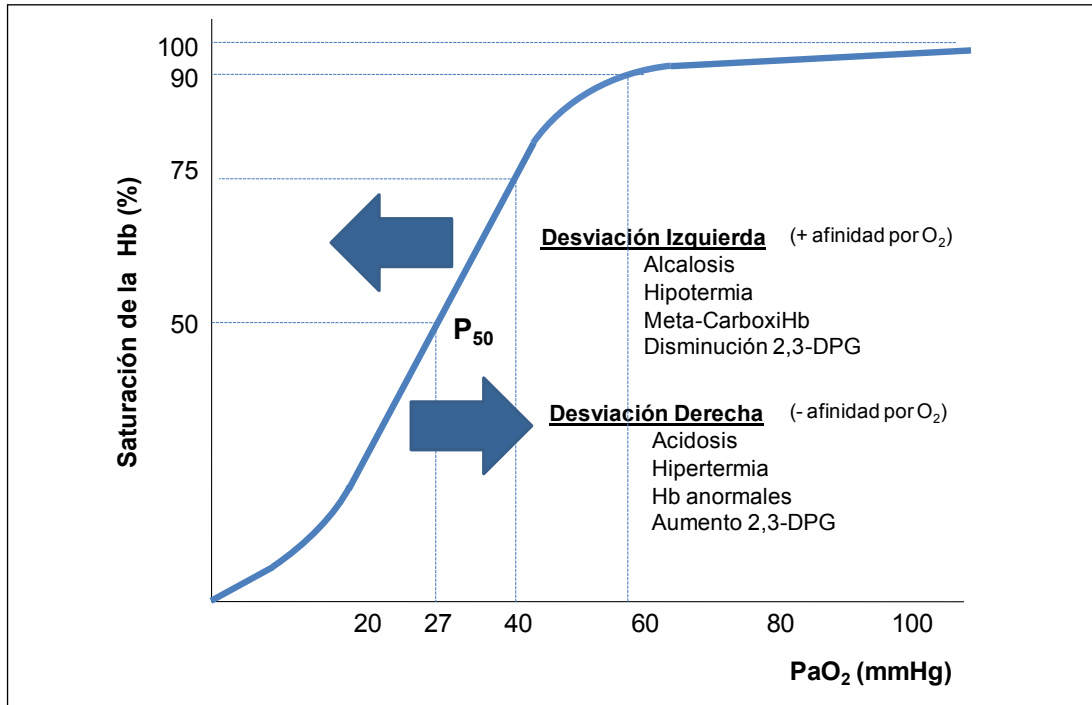
Existe una relación directa entre la presión arterial de oxígeno ( $PaO_2$ ) y la saturación de la hemoglobina. Cuando la  $PaO_2$  es elevada, los niveles de saturación de la Hb se acercan al 100% (solo con una  $PaO_2$  cercana a los 700 mmHg estaría completamente saturada). A medida que la  $PaO_2$  disminuye, la avides de la Hb por el  $O_2$  se reduce. Esto se aprecia claramente mediante la curva de disociación de la Hb. (Figura 1)

La presión de oxígeno a la que la Hb se encuentra saturada al 50% se denomina  $P_{50}$ , y en condiciones normales es de 27 mmHg. Si la  $P_{50}$  es mayor que esta cifra decimos que la curva de disociación se desplaza a la derecha, con lo cual se disminuye la afinidad de la Hb por el oxígeno y se facilita la cesión del oxígeno a los tejidos. Si, por el contrario, la  $P_{50}$  es menor que 27 mmHg se dice que la curva se desplaza a la izquierda, y esto resulta en una mayor afinidad de la Hb por el oxígeno lo que dificulta su cesión a los tejidos.

Situaciones que desplazan la curva a la izquierda son la alcalosis, la hipocapnia, la hipotermia, la disminución del 2,3 difosfoglicerato (2,3-DPG) (san-

gre conservada), la presencia de Hb anormales como la carboxihemoglobina, la metahemoglobina o la Hb fetal. Desplazan la curva a la derecha la aci-

dos, la hipercapnia, la hipertermia, el aumento del 2,3-DPG (hipoxemia o anemia), y Hb patológicas (anemia falciforme) (Figura 1).



**Figura 1.** Curva de disociación de la hemoglobina

En ausencia de hemoglobina, sólo una pequeña cantidad de oxígeno es transportada disuelta en el plasma, insuficiente para satisfacer las necesidades de los tejidos. El oxígeno disuelto solo representa aproximadamente el 4% de todo su contenido en la sangre arterial (sobre 18,98 ml/100 ml de sangre solo 0,9 corresponderían al oxígeno disuelto en la sangre).

Una oxigenación tisular apropiada depende de un aporte de oxígeno adecuado y del aprovechamiento (o consumo) conveniente del mismo, por los tejidos (para poder circular con el coche necesitamos combustible, pero además el coche debe poder utilizarlo y consumirlo).

El metabolismo del oxígeno es, pues, un proceso dinámico que depende de la integración y buen funcionamiento de unos mecanismos: función pulmonar correcta, transporte por la sangre, buen estado hemodinámico, difusión del oxígeno a la célula, utilización del oxígeno por la célula.<sup>1</sup>

Si alguno de estos mecanismos falla se produce una disminución del aporte de oxígeno y la consecuente hipoxia tisular. Esta hipoxia puede, por lo tanto, tener varios orígenes: 1) Hipóxica, por disminución de la PaO<sub>2</sub>; 2) anémica, por disminución de la Hb; 3) isquémica, por alteración de la perfusión capilar (disminución de la bomba –gasto cardiaco–), también denominada por estancamiento; y 4) distributiva, por al-

teraciones en la extracción del oxígeno por la célula (citopática).

La transfusión se basa en la fisiología del transporte de oxígeno. Una disminución del transporte de  $O_2$  por debajo de un nivel crítico priva a los tejidos del oxígeno necesario para el metabolismo oxidativo, con el resultado del establecimiento de un metabolismo anaerobio. La demanda de oxígeno es la cantidad de oxígeno requerido por los tejidos para mantener el metabolismo aeróbico. Es un concepto más teórico que práctico, por ser difícil de

cuantificar, por lo que se estima de forma indirecta por el consumo de oxígeno. Por otra parte, las necesidades aumentan en situaciones de estrés, en las cuales es imprescindible mantener el aporte de oxígeno.<sup>11</sup>

El sistema de transporte del oxígeno entraña variables que es preciso conocer: Contenido arterial de oxígeno ( $CaO_2$ ), transporte de oxígeno ( $DO_2$ ), consumo de oxígeno ( $VO_2$ ), coeficiente (o cociente) de extracción de oxígeno ( $CEO_2$ ). En la Tabla 1 se presentan sus valores normales.

**Tabla 1.** Valores normales de los parámetros del metabolismo del  $O_2$ .

Parámetros	Nombre	Unidades	Rango normal
$DO_2$	Transporte $O_2$	ml/min/m <sup>2</sup>	520 – 7001
$VO_2$	Consumo $O_2$	ml/min/m <sup>2</sup>	100 – 1801
$EO_2$	Extracción $O_2$	(%)	22 – 30
IC	Índice cardiaco	L/min/m <sup>2</sup>	2,8 – 3,6
Hb	Hemoglobina	g/dL	12 - 15
$PaO_2$	Presión arterial $O_2$	mmHg	70 – 100
$SaO_2$	Saturación arterial $O_2$	%	95 - 100
$PvO_2$	Presión venosa $O_2$	mmHg	33 – 53
$SvO_2$	Saturación venosa $O_2$	%	65 – 75
$CaO_2$	Contenido arterial $O_2$	ml/dL sangre	16 – 24
$CvO_2$	Contenido venoso $O_2$	ml/dL sangre	12 - 16
$D(a-v)O_2$	Diferencia arteriovenosa $O_2$	ml/dL sangre	4 - 5,5

<sup>1</sup> Se utiliza como medida el IC en lugar del GC. En caso de usar el GC, los valores normales serían 880 – 1225 mL/min para el  $DO_2$  y 180 – 280 ml/min para el  $VO_2$ .

### Contenido arterial de oxígeno ( $CaO_2$ )

Es la cantidad de oxígeno que lleva la sangre arterial (oxígeno unido a la hemoglobina más el oxígeno disuelto en el plasma). Los valores normales se sitúan entre 16 – 22 ml/dl de sangre y son ligeramente menores en mujeres.

$$CaO_2 = (1,34 \times Hb \times SaO_2) + (PaO_2 \times 0,0031)$$

En donde 1,34: es la cantidad de oxígeno (en ml) que puede transportar un gramo de hemoglobina (oscila entre 1,34 y 1,39; por eso la diferencia en distintas fórmulas) y se supone constante; Hb es la concentración de hemoglobina plasmática (expresada en g/dl);  $SaO_2$  es la saturación arterial de oxígeno expresada en forma de fracción (o en tanto por 1). Ejemplo: 99% = 0,99;  $PaO_2$  es la presión arterial de oxígeno (expresada

en mmHg); y 0,0031 es la cantidad de oxígeno disuelta en 100 ml de sangre.

Como se puede apreciar, el dato más influyente en la fórmula es la cantidad de hemoglobina; mientras que la SaO<sub>2</sub> y la PaO<sub>2</sub> influyen poco o muy poco en el CaO<sub>2</sub>. Esto puede simplificar la fórmula anterior. Sin embargo, en la clínica y como luego veremos, existen situaciones –paciente en choque hemorrágico entre otras– en las que la cantidad de oxígeno disuelto en el plasma tiene una importancia capital en el mantenimiento de un paciente. Cuando la PaO<sub>2</sub> aumenta a niveles altos puede tener importancia clínica. Si habitualmente el oxígeno disuelto supone entre el 2%-4% del CaO<sub>2</sub>, en situaciones de anemia grave, puede suponer hasta un 15% o 20%. No es posible superar una PaO<sub>2</sub> superior a 500 – 600 mmHg en condiciones de ventilación controlada y FiO<sub>2</sub> máxima, pero sí se pueden alcanzar e incluso pueden llegar a 2000 mmHg, cuando se ventila al paciente en una cámara hiperbárica a presiones de 2-3 atmósferas.<sup>2,12,13</sup>

### Transporte de oxígeno (DO<sub>2</sub>)

Es la cantidad de oxígeno que llega a los tejidos por minuto. Los valores normales son 700-1400 ml/min si se utiliza en la fórmula el GC, o entre 520-700 ml/min/m<sup>2</sup> si se utiliza el índice cardíaco en lugar del gasto cardíaco (DO<sub>2</sub>/SC, donde SC es superficie corporal).

$$DO_2 = GC \times CaO_2 \times 10$$

En donde: GC se expresa en litros, y 10 es el factor que convierte el CaO<sub>2</sub> de ml/dl a ml/l. El transporte de oxígeno

sistémico está en definitiva determinado por cuatro variables: GC, Hb, SaO<sub>2</sub> y PaO<sub>2</sub>.

### Consumo de oxígeno (VO<sub>2</sub>)

Es el volumen de oxígeno consumido por los tejidos en un minuto. Es decir, la diferencia entre el oxígeno que entra y el que sale de los tejidos. Depende del GC y de la diferencia entre el contenido arterial y el contenido venoso de oxígeno. Mide la cantidad necesaria de oxígeno para satisfacer las demandas del organismo.

Los valores normales son entre 180 – 280 ml/min (si se utiliza el Gasto Cardíaco) o entre 110 – 160 ml/min/m<sup>2</sup> (si se utiliza el Índice Cardíaco)

$$VO_2 = GC \times (CaO_2 - CvO_2)$$

El contenido venoso de oxígeno (CvO<sub>2</sub>) es la cantidad de oxígeno que queda en la sangre venosa tras la cesión del oxígeno a los tejidos. Su fórmula es similar a la del CaO<sub>2</sub> pero en el territorio venoso. Sus valores normales están entre 11-16 ml.

$$CvO_2 = (1,34 \times Hb \times SvO_2) + (PvO_2 \times 0,0031)$$

Se puede calcular por el método de Fick (directo) o por calorimetría (método indirecto). El cálculo por calorimetría directa no se utiliza en clínica, pero sí la calorimetría indirecta mediante la medición de la ventilación minuto, la fracción inspirada y espirada del O<sub>2</sub> y la fracción de CO<sub>2</sub> espirado.

Si el consumo de oxígeno es menor que 100 ml/min/m<sup>2</sup> debemos pensar en

un déficit de oxígeno y en que la oxigenación tisular esté alterada. El déficit acumulado del  $VO_2$  se conoce como deuda de oxígeno. Existe una relación directa entre la deuda de oxígeno y el riesgo de fracaso multiorgánico y de muerte.

### Cociente de extracción de oxígeno (CEO<sub>2</sub>)

Es la relación entre consumo y aporte de oxígeno (entre lo entregado a los tejidos y lo captado por ellos). Se suele expresar en porcentaje (multiplicarlo por 100), y los valores normales se sitúan entre 20-30%.

$$CEO_2 = VO_2 / DO_2$$

Desarrollando la fórmula:

$$EO_2 = (CaO_2 - CvO_2) / CaO_2 = (SaO_2 - SvO_2) \times 100 / SaO_2$$

Resumiendo:

$$CEO_2 = 1 - SvO_2$$

El cociente de extracción varía entre los diferentes tejidos y en diversas situaciones patológicas. En condiciones normales el oxígeno extraído representa solo una pequeña parte del oxígeno transportado (el  $DO_2$  es en condiciones normales cuatro veces superior al  $VO_2$ ). Este amplio margen de seguridad permite aumentar cuando es necesario la cantidad de oxígeno que se extrae para compensar la disminución del transporte, manteniendo constante el consumo de oxígeno para que pueda garantizarse el metabolismo aerobio y no se altere la oxigenación hística. El aporte es suficiente para atender la de-

manda incluso en situaciones de anemia grave.

### Relación entre el aporte y el consumo de oxígeno

En condiciones normales  $DO_2$  y  $VO_2$  son independientes: la disminución del transporte no se acompaña de descenso del consumo, que será constante gracias al mecanismo compensador de aumentar la extracción de oxígeno.

Ambos se mantendrán independientes hasta alcanzar un punto crítico ( $DO_2$  crítico) diferente para cada individuo (suele oscilar entre 8-10 ml/kg/min/m<sup>2</sup>), en el que la  $EO_2$  no puede aumentar, momento en el que  $DO_2$  y  $VO_2$  se hacen dependientes y establecen una relación lineal. A partir de entonces, los descensos del  $DO_2$  implicarán un descenso del  $VO_2$ . Cuando se alcanza este punto crítico aparece la anaerobiosis con acúmulo de ácido láctico y acidosis (Figuras 2 y 3).

A este  $DO_2$  crítico corresponde un  $VO_2$  crítico, una  $EO_2$  crítica (50 - 60%), una Hb crítica (4 - 5 g/dl), una  $Sv_{mixta}O_2$  crítica (aprox. 50 - 60 %), y una presión venosa de  $O_2$  ( $PvO_2$ ) crítica (aprox. 20 - 30 mm Hg).<sup>12</sup>

Este punto varía también en función del estado del paciente y su patología basal. Así, en cardiopatas en los que falla la bomba (GC) o en pacientes con sepsis, en los que existe una alteración de la microcirculación, los niveles críticos se alcanzan mucho antes y estos valores son mayores, pero también de una forma individual. Clínicamente, los médicos aceptamos unos valores críticos mucho mayores que los reales para evitar la aparición de hipoxia ti-



sular y el fracaso multiorgánico, sobre todo en pacientes con múltiple patología o en estado grave. No se conoce el límite inferior del nivel de Hb para un  $DO_2$  adecuado a los tejidos. En personas sanas este nivel es sorprendentemente

bajo (en diferentes estudios, niveles de Hb de 5 g/dl no provocaron cambios en el  $VO_2$ , aunque sí alteraciones cognitivas en pacientes despiertos, que se recuperaban con la administración de oxígeno a alta concentración).<sup>14,15</sup>

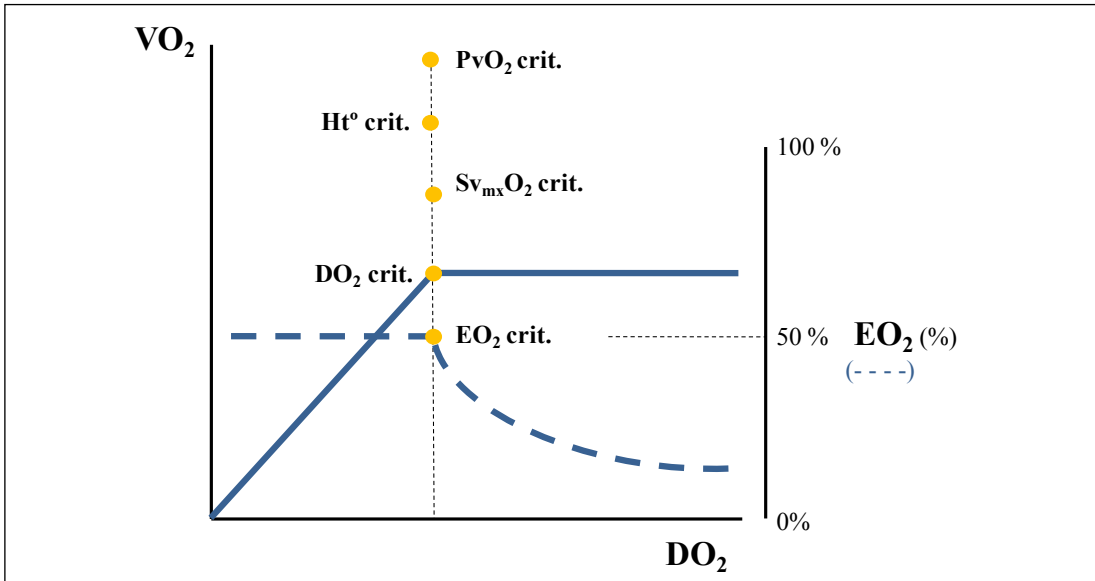


Figura 2. Relación entre el transporte ( $DO_2$ ) y el consumo ( $VO_2$ ) de oxígeno.

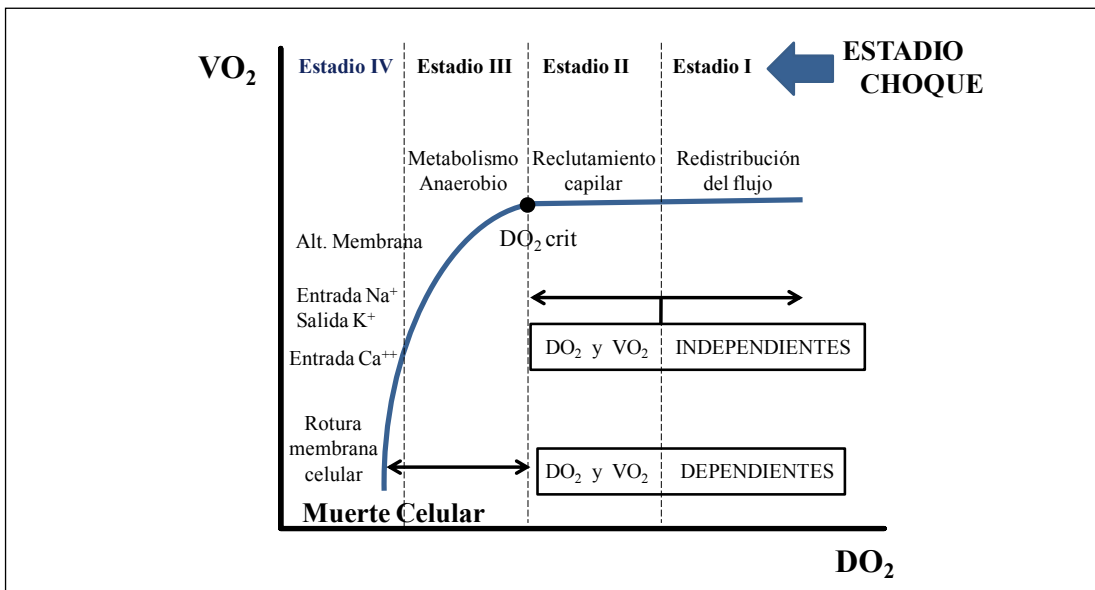


Figura 3. Alteraciones en el organismo en relación con los cambios en el transporte de oxígeno ( $DO_2$ ). Modificado de Gutiérrez G, Reines HD, Wulf-Gutiérrez ME. Clinical review: Hemorrhagic shock. *Crit Care* 2004; 8: 373-381.

El  $CaO_2$  es uniforme a lo largo de todo el sistema circulatorio; sin embargo, el flujo varía de unos órganos a otros, por lo que no todos van a recibir el mismo aporte. Así mismo, la  $EO_2$  varía de unos órganos a otros. El corazón y el cerebro tienen un índice de  $EO_2$  basal muy elevado, y cuando quieren incrementar el  $VO_2$  (como, por ejemplo, ante una situación de estrés), como su capacidad de  $EO_2$  está ya casi al límite es necesario que aumente el  $DO_2$ .

Por el contrario existen órganos como el riñón, la piel o el hígado que presentan un índice de  $EO_2$  muy bajo y cuando es preciso aumentar el  $VO_2$  todavía son capaces de aumentar mucho la  $EO_2$  sin modificar el  $DO_2$ . Por esto, cuando calculamos el  $VO_2$  o la relación  $DO_2/VO_2$ , o utilizamos la saturación venosa mixta de oxígeno ( $SvmO_2$ ), el resultado únicamente refleja la suma de lo que ocurre en todos los órganos (datos globales del organismo), pero no refleja la demanda regional y no sirven para predecir la hipoxia tisular de un órgano determinado. Las mediciones locales del  $VO_2$  (como en la mucosa intestinal) pueden proporcionar índices que guíen el tratamiento para mantener un adecuado  $DO_2$  a los tejidos.<sup>12,16</sup>

Cuando el  $DO_2$  total está comprometido, este se redistribuye de forma que los órganos que pueden extraer más  $O_2$  reciben menos flujo sanguíneo, mientras que los que están al límite de su  $CEO_2$  reciben más flujo para que llegue más  $O_2$ .<sup>1</sup>

Existen situaciones clínicas en las que la relación entre  $DO_2$  y  $VO_2$  no es bifásica sino lineal, con mayor o menor pendiente. En estos casos se trata de una dependencia patológica, y en ella no son suficientes valores normales o su-

pranormales de  $DO_2$  para mantener la oxigenación tisular. Son situaciones de alta demanda de oxígeno o con alteración de los mecanismos que lo extraen (por sepsis, choque, SDRA, hipertensión pulmonar, cirrosis, postoperatorio de revascularización coronaria, etc). Es imprescindible identificar esta dependencia patológica para evitar hipoxias enmascaradas que desemboquen en disfunción multiorgánica irreversible que se sospecha ante valores normales de  $DO_2$  con extracción baja y signos de hipoperfusión tisular.<sup>2,12</sup>

## Monitorización

Un valor de Hb aislado es insuficiente como indicador de transfusión, ya que será adecuado o no según el paciente, su situación y los requerimientos tisulares de oxígeno. La Hb refleja solo la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre, pero no una adecuada oxigenación de los tejidos. Se recomienda tener en cuenta otros parámetros en la toma de decisión de transfundir. Los triggers transfusionales fisiológicos deben reemplazar paulatinamente los basados en los niveles de Hb; y deben definirse mediante parámetros de deterioro de la oxigenación global o, mejor aún, de la oxigenación tisular regional.<sup>17,18</sup>

La valoración de la oxigenación tisular es importante para evaluar la necesidad de transfusión, así como su eficacia. La oxigenación tisular no debe confundirse con la oxigenación arterial, ya que esta puede ser normal y sin embargo los órganos estar hipoxémicos. En un estudio sobre pacientes críticos que habían sido transfundidos, sólo el 8% de ellos lo habían sido por  $DO_2$  insuficiente.

Si bien la transfusión se asocia normalmente a aumento de la Hb, no siempre existen efectos sobre la oxigenación. Así, en una revisión de 18 estudios en todos aumentaba la Hb, pero sólo en 14 había aumento del  $\text{DO}_2$  y únicamente en 5 se producía aumento del  $\text{VO}_2$ . Aparte de otras consideraciones, posiblemente la causa principal de este fenómeno fue que no existía hipoxia tisular en estos pacientes.<sup>19,20</sup>

Los signos clínicos de oxigenación tisular inadecuada (taquicardia, cianosis, palidez, sudoración, etc.) son inespecíficos y tardíos, y en pacientes sedados o anestesiados están enmascarados. La situación es todavía más difícil cuando es un único órgano el amenazado por la hipoxia, o cuando existen alteraciones de la microcirculación con un  $\text{DO}_2$  normal o con una adecuada función cardiovascular. Por ello, la monitorización debe ser adecuada y temprana. La detección precoz de la hipoxia tisular (o del choque) y su adecuada monitorización facilitarán su corrección mediante un tratamiento guiado por objetivos específicos, lo cual disminuirá la mortalidad, y nos permitirá, además, predecir el pronóstico del paciente.<sup>3,21,23</sup>

La monitorización ideal de la oxigenación tisular debería suministrar información cuantitativa (medible) exacta (fiel), objetiva y reproducible en tiempo real sobre el transporte y consumo de oxígeno en cada tejido u órgano en que se midiese.<sup>2</sup> Podemos realizarla a nivel sistémico y a nivel regional. Entre los parámetros indicadores de la oxigenación a nivel sistémico se encuentran los siguientes.<sup>3,21,24</sup>

## Monitores sistémicos

### *Lactato arterial*

El lactato es un marcador de hipoxia tisular e indicador de metabolismo anaerobio y oxigenación inadecuada. Se consideran niveles elevados los superiores a 2 mmol/l. Se define como acidosis láctica aquella acidosis metabólica con un nivel de ácido láctico por encima de 5 mmol/l. Niveles superiores a 10 mmol/l se asocian con una mortalidad mayor que 95%.

Este indicador tiene algunas limitaciones, ya que niveles elevados pueden ser debidos a la administración de lactato (en forma de Ringer lactato) o a aumento de su producción por gérmenes intestinales. La función hepática alterada también puede afectar la eliminación del lactato (la disminuye) y mostrar niveles elevados (sobre todo si está asociada la presencia de choque).

Los niveles de lactato alto indican únicamente una anomalía global del balance de oxígeno, e hipoxia regional inespecífica. Está cuestionado como indicador de hipoxia, pues en ocasiones cifras normales no aseguran una adecuada oxigenación en todos los órganos, ya que el nivel medido resulta de la mezcla de sangre de distintos sistemas con diversa oxigenación, pudiendo dar un nivel normal de lactato en situaciones de hipoperfusión tisular. Por esto las tendencias son más valorables y fiables que una medida aislada. Pero es un buen indicador pronóstico y de control de la efectividad del tratamiento. En los pacientes con niveles elevados a las 24h fue más frecuente el desarrollo de un fracaso multiorgánico, y disminuye la supervivencia al 13,6%

si permanece elevado más allá de las 48 horas.

### *Déficit de Base (DB)*

Es un indicador de disoxia tisular y factor predictivo de mortalidad, y en pacientes en choque hemorrágico, de ingreso en UCI y necesidad de transfusión. Permite también valorar la respuesta al tratamiento. Es mejor predictor de cambios en la volemia que el lactato o los indicadores hemodinámicos. El DB se considera alterado si es menor que  $-6$  mEq/l.

Es una alternativa al lactato. La correlación con el lactato es buena en las

primeras 24 h, no así a partir de entonces. El DB arterial obtenido en el momento del ingreso es predictor de transfusión, estancia en UCI, riesgo de complicaciones y mortalidad sobre todo en mayores de 55 años (están excluidas las cetoacidosis diabéticas y los quemados).

La incapacidad para corregir el DB debe alertarnos sobre la presencia de una hemorragia incontrolada o sobre un déficit de  $O_2$  mayor del sospechado. El DB puede estar influenciado por la presencia de insuficiencia renal y por la administración de bicarbonato (Tabla 2).<sup>25</sup>

**Tabla 2.** Déficit de Base (DB) al ingreso de paciente sangrante como factor predictor de mortalidad y transfusión.

DB	Mortalidad	Transfusión
-6 a -9	23 %	62 % - (4 CH ± PFC)
-10 a -15	44 %	86 % - (10 CH + PFC + Pla <sub>q</sub> )
-16 a -20	53 %	100 %
< -20	70 %	100 %

### *Saturación Venosa Mixta (SvmO<sub>2</sub>)*<sup>1,9,26</sup>

Es un marcador de oxigenación tisular global; relaciona  $DO_2$  y  $VO_2$  y es un reflejo del  $CEO_2$ . Se correlaciona bien con los cambios de la volemia. Diversos factores pueden afectarla: disminuye cuando se produce un incremento del consumo periférico de oxígeno (fiebre, escalofríos persistentes después de la anestesia) o porque disminuye el aporte de oxígeno a causa de anemia o hipoxemia de origen respiratorio. Por el contrario, puede estar elevada (enmascarando la hipoxia) en situaciones en las que no existe paso de sangre por

algunos tejidos (cierre de capilares, o aparición de shunts en la microcirculación como en la sepsis), o cuando se realiza la lectura con el balón del catéter de arteria pulmonar inflado (ya que al desaparecer el flujo sanguíneo procedente de la arteria pulmonar, la arteria ocluida se rellena retrógradamente de sangre oxigenada, por lo que necesariamente la saturación debe ascender hasta aproximarse a los niveles de la  $SaO_2$ ).<sup>27</sup>

Para realizar su medición se requiere la inserción de un catéter de arteria pulmonar para poder extraer muestras

de sangre, o la introducción de catéteres fibrópticos que dan lecturas continuas en tiempo real.

Se consideran normales los niveles 65-75%. El objetivo es mantener valores >70%. Una cifra inferior a 65% se asocia con aumento de lactato y acidosis metabólica; por debajo del 40% es indicativa de choque grave, y se han utilizado como *trigger* transfusional valores del 55-60%.<sup>28</sup>

Se puede utilizar como método de valoración de oxigenación regional en flujos venosos específicos si se coloca en los vasos adecuados (p.e., determinación de oximetría en el golfo de la yugular para la valoración de la oxigenación cerebral global).

En situaciones clínicas en las que no se tenga un catéter de arteria pul-

monar se puede utilizar la saturación de oxígeno en la vena central (SvcO<sub>2</sub>) obtenida a partir de un catéter venoso central (los catéteres venosos centrales de fibra óptica colocados en cava superior que permiten la medición continua aunque son caros). También es posible obtener esta medición mediante un analizador de gases sanguíneos. La SvcO<sub>2</sub> es similar a la SvmO<sub>2</sub>, aunque en vena central los valores son un poco más altos que la venosa mixta. Valores normales: 70%-80%.<sup>29-32</sup>

La combinación de la SvcO<sub>2</sub> y la pulsioximetría permite el cálculo aproximado del CEO<sub>2</sub>. Los datos obtenidos serán menos fiables si la SaO<sub>2</sub> es < 95% por afección respiratoria o si se están utilizando FiO<sub>2</sub> superiores a 0,8 (Tabla 3).<sup>30</sup>

**Tabla 3.** Cálculo de la Extracción de O<sub>2</sub> (CEO<sub>2</sub>) sin usar catéter de arteria pulmonar

	SaO <sub>2</sub> (%) <sup>1</sup>	SvO <sub>2</sub> (%) <sup>2</sup>	SaO <sub>2</sub> - SvO <sub>2</sub> (%) <sup>3</sup>
Normal	> 95	> 65	20 - 30
Hipovolemia	> 95	50-65	30-50
Choque hipovolémico	> 95	< 50	> 50

<sup>1</sup> Saturación arterial medida mediante pulsioximetría. <sup>2</sup> Saturación venosa de oxígeno medida mediante analítica venosa extraída de catéter venoso central. <sup>3</sup> Diferencia arterio-venosa de oxígeno (equivalente a CEO<sub>2</sub>, cuando SaO<sub>2</sub> es > 95).

### Presión venosa de oxígeno (PvO<sub>2</sub>)

Es un parámetro relacionado con la oxigenación tisular y la reposición de volumen y se considera también como un *trigger* transfusional. Su valor normal es 45 mmHg, y el nivel crítico es de 23 mmHg. Los pacientes con baja PvO<sub>2</sub> pueden clasificarse como estables o inestables. En los pacientes estables la transfusión no está indicada hasta alcanzar el valor crítico. En los pacientes inestables el valor umbral de transfusión es de 30 mmHg. Los signos de estabilidad vienen determinados por la

hemodinámica, la ventilación, el estado ácido-básico y la diuresis.<sup>26,33</sup>

### Aporte y consumo de oxígeno (DO<sub>2</sub> y VO<sub>2</sub>)

Pueden ser monitorizados con un catéter de arteria pulmonar que mida el GC y obteniendo los valores necesarios para calcular el CaO<sub>2</sub> y el CvO<sub>2</sub> mediante muestras analíticas. El VO<sub>2</sub> puede también ser calculado mediante el análisis de los gases espirados y el metabolismo, técnica ésta muy precisa pero costosa.

En las fórmulas para la obtención de estos datos es necesario tener la medida del GC o del IC. El GC puede monitorizarse por diferentes métodos:

- **Termodilución:** Mediante catéter en la arteria pulmonar (catéter de Swan-Ganz). Existen diferentes versiones que proporcionan mayor o menor cantidad de datos. Los principales datos que se obtienen son las presiones endocavitarias, GC o IC, resistencias vasculares sistémicas y pulmonares, índices de trabajo de los ventrículos izquierdo y derecho, SvO<sub>2</sub>, etc. Entre los inconvenientes que presenta están el ser un método muy invasivo y frecuentes complicaciones, algunas muy serias. Se considera el gold-estándar y todos los métodos se comparan con él.
- **Reinhalação parcial de CO<sub>2</sub> (NICO®):** La medición del GC utilizando el principio de Fick constituye una alternativa al método de la termodilución. Requiere muestras de sangre venosa y arterial. El VO<sub>2</sub> se determina de forma no invasiva en la boca del paciente. Sin embargo, el principio de Fick también se puede aplicar con CO<sub>2</sub> en vez de O<sub>2</sub>, lo que constituye el fundamento de la técnica de la determinación del GC con el método de la reinhalação parcial. Según este método, el GC se relaciona con un cambio del volumen de CO<sub>2</sub> y un cambio asociado de CO<sub>2</sub> al final de la espiración. Inconvenientes: requiere intubación del paciente y ventilación mecánica y no es aceptable en inestabilidad hemodinámica o si existe un gran shunt intrapulmonar.
- **Ecografía transtorácica o transesofágica:** Permite conocer la función valvular, el movimiento de la pared ventricular, cuantificar la fracción de eyección, etc. Inconvenientes: aparataje muy caro y requiere adiestramiento y experiencia.
- **Doppler esofágico:** Método mínimamente invasivo. Los principales datos que aporta son el GC, la distancia latido (equivalente al volumen sistólico), la velocidad pico o máxima (indicaría contractilidad), el tiempo de flujo corregido (indicaría fundamentalmente volemia) y el índice de resistencias vasculares sistémicas. Inconvenientes: mal tolerado por el paciente despierto; existen situaciones clínicas (como arritmias, sepsis) en las que los datos pueden estar distorsionados.
- **Bioimpedancia:** es el método menos invasivo (únicamente unos electrodos en el cuello y en el tórax), y aun así guarda una relativa buena correlación. Los datos que se obtienen son similares a los del doppler, y también como en él existen situaciones que enmascaran los datos (arritmias, sepsis, tórax abierto). Tanto con la bioimpedancia como con el doppler, el seguimiento continuo y la evolución son lo valorable y fiable. Los datos aislados no son válidos ni de utilidad.<sup>35-37</sup>
- **Análisis del contorno del pulso:** Se basa en que la onda de presión arterial guarda relación con el volumen sistólico. Se puede obtener por medios incruentos, pero los disponibles actualmente requieren la onda arterial cruenta.<sup>38</sup>

Algunas de estas técnicas permiten la obtención directa y continua del  $\text{DO}_2$  y del  $\text{VO}_2$ , aunque requieren introducir cada cierto tiempo el valor de la Hb y las  $\text{PaO}_2$  y  $\text{PvO}_2$ . Hay buena correlación con la termodilución. Ninguna es verdaderamente incruenta, pues requieren una canalización arterial periférica, pero no el catéter de arteria pulmonar. Algunos pacientes no pueden analizarse con esta técnica (tratamiento con litio, arritmias cardíacas, incompetencia aórtica grave, onda arterial defectuosa).

### Monitores regionales <sup>2,3,9,21,24,39</sup>

Existen numerosas técnicas para la medición del oxígeno en casi todos los tejidos y sistemas del organismo, aunque muchas son experimentales y sin aplicación clínica.

Estos monitores realizan mediciones de pH,  $\text{PpO}_2$ ,  $\text{PpCO}_2$  o  $\text{SO}_2$  en diferentes tejidos. Entre los monitores con aplicación clínica están:

#### *Tonometría gástrica y capnografía sublingual*

Permiten una valoración de la oxigenación en el estómago y reflejan la del territorio esplácnico. La tonometría gástrica mide el pH intramucoso gástrico (pHi) y la  $\text{PCO}_2$  de la mucosa mediante una sonda nasogástrica especial. Es un monitor de la perfusión gástrica, de la eficacia transfusional y de la evolución de los pacientes críticos. El territorio esplácnico y fundamentalmente el estómago son muy susceptibles a la hipoxia. El  $\text{CEO}_2$  es menor en esta región que en el resto del organismo, por lo que es más sensible a la disminución del  $\text{DO}_2$ . Presenta algún inconveniente

como la necesidad de administrar previamente un inhibidor de la secreción ácida y corregir posibles acidosis metabólica o alcalosis respiratoria, ya que pueden enmascarar los resultados. Los valores normales de pHi oscilan entre 7,35 – 7,41. Por debajo de 7,32 se sospecha alteración de la oxigenación. El Gap  $\text{PCO}_2$  (diferencias entre el  $\text{CO}_2$  gástrico y el arterial)  $< 8$  mmHg indica hipoperfusión de la mucosa. La capnografía sublingual es también reflejo de la oxigenación esplácnica, aunque su uso clínico no se ha generalizado y requiere mayores investigaciones.

#### *Oximetría cerebral*

La oximetría cerebral se realiza mediante la medición de la saturación venosa en el golfo de la yugular o de la saturación transcutánea cerebral, o utilizando catéteres de microdiálisis. La saturación venosa en el golfo de la yugular ( $\text{SjO}_2$ ) presenta un rango de normalidad entre 55 – 75%. Valores más altos se relacionan con aumento del flujo sanguíneo cerebral (aumento de la presión de perfusión cerebral, disminución de la presión intracraneal, hipercapnia, HTA, fármacos vasodilatadores, etc). Su disminución se relaciona con las situaciones opuestas con un aumento del consumo cerebral, anemia o hipoxemia).

La saturación de oxígeno arterial o venoso cerebral se utiliza para su monitorización en situaciones comprometidas como en cirugía de revascularización cerebral, neurointervencionismo, cirugía cardíaca, de aorta o sobre troncos supraaórticos.

### *Monitorización de la perfusión y oxigenación cutánea mediante espectroscopia de infrarrojos o electrodos transcutáneos de oxígeno*

El oxígeno transcutáneo (PtcO<sub>2</sub>) mide el oxígeno difundido a través de la piel como reflejo de la DO<sub>2</sub>. Exige calentar la piel a 43 – 45 °C lo que si se mantiene más de 6-8 h podría dar lugar a quemaduras. Se mide la relación con el PaO<sub>2</sub> (PtcO<sub>2</sub>/PaO<sub>2</sub>), siendo lo normal de 1 en neonatos, 0,9 en pacientes pediátricos, 0,8 en adultos y 0,6-0,7 en ancianos. Depende del GC y de la perfusión de la piel, en pacientes chocados con mala perfusión de la piel los resultados no son buenos.

### Conclusiones

- Es necesario cambiar nuestros hábitos de transfundir basándonos en una cifra de Hb. Debemos utilizar *triggers* fisiológicos que tengan en cuenta la oxigenación tisular.
- Existen parámetros que van a medir la oxigenación global y otros que van a medir la oxigenación regional, que son útiles para objetivar el estado de oxigenación y valorar la eficacia transfusional en términos de mejora de la oxigenación.
- Existen en clínica diferentes monitores para la medición del gasto cardiaco que permiten medir el transporte y consumo de oxígeno. Existen también monitores de la oxigenación regional con aplicación clínica.
- En los pacientes críticos los marcadores globales de oxigenación pueden estar falseados, lo que dificulta su interpretación. En estos pacientes

es difícil realizar la valoración y debemos ser cautos.

- El futuro tiende hacia la monitorización no invasiva de la oxigenación tisular, mejorando las técnicas para medir la oxigenación regional y el establecimiento de pautas de actuación basadas en la evidencia.

### Referencias

1. Fita G, Rovira I, Gomar C. Transporte y consumo de oxígeno. En: Llau JV. Tratado de hemostasia y medicina transfusional perioperatoria. Arán Ediciones:Madrid, 2003: 197-212.
2. Gómez Luque A, Navajas Gómez de Aranda AI, López Cano H, Ariza Villanueva D. Monitorización del aporte de oxígeno en el paciente quirúrgico. En: Muñoz Gómez M. Anemia y transfusión en cirugía. SPICUM: Málaga, 2002: 251-84.
3. Sielenkämper A, Sibbald W. Tissue Oxygenation and blood transfusion. NATA Textbook – 2000 Edition. Online (www.nataonline.com)
4. García-Erce JA, Laglera S, Tirado G, Villar I, Muñoz-Gómez M. Transporte y consumo de oxígeno. Respuesta fisiológica a la anemia. En: Salinas R. Alternativas prácticas a la transfusión sanguínea. Acción Médica:Madrid 2005: 53-74.
5. Muñoz M, Gómez JA, Naviera E, Ramírez G. Determinantes fisiológicos de la transfusión de hematíes. En: Llau JV. Tratado de hemostasia y medicina transfusional perioperatoria. Arán Ediciones: Madrid, 2003: 221-42.
6. Harrois A, Dupic L, Duranteau J. Targeting the microcirculation in resuscitation of acutely unwell patients. *Curr Opin Crit Care* 2011; 17: 303-7.
7. Vincent JL, Baron JF, Reinhart K, Gattinoni L, Thijs L, Webb A, et al. (Anemia and Blood Transfusion in Critical Care) Investigators. Anemia and blood transfusion in critically ill patients. *JAMA* 2002; 288: 1499-507.
8. Monk TG. Hemodilución Normovolemica aguda. *Anesthesiology Clin Norteamer (ed esp)* 2005; 23: 271-281.



9. Aguilar G, Galán S, Mínguez MF, Pérez A, Llau JV. Respuesta fisiológica a la anemia. En: Llau JV. Tratado de hemostasia y medicina transfusional perioperatoria. Arán Ediciones: Madrid, 2003: 213-20.
10. Treacher DF, Leach RM. ABC of oxygen. Oxygen transport. I. Basic principles. *Br Med J* 1999; 317: 1302-6.
11. Marshall JC. Transfusion trigger: when to transfuse?. *Crit Care* 2004; 8 (Suppl 2): S31-S33.
12. Martín-Pérez M, Alba de Cáceres M, Ortega-Montes B. Oxigenación Hística. En: Díez-Lobo AI. Medicina transfusional perioperatoria. Ergon: Madrid, 2005: 1 – 10.
13. Camporesi EM. Tratamiento con oxígeno hiperbárico: usos en pacientes traumatizados. *Clin Anestesiol Norteamer (Ed esp)* 1999; 1: 319-32.
14. Weiskopf RB, Feiner J, Hopf HW, Viele MK, Watson JJ, Kramer JH, et al. Oxygen reverses deficits of cognitive function and memory and increased heart rate induced by acute severe isovolemic anemia. *Anesthesiology* 2002; 96: 871-7.
15. Hir HE, Bugge W, Hjlmeland K, Søreide E, Sørli D, Háheim LL. Transfusion vs alternative treatment modalities in acute bleeding: a systematic review. *Acta Anaesthesiol Scand* 2006; 50: 920-31.
16. Duranteau J. Basic principles of oxygen transport and calculations. NATA Textbook 2000 Edition. Online (www.nataonline.com)
17. Orlov D, O'Farrell R, McCluskey SA, Carroll J, Poonawala H, Hozhabri S, et al. The clinical utility of an index of global oxygenation for guiding red blood cell transfusion in cardiac surgery. *Transfusion* 2009; 49: 682-8.
18. Corwin HL, Parsonnet KC, Gettinger A. RBC transfusion in the ICU: is there a reason? *Chest* 1995; 108: 767-71.
19. Vincent JL, Sakr Y, De Backer D, Van der Linden P. Efficacy of allogeneic red blood cell transfusions. *Best Prac Res Clin Anaesthesiol* 2007; 21: 209-19.
20. Hebert PC, Van Der Linden P, Biro G et al. Physiologic aspects of anemia. *Critical Care Clinics* 2004; 20: 187-212.
21. Van der Linden P, Vincent JL- Assessment of tissue oxygenation. NATA Textbook 2000. Online (www.nataonline.com)
22. McKinlay S, Gan TJ. Intraoperative Fluid management and choice of fluids. *ASA Refresher Courses in Anesthesiology* 2002; 31: 127 – 137.
23. Martell MJ, MacKinnon KJ, Arsenault MY, Bartellas E, Klein MC, Lane CA, et al. Hemorrhagic choque. *J Obstet Gynaecol Can* 2002; 24: 504 – 520.
24. Kauvar DS, Wade CE. The epidemiology and modern management of traumatic hemorrhage: US and International perspectives. *Crit Care* 2005; 9 (Suppl 5): S1 – S9
25. Davis JW, Parks SN, Kaups KL, Gladen HE, O'Donnell-Nicol S. Admission base deficit predicts transfusion requirements and risk of complications. *J Trauma* 1996. 41; 5: 769 – 774.
26. McFarland JG. Perioperative blood transfusion: indications and options. *Chest* 1999; 115 (Suppl 5): 113S – 121S.
27. Bauer P, Reinhart K, Bauer M. Significance of venous oximetry in the critically ill. *Med Intensive* 2008; 32: 134 – 142.
28. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al.: Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic choque. *N Engl J Med* 2001; 345:1368-1377.
29. Vallet B, Robin E, Lebuffe G. Venous oxygen saturation as a physiologic transfusion trigger. *Crit Care* 2010; 14:213.
30. Shepherd SJ, Pearse RM. Role of central and mixed venous oxygen saturation measurement in perioperative care. *Anesthesiology* 2009; 111: 649-656.
31. Rivers E. Mixed vs Central venous oxygen saturation may be not numerically equal, but both are still clinically useful. *Chest* 2006; 129: 507-8.
32. Dueck MH, Klimek M, Appenrodt S, Welgand C, Boerner U. Trends but not individual values of central venous oxygen saturation agree with mixed venous oxygen saturation during varying hemodynamic conditions. *Anesthesiology* 2005; 103: 249-57.

33. Trauma.Org. Transfusion for massive blood loss. En: Trauma.Org <http://www.trauma.org/resus/massive.html>
34. Habler O. Monitoring to determine the need for transfusion. TATM 2002; 4 (Supl): 9.
35. Kosowsky JM, Han JH, Collins SP, McAfee AT, Storrow AB. Assesment of stroke index using impedance cardiography: comparison with traditional vital signs for detection of moderate acute blood loss in healthy volunteers. Acad Emerg Med 2002; 9: 775 – 80.
36. Shoemaker WC, Peitzman AB, Bellamy R, Bellomo R, Bruttig SP, Capone A, et al. Resuscitation from severe hemorrhage. Crit Care Med 1996. 24; 2 (Suppl): 12 S - 23 S).
37. Shoemaker WC, Wo CCJ. Circulatory Effects of Whole Blood, Packed Red Cells, Albumin, Starch, and Crystalloids in resuscitation of choque and acute critical illness. Vox Sanguinis 1998; 74 (Suppl 2): 69 - 74.
38. Hamilton TT, Huber LM, Jessen ME. PulseCO: a less-invasive method to monitor cardiac output from arterial pressure after cardiac surgery. Ann Thorac Surg 2002; 74: S1408 – S1412.
39. Ramsay J. Monitorización no invasiva de la perfusión tisular. Clin Anestesiol Norteamer (ed esp) 2006; 24: 763 – 775.

# Anemia y transfusión de glóbulos rojos

ARMANDO CORTÉS BUELVAS\*

## Introducción

La transfusión de glóbulos rojos (TGR) es uno de los pilares en el tratamiento de los pacientes anémicos.

La transfusión de sangre es el procedimiento médico más común en pacientes hospitalizados<sup>1</sup> y se prevé que la demanda de productos sanguíneos seguirá creciendo entre un 6-8% por año.<sup>2</sup> Este aumento de la demanda se debe en parte al crecimiento de la población de edad avanzada, que registra la mayor demanda de la transfusión asociada tanto a la cirugía como a la quimioterapia.<sup>2,3</sup> Las tasas de TGR son variables en los diferentes países, pero comparablemente elevadas.<sup>4-7</sup> Los pa-

\* *Patólogo Clínico. Profesor Titular y Jefe del Departamento de Patología, Escuela de Medicina, Universidad del Valle, Cali. Director Hemocentro del Valle del Cauca, Cali. Director Servicio de Transfusión Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia.*

cientes sometidos a tratamiento para los trastornos de los sistemas músculoesquelético, linfático, cardíaco, hematopoyético y digestivo consumen cerca del 75% del inventario de sangre. La transfusión se emplea por igual en condiciones médicas y quirúrgicas.<sup>3,8</sup> Del 20% al 50% de todos los pacientes de la unidad de cuidados intensivos (UCI) y el 85% de los que permanecen en ella durante más de una semana, reciben al menos una TGR, y más de dos tercios de las transfusiones en la UCI tienen indicaciones distintas a la pérdida aguda de sangre.<sup>4,9-12</sup> Cerca del 50% de los pacientes transfundidos tienen una condición de urgencia que requiere la transfusión dentro de las próximas 24 horas. Aproximadamente, el 10% de las transfusiones se utilizan durante la cirugía electiva;<sup>13</sup> en general, la tasa de transfusión se ha aumentado en la última década en los pacientes quirúrgicos.<sup>12</sup>

Una revisión sistemática reciente de la literatura, que considera los resultados de 45 estudios de cohortes con 272,596 pacientes en estado crítico, revela que en 42 de los 45 estudios la transfusión representó más riesgo que beneficio para los pacientes y en la cohorte transfundida se presentó una mayor tasa de eventos adversos que en la que no recibió transfusiones<sup>14</sup>. Igualmente, en estudios clínicos controlados aleatorizados (ECCA) que evalúan la eficacia/efectividad de la transfusión de glóbulos rojos (TGR) alogénicos<sup>15-18</sup> se ha indicado que la restricción de la TGR en pacientes sin hemorragia no tiene ningún efecto negativo importante sobre los resultados del paciente e incluso puede mejorar los resultados

en algunas poblaciones. En conjunto, estos estudios sugieren que la TGR no leucorreducida proporciona un mínimo beneficio en pacientes en estado crítico con niveles de hemoglobina (Hb) mayores que 8 a 9 g/dl,<sup>19-22</sup> y puede contribuir con un gran número de resultados indeseados en muchas situaciones clínicas,<sup>14,23-27</sup> con el consiguiente incremento de la morbilidad, de la mortalidad y de la estancia hospitalaria.<sup>28</sup> Estos estudios indican que la TGR requiere un uso más juicioso en muchos pacientes que son transfundidos habitualmente. Se debe hacer un mayor esfuerzo para entender que hay un punto de transición a partir del cual los mecanismos fisiológicos no logran compensar la disminución del suministro de oxígeno asociado con la anemia y entonces la transfusión favorece los resultados.

Mientras se mantiene la controversia sobre la magnitud de los riesgos de la TGR, se esperan avances en el desarrollo y validación de marcadores fisiológicos accesibles, prácticos y confiables para guiar la terapia. En la actualidad, la decisión de la TGR generalmente se sigue basando en la evaluación clínica al lado de la cama del paciente utilizando la concentración de hemoglobina solo como una guía útil.

## Fisiología y transporte del oxígeno

La anemia es tratada comúnmente con TGR para restablecer su capacidad de transportar oxígeno y evitar el compromiso de la desoxigenación de los tejidos periféricos. Los GR son el principal me-

dio por el cual se realiza el transporte de oxígeno. En circunstancias normales el oxígeno es llevado a través de la sangre circulante principalmente unido a la Hb, con solo 2% del O<sub>2</sub> disuelto en el plasma, mientras en el paciente con anemia aguda que recibe O<sub>2</sub> suplementario, el O<sub>2</sub> disuelto puede llegar a ser hasta el 20% del contenido de oxígeno en la sangre. La curva sigmoidea de la disociación de la oxihemoglobina puede variar en respuesta a cambios en la tensión del dióxido de carbono, pH, concentración de 2,3-DPG, y la temperatura.<sup>29,30</sup> Cuando el CO<sub>2</sub> se une a la Hb el pH disminuye, y cuando aumentan los niveles de 2,3-DPG como ocurre en la anemia, disminuye la afinidad de la Hb por el oxígeno, lo cual da lugar a una desviación de la curva de disociación hacia la derecha. El aumento del pH, la hipotermia, o la disminución de los niveles de 2,3-DPG conducen a una alta afinidad de la Hb por el oxígeno, y desplazan la curva de disociación hacia la izquierda.<sup>30</sup>

En el estado oxigenado, el óxido nítrico (ON) se une a la Hb como un nitrosotiol (ONS) en la Beta 93 Cisteína.<sup>31,32</sup> Con la desoxigenación, el ON liberado de la unión ONS-Hb produce vasodilatación, aumento del flujo sanguíneo y mejoría del aporte de oxígeno. El ONS se pierde durante el almacenamiento de los GR. Lo anterior soporta la hipótesis de que la TGR almacenados deteriora la respuesta vasodilatadora en la hipoxia. Otro mecanismo de generación de ON es la síntesis endotelial en asociación con la liberación de ATP de los GR desoxigenados. Aunque no es claro cómo funciona exactamente este proceso, el ON desempeña una

función esencial en el control del flujo sanguíneo a través de la vasodilatación hipóxica.

El gasto cardíaco y la concentración de Hb son las principales variables que determinan la entrega de oxígeno tisular (DO<sub>2</sub>), a todo el cuerpo o a órganos específicos. La DO<sub>2</sub> varía de acuerdo con el gasto cardíaco (GC) y el contenido arterial de O<sub>2</sub> (CaO<sub>2</sub>).<sup>33</sup> Cuando la Hb tiene 100% de saturación, porta 1,39 ml de oxígeno por gramo, y existe una relación directa entre la concentración de Hb y el contenido arterial de oxígeno [CaO<sub>2</sub> = (Hb x 1,39 x SaO<sub>2</sub>, saturación arterial de oxígeno)]. El nivel en el cual la DO<sub>2</sub> es insuficiente para satisfacer las demandas metabólicas del tejido se conoce como DO<sub>2</sub> crítico (DO<sub>2</sub> crít). En la búsqueda de umbrales clínicamente relevantes para la TGR, el DO<sub>2</sub> crít ha sido definido como el nivel de DO<sub>2</sub> por debajo del cual no se puede mantener el consumo de oxígeno y comienza a disminuir. Con el DO<sub>2</sub> crít, aparecen los signos de insuficiencia de oxígeno, tanto a escala global, como lo indica la mayor producción de ácido láctico; como regional, por los marcadores de hipoxia específicos de tejidos, tales como los cambios del segmento ST en el ECG y la latencia de P300 en el electroencefalograma. Con el DO<sub>2</sub> crít aparecen la acidosis láctica, los cambios isquémicos en el electrocardiograma (ECG), la disfunción neurológica. Se ha observado que en adultos jóvenes, sanos y conscientes, al ser sometidos a una hemodilución isovolémica con reducción de la concentración de Hb de 12,5 g/dl a 4,8 g/dl se produce un aumento del ritmo cardíaco, del índice de volumen sistólico

y del índice cardíaco, sin evidencia sistémica de cambios hipóxicos a pesar de una reducción de la  $DO_2$  a un nivel de 7,3 ml/kg/minuto.<sup>34</sup> Un estudio realizado en pacientes sépticos sugirió que la  $DO_2$  crít podría estar en 3,8 ml/kg/minuto.<sup>35</sup>

La disminución de la  $DO_2$  con la anemia no siempre se traduce en disminución del  $VO_2$  (consumo de oxígeno), debido a la intervención de los mecanismos compensatorios fisiológicos, como el aumento del GC y de la extracción tisular de  $O_2$ . El  $VO_2$  es, a su vez, equilibrado por la capacidad de los tejidos periféricos para modificar la extracción de oxígeno ( $EO_2$ ) en los estados hipoxémicos, alterando el flujo sanguíneo microvascular, manteniendo una  $pO_2$  tisular estable<sup>30</sup>.

Los estudios que revelan la falta de incremento del  $O_2$  con la TGR, han sido interpretados como falta de efectividad de la transfusión y se atribuye a la pérdida de 2,3-DPG y ON durante el almacenamiento o al incremento de la viscosidad.<sup>36,37</sup> Sin embargo, no se debe esperar aumento del  $VO_2$  después de la transfusión si ésta se administra en un paciente con un  $DO_2$  por encima del nivel crítico. De hecho, el descenso de la Hb no siempre se traduce en cambios en el suministro de oxígeno ( $DO_2$ ) y en el consumo de oxígeno ( $VO_2$ ), debido a que los mecanismos fisiológicos compensatorios son capaces de contrarrestar los cambios leves a moderados en la concentración de Hb.

Cuando el  $DO_2$  se acerca al  $DO_2$  crít, hay un incremento compensatorio en la  $EO_2$  a su límite máximo ( $EO_2$  crít). La  $EO_2$  en condiciones de rutina es de aproximadamente 20% a 30%, pero

durante el estrés puede aumentar hasta tres veces. Un punto crítico se produce cuando la  $EO_2$  alcanza su máximo;  $EO_2$  crít, es el punto en el cual el incremento de la  $EO_2$  no puede compensar la disminución del  $VO_2$  relacionada con la anemia. Si continúa la disminución en la concentración de Hb o  $DO_2$  se termina en hipoxia tisular. La  $EO_2$  crít, que varía entre los tejidos, influye en el  $DO_2$  crít; los tejidos con una baja  $EO_2$  crít tienen un  $DO_2$  crít mayor. Además, el  $DO_2$  crít también está influenciado por el  $VO_2$ ; el  $DO_2$  crít es necesariamente alto cuando el  $VO_2$  es muy alto para apoyar el metabolismo.<sup>30</sup> Los mecanismos compensatorios mitigan la disminución de  $DO_2$  asociada con la disminución de la concentración de Hb para sostener el  $VO_2$ . Estos incluyen incremento de la extracción de oxígeno, el gasto cardíaco, el flujo sanguíneo en la arteria coronaria y la redistribución del flujo sanguíneo a los órganos. Las alteraciones en la  $EO_2$  afectan directamente el  $VO_2$ , porque  $EO_2 = VO_2 \div DO_2$ . La línea de base de la  $EO_2$  difiere entre los distintos tejidos. Por ejemplo, el miocardio tiene la proporción más alta de  $EO_2$  (60%), mientras que la tasa de extracción es de 30% en el cerebro y 10% en la piel y el riñón. Es decir, estos últimos órganos tienen una mayor capacidad de compensación ante la caída de la  $DO_2$  en el paciente anémico.<sup>30,33</sup>

El gasto cardíaco aumenta en respuesta a la anemia normovolémica. La estimulación nerviosa simpática aumenta la frecuencia cardíaca. Además, la caída de la viscosidad de la sangre aumenta el volumen sistólico por incremento del retorno venoso al corazón y la disminución de la carga

al ventrículo izquierdo. En pacientes anestesiados, el gasto cardíaco se incrementa como resultado de un mayor volumen sistólico; si se presenta taquicardia ésta necesariamente se debe a la hipovolemia y no a la anemia aguda.<sup>37</sup>

También en respuesta a la anemia se disminuye la resistencia vascular sistémica como consecuencia de la vasodilatación mediada por ON. La expansión del volumen extracelular, similar a la que se produce en la insuficiencia cardíaca de gasto bajo, eventualmente produce un aumento del gasto cardíaco.<sup>38</sup>

En consecuencia, la función cardíaca determina el límite de tolerancia clínica a la anemia en cualquier paciente. La entrega de oxígeno al miocardio aumenta sólo mediante la mejora del flujo sanguíneo en las arterias coronarias.<sup>39</sup> La reducción del flujo coronario, en consecuencia, puede incrementar la presión al final de la diástole, producir cambios en el ECG, y posteriormente causar isquemia sintomática.<sup>40</sup>

Los glóbulos rojos almacenados pierden casi todo el 2,3-DPG dentro de las dos semanas siguientes a la colección. Después de la transfusión se regenera el 2,3-DPG a niveles del 50% en el lapso de 8 horas y alcanza concentraciones normales luego de dos a tres días. Los niveles bajos de 2,3-DPG pueden perjudicar el suministro de oxígeno en algunos pacientes críticos.

### Límites de la compensación

Algunos estudios en humanos han dado luces acerca de los límites de la compensación fisiológica de la anemia. La Hb crítica en reposo se ha estimado

en aproximadamente 20-25% de la Hb normal.<sup>30</sup> El primer informe fue documentado en una Testigo de Jehová de 84 años, que se negó a la transfusión y murió después de la cirugía con una Hb de 1,6 g/dl. El  $DO_2$  crítico en esta paciente bajo anestesia fue de 4,9 ml  $O_2$ /kg/min para un  $VO_2$  de 2,4  $O_2$ /kg ml/min, y la muerte se produjo con un nivel de Hb de 4,0 g/dl. La curva de disociación de la oxihemoglobina, después de la corrección de los cambios en el pH y la  $PCO_2$ , se desvía a la derecha con un hematocrito del 8%, lo que indica una disminución en la afinidad del oxígeno a la hemoglobina como un mecanismo de compensación para facilitar la entrega de  $O_2$  a los tejidos periféricos en la anemia extrema.<sup>42</sup>

Asimismo, en pacientes críticamente enfermos sedados después de la interrupción del soporte vital, la  $DO_2$  oscila entre 3.8-4.5  $O_2$ /kg/min ml. Para un  $VO_2$  de 2.4 ml  $O_2$ /kg/min la  $EO_2$  crít alcanzó aproximadamente el 60%.<sup>35</sup> Teniendo en cuenta que el  $DO_2$  crít varía con los diferentes requerimientos metabólicos se llevaron a cabo estudios posteriores realizando mediciones durante los estados de conciencia, en los cuales el  $VO_2$  es más alto. Se ha demostrado que los seres humanos sanos en reposo son capaces de tolerar una hemodilución isovolémica aguda con Hb de 5 g/dl,<sup>42</sup> aunque se produce una leve reducción de la agudeza mental, reversible.<sup>44,45</sup> En 32 individuos conscientes en reposo no se produjo ningún cambio significativo en la concentración de lactato o en el  $VO_2$  a pesar de la disminución en el  $DO_2$  durante la hemodilución isovolémica progresiva con albúmina al 5% y/o plasma autólogo hasta un nivel

de Hb de 5 g/dl.<sup>43</sup> En otro estudio con jóvenes voluntarios sanos conscientes se encontró que para un  $\text{VO}_2$  de 3.4 ml  $\text{O}_2$ /kg/min, el  $\text{DO}_2$  crít durante la hemodilución aguda con albúmina al 5% y plasma autólogo fue inferior a 7.3 ml  $\text{O}_2$ /kg/min y 4,8 g/dl de Hb.<sup>34</sup>

Sin embargo, en presencia de una enfermedad arterial coronaria, el umbral de Hb puede aumentar. En modelos animales se ha informado que el umbral de Hb puede estar en un nivel de 7-7,5 g/dl en presencia de estenosis de las arterias coronarias, con limitada tolerancia a la hemodilución isovolémica.<sup>46,47,48</sup> La disfunción contráctil ocasionada por la isquemia y el compromiso de la entrega y consumo de  $\text{O}_2$  pueden ser reversibles y corregidos con TGR al incrementar la Hb en 1,9g/dl.<sup>47</sup>

Los resultados de estos y otros estudios experimentales, sin embargo, no pueden ser fácilmente extrapolables a las situaciones clínicas en pacientes con comorbilidades y cambios en el balance de oferta y demanda de oxígeno.

## Bases de la decisión

La anemia, según su gravedad y la eficacia de los mecanismos fisiológicos compensatorios, no siempre causa signos o síntomas clínicos. Los signos clínicos en el paciente han demostrado que son insensibles y poco específicos para identificar la hipoxia. La presión arterial y la frecuencia cardíaca en los adultos pueden encontrarse dentro de los límites normales en pacientes aun con niveles elevados de lactato y alteraciones en la saturación de oxígeno venoso. Los cambios en el estado mental y en la producción de orina pueden ser

malinterpretados y por lo tanto, no son indicadores fiables de hipoperfusión tisular en la anemia.<sup>49,50</sup>

Sería útil y conveniente que alguna prueba fisiológica o un conjunto de pruebas pudieran predecir qué pacientes se beneficiarán de la TGR. Desafortunadamente, en la actualidad no hay ninguna prueba o algoritmo que logre este propósito.

Los marcadores metabólicos de hipoperfusión tisular global, como el lactato sérico (indicador de metabolismo anaeróbico) y el déficit de base (marcador indirecto de la acidosis láctica), son fáciles de medir, pero su interpretación puede estar influenciada por una serie de condiciones, incluidas las terapias de reanimación. La saturación de oxígeno venoso mixto ha demostrado ser útil para orientar el tratamiento en cuidados intensivos, pero está limitada por la necesidad de monitorización invasiva usando un catéter en la arteria pulmonar o una línea central en la aurícula derecha. La saturación venosa de  $\text{O}_2$  central, que en la actualidad se ha utilizado para guiar la terapia dirigida por metas en pacientes adultos con choque séptico, puede causar confusión, debido a que se pueden encontrar valores elevados en la sepsis grave que se caracteriza por la baja extracción de  $\text{O}_2$ .

Por último, incluso en condiciones experimentales controladas al máximo, se ha encontrado que las pruebas metabólicas (contenido de ATP, relación fosfocreatina/ATP, contenido y producción de lactato) son marcadores insensibles para la disfunción cardíaca en la anemia.<sup>51</sup>



El juicio clínico que se basa en la experiencia y la perspicacia, se ve obstaculizado por la falta de procedimientos de diagnóstico o pruebas con suficiente valor predictivo para discernir el deterioro en la entrega tisular de oxígeno asociada a la anemia.<sup>33,52</sup>

La regla del 10/30, histórica y empírica, que ha sesgado por muchas décadas la práctica de la transfusión, fue propuesta en 1942 para mejorar los resultados en pacientes quirúrgicos con bajo riesgo anestésico.<sup>56</sup> Con demasiada frecuencia, la “regla” ha sido citada inadecuadamente y se aplica aún de manera demasiado amplia.

En la actualidad “el umbral de la transfusión” se basa en valores predefinidos de la concentración de Hb que se derivan de unos pocos estudios clínicos controlados aleatorios, varios estudios observacionales de cohortes, o en la opinión de expertos.<sup>53,54</sup>

“La hemoglobina baja” es, de lejos, la indicación más citada comúnmente para la transfusión, hasta en un 90% de los casos.<sup>23</sup> La decisión de TGR se basa a menudo en niveles de Hb o hematocrito sin fundamento: los niveles llamados “disparadores”,<sup>57</sup> un término que inadvertidamente implica la existencia de un nivel umbral de Hb por debajo del cual se debe iniciar la transfusión; umbral que sigue siendo incierto con los métodos de prueba actuales y el análisis de múltiples estudios de observación y unos cuantos estudios clínicos controlados aleatorizados (ECCA).<sup>33</sup> Desafortunadamente, en la decisión influyen también las regulaciones, el miedo a futuros litigios y las expectativas públicas más que la evidencia clínica.<sup>55</sup>

Los datos de estudios experimentales y clínicos han contribuido en gran medida a la comprensión de la fisiología de la anemia y han permitido orientar la elaboración de guías para la TGR; sin embargo la aplicación sistemática de estas guías en la práctica clínica corriente aun no se alcanza con éxito.

## Evidencia disponible en estudios clínicos

Un estudio multicéntrico de observación con 2.083 pacientes que rehusaron la transfusión de sangre por las creencias religiosas y se sometieron a una variedad de procedimientos quirúrgicos, demostró que el riesgo de muerte aumenta en la medida que la concentración de Hb disminuye. La tasa de mortalidad alcanzó el 34,4% cuando la concentración de Hb postoperatoria llegó a un nivel entre 4,1-5 g/dl. Después de ajustar por edad, enfermedad cardiovascular y el score APACHE II (Acute Physiology And Chronic Health Evaluation, un sistema que permite cuantificar la gravedad de la enfermedad a través de la valoración de variables fisiológicas que expresan la intensidad de la enfermedad y, por tanto, el estado clínico del paciente), para las personas con Hb postoperatoria inferior a 8 g/dl, cada gramo de disminución de la Hb resulta en un riesgo 2,5 veces mayor de muerte y una mayor morbilidad y mortalidad cuando la concentración de Hb disminuye por debajo de 6 g/dl.<sup>58</sup>

Una revisión retrospectiva de 50 muertes de pacientes Testigos de Jehová con condiciones médicas y quirúrgicas, identifica que 23 eran atribuibles

a la anemia. Todos los pacientes cuyas muertes fueron atribuibles a la anemia tenían niveles de Hb de 5 g/dl o menor. A pesar de ello, 25 pacientes sobrevivieron con Hb de 5 g/dl o menor.<sup>59</sup> Recientemente, un análisis retrospectivo investigó la relación entre la concentración más baja de Hb y el tiempo de la muerte. La mediana de días antes de la muerte entre las personas con Hb de 2 g/dl o menos fue un día; con Hb de 2,1-3,0 g/dl de 2,5 días; con Hb de 3,1-4,0 g / dl, de dos días y con Hb de 4,1-5,0 g / dl, de 11 días. Sólo el 10% de estos pacientes desarrollaron arritmias cardíacas que condujeron a la muerte. Estos datos sugieren que existe margen temporal para el tratamiento de la anemia profunda y que la ausencia de síntomas cardíacos subestima el precario desenlace clínico.<sup>60</sup>

Otros estudios en animales y humanos sometidos a hemodilución normovolémica indican que el DO crít oscila entre 4-10 ml/kg/minuto, mientras las Hb críticas respectivas oscilan entre 3,5-5,0 g/dl.<sup>61-65</sup>

En individuos voluntarios sanos conscientes con edades entre 19-33 años, que fueron sometidos a hemodilución hasta niveles de 5,0 g/dl o menos, el consumo de oxígeno no cambió en relación con la disminución de la resistencia vascular sistémica, el aumento del ritmo cardíaco, el volumen sistólico, y el índice cardíaco. Los investigadores concluyeron que no se llegó al DO<sub>2</sub> crít a pesar de disminuir la Hb hasta 5,0 g/dl.<sup>43</sup> Se ha descrito la pérdida de las funciones cognitivas, tales como el tiempo de reacción y la memoria inmediata y retardada, cuando la Hb se reduce a 5-6 g/d.<sup>66</sup>

Una revisión sistemática de la literatura que analizó 10 ECCA con un total de 1.780 pacientes en situaciones de cirugía, pérdida de sangre aguda, trauma y UCI, no encontró incrementos en la mortalidad, eventos cardiovasculares y la duración de la estancia hospitalaria en los pacientes tratados con una estrategia restrictiva de transfusión (mantener Hb entre 7-9 g/dl) y significó una reducción del 42% en las TGR y una disminución del volumen de glóbulos rojos transfundidos.<sup>67,68</sup>

Para explorar las necesidades de transfusión en cuidados críticos (TRICC) se realizó un ECCA prospectivo multicéntrico con 838 pacientes. Los pacientes se estratificaron de acuerdo con la gravedad de la enfermedad y el Apache II. De forma aleatoria se ubicó a los pacientes en dos grupos. El grupo restrictivo recibió transfusiones cuando la Hb disminuyó por debajo de 7,0 g/dl y se transfundió para mantenerla entre 7,0-9,0 g / dl. Los pacientes del grupo liberal recibieron transfusiones cuando la Hb cayó por debajo de 10,0 g/dl, y se mantuvo entre 10,0-12,0 g / dl. El nivel promedio de Hb al día en el grupo de estrategia restrictiva fue de 8,5 g/dl y 10,7 g/dl en el grupo de estrategia liberal. Los pacientes en la estrategia restrictiva recibieron 54% menos de unidades de GR que los del grupo liberal (2,6 vs 5,6; p = 0,01). La mortalidad por cualquier causa dentro de los 30 días en la UCI fue más baja en el grupo de estrategia restrictiva (18,7% vs 23,3%; p = 0,11); los eventos cardíacos, edema pulmonar y sobre todo el infarto de miocardio, se produjeron con más frecuencia en pacientes en el grupo liberal que en el grupo restrictivo (21,0%

vs 13,2%;  $p < 0,001$ ). Los análisis de subgrupos según la edad y Apache II demostraron que la tasa de mortalidad a 30 días fue menor (8,7% vs 16,1%;  $p = 0,03$ ) con la estrategia restrictiva en pacientes con Apache II de 20 o menos (es decir, menos enfermos) y en los menores de 55 años (5,77% vs 13,07%;  $p = 0,02$ ).<sup>15</sup> La mayor parte de los datos sobre resultados clínicos se derivan de esta investigación.

Si bien los resultados del estudio TRICC mostraron diferencias en mortalidad a 30 días entre los grupos de tratamiento restrictivo y tratamiento liberal, la validez y la interpretación de estos resultados han sido cuestionadas sobre la base de fallas en el diseño del estudio, en especial la aleatorización de los pacientes y la creación de grupos de tratamiento con umbrales de transfusión absolutos, que son contrarias a la práctica actual.<sup>69</sup>

No obstante, los datos TRICC mostraron la eficacia del uso de un umbral de Hb 7,0 g/dl combinado con el mantenimiento de la Hb entre 7,0 a 9,0 g/dl.

Un ECCA en población pediátrica estudió las tasas de transfusión y los resultados en 637 pacientes críticamente enfermos estables cuyos niveles de Hb estaban por debajo de 9,5 g/dl en los siete días de ingreso a la UCI. No hubo diferencias significativas en los eventos adversos y la mortalidad entre los 320 niños asignados al azar en el grupo de estrategia restrictiva con el umbral de transfusión de 7,0 g/dl, frente a los 317 en el grupo de estrategia liberal con el umbral de transfusión de 9,5 g/dl. Los del grupo restrictivo recibieron 44% menos TGR, y un porcentaje significativo de pacientes no recibieron transfu-

siones (54% vs 2% no transfundidos en los grupos restrictivo y liberal, respectivamente;  $p < 0,001$ ) Esto demostró tanto la seguridad como el beneficio de una estrategia de transfusión restrictiva en pacientes pediátricos, similar a la observada en adultos en cuidado crítico.<sup>17</sup>

Sin embargo, los estudios anteriores no se pueden extrapolar a pacientes con enfermedades cardíacas o lesiones estenóticas.

Los pacientes anémicos con enfermedad arterial coronaria plantean un gran dilema debido a las limitaciones del corazón para incrementar la  $EO_2$  y el flujo sanguíneo coronario. En ellos parece prudente evitar un aumento de la carga de trabajo cardíaco. Los estudios fisiológicos sugieren que el miocardio isquémico, a pesar de conservar la reserva inotrópica, se somete a una autorregulación protectora de la función contráctil en proporción a la disminución del flujo sanguíneo, que permite la adaptación metabólica en las zonas de perfusión coronaria comprometida.<sup>70</sup>

Un estudio retrospectivo con 78.974 beneficiarios de Medicare de más de 65 años de edad hospitalizados con infarto agudo de miocardio correlacionó el nivel del hematocrito a la admisión y la tasa de mortalidad. Los pacientes con valores más bajos de hematocrito a la admisión tenían mayores tasas de mortalidad a 30 días. Las transfusiones de sangre reducen la muerte en los grupos de pacientes con un hematocrito de 30% y posiblemente tan altos como 33%, pero se asocian con una mayor tasa de mortalidad a los 30 días en los pacientes con niveles de hematocrito por encima de 36% a la admisión.<sup>71</sup>

En contraste, un análisis del resultado de la transfusión en 24.112 pacientes participantes de varios ensayos clínicos que estudian el uso de agentes antiplaquetarios en el síndrome coronario agudo sin elevación del ST, encontró una tasa de mortalidad significativamente más alta a los 30 días en un grupo de 2.401 pacientes que recibieron transfusiones cuando los valores de hematocrito eran superiores al 25%. La asignación aleatoria de los grupos de pacientes para el estudio se produjo antes del sangrado relacionado con la terapia antiplaquetaria. La razón de riesgo (OR) de muerte a 30-días fue de 1,13 para hematocrito del 25% y de 1,59 para hematocrito del 20%, pero también se obtuvieron OR significativamente más altos, del orden de 1,69 y 2,92, para hematocritos del 30% y 35%, respectivamente.<sup>72</sup>

En la iniciativa nacional de mejora de la calidad Crusade, que incluyó a 74.271 pacientes con síndrome coronario agudo (SCA) sin elevación del segmento ST y que no fueron sometidos a cirugía cardíaca, el 10,3% recibieron una transfusión. Los pacientes transfundidos estaban más enfermos, con mayor probabilidad de sufrir insuficiencia cardíaca congestiva y tuvieron una mayor incidencia de sangrado. Les fue peor a aquellos que no fueron transfundidos, con un aumento de tres veces en la mortalidad e infarto agudo del miocardio.<sup>73</sup>

Un informe posterior con 44,242 pacientes encontró una menor mortalidad en pacientes transfundidos con un hematocrito menor o igual que 24%, sin efecto de la transfusión de sangre en los pacientes con valores de hemato-

crito de 24% a 27%, y una mayor morbilidad en los transfundidos con hematocrito de 27% a 30%.<sup>74</sup>

En otro estudio prospectivo para determinar los resultados de los pacientes con anemia y SCA e infarto sin elevación del ST, los pacientes transfundidos con niveles de hemoglobina inferiores a 9 g/dl tuvieron mejores resultados, aunque no significativos, en comparación con aquellos que no eran transfundidos.<sup>75</sup>

Un estudio con 41.637 pacientes con SCA incluidos en el estudio de Trombólisis en Infarto del Miocardio (TIMI), halló un incremento del riesgo de eventos cardiovasculares mayores asociados con diferentes umbrales de hemoglobina en pacientes con infarto de miocardio con elevación del ST (hemoglobina inferior a 14 g/dl y más de 17 g/dl), en comparación con el SCA sin elevación del segmento ST (hemoglobina inferior a 11g/dl y más de 16 g/dl).<sup>76</sup>

En un estudio prospectivo con 2.358 pacientes con infarto agudo de miocardio, la transfusión mejoró los resultados en seis meses en aquellos con Hb menor o igual que 8 g/dl (razón de riesgo, 0,13). Las transfusiones practicadas a niveles superiores a 8 g/dl se asociaron con una mayor mortalidad (razón de riesgo, 2,2). Los pacientes transfundidos eran mayores, con más alta proporción de mujeres y tenían más comorbilidades. Dos tercios de los pacientes transfundidos tuvieron un infarto con elevación del ST en comparación con el 82% de los no transfundidos. La Hb al ingreso fue baja, pero el 43% no tenía anemia. En general, la mortalidad a los seis meses fue ma-

yor en los pacientes transfundidos: el 28,1% vs 11,7%.<sup>77</sup> Las transfusiones en la insuficiencia cardíaca aguda descompensada redujeron la mortalidad a corto plazo en un estudio con 2.335 pacientes. Se observó una menor mortalidad a 30 días en aquellos que recibieron transfusiones (9,7% vs 18,4%;  $p = 0,08$ ), pero no hubo diferencias en las tasas de mortalidad al año (39% vs 43%) y a los cuatro años (73% vs 77%).<sup>78</sup>

En un modelo animal a unas ratas anémicas se les ligó la arteria coronaria. El tamaño del infarto se redujo y mejoró la función cardíaca en las que recibieron glóbulos rojos frescos para aumentar la Hb a 10,0 g/dl; mientras que la transfusión para aumentar la Hb por encima de 10,0 g/dl se asoció con mayor tamaño del infarto y no mejoró la sobrevida.<sup>79</sup>

A pesar de los datos contradictorios, los informes disponibles sugieren un mejor resultado al restringir la transfusión en los pacientes con síndrome coronario agudo y con 8 g/dl de Hb o hematocrito del 25%. No está claro si la transfusión afecta los resultados de acuerdo con la presencia o ausencia de elevación del segmento ST o infarto del miocardio.

Varios estudios realizados en pacientes anémicos con infarto agudo de miocardio no muestran ninguna mejoría en la mortalidad con las transfusiones al aumentar los niveles de hematocrito por encima del 25%;<sup>39</sup> otros informan mejores resultados con el aumento al 30%-33%. Sigue siendo difícil definir el “umbral de la transfusión”<sup>33</sup> cuando se consideran los factores de riesgo cardíacos.

En un estudio retrospectivo observacional con 1.958 pacientes quirúrgicos que rechazaron la TGR por razones religiosas, se encontró que la mortalidad general aumentó con la disminución de la Hb preoperatoria. El aumento de la mortalidad se produjo con niveles de Hb más altos en los pacientes con cardiopatía isquémica.<sup>80</sup>

Un estudio prospectivo de casos y controles con 50 pacientes en cirugía de revascularización miocárdica (CABG) y tratados con beta bloqueadores no mostró evidencia de isquemia miocárdica por ECG y ecocardiograma transesofágico al ser sometidos a la Hemodilución Normovolémica Aguda (HNA) hasta un hematocrito de 28%. A pesar de la reducción en la  $DO_2$  sistémica, la función sistólica y diastólica del ventrículo izquierdo y en general la contractilidad se mantuvo intacta.<sup>81</sup>

Del mismo modo, en 20 pacientes con enfermedad arterial coronaria asignados al azar para ser sometidos a HNA vs control (sin HNA), se encontró que la HNA hasta un nivel de hemoglobina de 8,6 g/dl fue bien tolerada. Estos resultados fueron atribuibles a los cambios hemodinámicos relacionados principalmente con la reducción de la viscosidad de la sangre, como un mayor retorno venoso central, aumento de la precarga cardíaca y aumento del gasto cardíaco.<sup>82</sup>

Estos hallazgos coinciden con los resultados obtenidos en un modelo de infarto miocárdico en ratas, las cuales fueron sometidas a la HNA hasta un hematocrito de 30% antes de la oclusión de la arteria coronaria izquierda seguida por 48 h de reperfusión, y se demostró un menor número de taquia-

ritmias ventriculares fatales, niveles más bajos de troponina I, disminución del tamaño del infarto y en general mayores tasas de supervivencia a las 48 h post-reperusión.<sup>83</sup>

El verdadero beneficio de mejorar la capacidad de transporte de oxígeno en estos pacientes a través de la TGR sólo se podrá determinar en futuros ECCA limitados a –o estratificados– para distintos grados de enfermedad cardíaca.

En un análisis retrospectivo que estudia los efectos de la transfusión perioperatoria en la mortalidad postoperatoria, y que incluyó a 8.787 pacientes ancianos sometidos a cirugía por fractura de cadera, se reportó que en los pacientes con niveles de Hb de 8,0 g/dl o más la transfusión postoperatoria no influyó en la mortalidad a 30 y 90 días después de ajustar el umbral que indica la transfusión por nivel de Hb, enfermedades cardiovasculares y otros factores de riesgo. La transfusión preoperatoria tampoco tuvo ningún impacto en la mortalidad a 30 días en pacientes con niveles de Hb 8,0 g/dl o más, lo que sugiere que un umbral de Hb de 8,0 g/dl es seguro en esta población.<sup>84</sup>

En otros grupos de pacientes sin enfermedad cardíaca se han informado otros umbrales diferentes para un aumento del riesgo cardiovascular de la anemia.

En una investigación prospectiva y randomizada se estudió la relación entre los niveles de Hb y los episodios de isquemia miocárdica en 190 pacientes ancianos sometidos a prostatectomía radical, asignados al azar a cualquiera de los siguientes procedimientos: donación autóloga preoperatoria, HNA, o una combinación de terapia con eri-

tropoyetina preoperatoria y HNA. En los pacientes que no tenían una enfermedad cardiovascular subyacente, los niveles postoperatorios de hematocrito menor de 28% se asociaron con un riesgo significativamente mayor de desarrollar isquemia miocárdica durante la cirugía y hasta 24 horas después de ella y los niveles de hematocrito fueron asociados con la duración de los episodios isquémicos. Después de ajustar otros factores de riesgo, el hematocrito menor que 28% y la taquicardia intraoperatoria se mostraron independientemente asociadas con el riesgo de isquemia miocárdica intraoperatoria y postoperatoria.<sup>85</sup>

Por el contrario, en otro estudio de individuos también sin enfermedad cardíaca conocida, que incluyó 20 pacientes mayores de 65 años, se demostró que se puede tolerar la hemodilución hasta un nivel de Hb de 8,8 g/dl, manteniendo el  $VO_2$  estable, sin cambios del segmento ST en la derivación II, a pesar de la aparición de una ligera desviación negativa del segmento ST en V5 que indica que este nivel de hemodilución puede estar cerca del umbral de la tolerancia en este grupo de pacientes.<sup>86</sup> Un pequeño estudio anterior prospectivo randomizado mostró similares efectos cardioprotectores de la HNA preoperatoria, a pesar de que la significación estadística no se logró por el tamaño de la muestra, en pacientes con enfermedad de las arterias coronarias programados para someterse a cirugía de la aorta.<sup>87</sup>

Por otro lado, en un estudio de cohorte prospectivo y observacional que incluyó 11.963 pacientes sometidos a cirugía CABG, la TGR se asoció con

un mayor riesgo de insuficiencia renal, asistencia respiratoria prolongada, infección grave, complicaciones cardíacas y neurológicas y mortalidad postoperatoria.<sup>88</sup>

En un estudio prospectivo, aleatorizado y controlado, que compara los resultados en 84 pacientes sometidos a CABG, asignados al azar para someterse a HNA hasta un nivel de Hcto del 28% en comparación con otros pacientes asignados al proceso estándar de atención, se encontró en los primeros niveles menores de troponina I y de creatinina fosfoquinasa postoperatorias, reducción de la necesidad de soporte inotrópico y un menor número de pacientes que con fibrilación auricular, bloqueo de la conducción auriculoventricular o ambos,<sup>89</sup> lo cual sugiere que los niveles de hematocrito por debajo de 28% en los pacientes sometidos a cirugía de bypass coronario confiere un efecto cardioprotector. Por otro lado, la información obtenida a partir de 2.202 pacientes que participaron en un estudio prospectivo observacional de pacientes en cirugía CABG con otros procedimientos cardíacos concurrentes o sin ellos reveló que los altos niveles de hematocrito (34% o más) al momento de la admisión en la UCI se asociaron con tasas significativamente más elevadas de infarto de miocardio y disfunción ventricular izquierda grave en comparación con los que tenían el hematocrito entre 25-33% o menores que 24% (8,3% vs 5,5% frente al 3,6%;  $p = 0,03$ , y 11,7% frente al 7,4% vs 5,7%,  $p = 0,006$ , respectivamente).<sup>90</sup> En el análisis multivariado, el hematocrito alto permaneció como un predictor independiente de resultados adversos.

Estos hallazgos podrían ser explicados por la mejora en el aporte de oxígeno debida a la reducción de la viscosidad. Sin embargo un estudio posterior, aunque encontró una tendencia, mas no una asociación significativa, entre el hematocrito alto (33% o más) a la entrada en la UCI y el aumento de la tasa perioperatoria de infarto del miocardio o la mortalidad hospitalaria, mostró que las transfusiones postoperatorias de GR y plasma fueron significativamente mayores en el grupo con bajo nivel de hematocrito (27% o menos), y no se puede descartar como un factor que contribuye a las tasas de mortalidad más bajas en este grupo con hematocrito bajo.<sup>91</sup>

Estos resultados en conjunto sugieren que si bien es cierto que los pacientes con enfermedad cardíaca pueden tener un mayor riesgo de resultados adversos asociados con la anemia, el riesgo se produce predominantemente en los niveles de hematocrito por debajo de 28%, mientras que, por el contrario, un nivel de hematocrito por encima de 33-34% puede acarrear un mayor riesgo de peores resultados, y esto se debe tener en cuenta en las decisiones para indicar la TGR.

El estudio The Transfusion Trigger Trial for Functional Outcomes in Cardiovascular Patients Undergoing Surgical Hip Fracture Repair (FOCUS) es un ECCA multicéntrico diseñado para determinar si al subir los umbrales de la transfusión se afectan la recuperación, la morbilidad y la mortalidad en pacientes ancianos con riesgo cardiovascular subyacente. El resultado primario explorado fue la muerte o la incapacidad para caminar por la habi-

tación sin ayuda a los 60 días. El estudio incluyó 2.016 pacientes con edad promedio de 81,6 años, de los cuales 82% eran hipertensos, 40% tenían enfermedad de la arteria coronaria y 25%, diabetes mellitus. Los pacientes en el grupo asignado a recibir la transfusión cuando la Hb cayera por debajo de 10 g/dl tenían niveles de hemoglobina de 9,2 g/dl antes de la transfusión. Los asignados al grupo que recibió transfusiones cuando se presentaron síntomas o cuando la Hb fue menor que 8 g/dl recibieron transfusiones cuando tenían en promedio 7,9 g/dl. La tasa de mortalidad fue mayor en el primer grupo (7,6% vs 6,5%, 99% IC 0,76 a 1,86). Las tasas de reingreso hospitalario y las reducciones en las puntuaciones de fatiga fueron similares. La investigación concluyó que los pacientes ancianos con riesgo cardiovascular con el umbral de Hb inferior (sintomático) no presentaron resultados adversos en los parámetros estudiados.<sup>18</sup>

En un ECCA multicéntrico de pacientes mayores de 55 años sometidos a cirugía electiva de cadera y artroplastia de rodilla, los pacientes fueron asignados a los grupos de estrategia restrictiva (8 g/dl) o liberal (10 g/dl) de la transfusión y evaluados para isquemia miocárdica silenciosa con control continuo del ECG antes y después de la cirugía. La isquemia silenciosa cardíaca posoperatoria ocurrió por igual en los dos grupos: en 19% de los pacientes con niveles medios de Hb postoperatoria de 9,9 g/dl en el grupo de terapia restrictiva, y en un 24% en el grupo liberal con los niveles medios de Hb posoperatoria de 11,1 g/dl. No se observaron diferencias en la estancia posoperatoria. Este

resultado apoya el uso de una política restrictiva de la transfusión.<sup>92</sup>

Un estudio prospectivo observacional con 15.534 pacientes que ingresaron a un centro Nivel I de trauma mostró que la transfusión es un fuerte predictor independiente de mortalidad, ingreso en la UCI y estancia en la UCI y en el hospital después de estratificar por el nivel de lactato sérico, déficit de bases, anemia y el índice de choque.<sup>93</sup> Un análisis de un subgrupo de 203 pacientes del estudio TRICC con traumatismos en su mayoría cerrado, encontró que la tasa de mortalidad a 30 días por cualquier causa fue similar: 10% en el grupo restrictivo y 9% en el de transfusión liberal.<sup>94</sup> En el caso de trauma adulto se recomienda la aplicación de una estrategia restrictiva, excepto en pacientes con infarto agudo de miocardio o isquemia cardíaca inestable, cuyo nivel sugerido es de 8 g/dl de Hb. El uso de un umbral de transfusión bajo es subestimado a favor de la evaluación del volumen intravascular, la duración y el grado de anemia y la reserva cardiopulmonar.<sup>54</sup>

Las recomendaciones para transfusión en trauma han sido formuladas principalmente con base en los estudios observacionales y la opinión de expertos, más que en los resultados de estudios aleatorizados y controlados.

Los estudios indican que son funestas las consecuencias de una anemia profunda (Hb de 5-6 g/dl), como lo demuestra un importante aumento en la tasa de mortalidad en pacientes de cirugía de trauma.<sup>58,80,84</sup>

En los quemados, un análisis de estudios de cohorte retrospectivo multicéntrico con 666 pacientes, evidenció



que la transfusión está asociada con una mayor mortalidad y con un creciente número de episodios infecciosos reportados por cada unidad de sangre transfundida, después de hacer los ajustes con los índices de gravedad de la quemadura.<sup>26</sup>

El análisis de un subgrupo del estudio TRICC que incluyó 713 pacientes que recibían ventilación mecánica no arrojó diferencias en la duración promedio en días de la ventilación mecánica entre los grupos con estrategia restrictiva y estrategia liberal de la transfusión. No se observaron diferencias en el éxito de la extubación durante al menos 24 horas (82% vs 78%, respectivamente;  $p = 0,19$ ). En general, el estudio no mostró una disminución de la duración de la ventilación mecánica en los pacientes que mantenían un alto nivel de Hb.<sup>95</sup> De los 4.892 pacientes en el estudio CRÍT, el 60% fueron sometidos a ventilación mecánica y recibieron un promedio de 4,9 unidades de GR para mantener los niveles de Hb de 8,7 g/dl, un nivel umbral de Hb más alto que en pacientes no ventilados. Los médicos prescriben, al parecer, las transfusiones con el concepto subjetivo de “hemoglobina baja”.<sup>95</sup> El cerebro tiene altos requerimientos metabólicos de oxígeno; el flujo sanguíneo cerebral aumenta en pacientes anémicos. Con niveles de Hb de 3,5 g/dl, el  $VO_2$  cerebral no se logra compensar mediante un incremento del aporte de oxígeno, lo que lleva al metabolismo anaeróbico.<sup>96</sup> La función cognitiva disminuye a medida que los niveles de Hb caen a 5-6 g/dl.<sup>43</sup>

Este nivel de hemoglobina correlaciona con la evidencia experimental que muestra un aumento del RNA men-

sajero de la sintetasa neuronal cortical de ON, que parece conduce a la vasodilatación. Se conoce que las transfusiones incrementan variablemente la oxigenación cerebral local en pacientes anémicos con hemorragia subaracnoidea o daño cerebral traumático.<sup>97-99</sup>

## Conclusiones y recomendaciones

La TGR es ampliamente utilizada en el tratamiento de la anemia, aunque los umbrales adecuados para la TGR siguen siendo controvertidos. A pesar de que las modalidades terapéuticas deben ser objeto de una evaluación rigurosa de su eficacia y seguridad antes de emplearlas en la práctica clínica, la TGR no se ha sometido a un examen similar. Además de las complicaciones ya conocidas de la transfusión, numerosos estudios indican que la TGR se puede asociar con resultados desfavorables.

Los pocos resultados concluyentes y datos no controvertidos hasta la fecha no han superado las dificultades que han impedido los intentos anteriores de establecer una política o guía para la TGR.<sup>67</sup>

Otros aspectos importantes a considerar para el futuro incluyen el papel de la edad de los pacientes y las comorbilidades en los resultados de la TGR, dada la escasez de evidencia actualmente disponible sobre estos factores.

Los pacientes ancianos suelen tener un mayor riesgo de ser transfundidos,<sup>6</sup> pero la base fisiológica de una mayor necesidad de transfusión de sangre en estos pacientes no está totalmente establecida, aunque podría estar relacionada

con una mayor prevalencia de comorbilidades<sup>100</sup>. La elección de un umbral de Hb de 8g/dl o 9 g/dl es quizá el más común para la TGR, aunque es probable que le falte significancia clínica.<sup>68</sup>

A pesar de estas limitaciones y la ausencia de respuestas definitivas, los médicos a menudo no tienen otra opción que las guías de consenso.<sup>54</sup>

Las recomendaciones relacionadas con el “umbral” de transfusión consideran una concentración de Hb inferior a 7 g/dl como “razonable”. Las transfusiones de más de 10 g/dl no se recomiendan incluso en pacientes críticos, con comorbilidad isquémica no cardíaca, incluidas las que afectan el sistema nervioso central o el gastrointestinal. Durante la circulación extracorpórea con hipotermia moderada, la transfusión está indicada en niveles por debajo de 6 g/dl, excepto para los pacientes con riesgo isquémico por historia de accidente cerebrovascular, diabetes mellitus o estenosis de la carótida en quienes el umbral de transfusión aumenta a 7 g/dl. La transfusión es razonable para los niveles de Hb posoperatorios por debajo de 7 g/dl.

Sobre la base de los pocos ECCA y varios estudios de observación, la preponderancia de los datos admite la restricción de la TGR cuando la Hb o el hematocrito son superiores a los 8 g/dl o 25%, respectivamente. Por el momento, el foco para maximizar la eficacia de la transfusión se centra en la TGR en el umbral de hemoglobina 7-8 g/dl en la mayoría de los entornos clínicos. En los pacientes con síndromes coronarios agudos y en el infarto agudo

de miocardio, las transfusiones con hematocritos por encima del 25% pueden ser perjudiciales y el hematocrito superior a 33% también es peligroso.

Estas recomendaciones reflejan opiniones basadas en gran parte en estudios observacionales no aleatorizados, con falta de uniformidad en algunas variables que incluyen los umbrales de Hb-hematocrito, intervalos de almacenamiento de GR, prácticas de reducción de leucocitos, heterogeneidad de la población de pacientes y en muchos casos la transfusión actúa como un marcador que identifica a los pacientes más enfermos o aquellos que se someten a cirugías más extensas.

En la construcción del “estándar de atención”, las guías de consenso y las revisiones a menudo no representan la verdadera práctica clínica actual, y varios ejemplos ilustran su ineficacia en la modificación de la práctica clínica.<sup>101-104</sup> Casi dos tercios de los médicos informan que regularmente transfunden GR en situaciones probablemente innecesarias,<sup>105</sup> y existe una amplia variación en las prácticas de transfusión con respecto al peso que se le atribuye a los factores clínicos utilizados en la toma de decisiones, lo cual también dificulta la caracterización de la práctica actual.<sup>106</sup>

Las futuras investigaciones clínicas deben determinar con suma prioridad la eficacia de la TGR en los escenarios calificados como inciertos. En ausencia de datos, es prudente que la TGR se administre con precaución en estos escenarios clínicos.

## Referencias

1. AABB. The 2007 national blood collection and utilization survey report. <http://www.aabb.org/programs/biovigilance/nbcus/Documents/07nbcusrpt.pdf>. Accessed April 15, 2011
2. Keyes K. Update: Blood banking products. *Clin Lab Prod*. 2008;11:13-14.
3. Anderson S, Menis M, O'Connell K, et al. Blood use by inpatient elderly population in the United States. *Transfusion* 2007;47:582-92.
4. Wallis JP, Wells AW, Chapman CE: Changing indications for red cell transfusion from 2000 to 2004 in the North of England. *Transfus Med* 2006; 16:411-417
5. Yazer M, Triulzi D: Messages from national blood data collection reports. *Transfusion* 2007; 47:366 -368
6. Cobain TJ, Vamvakas EC, Wells A, et al: A survey of the demographics of blood use. *Transfus Med* 2007; 17:1-15
7. Kamper-Jørgensen M, Edgren G, Rostgaard K, et al. Blood transfusion exposure in Denmark and Sweden. *Transfusion* 2009;49:888-94.
8. Shortt J, Polizzotto M, Waters N, et al. Assessment of the urgency and deferability of transfusion to inform emergency blood planning and triage: The Bloodhound prospective audit of red blood cell use. *Transfusion* 2009;49:2296-303.
9. Vincent JL, Piagnerelli M: Transfusion in the intensive care unit. *Crít Care Med* 2006; 34:S96-S101
10. Rodriguez RM, Corwin HL, Gettinger A, et al: Nutritional deficiencies and blunted erythropoietin response as causes of the anemia of critical illness. *J Crít Care* 2001; 16:36-41
11. Corwin HL, Parsonnet KC, Gettinger A: RBC transfusion in the ICU. Is there a reason? *Chest* 1995; 108:767-771
12. Pham JC, Catlett CL, Berenholtz SM, et al: Change in use of allogeneic red blood cell transfusions among surgical patients. *J Am Coll Surg* 2008; 207:352-359
13. Joseph B, Hendry C, Walsh T. Red blood cell use outside the operating theater: A prospective observational study with modeling of potential blood conservation during severe blood shortages. *Transfusion* 2009;49:2060-9.
14. Marik PE, Corwin HL: Efficacy of red blood cell transfusion in the critically ill: a systematic review of the literature. *Crít Care Med* 2008; 36:2667-2674
15. Hebert PC, Wells G, Blajchman MA, et al: A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. Transfusion Requirements in Critical Care Investigators, Canadian Critical Care Trials Group. *N Engl J Med* 1999; 340:409-417
16. Hebert PC, Yetisir E, Martin C, et al: Is a low transfusion threshold safe in critically ill patients with cardiovascular diseases? *Crít Care Med* 2001; 29:227-234
17. Lacroix J, Hebert PC, Hutchison JS, et al: Transfusion strategies for patients in pediatric intensive care units. *N Engl J Med* 2007; 356:1609-1619
18. Carson J, Terrin M, Magaziner J, et al. LBA-6 Transfusion Trigger Trial for Functional Outcomes in Cardiovascular Patients Undergoing Surgical Hip Fracture Repair (FOCUS): The Principle Results. Paper presented at the 51<sup>st</sup> Annual Meeting of the American Society of Hematology, December 5-9, 2009.
19. Napolitano LM, Corwin HL: Efficacy of red blood cell transfusion in the critically ill. *Crít Care Clin* 2004; 20:255-268
20. Madjdpour C, Spahn DR: Allogeneic red blood cell transfusion: Physiology of oxygen transport. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2007; 21:163-171
21. Vincent JL, Sakr Y, De BD, et al: Efficacy of allogeneic red blood cell transfusions. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2007; 21: 209-219
22. Fernandes Jr CJ, Akamine N, De Marco FV, et al: Red blood cell transfusion does not increase oxygen consumption in critically ill septic patients. *Crít Care* 2001; 5:362-367
23. Corwin HL, Gettinger A, Pearl RG, et al: The CRÍT study: anemia and blood transfusion in the critically ill—current clinical practice in the United States. *Crít Care Med* 2004; 32:39-52

24. Vincent JL, Baron JF, Reinhart K, et al: Anemia and blood transfusion in critically ill patients. *JAMA* 2002; 288:1499-1507
25. Hill GE, Frawley WH, Griffith KE, et al: Allogeneic blood transfusion increases the risk of postoperative bacterial infection: a meta-analysis. *J Trauma* 2003; 54:908-914
26. Palmieri TL, Caruso DM, Foster KN, et al: Effect of blood transfusion on outcome after major burn injury: A multicenter study. *Crít Care Med* 2006; 34:1602-1607
27. Stone TJ, Riesenman PJ, Charles AG: Red blood cell transfusion within the first 24 hours of admission is associated with increased mortality in the pediatric trauma population: A retrospective cohort study. *J Trauma Manag Outcomes* 2008; 2:9-13
28. Vamvakas EC, Blajchman MA. Transfusion-related mortality: the ongoing risks of allogeneic blood transfusion and the available strategies for their prevention. *Blood*. 2009;113:3406-3417.
29. Tinmouth A, Fergusson D, Yee I, et al for the ABLE Investigators and the Canadian Critical Care Trials Group. Clinical consequences of red cell storage in the critically ill. *Transfusion* 2006;46:2014-27.
30. Klein H, Spahn D, Carson J. Red blood cell transfusion in clinical practice. *Lancet* 2007; 370:415-26.
31. Winslow R, Intaglietta M. Red cell age and loss of function: Advance or SNO-job? *Transfusion* 2008;48:411-14.
32. Jensen F. The dual roles of red blood cells in tissue oxygen delivery: Oxygen carriers and regulators of local blood flow. *J Exp Biol* 2009; 122:3387-93.
33. Wang J, Klein H. Red blood cell transfusion in the treatment and management of anemia: The search for the elusive transfusion trigger. *Vox Sang* 2010;98:2-11.
34. Lieberman J, Weiskopf R, Kelley S, et al. Critical oxygen delivery in conscious humans is less than 7.3 ml O<sub>2</sub>. kg<sup>-1</sup>. min<sup>-1</sup>. *Anesthesiology* 2000;92:407-13.
35. Ronco J, Fenwick J, Tweeddale M, et al. Identification of the critical oxygen delivery for anaerobic metabolism in critically ill septic and nonseptic humans. *JAMA* 1993;270:1724-30.
36. Madjdpour C, Spahn D. Allogeneic red blood cell transfusions: Efficacy, risks, alternatives and indications. *Br J Anaesthesiol* 2005; 95:33-42.
37. Madjdpour C, Spahn D, Weiskopf R. Anemia and perioperative red blood cell transfusion: A matter of tolerance. *Crít Care Med* 2006; 34: S102-S108.
38. Anand IS. Heart failure and anemia: Mechanisms and pathophysiology. *Heart Fail Rev* 2008;13:379-86.
39. Gerber D. Transfusion of packed red blood cells in patients with ischemic heart disease. *Crít Care Med* 2008;36:1068-74.
40. Nohara R. Diagnosis with O<sub>2</sub> kinetics. Old but new. *Circulation J* 2009;73:1795-6.
41. de Korte D, Kleine M, Korsten HG, et al. Prolonged maintenance of 2,3-diphosphoglycerate acid and adenosine triphosphate in red blood cells during storage. *Transfusion* 2008;48:1081-9.
42. Van Woerkens EC, Trouwborst A, van Lanschot JJ: Profound hemodilution: what is the critical level of hemodilution at which oxygen delivery-dependent oxygen consumption starts in an anesthetized human? *Anesth Analg* 1992; 75:818-821
43. Weiskopf RB, Viele MK, Feiner J, et al: Human cardiovascular and metabolic response to acute, severe isovolemic anemia. *JAMA* 1998; 279:217-221
44. Weiskopf RB, Feiner J, Hopf HW, et al: Oxygen reverses deficits of cognitive function and memory and increased heart rate induced by acute severe isovolemic anemia. *Anesthesiology* 2002; 96:871-877
45. Weiskopf RB, Feiner J, Hopf H, et al: Fresh blood and aged stored blood are equally efficacious in immediately reversing anemia induced brain oxygenation deficits in humans. *Anesthesiology* 2006; 104:911-920
46. Geha AS, Baue AE: Graded coronary stenosis and coronary flow during acute normovolemic anemia. *World J Surg* 1978; 2:645-651
47. Spahn DR, Smith LR, Veronee CD, et al: Acute isovolemic hemodilution and blood transfusion. Effects on regional function and metabolism in myocardium with compromised coronary blood flow. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 105:694-704

48. Levy PS, Kim SJ, Eckel PK, et al: Limit to cardiac compensation during acute isovolemic hemodilution: influence of coronary stenosis. *Am J Physiol* 1993; 265:H340–H349
49. Maar SP: Searching for the Holy Grail: a review of markers of tissue perfusion in pediatric critical care. *Pediatr Emerg Care* 2008; 24:883–887
50. Vallet B, Adamczyk S, Barreau O, et al: Physiologic transfusion triggers. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2007; 21:173–181
51. Arai AE, Grauer SE, Anselone CG, et al: Metabolic adaptation to a gradual reduction in myocardial blood flow. *Circulation* 1995; 92:244–252
52. Filho I, Spiess B, Pittman R, et al. Experimental analysis of critical oxygen delivery. *Am J Physiol Heart Cir Physiol* 2005;288:H1071-9.
53. Ferraris V, Ferraris S, Saha S, et al, for the Society of Thoracic Surgeons Blood Conservation Guideline Task Force; Spiess B, Short-Lesserson L, Stafford-Smith M, et al, for the Society of Cardiovascular Anesthesiologists Special Task Force on Blood Transfusion. Perioperative blood transfusion and blood conservation in cardiac surgery: The Society of Thoracic Surgeons and The Society of Cardiovascular Anesthesiologists Clinical Practice Guideline. *Ann Thorac Surg* 2007;83: 27-86.
54. Napolitano L, Kurek S, Luchette F, et al. Clinical practice guideline: Red blood cell transfusion in adult trauma and critical care. *Crit Care Med* 2009;37:3124-57.
55. Vamvakas EC: Evidence-based practice of transfusion medicine: Is it possible and what do the words mean? *Transfus Med Rev* 2004; 18:267-278
56. Adam RC, Lundy JS: Anesthesia in cases of poor risk. Some suggestions for decreasing the risk. *Surg Gynecol Obstet* 1942; 74:1011–1101
57. Friedman BA, Burns TL, Schork MA: An analysis of blood transfusion of surgical patients by sex: a question for the transfusion trigger. *Transfusion* 1980; 20:179–188
58. Carson JL, Noveck H, Berlin JA, et al. Mortality and morbidity in patients with very low postoperative Hb levels who decline blood transfusion. *Transfusion* 2002;42:812-18.
59. Viele MK, Weiskopf RB: What can we learn about the need for transfusion from patients who refuse blood? The experience with Jehovah's Witnesses. *Transfusion* 1994; 34:396–401
60. Tobian A, Ness P, Noveck H, et al. Time course and etiology of death in patients with severe anemia. *Transfusion* 2009;49:1395-9.
61. Wilkerson DK, Rosen AL, Lakshman R, et al. Limits of cardiac compensation in anemic baboons. *Surgery* 1988;103:665-70.
62. Cain SM. Oxygen delivery and uptake in dogs during anemic and hypoxic hypoxia. *J Appl Physiol* 1977;42:228-34.
63. Adams RP, Dieleman A, Cain SM. A critical value for O<sub>2</sub> transport in the rat. *J Appl Physiol* 1982;53:660-4.
64. Rasanen J. Supply-dependent oxygen consumption and mixed venous oxyhemoglobin saturation during isovolemic hemodilution in pigs. *Chest* 1992;101:1121-4.
65. Van der Linden, Schmartz D, De Groote F, et al. Critical hemoglobin concentration in anesthetized dogs: Comparison of two plasma substitutes. *Br J Anaesthesiol* 1998;81:556-62.
66. Weiskopf RB, Kramer JH, Viele M, et al. Acute severe isovolemic anemia impairs cognitive function and memory in humans. *Anesthesiology* 2000; 92:1646-52.
67. Hill SR, Carless PA, Henry DA, et al: Transfusion thresholds and other strategies for guiding allogeneic red blood cell transfusion. *Cochrane Database Syst Rev* 2002; 2:CD002042
68. Carson JL, Hill S, Carless P, et al: Transfusion triggers: a systematic review of the literature. *Transfus Med Rev* 2002; 16:187–199
69. Deans KJ, Minneci PC, Suffredini AF, et al: Randomization in clinical trials of titrated therapies: unintended consequences of using fixed treatment protocols. *Crit Care Med* 2007; 35:1509–1516
70. Guth BD, Schulz R, Heusch G: Time course and mechanisms of contractile dysfunction during acute myocardial ischemia. *Circulation* 1993; 87:IV35–42
71. Wu WC, Rathore SS, Wang Y, et al. Blood transfusion in elderly patients with acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001;345: 1230-6.

72. Rao S, Jollis J, Harrington R, et al. Relationship of blood transfusion and clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes. *JAMA* 2004;292:1555-62.
73. Yang X, Alexander K, Chen A, et al. The implications of blood transfusions for patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. *Journal of the Am Coll Cardiol* 2005; 46:1490-5.
74. Alexander K, Chen A, Wang T, et al. Transfusion practice and outcomes in non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. *Am Heart* 2005;155:1047-53.
75. Singla I, Zahid M, Good C, et al. Impact of blood transfusions in patients presenting with anemia and suspected acute coronary syndrome. *Am J Cardiol* 2007;99:1119-21.
76. Sabatine MS, Morrow DA, Giugliano RP, et al. Association of hemoglobin levels with clinical outcomes in acute coronary syndromes. *Circulation* 2005; 111:2042-2049
77. Aronson D, Dann E, Bonstein L, et al. Impact of red blood cell transfusion on clinical outcomes in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2008;102:115-19.
78. Garty M, Cohen E, Zuchenko A, et al. Blood transfusion for acute decompensated heart failure— friend or foe? *Am Heart J* 2009;158: 653-8.
79. Hu H, Xenocostas A, Chin-Yee I, et al. Effects of anemia and blood transfusion in acute myocardial infarction in rats. *Transfusion* 2010; 50:243-51.
80. Carson JL, Duff A, Poses RM, et al: Effect of anaemia and cardiovascular disease on surgical mortality and morbidity. *Lancet* 1996; 348:1055-1060
81. Licker M, Ellenberger C, Sierra J, et al: Cardiovascular response to acute normovolemic hemodilution in patients with coronary artery diseases: assessment with transesophageal echocardiography. *Crít Care Med*2005; 33:591-597
82. Licker M, Sierra J, Tassaux D, et al: Continuous haemodynamic monitoring using transoesophageal Doppler during acute normovolaemic haemodilution in patients with coronary artery disease. *Anaesthesia* 2004; 59:108-115
83. Licker M, Mariethoz E, Costa MJ, et al: Cardioprotective effects of acute isovolemic hemodilution in a rat model of transient coronary occlusion. *Crít Care Med* 2005; 33:2302-2308
84. Carson JL, Duff A, Berlin JA, et al: Perioperative blood transfusion and postoperative mortality. *JAMA*1998; 279:199-205
85. Hogue CWJr, Goodnough LT, Monk TG: Perioperative myocardial ischemic episodes are related to hematocrit level in patients undergoing radical prostatectomy. *Transfusion*1998; 38:924-931
86. Spahn DR, Zollinger A, Schlumpf RB, et al: Hemodilution tolerance in elderly patients without known cardiac disease. *Anesth Analg* 1996; 82:681-686
87. Catoire P, Saada M, Liu N, et al : Effect of preoperative normovolemic hemodilution on left ventricular segmental wall motion during abdominal aortic surgery. *Anesth Analg* 1992; 75:654-659
88. Koch CG, Li L, Duncan AI, et al: Morbidity and mortality risk associated with red blood cell and blood-component transfusion in isolated coronary artery bypass grafting. *Crít Care Med* 2006; 34:1608-1616
89. Licker M, Ellenberger C, Sierra J, et al: Cardioprotective effects of acute normovolemic hemodilution in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Chest* 2005; 128:838-847
90. Spiess BD, Ley C, Body SC, et al: Hematocrit value on intensive care unit entry influences the frequency of Q-wave myocardial infarction after coronary artery bypass grafting. The Institutions of the Multicenter Study of Perioperative Ischemia (McSPI) Research Group. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998; 116:460-467
91. Klass O, Mehlhorn U, Zilkens K, et al: Impact of hematocrit value after coronary artery surgery on perioperative myocardial infarction rate. *Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 50:259-265.
92. Grover M, Talwalkar S, Casbard A, et al. Silent myocardial ischemia and hemoglobin concentration: A randomized controlled trial of transfusion strategy in lower limb arthroplasty. *Vox Sang* 2006;90:105-17.

93. Malone DL, Dunne J, Tracy JK, et al: Blood transfusion, independent of shock severity, is associated with worse outcome in trauma. *J Trauma* 2003; 54:898–905
94. McIntyre L, Hébert PC, Wells G, et al. Is a restrictive transfusion strategy safe for resuscitated and critically ill trauma patients? *J Trauma* 2004;57:563-8.
95. Walsh T, Maciver C. A clinical scenario-based survey of transfusion decisions for intensive care patients with delayed weaning from mechanical ventilation. *Transfusion* 2009;49: 2661-7.
96. Hare G. Anaemia and the brain. *Curr Opin Anaesthesiol* 2004;17:363-9.
97. Leal-Noval S, Ricón-Ferrari M, Marin-Niebla A, et al. Transfusion of erythrocyte concentrates produces a variable increment on cerebral oxygenation in patients with severe traumatic brain injury. *Intensive Care Med* 2006;32:1733-40.
98. Zygun D, Nortje J, Hutchinson P, et al. The effect of red blood cell transfusion on cerebral oxygenation and metabolism after severe traumatic brain injury. *Crit Care Med* 2009;37: 1074-8.
99. Sharma D, Vavilala M. Transfusion improves cerebral oxygenation . . . but not always. *Crit Care Med* 2009;37:1166-7.
100. Beyer I, Compte N, Busuioc A, et al: Anemia and transfusions in geriatric patients: A time for evaluation. *Hematology* 2010; 15:116 121
101. Kosecoff J, Kanouse DE, Rogers WH, et al: Effects of the national institutes of health consensus development program on physician practice. *JAMA* 1987;258:2708–2713
102. Lomas J, Anderson GM, Domnick-Pierre K, et al: Do practice guidelines guide practice? The effect of a consensus statement on the practice of physicians. *NEnglJ Med* 1989; 321:1306–1311
103. Hill MN, Levine DM, Whelton PK: Awareness, use, and impact of the 1984 Joint National Committee consensus report on high blood pressure. *Am J Public Health* 1988; 78:1190–1194
104. Eisenstaedt RS: Modifying physicians' transfusion practice. *Transfus Med Rev* 1997; 11:27–37
105. Salem-Schatz S, Avorn J, Soumerai SB: Influence of clinical knowledge, organizational context, and practice style on transfusion decision making. Implications for practice change strategies. *JAMA* 1990; 264:476–483
106. Brown RL, Brown RL, Edwards JA, et al: Variation in a medical faculty's decisions to transfuse. Implications for modifying blood product utilization. *Med Care* 1992; 30:1083–1096





# Sustitutos de glóbulos rojos

ENRIC CONTRERAS BARBETA \*

VIRGINIA CALLAO MOLINA \*\*

JOSÉ GARCÍA ARROBA \*\*\*

## Introducción

Una disminución significativa del número de hematíes circulantes puede llegar a ocasionar una inadecuada liberación de oxígeno a los tejidos y comprometer el normal funcionamiento de órganos y sistemas. Las transfusiones de hematíes tienen como objetivo restablecer la capacidad de transporte de oxígeno para asegurar una correcta perfusión y oxigenación tisular, que minimize, en lo posible, los daños derivados de una situación de isquemia.

Aunque las primeras transfusiones de sangre humana tuvieron lugar hace casi doscientos años, no se convirtieron en un procedimiento terapéutico habitual hasta hace aproximadamente sesenta años. Desde entonces, las ne-

\* *Director Territorial de Tarragona. Banc de Sang i Teixits. Hospital Universitari Joan XXIII, Tarragona. Profesor de la Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, España.*

\*\* *Médica Especialista en Hematología y Hemoterapia. Doctora en Medicina y Cirugía. Jefe de sección. Servicio de Inmunohematología. Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana. Valencia, España*

\*\*\* *Banc de Sang i Teixits. Hospital Universitari Joan XXIII, Tarragona, España.*

cesidades de componentes sanguíneos no dejan de incrementarse cada año.

Por otra parte, si bien es cierto que los continuos esfuerzos en el área de la seguridad transfusional nos proporcionan componentes sanguíneos cada vez más seguros, también lo es que la transfusión sigue comportando un riesgo residual.<sup>1,2</sup> Es evidente que se ha avanzado mucho en la reducción del riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas, sobre todo en relación con los virus, aunque en otros campos el progreso es claramente insuficiente. En Estados Unidos se calcula que el riesgo de transmisión transfusional de los virus más comunes (VHB, VHC, VIH o HTLV) es de 1 a 4 por cada millón de unidades, mientras que el riesgo de que ocurra un error en una transfusión es de 1 por cada 14.000 unidades transfundidas.<sup>3</sup> Conclusiones similares se pueden hallar en el último informe del SHOT (Serious Hazards Of Transfusion), sistema de hemovigilancia del Reino Unido, en el que se corrobora que el riesgo de transmisión de enfermedades víricas por la transfusión es muy pequeño, pero no así el de otros efectos adversos, como la transfusión de un componente inadecuado, el daño pulmonar agudo relacionado con la transfusión (TRALI), la contaminación bacteriana de las plaquetas y otros.<sup>4</sup>

Además del riesgo derivado de una transfusión, hemos de tener en cuenta otros inconvenientes íntimamente relacionados con la transfusión alogénica, como son la incompatibilidad entre diferentes grupos sanguíneos, la necesidad de efectuar pruebas de laboratorio pretransfusionales para garantizar al

máximo la compatibilidad entre donante y receptor, las estrictas condiciones de conservación, la caducidad de los componentes sanguíneos y los problemas de abastecimiento. En este sentido, cabe destacar que algunos países han constatado que el incremento anual de las donaciones de sangre es inferior al incremento de las necesidades transfusionales, lo que se traduce, si no se pone remedio a esta situación, en problemas de abastecimiento de componentes sanguíneos a hospitales.

El incremento de las necesidades de componentes sanguíneos, así como el riesgo derivado de la transfusión, que tanto cuantitativa como cualitativamente no es despreciable, justifican los esfuerzos encaminados a reducir la transfusión alogénica. La investigación de sustancias artificiales como alternativas a los componentes sanguíneos tradicionales constituye una de las líneas de trabajo más importantes en este sentido.<sup>5-13</sup>

## Definición

Podemos definir los sustitutos artificiales de los hematíes como aquellas sustancias que, administradas por vía intravenosa, una vez en el torrente circulatorio contribuyen de forma significativa a la oxigenación tisular y, además, ayudan a mantener el volumen intravascular, a incrementar el flujo de la microcirculación y a estabilizar el equilibrio ácido/básico. Las características del sustituto ideal de los hematíes se detallan en la Tabla 1.

Existen dos líneas de investigación principales en el campo de los sustitutos artificiales de los hematíes: la que

parte del propio transportador natural de oxígeno, la hemoglobina, y aquella que trabaja con productos perfluorocarbonados, sustancias que presentan una buena capacidad para transportar oxígeno.

Las diferencias fundamentales entre ambos tipos de productos son la estructura molecular, el patrón de captación y cesión de oxígeno y CO<sub>2</sub>, el mecanismo de transporte, el proceso de fabricación y el costo.

**Tabla 1.** Propiedades del sustituto ideal de los glóbulos rojos

- Posibilidad de esterilización
  - No transmisión de enfermedades infecciosas
- Ausencia de antígenos de grupo sanguíneo
  - No necesidad de tipaje
  - No necesidad de pruebas de compatibilidad pretransfusionales
  - No inducción de respuesta inmune
  - No inducción de respuesta alérgica
- Estabilidad
  - Facilidad de conservación y almacenaje
- Características farmacocinéticas
  - Administración sencilla y rápida
  - Permanencia prolongada en la circulación
  - Ausencia de toxicidad
  - Fácil eliminación
- Económico

## Transportadores de oxígeno basados en la hemoglobina (HBOC)

El conocimiento de la capacidad de la hemoglobina de transportar oxígeno de forma reversible, así como la ausencia de antígenos eritrocitarios, han provocado su utilización, como punto de partida, en diferentes líneas de investigación encaminadas a encontrar el sustituto ideal de la sangre humana.<sup>14-16</sup>

Los primeros intentos de uso de la hemoglobina procedente de hematíes humanos lisados se remontan a casi cien años y fracasaron debido a la toxicidad renal irreversible que producía.

El conocimiento de que la *nefrotoxicidad* no era provocada directamente por la hemoglobina sino que era consecuencia de la contaminación de la solución por sustancias de naturaleza lipídica procedentes del estroma de la membrana eritrocitaria, fue uno de los primeros pasos importantes, que condujo a la preparación de las primeras soluciones de hemoglobina purificadas, libres de estroma, que no generaban nefrotoxicidad.

El siguiente problema importante está provocado por la gran *inestabilidad* de la molécula de hemoglobina, que condiciona una vida media plasmática extremadamente corta, así como

importantes efectos secundarios<sup>17</sup> derivados de la disociación de la molécula tetramérica.

De forma similar a la hemoglobina nativa, algunos transportadores de oxígeno basados en la hemoglobina (HBOC) o complejos HBOC:Haptoglobina se ligan al receptor CD163 del macrófago; se produce endocitosis y, mediante degradación lisosómica, el heme se separa de la globina. A partir del heme se produce CO, hierro y bilirrubina. El hierro induce la síntesis de la ferritina. Las hemoglobinas modificadas con menor peso molecular se unen más al CD163, produciéndose degradación en el sistema mononuclear fagocítico.<sup>18</sup>

Desde hace más de veinte años se está trabajado en diversas soluciones, tanto de origen humano como animal, aunque todas las líneas de investigación pasan por la estabilización de la molécula de hemoglobina mediante diferentes técnicas,<sup>19,20</sup> entre las que podemos destacar:

- Hemoglobina estabilizada mediante enlaces intramoleculares.
- Polímeros de hemoglobina: Estabilización mediante enlaces intermoleculares.
- Hemoglobina conjugada.
- Hemoglobina encapsulada en las vesículas liposómicas.

Otra importante línea de investigación es la basada en la obtención de hemoglobina humana recombinante, mediante técnicas de ingeniería genética.

### Hemoglobina estabilizada mediante enlaces intramoleculares

La hemoglobina es un tetrámero que se puede disociar en dímeros, que se

pueden excretar por el riñón y produce daño renal. Se puede incrementar la estabilidad del tetrámero de hemoglobina mediante la inclusión de enlaces covalentes internos que actúan a modo de puentes y refuerzan la unión entre las subunidades, dificultando de esta manera la disociación y alargando la vida media intravascular. Las principales moléculas empleadas para formar los enlaces covalentes son la *diaspirina* y la *rafinosa*.

Las dos soluciones de este tipo que han presentado resultados más esperanzadores en los ensayos clínicos han sido HemAssist<sup>®</sup> y Hemolink<sup>®</sup>, aunque en ambos casos se han suspendido los ensayos clínicos en fase III por la detección de fenómenos de toxicidad.

HemAssist<sup>®</sup> (*Diaspirin cross linked hemoglobin*) es un producto de origen humano desarrollado por la compañía estadounidense Baxter Healthcare. La molécula presenta una buena resistencia a la disociación del tetrámero, hecho que alarga su vida media intravascular y reduce su toxicidad renal. En los ensayos con modelos animales los resultados fueron muy esperanzadores y se observa una buena respuesta hemodinámica tras la administración después de hemorragias de diferentes grados. Los primeros ensayos fase I para valorar seguridad se realizaron en voluntarios sanos y comparando con solución de Ringer lactato, y los principales efectos adversos detectados fueron: dolor abdominal reversible, incremento de la lactato deshidrogenasa (LDH; en especial de la isoenzima LDH-5, presente en el hígado y en el músculo no cardíaco), incremento reversible de la tensión arterial (significativo única-

mente en la TA diastólica). Las conclusiones de estos ensayos fueron que la administración de HemAssist® era bien tolerada, sin evidencia de toxicidad o disfunción orgánica importante. Otros ensayos demostraron la ausencia de inmunogenicidad. Los ensayos clínicos continuaron, hasta que fueron suspendidos al detectarse un incremento significativo de la mortalidad en un ensayo en fase III en el que se administraba la solución a pacientes con choque hemorrágico traumático grave.<sup>21</sup>

Hemolink® es una solución de hemoglobina humana estabilizada mediante *o*-rafínosa (Hemoglobina rafímero), desarrollada por la compañía Hemosol de Canadá. Al igual que lo ocurrido con el producto anterior, los resultados de los ensayos de seguridad (Fase I) fueron satisfactorios y los estudios de eficacia realizados mostraban resultados esperanzadores,<sup>22,23</sup> pues demostraron que su uso propiciaba un ahorro, aunque poco importante, de la transfusión alogénica en pacientes de cirugía cardíaca.<sup>24,25</sup> Los ensayos clínicos fueron suspendidos al detectarse incremento de los efectos adversos de origen cardíaco en el grupo de pacientes tratados con hemoglobina rafímero.<sup>26</sup>

### Hemoglobina polimerizada

La presencia de lisina en la superficie de la molécula de hemoglobina facilita la polimerización mediante la formación de enlaces intermoleculares, para evitar el efecto tóxico de la extravasación. El resultado es la formación de polímeros de hemoglobina de diferente peso molecular y estructura, hecho que dificulta la eliminación renal e

incrementa la vida media intravascular (hasta 24-48 horas), pero limita la administración repetida por la acumulación plasmática.

El PolyHeme®, desarrollado por Northfield Laboratorios, de Estados Unidos, es una solución de hemoglobina obtenida a partir de hematíes humanos, tratada con piridoxal fosfato para reducir su afinidad por el oxígeno y polimerizada mediante *glutaraldehído*. Es una sustancia iso-oncótica con el plasma, y que presenta una vida media de aproximadamente 24 h.

Los estudios en fase I han demostrado un buen perfil de seguridad y, aunque se dispone de pocos estudios de eficacia, algunos estudios no aleatorizados muestran que la utilización de PolyHeme® reduce la mortalidad en hemorragia aguda grave cuando se compara con series históricas.<sup>27</sup> Hay casos publicados en los que su uso ha podido contribuir a la supervivencia de pacientes en circunstancias extremas.<sup>28</sup>

Sin embargo, un ensayo clínico multicéntrico, aleatorizado, en fase III para valorar la seguridad y la eficacia de PolyHeme® en la administración inmediata de pacientes que presentan choque hemorrágico de origen traumático, ha concluido que su administración no aporta ventajas en cuanto a supervivencia ni ahorro de transfusiones, e incluso presenta una mayor tasa de efectos adversos.<sup>29</sup>

Dentro de este grupo se encuentra también la HBOC-201 (Hemopure®), solución de hemoglobina de origen bovino, desarrollada por la compañía estadounidense Biopure. El origen bovino le confiere una menor afinidad por el oxígeno, por lo que únicamente es necesario estabilizar la molécula mediante

la polimerización, que se realiza con *glutaraldehído*.

El gobierno sudafricano aprobó en el año 2001 el uso de Hemopure<sup>®</sup> en enfermos con anemia aguda y como alternativa a la transfusión en situaciones de falta de disponibilidad de sangre humana.

Los ensayos clínicos realizados con Hemopure<sup>®</sup> no muestran resultados homogéneos. En un estudio multicéntrico en pacientes quirúrgicos no se observó reducción de la transfusión alogénica cuando se comparaba con la administración de solución de lactato de Ringer;<sup>30</sup> en cambio, se mostró eficaz en la reducción de la transfusión alogénica en enfermos intervenidos de cirugía cardíaca.<sup>31</sup> Un ensayo multicéntrico fase III que valoraba la eficacia y la seguridad del Hemopure<sup>®</sup> en cirugía traumatológica electiva concluyó que su uso eliminaba la transfusión en la mayoría de los sujetos. En el análisis de seguridad se presentaban mayor número de efectos adversos por paciente en el grupo de Hemopure<sup>®</sup> que en los pacientes que recibían transfusión; probablemente, relacionado con la edad del paciente (más de 80 años), sobrecarga de volumen y subtratamiento. Los pacientes de menos de 80 años pueden evitar las transfusiones durante el tratamiento con un máximo de 10 unidades de Hemopure<sup>®</sup>.<sup>32</sup> Según otro estudio en fase III, el Hemopure<sup>®</sup> produce una leve disfunción plaquetaria, medida por el PFA-100.

### Hemoglobina conjugada

La presencia de lisina en la superficie de la hemoglobina también facilita su

unión con macromoléculas inertes, produciéndose tetrámeros conjugados que incrementan el peso molecular y estabilizan la molécula original, lo que dificulta su disociación. Las macromoléculas más utilizadas son el *dextrano*, el *polietilenglicol* (PEG) y el *polioxi-etileno*. Uno de los compuestos que en estos momentos está en una fase de investigación más avanzada es el Hemospan<sup>®</sup>, producto desarrollado por la compañía Sangart de Estados Unidos. Se trata de una solución de hemoglobina conjugada con polietilenglicol (PEG). Un ensayo clínico reciente en Fase I concluye que el producto presenta un buen perfil de seguridad.<sup>33</sup> En otro ensayo en fase III se postula una nueva estrategia, basada en dos principios: a) el aumento del tamaño macromolecular debido a la cubierta de PEG conduce a un alargamiento del tiempo intravascular de la hemoglobina modificada; y b) el PEG confiere mayor afinidad por el oxígeno y el MP4 (Hemospan) facilita la liberación de oxígeno en los capilares.

La hemoglobina se une al óxido nítrico (NO) en el mismo sitio que el O<sub>2</sub>. La unión de NO a las hemoglobinas modificadas se relacionaba con aumento de la tensión arterial, ya que se producía vasoconstricción al no poder ejercer el NO su efecto vasodilatador. La conjugación de hemoglobina con PEG no aumentaba la presión sanguínea. La adición de cadenas PEG incrementa el tamaño de las moléculas de hemoglobina suficientemente para prevenir la extravasación, pero lleva a perder O<sub>2</sub>.

En condiciones de hipoxia, la reducción de nitrito llega a compensar la

fuelle de NO, convirtiendo Fe (II) del heme en Fe (III), que no une O<sub>2</sub> ni NO. La capacidad del producto PEG-modificado para promover la formación de NO podría minimizar los incrementos de tensión arterial.<sup>34</sup>

### Hemoglobina encapsulada

La encapsulación de hemoglobina en liposomas constituye la línea de investigación más cercana a los hematíes artificiales. Los primeros intentos de encapsulación de hemoglobina libre datan de 1957.

Los liposomas, formados por fosfolípidos no inmunógenos, son vesículas esféricas que contienen un medio interno acuoso, en el que se puede incluir 2,3-DPG para mejorar la capacidad de oxigenación.

Los principales problemas detectados en estas soluciones han sido una vida media intravascular corta (2-3 horas), la formación de metahemoglobina y la activación del complemento. Para mejorar estos aspectos se ha procedido a modificar la superficie molecular utilizando sustancias de carga eléctrica negativa, como el polietilenglicol e incorporando a las vesículas liposomales enzimas, como la metahemoglobin reductasa para reducir la formación de metahemoglobina. Los primeros ensayos clínicos de seguridad en animales han proporcionado resultados esperanzadores.

Los Neo red cells son liposomas de hemoglobina con 2,3-difosfoglicerato, catalasa y superóxido dismutasa. Tienen una membrana de polímeros bio-

degradables que permite mayor estabilidad en almacenaje y durante la infusión endovenosa. El TRM-645 está en fase preclínica, en estudios con animales.

### Hemoglobina humana recombinante

Se ha conseguido la síntesis de hemoglobina humana por diferentes microorganismos, como *Escherichia coli*, levaduras o plantas, genéticamente modificados. La mayor ventaja derivada del uso de productos recombinantes radica en que, por el hecho de no partir de hemoglobina humana, se asegura que el producto está libre de virus y de restos de membrana eritrocitaria, lo que evita que actúe como transmisor de estas enfermedades y también efectos adversos de tipo inmune. La capacidad de transporte de oxígeno es teóricamente la misma que la que presenta la hemoglobina humana. No obstante, los primeros ensayos clínicos efectuados han sido suspendidos debido a la aparición de efectos adversos importantes, principalmente vasoconstricción.

Una línea de investigación derivada de la obtención de hemoglobina recombinante es la síntesis de una hemoglobina mutante, con una afinidad alterada para el óxido nítrico, que evitará, al menos parcialmente, algunos efectos adversos como la hipertensión y la vasoconstricción. Los estudios se encuentran aún en fase preclínica.

En la Tabla 2 se resume el estado actual de las principales soluciones artificiales de hemoglobina.

**Tabla 2.** Estado actual de las principales soluciones artificiales de hemoglobina

Producto	Compañía	Origen	Tipo	Estado
HemAssist®	Baxter	Humano	Hb estabilizada (Diaspirina)	Fase III (suspendido)
Hemolink®	Hemosol	Humano	Hb estabilizada (Rafinosa)	Fase III (suspendido)
Hemopure®	Biopure	Bovino	Hb polimerizada (Glutaraldehído)	Uso aprobado en Sudáfrica
PolyHeme®	Northfield	Humano	Hb polimerizada (Glutaraldehído)	Fase III
Hemospan®	Sangart	Humano	Hb conjugada (PEG)	Fase III
Optro®	Baxter	E. Coli	Hb recombinante	Fase II (suspendido)
RbHb2.0	Baxter	E. Coli	Hb recombinante	Preclínico
TRM-645	Tokio Universities	Humano	Hb encapsulada	Preclínico

## Transportadores de oxígeno basados en perfluoro-carbonos (PFC)

Los perfluorocarbonos son compuestos hidrocarbonados lineales, cíclicos o policíclicos en los que los átomos de hidrógeno ha sido substituidos por átomos de fluorina. Poseen una gran capacidad para disolver gases como oxígeno y dióxido de carbono. Como ejemplo: la solubilidad del oxígeno en PFC es 8-10 veces mayor que en el agua. Se trata de un proceso “pasivo” en el que las moléculas de oxígeno ocupan “cavidades” en el líquido, sin que exista interacción química. Por otra parte, a diferencia de la característica curva sigmoidea de la unión del O<sub>2</sub> a la hemoglobina, este proceso sigue una curva lineal: la cantidad de O<sub>2</sub> disuelto en PFC líquido es

directamente proporcional a la presión parcial de este gas (Ley de Henry) .<sup>35</sup>

Existen dos compuestos con mayor aplicación en biología: *perfluorodecalín* (alcano perfluorinado bicíclico - C<sub>10</sub>F<sub>18</sub>) y *perflubron* (bromoperfluoro-n-octano, en forma líneal - C<sub>8</sub>F<sub>17</sub>Br). Son líquidos química y biológicamente inertes, y esta propiedad los hace no reactivos con el organismo y capaces de eliminarse vía respiratoria. Son incoloros e inodoros y presentan fuerzas intermoleculares débiles, por lo que exhiben tensiones superficiales bajas. Los PFC líquidos son extremadamente hidrofóbicos, por lo que para su administración intravascular se deben preparar como emulsiones estables, lo que implica añadir sustancias con efecto surfactante (poloxámeros, fosfolípidos de yema de huevo o triglicéridos)<sup>36</sup>.

**Tabla 3.** Ventajas e inconvenientes de los perfluorocarbonos

Ventajas	Inconvenientes
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Facilidad de producción</li> <li>• Costos de producción bajos</li> <li>• Larga caducidad</li> <li>• Mínimo riesgo infeccioso</li> <li>• Mínima inmunogenicidad</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Necesidad de emulsificación</li> <li>• Partículas de tamaño heterogéneo</li> <li>• Necesidad de FiO<sub>2</sub> altas</li> <li>• Escasa capacidad de transporte de O<sub>2</sub> a PO<sub>2</sub> fisiológica</li> <li>• Rápido aclaramiento plasmático</li> </ul>



## Evolución de los estudios con perfluorocarbonos

Los PFC se estudiaron por primera vez en la década de los sesenta como transportadores biológicos de gases: estos experimentos, realizados en ratones, se publicaron en 1966 en la revista *Science* (Clark y Gollan) y un año después en la revista *Nature* (Sloviter y Kamimoto).

Los primeros ensayos en humanos se realizaron a partir de 1978. Las primeras aplicaciones biomédicas de estos compuestos se llevaron a cabo en la enfermedad pulmonar del prematuro y como suplementos para la oxigenación de cultivos celulares. También se han utilizado en cirugía oftalmológica y como agentes de contraste en diagnóstico por ultrasonidos. Sin embargo, la aplicación más atractiva es su uso como “sustitutos artificiales de la sangre”: diferentes trabajos han demostrado su capacidad para transportar y suministrar oxígeno a los tejidos.<sup>37,38</sup>

El primer PFC en emulsión comercializado para su utilización en humanos como transportador de O<sub>2</sub> fue Fluosol<sup>®</sup> (Green Cross Corporation, Osaka, Japan), una co-emulsión al 20% de perfluorodecalín y perfluorotripropylamina con Pluronic F-68 (poloxámero188) y fosfolípidos de huevo como agentes emulsionantes. Se aprobó en EEUU y Europa en 1989-90 como aplicación en la angioplastia coronaria y como conservante de los órganos humanos “ex vitro” previamente al trasplante. Dejó de fabricarse en 1994 por su escaso beneficio clínico (baja capacidad de transporte de O<sub>2</sub> en condiciones fisiológicas, reducida vida media intravascular y dificultad en la eliminación). Sin embargo, el Fluosol<sup>®</sup> se considera como

un producto de primera generación que ha servido de base para desarrollar nuevas y mejoradas formulaciones. Otros productos de primera generación son Perftoran<sup>®</sup> (Rusia) y Emulsion No.II<sup>®</sup> (China).

Posteriormente se han desarrollado compuestos de 2<sup>a</sup> generación (Fluxon<sup>®</sup> (Europa), Neo-PFC<sup>®</sup> (Japón), Oncosol<sup>®</sup>, Oxyfluor<sup>®</sup> y Oxygent<sup>®</sup> (U.S.A.) y otros. Estos productos se caracterizan por: 1) Aumento del contenido en PFC (de hasta un 76%) y por tanto de la capacidad de transporte de oxígeno; 2) Mejor estabilidad y vida media más alta, así como mejores condiciones de almacenamiento (no requieren congelación); y 3) Utilización de fosfolípidos como surfactante, en vez de poloxámeros, con una reducción de efectos indeseables.

En la Tabla 3 se presentan las ventajas e inconvenientes de los perfluorocarbonos.

## Aplicaciones y situación actual de los perfluorocarbonos

Numerosos estudios clínicos han demostrado que los PFCs pueden suponer una alternativa válida a la transfusión alogénica, sobre todo en pacientes quirúrgicos. Sin embargo, la dificultad en la evaluación de su seguridad ha limitado su aplicación clínica

### Perftoran<sup>®</sup>

Los resultados de un estudio con Perftoran<sup>®</sup> aplicado a más de 2.000 pacientes con anemia, hemorragia post-traumática, isquemia cerebral y cirugía cardiaca, mostraron buenos resultados en cuanto a la reducción del daño isquémico, reducción del edema y mejoría

hemodinámica. No queda claro cuáles fueron la dosis utilizada ni los efectos adversos detectados. Este compuesto se aprobó para uso clínico en 1996 por el ministerio de Sanidad de Rusia y también en Ucrania y México (2005).

### Oxygent®

Oxygent® (AF0144; Alliance Pharmaceutical, San Diego, CA) es el compuesto que ha demostrado tener el futuro más prometedor como transportador de oxígeno. Contiene un 58% de perflubron y un 2% de perfluorodecyl bromide, estabilizados con fosfolípidos de yema de huevo. El perflubron es una molécula muy lipofílica debido a la presencia de un átomo de bromina terminal, por lo que tiene una capacidad de excreción bastante rápida (4-5 días).

La emulsión Oxygent® es capaz de transportar tres veces más cantidad de O<sub>2</sub> que el fluosol y tiene una vida media intravascular más prolongada, características importantes para su aplicación clínica.

Los ensayos fase II con Oxygent® comenzaron en USA y Europa en 1995-96 y demostraron beneficios del producto como fluido de oxigenación tisular transitorio en pacientes de cirugía de alto riesgo hemorrágico.

En un reciente estudio europeo fase III, la administración de Oxygent® combinada con la hemodilución normovolemica ha demostrado ser beneficiosa para reducir la transfusión alogénica en pacientes de cirugía mayor electiva no cardíaca con grandes pérdidas sanguíneas (superiores a 20 ml/kg).<sup>39</sup> Oxygent® ha demostrado también su efectividad en mantener la oxigenación tisular y reducir las pérdidas sanguíneas en pacientes de cirugía cardiaca con *by-pass* cardio-pulmonar, así como en mejorar la función gastrointestinal en el post-operatorio. Actualmente los ensayos clínicos con este producto se han suspendido temporalmente por falta de soporte económico.<sup>40</sup>

En la Tabla 4 se presenta el estado actual de los principales PFC.

**Tabla 4.** Estado actual de los principales PFC<sup>41</sup>

Producto	Compañía	Molécula de PFC	Fase
Fluosol DA	Green Cross (Osaka, Japan)	Perfluorodecalín Perfluoropropylamine	Aprobación: 1990 Retirada: 1994
Oxygent	Alliance (San Diego, CA, U.S.A.)	Perflubron	Fase II/III (suspendidos)
S-9156	Sonus Corp. (Seattle, WA, U.S.A.)	Dodecafluoropentano	Preclínica
PHER-02	Sanguine Corp. (Pasadena, CA, USA)	Similar a Fluosol	Preclínica
Perftoran	Perftoran (St.Petersburg, Russia)	Perfluorodecalin Perfluorometilciclohexin -piperidin	Uso aprobado en Rusia, Ucrania y México
Oxycyte PFC	Synthetic blood internat. (Kettering, OH, U.S.A.)	Terbutylperfluorocyclohexane	Fase II 2009 en marcha
Oxyfluor	HemaGen (St. Louis, MO, U.S.A.)	Perfluorodicloro octano	Fase III 2001 (suspendido)

## Seguridad clínica de los perfluorocarbonos

En general, la toxicidad relacionada con los PFC comprende trombocitopenia, activación del complemento y liberación de citocinas, bloqueo del sistema retículo-endotelial, síntomas gripales y efectos en el SNC.

Los primeros estudios para valorar la seguridad clínica de Oxygent® (fase I) se basaron en administrar el producto vía endovenosa a voluntarios sanos (dosis de 1.2 -1.8 g PFC/Kg de peso), y no se encontraron efectos adversos importantes: síndrome pseudogripal, trombopenia leve transitoria asociada al uso de dosis altas. Estos síntomas se atribuyen a la interacción del producto con el sistema monocito-macrófago y la liberación de interleukina-6, y se han descrito con otros compuestos como Fluosol®.

En un estudio japonés fase III (2001), en pacientes de cirugía cardíaca, se evidenció un aumento en la aparición de accidentes cerebrovasculares en el grupo tratado con Oxygent® que obligó a suspender el estudio, sin poder establecerse una clara relación causal con el producto.<sup>42</sup>

La eficacia de estos productos está claramente demostrada; sin embargo, probar su seguridad es más difícil ya que: 1) Los estudios preclínicos no siempre reflejan las posibles toxicidades adaptadas a los humanos; 2) En los ensayos clínicos, muchos de los pacientes incluidos tienen patologías de base que favorecen la aparición de efectos adversos; y 3) El “*trigger*” para la administración de estos productos no está claramente establecido.

## Conclusiones

De acuerdo con la evidencia científica disponible, el papel actual de las hemoglobinas modificadas y de los coloides transportadores de oxígeno es mínimo, y en la práctica se limita a suplir a las transfusiones de hematíes en estudios puntuales y en situaciones de falta de disponibilidad de componentes sanguíneos humanos.

No obstante, aunque el papel actual de los sustitutos artificiales de los hematíes es poco relevante, es probable que en un futuro no muy lejano las líneas de investigación abiertas den sus frutos y se consiga un producto capaz de incrementar la oxigenación tisular con un buen perfil de seguridad.<sup>43</sup>

## Referencias

1. Lowe KC, Ferguson E. Benefit and risk perceptions in transfusion medicine: blood and blood substitutes. *J Intern Med* 2003; 253: 498-507.
2. Spahn DR, Casutt M. Eliminating blood transfusions. *Anesthesiology* 2000; 93: 242-55.
3. Spiess BD. Risks of transfusion: outcome focus. *Transfusion* 2004; 44(12 Suppl): 4S-14S
4. The Serious Hazards of Transfusion Group. SHOT Annual Report 2010. <http://www.shot-uk.org>
5. Winslow RM. Current status of blood substitute research: towards a new paradigm. *J Intern Med* 2003; 253: 508-17.
6. Frietsch T, Lenz C, Waschke KF. Artificial Oxygen carriers. *Eur J Anaesthesiol* 1998; 15: 571-84.
7. Chang TM. Future generations of red blood cell substitutes. *J Intern Med* 2003; 253: 527-35.
8. Goodnough LT, Shander A, Brecher ME. Transfusion medicine: looking to the future. *Lancet* 2003; 361: 161-9.

9. Cohn SM. Alternatives to blood in the 21<sup>st</sup> century. *Critical Care* 2004; 8 (suppl 2): S15-S17.
10. Kjellström BT. Blood substitutes: where do we stand today? *J Intern Med* 2003; 253: 495-7
11. Moore FA, McKinley BA, Moore EE. The next generation in choque resuscitation. *Lancet* 2004; 363: 1988-96.
12. Schöler M, Frietsch T, Jambor C, Knels R. [Artificial blood - coming soon or never reaching clinical maturity?]. *Dtsch Med Wochenschr* 2010;135:575-81.
13. Barbosa FT, Jucá MJ, Castro AA, Duarte JL, Barbosa LT. Source Artificial oxygen carriers as a possible alternative to red cells in clinical practice. *Sao Paulo Med J* 2009;127:97-100.
14. Creteur J, Vincent JL. Hemoglobin solutions. *Crit Care Med* 2003; 31: S698-S707.
15. Spahn DR. Artificial Oxygen carriers: status 2002. *Vox Sang* 2002; 83(Suppl. 1): 281-285.
16. Reid TJ. Hb-based oxygen carriers: are we there yet ? *Transfusion* 2003; 43: 280-287.
17. Buehler PW, Alayash AI. Toxicities of Hemoglobin solutions: in search of in-vitro and in-vivo model systems. *Transfusion* 2004; 44: 1513-30.
18. Habler OP, Messmer KF. Tissue perfusion and oxygenation with blood substitutes. *Adv Drug Deliv Rev* 2000;40:171-84.
19. Friedman HI, Devenuto F, Kervin A et al. Hemoglobin Solutions as blood substitutes. *J Invest Surg* 2000; 13: 79-94.
20. Greenburg AG, Kim HW. Hemoglobin-based oxygen carriers. *Critical Care* 2004; 8 (suppl. 2); 61-4.
21. Schubert A, Przybelski RJ, Eidt JF et al. Diaspirin cross-linked Hemoglobin reduces blood transfusion in noncardiac surgery: a multicenter, randomized, controlled, double-blinded trial. *Anesth Analg* 2003; 97: 323-32.
22. Hill SE, Gottschalk LI, Grichnik K. Safety and preliminary efficacy of Hemoglobin raffimer for patients undergoing coronary artery bypass surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2002; 16 : 695-702.
23. Leytin V, Mazer D, Mody M et al. Hemo-link, an o-raffinose cross-linked haemoglobin-based oxygen carrier, does not affect activation and function of human platelets in whole blood in vitro. *British Journal of Haematology* 2003; 120: 535-41.
24. Cheng DC, Mazer CD, Martineau R et al. A phase II dose-response study of hemoglobin raffimer (Hemolink) in elective coronary artery bypass surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004;127:79-86.
25. Greenburg AG, Kim HV, Hemolink study group. Use of an oxygen therapeutic as an adjunct to intraoperative autologous donation to reduce transfusion requirements in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *J Am Coll Surg* 2004;198:373-83; discussion 384-5.
26. Sloan EP, Koenigsberg M, Gens D et al. Diaspirin cross-linked Hemoglobin (DCLHb) in the treatment of severe traumatic hemorrhagic choque: a randomized controlled efficacy trial. *JAMA* 1999; 282; 1857-64.
27. Gould SA, Moore EE, Hoyt DB et al. The life-sustaining capacity of human polymerized hemoglobin when red cells might be unavailable. *J Am Coll Surg* 2002; 195: 445-52
28. C. Cothorn, E.E. Moore, P.J. Offner et al. Blood substitute and erythropoietin therapy in severely anemic Jehovah's Witness. *N Engl J Med* 2002; 346: 1097-8.
29. E.E. Moore, F.A. Moore, T.C. Fabian et al. Human Polymerized Hemoglobin for the Treatment of Hemorrhagic Choque when Blood Is Unavailable: The USA Multicenter Trial. *J Am Coll Surg* 2009; 208: 1-13.
30. Sprung J, Kindscher JD, Wahr JA et al. The use of bovine Hemoglobin glutamer-250 (Hemopure) in surgical patients: results of a multicenter, randomized, single blinded trial. *Anesth Analg* 2002; 94: 799-808.
31. Levy JH, Goodnough LT, Greilich PE et al. Polymerized bovine hemoglobin solution as a replacement for allogeneic red blood cell transfusion after cardiac surgery: results of a randomized, double blind trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 12: 35-42.
32. Jahr JS, Mackenzie C. HBOC-201 as an alternative to blood transfusion: efficacy and safety evaluation in a multicentre phase III

- trial in elective orthopaedic surgery. *J Trauma* 2008 ; 64: 1484-97.
33. Björkholm M, Fagrell B, Przybelski R et al. A phase I single blind clinical trial of a new oxygen transport agent (MP4), human haemoglobin modified with maleimide-activated polyethylene glycol. *Haematologica* 2005; 90: 505-15.
  34. Kluger R. Red cell substitutes from haemoglobin- Do we start all over again? *Current Opinion in Chemical Biology* 2010, 14:538-43.
  35. Lowe KC. Review. Engineering blood: synthetic substitutes from fluorinated compounds. *Tissue Engineering* 2003; 9:389-99.
  36. Alternativas a la transfusión de componentes sanguíneos. Programa de ahorro de transfusión de sangre alógena. Sustitutos artificiales de la sangre. En: L. Barbolla, E. Contreras, M.M. Pujol (eds) *Manual práctico de medicina transfusional*. Madrid: FEHH 2002.
  37. Lane TA. Perfluorochemical-based artificial oxygen carrying red cell substitutes. *Transfu Sci* 1995;16:19-31.
  38. Habler OP, Messmer KF. Tissue perfusion and oxygenation with blood substitutes. *Adv Drug Deliv Rev* 2000;40:171-84.
  39. Spahn DR, Waschke KF, Standl T et al. Use of perflubron emulsion to decrease allogenic blood transfusion in high blood-loss non-cardiac surgery: results of a european phase 3 study. *Anesthesiology* 2002;97: 1338-49.
  40. Ries JG. Understanding the fundamentals of perfluorocarbons and perfluorocarbon emulsions relevant to in vivo oxygen delivery. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol.*2005; 33(1): 47-63.
  41. Kim HW, Greenburg AG. Artificial oxygen carriers as red blood cell substitutes: a selected review and current status. *Artif Organs.* 2004 Sep; 28(9): 813-828.
  42. Thygesen C, Spahn DR. Current status of artificial O<sub>2</sub> carriers. *Anesthesiol Clin North America* 2005;23:373-89.
  43. Stowell CP. What ever happened to blood substitutes? *Transfusion* 2004; 44: 1403-1404.



# Los grupos sanguíneos plaquetarios y su importancia clínica

EDUARDO MUÑIZ DÍAZ\*  
CARMEN CANALS\*\*  
NURIA NOGUÉS\*\*\*

## Introducción

El interés por la inmunohematología plaquetaria ha aumentado de manera notable en los últimos años. La utilización combinada de técnicas serológicas, inmunoquímicas y moleculares ha permitido el descubrimiento de nuevos antígenos, definir su localización glicoproteica y secuenciar el genoma que codifica para la mayoría de estos polimorfismos que constituyen los sistemas de grupos sanguíneos plaquetarios. El avance tecnológico acontecido durante este periodo ha mejorado los niveles del diagnóstico y del tratamiento de los procesos inmunes relacionados con los antígenos que estas células expresan.

\* *Jefe de la División de Inmunohematología. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España. Presidente de la Comisión de Hemovigilancia de Cataluña, España. Asesor del Ministerio de Sanidad (Madrid) para la Hemovigilancia en Europa. Miembro del "Working group on definitions" de la Comisión Europea, Bruselas, Bélgica.*

\*\* *Facultativa Adjunta. Laboratorio de Inmunohematología. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España.*

\*\*\* *Facultativa Adjunta. Laboratorio de Inmunohematología. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España.*

## Aloantígenos plaquetarios

Las plaquetas comparten algunos aloantígenos (ABH, Le, I, P y moléculas HLA de clase I) con otras células y tejidos y además poseen otros cuya expresión queda relativamente restringida a ellas, por lo cual se los denomina antígenos plaquetarios específicos.<sup>1</sup> Actualmen-

te, para su denominación se emplea la nomenclatura HPA (*Human Platelet Antigens*) que incluye un total de seis sistemas bialélicos perfectamente definidos y una serie de hasta quince sistemas incompletos de los que sólo conocemos el alelo de baja frecuencia<sup>2,3</sup> (Tabla 1).

**Tabla 1.** Sistemas de grupos sanguíneos plaquetarios (Sistema HPA)

Sistema	Antígeno	Nombre original	Glicoproteína	CD
HPA-1	HPA-1a	Zw <sup>a</sup> , Pl <sup>A1</sup>	GPIII <sub>a</sub>	CD61
	HPA-1b	Zw <sup>b</sup> , Pl <sup>A2</sup>		
HPA-2	HPA-2a	Ko <sup>b</sup>	GPIIb $\alpha$	CD42b
	HPA-2b	Ko <sup>b</sup> , Sib <sup>a</sup>		
HPA-3	HPA-3a	Bak <sup>a</sup> , Lek <sup>a</sup>	GPIIb	CD41
	HPA-3b	Bak <sup>b</sup>		
HPA-4	HPA-4a	Yuk <sup>b</sup> , Pen <sup>a</sup>	GPIIIa	CD61
	HPA-4b	Yuk <sup>a</sup> , Pen <sup>b</sup>		
HPA-5	HPA-5 a	Br <sup>b</sup> , Zav <sup>b</sup>	GPIa	CD49b
	HPA-5b	Br <sup>a</sup> , Zav <sup>a</sup> , Hc <sup>a</sup>		
	HPA-6bw	Ca <sup>a</sup> , Tu <sup>a</sup>		
	HPA-7bw	Mo <sup>a</sup>		
	HPA-8bw	Sr <sup>a</sup>		
	HPA-9bw	Max <sup>a</sup>		
	HPA-10bw	La <sup>a</sup>		
	HPA-11bw	Gro <sup>a</sup>		
	HPA-12bw	Iy <sup>a</sup>		
	HPA-13bw	Sit <sup>a</sup>		
	HPA-14bw	Oe <sup>a</sup>		
	HPA-15	HPA-15a		
HPA-15b		Gov <sup>a</sup>		
HPA-16bw		Duv <sup>a</sup>		
HPA-17bw		Va <sup>a</sup>		
HPA-18bw		Cab <sup>a</sup>		
HPA-19bw		St <sup>a</sup>		
HPA-20bw		Kno		
HPA-21bw		Nos		



## Antígenos del sistema ABH

Los antígenos del sistema eritrocitario ABH se expresan en prácticamente todas las células del organismo. En las plaquetas se encuentran formando parte de la porción glucídica de las glicoproteínas plaquetarias (GP) intrínsecas (Ib, IIa, IIb, IV, V, molécula de adhesión endotelial PECAM-1 y CD109) y adsorbidos pasivamente de la fracción glicolipídica del plasma. En general, se cree que el grado de expresión de estos antígenos en la membrana plaquetaria es insuficiente para que las isohemaglutininas anti-A o anti-B afecten significativamente la supervivencia de las plaquetas transfundidas ABH incompatibles. No obstante, se han reportado episodios febriles e incrementos postransfusionales plaquetarios inferiores hasta en un 20%, tras la transfusión de plaquetas ABH incompatibles en pacientes con títulos de isohemaglutininas IgG superiores a 64. Igualmente, se ha comprobado que estas isohemaglutininas a título elevado pueden producir reacciones significativas en las técnicas de investigación de anticuerpos (AC) antiplaquetarios que pueden ser erróneamente atribuidas a los anticuerpos antiplaquetarios específicos.<sup>4</sup>

## Antígenos HLA de clase I

Los antígenos HLA de clase I son GP presentes en la membrana plaquetaria y en las de la mayoría de las células nucleadas. Están codificados por genes localizados en el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), en el brazo corto del cromosoma 6. Estos antígenos son altamente polimórficos.

En la membrana plaquetaria se encuentran coexpresados los antígenos HLA-A, HLA-B y HLA-C. La expresión de los antígenos HLA-A y HLA-B es como mínimo diez veces mayor que la de los antígenos HLA-C. Los AC dirigidos contra los antígenos HLA de clase I desempeñan un importante papel como responsables principales de la refractariedad inmune a las transfusiones de plaquetas, en la patogenia de la lesión pulmonar aguda relacionada con la transfusión y en la enfermedad del injerto contra el huésped postransfusional. La expresión de estas moléculas de clase I sobre la membrana plaquetaria puede generar problemas en las técnicas de investigación de AC antiplaquetarios, ya que una reacción positiva puede ser erróneamente atribuida a la presencia de AC antiplaquetarios específicos. El diagnóstico de certeza obliga a emplear estrategias técnicas alternativas como el tratamiento de las plaquetas con cloroquina que consigue eluir a los antígenos HLA de clase I, o bien técnicas más específicas que comportan la solubilización de la membrana plaquetaria y su fragmentación en las diferentes proteínas que la conforman para asegurar la especificidad del resultado.<sup>5</sup>

## Antígenos plaquetarios específicos (sistema HPA)

Actualmente se conocen hasta 27 aloantígenos plaquetarios específicos que han sido definidos por sus correspondientes AC identificados en diferentes procesos clínicos de etiopatogenia inmune. Doce de estos antígenos se hallan agrupados en seis sistemas bialélicos que van del

HPA-1 al HPA-5 más el sistema HPA-15.<sup>2</sup> Los 15 antígenos restantes no tienen un antígeno antitético, probablemente porque al tratarse de antígenos de baja frecuencia la posibilidad de encontrar individuos homocigotos para el antígeno antitético susceptibles de inmunizarse es muy remota. En los sistemas HPA-1 al HPA-5 existe un antígeno de alta frecuencia y otro de baja frecuencia, pero en el sistema HPA-15 las frecuencias de ambos componentes son muy similares.

Históricamente, los antígenos plaquetarios específicos se denominaban con el nombre de los pacientes sensibilizados en los que fue identificado el anticuerpo. Esta nomenclatura fue complicándose con el paso de los años, especialmente cuando el nuevo antígeno era identificado simultáneamente por más de un grupo de investigadores y daba lugar a una controversia entre éstos respecto a la paternidad del descubrimiento y a la denominación que debía emplearse.

En 1990 los doctores Von Dem Borne y Décary propusieron una estrategia según la cual todos los antígenos descritos debían agruparse bajo un epígrafe común, a saber, “antígenos plaquetarios humanos” o HPA, acrónimo del inglés Human Platelet Antigens. Según esta nueva nomenclatura –posteriormente revisada por Santoso y Kiefel en 1998 y más recientemente, por Metcalfe et ál en 2003<sup>3</sup>–, un antígeno plaquetario específico es aceptado como tal cuando sus bases moleculares son conocidas. A su vez, los antígenos plaquetarios humanos son agrupados en sistemas basados en la existencia de aloanticuerpos que definen tanto al antígeno tético como

al antitético. Los sistemas HPA son designados cronológicamente HPA-1, HPA-2, HPA-3, etc. de acuerdo con el orden de la fecha de su descubrimiento, y se designan alfabéticamente en orden según su frecuencia (de alta a baja) en la población estudiada, nombrando al de mayor frecuencia como “a” y al de baja frecuencia como “b”. Una designación “w” es agregada después del nombre del antígeno si aún no se ha identificado un aloanticuerpo dirigido contra el antígeno antitético.<sup>3</sup>

Actualmente se conoce la base molecular de los diferentes sistemas y antígenos plaquetarios.<sup>2</sup> La mayoría de alelos pertenecientes a los diferentes sistemas son polimorfismos debidos a una mutación errónea de tipo puntual en la secuencia del DNA codificante, consistente en un cambio de base que comporta a su vez un cambio de aminoácido (aa) en la secuencia de la proteína que constituye el alelo producido. Una excepción es el antígeno Oe<sup>a</sup> (HPA-14w) que se produce como resultado de la delección de tres nucleótidos en la secuencia del DNA codificante del alelo HPA-1b que implica la pérdida del aminoácido lisina en el residuo 611 de la GPIIIa.<sup>6</sup>

La frecuencia de los aloantígenos plaquetarios se ha estudiado en diferentes poblaciones y se han encontrado notables diferencias según la población y el grupo étnico examinado.<sup>7-10</sup> (Tabla 2).

### Localización glicoproteica, base molecular de los polimorfismos y genotipaje de los aloantígenos plaquetarios

La mayor parte de los aloantígenos plaquetarios identificados hasta el mo-

**Tabla 2.** Frecuencia de los principales sistemas HPA en diversas poblaciones y grupos étnicos.

	HPA	España Muñiz-Díaz 1998	Holanda Simsek 1993	Finlandia Kemkomaki 1995	USA (blancos) Kim 1995	Japón Tanaka 1996	Corea Seo 1998
1	1a	96,02	97,90	99,00	98,00	100,00	99,50
	1b	33,83	28,80	26,50	20,00	0,30	2,00
2	2a	99,79	100,00	99,00	97,00	99,20	99,00
	2b	18,40	13,50	16,50	15,00	19,70	14,00
3	3a	86,71	81,00	83,50	88,00	85,10	82,50
	3b	55,59	69,80	66,50	54,00	66,20	71,50
4	4a	100,00	100,00		100,00	100,00	100,00
	4b	0,00	0,00		0,00	2,00	2,00
5	5a	99,34	100,00	99,50	98,00	99,00	100,00
	5b	24,51	0,00	10,00	21,00	7,00	4,50
6	6a	100,00		100,00		99,70	100,00
	6b	0,00		2,40		4,80	0,00

mento residen en alguno de los complejos glicoproteicos IIb/IIIa, Ib/IX, Ia/IIa o en la proteína CD109.<sup>2,11</sup> (Tabla 1).

La glicoproteína (GP) IIIa (CD61) es la más polimórfica y da cabida a la mayoría de aloantígenos plaquetarios. Junto con la GP IIb (CD41) constituye el complejo heterodimérico IIb-IIIa del que existen de 50.000 a 80.000 copias/plaqueta, y que pertenece a la familia de moléculas conocidas como integrinas (integrina  $\beta_3\alpha_{IIb}$ ) (Figura 1). Además de su importancia inmunológica, el complejo está comprometido con la hemostasia primaria y como tal, participa en las funciones de adhesión de las plaquetas a los componentes de la matriz extracelular y en su agregación subsiguiente. Ambas funciones son posibles gracias a su papel como receptor de una serie de ligandos como el fibrinógeno, la fibronectina, la vitronectina y el factor von Willebrand.

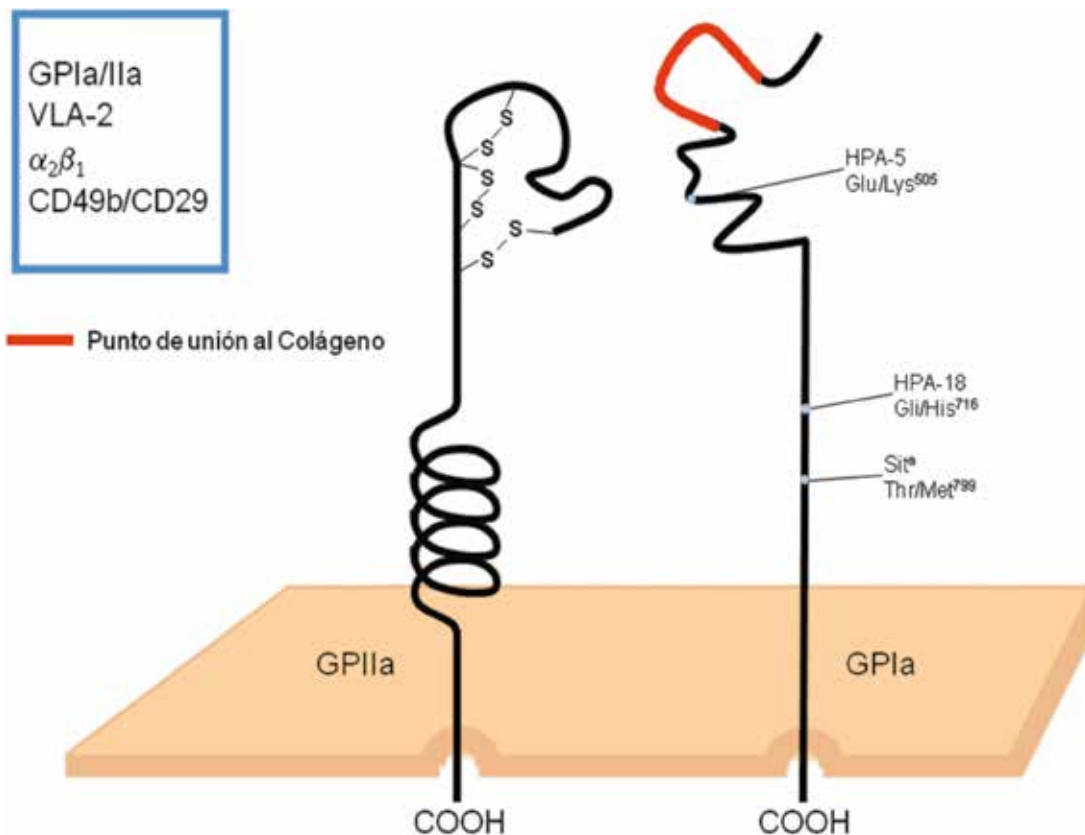
Los genes que codifican para ambas GP se localizan en el brazo largo del cromosoma 17 (bandas q21-23) a lo largo de un segmento de 260 kb. En la GP IIIa residen los polimorfismos correspondientes a los sistemas HPA-1 (residuo 33), HPA-4 (residuo 143), HPA-6w (residuo 489), HPA-7w (residuo 407), HPA-8w (residuo 633), HPA-10w (residuo 62), HPA-11w (residuo 633), HPA-14w (611 del), HPA-16w (residuo 140), HPA-17w (residuo 195), HPA-19w (residuo 137) y HPA-21w (residuo 628). En la GPIIb se localizan los polimorfismos de los sistemas HPA-3 (residuo 843), HPA-9w (residuo 837) y HPA-20w (residuo 1949).

La GP Ib se une a las GP IX y V y juntas constituyen el complejo glicoproteico Ib/IX/V (CD42) que actúa como principal receptor para el factor von Willebrand (Figura 2). Estas GP son miembros de la familia de moléculas co-



nocidas como proteínas ricas en leucina. En la membrana se expresan unas 25.000 copias de las GPs Ib-IX y unas 12.000 de GP V. El gen que codifica para la fracción GP Ib $\alpha$  (CD42b) se localiza en el cromosoma 17 y el de la fracción Ib $\beta$  (CD42c) en el 22. Por su parte, los genes que codifican para las GPs IX (CD42a) y V (CD42d) se localizan en el cromosoma 3. En la GP Ib $\alpha$  se localiza el polimorfismo que corresponde al sistema HPA-2 (residuo 142) y en la GP Ib $\beta$  el del sistema HPA-12w (residuo 15). Además, se han descrito varias mutaciones silentes de la GP Ib $\alpha$  pero al parecer, sin capacidad inmunizante.

La GP unida a la GP IIa constituye un tercer complejo heterodimérico (Ia/IIa) (CD49/CD29) que también se incluye dentro de la familia de las integrinas ( $\alpha_2\beta_1$  o VLA-2), cuyo principal ligando es el colágeno (Figura 3). Existen aproximadamente unas 800-2.800 copias de este complejo por plaqueta. Los polimorfismos correspondientes a los sistemas HPA-5 (residuo 505), HPA-13w (residuo 799) y HPA-18w (residuo 716) se localizan en la GP Ia. El escaso número de copias de estas GP exige el empleo de técnicas con un alto grado de sensibilidad para poder identificar a los anticuerpos dirigidos contra los antígenos



**Figura 3.** Sistemas HPA localizados en el complejo glicoproteico Ia-IIa.

nos que albergan, como sucede con los sistemas HPA-5 y HPA-15.

El sistema HPA-15 (Gov) se localiza en una GP de 175 kDa (CD109) que se une a la membrana plaquetaria a través de moléculas fosfatidilinositol, y de la que se expresan unas 1.000-2.000 copias por plaqueta. Esta proteína también se expresa en monocitos, granulocitos, células T estimuladas y células progenitoras mieloides CD 34+. Aunque su función no se conoce con certeza, parece ligada a la interacción célula a célula. Al igual que con el sistema HPA-5, los anticuerpos, frente a este sistema, exigen para su correcta detección técnicas altamente sensibles.

El antígeno Nak<sup>a</sup> se localiza en la GP IV (CD36) que, además de las plaquetas, también expresan los monocitos. Existen unas 12.000 a 14.000 copias de esta proteína la cual tiene como función primordial la de receptor de la trombospondina que actúa como estabilizador del agregado plaquetario. Los individuos Nak negativos presentan un déficit absoluto de GP IV, por lo que este antígeno se considera en realidad un isoantígeno. El déficit de GP IV es relativamente frecuente en orientales, pero resulta muy raro, sino ausente, en la población caucásica.

### Técnicas de estudio

La investigación ordinaria de aloanticuerpos antiplaquetarios puede efectuarse mediante diferentes métodos, aunque la técnica de inmunofluorescencia y las técnicas en fase sólida basadas en el ensayo de inmunoenlaces (ELISA) son las de uso más común y con resultados muy similares. La téc-

nica de MAIPA (*Monoclonal Antibody Immobilization Platelet Antigens*) es una técnica de captura basada en el ensayo de inmunoenlaces, que por su mayor sensibilidad resulta especialmente útil para la investigación de aloanticuerpos frente a sistemas o antígenos escasamente representados sobre la membrana plaquetaria, como sucede con los sistemas HPA-5 y HPA-15, y para discriminar la presencia de aloanticuerpos plaquetarios específicos cuando estos coexisten en una mezcla con anticuerpos anti-HLA. En los últimos años, se han comercializado técnicas de características similares que ofrecen resultados análogos al MAIPA (MACE) y que están al alcance de laboratorios que no disponen de una infraestructura para el estudio sistemático de los procesos inmunes plaquetarios.<sup>2,12,13</sup>

En la actualidad, la determinación del genotipo plaquetario se realiza con técnicas moleculares basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta posibilidad nos ha permitido vencer los problemas que planteaba la tipificación serológica, debidos a la escasez de antiseros y a las dificultades de interpretación del fenotipo relacionadas con la habitual contaminación de los antiseros con anticuerpos de especificidad HLA. Además, al no requerirse plaquetas, la tipificación de los pacientes es factible con una muestra muy pequeña de su sangre.<sup>2,12</sup>

### Importancia clínica

Los aloantígenos plaquetarios específicos desempeñan un papel crucial en la trombocitopenia fetal/neonatal

aloimmune (TFNA) y en la púrpura postransfusional (PPT), y menos relevante en la refractariedad inmune a las transfusiones de plaquetas. Aunque de forma poco habitual, también pueden participar en la patogenia de las reacciones transfusionales de tipo febril. Finalmente, y también de forma esporádica, se han reportado casos de trombocitopenia aloimmune pasiva y de trombocitopenia asociada al trasplante debidos a aloanticuerpos plaquetarios. Capítulo aparte merecen los controvertidos estudios publicados en los últimos años que intentan relacionar algunos de estos polimorfismos con el riesgo genético de sufrir diferentes patologías, especialmente con la enfermedad tromboembólica.

### Trombocitopenia fetal/neonatal aloimmune

La trombocitopenia fetal/neonatal aloimmune (TFNA) se produce como consecuencia de la destrucción de las plaquetas fetales/neonatales inducida por un aloanticuerpo plaquetario presente en el suero materno y dirigido contra un antígeno plaquetario específico fetal heredado del padre. Se estima que entre 1.000 y 2.000 RN pueden nacer con esta patología y actualmente se considera que la TFNA es la causa más común de trombocitopenia neonatal grave (< 20.000 plaquetas) con una prevalencia aproximada de uno entre 2.500 neonatos.<sup>14-16</sup>

La TFNA es una complicación homologable a la enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad Rh (D), pero a diferencia de aquélla, aproximadamente un 30%-50% de

los casos se producen con la primera gestación.

Se trata de un proceso potencialmente muy grave que comporta el desarrollo de hemorragia intracraneal (HIC) en un 10%-30% de los neonatos con resultado de éxito (10% de los casos comunicados) o de secuelas neurológicas irreversibles (20%). Cerca de un 50% de las hemorragias se producen durante la vida intrauterina, habitualmente entre las 30 y 35 semanas de gestación, pero a veces tan prematuramente como a las 20 semanas de gestación. En algunos casos poco comunes, la forma de presentación puede coincidir con una hidrocefalia aislada, una anemia fetal de causa no explicada, abortos recurrentes e, incluso, hidrops fetal.

### Diagnóstico

El diagnóstico exige excluir otras causas de trombocitopenia neonatal: infecciones víricas o bacterianas, coagulopatía de consumo, trastornos de la megacariocitopoyesis, hemangioma y, especialmente, autoinmunidad materna (PTAI, lupus). En los casos más típicos se trata de un neonato nacido de una madre sana no trombocitopénica en la que tanto la gestación como el parto han transcurrido sin complicaciones. Al nacer (o pocas horas después), aparece en el neonato una púrpura cutánea en forma de petequias y/o equimosis que puede ir acompañada en los casos más graves de hematuria, hemorragia digestiva e incluso HIC. La cifra de plaquetas es variable (<20 x10<sup>9</sup>/l en las formas más graves), y con tendencia a disminuir en las primeras 24-72 horas de vida. Por otra parte, suele tratarse de un neonato

sano que no presenta otras alteraciones biológicas destacables.

En muchos casos puede tratarse de un neonato totalmente asintomático en el que la trombocitopenia se descubre de forma casual en una analítica solicitada por otras causas.

El diagnóstico clínico debe acompañarse de un estudio serológico cuyo objetivo es demostrar la presencia de un aloanticuerpo plaquetario específico en el suero materno, o en su defecto, poner en evidencia la existencia de una incompatibilidad antigénica materno-fetal. Este estudio debe incluir la detección e identificación de aloanticuerpos plaquetarios específicos en el suero materno y el genotipo plaquetario de los padres, y siempre que sea posible, del recién nacido.

El estudio del suero de la madre frente a plaquetas del padre es fundamental para excluir una especificidad privada, especialmente cuando se han descartado los aloanticuerpos más comunes.

Los anticuerpos de especificidad HPA-1a son responsables de un 75%-85% de los casos diagnosticados, seguido de los de especificidad HPA-5b (10% de los casos). Las complicaciones hemorrágicas y el riesgo de hemorragia cerebral son más comunes en los casos de incompatibilidad HPA-1a. Los casos debidos a anticuerpos anti-HPA-5b suelen producir una trombocitopenia más moderada y con escasa o nula repercusión clínica. Aunque infrecuentes (menos del 1%), los casos debidos a anticuerpos anti-HPA-3a muestran unas características clínicas y una gravedad similares a los producidos por anti-HPA-1a. En Japón, donde la mayoría de individuos son HPA-1a positivos, los

anticuerpos anti-HPA-4b son los más frecuentemente implicados en esta patología. Aunque infrecuentes, dos casos de TFNA producidos por anticuerpos de especificidad anti-HPA4b han sido descritos en la población caucásica, uno de ellos en España.<sup>17</sup> En un estudio realizado en Brasil se reportó que el anti-HPA-5b es el anticuerpo más identificado en las madres que inducen TFNA en aquel país.<sup>18</sup> En algunas series publicadas, los anticuerpos anti-HPA-15 se detectan con una frecuencia equiparable a los del sistema HPA-5.<sup>19</sup>

En los últimos años se han publicado una serie de artículos que describen cómo los anticuerpos implicados iban dirigidos contra un antígeno de baja frecuencia sólo presente en las plaquetas del padre. Estas observaciones reafirman la necesidad de efectuar sistemáticamente una prueba cruzada con las plaquetas del padre, especialmente si el estudio inicial ha resultado negativo. En estos casos hay que considerar la relación de especificidades de baja frecuencia publicadas, ya que después de su descripción inicial ha podido comprobarse que también pueden estar presentes en otras familias.<sup>14</sup>

A pesar de los avances tecnológicos, el diagnóstico de la TFNA sigue siendo un reto, ya que los anticuerpos responsables son todavía indetectables en un número significativo de casos, incluso en aquellos en los que la incompatibilidad materno-fetal para el antígeno HPA-1a está presente. Cuando el diagnóstico clínico es evidente pero la investigación de aloanticuerpos plaquetarios resulta negativa, el hallazgo de una incompatibilidad antigénica materno-fetal permite establecer el



diagnóstico definitivo, y plantear el tratamiento postnatal más adecuado y la estrategia preventiva necesaria en el caso de futuras gestaciones.

### Inmunogenicidad de los aloantígenos plaquetarios

La aloinmunización HPA-1a de las gestantes HPA-1a negativo está controlada por el alelo HLA-DRB3\*0101 con el que se encuentra en desequilibrio de ligamiento.<sup>20</sup> El valor predictivo negativo de aloinmunización en ausencia de este alelo es mayor al 90%; por el contrario, el valor predictivo positivo es sólo de un 35%, lo que limita su empleo como marcador para la selección de las mujeres candidatas a un programa profiláctico antenatal. Aproximadamente un 10% de las mujeres HPA-1a negativo desarrollan un anti-HPA-1a, y cerca de un 30% de éstas dan a luz un hijo afectado. No se ha descrito un desequilibrio de ligamiento tan evidente con el resto de aloantígenos plaquetarios específicos.

### Tratamiento neonatal

No es prudente esperar al resultado del estudio serológico para comenzar a tratar al neonato. Ante la sospecha clínica firme de TFNA debe iniciarse el tratamiento sin dilación. Los casos que cursan con trombocitopenia grave ( $<20 \times 10^9/l$ ) y diátesis hemorrágica grave, son subsidiarios de una transfusión de plaquetas de donante único con fenotipo HPA compatible con la madre. Se recomienda que además el donante sea ABO y Rh (D) compatible, y si se ignora la especificidad involucrada, HPA-1a y HPA-5b nega-

tivo.<sup>14</sup> Unas plaquetas con estas características fenotípicas serían compatibles con el suero materno en el 95% de los casos.<sup>21</sup> Los centros de transfusión y bancos de sangre conectados con los servicios hospitalarios que atienden estos casos deben mantener un registro de donantes genotipados para estos sistemas plaquetarios a fin de proveer plaquetas compatibles en el menor tiempo posible y cuando sea necesario. Este planteamiento todavía está alejado de la realidad en muchos países, de manera que en esta situación extrema en la que resulta imposible la obtención de plaquetas compatibles, cabe la opción de transfundir plaquetas no compatibles<sup>22</sup> (plaquetas *random*) combinadas con altas dosis de inmunoglobulinas (Igs) ev.

La transfusión de plaquetas maternas también representa una opción alternativa frente a la falta de disponibilidad de plaquetas compatibles, pero en la práctica suele ser muy compleja la realización de una aféresis en una mujer que acarrea, junto con los problemas físicos propios del parto, el impacto emocional de la complicación detectada en el neonato. No obstante, si las plaquetas llegan a emplearse, deben ser lavadas y resuspendidas en una nueva solución.

Es recomendable realizar una ecografía cerebral a estos neonatos para diagnosticar lo más precozmente posible una probable HIC y adoptar las medidas terapéuticas pertinentes.

En los neonatos que presentan cifras superiores a  $20-30 \times 10^9/l$  y ausencia de diátesis hemorrágica, se recomienda como tratamiento de elección la administración de Igs ev a dosis altas (1gr/kg/día, durante

dos días) lo cual permite remontar en pocos días la cifra de plaquetas hasta niveles seguros (mayores de  $50 \times 10^9/l$ ), en la gran mayoría de los casos.<sup>14</sup>

### Tratamiento antenatal

La probabilidad de recurrencia de la TFNA en las siguientes gestaciones es muy elevada (hasta de un 100%) si en la gestación anterior se produjo HIC. En una revisión de la literatura se reportó que el 80% de las HIC se producen *in utero* y hasta un 40% antes de las 30 semanas de la gestación.<sup>23</sup>

Durante años se han venido utilizando dos estrategias para el tratamiento antenatal muy distintas, cada una con sus ventajas y sus inconvenientes: las transfusiones intraútero de plaquetas HPA compatibles a intervalos regulares; o bien la administración de Igs ev y/o corticoides a la madre. Curiosamente, la primera opción ha sido empleada en centros hospitalarios europeos, mientras que la segunda lo ha sido en los centros hospitalarios de los Estados Unidos.<sup>24,25</sup> La técnica de cordocentesis –que se efectúa tanto para obtener una muestra de sangre fetal como para infundir las plaquetas–, es una técnica invasiva que puede suponer, en manos expertas, un riesgo de interrupción del embarazo del 1%-3%; sin embargo, es la única estrategia que permite una valoración objetiva e inmediata de la eficacia del tratamiento. Las Igs ev a dosis altas representan una opción no invasiva pero muy cara y no totalmente exenta de riesgos. Además, la falta de un grupo control en las series más optimistas no permite asegurar que la eficacia del tratamiento sea indefectiblemente debida a su acción terapéutica. La infusión directa de Igs

ev al feto fue probada con éxito en un caso, pero su eficacia no ha sido posteriormente confirmada por otros grupos.

Al contrapesar el riesgo/beneficio de ambas opciones se ha generado un cierto grado de consenso en torno a la opción más conservadora posible, avalada por diferentes estudios clínicos en los que el tratamiento materno es considerado como la primera opción, y la cordocentesis sólo se indica en casos seleccionados con criterios muy rigurosos.<sup>26-30</sup> En las gestantes con riesgo estándar de inducir un nuevo episodio de TFNA (el neonato anterior presentó una trombocitopenia de más de 20.000 plaquetas y no hubo HIC) se aboga por un tratamiento basado exclusivamente en la administración de Igs ev y/o esteroides a la madre. En las gestantes con riesgo elevado (el neonato anterior presentó una trombocitopenia grave de menos de 20.000 plaquetas y/o HIC), además del tratamiento materno cabe considerar la posibilidad de la transfusión de plaquetas intraútero, especialmente cuando el tratamiento materno resulta insuficiente. Esta nueva estrategia no considera la cordocentesis inicial para conocer la cifra de plaquetas fetal y no se realiza hasta 4-6 semanas después de comenzado el tratamiento materno. Un aspecto complementario muy importante es el adelanto del parto por cesárea a partir de las 34-36 semanas, según la evolución del feto y la respuesta al tratamiento antenatal.

### Cribado sistemático de las gestantes HPA-1a negativo

En la TFNA se dan la mayoría de los elementos necesarios para justificar la implantación de un programa de cribado antenatal semejante al que se efectúa

para la prevención de la EHFRN.<sup>31-32</sup> Conocemos la etiopatogenia y la historia natural del problema dejado a su libre evolución. Por ejemplo, en el Reino Unido el 2,5% de las gestantes son HPA-1a negativo, un 10% se inmunizarán y, aproximadamente, la tercera parte acabarán por producir un episodio de TFNA. El cuadro clínico será grave en uno de cada 2.600 neonatos y, finalmente, entre uno de cada 12.500 y uno de cada 25.000 neonatos sufrirán HIC y/o éxitus. Estos datos convierten a la TFNA en un problema de salud pública equiparable a otros procesos para los que ya existe un programa de cribado, como la propia EHFRN, el síndrome de Down (uno en 1.000) o la fibrosis quística (uno en 2.800), entre otros. El mayor obstáculo para la implementación sistemática del cribado HPA-1a reside en que no disponemos de parámetros que nos permitan predecir qué fetos pueden resultar gravemente afectados y seleccionar a las madres susceptibles de tratamiento. Actualmente la evolución del anticuerpo y el posible grado de afectación fetal se mide mediante la titulación y/o cuantificación del anticuerpo materno, pero la correlación entre el título y el grado de afectación fetal todavía es motivo de controversia. Esta situación hace inviable la oferta de un tratamiento –que presuponemos eficaz– al grupo restringido de mujeres en las que podría estar indicado. Los últimos resultados publicados por Bertrand et al<sup>33</sup> en Francia, aunque preliminares, indican que la estrategia de cuantificación empleada que tiene como eje la técnica de MAIPA puede ayudar a sobrepasar este obstáculo. En este estudio, la cuantificación del anticuerpo antes de

cualquier tratamiento y en el curso de la gestación, permitió valorar la respuesta al tratamiento materno y predecir con éxito el estado del feto.

El otro problema pendiente es disponer de una opción terapéutica equiparable a la gammaglobulina anti-D que pudiera administrarse a las mujeres HPA-1a negativo para impedir su aloinmunización. Con este objetivo se están desarrollando, como mínimo, dos líneas de investigación: una basada en el potencial empleo de anticuerpos monoclonales anti-HPA-1a pensados para ejercer una función similar a la desarrollada por la gammaglobulina anti-D;<sup>34</sup> y otra que pretende evitar la sensibilización creando un estatus de tolerancia en la madre mediante la infusión de péptidos no estimulantes capaces de bloquear los receptores de los linfocitos T para el antígeno HPA-1a,<sup>35</sup> o bien de bloquear los anticuerpos anti-HPA-1a a través de epítopes solubles o anticuerpos anti-idiotipo.<sup>36</sup>

### Púrpura postransfusional

La púrpura postransfusional (PPT) es una complicación poco frecuente pero potencialmente muy grave de la transfusión sanguínea, que suele acontecer entre los cinco y los diez días posteriores a la transfusión de cualquier componente sanguíneo. Clínicamente, se caracteriza por la aparición súbita de una trombocitopenia intensa que suele ir acompañada de diátesis hemorrágica grave, y en la que la HIC constituye la manifestación hemorrágica más temida, especialmente en las primeras 24-28 horas.<sup>37</sup> Aunque la incidencia real de esta complicación se desconoce, en el programa de hemovigilancia inglés (SHOT) representó un 5% de los

efectos adversos reportados en relación con la transfusión entre los años 1996-1999, pero posteriormente, este porcentaje fue decayendo hasta situarse en una incidencia aproximada de un caso por cada 700.000 transfusiones. La leucodepleción universal en el Reino Unido tuvo un efecto notable en la reducción del número de casos de PPT.<sup>38</sup>

La patogenia exacta de este proceso no ha sido totalmente dilucidada. Entre los mecanismos patogénicos invocados destacan los siguientes:<sup>1,39</sup>

1. El antígeno HPA-1a se encuentra en forma soluble en el plasma de todos los componentes sanguíneos, de forma que podría adsorberse sobre las plaquetas HPA-1a negativo del paciente, convirtiéndolas así en una diana adecuada para el correspondiente anticuerpo. A favor de este mecanismo están algunos casos en los que se ha podido eluir el anticuerpo anti-HPA-1a de las plaquetas del paciente y la demostración de que es posible adsorber el antígeno HPA-1a sobre unas plaquetas de fenotipo negativo mediante su incubación con plasma procedente de un donante HPA-1a positivo.
2. El antígeno HPA-1a soluble puede unirse al anticuerpo correspondiente y formar complejos inmunes que secundariamente se fijarían a las plaquetas del paciente induciendo con ello su destrucción.
3. La transfusión desencadenaría una respuesta autoinmune (producción de autoanticuerpos) a la vez

que aloinmune (respuesta anamnéstica con rápido incremento del título de anticuerpo anti-HPA-1a). A favor de este mecanismo está la observación de que el suero de los pacientes con PTP en fase aguda puede reaccionar con las plaquetas autólogas.

4. En la fase más precoz de la respuesta anamnésica desencadenada por la transfusión, emergería un aloanticuerpo anti-HPA-1a que todavía no habría adquirido su especificidad restringida HPA-1a y que, por tanto, sería capaz de reaccionar tanto con las plaquetas autólogas (HPA-1a negativo) como con las alogénicas (HPA-1a positivo).

Todos los pacientes, la mayoría mujeres en la sexta o séptima década de su vida y con antecedentes de una o más gestaciones, están preinmunizados. En los pacientes que han recibido heparina debe realizarse un diagnóstico diferencial ante una posible PTP y una trombocitopenia inducida por este fármaco.<sup>40</sup> Los aloanticuerpos plaquetarios –mayoritariamente los de especificidad HPA-1a (>85%)–, se detectan en el suero o plasma de los pacientes (y fijados a sus propias plaquetas durante la fase aguda) que presentan un fenotipo HPA-1a negativo y HLA-DRB3\*0101. Aunque menos comunes, también han sido descritos casos debidos a otros anticuerpos en contra de los antígenos HPA-1b, HPA-3a, HPA-3b, HPA-4a, HPA-5a, HPA-5b y HPA-15.

El tratamiento debe instaurarse lo antes posible dado el riesgo potencial de una hemorragia cerebral. Actualmente,

las Igs ev a dosis altas (1-2 grs/kg/día, 2-5 días) continúan siendo el tratamiento de elección, con respuestas favorables en más de un 85% de los casos. Los esteroides y el recambio plasmático constituían el tratamiento habitual antes de la llegada de las Igs ev, con respuestas muy heterogéneas en el caso de este último. Las transfusiones de plaquetas resultan ineficaces en la mayoría de casos, pero pueden ser raras veces necesarias si se produce un sangrado masivo que pueda comprometer la vida del paciente. No hay evidencia de que en esta situación las plaquetas de fenotipo HPA-1a negativo resulten más eficaces que las de fenotipo HPA-1a positivo; parece ser que es la dosis, por encima del fenotipo, la que incide directamente en la eficacia de la transfusión. Tampoco hay evidencia de que la transfusión de plaquetas sea responsable de aumentar la gravedad y/o prolongar la trombocitopenia.

Es recomendable que se provea de un carné a los pacientes que han sufrido una PPT, en el que se explique el incidente y la necesidad de que reciban componentes sanguíneos de características especiales (HPA-1a negativo) en el caso de resultar necesaria una nueva transfusión. Si el paciente conoce anticipadamente esta necesidad es aconsejable efectuar autotransfusión y hacer provisión en el banco de sangre de componentes sanguíneos procedentes de donantes compatibles.

### Refractariedad inmune a las transfusiones de plaquetas

Los anticuerpos anti-HPA tienen un papel secundario en la refractariedad

inmune a la transfusión de plaquetas. En los pacientes sensibilizados que devienen refractarios mayoritariamente se detectan anticuerpos anti-HLA de clase I.<sup>41,42</sup>

La inmunización primaria HLA está causada por la presencia de leucocitos contaminantes en las plaquetas transfundidas. Las plaquetas también pueden sintetizar antígenos HLA de clase I y adsorber antígenos HLA solubles del plasma, lo que implica la presencia de un número relativamente alto de moléculas HLA de clase I en la superficie de las plaquetas respecto a las presentes en hematíes y granulocitos, susceptibles de inmunizar a los receptores.

La incidencia de los anticuerpos HPA es muy variable de unos a otros estudios, pero se sitúa entre el 2% y el 11%, y la leucorreducción no afecta a esta incidencia. Su presencia no siempre se correlaciona con un incremento del recuento plaquetar corregido (en inglés CCI, abreviatura de *Corrected Platelet Count Increment*) significativamente inferior al esperado. Las especificidades más comunes suelen ser HPA-5b, HPA-1b y HPA-15a y 15b. En muchos casos los anticuerpos reactivos con plaquetas no muestran una especificidad definida, lo que se interpreta como una característica propia de los autoanticuerpos. En un estudio realizado en nuestro centro que abarcaba un período de cuatro años, se examinó la presencia de anticuerpos antiplaquetarios (anti-HLA y anti-HPA) en una serie de 83 pacientes con sospecha de refractariedad inmune. Los anticuerpos HLA fueron detectados en 49 pacientes (59%) En relación con el sexo,

los anticuerpos HLA se detectaron en el 75% de las mujeres y sólo en el 35% de los hombres ( $p = 0.001$ ). En nueve pacientes se detectaron anticuerpos HPA (11%) (6 anti-HPA-1b, 1 anti-HPA-5b, 1 anti-HPA-15a y 1 anti-HPA-15b), y en ocho más se detectaron autoanticuerpos plaquetarios.<sup>43</sup>

### Trombocitopenia aloinmune pasiva

La trombocitopenia aloinmune pasiva (TAP) se caracteriza por la aparición brusca de trombocitopenia pocas horas después de la transfusión de un componente sanguíneo. Se produce por la acción de aloanticuerpos plaquetarios específicos presentes en el componente transfundido. Hasta el momento, los casos publicados corresponden a aloanticuerpos de especificidad HPA-1a y HPA-5b.

Cuatro referencias bibliográficas recogen un total de siete paciente afectados que desarrollaron una trombocitopenia grave (cifra media de plaquetas  $10 \times 10^9/l$ ) acompañada de diátesis hemorrágica en cinco de los siete pacientes tras la transfusión de concentrados de hemáties ( $n=3$ ), sangre total ( $n=3$ ) y plasma ( $n=1$ ) que contenían un anticuerpo de especificidad anti-HPA-1a.<sup>44-46</sup> En otro caso reportado,<sup>47</sup> el paciente desarrolló una trombocitopenia moderada tras la infusión postoperatoria de plasma que transportaba un anticuerpo de especificidad anti-HPA-5b.

La duración de la TAP suele ser inferior a una semana, en contraste con la larga duración de la PPT. Es importante investigar los casos sospechosos de TAP, porque múltiples receptores pueden desarrollar esta complicación inducida

por un solo donante, el cual, lógicamente, debe ser excluido para futuras donaciones.

### Trombocitopenia aloinmune asociada a trasplante

Aunque poco frecuente, una trombocitopenia de naturaleza aloinmune puede complicar el trasplante de precursores hemopoyéticos de médula ósea o sangre periférica, o el trasplante de órganos sólidos.

Panzer y col<sup>48</sup> reportaron el caso de un paciente con leucosis mieloide crónica que fue sometido a un trasplante alogénico de médula ósea (TMO) procedente de una hermana que dieciocho meses después del TMO presentó una trombocitopenia sintomática grave ( $17 \times 10^9/l$ ). Los estudios serológicos efectuados demostraron que el paciente –de fenotipo HPA-1a negativo– antes del trasplante había producido un anticuerpo anti-HPA-1a reactivo con las plaquetas HPA-1a positivo del donante. La complicación se habría dado como consecuencia de una situación de quimera mixta en la que los linfocitos residuales del receptor habrían inducido una respuesta aloinmune con producción de anticuerpos anti-HPA-1a frente a las plaquetas HPA-1a positivo procedentes de la médula implantada.

Bierling y col<sup>49</sup> describieron el caso de un paciente con leucosis mieloide crónica trasplantado con una médula procedente de su hermano. El paciente era portador de un anticuerpo de especificidad anti-HPA-5b que produjo una trombocitopenia persistente post-trasplante al reaccionar con las plaquetas HPA-5b positivo de la médula implantada.

Resulta especialmente sorprendente el caso de tres pacientes trasplantados de un mismo donante (dos de riñón y uno de hígado) que desarrollaron una grave trombocitopenia a los 5-8 días después del trasplante que produjo el fallecimiento de uno de ellos.<sup>47</sup> Otro de los pacientes requirió una esplenectomía para resolver la trombocitopenia; y el tercero sufrió un rechazo del hígado trasplantado que exigió la realización de un nuevo trasplante, tras el cual recuperó la cifra de plaquetas. La donante resultó ser portadora de anticuerpos anti-HPA-1a y los tres receptores eran homocigotos para este antígeno. Esta observación apoya la hipótesis de que los aloanticuerpos fueron producidos a partir de linfocitos inmunocompetentes transportados por los órganos trasplantados.

### Relación entre los aloantígenos plaquetarios y el riesgo genético para determinadas enfermedades

En 1996 Weiss EJ et ál<sup>50</sup> publicaron un estudio en el cual mostraban la posible relación entre el alelo HPA-1b y el riesgo de sufrir una trombosis coronaria. El efecto de esta observación indujo la realización de estudios similares en los que no se alcanzaron resultados homologables, de modo que algunos autores confirmaban la observación y otros la desmentían rotundamente.<sup>51,52</sup> Uno de los inconvenientes para la validación de sus conclusiones radica en que los grupos de pacientes analizados suelen

presentar unas características clínico-epidemiológicas muy heterogéneas. Por otra parte, es muy difícil demostrar una relación directa entre un marcador genético y el riesgo de sufrir una enfermedad como la coronaria en la que intervienen múltiples factores, tanto genéticos como ambientales. Sólo una selección muy precisa y homogénea de los pacientes puede aproximarnos con mayor veracidad a este tipo de correlaciones.

Los polimorfismos presentes en las GPs Ib/IX/V y Ia/IIa<sup>53-56</sup> también han sido explorados en relación con la enfermedad tromboembólica y la hemorrágica con resultados favorables respecto a una posible correlación, sin embargo todavía no confirmada en series más amplias de pacientes o en otros estudios.

En la misma línea, Kroll et ál<sup>57</sup> reportaron una posible asociación entre el polimorfismo HPA-5, la trombosis coronaria y el infarto de miocardio en diferentes grupos de pacientes con unas condiciones genéticas y ambientales bien definidas. En relación con este mismo sistema HPA hay que añadir una interesante observación preliminar, según la cual el polimorfismo HPA-5 podría actuar como un marcador perteneciente al sistema menor de histocompatibilidad y, como tal, incidir en el desarrollo y grado de gravedad de la enfermedad del injerto contra el huésped en los pacientes tratados con trasplante de progenitores hematopoyéticos a partir de un donante HLA compatible.<sup>58</sup>

## Referencias

1. Afshar-Kharghan V, Bray B. Platelet polymorphisms. En: Michelson AD (ed): Platelets. San Diego, Academic Press 2002: 157-180.
2. Metcalfe P. Platelet antigen and antibody detection. *Vox Sang* 2004; 87 (Suppl 1): 82-86.
3. Metcalfe P, Watkins NA, Ouwehand WH, Kaplan C, Newman P, Kekomaki R et al. Nomenclature of human platelet antigens. *Vox Sang* 2003; 85: 240-245.
4. Curtis BR, McFarland JG, Fick A, Lochowicz AJ, Ball RH, Aster RH. Neonatal alloimmune thrombocytopenia associated with maternal-fetal incompatibility for blood group B. *Vox Sang* 2006; 91 (Suppl.2): 16-17.
5. Nordhagen R, Flaathen ST. Chloroquine removal of HLA antigens from platelets for the platelet immunofluorescence test. *Vox Sang* 1985; 48: 156-159.
6. Santoso S, Kiefel V, Richter IG, Sachs UJ, Rahman A, Carl B et al. A functional platelet fibrinogen receptor with a deletion in the cysteine-rich repeat region of the beta(3) integrin: the Oe(a) alloantigen in neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Blood* 2002; 99: 1205-1214.
7. Muñoz-Díaz E, Martínez C, Arilla M, Ibáñez M, Gracia M, Pastoret C et al. Frecuencia de los antígenos plaquetarios específicos de los sistemas HPA-1,2,3,4,5 y 6 en la población española. *Haematologica* 1998; 83: 62.
8. Nogués N, Subirana L, García-Manzano A. Human platelet alloantigens in a Mexican population: a comparative gene frequency study. *Vox Sang* 2000; 78: 60.
9. Ferrer G, Muñoz-Díaz E, Aluja P, Arilla M, Martínez C, Nogués R et al. Analysis of human platelet antigen systems in a Moroccan Berber population. *Transfusion Medicine* 2002; 12: 42-44.
10. De la Vega D, Nogués N, Fernández Montoya A, Chialina S, Blanzaco PD, Theiller E et al. Human platelet-specific antigens frequencies in the Argentinean population. *Transfusion Medicine* 2008; 18: 83-90.
11. Deckmyn H, Ulrichs H, Van de Walle G, Vanhoorelbeke K. Platelet antigens and their function. *Vox Sang* 2004;87 (Supl 2): 105-111.
12. Owehand WH, Stafford P, Gheveart C, Campbell K, Allen D, Smith G et al. Platelet immunology, present and future. *ISBT Science Series* 2006;1: 96-102.
13. Kaplan C, Freedman J, Foxcroft Z, Husebekk A, Metcalfe P, Muñoz-Díaz E et al. Monoclonal platelet antigen capture assays (MAIPA) and reagents: a statement. *Vox Sang* 2007; 93: 298-299.
14. Kaplan C. Neonatal alloimmune thrombocytopenia: where do we stand?. *ISBT Science Series* 2007; 2: 85-88.
15. Husebekk A, Skogen B, Killie MK, Ahlen T, Tiller H, Ekdteen M et al. Foetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia (FNAIT). *ISBT Science Series* 2011; 6: 261-264.
16. Muñoz-Díaz E. Diagnostic evaluation of FNAIT. *ISBT Sciences Series* 2007; 2: 48-55.
17. Puig N, Muñoz-Díaz E, Monteagudo E, Ribera A, Montoro JA. A second case of neonatal alloimmune thrombocytopenia by anti-HPA-4b (Yuka) in a Caucasian family. *Transfusion Medicine* 1993; 3: 64-65.
18. Castro V, Kroll H, Origa AF, Falconi MA, Marques SBD, Marba ST et al. A prospective study on the prevalence and risk factors for neonatal thrombocytopenia and platelet alloimmunization among 9332 unselected Brazilian newborns. *Transfusion* 2007; 47: 59-66.
19. Berry J, Murphy CM, Smith GA, Ranasinghe E, Finberg R, Walton J et al. Detection of Gov system antibodies by MAIPA reveals an immunogenicity similar to the HPA-5 alloantigens. *Br J Haematol* 2000; 110: 735-742.
20. Valentin N, Vergracht A, Bignon JD, Cheneau ML, Blanchard D, Kaplan C et al. HLA-DRw52a is involved in alloimmunization against PLA1 antigen. *Hum Immunol* 1990; 27: 73-79.
21. Ranasinghe E, Walton JD, Hurd CM, Saul L, Smith G, Campbell K et al. Provision of



- platelet support for fetuses and neonates affected by severe fetomaternal alloimmune thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2001; 113:40-42.
22. Kiefel V, Bassler D, Kroll H, Paes B, Giers G, Ditomaso J et al. Antigen-positive platelet transfusion in neonatal alloimmune thrombocytopenia (NAIT). *Blood* 2006; 107: 3761-3763.
  23. Spencer JA, Burrows RF. Feto-maternal alloimmune thrombocytopenia: a literature review and statistical analysis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2001;41: 45-55
  24. Muñoz-Díaz E, Parra J, Ginovart G, Martínez C, Ibáñez M, Gracia M et al. Tratamiento antenatal de la trombocitopenia fetal/neonatal aloimmune con transfusión de plaquetas intraútero. *Haematologica* 2001; 86 (Suplemento 2): 1.
  25. Murphy MF, Bussel JB. Advances in the management of alloimmune thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2006;136: 366-378.
  26. Birchall JE, Murphy MF, Kaplan C, Kroll H. European collaborative study for the antenatal management of fetomaternal alloimmune thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2003;122: 275-288.
  27. Berkowitz RL, Kolb EA, McFarland JG, Wisert M, Primani A, Lesser M et al. Parallel randomized trials of risk-based therapy for fetal alloimmune thrombocytopenia. *Obstetrics&Gynecology* 2006; 107:91-96.
  28. Yinon Y, Spira M, Solomon O, Weisz B, Chayen B, Schiff E et al. Antenatal non-invasive treatment of patients at risk for alloimmune thrombocytopenia without a history of intracranial haemorrhage. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195: 1153-1157.
  29. Bussel J, Berkowitz RL, Hung C, Anders E, Wissert M, Primiani A et al. Intracranial haemorrhage in alloimmune thrombocytopenia: stratified management to prevent recurrence in the subsequent affected foetus. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 203: 135e1-135e14.
  30. Kamphuis MM, Oepkes D. Foetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: prenatal interventions. *Prenat Diagn* 2011; 31: 712-719.
  31. Murphy MF, Williamson LM. Antenatal screening for fetomaternal alloimmune thrombocytopenia: an evaluation using criteria of the U.K national screening committee. *Br J Haematol* 2000; 111: 726-732.
  32. Husebekk A, Killie MK, Kjeldsen-Kragh J, Skogen B. Is it time to implement HPA-1 screening in pregnancy?. *Curr Opin Hematol* 2009; 16: 497-502.
  33. Bertrand G, Drame M, Martageix C, Kaplan C. Prediction of the foetal status in non-invasive management of alloimmune thrombocytopenia. *Blood* 2011; 117: 3209-3213.
  34. Tiller H, Killie MK, Chen P, Eksteen M, Husebekk A, Skogen B et al. Prophylactic administration of anti-B3 antibody mediated immune suppression (AMIS) and prevented complications in a murine model of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia (FNAIT). *Vox Sang* 2010; 99 (Suppl 2):13.
  35. Anani Sarab G, Moss M, Barker RN, Urbaniak SJ. Naturally processed peptides spanning the HPA-1a polymorphism are efficiently generated and displayed from platelet glycoprotein by HLA-DRb3\*0101-positive antigen-presenting cells. *Blood* 2009; 114: 1954-1957.
  36. Ghevaert C, Wilcox DA, Fang J, Armour KL, Clark MR, Owehand WH et al. Developing recombinant HPA-1a specific antibodies with abrogated Fcγ receptor binding for the treatment of fetomaternal alloimmune thrombocytopenia. *J Clin Invest* 2008; 118: 2929-2938.
  37. Warkentin TE, Smith JW. The alloimmune thrombocytopenic syndromes. *Transfusion Medicine Reviews* 1997; 11(4): 296-307.
  38. Williamson LM, Stainsby D, Jones H Love E, Chapman CE, Navarette C, et al. The impact of universal leucodepletion of the blood supply on hemovigilance reports of posttransfusion purpura and transfusion-associated graft-versus-host disease. *Transfusion* 2007; 47: 1455-1467.

39. Taaning E, Tonnesen F. Pan-reactive platelet antibodies in post-transfusion purpura. *Vox Sang* 1999; 76(2): 120-123.
40. Lubenow N, Eichler P, Albrecht D, Carlsson LE et al. Very low platelet counts in post-transfusion purpura falsely diagnosed as heparin induced thrombocytopenia. Report of cases and review of literature. *Thromb Res* 2000; 100(3): 259-269.
41. Hod E, Schwartz J. Platelet transfusion refractoriness. *Br J Haematol* 2008; 142: 348-360.
42. Vassallo RR. New paradigms in the management of alloimmune refractoriness to platelet transfusions. *Curr Opin Hematol* 2007; 14: 655-663.
43. Canals C, Nogués N, Vinyets I, Gracia M, Palou E, Muñoz-Díaz E. Anti-Human leucocyte antigens (HLA) and anti-Human platelet antigens (HPA) antibody detection in patients with suspected immune refractoriness to platelet transfusions: a 4 year experience. *Vox Sang* 2010 (Suppl. 1): 52.
44. Nijjar TS, Bonacosa IA, Israels LG. Severe acute thrombocytopenia following infusion of plasma containing antiP1<sup>A1</sup>. *Am J Hematol* 1987; 25: 219-221.
45. Scott EP, Moilan-Bergeland J, Dalmasso AP. Post-transfusion thrombocytopenia associated with passive transfusion of a platelet-specific antibody. *Transfusion* 1988; 28: 73-76.
46. Marzich C, Sthrom PL, Ayas M, Cochran RK. Neonatal alloimmune thrombocytopenia caused by passive transfer of anti P1<sup>A1</sup> antibody by blood transfusion. *J Pediatr* 1996; 128: 37-139.
47. Warkentin TE, Smith JW, Hayward CPM, Ali AM, Kelton JG. Thrombocytopenia caused by passive transfusion of anti-glycoprotein Ia/IIa alloantibody (anti-HPA-5b). *Blood* 1991; 77: 2785-2789.
48. Panzer S, Kiefel V, Bartram CR, Haas OA, Hinterberger W, Mueller-Eckardt C et al. Immune thrombocytopenia more than a year after allogenic bone marrow transplantation against donor platelets with anti-P1<sup>A1</sup> specificity: Evidence for a host-derived immune reaction. *Br J Haematol* 1989; 71: 259-264.
49. Bierling P, Pignon JM, Kuentz M, Mitjavila MT, Fromont P, Barbu V et al. Thrombocytopenia after bone marrow transplantation caused by a recipient origin Br<sup>a</sup> alloantibody. Presence of mixed chimerism 3 years after the graft without haematological relapse. *Blood* 1994; 83: 274-279.
50. Weiss EJ, Bray PF, Tayback M, Schulmann SP, Kickler TS, Becker LC et al. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 1090-1094.
51. Ridker PM, Hennekens CH, Schmitz C, Sampfer MJ, Lindpaintner K. PLA1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risks of myocardial infarction stroke and venous thrombosis. *Lancet* 1997; 349: 385-388.
52. Muñoz-Díaz E, Martínez C, García-Moll X, Montserrat I, Arilla M, Salas E et al. HPA1a/1b polymorphism and the risk of ischemic heart disease in the Mediterranean setting. *Transfusion Med* 1997; 7: 40.
53. González-Conejero R, Lozano ML, Rivera J, Corral J, Iniesta JA, Moraleda M et al. Polymorphism of platelet membrane glycoprotein Ib associated with arterial thrombotic disease. *Blood* 1998; 92: 2271-2276.
54. Afshar-Khargan V, Li CQ, Khoshnevis-Asi M, López JA. Kozak sequence polymorphism of the glycoprotein (GP) Ib $\alpha$  gene is a major determinant of the plasma membrane levels of the platelet GPIb-IX-V complex. *Blood* 1999; 94: 186-191.
55. Santoso S, Kunicky TJ, Kroll H, Haberbosch W, Gardemann A. Association of the platelet glycoprotein Ia C807T gene polymorphism with nonfatal myocardial infarction in younger patients. *Blood* 1999; 93: 2449-2253.
56. Carlsson LE, Santoso S, Spitzer S, Kessler C, Greinacher A. The  $\alpha 2$  gene encoding sequence T807/A873 of the platelet collagen receptor integrin  $\alpha 2 \beta 1$  might be a genetic risk factor for the development of stroke in younger patients. *Blood* 1999; 93: 3583-3586.

57. Kroll H, Gardemann A, Fechter A, Haberbosch W, Santosos S. The impact of the glycoprotein Ia collagen receptor subunit A1648G gene polymorphism on coronary artery disease and acute myocardial infarction. *Thromb Haemost* 2000; 83: 392-396.
58. Maruya E, Saji H, Seki S, Fuji Y, Kato K, Kai S et al. Evidence that CD31, CD49b and CD62L are immunodominant minor histocompatibility antigens in HLA identical sibling bone marrow transplant. *Blood* 1998; 92: 2169-2176.



# Inmunogenética de los sistemas HLA, HPA y HNA

CRISTINA NAVARRETE\*

## Introducción

La mayoría de las células de la sangre y los tejidos expresan moléculas polimórficas (aloantígenos) que al ser trasfundidas o trasplantadas de un individuo a otro son reconocidas como foráneas por el sistema inmune del receptor. Este reconocimiento lleva al desarrollo de anticuerpos (aloanticuerpos) y de células efectoras responsables de algunas de las más graves reacciones post-trasfusionales.

Entre estos aloantígenos se encuentran los antígenos leucocitarios humanos (HLA, por sus siglas en inglés), los antígenos plaquetarios humanos (HPA, por sus siglas en inglés) y los antígenos neutrófilos humanos (HNA por sus siglas en inglés). Los HLA están expresados en la mayoría de las células

\* *Directora Nacional de los Servicios de Histocompatibilidad e inmunogenética, National Health Service Blood and Transplant, England Reino Unido. Profesora Asociada en Inmunología, Department of Immunology and Molecular Pathology, University College London, Reino Unido.*

en la sangre, en cambio los HNA solo lo están en los neutrófilos y los HPA en las plaquetas.

Inicialmente, estos aloantígenos fueron identificados utilizando anticuerpos policlonales presentes en el suero de pacientes inmunizados por embarazo, transfusiones o luego de un trasplante. En la medida en que las bases moleculares de estos aloantígenos se resolvieron fue posible desarrollar técnicas basadas en la caracterización del ADN, lo que ha permitido una mejor definición del polimorfismo. En este capítulo se describirán las bases genéticas y moleculares que determinan estos aloantígenos y los métodos usados para su definición. También cubrirá los métodos utilizados para la detección y definición de los anticuerpos inducidos por estos aloantígenos.

## El sistema HLA

Los antígenos del sistema HLA son un grupo de moléculas altamente polimórficas expresadas en la superficie de la membrana celular y que juegan un papel central en la inducción y regulación de la respuesta inmune. Los genes que codifican estas moléculas forman parte de un sistema genético llamado el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés); en los humanos este complejo es conocido como el sistema de antígenos leucocitarios humanos. La región en la cual residen estos genes se extiende 4 megabases (mb) o 7 mb si se incluye el gen HFE, y está situada en el brazo corto del cromosoma 6. Estos genes están organizados en tres regiones, a saber, clase I, clase II y clase III; estos últimos incluyen genes que codifican proteínas

con diversas funciones inmunológicas, tales como el factor 4 del complemento y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ).<sup>1,2</sup>

## Genes HLA de clase I

Estos genes se han clasificado, de acuerdo con su estructura y función, en clásicos y no clásicos (o genes de clase Ib). Los genes clásicos (HLA-A, B y C) codifican una glicoproteína (GP) de aproximadamente 43 kDa (cadena pesada o cadena  $\alpha$ ) la cual está unida por un enlace no covalente a una GP de 12 kDa ( $\beta$ 2 microglobulina o cadena liviana) codificada por un gen situado en el cromosoma 15. La cadena  $\alpha$  consta de tres dominios extracelulares de aproximadamente 90 aminoácidos de longitud y de estos, los dominios 2 y 3, que son los más polimórficos, forman un bolsillo de aproximadamente 25 Å de largo y 10 Å de ancho que puede acomodar una variedad de péptidos antigénicos de aproximadamente ocho a diez aminoácidos de longitud para ser presentado a las células T. Los genes no clásicos (HLA-E, F y G) tienen una estructura de exones e intrones similar a la de los genes HLA-A, B y C pero, en general, expresan un polimorfismo más reducido.

Los antígenos HLA de clase I clásicos se expresan en la mayoría de los tejidos y las células sanguíneas, incluidos los linfocitos T y B y las plaquetas. Los antígenos no clásicos HLA-E y F también se expresan en la mayoría de los tejidos, mientras que HLA-G hasta ahora sólo ha sido detectado en el trofoblasto, en los monocitos y más recientemente en las células mesenquimales.

Los genes MIC-A y MIC-B, situados centroméricos a HLA-B, son muy parecidos en su estructura a los genes HLA clase I clásicos, pero no requieren  $\beta$ 2-microglobulina o péptidos para su expresión en la superficie celular, como los HLA-A, B y C. Hasta ahora, la expresión de MIC se ha detectado en células endoteliales recién aisladas, en fibroblastos, en queratinocitos y en monocitos. También se expresan en células epiteliales intestinales como resultado de estrés y en una variedad de tumores de origen epitelial.

### Genes HLA de clase II

Los genes HLA de clase II DR, DQ y DP, incluyen un gen no polimórfico DRA y nueve genes DRB, de los cuales DRB2, B6, B7, B8 y B9 son pseudogenes.

El número de genes DRB que se expresan varía según el alelo DRB1. Por ejemplo, HLA DR1, DR103, DR8 y DR10 solo expresan el gen DRB1; HLA-DR15 y DR16 expresan además el gen DRB5, que codifica para el producto serológico DR51; HLA DR17, DR18, DR11, DR12, DR13 y DR14 también expresan el gen

DRB3, que codifican para la especificidad serológica DR52, mientras que HLA DR4, DR7 y DR9 también expresan el gen DRB4, que codifica el producto serológico DR53. Hay algunas excepciones a esta distribución (por ejemplo, un gen DRB5 se ha encontrado ligado a DR1).

Por el contrario, hay dos genes DQA y dos DQB, de los cuales solo A1 y B1 se expresan y son polimórficos. Del mismo modo, hay dos genes DPB y dos DPA de los cuales solo DPA1 y DPB1 se expresan y son polimórficos. Estos genes codifican para un heterodímero formado por una cadena  $\alpha$  y una cadena  $\beta$  de aproximadamente 34 y 28 kd respectivamente. Estas moléculas expresan dos dominios extracelulares:  $\alpha$  1/ $\beta$ 1 y  $\alpha$  2/ $\beta$  2, codificada por los exones 2 y 3 de estos genes. La mayoría del polimorfismo está ubicado en el dominio  $\beta$ 1 para las moléculas DR y  $\alpha$ 1, y  $\beta$ 1 para las moléculas DQ y DP. Los antígenos HLA-DR, DQ y DP se expresan constitutivamente en los linfocitos B, los monocitos, las células dendríticas, los linfocitos T y los granulocitos activados (ver Tabla 1). Sin embargo, la expresión de estas

**Tabla1.** Aloantígenos HLA, HNA y HPA expresados en células en sangre periférica

	HLA		HNA	HPA
	Clase I (A,B,C)	Clase II (DR, DQ, DP)		
Linfocitos T	+	-*	-***	-
Linfocitos B	+	+	-***	-
Monocitos	+	+	-***	-
Granulocitos	+	-*	+	-
Celulas dendríticas	+	++	-	-
Plaquetas	+	-	-	+
Glóbulos rojos	+**	-	-	-
Plasma (soluble)	+	+	+	+
* Se expresan en células activadas (ver texto)				
** En reticulocitos				
*** Algunos HNA están expresados en linfocitos y monocitos (ver texto)				

moléculas también puede ser inducida en células no hematopoyéticas, tales como los fibroblastos y las células endoteliales, como resultado de la activación o por el efecto de ciertas citoquinas inflamatorias, tales como  $\gamma$ -interferón y TNF- $\alpha$ .<sup>3</sup> (El número de antígenos definidos serológicamente y de alelos identificados en el ADN se puede ver en <http://hla.alleles.org/nomenclature/stats.html>).

Debido a la complejidad del polimorfismo del sistema HLA y al gran número de alelos nuevos definidos cada año, el Comité de Nomenclatura de los Talleres Internacionales de Histocompatibilidad realiza periódicamente una revisión y actualización de la nomenclatura que se puede ver en <http://hla.alleles.org/nomenclature/stats.html>.

Las moléculas HLA juegan un papel fundamental en la inducción y regulación de la respuesta inmune. Las moléculas HLA clase I clásicas, están principalmente (pero no exclusivamente) dedicadas a la presentación de péptidos antigénicos de origen endógenos a las células CD8+ T citotóxicos, mientras que las moléculas HLA clase II presentan principalmente (pero no exclusivamente) péptidos antigénicos exógenos a las células CD4+. Estas células, una vez activadas, pueden iniciar y regular una variedad de procesos que conducen a la maduración y diferenciación de las células efectoras y humorales, incluida la secreción de citoquinas.

Las moléculas HLA de clase I clásica y no clásicas, también interactúan con dos tipos distintos de receptores (inhibidores y activadores) presentes en las células N.<sup>4</sup> Estos receptores pertenecen a dos familias, a saber, la superfamilia

de las Ig –también llamadas receptores NK o KIR– y la superfamilia de lectina tipo C, llamada CD94, que se puede unir de forma covalente con varios miembros de la familia NKG2. Los receptores KIR interactúan con HLA-A,-B,-C y G, mientras que CD94-NKG2 reconocen las moléculas HLA-E las cuales son capaces de presentar péptidos derivados de variantes de los antígenos HLA-I, A, B o C y de HLA-G. Los productos MIC-A y-MIC-B son reconocidos por receptores presentes en células NK y en los linfocitos T  $\gamma\delta$ .<sup>3,5</sup>

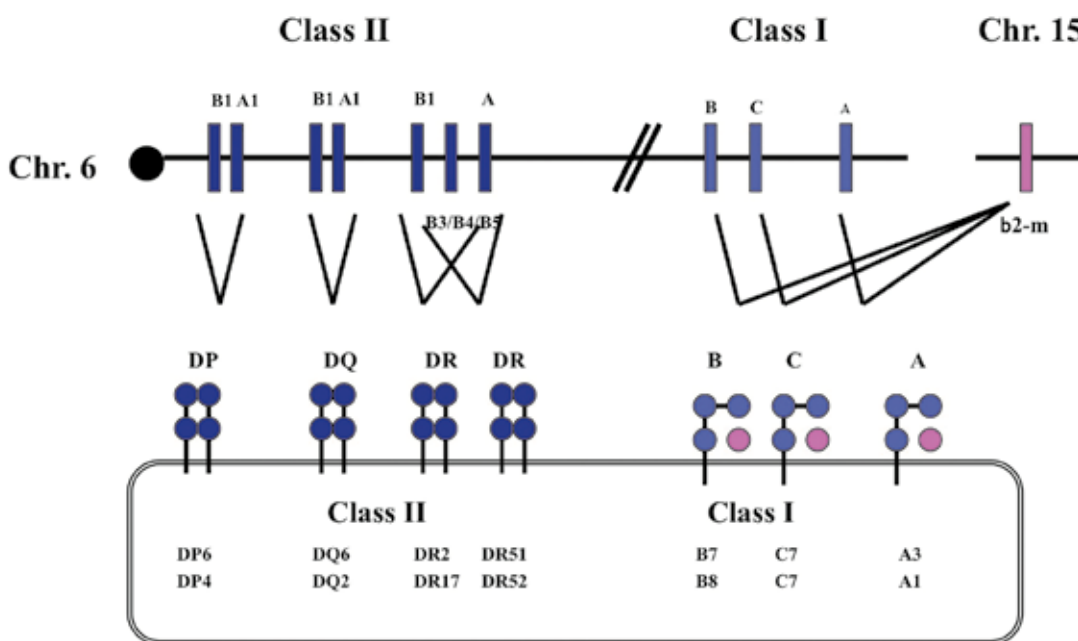
Algunas de las características importantes de los genes HLA incluyen su expresión en forma codominante, son altamente polimórficos y los alelos de los distintos genes se expresan con distintas frecuencias en distintos grupos étnicos. Además, alelos de locus distintos segregan con un fuerte desequilibrio de unión, lo que da origen al concepto del haplotipo. En condiciones normales, catorce moléculas HLA se expresan en los linfocitos periféricos, seis de clase I y seis u ocho de clase II, según el alelo DR que se exprese (ver Figura 1).

Otra importante característica funcional de estas moléculas es que pueden ser reconocidas directa o indirectamente por las células T del huésped, mediante un mecanismo llamado alorreconocimiento directo o indirecto.

## Sistema HPA

Los antígenos plaquetarios humanos (HPA) están determinados por variaciones en genes que codifican GP expresadas en la superficie celular y que juegan un papel importante y a veces esencial en el proceso de coagulación.<sup>6,7</sup>





**Figura 1.** Moléculas HLA expresadas en la membrana celular

El polimorfismo descrito en estos genes ha dado origen a más de 20 antígenos agrupados en 23 sistemas (HPA-1 a HPA-23bw,). (Ver Tabla 2 y sitio <http://>

[www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP;ss95216694](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP;ss95216694). Fecha de último acceso 10.5.12)

**Tabla 2.** Sistemas HPA

Sistema	Nombre Original	Glicoproteína	HGNC	Proteína madura	Cromosoma	CD
HPA-1	Zw <sup>a</sup> , PI <sup>A1</sup>	GP1IIa	ITGB3	L33P	17	CD61
HPA-2	Ko <sup>b</sup>	GP1Ib $\alpha$	GP1BA	T145M	17	CD42b
HPA-3	Bak <sup>a</sup> , Lek <sup>a</sup>	GP1Ib	ITGA2B	I843S	17	CD41
HPA-4	Yuk <sup>b</sup> , Pen <sup>a</sup>	GP1IIa	ITGB3	R143Q	17	CD61
HPA-5	Br <sup>b</sup> , Zav <sup>b</sup>	GP1Ia	ITGA2	E505K	5	CD49b
HPA-6w	Ca <sup>a</sup> , Tu <sup>a</sup>	GP1IIa	ITGB3	R489Q	17	CD61
HPA-7w	Mo <sup>a</sup>	GP1IIa	ITGB3	P407A	17	CD61
HPA-8w	Sr <sup>a</sup>	GP1IIa	ITGB3	R636C	17	CD61
HPA-9w	Max <sup>a</sup>	GP1Ib	ITGA2B	V837M	17	CD41
HPA-10w	La <sup>a</sup>	GP1IIa	ITGB3	R62Q	17	CD61
HPA-11w	Gro <sup>a</sup>	GP1IIa	ITGB3	R633H	17	CD61
HPA-12w	Iy <sup>a</sup>	GP1Ib $\beta$	GP1BB	G15E	22	CD42c
HPA-13w	Sit <sup>a</sup>	GP1Ia	ITGA2	T799M	5	CD49b
HPA-14w	Oe <sup>a</sup>	GP1IIa	ITGB3	K611del	17	CD61
HPA-15	Gov <sup>b</sup>	CD109	CD109	S703Y	6	CD109
HPA-16w	Duv <sup>a</sup>	GP1IIa	ITGB3	T140I	17	CD61
HPA-17w	Va <sup>a</sup>	GP1Ib/IIa	ITGB3	T195M	17	CD61
HPA-18w	Cab <sup>a</sup>	GP1Ia	ITGA2	Q716H	5	CD49b
HPA-19w	Sta	GP1IIa	ITGB3	K137Q	17	CD61
HPA-20w	Kno	GP1Ib	ITGA2B	T619M	17	CD41
HPA-21w	Nos	GP1IIa	ITGB3	E628K	17	CD61

La mayoría de los sistemas HPA se encuentran en la integrina formada por el heterodímero GPIIb/IIIa que sirve de receptor del fibrinógeno, del factor von Willebrand (vWF), de la fibronectina, la vitronectina y la trombospondina. Los otros HPA están en el complejo GPIb/IX/V (receptor del vWF), en la integrina  $\alpha\beta 1$  y 2 o complejo GPIa/IIa (receptor del colágeno) y en las GPIV y GPV. El sistema HPA-15 está ubicado en la proteína CD109 ligada al glicosil fosfatidilinositol de la membrana y forma parte del receptor del factor de crecimiento de transformación beta (TGF- $\beta$ ).<sup>7</sup>

Las bases moleculares de la mayoría de los sistemas han sido resueltas y esto ha demostrado que, con la excepción de HPA-14bw que se debe a la delección de unos tripletes que codifican para un aminoácido, la diferencia entre los dos alelos de la mayoría de los HPA es una sustitución de un solo nucleótido en el gen que codifica la GP de referencia. En los individuos de origen caucasoide, en la mayoría de los sistemas HPA la frecuencia del alelo está sesgada hacia el alelo 'a'. Los HPA, al igual que los HLA, también se expresan con distintas frecuencias en diversos grupos étnicos.

Los HPA, además de estar presentes en las plaquetas, también se expresan en otras células en la sangre e.g. GPIa/IIa (HPA-5) y CD109 (HPA-15 se expresa en los linfocitos T activados y HPA-15 también se expresa en células endoteliales y en un subgrupo de células en la médula ósea).

## El sistema HNA

Los antígenos presentes en los neutrófilos (HNA) son determinados por genes

que codifican moléculas con variadas funciones. Hasta ahora se han descrito siete antígenos agrupados en cinco sistemas antigénicos (HNA-1-5).<sup>8-10</sup>

El sistema HNA-1 está situado en el receptor Fc $\gamma$ RIIIb (CD16b) de baja afinidad para las inmunoglobulinas (Ig) IgG1 y IgG3 y el gen FCGR3B que codifica estos antígenos está localizado en el cromosoma 1. Hasta el momento se han descrito tres alelos, FCGR3B\*1 (HNA-1a), FCGR3B\*2 (HNA-1b) y FCGR3B\*3 (HNA-1c) anteriormente conocidos como NA1, NA2 y SH, respectivamente (ver Tabla 3). Cuatro sustituciones de aminoácidos en la posición 36, 65, 82 y 106 determinan los antígenos a y b y de estas, la sustituciones en las posiciones 82 y 65 parecen ser cruciales para definir HNA-1a y 1b, mientras que el antígeno c está determinado por una sola sustitución en la posición 78 del antígeno b. Este receptor, que se encuentra expresado en forma abundante en los neutrófilos, está involucrado en la eliminación de inmunocomplejos y en la fagocitosis de microorganismos opsonizados.<sup>11</sup>

Algunos individuos que expresan el antígeno HNA-1c también expresan un tercer gen FCGR3B\*. Hay también individuos que no expresan el gen FCGR3B y tienen un fenotipo "nulo". Este fenotipo es poco común y resulta en una deficiencia para el receptor Fc, pero no parece estar asociado con un fenotipo clínico evidente aunque puede causar neutropenia inmune en el recién nacido debido a isoanticuerpos desarrollados en la madre contra este antígeno.<sup>12</sup>

El sistema HNA-2 (anteriormente conocido como NB1), se expresa en una GP de peso molecular de aproximada-

**Tabla 3.** Sistemas HNA

1	2	3	4	5	6	7
Sistema	Antígeno	Nombre Orama	Localización	Gen/Alelo	Cromosoma	CD
HNA-1	HNA-1a	NA1	FcyRIIIb	FCGR3B*1	1	CD16
ND	HNA-1b	NA2	FcyRIIIb	FCGR3B*2	1	CD16
ND	HNA-1c	SH	FcyRIIIb	FCGR3B*3	1	CD16
HNA-2	HNA-2a	NB1	CD177 (NB1GP)	CD177*1	19	CD177
HNA-3	HNA-3a	5b	70-95 Kd3p	SLC44A2	19	CTL2
HNA-4	HNA-4a	Mart*	CD11b (CR3)	ITGAM*01	16	CD11b
HNA-5	HNA-5a	Ond*	CD11a (LFA-1)	ITGAL*01	16	CD11a
HNA-1	HNA-1a	NA1	FcyRIIIb	FCGR3B*1	1	CD16
ND	HNA-1b	NA2	FcyRIIIb	FCGR3B*2	1	CD16
ND	HNA-1c	SH	FcyRIIIb	FCGR3B*3	1	CD16
HNA-2	HNA-2a	NB1	CD177 (NB1GP)	CD177*1	19	CD177
HNA-3	HNA-3a	5b	70-95 Kd3p	SLC44A2	19	CTL2
HNA-4	HNA-4a	Mart*	CD11b (CR3)	ITGAM*01	16	CD11b
HNA-5	HNA-5a	Ond*	CD11a (LFA-1)	ITGAL*01	16	CD11a
HNA-1	HNA-1a	NA1	FcyRIIIb	FCGR3B*1	1	CD16
ND	HNA-1b	NA2	FcyRIIIb	FCGR3B*2	1	CD16
ND	HNA-1c	SH	FcyRIIIb	FCGR3B*3	1	CD16
HNA-2	HNA-2a	NB1	CD177 (NB1GP)	CD177*1	19	CD177
HNA-3	HNA-3a	5b	70-95 Kd3p	SLC44A2	19	CTL2
HNA-4	HNA-4a	Mart*	CD11b (CR3)	ITGAM*01	16	CD11b
HNA-5	HNA-5a	Ond*	CD11a (LFA-1)	ITGAL*01	16	CD11a

ND = No definido

mente 56-64 Kd (CD177) localizada en la membrana plasmática y en gránulos secundarios de los neutrófilos.<sup>13</sup> Esta GP, que está unida a la membrana plasmática por un ancla GPI, está codificada por un gen localizado en el cromosoma 19. HNA-2 se expresa en aproximadamente el 50% de los neutrófilos en el

95% de los individuos. Esta variación en la expresión está determinada por varias substituciones de una sola base o polimorfismo de un solo nucleótido (*Single Nuclotide Polymorphisms* o SNP) en diferentes regiones del gen CD177 que codifica esta proteína.<sup>14</sup> Algunos individuos no expresan HNA-2 debido

a un defecto en la transcripción de este gen. La molécula codificada por el gen CD177 actúa como receptora para las moléculas de adhesión a las plaquetas y al endotelio 1 (PECAM-1), lo que indica que estas moléculas estarían jugando un papel importante en la adhesión y trans migración de estas células al endotelio.<sup>15</sup> Aloanticuerpos HNA-2 han sido implicados en la inducción de TRALI, en neutropenias aloinmunes en recién nacidos y en pacientes trasplantados con células hematopoyéticas troncales. HNA-2 es, además, un marcador importante en algunos desórdenes mieloproliferativos, como la policitemia rubra vera.<sup>16</sup>

HNA-3 (anteriormente conocido como 5b) se encuentra en una GP de peso molecular de aproximadamente 70-90 kd y hasta el momento solo se ha identificado un alelo serológicamente. Hoy se sabe que estos antígenos están codificados por un gen implicado en el transporte de la colina (Choline transporter-like proteína-2 -CTL2-) ubicado en el cromosoma 16 y son el resultado de un solo SNP en la posición 461 (G> A) en el gen SLC44A2 y que da origen a una sustitución de un aminoácido en la posición 154 (R154Q).<sup>17-19</sup> Los anticuerpos HNA-3a son poco comunes, pero se sabe que están presentes en las reacciones posttransfusionales febriles no hemolíticas y en la neutropenia inmune del recién nacido y son particularmente importantes en el desarrollo de TRALI.

El sistema HNA-4 (anteriormente conocido como Mart) se encuentra en la cadena  $\alpha$ M (CD11b) de la integrina  $\beta$ 2 MAC-1 codificada por el gen ITGAM, ubicado en el cromosoma 16. Este sistema tiene un antígeno, resultado de una

sustitución de un único aminoácido en la posición 61.<sup>11</sup>

El sistema HNA-5 (anteriormente conocido como Ond) se encuentra en la cadena  $\alpha$ L de la integrina LFA-1, y es conocido como CD11a. El antígeno está determinado por una sustitución de un aminoácido en la posición 766 del gen ITGAL ubicado en el cromosoma 16.<sup>11</sup>

Algunos antígenos HNA se expresan únicamente en los neutrófilos, como HNA-1 o HNA-2 mientras otros están presentes en otras células o tejidos, por ejemplo HNA-3, 4 y 5.

## DetECCIÓN Y DEFINICIÓN DE ANTÍGENOS HLA, HPA Y HNA

Inicialmente, la definición y caracterización de estos antígenos se llevó a cabo utilizando técnicas serológicas y celulares mediante el empleo de aloanticuerpos. Con el desarrollo de la clonación de genes y la secuenciación directa del ADN, es ahora posible realizar un análisis detallado de estas moléculas en los nucleótidos.

El resultado de este análisis ha demostrado que, en el caso de los HLA, la mayoría del polimorfismo se encuentra en los exones 2 y 3 que codifican para las moléculas de clase I y en el exon 2 en el caso de las moléculas de clase II. De tal modo que la mayoría de las técnicas están basadas en la amplificación de estas regiones del gen para su análisis posterior.<sup>5</sup> En el caso de los HPA y HNA, se sabe en qué parte de la molécula se encuentran estos antígenos, y con base en esta información se han desarrollado técnicas para identificar este polimorfismo.<sup>19</sup> Actualmente la mayoría de las técnicas están basadas

en el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (*Polymerase Chain Reaction* (PCR) para amplificar los genes o regiones que se desean analizar y luego utilizar iniciadores específicos para los alelos (PCR-SSP) o partidores genéricos analizados con sondas específicas (PCR-SSOP). También se utiliza la técnica de secuenciación directa del ADN (PCR-SBT) por el método de Sanger.<sup>5,19,20,21,22</sup>

### PCR-SSP

Esta técnica involucra la amplificación directa del producto con iniciadores complementarios a secuencias específicas para cada gen o alelo. El ADN amplificado se detecta luego por electroforesis en gel, lo que permite la rápida identificación de alelos en muestras individuales, ya que la lectura de este método es la presencia o ausencia de un producto amplificado para el cual se emplearon partidores específicos. Uti-

lizando la técnica de PCR-SSP es posible determinar si las secuencias son detectadas en cis o en trans (ver Figura 2). Una de las principales desventajas de esta técnica (en el caso de los HLA) es que se necesitan muchas reacciones de PCR para identificar todos los alelos descritos. Además, su utilización requiere conocer la secuencia de la región que se desea amplificar y no siempre se pueden detectar nuevas secuencias.

Sin embargo, el PCR-SSP es la técnica de elección para la rápida determinación de los alelos HLA, HPA y HNA, aunque para estos últimos solo se puede usar para definir HNA-1, HNA-3, HNA-4 y 5-HNA. No es posible usarla para la detección del HNA-2 debido a que el polimorfismo HNA-2 nulo no es causado por la sustitución de un nucleótido sino por un defecto en la transcripción en el gen CD177, de tal modo que su tipifica-

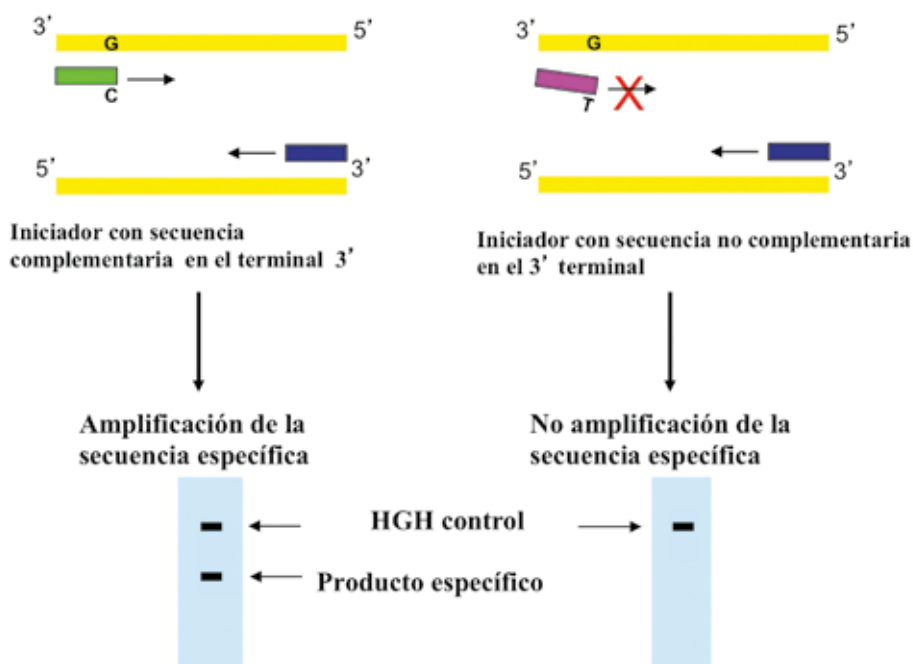
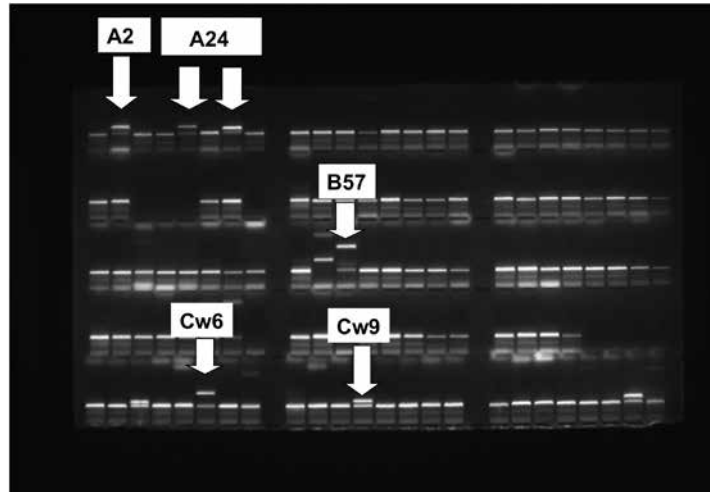


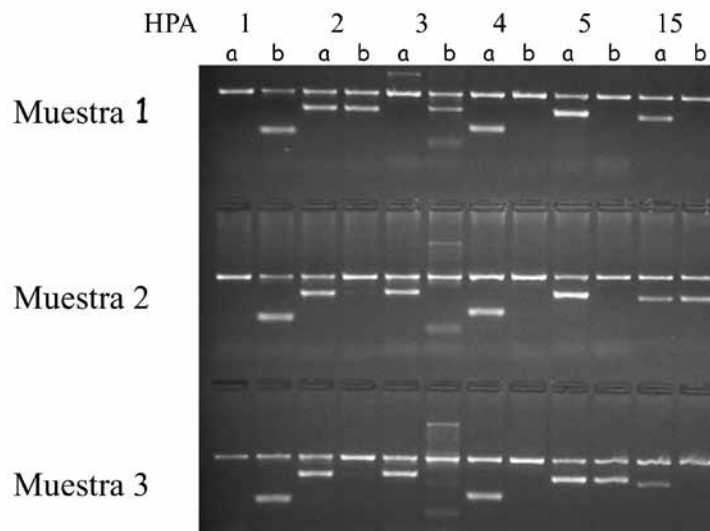
Figura 2. PCR-SSP

ción aún se hace utilizando anticuerpos monoclonales (Moabs) o aloanticuerpos y granulocitos frescos. Un ejemplo de la

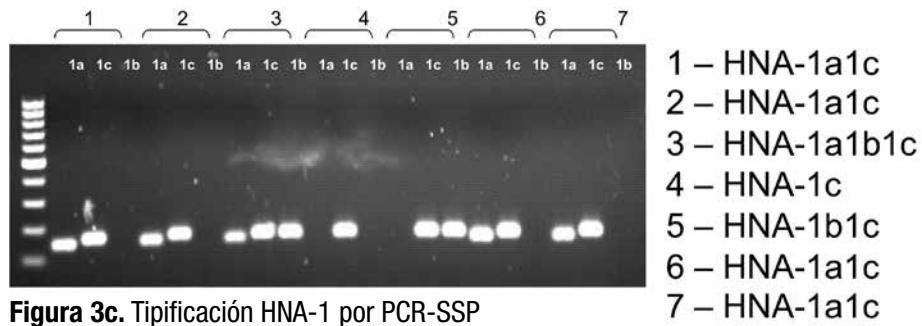
tipificación HLA, HPA y HNA por PCR-SSP está dado en las Figuras 3a, 3b, y 3c, respectivamente.



**Figura 3a.** Tipificación HLA por PCR-SSP



**Figura 3b.** Tipificación HPA por PCR-SSP



**Figura 3c.** Tipificación HNA-1 por PCR-SSP

### PCR-SSOP

En esta técnica, el gen de interés es amplificado por PCR utilizando partidores genéricos complementarios a segmentos altamente conservados en él. Los productos amplificados por PCR o amplicones, son fijados en membranas de soporte (por ejemplo, membranas de nylon) que se analizan usando oligonucleótidos marcados y diseñados para reconocer las secuencias polimórficas de ADN presentes en los diversos alelos. Una modificación de esta técnica es la adición del producto una vez amplificado por PCR con sondas ya marcadas e inmovilizadas sobre membranas o placas. Esta técnica, que ha sido llamada SSOP inverso (rSSOP), es particularmente útil cuando se quiere analizar un gran número de muestras, tales como la tipificación de donantes voluntarios de médula ósea. Recientemente se ha descrito una nueva técnica que utiliza un producto genérico de PCR marcado con biotina y sondas alelo específicas unidas a mi-

croesferas con distintos fluorocromos. Después de agregar R-ficoeritrina conjugada con estreptavidina (SAPE) a la reacción, la fluorescencia se mide usando un instrumento citómetro de flujo como el LABtypeR Luminex (ver Figura 4).

### Secuenciación directa del ADN por el método de Sanger

El principio de la secuenciación del ADN por este método es relativamente sencillo. En el caso de la secuenciación de los alelos HLA, HPA y HNA, el primer paso es la desnaturalización del ADN para proporcionar un solo filamento de la plantilla; luego se utilizan iniciadores alelos o grupos específicos para amplificar la región que se desea secuenciar y después la secuenciación y la extensión del producto se realiza mediante la adición de los partidores de secuenciación genéricos y/o específicos (*reverse* y *forward*) y el uso de la polimerasa en presencia de exceso de nucleótidos. La mezcla de secuen-

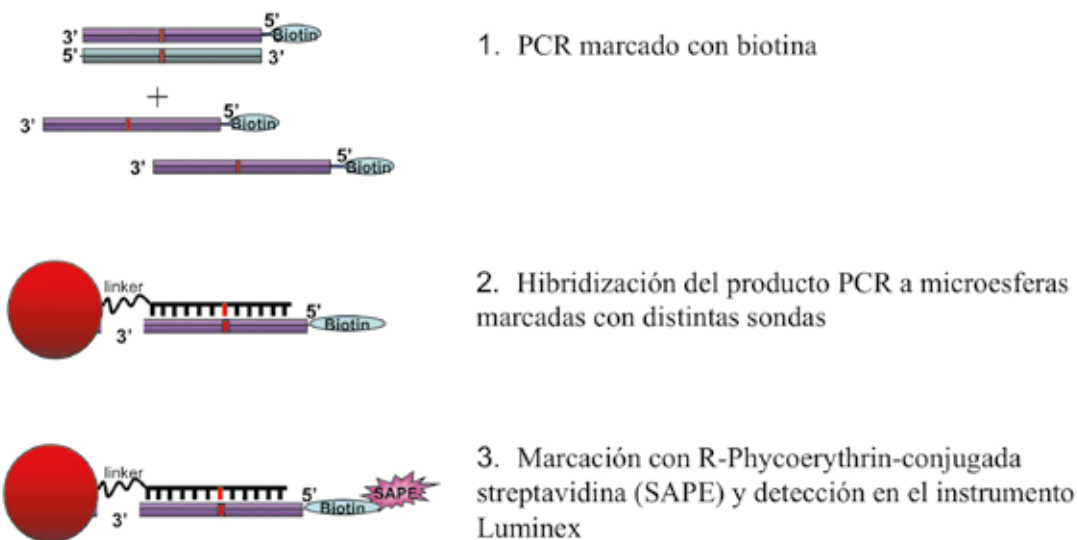


Figura 4. Tipificación HLA por Luminex

ciación se divide en cuatro tubos, cada uno de los cuales contiene un trifosfato dideoxiribonucleosido específico (ddATP). Cuando estos se incorporan en la cadena de ADN, el alargamiento se interrumpe y da lugar a la terminación de la cadena. En cada reacción hay incorporación al azar de los terminadores de cadena, por lo tanto se generan productos de todos los tamaños. Los productos de las cuatro reacciones son luego analizados por electroforesis en carriles paralelos de un gel de poliacrilamida-urea y la secuencia se lee mediante la combinación de los resultados de cada carril utilizando un secuenciador automático de ADN.

### PCR en tiempo real (RT-PCR) usando Taqman® MGB (Minor Groove Binding) Probe Assay

Esta técnica está basada en la actividad de la nucleasa 5' de la Taq polimerasa y es ideal para la detección de sistemas bialélicos. En este caso se utilizan dos sondas alelo específicas que incluyan la región polimórfica de la secuencia que se desea detectar. Una de las sondas se une con la secuencia de ADN correspondiente a un alelo (a) y la otra es específica para el otro alelo. Estas sondas son marcadas con un reportador (oligonucleótido) fluorescente en el terminal 5' y con un saturador en el terminal 3'. La proximidad de la sonda fluorescente con la sonda marcada con las moléculas supresoras disminuye la señal de fluorescencia de la muestra por un proceso llamado transferencia de energía de resonancia fluorescente (FRET).

Las sondas de amplificación alrededor de los SNP se usan para amplificar el

fragmento de ADN que se desea analizar y estos se agregan al tubo en el cual se realiza la reacción PCR. La Taq polimerasa desplaza la sonda unida en la primera extensión y permite que la actividad de la nucleasa 5' separe las sondas y libere el fluorocromo 5' el cual genera una señal fluorescente que es capturada. Las dos sondas alelo específicas son marcadas con dos fluorocromos (reportadores) distintos que se pueden distinguir en su emisión. Ambas sondas son incorporadas al mismo tubo en el cual se realiza el PCR, de tal modo que se pueden distinguir ambos alelos simultáneamente. Una de las ventajas de esta técnica es que no requiere manipulación post PCR y puede ser automatizada, lo que la hace muy conveniente para tipificar un alto número de muestras como donantes de aféresis plaquetaria.

### Anticuerpos HLA, HPA y HNA

Estos anticuerpos son inducidos por el embarazo, transfusiones de sangre y en el caso de los HLA por trasplantes, aunque últimamente se ha descrito que tanto anticuerpos HPA como HNA también pueden ser inducidos por esta vía.<sup>23,24,25</sup> La afinidad, la avidéz y la clase de Ig de los anticuerpos producidos, dependen de varios factores, incluidos la ruta y la persistencia de la inmunización y el estado inmune del individuo. Los anticuerpos HLA se pueden identificar en aproximadamente 20% de los embarazos humanos y en este caso son mono y multi-específicos, de títulos y afinidad altos y de clase IgG. Aunque los anticuerpos HLA IgG pueden cruzar la placenta, en general no son dañinos para el feto. No así el caso de los anti-



cuerpos HPA (y hasta cierto grado HNA) que pueden causar trombocitopenia y neutropenia aloinmunes graves en el feto y el recién nacido. Los anticuerpos producidos después del trasplante son sobre todo IgG, aunque IgM también puede estar presente. En cambio, la mayoría de los anticuerpos HLA presentes en pacientes multitransfundidos son mezcla de IgM e IgG, multi-específicos y contra epítomos públicos.<sup>26</sup>

El desarrollo de anticuerpos HPA y HNA es más restringido por varias razones, incluido el reducido polimorfismo de los antígenos y debido a que estos (en contraste a los HLA) solo pueden ser reconocidos como aloantígenos a través de la vía normal del reconocimiento antigénico. Aun así, cuando se desarrollan tienen consecuencias clínicas importantes; ejemplo, los anticuerpos HPA son responsables de la trombocitopenia aloinmune del recién nacido y los HNA-3 del daño pulmonar agudo relacionado con la transfusión (TRALI).

La decisión de introducir la depleción leucocitaria universal de la sangre ha llevado a una reducción en los niveles de aloinmunización en receptores no inmunizados, pero no ha sido muy eficaz en disminuir la producción de anticuerpos en individuos ya sensibilizados; como por ejemplo, mujeres que se hayan inmunizado a través del embarazo.

### Detección de anticuerpos HLA, HPA y HNA

En la actualidad existen una variedad de técnicas para detectar estos anticuerpos, incluidas la técnica de microlinfotoxicidad dependiente del comple-

mento (CDC), la técnica de ELISA, la de citometría de flujo y más recientemente una técnica basada en la detección de anticuerpos usando microesferas conjugadas con distintos fluorocromos y que expresan diversos antígenos de HLA (y más recientemente HPA y HNA) usando la plataforma Luminex.

En general, las técnicas para la detección de anticuerpos HPA y HNA son aún poco específicas y consumen mucho tiempo. Entre las técnicas más comúnmente utilizadas para la detección de los anticuerpos HPA están la inmunofluorescencia indirecta de plaquetas (PIFT) y la inmovilización del anticuerpo monoclonal de antígenos de plaquetas (MAIPA). Para los granulocitos están el test de aglutinación de granulocitos (TAG), la inmunofluorescencia indirecta de granulocitos (GIFT), y la inmovilización del anticuerpo monoclonal de antígenos de granulocitos (MAIGA). Sin embargo, la mayoría de ellas (con la excepción de MAIPA y MAIGA) no son capaces de distinguir entre los anticuerpos específicos HPA, HNA y HLA.

### *Citotoxicidad dependiente del complemento (CDC)*

Una de las técnicas originalmente utilizadas para la detección de anticuerpos es la que permite la detección de anticuerpos linfocitotóxicos.<sup>27</sup> Esta técnica está basada en que (en presencia de complemento de conejo) los anticuerpos que reaccionan con el antígeno presente en la superficie de la célula conducen a la activación del complemento por la vía clásica y dan lugar a la interrupción de la membrana de la célula. Las células dañadas son detectadas agregando bromuro de etidium

(EB) y las células vivas son identificadas agregando la naranja de la acridina (AO) al final del período de incubación. Las células marcadas con el AO, cuando se exponen a la luz ultravioleta (UV) aparecen verdes, mientras que las células dañadas permiten la entrada del EB, que se une al ADN y aparecen rojas bajo luz UV. Las reacciones positivas o negativas son evaluadas según el porcentaje de células muertas en cada uno de los pocillos como 0%-10% (muerte de la célula del fondo, negativo); 11%-20% (negativa dudosa 2); 21%-50% (positivo débil 4); 51%-80% (positivo 6); 81%-100% (positivo fuerte 8).

Esta técnica, sin embargo, no discrimina entre anticuerpos HLA y otros anticuerpos citotóxicos linfocito-reactivos, incluidos autoanticuerpos. Sin embargo, la mayoría de los autoanticuerpos citotóxicos son IgM y pueden ser identificados usando ditiotreitól (DTT). La adición de DTT al suero da lugar a la interrupción de los enlaces de disulfuro de la intersubunidad en la molécula de IgM, lo cual conduce a la pérdida de citotoxicidad debido a IgM. La exposición prolongada o el exceso de DTT pueden conducir a la interrupción de los enlaces de disulfuro intramoleculares en las moléculas de IgG y también inactivar el complemento, pero esto se puede inhibir por la adición de cisteína. Puesto que la prueba de la CDC detecta solamente los anticuerpos citotóxicos, otras técnicas tales como el ELISA o la citometría de flujo son necesarias para detectar los anticuerpos no-citotóxicos.<sup>28</sup>

### ELISA

En esta técnica del ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA)

(del acrónimo inglés *Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay*) antígenos purificados o recombinantes se inmovilizan en una microplaca de 96 pocillos directamente o a través de un anticuerpo dirigido contra una región no-polimórfica de la molécula en la que residen los aloantígenos correspondientes. En el caso de los HLA este anticuerpo está dirigido a la parte monomórfica de la molécula (dominio  $\alpha 3$ ) o en contra de la  $\beta 2$ -microglobulina. Esto permite que la región polimórfica ( $\alpha 1$  y  $\alpha 2$ ) quede disponible para la unión al anticuerpo específico. Luego se agrega el suero del paciente y los anticuerpos HLA-específicos unidos a los antígenos inmovilizados en la placa que se detectan con un anticuerpo anti Ig humana conjugado con una enzima (HRP). Esta reacción es detectada con la adición del substrato específico que cataliza la reacción y produce un cambio de color que se detecta en un lector de ELISA. Una de las ventajas principales de esta técnica es que detecta anticuerpos HLA-específicos a través de la detección de anticuerpos unidos a los antígenos HLA solubilizados o purificados. Esta técnica también se puede utilizar para la detección de anticuerpos HPA y HNA y en estos casos los antígenos HPA o HNA recombinantes o purificados son directamente capturados en los pocillos de la placa o a través del uso de Moabs, en contra de la GP en la cual se expresan estos aloantígenos, como se describe más abajo.

### MAIPA

Esta técnica (*Monoclonal Antibody Immobilisation of Platelet Antigens*) está basada en el uso de Moabs específicos

en contra de las GP en las cuales residen los HPA.<sup>28</sup> El primer paso consiste en incubar las plaquetas frescas tipificadas con el suero del paciente y luego agregar el Moab específico para la GP en donde residen los HPA. Luego, este complejo Ag/Ac se solubiliza y se añade a una placa recubierta con anticuerpo de conejo en contra de la Ig de ratón para capturar el Moab. Aquellos aloanticuerpos que reaccionan con los HPA presentes en el complejo solubilizado son luego detectados a través de un anticuerpo de cabra conjugado con HRP en contra de la Ig humana. La reacción se visualiza a través de un catalizador de la enzima. La principal ventaja de esta técnica es que es específica para los anticuerpos HPA y su desventaja es que requiere Moabs muy bien caracterizados y específicos para las distintas GP en donde residen los diversos HPA.<sup>29</sup>

#### MAIGA

Las bases de esta técnica (*Monoclonal Antibody Immobilisation of granulocyte Antigens*) son las mismas del MAIPA, pero en este caso los Moabs que se usan son específicos para las GP en las cuales residen los HNA. Una ventaja importante de esta técnica (y del MAIPA) es que según los Moabs que se usen, se puede diferenciar entre los anticuerpos HLA y HNA. La desventaja es que utiliza un gran número de neutrófilos bien tipificados y requiere tiempo.

#### *Inmunofluorescencia por citometría de flujo*

En esta técnica, los aloanticuerpos unidos a las células que expresan el antígeno correspondiente, son detec-

tados usando un anticuerpo marcado con una molécula fluorescente, tal como isotiocianato o R-phycoerythrin y en contra de la Ig humana. Al final del período de incubación del suero con las células diana y después de remover el exceso de antígeno y de anticuerpo marcado, las células se pasan a través de un rayo láser en el citómetro de flujo. Las diversas poblaciones celulares se identifican de acuerdo con su morfología y granularidad en la fluorescencia. Usando un segundo anticuerpo contra marcadores específicos, tales como CD3 o CD19, es posible identificar si la reactividad es en contra de los linfocitos T o B.

La ventaja principal de esta técnica es su mayor sensibilidad comparada con el CDC y ELISA. Sin embargo, una de sus desventajas es que en el caso de los HLA, también detecta anticuerpos linfocito-reactivos no específicos cuya relevancia clínica no es aún muy clara. Esta técnica también es utilizada para la detección de aloanticuerpos plaquetarios (PIFT) y de aquellos en contra de los neutrófilos (GIFT) a pesar de que este caso no permite distinguir entre anticuerpos HLA o HPA o HNA debido a que tanto las plaquetas como los neutrófilos, además de expresar los antígenos específicos (en este caso HPA y HNA) también expresan HLA.

Existen hoy día microesferas recubiertas con una gran variedad de proteínas recombinantes de distintos alelos HLA, lo que permite una mejor definición de la especificidad de estos anticuerpos. Además, se han descrito varias líneas celulares que expresan antígenos HPA o HNA recombinante para ser usados como reactivos en la

detección de estos anticuerpos por la técnica de inmunofluorescencia indirecta y citometría de flujo.<sup>30-34</sup>

**Test de aglutinación de granulocitos (GAT)**

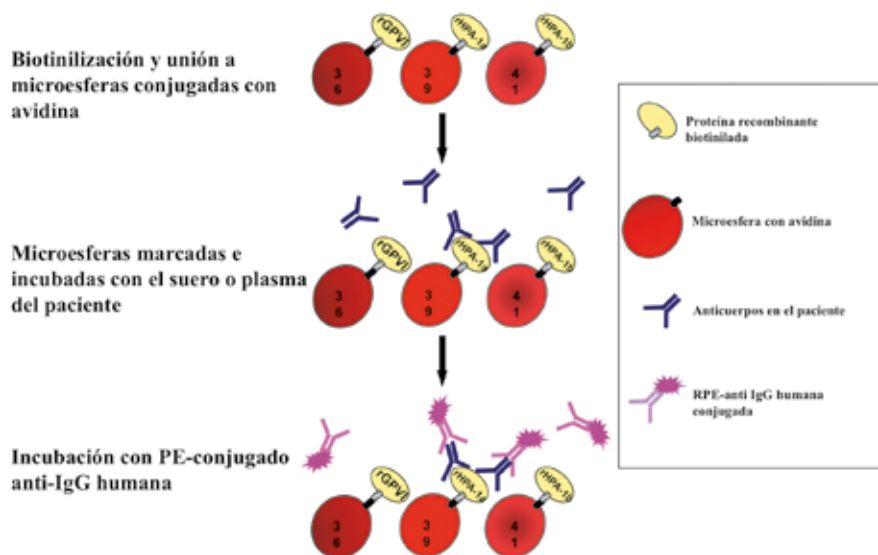
Algunos de los anticuerpos HNA (HNA-3) son detectados usando el test de aglutinación. En este caso, los anticuerpos HNA se unen a los polimorfonucleares y estas células sensibilizadas inician un proceso de quimiotaxis y se movilizan hacia otras células formando agregados microscópicos. Este proceso activo requiere células viables e intactas y es dependiente de la temperatura, al menos para los anticuerpos IgG. En el caso de los anticuerpos IgM, la aglutinación óptima ocurre a bajas temperaturas. Al igual que el test de fluorescencia indirecta de los granulocitos (GIFT), la desventaja de este test es que no distingue entre anticuerpos HLA y HNA.

**Luminex**

Esta técnica, basada en el uso del lector de fluorescencia Luminex, utiliza mi-

croesferas de poliestireno cubiertas con proteínas HLA recombinantes o purificadas y marcadas con distintos fluorocromos. Las perlas se incuban luego con el suero del paciente y la reacción se visualiza empleando un anticuerpo contra la Ig humana conjugado con PE. Las reacciones positivas o negativas se leen usando un analizador de Luminex que puede distinguir hasta 100 perlas de diversos colores en un solo tubo. Luminex es hoy la técnica más sensible para la detección de los anticuerpos de HLA. Recientemente, esta tecnología ha sido mejorada mediante la introducción de microesferas cubiertas por moléculas de distintos alelos HLA, lo que permite una mejor identificación de las especificidades de los anticuerpos presentes en los pacientes.

Se han descrito técnicas similares para la detección de anticuerpos HPA y HNA usando antígenos purificados o recombinantes y la plataforma de Luminex (Figura 5). En el caso de los anticuerpos HNA, hay un test comercial (LABScreen MULTI, One Lambda, Inc) que detecta anticuerpos HNA-1, 2, 4 y 5.



**Figura 5.** Detección de Anticuerpos por Luminex usando proteínas recombinantes

Con la reciente clonación y descripción de las bases moleculares de HNA-3 es posible que microesferas recubiertas con este antígeno recombinante puedan ser agregadas al conjunto en el futuro próximo. Por el momento, estos anticuerpos aún deben ser investigados usando las técnicas convencionales descritas arriba. Para la detección de los anticuerpos HPA, se han descrito variaciones de esta técnica en las que los HPA son capturados usando Moabs unidos a perlas magnéticas de colores y así se usan estos complejos para detectar los anticuerpos correspondientes. Nuestro laboratorio ha descrito recientemente el uso de la proteína HPA-1 recombinante unida a microesferas para la detección de anticuerpos HPA-1.<sup>35</sup>

## Conclusiones

Las bases moleculares de la mayoría de los aloantígenos presentes en las células sanguíneas (incluidos aquellos de los sistemas HLA, HPA y HNA) están ya definidas, lo que ha permitido el desarrollo y el uso de técnicas moleculares para su definición a alta resoluciones. Esto ha producido valiosos resultados para el diagnóstico y el manejo de las condiciones clínicas en las cuales estos sistemas están involucrados, como por ejemplo, la selección de donantes o productos para pacientes que necesitan un trasplante o una transfusión idéntica o compatible. Del mismo modo, este conocimiento ha llevado al desarrollo de nuevas técnicas para la detección de los anticuerpos específicos, ya sea usando proteínas purificadas o recombinantes expresadas en la membrana de líneas celulares o unidas a microesferas

marcadas y detectadas por citometría de flujo o en la plataforma Luminex. Esto es particularmente importante en el caso de los anticuerpos HPA y HNA, ya que debido a la coexpresión de estos antígenos con los HLA ha sido difícil desarrollar y utilizar técnicas que permitan definir claramente la especificidad de estos anticuerpos en presencia de los anticuerpos HLA. Esto permitirá que en el futuro se pueda hacer una mejor evaluación de la relevancia clínica de estos anticuerpos.

## Referencias

- 1 Horton R, Wilming L, Rand V *et al.* Gene map of the extended human MHC. *Nat Rev* 2004;5:889–899.
- 2 Traherne JA. Human MHC architecture and evolution: implications for disease association studies. *J Immunogenet* 2008;35:179–192.
- 3 Navarrete C Human leucocyte antigens In: *Practical Transfusion Medicine*, 3<sup>rd</sup> Edition. MF Murphy & DH Pamphilon (eds) Wiley-Blackwell, 2009 pp 30-43.
- 4 Parham P & McQueen KL. Alloreactive killer cells: hindrance and help for haematopoietic transplants. *Nat Rev Immunol* 2003;3:108–121.
- 5 Ouwehand H & Navarrete C The molecular basis of blood cell alloantigens. In: *Molecular Hematology*, 3<sup>rd</sup> Edition. D Proven & J Gribben (eds) Blackwell Publishing, 2010 pp 259-275
- 6 Bennett JS, Berger BW, Billings PC. The structure and function of platelet integrins. *J Thromb Haemost.* 2009 Jul;7 Suppl 1:200-5.
- 7 Landau M and Rosenberg N. Molecular insight into human platelet antigens: structural and evolutionary conservation analyses offer new perspective to immunogenetic disorders. *Transfusion.* 2011 Mar;51(3):558-69
- 8 Bux J. Human neutrophil alloantigens. *Vox Sang.* 2008 May;94(4):277-85.

- 9 Moritz E, Norcia AM, Cardone JD, Kuwano ST, Chiba AK, Yamamoto M et al. Human neutrophil alloantigens systems. *An Acad Bras Cienc.* 2009 Sep;81(3):559-69.
- 10 Flesch BK, Petershofen EK, Bux J. TRALI-new challenges for histocompatibility and immunogenetics in transfusion medicine. *Tissue Antigens.* 2011 Jul;78(1):1-7.
- 11 Muschter S, Berthold T, Greinacher A. Developments in the definition and clinical impact of human neutrophil antigens. *Curr Opin Hematol.* 2011 Nov;18(6):452-60.
- 12 Stroncek D. Neutrophil alloantigens. *Transfus Med Rev.* 2002 Jan;16(1):67-75
- 13 Kissel K, Scheffler S, Kerowgan M, Bux J. Molecular basis of NB1 (HNA-2a, CD177) deficiency. *Blood.* 2002 Jun 1;99(11):4231-3.
- 14 Moritz E, Chiba AK, Kimura EY, Albuquerque D, Guirãõ FP, Yamamoto M et al. Molecular studies reveal that A134T, G156A and G1333A SNPs in the CD177 gene are associated with atypical expression of human neutrophil antigen-2. *Vox Sang.* 2010 Feb;98(2):160-6.
- 15 Sachs UJ, Andrei-Selmer CL, Maniar A, Weiss T, Paddock C, Orlova VV et al. The neutrophil-specific antigen CD177 is a counter-receptor for platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (CD31). *J Biol Chem.* 2007 Aug 10;282(32):23603-12
- 16 Fung YL, Minchinton RM, Fraser JF. Neutrophil antibody diagnostics and screening: review of the classical versus the emerging. *Vox Sang.* 2011 Nov;101(4):282-90.
- 17 Greinacher A, Wesche J, Hammer E, Füll B, Völker U, Reil A, et al. Characterization of the human neutrophil alloantigen-3a. *Nat Med.* 2010 Jan;16(1):45-8.
- 18 Flesch BK, Reil A, Bux J. Genetic variation of the HNA-3a encoding gene. *Transfusion.* 2011 Nov;51(11):2391-7.
- 19 Curtis BR, Cox NJ, Sullivan MJ, Konkashbaev A, Bowens K, Hansen K et al. The neutrophil alloantigen HNA-3a (5b) is located on choline transporter-like protein 2 and appears to be encoded by an R>Q154 amino acid substitution. *Blood.* 2010 Mar 11;115(10):2073-6
- 19 Allen DL, Lucas GF, Ouwehand WH, Murphy MF In: *Practical Transfusion Medicine*, 2<sup>nd</sup> Edition. MF Murphy & DH Pamphilon (eds) Wiley-Blackwell, 2005 pp 50-63.
- 20 Sellers J, Thompson J, Guttridge MG, Darke C. Human platelet antigens: typing by PCR using sequence-specific primers and their distribution in blood donors resident in Wales. *Eur J Immunogenet.* 1999 Dec;26(6):393-7.
- 21 Nogués N. Molecular testing for platelet and granulocyte antigens. *ISBT Science Series*, 6: 7-12. doi: 10.1111/j.1751-2824.2011.01426x.
- 22 Curtis BR, McFarland JG. Detection and identification of platelet antibodies and antigens in the clinical laboratory. *Immunohematology.* 2009;25(3):125-35.
- 23 Brown CJ and Navarrete CV. Clinical relevance of the HLA system in blood transfusion. *Vox Sanguinis* 2011;101:93-105.
- 24 García-Malo MD, Corral J, González M, Solano C, González-Conejero R, Caballero MD et al Human platelet antigen systems in allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation: effect of human platelet antigen mismatch on platelet engraftment and graft-versus-host disease. *Transfusion.* 2004 May;44(5):771-6.
- 25 Pocock CF, Lucas GF, Giles C, Vassiliou G, Cwynarski K, Rezvani K et al. Immune neutropenia associated with anti-human neutrophil antigen-2a (NB1) antibodies following unrelated donor stem cell transplantation for chronic myeloid leukaemia: perpetuation by granulocyte colony-stimulating factor. *Br J Haematol.* 2001 May;113(2):483-5.
- 26 Brown C & Navarrete C. HLA antibody screening by LCT, LIFT and ELISA. In: Bidwell J & Navarrete C. (eds), *Histocompatibility Testing*. London: Imperial College Press, 2000, pp. 65–98.
- 27 Terasaki PL & McClelland JD. Microdroplet assay of human serum cytokines. *Nature* 2000;204:998–1000.
- 28 Howell WM, Carter V, Clark B. The HLA system: immunobiology, HLA typing, antibody screening and crossmatching techniques. *J Clin Pathol.* 2010 May;63(5):387-90.
- 29 Nguyen XD, Goebel M, Schober M, Klüter H, Panzer S. The detection of platelet antibodies by simultaneous analysis of spe-

- cific platelet antibodies and the monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens: an interlaboratory comparison. *Transfusion*. 2010 Jul;50(7):1429-34.
- 30 Fromont P, Prié N, Simon P, Cesbron-Gautier A, Quelvennec E, Bignon JD et al. Granulocyte antibody screening: evaluation of a bead-based assay in comparison with classical methods. *Transfusion*. 2010 Dec;50(12):2643-8.
- 31 Fujiwara K, Shimano K, Tanaka H, Sekine M, Kashiwase K, Uchikawa M et al. Application of bead array technology to simultaneous detection of human leucocyte antigen and human platelet antigen antibodies. *Vox Sang*. 2009 Apr;96(3):244-51.
- 32 Bayat B, Tjahjono Y, Werth S, Berghöfer H, Reil A, Kroll H et al. Implication of transfected cell lines for the detection of alloantibodies against human neutrophil antigen-3. *Transfusion*. 2012 Mar;52(3):613-21. doi: 10.1111/j.1537-2995.2011.03303.x.
- 33 Lopez GH, Dean MM, Yasui K, Schuller RM, Hirayama F, Fung YL. A standardized immunofluorescence test method with human neutrophil antigen-expressing cell lines to enhance antibody detection. *Vox Sang*. 2012 Feb;102(2):171-4. doi: 10.1111/j.1423-0410.2011.01532.x.
- 34 Wźniak MJ, Bowring C, Lucas G, Ridgwell K. Detection of HNA-3a and -3b antibodies using transfected cell lines and recombinant proteins. *Transfusion*. 2011 Dec 29. doi: 10.1111/j.1537-2995.2011.03490.x.
- 35 Chong W, Metcalfe P, Mushens R, Lucas G, Ouwehand WH, Navarrete CV. Detection of human platelet antigen-1a alloantibodies in cases of fetomaternal alloimmune thrombocytopenia using recombinant  $\beta$ 3 integrin fragments coupled to fluorescently labeled beads. *Transfusion*. 2011 Jun;51(6):1261-70.





# Preparación, preservación y almacenamiento del concentrado de plaquetas

PAULA CASTELLANOS FERNÁNDEZ\*

Las alteraciones en el número o en la función de las plaquetas puede tener efectos que van desde una prolongación clínicamente insignificante del tiempo de sangrado hasta defectos considerables de la hemostasia, todos incompatibles con la vida.<sup>1</sup> Su número puede menguar debido a la disminución de su producción o al aumento de su destrucción. Por otra parte, numerosos factores pueden alterar su función, tales como fármacos, enfermedades renales o hepáticas, sepsis, aumento de la degradación del fibrinógeno, circulación extracorpórea y trastornos primarios de la médula ósea.<sup>2</sup>

\* *Jefe del Servicio de Medicina Transfusional y Banco de Sangre. Hospital General de Accidentes "Ceibal". Instituto Guatemalteco de Seguridad Social. Coordinadora del Postgrado en Inmunohematología. Universidad de San Carlos de Guatemala.*

## Preparación de concentrados de plaquetas a partir de varios donantes

Los procedimientos más utilizados para preparar concentrados estándares de plaquetas (CP) de la sangre total se dividen en aquellos que emplean el método del plasma rico en plaquetas obtenido por centrifugación inicial débil de las unidades de sangre, y los que utilizan métodos de *buffy coat* (capa leucocítica) por centrifugación inicial intensa.<sup>3</sup>

Tradicionalmente, se han utilizado para el fraccionamiento de la sangre los métodos manuales de centrifugación diferencial, la cual se sustenta en los diferentes pesos específicos de los componentes de la sangre.<sup>4-5</sup> En años recientes se han usado métodos semiautomatizados para obtener, a partir de una unidad de sangre total, un concentrado eritrocitario, un concentrado plaquetario y un plasma rico en factores de la coagulación. Los métodos semiautomatizados o automatizados ahorran recursos y tienen la ventaja de lograr la estandarización de los procesos con mayor facilidad, ya que los equipos realizan algunas etapas con poca intervención del operario, lo cual reduce la variación en el procedimiento.

Los concentrados se preparan por centrifugación a partir de una unidad de sangre total.<sup>3</sup> La unidad debe contener al menos  $5,5 \times 10^{10}$  plaquetas en un volumen de plasma de aproximadamente 50 a 70 ml, que permita mantener un pH mayor que 6,2 durante el almacenamiento. Pueden almacenarse durante períodos de cinco días a 20°C-24°C con agitación constante para garantizar su supervivencia y su viabilidad postransfusional normal.<sup>6</sup>

## Preparación de concentrados de plaquetas a partir de donante único

Se obtienen mediante un procedimiento de aféresis. Cada unidad debe contener por lo menos  $3 \times 10^{11}$  plaquetas en el 90% (AABB) de las unidades estudiadas, o del 75% (FDA)<sup>3,7</sup> con un volumen medio de 200 a 300 ml.

La aféresis de plaquetas requiere que el donador esté conectado en la máquina por un lapso de 60-90 minutos, durante los cuales de tres a cuatro litros de sangre del donador son procesados por el separador celular.<sup>8</sup> La cantidad de plaquetas obtenidas depende del tipo de separador y de las características del donador (peso, talla, hematocrito y número de plaquetas). Actualmente, existen separadores que obtienen entre  $3.0 \times 10^{11}$  y  $7.0 \times 10^{11}$  plaquetas, lo que equivale a 4-8 (AABB) concentrados plaquetarios (sin contaminación de eritrocitos) y pueden obtenerse productos leucoreducidos ( $<5 \times 10^6$  hasta  $<1.0 \times 10^6$ ), de acuerdo con el equipo y la metodología empleados. El objetivo de la aféresis es obtener una dosis terapéutica de plaquetas para un adulto proveniente de un solo donador durante un procedimiento de aféresis.<sup>9</sup>

El uso de los concentrados plaquetarios de aféresis tiene dos ventajas: Primero, el número de donadores expuestos al paciente es sustancialmente menor, por lo tanto se reduce la transmisión de enfermedades virales y bacterianas. En este sentido se recomienda reclutar personas que donen repetidamente, ya que ello permite la realización de estudios de manera repetida y el control de los factores de riesgo para enfermedades infecciosas. Segundo, según sea el gra-

do de desarrollo de la tecnología de los separadores celulares, se obtienen concentrados plaquetarios leucorreducidos; la recomendación actual de un producto leucorreducido es que contenga menos de  $1 \times 10^6$  leucocitos en el 100% de los productos obtenidos.

También se ha demostrado que las plaquetas obtenidas por el sistema de aféresis son funcionalmente intactas y su viabilidad es similar a la obtenida por el método habitual, con técnicas de centrifugación estándar.<sup>10</sup>

Por más de dos décadas los separadores de células sanguíneas han permitido a los bancos de sangre obtener un gran número de plaquetas de un solo donador. En la actualidad, estos separadores son preferibles ya que con los nuevos sistemas de separación se obtienen productos sanguíneos con mejores controles de calidad; y en el caso de las plaquetas, se logra una mayor cosecha de un solo donador.<sup>11</sup>

La colección, la preparación y la conservación de las plaquetas pueden inducir la activación parcial y pérdidas en su función metabólica en el momento de la transfusión. Ensayos *in vitro* y experimentaciones en animales han demostrado que las plaquetas conservadas pierden gradualmente su capacidad de adhesión y agregación y que cuanto mayor es el tiempo de conservación más corta es su sobrevivencia.<sup>12-13</sup> Sin embargo, en humanos, el estatus clínico del receptor puede influir en la recuperación y en la sobrevivencia de las plaquetas transfundidas, pues a pesar de las lesiones ocasionadas durante su preparación y conservación, estas reaparecen en la circulación y restauran la hemostasia en pacientes con sangrado secundario

a trombocitopenias o a disfunción plaquetaria.<sup>12-15</sup>

Por otro lado, se ha observado que pacientes con trombocitopenia inducida por quimioterapia y transfundidos con plaquetas conservadas, presentan un rápido incremento de su agregación y una activa liberación de adenosina trifosfatasa.<sup>14</sup> Una de las razones para la recuperación de esta función es la restauración del medio ambiente plaquetario donde existe un pH y unos substratos metabólicos adecuados.<sup>14</sup> Con respecto a la recirculación de las plaquetas transfundidas, las investigaciones realizadas señalan que las plaquetas conservadas pueden sobrevivir después de la transfusión en el receptor hasta por seis días después de transfundidas.<sup>15-16</sup> Basadas en estos importantes resultados, posteriores investigaciones se han enfocado en la búsqueda de métodos para preservar las plaquetas por períodos más largos, sin que ello comprometa su función o aumente el riesgo de contaminación bacteriana.<sup>15</sup>

Las plaquetas activadas transfundidas tienen una vida corta y su eficacia *in vivo* es reducida.<sup>14</sup> Es bien sabido que los concentrados plaquetarios proveen a los pacientes con trombocitopenia de una cantidad suficiente de plaquetas, y para promover la hemostasia *in vivo* las plaquetas transfundidas deben mantener una función apropiada. La mejoría en los métodos de obtención y preservación de plaquetas han permitido un tiempo mayor de almacenamiento.<sup>15</sup>

Los cambios que ocurren cuando las plaquetas se activan son principalmente adhesión plaquetaria, cambio de la forma (discoidea a esférica), agregación, degranulación y producción de actividad

procoagulante. Los cambios en la forma producen en las plaquetas una disminución de su capacidad para refractar de la luz. *Swirling* (palabra derivada del inglés que se traduce como torbellino, arremolinarse, remolino) es un término que se utiliza para describir visualmente la forma discoidea de las plaquetas cuando estas refractan la luz en una bolsa de transfusión.<sup>16</sup> La disminución del *swirling* es uno de los métodos más simples y económicos para medir la activación plaquetaria; sin embargo, su determinación es subjetiva.

Algunas de las pruebas utilizadas para estudiar la función plaquetaria en investigación clínica incluyen la determinación de  $\beta$  tromboglobulina (BTG)<sup>17</sup> y P-selectina<sup>18</sup> (también conocida como CD62P<sup>19</sup> y previamente referida como GMP-140).<sup>20</sup> La P-selectina es un componente de los  $\alpha$ -gránulos de las plaquetas cuando estas se encuentran en reposo y solamente es expresada cuando estas se encuentran activadas.<sup>21</sup>

En los años cincuenta comenzaron a emplearse como opción terapéutica las transfusiones de concentrados de plaquetas (CP), cuya única fuente de obtención era la sangre total. Esto cambió en la década de los setenta con el desarrollo de los separadores celulares, los cuales mediante técnicas de aféresis permitían la extracción de componentes hemáticos específicos, celulares o plasmáticos, y el retorno del resto de elementos al donante. En los últimos tiempos se vienen observando dos tendencias en el campo de la medicina transfusional: por un lado, un incremento del número de transfusiones de plaquetas debido al aumento de tratamientos quimio-radio-terapéuticos y de trasplante de órganos;

y por el otro, la preferencia de que el hemoderivado sea de aféresis (plaquetas de donante único) al considerar que este producto es superior a la mezcla de varios concentrados estándar derivados de sangre total.<sup>22</sup>

## Evaluación de la eficacia hemostática entre ambos tipos de preparados

Antes de considerar los datos disponibles acerca de la capacidad hemostática de los diferentes CP hay que señalar que la evaluación en el laboratorio de los productos puede no reflejar de forma fidedigna la eficacia de estos *in vivo*. Hay cuatro parámetros para analizar la calidad de los CP: 1) análisis *in vitro* de las características y función de las plaquetas por citometría de flujo; 2) transfusión a modelos animales de trombocitopenia; 3) análisis de recuperación y supervivencia de plaquetas marcadas con naranja de tiazol infundidas a voluntarios sanos; y 4) valoración del incremento del recuento plaquetario en pacientes trombocitopénicos.<sup>22</sup> Este último parámetro es el de menor complejidad y el más importante.

## Contaminación bacteriana

La contaminación bacteriana de los CP es la enfermedad infecciosa más frecuentemente transmitida por transfusiones, y el riesgo clínico fundamental cuando se infunden estos concentrados es la sepsis postransfusional en el receptor, complicación que se asocia a mortalidades del 20%. Por este motivo, se están desarrollando diversos mecanismos de detección e inactivación de

dichos patógenos, aunque todavía no hay un consenso sobre cuál es la técnica que se debe implementar en los bancos de sangre. La contaminación suele deberse a la flora cutánea o a bacteremias asintomáticas del donante, por lo que parece lógico suponer que la reducción en el número de exposiciones a donantes, cuando se emplean concentrados de aféresis, reducirá en unas cinco veces el riesgo de dicha complicación (1:3.000 vs 1:15.000).<sup>23-25</sup> Sin embargo, la posibilidad de que las consecuencias clínicas sean fatales parece ser mayor en los receptores de plaquetas de donante único, lo que puede reflejar una mayor capacidad potencial de crecimiento bacteriano en este producto debido a su mayor volumen.<sup>23</sup>

## Requerimientos bioquímicos de las plaquetas

Otro de los elementos celulares que se emplean con elevada frecuencia son las plaquetas, las cuales participan activamente, junto con el endotelio vascular, en la hemostasia primaria. Se consideran como pequeñas células anucleadas cuya vida media es de doce días, presentan una forma discoide con diámetro de 2-4 micrones y un volumen corpuscular medio de 6-11 fl (fentolitros). Sus valores normales oscilan de  $150-450 \times 10^3/\mu\text{l}$  en función del método empleado para su cuantificación.

Su principal requerimiento energético es el ATP, el cual es producido por la combinación entre la glucólisis y la fosforilación oxidativa. En presencia de glucosa la fosforilación oxidativa aporta el 55% del ATP, y en ausencia de ella su contribución se incrementa en un 90%.

La fosforilación oxidativa adquiere un papel crítico en ausencia de oxígeno, ya que el aumento de ácido láctico se incrementa de 3-5 veces.<sup>26-28</sup>

## Conservación de las plaquetas<sup>29-30</sup>

Las condiciones de preparación y almacenamiento influyen de manera determinante en la pérdida de las propiedades de las plaquetas. Por tal razón se deben tener en cuenta dos aspectos de gran importancia:

1. Su sobrevida después de ser transfundidas.
2. La actividad hemostática en el paciente trombocitopénico.

Entre las variables que se han demostrado podrían afectar estas propiedades se encuentran:

- Solución de anticoagulante/preservativa.
- Temperatura de almacenamiento.
- Condiciones de centrifugación.
- Cantidad de leucocitos en concentrados plaquetarios.
- Contenedores y tipo de plásticos.

La reducción del pH es inversamente proporcional a la concentración de ácido láctico, así como el nivel de oxígeno plasmático es inversamente proporcional a la cantidad de plaquetas por unidad de volumen. En condiciones de almacenamiento con temperaturas de 20°C-24°C, las principales fuentes de energía son la fosforilación oxidativa y la vía glucolítica, esta última favorecida por bajas concentraciones de oxígeno. La alta producción de ácido láctico es neutralizada por la combinación con bicarbonato sódico plasmático y ácido carbónico, el cual se

disocia en dióxido de carbono y agua. Se ha comprobado que con un pH de 6.0 las plaquetas adoptan una forma esférica y muestran una marcada reducción de su sobrevivencia.<sup>31</sup>

También se ha señalado que el pH puede variar por la activación o fragmentación de leucocitos que compiten con las plaquetas por los nutrientes contenidos en el plasma, así como por la liberación de enzimas, sustancias vasoactivas y citocinas,<sup>32</sup> y por la tendencia a producir mayor cantidad de ácido láctico.

Por diferentes grados de activación de las plaquetas durante el proceso de preparación y depósito, la viabilidad de las plaquetas transfundidas al término de su periodo de conservación depende en gran parte del mantenimiento de un pH de 6.0 o más alto.<sup>33-38</sup> Con estos antecedentes se ha sugerido que las lesiones de almacenamiento son una forma de apoptosis.<sup>39</sup>

Durante los últimos quince años ha surgido un gran interés en el desarrollo de métodos para la conservación de plaquetas, tanto en estado líquido como congeladas. Esta situación refleja la necesidad de los bancos de sangre de mantener un depósito suficiente de plaquetas para cubrir las crecientes demandas clínicas.<sup>40-41</sup>

En la medida en que se conoce mejor la estructura de las plaquetas y las condiciones que inducen a los cambios en su morfología, su viabilidad y su función, se desarrollan procedimientos de conservación y se definen más claramente los parámetros que interfieren en

el mantenimiento de sus características vitales durante su depósito.<sup>42</sup>

Las lesiones de almacenamiento no sólo afectan la morfología de las células, sino la función biológica a la que están destinadas, al interrumpir las señales de comunicación que ordenan ya sea la retención de oxígeno o su liberación por parte del eritrocito.<sup>43</sup>

## Ventajas para cada tipo de concentrados de plaquetas

El número y proporción de CP estándar que ofrecen los centros de transfusión frente a los de donante único varían de forma considerable según la experiencia local, el tipo de pacientes, la disponibilidad de hemoderivados, el costo y el riesgo transfusional de transmisión de enfermedades. Puesto que se mezclan varios CP estándar a fin de obtener una dosis de plaquetas adecuada para una transfusión, una razón para elegir CP de donante único es minimizar la exposición del receptor a un número indeterminado de donantes y (al menos teóricamente) aminorar la posibilidad de transmisión de enfermedades. Sin embargo, cada dosis de CP de donante único cuesta por lo general entre un 50% y un 100% más que la equivalente de CP estándar, principal argumento para emplear estos últimos en países de economías empobrecidas. En la Tabla 1 se recogen las principales ventajas de cada uno de los productos.

**Tabla 1.** Ventajas para cada tipo de concentrados de plaquetas (CP)

La menor manipulación por parte de operarios y la ausencia de una centrifugación no controlada pueden asociarse a una menor activación.	Mayor disponibilidad del producto
Menor contaminación por leucocitos y mayor facilidad para leucorreducir el producto.	Riesgo inferior de contaminación asociado a la donación.
Menor exposición a donantes, lo que conlleva menor riesgo de sepsis postransfusional y de transmisión de enfermedades virales.	Más flexibilidad en dosis en pacientes con índice de masa corporal pequeño.
Mayor demanda hospitalaria dada su mayor comodidad transfusional.	Examen costo-efectivo más beneficioso.

## Efectos adversos

### Análisis de aloinmunización

Tradicionalmente, uno de los principales argumentos a la hora de defender el uso de los CP de donante único frente a los concentrados estándar es la posible reducción de la aloinmunización. Así, se postula que la generación de anticuerpos contra aloantígenos de plaquetas de donantes (una causa fundamental de refractariedad a las transfusiones de plaquetas en pacientes con trombocitopenia), puede ser menor cuando se emplean CP de donante único en función con la disminución a la exposición a donantes. Sin embargo, esto se ha desestimado tras la realización del estudio clásico “Grupo de Estudio para la Reducción de Aloinmunización a Plaquetas” (*Trial to Reduce Alloimmunization to Platelets Study Group –TRAP–*).<sup>44</sup> En dicho trabajo, la refractariedad aloinmunitaria no resultó ser significativamente diferente en los pacientes transfundidos con CP en los que los leucocitos habían sido inactivados por irradiación ultravioleta (5%) o filtrados, tanto de aféresis (4%) como estándar (3%); esta incidencia fue significativamente mayor en pacientes que recibían CP no tratados

(13%). Así, se concluyó que la modalidad terapéutica fundamental en pacientes politransfundidos para prevenir la aloinmunización es la utilización de filtros leucorreductores –de los cuales el más apropiado es el de log 5– y que los CP de donante único no ofrecen ventajas adicionales respecto a los CP estándar. Respecto al tratamiento de pacientes con refractariedad aloinmunitaria ya establecida, es decir, en los que se han generado anticuerpos generalmente dirigidos contra aloantígenos del sistema HLA, la transfusión de CP de donante único es la opción más adecuada. Una vez confirmada dicha refractariedad, los CP de donante único se escogerán: a) definiendo la especificidad del anticuerpo y evitando los antígenos incompatibles utilizando donantes fenotipificados; b) seleccionando donantes HLA compatibles familiares o de un registro de donantes de plaquetas de aféresis; o c) realizando una prueba cruzada de CP de donante único con el depósito de hemoderivados disponible en el centro.

### Análisis de reacciones transfusionales

Cuando se respeta la transfusión isogrupo en receptores de CP, la reacción

que más frecuentemente se asocia a las plaquetas es la febril (dos tercios de complicaciones transfusionales), debido a la presencia de citocinas, la mayoría procedentes de leucocitos (factor de necrosis tumoral alfa, interleucinas 6 y 8), aunque también pudieran ser plaquetarias (factor transformador del crecimiento beta). La incidencia de estas reacciones transfusionales cuando se emplean CP estándar se reconoce superior (4,51%) a las asociadas al uso de CP de donante único (1,78%).<sup>45</sup> No obstante, la acumulación de citocinas se asocia al contenido de leucocitos del producto (menor en CP de donante único) y las reacciones febriles pueden ser prevenidas con la leucodepleción del producto prealmacenamiento.

### Análisis de complicaciones infecciosas

Al igual que sucede con la posibilidad de transmisión de infecciones bacterianas, la reducción en la exposición a donantes se debe asociar de forma proporcional a la disminución en el riesgo de transmisión viral por la transfusión. La estrategia transfusional debe ser, sin embargo, un proceso dinámico que tenga en cuenta la incidencia de patógenos en un determinado momento. Así, si súbitamente irrumpiera un patógeno con una incidencia elevada en la población de donantes (que podría ser del 1%) con CP de donante único evitaríamos la transmisión de 250 casos de infecciones al año en una comunidad de 1.000.000 de habitantes. Por tanto, esta se consideraría una estrategia de obligada adopción hasta que se dispusiera de una metodología adecuada de detección

o inactivación de este patógeno en hemoderivados.

### Análisis de seguridad del donante

Los donadores de plaquetas por aféresis pueden donar más frecuentemente que los donadores de sangre total y poseen otros criterios de donación, tales como el intervalo entre donaciones, el cual puede ser de por lo menos dos días por un tiempo no mayor a dos veces por semana o una frecuencia de 24 veces en el año. Los procedimientos de plaquetaféresis manejan niveles extracorpóreos menores a 100 ml de sangre. Las reacciones vasovagales e hipovolémicas son raras en donadores de aféresis, a diferencia de los donantes de sangre total, pero las parestesias y otras reacciones derivadas de la toxicidad al citrato como anticoagulante, son comunes en los donadores por aféresis. Las reacciones graves ocurren menos frecuentemente en los donadores de aféresis que en aquellos que donan sangre total.<sup>1</sup> Se calcula que ocurren reacciones adversas en aproximadamente un 2,18% de las donaciones de aféresis,<sup>46-48</sup> aunque en la mayor parte de los casos estas son leves, como las descritas anteriormente.

### Inactivación de patógenos

La búsqueda de métodos para reducir o eliminar los agentes en la transfusión es un tema central en las investigaciones en medicina transfusional. Debe haber un método adecuado que proporcione mayor seguridad al paciente que va a ser transfundido, que no altere las funciones o la vitalidad de las células transfundidas y convenga desde el punto de vista económico. Dicho método



debe orientarse tanto a la eliminación de bacterias (Gram positivas y Gram negativas), de virus (con cápside o sin ella), y de parásitos.

La inactivación de patógenos con psoralenos tiene un amplio espectro de acción contra virus encapsulados o sin cápside, virus asociados o no a células, bacterias Gram positivas y Gram negativas y contra protozoarios. El rango de reducción de gérmenes comprende 4-6 escalas logarítmicas. La inactivación de los leucocitos en los productos almacenados se determina a partir de la supresión completa de la liberación de citocinas. En comparación con la radiación con rayos gamma, el tratamiento fotoquímico demuestra mayor efectividad y ofrece mayor seguridad en la inactivación de los leucocitos.

Respecto a la inactivación de patógenos de concentrados plaquetarios, la unión inespecífica de psoralenos a las proteínas plasmáticas, tales como la albúmina, se lleva a cabo mediante la reducción de una porción plasmática, la cual es sustituida en aproximadamente dos tercios por una solución aditiva sin contenido proteico, de suerte que se logren las condiciones óptimas que requiere el proceso. Una alternativa sería la elevación de la dosis de luz ultravioleta, lo cual tendría un efecto altamente fototóxico en la función celular. Estos métodos de inactivación permiten prolongar la vida de las plaquetas hasta por siete días de incubación.

Algunos autores reportan que la funcionalidad *in vitro* de las plaquetas tratadas fotoquímicamente es aceptable con este método, en comparación con las plaquetas no tratadas,<sup>49-50</sup> incluso posterior a siete días de su almacenamien-

to.<sup>51</sup> Se pueden mencionar diferencias significativas en cuanto al valor del pH, el consumo de glucosa, la producción de lactato y la tensión parcial de oxígeno como indicio de un metabolismo oxidativo disminuido, consecuencia de un probable daño mitocondrial. En relación con la efectividad hemostática, la seguridad, las complicaciones hemorrágicas y las necesidades de sustitución de concentrados eritrocitarios, así como con las reacciones transfusionales y los estados refractarios, no se encontraron diferencias entre los tratados y los no tratados. La terapia con plaquetas fotoquímicamente tratadas demanda, sin embargo, un mayor número de transfusiones con intervalos de transfusión más cortos debido a su menor elevación. Estas diferencias se deben a que el tratamiento conduce a una pérdida aproximada del 10% en el número de plaquetas, posiblemente debido al cambio metabólico mitocondrial.<sup>52</sup>

Finalmente, algunos de los argumentos a favor de la utilización de los métodos de inactivación de patógenos de productos sanguíneos son:

- Interés en elevar la seguridad de los productos sanguíneos.
- Inactivación de gérmenes de importancia clínica, como virus sin cápside (virus de la hepatitis A y el parvovirus B19).
- El efecto contra contaminación bacteriana, especialmente de concentrados plaquetarios.
- El efecto contra los virus asociados a células, principalmente el citomegalovirus (CMV) y las formas provirales del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV).

- Reducción de la inmunomodulación dependiente de leucocitos con la eventual eliminación de los rayos gamma.

Sin embargo, debe tomarse en consideración que muchos de estos métodos se encuentran todavía en fase de validación y que faltan estudios que permitan aseverar que la viabilidad celular no será afectada durante el proceso de la inactivación de patógenos.<sup>53</sup>

## Preparación del plasma rico en plaquetas y concentrado de plaquetas

El plasma rico en plaquetas se obtiene de una unidad de sangre entera fresca. Para prepararlo se necesita una unidad de sangre entera fresca con al menos una bolsa satélite integralmente adherida. La unidad de sangre entera fresca debe mantenerse a 22°C - 25°C y ser procesada inmediatamente para poder obtener plaquetas viables.

### Separación de eritrocitos y plasma rico en plaquetas

#### *Preparación para la centrifugación*

Para iniciar el proceso de preparación del componente se debe hacer un repaso presionando la línea a la cual estaba adherida la aguja, para asegurar que la línea está adecuadamente anticoagulada. Este paso es importante porque esta línea debe ser dividida en segmentos que posteriormente serán usados como muestras de sangre del donador para las pruebas de compatibilidad.

Cada bolsa de sangre tiene números de identificación en la línea de recolec-

ción, por tanto se debe colocar el primer sello después del primer número de identificación, localizado en la parte superior de la bolsa junto a los puertos. De esta manera, si inadvertidamente los segmentos son separados de la bolsa de sangre durante el almacenamiento, estos podrán ser comparados con la bolsa de sangre para confirmar la identificación.

Doblar los segmentos orilla con orilla y colocar una liga alrededor para mantenerlos juntos. Esto ayudará a prevenir que los segmentos no se enreden en la cabeza de la centrífuga durante el procesamiento de la sangre.

La bolsa que contiene la sangre entera debe etiquetarse con el número del donador. Es también el momento de agregar las fechas de recolección y de caducidad a la bolsa de sangre entera.

Las fechas de caducidad se deben determinar de acuerdo con el tipo de anticoagulante y conservador utilizados. Las bolsas satélites deben ser etiquetadas con el nombre del componente, la fecha de recolección, el número de donador y la fecha de caducidad. Se deben utilizar marcadores permanentes para que los números no se laven o se borren durante el almacenamiento, el calentamiento o el descongelamiento. Se deben pesar la unidad entera de sangre y las bolsas satélites adheridas; este peso se usa exclusivamente para balancear la centrífuga. El balance apropiado de la centrífuga es importante para el desgaste del rotor de la centrífuga; el peso total de los vasos opuestos debe ser igual. Cuando se procesan cantidades impares de unidades de sangre entera, el balance de la centrífuga debe lograrse usando bolsas de recolección de sangre llenas con un peso igual. Se deben utilizar ligas y discos de plásticos ya pesados para variar los incrementos de peso.

En la actualidad es muy importante la utilización de agitadores-báscula automatizados para pesar de manera exacta las unidades sanguíneas durante el proceso de extracción; el uso de estas balanzas evita romper la relación entre la cantidad de anticoagulante y la cantidad de sangre por extraer. Así mismo, mezcla la sangre durante el período de extracción y se detiene cuando ya se ha colectado la cantidad necesaria de sangre. Las bolsas pueden pesarse en balanzas específicas que permiten corroborar el peso obtenido en la extracción previo a la centrifugación. Para preparar concentrados de plaquetas efectivos se requiere una adecuada pero no excesiva centrifugación. Las centrífugas deben estar calibradas posteriormente a cualquier ajuste o reparación.

El control de calidad de las plaquetas debe realizarse periódicamente y los resultados deben mostrar, en al menos del 90% de los componentes probados, una cantidad de  $5.5 \times 10^{10}$  plaquetas derivadas de sangre total. El plasma deberá tener un pH de 6.2 o mayor al final del período de almacenamiento. Las plaquetas almacenadas y que son leucorreducidas deben contener una cantidad menor a  $8.3 \times 10^5$  leucocitos residuales por unidad etiquetada.

Tradicionalmente, se han utilizado los métodos manuales para el fraccionamiento de la sangre, los cuales tienen como base la centrifugación diferencial que se sustenta en los diferentes pesos específicos de los componentes de la sangre.<sup>54-55</sup>

En años recientes se han usado métodos semiautomatizados mediante los cuales se obtiene un concentrado eritrocitario, un concentrado plaquetario y un plasma rico en factores de la

coagulación a partir de una sangre total. Para la separación de las plaquetas se puede utilizar el método de obtención de *buffy-coat* o bien el de separación inicial de plasma rico en plaquetas.<sup>56</sup> Los métodos semiautomatizados o automatizados ahorran recursos pero tienen la ventaja de estandarizar los procesos con mayor facilidad, gracias a que los equipos realizan algunas etapas en las cuales se limita la intervención de los operarios y en consecuencia se reduce la variación en el procedimiento.<sup>57</sup>

### Centrifugación

Las bolsas de sangre deben colocarse en los vasos de la centrífuga con la etiqueta hacia afuera y los vasos deben ser puestos en la centrífuga con la etiqueta de la bolsa hacia afuera a fin de reducir la fuerza centrífuga en los márgenes sellados. Las centrífugas con vasos que se columpian proveen una mejor separación del plasma de los eritrocitos. La unidad de sangre entera debe ser centrifugada utilizando pocas revoluciones en una centrífuga y a 22°C - 25°C. Pocas revoluciones se definen como 2.000 g por tres minutos. Una vez ha cesado la centrifugación, se debe esperar a que la centrífuga se detenga sin la intervención del operador, ya que cualquier parada brusca del rotor (incluido el uso del freno) alterará la línea eritrocitos/plasma y por lo tanto contamina el plasma con eritrocitos.

Para calcular la fuerza centrífuga relativa (rcf) en g, se aplica la siguiente fórmula y así podemos deducir las rpm de la centrífuga:<sup>1</sup>

$$\text{rcf (en g)} = 28.38 \times R^1 \times (\text{rpm}/1000)$$

donde  $R^1$  es el radio del rotor de la centrífuga en pulgadas.

### *Separación de los componentes*

La unidad de sangre entera debe removerse de la centrifuga sin agitación para no alterar los eritrocitos y el plasma y colocarse en el extractor de plasma o en un fraccionador automatizado de componentes. El extractor de plasma provee una plataforma rígida en la cual se ponen las unidades de sangre entera. Un plato con bisagras se sujeta a la base y puede soltarse para aplicarle presión a la unidad de sangre entera y forzar el plasma dentro de una bolsa satélite. El fraccionador automatizado separa, mediante programaciones, los diferentes componentes.

Debe ponerse una bolsa satélite en una báscula y el peso tararse a cero. El plasma rico en plaquetas será forzado hacia dentro de la bolsa satélite vacía. El número de bolsas satélites integralmente adheridas dependerá del sistema de recolección que se usó. Abrir el puerto plástico en la parte superior de la bolsa de recolección de sangre. Remover el plasma soltando el plato con bisagras del extractor de plasma y aplicando presión a la bolsa que contiene la sangre entera centrifugada. El plasma rico en plaquetas será forzado hacia la bolsa satélite vacía. La tarea de separar las plaquetas de la sangre entera centrifugada puede ser un reto, ya que los eritrocitos se encuentran justo debajo de la capa de plaquetas. El plasma rico en plaquetas debe tener un color amarillo claro y no estar visiblemente contaminado con eritrocitos. Utilizando pinzas hemostáticas, pinzar y separar la línea de la bolsa que contiene el plasma recolectado y sellar.

### *Determinar el volumen*

Calcular el volumen del plasma rico en plaquetas. Tarar el peso de la báscula en cero y pesar el plasma rico en plaquetas. Se debe restar el peso de la bolsa vacía

del peso final de la bolsa. Al dividir el peso final del producto entre la gravedad específica apropiada, se puede calcular el volumen en mililitros. La gravedad específica del plasma es de 1.023, así que un gramo de plasma es aproximadamente igual a un mililitro de plasma. El producto final debe ser etiquetado con el nombre del producto y el volumen en mililitros.

### *Almacenamiento*

Para preservar la viabilidad de las plaquetas, el plasma rico en plaquetas debe dejarse reposar a temperatura ambiente con el lado de la etiqueta hacia abajo por 1-2 horas y ser transfundida lo más pronto posible.

Los concentrados de plaquetas no deben almacenarse por debajo de los 20°C y deben ser separados del plasma en las primeras cuatro horas siguientes a la flebotomía. El PRP es obtenido inicialmente como producto de una centrifugación suave de 2000 g por tres minutos, concentrando así las plaquetas en el *buffy coat* o capa leucoplaquetar. El *buffy coat* se centrifuga a 5000 g por cinco minutos para remover los leucocitos y obtener el concentrado plaquetario.<sup>1</sup>

## **Optimización del uso de concentrados de plaquetas**

Antes de que la transfusión de plaquetas fuera una práctica posible, la muerte por complicaciones hemorrágicas era común en los pacientes diagnosticados de leucemia que recibían quimioterapia. En un estudio publicado en 1962 por Gaydos et ál., se demuestra la relación entre hemorragia y cifra de plaquetas en pacientes diagnosticados de leucemia

aguda. A raíz de este estudio, comienza la práctica de la transfusión profiláctica de plaquetas si la cifra era  $\leq 20 \times 10^9/l$ . Cuarenta años después del uso rutinario de esta práctica se plantean cuestiones tales como si la transfusión profiláctica es necesaria, si está indicada en pacientes con trombocitopenia crónica para prevenir el sangrado o si es igual de efectivo transfundir plaquetas solo de manera terapéutica con el comienzo de sangrado activo. También se cuestiona el umbral seguro y efectivo para la transfusión profiláctica y la dosis más rentable clínicamente para mantener la hemostasia y reducir la utilización de plaquetas.

Por otro lado, la refractariedad plaquetaria o la falta de incremento posttransfusión pueden complicar la transfusión de plaquetas de los pacientes trombocitopénicos. Se ha demostrado que al aumentar el número de transfusiones de plaquetas hay un descenso progresivo en su tasa de incremento en los días siguientes hasta la próxima transfusión, el cual se da incluso en ausencia de aloinmunización. Se reconocen muchos factores asociados a la refractariedad plaquetaria: factores propios del paciente y del producto, así como causas inmunológicas y no inmunológicas. El diagnóstico y el tratamiento de estos pacientes son un reto para el clínico y para el hemoterapeuta.<sup>58</sup>

### Uso racional de plaquetas en la práctica transfusional diaria

Existen diferentes estudios en animales de experimentación<sup>58-60</sup> y en humanos<sup>61</sup> que sugieren que las plaquetas proporcionan un soporte endotelial para preve-

nir las hemorragias, ya que se encargan de cubrir físicamente las pequeñas soluciones de continuidad entre las células endoteliales de los vasos sanguíneos. A partir de estos estudios se deduce que las plaquetas son extraídas de la circulación mediante dos mecanismos.<sup>62</sup> El primero es por simple envejecimiento de las plaquetas, mecanismo principal en un individuo sano cuyas plaquetas presentan una vida media de 9-10 días. El segundo mecanismo es por una constante pérdida de plaquetas debido al mantenimiento de la integridad del endotelio vascular. La pérdida de plaquetas por esta segunda vía se ha cuantificado en  $7,1 \times 10^3/\mu l/día$ . Este número fijo de plaquetas, que se pierde de forma diaria, representa un pequeño porcentaje de pérdidas del total en un individuo sano, mientras que con recuentos de plaquetas inferiores el porcentaje de plaquetas perdidas es mayor, lo cual da lugar a una relación directa entre el recuento de plaquetas y su supervivencia cuando los niveles son  $< 100 \times 10^3/\mu l$ .<sup>61</sup>

### Transfusión profiláctica de plaquetas

La evidencia científica que soporta el uso profiláctico de plaquetas se inicia en 1962.<sup>63</sup> En un trabajo, Gaydos et ál. encontraron una relación directa entre la aparición de episodios hemorrágicos y el recuento de plaquetas, aunque la hemorragia grave fue poco frecuente, incluso en pacientes con recuentos de plaquetas  $< 1 \times 10^3/\mu l$ , y los propios autores no pudieron establecer un umbral a partir del cual indicar una transfusión profiláctica de plaquetas. Sin embargo, este estudio ha sido la base durante

muchos años para establecer la indicación de transfusión profiláctica de plaquetas en recuentos  $\leq 20 \times 10^3/\text{L}$ . Otro estudio publicado en 1978, analizó la presencia de sangre oculta en heces en 20 pacientes con trombocitopenia.<sup>64</sup> Con recuentos de plaquetas  $< 10 \times 10^3/\mu\text{l}$ , la presencia de sangre en heces no fue diferente a la de individuos sanos ( $< 5 \text{ ml/día}$ ), mientras que con recuentos de plaquetas de entre 5 y  $10 \times 10^3/\mu\text{l}$ , la presencia de sangre aumentó ligeramente ( $9 \pm 7 \text{ ml/día}$ ). Sin embargo, cuando los recuentos de plaquetas fueron  $< 5 \times 10^3/\mu\text{l}$ , la pérdida de sangre aumentó hasta  $50 \pm 20 \text{ ml/día}$ .

En resumen, estos estudios sugieren que el umbral para la indicación de una transfusión profiláctica de plaquetas podría ser de tan sólo  $5 \times 10^3/\mu\text{l}$  para mantener la integridad vascular y por tanto, prevenir episodios hemorrágicos importantes.<sup>65</sup> Como se observa, este valor es muy similar al calculado de  $7,1 \times 10^3/\mu\text{l/día}$ , necesario para el mantenimiento del endotelio vascular.

Entre las transfusiones profilácticas se encuentran las siguientes:

1. Insuficiencia medular (aplasia medular, enfermedades hemato-oncológicas, quimioterapia, trasplante de médula ósea, etc.). Existe acuerdo general que establece el umbral de plaquetas en  $10 \times 10^9/\text{l}$  como suficientemente seguro para mantener sin transfundir a pacientes sin factores de riesgo adicionales (convenientemente documentados), tales como sepsis, uso concomitante de drogas (antibióticos), otras anomalías de la hemostasia, esplenomegalia marcada y fiebre persistente de más de  $38^\circ \text{C}$ . La excepción a estas transfusiones son los tumores del SNC con

quimioterapia y/o radioterapia, casos en los cuales se mantendrá un umbral de  $20 \times 10^9/\text{l}$ .

2. Destrucción periférica de origen inmunológico (púrpura trombocitopénica aguda, trombocitopenias asociadas a enfermedades autoinmunes o sida, etc.).

En estos casos la transfusión de plaquetas como medida profiláctica no está indicada, por lo que se debe consultar al médico hematólogo ya que esta patología es de tratamiento médico y no transfusional.

3. Consumo/secuestro plaquetario (coagulación intravascular diseminada, microangiopatías trombóticas, hiperesplenismo, síndrome de Kasabach-Merritt). La indicación transfusional y su dosis debe ser evaluada por el médico hematólogo con base en estudios de laboratorio que precedan a la indicación. En pacientes con hiperesplenismo que serán sometidos a una intervención quirúrgica, la transfusión de plaquetas deberá efectuarse inmediatamente antes de iniciar el procedimiento.

4. Disfunción plaquetaria (trastornos hereditarios). La indicación transfusional es profiláctica ante procedimientos invasivos.<sup>66</sup>

## Dosis de plaquetas por transfundir

Ya sea de forma profiláctica o terapéutica, cuando se decide realizar una transfusión de plaquetas es porque se dispone en el banco de sangre de concentrados con una cantidad variable de plaquetas en su interior, dado que el origen de las plaquetas es por donación voluntaria y los donantes

presentan una cantidad cambiante de plaquetas, que en nuestro medio se sitúa entre  $125 \times 10^9/l$  y  $300 \times 10^9/l$ .<sup>67</sup>

Hay modelos matemáticos que sugieren que un programa de transfusión profiláctica de plaquetas con dosis bajas sería igual de efectivo a uno con las dosis habituales y ayudaría a reducir el número total de plaquetas transfundidas.<sup>68</sup> Sin embargo, estudios clínicos publicados hasta la fecha concluyen que un programa de transfusión profiláctica de plaquetas con dosis altas podría ser efectivo y aumentaría el intervalo transfusional, lo cual ayudaría a disminuir el número total de plaquetas transfundidas. Ante estos hallazgos contradictorios no es extraño que el rango de dosis utilizada sea muy amplio.

Entre las transfusiones terapéuticas se encuentran las siguientes:

*Insuficiencia medular:* Cuando la trombocitopenia está asociada con sangrado activo, en particular gastrointestinal, pulmonar y del SNC. En estos casos se indica la transfusión de plaquetas para mantener un recuento mayor de  $50 \times 10^9/l$ .

*Destrucción periférica de origen inmunológico:* En las trombocitopenias graves, dado el rápido consumo periférico por autoanticuerpos, solo está indicado transfundir en presencia de sangrado gastrointestinal, hemorragias del SNC u ocular, independientemente del resultado del recuento de plaquetas (lo cual no anula la necesidad del recuento). Esta terapia debe ser precedida del tratamiento médico adecuado para bloquear el consumo de las plaquetas rodeadas por anticuerpos por el sistema retículo endotelial y disminuir la producción del autoanticuerpo, que es el único tratamiento etiológico.

*Consumo/secuestro plaquetario:* Se indica transfusión de plaquetas cuando el sangrado está vinculado a la trombocitopenia y no a las causas del consumo o secuestro; esta indicación debe ser discutida entre el médico tratante y el hemoterapeuta.

*Disfunción plaquetaria:* Independientemente del número de plaquetas, ante la presencia de sangrado debe indicarse la transfusión, la cual debe ser monitoreada por el médico hematólogo tratante y por el hemoterapeuta.

*Hemorragia masiva:* Los pacientes con función medular normal que presentan hemorragia masiva, (recambio de una volemia en 24 horas o requerimiento transfusional de 10 unidades de concentrado de glóbulos rojos) con recuento de plaquetas  $< 50 \times 10^9/l$  deben ser transfundidos. Ha que tener en cuenta que algunas de las plaquetas provienen de concentrados de glóbulos rojos transfundidos y por lo tanto son no funcionales. En los pacientes sometidos a cirugía mayor con bomba de circulación extracorpórea las plaquetas pueden ser disfuncionales por la activación mecánica de la bomba. Sólo debe indicarse transfusión de plaquetas cuando se produce sangrado y el recuento sea menor de  $50 \times 10^9/l$ . Es sabido que el sangrado en estos casos es producido más frecuentemente por heparina, inadecuada corrección con protamina, fibrinólisis o problemas de cierre quirúrgico.<sup>66</sup>

## Indicaciones en neonatología

El recuento plaquetario normal de un neonato no difiere del de los niños mayores y adultos y va de  $150 \times 10^9/l$  a  $450 \times 10^9/l$ . La incidencia mayor de trombocitopenia en este grupo de pacientes se

produce entre los neonatos de muy bajo peso, y es la causa principal la destrucción aumentada (20% aproximadamente debido a CID).<sup>69</sup>

La decisión transfusional (también en el neonato) debe ser tomada después de tener en cuenta sus riesgos y beneficios. La trombocitopenia es común en los neonatos de pretérmino enfermos y está asociada a un incremento del riesgo de hemorragia periventricular grave (Andrew et ál. 1987). Sin embargo, la administración de plaquetas en el manejo de trombocitopenias moderadas de  $50 \times 10^9/l$  a  $100 \times 10^9/l$  no parece reducir la gravedad del sangrado (Andrew et ál, 1993). Los recién nacidos de término es improbable que sangren si los niveles de plaquetas se encuentran por encima de  $20 \times 10^9/l$ , pero en los pequeños, de pretérmino, se recomienda generalmente un umbral mayor, particularmente durante los primeros días cuando existe una mayor probabilidad de hemorragia periventricular o coexiste coagulopatía.

### Trombocitopenia aloinmune neonatal

Es ocasionada por la producción de aloanticuerpos maternos de tipo IgG contra antígenos plaquetarios fetales derivados del padre, que están ausentes en las plaquetas maternas. Se trata de un proceso relativamente frecuente que afecta a uno de cada 2.000 o 5.000 recién nacidos, y puede ocurrir tanto en el primer parto como en los sucesivos. La complicación más grave es la hemorragia cerebral (10%-30% de los neonatos) que puede traer secuelas neurológicas irreversibles (20% de los casos) o muerte (10% de los casos).<sup>70</sup>

Las inmunoglobulinas IgG por vía intravenosa y la transfusión de plaquetas

constituyen el tratamiento de elección. Debido a que la acción terapéutica de la IgG no es inmediata los pacientes con trombocitopenia grave requieren transfusiones de plaquetas. Son de elección para la transfusión plaquetas que carezcan del antígeno al que está dirigido el anticuerpo. Ante la falta de disponibilidad de plaquetas compatibles, pueden utilizarse plaquetas maternas obtenidas por aféresis y lavadas, con el objetivo de remover el aloanticuerpo presente en el plasma. Familiares maternos podrían ser una fuente alternativa de plaquetas compatibles. La probabilidad de recurrencia de la trombocitopenia neonatal aloinmune en las siguientes gestaciones es muy elevada (hasta del 80%-90%), si en la gestación anterior se produjo hemorragia cerebral. La administración de IgG IV a la madre es el tratamiento más efectivo conocido. Si se utilizan las plaquetas maternas es importante que hayan sido irradiadas y los aloanticuerpos antiplaquetarios removidos del concentrado plaquetario antes de trasfudirlos. En la trombocitopenia neonatal aloinmune el conteo de plaquetas no debe ser menor a  $30 \times 10^9/l$ , porque el anticuerpo antiplaquetario puede inducir daño en la funcionalidad plaquetaria y ser necesarias plaquetas compatibles en adición a las altas dosis de inmunoglobulina.<sup>71-72</sup>

### Compatibilidad Rh(D) en la transfusión de plaquetas

Las plaquetas presentan en su membrana los antígenos del grupo AB0, pero carecen de los antígenos del sistema Rh. Sin embargo, en el proceso habitual de elaboración de concentrados de plaquetas en el banco de sangre, ya sea a partir de las donaciones de plaquetas con sistemas



de aféresis o de sangre total, una cantidad mínima de hematíes se encuentra siempre presente en el interior.<sup>73</sup> Estos hematíes expresan en su membrana los antígenos del sistema Rh y pueden convertirse en el estímulo antigénico que origine la aloinmunización anti-D en pacientes Rh(D) negativos que reciben plaquetas procedentes de donantes Rh(D) positivos. Clásicamente, se citaba que la incidencia de aloinmunización anti-D en pacientes Rh(D) inmunodeprimidos que recibían plaquetas procedentes de donantes Rh(D) positivos podía alcanzar el 19%. Sin embargo, estudios recientes indican que esta probabilidad es menor e incluso puede ser nula.<sup>74-76</sup> En mujeres en edad fértil que reciben transfusiones de plaquetas por otras causas, es obligatoria la prevención de la aloinmunización con IgG-Anti Rh si estas son Rh negativas.

### Refractariedad plaquetaria

Se denomina refractariedad a la incapacidad para lograr en un receptor el

incremento esperado en el número de plaquetas después de dos episodios transfusionales consecutivos con plaquetas de donantes múltiples. Cuando el médico tratante sospecha que se encuentra ante un caso de refractariedad, debe comunicarlo al servicio de hemoterapia para que se realice su diagnóstico mediante la programación de una transfusión de plaquetas con un número medido de ellas en el componente y el seguimiento del resultado de esa transfusión.

El diagnóstico se hace relacionando el recuento de plaquetas del paciente inmediatamente antes y después de la transfusión (entre 15 minutos a 24 horas después), el recuento de plaquetas de la unidad o unidades transfundidas y la superficie corporal del paciente, lo que mediante una fórmula que relaciona estos parámetros entre sí da el incremento corregido (IC). El IC es el aumento del recuento de plaquetas en un microlitro de sangre después de que el paciente es transfundido con  $1 \times 10^{11}$  plaquetas por metro cuadrado de superficie corporal.

$$IC = \frac{IP \text{ (Recuento plaquetario post - Recuento plaquetario pre)} \times \text{superficie corporal (m}^2\text{)}}{\text{No. de plaquetas transfundidas (x } 10^{11}\text{)}}$$

Se considera que un paciente es refractario cuando su IC es  $< 7.5 \times 10^9/l$ . Las causas de la refractariedad plaquetaria pueden ser inmunológicas (aloimmunización a antígenos HLA o a antígenos plaquetarios específicos) o no inmunológicas (hiperesplenismo, fiebre, infección, uso concomitante de drogas, coagulación intravascular diseminada). El estudio de refractariedad plaquetaria lo hará siempre el médico especialista

en hemoterapia entrenado para hacer ese cálculo. Las indicaciones que emerjan del resultado de ese estudio dependerán de la causa de la refractariedad, y en cada caso el especialista en hemoterapia interactuará con el médico tratante. Cuando se trata de refractariedad inmunológica esta puede deberse a anticuerpos del sistema HLA o a anticuerpos específicos contra antígenos de las plaquetas. Las plaquetas también poseen antígenos

del sistema ABO en su superficie, pero ello no es indicación para suspender una transfusión de plaquetas por no disponer de plaquetas ABO compatibles; sin embargo, frente a una refractariedad plaquetaria se debe seleccionar siempre un componente ABO compatible.<sup>71</sup>

El abordaje terapéutico en pacientes refractarios es el siguiente:

- Tratamiento de la condición clínica subyacente a la refractariedad.
- Transfusión de plaquetas HLA compatibles, si se constata que se debe a una aloinmunización HLA.
- Transfusión de plaquetas de donante múltiple sin dejar de considerar la posibilidad de aumentar la dosis de plaquetas por acto transfusional.

## Referencias

1. American Association of Blood Banks. Technical manual. 15a ed. Bethesda, Maryland: AABB; 2005.
2. Salazar, Mauricio. Guías para la transfusión de sangre y sus componentes. Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health 13(2/3), 2003
3. Radillo A. Medicina Transfusional. Editorial Prado, S. A. de C. V. 2ª. Edición. México, D. F., México, 2006.
4. Vengelen-Tyler V. Technical Manual. AABB. 13a. Edition, Bethesda, Maryland, USA, 1999.
5. Romero T, Hernández D, Sojo A, Jiménez A, Ospino C, Dávila Z, et al. Manual de Técnicas y Procedimientos en Bancos de Sangre. Editorial Prado, S. A. de C. V. 2ª. Edición, México, D. F., México, 2003.
6. Consensus Conference. Platelet transfusión therapy. JAMA 1987;257:1777-1780.
7. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M, eds. Blood transfusions in clinical medicine. 10a ed. Oxford: Blackwell Science; 1997.
8. Virginia Arreguín,, Jesús I Simón, Pedro Álvarez, Luis C Moreno. Evaluación de la eficiencia de tres separadores celulares para aféresis plaquetaria. Rev Mex Patol Clin, Vol. 53, Núm. 1, pp 16-20 • Enero - Marzo, 2006.
9. Quintana Gonazalez, Sandra. Recolección de Multicomponentes por aféresis. Gac Méd Méx Vol. 1 39, Suplemento No. 3, 2003.
10. Gmur J, von Felten A, Osterwalder B. Delayed alloimmunization using random single donor platelet transfusions: a prospective study in thrombocytopenic patients with acute leukemia. Blood 1983;62:473-479.
11. Katz AJ, Genco PV, Blumberg N, Zinder EL, Camp B, Morse EE. Platelet collection and transfusión using the Fenwal CS-3000 cell separator. Transfusion 1981;21:560-563.
12. Tullis JL, Tinch RJ, Gibson JG, Baudanza PA. Simplified centrifuge for the separation and processing of blood cells. Transfusion 1967;7:232-42.
13. Moroff G, George W. The maintenance of platelet properties upon agitation during storage. Transfusion 1990;(30)427-430.
14. George JN, Pickett EB, Heinz R. Platelet membrane glycoprotein changes during the preparation and storage of platelet concentrates. Transfusion 1988;28:123-126.
15. Murphy S, Rebullá P, Bertolini F, et al. In vitro assessment of the quality of Stored Platelet Concentrates. Transfusion medicine review vol VIII(1):29-36 January 1994.
16. Hernández MR, Bozzo J, Mazzara R, Ordinas A, Escolar G. Platelet concentrates promote procoagulant activity: evidence from experimental studies using a perfusion technique. Transfusion 1995;35:660-665.
17. Kao KJ, Mickel M, Braine HG, Davis K, Enright H, Gernsheimer T, Gillespie MJ, Kickler TS, Lee EJ, McCullough JJ, McFarland JG, Nemo GJ, Noyes WD, Schiffer CA, Sell K, Slichter SJ, Woodson RD. TRAP study group: White cell reduction in platelet concentrates and packed red cells by filtration: A multicenter clinical trial. The TRAP study group. Transfusion 1995;35:13-19.
18. Michelson AD. Flow cytometry: A Clinical test of platelet function. Blood 1996;87:4925-4936.
19. Chong BH, Murray B, Berndt MC, Dunlop DC, Brighton T, Chesterman CN. Plasma P-selectin is increased in thrombotic consumptive platelet disorders. Blood 1994;83:1535-1537.

20. Scholssman SF, Boumsell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, Ritz J, Shaw S, Silverstein RL, Springer TA, Tedder TF, Todd RF. CD Antigens 1993. *Blood* 1994;83:879.
21. Stenberg PE, McEver RP, Shuman MA, Jacques YV, Bainton DF. A platelet alpha-granule membrane protein (GMP-140) is expressed on the plasma membrane after activation. *J Cell Biol* 1985;101:880.
22. Lozano ML, Vicente V. Transfusión de plaquetas, ¿concentrados procedentes de un único o de múltiples donantes? *Med Clin (Barc)* 2004;122(4):145-9
23. Pérez P, Salmi R, Folléa G, Schmit JL, De Barbeyrac B, Sudre P, et al. Determinants of transfusion-associated bacterial contamination: results of the French BACTHEM case-control study. *Transfusion* 2001;41:862-72.
24. Kuehnert MJ, Roth VR, Haley NR, Gregory KR, Elder KV, Schreiber GB, et al. Transfusion-transmitted bacterial infection in the United States, 1998 through 2000. *Transfusion* 2001;41:1493-9.
25. Ness PM, Braine HG, King KE, Barrasso C, Kennedy SD. Single donor platelets reduce the risk of septic transfusion reactions [abstract]. *Transfusion* 1999;39:S404A.
26. Mollison PL. The introduction of citrate as an anticoagulant for transfusion and of glucose as a red cell preservative. *British J Haem* 2000; 108: 13-18.
27. Chin-Yee I, Arya N, d'Almeida MS. The red cell storage lesion and its implication for transfusion. *Transfus Sci* 1997; 18 (3): 447-458.
28. Kunicki TJ. "Role of platelets in hemostasis." In: Principles of transfusion medicine. Baltimore: Williams & Wilkins. Rossi E.C. 1993: 181-93.
29. Murphy S. "Preparation and storage of platelet concentrates", In: Rossi EC. Principles of Transfusion Medicine. Williams & Wilkins; 2002: 205-15.
30. Murphy S, Heaton WA, Rebulli R. Platelet production in the old word and the new. *Transfusion* 1996; 36: 751-54.
31. Tock G, White J, Labow R. Storage of platelets in balanced SALT solutions: a simple storage medium. *Transfusion* 1991; 31: 21-25
32. Moroff G, Holme S. Concepts about current conditions for the preparation and storage of platelets. *Transf Med Rev* 1991; 5: 48-59
33. Borle AP, Orton SM, Frye MJ. Vesiculation of platelets during in vitro ageing. *Blood* 1991; 77: 887-95.
34. Moroff G, George VM. The maintenance of platelet properties upon limited discontinuation of agitation during storage. *Transfusion* 1990; 30: 427-30.
35. Wallvik J, Stenke L, Kerblom A. The effect of different agitation modes on platelet metabolism, thromboxan production and alpha granular release during storage. *Transfusion* 1990; 30: 632-43.
36. Sturk A, Buró ML, Hakvoort T, Ten Cate JW, Crawford N. The effect of storage on platelet morphology. *Trans* 1982; 22: 115-120.
37. Hunter S, Nixon J, Murphy S. The effect of interruption of agitation on platelet quality during storage for transfusion. *Transfusion* 2001; 41: 809-814.
38. Murphy S, Kahn RA, Holme S. Improved storage of platelets for transfusion in a new container. *Blood* 1982; 60: 194-200.
39. Li J, Xia Y, Bertino AM. The mechanism of apoptosis in human platelets during storage. *Transfusion* 2000; 40: 1320-1329.
40. Snyder EL, Hezzy A, Katz AJ. Occurrence of the release reaction during preparation and storage of platelet concentrates. *Vox Sang* 1988; 41: 172-7.
41. Luban NLC, Strauss RG, Hume HA. Commentary on the safety of red cells preserved in extended storage media for neonatal transfusions. *Transfusion* 1991; 31 (3): 229-35.
42. Rinder HM, Murphy M, Michell JS. Progressive platelet activation with storage: evidence for shortened survival of activated platelets after transfusion. *Transfusion* 1991; 31: 409-14.
43. Escamilla, G. Lesiones de Almacenamiento. *Rev Mex Med Tran*, Vol. 3, Supl. 1, pp S48-S54 • Mayo - Agosto, 2010
44. The Trial to Reduce Alloimmunization to Platelets Study Group. Leukocyte reduction and ultraviolet B irradiation of platelets to prevent alloimmunization and refractoriness

- to platelet Transfusions. *N Engl J Med* 1997; 37:1861-9.
45. Sarkodee-Adoo CB, Kendall JM, Sridhara R, Lee EJ, Schiffer CA. The relationship between the duration of platelet storage and the development of transfusion reactions. *Transfusion* 1998;38:229-35.
  46. McLeod BC, Price TH, Owen H, Ciavarella D, Sniecinski I, Randels MJ, et al. Frequency of immediate adverse events associated with apheresis donation. *Transfusion* 1998;38:938-43.
  47. Popovsky MA, Whitaker B, Arnold NL. Severe outcomes of allogeneic and autologous blood donation: frequency and characterization. *Transfusion* 1995;35:734-7.
  48. Despotis GJ, Goodnough LT, Dynis M, Baorto D, Spitznagel E. Adverse events in platelet apheresis donors: a multivariate analysis in a hospitalbased program. *Vox Sang* 1999;77:24-32.
  49. Rhenen van DJ, Vermeij J, Mayaudon V, Hind C, Lin L, Corash L. Functional characteristics of S-59 photochemically treated platelet concentrates derived from buffycoats. *Vox Sang* 2000; 79: 206-214.
  50. Janetzko K, Klinger M, Mayaudon V, Lin L, Eichler H, Klüter H. Storage characteristics of split double-dose platelet concentrates derived from apheresis and treated with amotosalen-HCl and UVA light for pathogen inactivation. *Infus Ther Transfus Med* 2002; 29: 193-198.
  51. Slichter S. Intercept platelets provide effective hemostasis increments: Comparison to conventional platelets in two phase clinical trials. Poster presented at the 7th Annual Congress of the European Hematology Association, Florence, Italy, June 2003.
  52. Picker SM, Speer R, Gathof BS. Functional characteristic of platelets photochemically-treated with amotosalen-HCl for inactivation. *Transfusion* 2003; 44 (3): 320-329.
  53. Rojo, J., Picker, S., García, J., Gathof, B. Inactivación de patógenos en productos sanguíneos. *Rev Med Hosp Gen Mex* 2006; 69 (2): 99-107.
  54. Vengelen-Tyler V. Technical Manual. AABB. 13a. Edition, Bethesda, Maryland, USA, 1999.
  55. Romero T, Hernández D, Sojo A, Jiménez A, Ospino C, Dávila Z, et al. Manual de técnicas y Procedimientos en Bancos de Sangre. Editorial Prado, S. A. de C. V. 2ª. Edición, México, D. F., México, 2003.
  56. Radillo A. Medicina Transfusional. Editorial Prado, S. A. de C. V. 2ª. Edición México, D. F., México, 2006.
  57. María Rebeca F. Rivera-López,\* Raúl Ambriz-Fernández, Celia Zavala Méndez, Leonor Portillo López, Juan Collazo Jaloma, Alberto Sánchez Cañas Fraccionamiento por el sistema atreus, nuevo procedimiento. *Gac Méd Méx* Vol.143 Supl 2, 2007
  58. Correa, MA. Optimización del uso de concentrados de plaquetas y plasma. Reunión Nacional de la AEHH y XXIV Congreso Nacional de la SETH. Simposios. Haematologica/edición española | 2008; 93 (Extra 1)
  59. Kitchens CS, Weiss L. Ultrastructural changes of endothelium associated with thrombocytopenia. *Blood* 1975; 46: 567-78.
  60. Tranzer JP, Baumgartner HR. Filling gaps in the vascular endothelium with blood platelets. *Nature* 1967; 216: 1126-8.
  61. Aursnes I. Blood platelet production and red cell leakage to lymph during thrombocytopenia. *Scand J Haematol* 1974; 13: 184-95.
  62. Hanson SR, Slichter SJ. Platelet kinetics in patients with bone marrow hypoplasia: evidence for a fixed platelet requirement. *Blood* 1985; 66: 1105-9.
  63. Slichter SJ. Relationship between platelet count and bleeding risk in thrombocytopenic patients. *Transfus Med Rev* 2004;18: 153-67.
  64. Gaydos LA, Freireich EJ, Mantel N. The quantitative relation between platelet count and hemorrhage in patients with acute leukemia. *N Engl J Med* 1962; 266: 905-9.
  65. Slichter SJ, Harker LA. Thrombocytopenia: mechanisms and management of defects in platelet production. *Clin Haematol.*1978; 7: 523-39.
  66. Angélica Jiménez de Samudio, Dra. Sonia Gini, Dr. Oscar Echeverría, Dra. María Ofelia Lemir de Zelada. Guía para uso apropiado de componentes sanguíneos en pacientes pediátricos *Pediatr. (Asunción)*, Vol. 34; 2007; 1: 46-68.

67. Slichter SJ. Platelet transfusion therapy. *Hematol Oncol Clin North Am* 2007; 21: 697-729.
68. Lozano M, Narváez J, Faundez A, et al. [Platelet count and mean platelet volume in the Spanish population]. *Med Clin (Barc)* 1998; 110: 774-7.
69. Hospital de Pediatría Prof. Dr. J. P. Garrahan. Servicio de Hemoterapia. Comité de Transfusión. Criterios para el uso de Concentrados Plaquetarios (CP). Buenos Aires: Hospital de Pediatría Prof. Dr. J. P. Garrahan; 2006.
70. Madero L. Manual de Hematología Pediátrica. Madrid: Ergon; 2006.
71. World Health Organization. The clinical use of blood. Handbook. Ginebra: WHO; 2003.
72. Organización Panamericana de la Salud. Estándares de Trabajo para Servicios de Sangre. Washington: OPS; 2005.
73. Hersh JK, Hom EG, Brecher ME. Mathematical modeling of platelet survival with implications for optimal transfusion practice in the chronically platelet transfusion-dependent patient. *Transfusion* 1998; 38: 637-44.
74. Cid J, Claparols M, Pinacho A, et al. Comparison of blood component preparation methods from whole blood bags based on buffy coat extraction. *Transfus Apher Sci* 2007; 36: 243-7.
75. Cid J, Ortin X, Elies E, et al. Absence of anti-D alloimmunization in hematologic patients after D-incompatible platelet transfusions. *Transfusion* 2002; 42: 173-6.
76. Cid J. PLT transfusions from D+ blood donors to D-patients with hematologic diseases: an update. *Transfusion* 2003; 43: 1759-60.



# Trombocitopenias y transfusión de plaquetas

MIGUEL A. RODRÍGUEZ PINEDA \*

## Introducción

Las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos de megacariocitos que participan en la hemostasia e interactúan con el endotelio dañado para sellar, en primera instancia, la lesión y luego interactúan con el fibrinógeno para conformar un coágulo. Estas interacciones ocurren entre la GPIb, el factor de Von Willebrand, el fibrinógeno y la GP IIIa IIb.

La trombocitopenia se define como un recuento inferior a 150.000 plaquetas por  $\mu\text{l}$  y sus causas pueden ser centrales o periféricas. Entre las primeras está una pérdida de la capacidad de la médula ósea de producir niveles normales, ya sea por disfunción autóctona o por in-

\* Médico Asistente Hematólogo Hospital Calderón Guardia. Profesor Asociado Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

fluencia de medicamentos o infecciones; y entre las periféricas podemos citar la acción de los anticuerpos, las drogas y el efecto de un crecimiento del bazo secundario a enfermedad maligna o hepatopatía. El principal riesgo de la disminución de plaquetas es el establecimiento de un sangrado reversible solo con transfusión de este componente, que pueda afectar a órganos como el tubo digestivo y el sistema nervioso central, sitios de difícil manejo en una hemorragia.

El abordaje de la trombocitopenia incluye el examen de frotis de sangre periférica para descartar seudotrombocitopenia, identificar formas anormales de eritrocitos como los esquistocitos, que explicarían una anemia microangiopática (PTT o CID) o los cuerpos de Dohle en los granulocitos en la trombocitopenia hereditaria.

La historia clínica puede ser de mucha utilidad para identificar situaciones como cirugías mayores recientes (dilución o consumo), la estancia en una unidad de cuidado intensivo, hepatopatía, malignidad, sepsis, y en casos de paciente neonatos que presenten púrpura neonatal aloimmune. No se debe dejar de lado la exposición a medicamentos como la vancomicina, la piperacilina o la anfotericina.<sup>1-6</sup>

## Examen físico

Se pueden obtener datos importantes del examen físico. Aparte de documentar las manifestaciones hemorrágicas secundarias a la trombocitopenia, la existencia de esplenomegalia puede indicar un fenómeno inmune si esta es leve, pero se deben considerar otras causas en caso de ser moderada o grave (hiperesplenismo).

Además la trombocitopenia asociada a un cuadro febril, a síntomas B y a adenopatías puede indicar un proceso de tipo infeccioso, como infección por VIH, o un síndrome linfoproliferativo. Las artralgias y la afección cutánea pueden orientar el cuadro hacia una etiología infecciosa.

## Gabinete y laboratorio

En el estudio de la trombocitopenia se deben incluir las pruebas que descarten autoinmunidad, como los anticuerpos antinucleares y los niveles de complemento C3 y C4; en caso de que se asocie a historia de trombosis o pérdidas gestacionales se deben estudiar los anticuerpos antifosfolípidos y el anticoagulante lúpico a fin de diagnosticar un síndrome antifosfolípido. La prueba directa de Coombs puede ser de utilidad para determinar si la trombocitopenia se asocia a una anemia hemolítica, lo cual define el cuadro como síndrome de Evans.

En el abordaje de las trombocitopenias se debe realizar el estudio serológico para buscar infecciones por virus de inmunodeficiencia humana y hepatitis C, ambas asociadas a disminución del recuento plaquetar.

## Causas de la trombocitopenia

### De origen periférico

Existen tres condiciones fisiológicas que pueden alterar las cifras normales de plaquetas: 1) la seudotrombocitopenia, en la que las cifras disminuyen porque existen anticuerpos naturales dependientes de EDTA que inducen la formación de grumos. Esta condición se puede corregir manteniendo la muestra



a 37°C o recolectándola en otro tipo de anticoagulante;<sup>7</sup> 2) la trombocitopenia del embarazo, la cual es idiopática, ocurre al final del embarazo y se considera de bajo riesgo mientras que los recuentos se mantengan sobre 70.000/ $\mu$ l; en caso de que disminuyan se deben considerar causas patológicas;<sup>8</sup> 3) hemodilución.<sup>9</sup> La trombocitopenia en el paciente hospitalizado se puede explicar por diferentes causas, una de ellas es el posoperatorio de una cirugía mayor en el cual el nadir de las plaquetas está entre 1 y 4 días, condición más frecuente en la cirugía cardiovascular, en la que la trombocitopenia puede prolongarse diez días; sin embargo, puede ocurrir también en cirugías abdominales, vasculares y de trauma, en las que la recuperación suele ser más temprana.<sup>10-12</sup>

### Púrpura trombocitopénica inmunológica

Es un diagnóstico que se establece con cifras de plaquetas menores de 100.000/ $\mu$ l y en cuyo abordaje diagnóstico no se encuentren causas que expliquen dicho hallazgo. Entre ellas deben ser investigados los medicamentos, las hierbas, el uso de quinina, así como la posibilidad de una pseudotrombocitopenia o la existencia de plaquetas de volumen aumentado.<sup>1</sup> El paciente puede presentar manifestaciones hemorrágicas cuando los niveles de plaquetas estén por debajo de 20.000/ $\mu$ l en la piel y las mucosas y con niveles inferiores a 10.000/ $\mu$ l puede presentar hemorragias vaginales, epistaxis y hematuria.

La PTI se puede clasificar como recién diagnosticada y persistente si tiene una duración de tres a doce meses y

crónica si se prolonga por más de doce meses.

El abordaje de un paciente con trombocitopenia debe iniciarse con una historia clínica en la cual se determine el antecedente de infección (dato frecuente en la edad pediátrica en la que un 60% de los casos se asocia a una infección); además, es de utilidad antecedentes de vacunaciones, situaciones como trabajos dentales recientes o traumas que pueden estar asociados a un cuadro hemorrágico de otra etiología. Investigar el antecedente familiar de enfermedades inmunológicas como el lupus eritematoso o en mujeres en edad reproductiva el antecedente de abortos en el segundo y tercer trimestre del embarazo, puede indicar que la etiología es autoinmune.

### Trombocitopenia inducida por drogas

La aparición de esta condición se puede dar incluso a los tres días de haber iniciado un medicamento cuando el paciente ha tenido exposición previa a él, o después de siete días si es la primera vez que tiene contacto con la droga.<sup>13</sup>

Existen dos mecanismos por medio de los cuales los medicamentos pueden inducir trombocitopenia, uno de ellos es la disminución de la producción, con efecto directo sobre los megacariocitos. Ejemplo claro de lo anterior es la acción mielotóxica de la quimioterapia, sin embargo el mismo efecto lo pueden generar medicamentos como las tiazidas, la tolbutamida y el etanol. La acción de las tiazidas puede darse tanto por efecto directo como por fenómeno inmunológico.

El otro mecanismo de destrucción plaquetar es periférico y su mecanismo más frecuente es de tipo inmunológico. Destaca aquí el efecto no inmune de la bleomicina, la cual induce una microangiopatía trombótica.<sup>14-17</sup>

Los anticuerpos que median la destrucción periférica de las plaquetas y están asociados a medicamentos, se unen a glicoproteínas y generan su acción por medio de varios mecanismos inmunológicos entre los que se encuentran:

*Mecanismo de hapteno:* Las moléculas de pequeño tamaño sin capacidad de producir una respuesta inmunológica *per se* se unen covalentemente a proteínas y logran desencadenar un fenómeno inmune. Prototipo de este mecanismo es la penicilina.<sup>18</sup>

*Mecanismo de anticuerpo dependiente de droga:* En este caso los anticuerpos se dirigen contra las glicoproteínas de membrana GP Ib/IX, GPV, GP IIb/IIIa, la molécula de adhesión entre la plaqueta y la célula endotelial (PECAM-1) en presencia de la droga de manera soluble, esta se une covalentemente a dichas estructuras e induce cambios conformacionales que son reconocidos por los anticuerpos. Un ejemplo de este mecanismo es el inducido por la quinina, la quinidina, los antibióticos y la sulfonamida.<sup>18</sup>

*Inhibidores de GP IIb-IIIa:* El tirofiban y el eptifibatide son compuestos sintéticos que contienen (anginina-glicina-ácido aspártico) RGD que se unen al sitio de reconocimiento de la GP IIb-IIIa, el abciximab, es un anticuerpo monoclonal Fab dirigido a GP IIIa. La trombocitopenia puede ocurrir en las primeras horas de la exposición a estos medicamentos, lo que sugiere un mecanismo no inmune. Sin embargo, se pue-

de generar por anticuerpos cuando hay exposición previa a este tipo de drogas.<sup>19</sup>

*Inmunocomplejos:* Este mecanismo es el que explica la trombocitopenia inducida por heparina (HIT) en la cual se forman complejos entre los gránulos de las plaquetas, el factor 4 quimiotáctico de plaquetas CXCL4 y la heparina, que activan la plaqueta a través de la interacción del receptor del Fc gama RIIA.<sup>20</sup>

## Causas infecciosas de trombocitopenia

### Hepatitis C

La infección con el virus de la Hepatitis C estable en estado crónico puede, en un 85% de los casos, generar a largo plazo complicaciones entre las que se encuentran cirrosis hepática, enfermedad hepática terminal y carcinoma hepatocelular. La trombocitopenia asociada a esta infección se puede presentar en ausencia de hepatopatía y de esplenomegalia. Entre los mecanismos de la trombocitopenia por el virus de hepatitis C se pueden citar la disminución de la producción de trombopoyetina por parte del hígado, la supresión medular por parte del virus, el incremento de la destrucción mediado por autoanticuerpos o complejos inmunes y, en última instancia, por hiperesplenismo.<sup>21-23</sup>

Recientemente se han descrito dos mecanismos por los cuales el virus de la hepatitis C induce a trombocitopenia: 1) La cubierta del virus puede simular un epitopo de la integrina GP IIIa; y 2) el virus tiene alta afinidad por la membrana plaquetar, lo cual hace que los anticuerpos del virus actúen contra la plaqueta en un mecanismo de espectador inocente.<sup>24,25</sup>

Entre las opciones terapéuticas se tienen los esteroides, con los que hay que tener especial cuidado ya que pueden aumentar la carga viral; además, se puede utilizar la gama globulina, y el interferón  $\alpha$ .

### Infección por VIH

La trombocitopenia en este cuadro puede ser un dato inicial de muchos años previos al desarrollo del cuadro clínico, se puede presentar en cualquier fase de la enfermedad y la frecuencia aumenta con su progresión. Se reporta mayor incidencia de trombocitopenia en pacientes VIH positivos por abuso de drogas intravenosas que en varones homosexuales, lo que se explica por la coexistencia de infección con virus de la hepatitis C.<sup>26-28</sup>

El tratamiento de primera línea en la trombocitopenia asociada a VIH es el antirretroviral, el cual se puede prescribir como monoterapia con zidovudina a dosis de 1 g por día con una eficacia entre el 60%-70%. La monoterapia pierde eficacia en pacientes con enfermedad avanzada. En pacientes con resistencia a la zidovudina y en los de enfermedad avanzada, el tratamiento con terapia antirretroviral múltiple después de seis meses logra una respuesta sustancial en las cifras de plaquetas; empero, la respuesta a terapia antirretroviral en pacientes con coinfección por hepatitis C es menor. En aquellos pacientes con recuentos de plaquetas por debajo de 20.000/ $\mu$ l, se recomienda el uso de las terapias convencionales para PTI, ciclos de esteroides y el uso de gamaglobulina. La respuesta a esteroides es adecuada y se obtienen recuentos mayores de

100.000/ $\mu$ l en el 50% de los casos, pero no se mantiene cuando cesan los esteroides. No hay evidencia de que el uso de esteroides en este tipo de pacientes aumente el riesgo de infecciones. El uso de gama globulina intravenosa y de la globulina anti RhD, son eficientes en el manejo de la trombocitopenia, y hace las respuestas a la globulina anti RhD más prolongadas.

La esplenectomía se puede considerar en aquellos casos en los que la terapia antirretroviral fue adecuada y el paciente persiste con trombocitopenia sintomática. Se establecen remisiones completas o parciales en 60% a 80% de los casos. Actualmente se hacen estudios de la utilización de factores de crecimiento de megacariocitos humanos recombinantes.<sup>29</sup>

### Infección por *Helicobacter pylori*

El *Helicobacter pylori* se considera un cofactor en la génesis del adenocarcinoma y del linfoma no Hodgkin asociado a mucosa (MALT). Este agente infeccioso se ha relacionado con trombocitopenia crónica; sin embargo, la distribución de la infección por *Helicobacter* no difiere entre las personas sanas y las que presentan trombocitopenia crónica. El mecanismo para que esta infección induzca la trombocitopenia es el mimetismo molecular, el cual podría darse por: 1) cepas CagA positivas, las cuales suelen ser más prevalentes en los pacientes que, además de la infección, asocian PTI; 2) producción de anticuerpos contra la ureasa B del *Helicobacter* que pueden dar reacción cruzada con la GP IIIa y parcialmente inhiben la agregación de las plaquetas.

El grupo sanguíneo Lewis B también puede jugar un papel importante en la génesis de la trombocitopenia. Lo anterior, por cuanto el *Helicobacter* puede expresar dicho antígeno y este a su vez se adsorbe a las plaquetas por lo que al desarrollarse un anti Lewis B puede incidir en la disminución de los recuentos plaquetares. El *Helicobacter* también puede interactuar con el factor de Von Willebrand, lo cual permite inducir la GP Ib los receptores de Fc IIA que pueden capturar anticuerpos e inducir a la fagocitosis.<sup>30,31,32</sup>

El tratamiento con claritromicina, amoxicilina y un inhibidor de bomba y se considera que hay una respuesta completa con cifras de plaquetas mayores de 150.000/ $\mu$ l y una respuesta parcial con cifras mayores de 50.000/ $\mu$ l. La relación de la infección de *Helicobacter* y la trombocitopenia y la respuesta al tratamiento antibiótico es mayor en poblaciones como la japonesa, en la que la prevalencia de esta infección es del 70%.<sup>33</sup>

También se describen trombocitopenias asociadas a infección por CMV, dado que este virus puede ejercer una acción citopática directamente sobre el megacariocito o sobre el tejido estromal de la médula; además de generar fenómenos inmunes que secuestran las plaquetas.

Las infecciones por *plasmodium* pueden inducir trombocitopenia aun antes de que el paciente presente fiebre, condición que contribuye a disminuir las cifras de plaquetas, al igual que la esplenomegalia que presenta este tipo de paciente.<sup>34,35</sup>

### Trombocitopenia inducida por heparina (TIH)

El diagnóstico de esta entidad se realiza por manifestaciones clínicas y de laboratorio. Clínicamente, el paciente presenta trombocitopenia posterior a la exposición a heparina. Es un hallazgo frecuente en el paciente hospitalizado cuando no existan otras causas que lo expliquen, entre las que se pueden mencionar la infección, medicamentos que produzcan dicho efecto y un bypass coronario en las 96 horas previas.

Cuando se demuestra la caída en los recuentos plaquetares se debe de vigilar el grado de trombocitopenia y su duración. Además, la aparición de trombosis y de sangrado sin otra explicación es necesaria para el diagnóstico de TIH. El descenso de los recuentos plaquetares se puede presentar entre los cinco y catorce días posteriores al inicio de la heparina; si el fenómeno ocurre antes se debe investigar por exposiciones recientes a la heparina.

El nadir de plaquetas puede llegar hasta 20.000/ $\mu$ l, y la trombosis puede ser arterial o venosa y está presente en el 50% al diagnóstico. El sangrado importante no es frecuente y puede sugerir otras etiologías.

Se ha propuesto un *score* de las 4T a cada una de las variables citadas a continuación, con un puntaje de 0, 1, ó 2: magnitud de la trombocitopenia, tiempo que transcurre entre el inicio y la caída de las cifras de plaquetas, la trombosis y sus secuelas, y la explicación de otras causas de etiología de la trombocitopenia.

El diagnóstico de laboratorio se hace demostrando la presencia del anti PF4/heparina ya sea IgG IgA o IgM por medio

de una prueba de ELISA. Un resultado negativo descarta el diagnóstico de TIH, mientras que un resultado positivo se puede deber a un anticuerpo no patogénico en pacientes con lupus o síndrome antifosfolípido. Dado que las manifestaciones trombóticas son las más frecuentes, la transfusión de plaquetas raramente es necesaria.

Las pruebas de ELISA positivas deben ser corroboradas por la prueba de liberación de serotonina (TLS).

De acuerdo con la clínica y el laboratorio se puede clasificar la trombocitopenia asociada a heparina de la siguiente manera:

- TIH definitivo score 4T > 4 con ELISA y TLS ambos positivas.
- TIH probable score 4T > 4 con una de las dos pruebas positivas no ambas.
- TIH con sospecha clínica score 4T > 4 con ambas pruebas negativas.
- Estatus seropositivo score < 4 con ambas pruebas de laboratorio positivas.

El tratamiento de esta entidad consiste en suspender la heparina e iniciar anticoagulación parenteral sin heparina. Entre los agentes propuestos están daparinoide, lepirudina, argatroban, fondaparinox, bivalirudina y desirudina.<sup>36,37,38</sup>

### Síndrome anti fosfolípidos

El síndrome antifosfolípido es un estado trombofílico inducido por autoanticuerpos. Los anticuerpos antifosfolípidos con actividad anti B<sub>2</sub> glicoproteína activan las células endoteliales, aumentan la expresión del ICAM-1 VCAM-1 y la E selectina, activan las plaquetas y aumentan la expresión de la glicoproteína IIIa-IIb y la síntesis de tromboxano

A2. Lo anteriormente citado establece un estado procoagulante al que se suma un aumento en la síntesis de factores. La activación de la cascada de la coagulación puede inducir a trombosis. Se consideran factores de riesgo para trombosis, la inflamación, el hábito de fumar y los estrógenos. Los anticuerpos antifosfolípidos pueden interactuar con proteínas como protrombina, factor X, proteína C y la plasmina. Además interfieren con la anexina A5, la cual se considera un anticoagulante natural a nivel placentario e induce trombosis y pérdida fetal. Los anticuerpos antifosfolípidos pueden disminuir la producción de las gonadotrofinas.

Entre las manifestaciones clínicas más frecuentes se tienen trombosis, trombocitopenia, abortos, migraña, livedo reticularis, ictus e isquemia cerebral transitoria.

Los criterios diagnósticos de laboratorio son: anticoagulante lúpico, anticuerpos anticardiolipina y anti B<sub>2</sub> glicoproteína en dos o más ocasiones en un periodo de doce meses.

La trombocitopenia en este síndrome se explica por la interacción de los anticuerpos con la B<sub>2</sub> glicoproteína; sin embargo, recientemente se acepta que participan autoanticuerpos específicos contra plaquetas. En casos en los cuales los anticuerpos anti B<sub>2</sub> glicoproteína están dirigidos contra el dominio 1 de esta proteína y cuando el anticoagulante lúpico está positivo, los pacientes tienen más riesgo de presentar trombosis. El manejo y la respuesta al tratamiento de los pacientes con trombocitopenia (con o sin anticoagulante lúpico) es el mismo. No está recomendado el uso de anticoagulación profiláctica en los casos de trombocitopenia en los que no exista antecedente de trombosis.

Los pacientes que hayan desarrollado un cuadro trombótico deben permanecer con anticoagulación de por vida; si la trombosis fue arterial el INR recomendado debe ser de 3-4 y se puede iniciar terapia anti-agregación. La elección de primera línea al momento que se demuestre el embarazo es la heparina de bajo peso molecular.<sup>39, 40</sup>

### Hepatopatía

El paciente con hepatopatía cursa con trombocitopenia, la cual usualmente se asocia a la esplenomegalia secundaria al daño crónico del hígado y la consecuente hipertensión portal. El *pool* de plaquetas que sirve como reserva en el bazo es del 40% del total de las plaquetas circulante y conforme aumenta el tamaño de este órgano, aumenta la cantidad de plaquetas que conforman la reserva. Sin embargo, se han descrito otras causas de la trombocitopenia del paciente con hepatopatía, una de las cuales es que la trombopoyetina, principal estimulante de la trombopoyesis, se sintetiza en el hígado y estos pacientes pueden cursar con niveles disminuidos. Si la causa de la hepatopatía crónica es la infección por el virus C, también se puede generar disminución de los recuentos de plaquetas. Sin embargo, actualmente se tiene claro que el paciente con hepatopatía induce anticuerpos contra las glicoproteínas GIIa IIIb y GP Ib IX, lo cual facilita su remoción por parte del sistema retículo endotelial.<sup>41</sup>

### Microangiopatía

Otras causas de trombocitopenia son las microangiopatías, como la púrpura trombótica trombocitopénica (PTT) y el

síndrome hemolítico urémico (SUH), entidades en las que el recuento plaquetar disminuye por trombos que ocurren en la microcirculación, asociadas a un cuadro de anemia hemolítica, antiglobulina directa negativa, con aumento de DHL e hiperbilirrubinemia indirecta; el frotis sanguíneo suele mostrar esquistocitos.

En la PTT se describe una formación de multipolímeros de factor de Von Willebrand. En 1982 se demostró que estos pacientes tenían deficiencia de una proteasa denominada ADAMTS13, una desintegrina like y metaloproteinasas con repeticiones de trombospondina o poseían un anticuerpo inhibidor de esta proteína que inducía la microangiopatía que favorecía la expresión de los polímeros y que se lograran formar trombos en la microcirculación.

El tratamiento de primera línea en estos casos es el recambio plasmático o plasmaféresis. La cuantificación de la proteína ADAMTS puede ser necesaria para el diagnóstico, pero pocos laboratorios cuentan con este recurso; los niveles por debajo del 5% pueden presentarse al diagnóstico. La determinación de esta proteína podría ser útil especialmente en los casos de microangiopatía secundaria (asociada al trasplante, por el uso de ciclosporina y secundario a malignidad) en las que el uso de plasmaféresis no logra el beneficio de los casos primarios. Además, la cuantificación de la proteína al diagnóstico permite pronosticar cuál es el riesgo de un cuadro de exacerbación que se define como la necesidad de reinstaurar la plasmaféresis antes de los 30 días de haberla suspendido; y la recaída, la cual ocurre posterior a dicho periodo.

El cuadro clínico de SHU es muy similar, solo que presenta un deterioro de la función renal más relevante. La etiología en estos casos se debe a una desregulación del sistema de complemento.<sup>42</sup>

## Transfusión de plaquetas

Las transfusiones de plaquetas han sido desde su inicio la alternativa terapéutica útil para aquellos pacientes con aplasia posterior a quimioterapia. Sin embargo, también se reconoce que la exposición a esta terapéutica puede inducir a la refractariedad, lo cual deja sin alternativas a los pacientes. Es por lo anterior que el médico que inicie una transfusión de plaquetas debe tomar en cuenta diferentes criterios, entre los que se pueden mencionar los recuentos de plaquetas, la temperatura corporal, la función renal, la hipoalbuminemia, un trasplante de médula ósea o un sangrado reciente. Las manifestaciones de sangrado, de acuerdo con la OMS, también pueden ayudar a tomar una decisión.

De acuerdo con la OMS, los grados de severidad de sangrado son:

- Grado 0 Sin sangrado.
- Grado 1 Sangrado petequiral (incluido el retineal sin alteraciones visuales).
- Grado 2 Sangrado moderado (melena, hematuria, hematemesis y hemoptisis).
- Grado 3 Sangrado abundante (cualquier sangrado que requiera transfusión de glóbulos rojos).
- Grado 4 Sangrado debilitante (incluido el retineal o del SNC, con alto riesgo de mortalidad).

Se consideran sangrados graves los grados 3 y 4; y el 2, que pueda progresar.

La decisión de transfundir puede tomarse con base en una conducta profiláctica en la cual se indica la transfusión cuando las cifras de plaquetas llegan a 10.000/ $\mu$ l. Algunos consideran seguras las cifras de 5.000 plaquetas para iniciar la transfusión. Desde el punto de vista profiláctico, solo cuando se presentan temperaturas mayores de 38° C o septicemia, pueden considerarse niveles de hasta 20.000 plaquetas/ $\mu$ l. Se recomiendan niveles de 50.000/ $\mu$ l cuando requiere una cirugía.

En la terapéutica se parte de la premisa de que el recuento de plaquetas de la mañana no difiere del recuento menor durante el día con respecto al riesgo de sangrado, y de acuerdo con dicha conducta se transfunde al paciente en el momento en que presenta un sangrado; con esta práctica se reduce mucho la cantidad de transfusiones a la que se expone el paciente.

La respuesta a las transfusiones de plaquetas va a depender de varios factores, unos inherentes a los concentrados de plaquetas y otros a las características del receptor.

Los concentrados de plaquetas pueden tener recuentos bajos (entre 1.1 y 3.0 x 10<sup>11</sup>) o altos (entre 4.0 y 6.0 x 10<sup>11</sup>). En ambos casos, el riesgo de sangrado posterior a la transfusión es similar; sin embargo, el porcentaje de recuperación al utilizar concentrados con mayor cantidad de plaquetas es más alto y el número de transfusiones disminuye, amén de que influyen en la respuesta obtenida el que sean ABO compatibles, el tiempo de almacenamiento (cuanto mayor sea este menor será el de recupe-

ración), y el medio de resuspensión. Las características del receptor que pueden generar efectos negativos sobre la recuperación de plaquetas son: corta edad, sexo femenino, trasplante alogénico, fiebre, sepsis, sangrado, coagulación intravascular diseminada y el tratamiento con quimioterapia y anfotericina.

Se define como refractariedad la transfusión de plaquetas cuyo porcentaje de recuperación es menor del 20%-30% transcurrida una hora desde la transfusión o 10%-20% después de 20-24 horas; o cuando el incremento del conteo corregido a la hora es de 4.5-7.5 y de 2.5-4.5 a las dieciocho horas.

Entre las causas de refractariedad se pueden citar las inmunes (como sensibilización por HLA), incompatibilidad por ABO, autoanticuerpos o anticuerpos asociados a drogas. Entre las no inmunes se pueden destacar sangrado masivo, fiebre, sepsis, esplenomegalia, CID, trasplante alogénico, efecto de drogas y PTT.

Las recomendaciones en estos casos son seleccionar plaquetas de donantes compatibles al menos por HLA clase I o que carezcan de los antígenos específicos contra los cuales van dirigidos los anticuerpos, hacer prueba de compatibilidad y dar plaquetas de aféresis irradiadas.<sup>43-46</sup>

La transfusión de plaquetas en el paciente con leucemia promielocítica aguda merece ser tratada por aparte. En esta entidad los pacientes suelen diagnosticarse con trombocitopenia; sin embargo, por las características del blasto se asocian a coagulopatía. Entre las características que favorecen la coagulopatía están la expresión de factor tisular, procoagulante del cáncer y la anexina en la superficie del blasto. El

sitio más frecuente de hemorragia es el sistema nervioso central, en donde se puede encontrar la anexina expresada en el endotelio. La recomendación en este diagnóstico es transfundir con recuentos más altos (entre 30.000 y 50.000 plaquetas) para evitar eventuales hemorragias.

## Referencias

1. Bashour FN, Teran JC, Mullen KD. Prevalence of peripheral blood cytopenias (hypersplenism) in patients with nonalcoholic chronic liver disease. *Am J Gastroenterol.* 2000;95:2936-9.
2. Mavrommatis AC, Theodoridis T, Orfanidou A, Roussos C, Christopoulou-Kokkinou V, Zakyntinos S. Coagulation system and platelets are fully activated in uncomplicated sepsis. *Crit Care Med.* 2000; 28:451-7.
3. Stephan F, Cheffi MA, Kaplan C, et al. Autoantibodies against platelet glycoproteins in critically ill patients with thrombocytopenia. *Am J Med.* 2000; 108:554-60.
4. Kelton JG, Neame PB, Gaudie J, Hirsh J. Elevated platelet-associated IgG in the thrombocytopenia of septicemia. *N Engl J Med.* 1979; 300:760-4.
5. Von DA, Curtis BR, Bougie DW, et al. Vancomycin-induced immune thrombocytopenia. *N Engl J Med.* 2007; 356:904 –10.
6. Rousan TA, Aldoss IT, Cowley BD Jr, et al. Recurrent acute thrombocytopenia in the hospitalized patient: sepsis, DIC, HIT, or antibiotic-induced thrombocytopenia. *Am J Hematol.* 2010;85:71-4.
7. Bizzaro N. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical and epidemiological study of 112 cases, with 10-year follow-up. *Am J Hematol.* 1995;50:103-9.
8. Gill KK, Kelton JG. Management of idiopathic thrombocytopenic purpura in pregnancy. *Semin Hematol.* 2000; 37:275-89.
9. Leslie SD, Toy PT. Laboratory hemostatic abnormalities in massively transfused patients given red blood cells and crystalloid. *Am J Clin Pathol.* 1991; 96:770-3.
10. Selleng S, Malowsky B, Strobel U, et al.



- Early-onset and persisting thrombocytopenia in post-cardiac surgery patients is rarely due to heparin-induced thrombocytopenia, even when antibody tests are positive. *J Thromb Haemost*. 2010;8:30-6.
11. Nijsten MWN, Ten Duis H-J, Zijlstra JG, et al. Blunted rise in platelet count in critically ill patients is associated with worse outcome. *Crit Care Med*. 2000;28(12)
  12. Donald M.A, Lim W. A Rational Approach to the Diagnosis and Management of Thrombocytopenia in the Hospitalized Patient *Seminars in Hematology* 2011; 48:251–258
  13. Visentin GP, Liu CY. Drug-induced thrombocytopenia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2007;21:685-696
  14. Wazny LD, Ariano RE. Evaluation and management of drug-induced thrombocytopenia in the acutely ill patient. *Pharmacotherapy* 2000; 20:292-307.
  15. Carey PJ. Drug-induced myelosuppression: diagnosis and management. *Drug Saf* 2003; 26:691-706.
  16. Rutherford CJ, Frenkel EP. Thrombocytopenia. Issues in diagnosis and therapy. *Med Clin North Am* 1994;78:555-75.
  17. Majhail NS, Lichtin AE. What is the best way to determine if thrombocytopenia in a patient on multiple medications is drug-induced? *Cleve Clin J Med* 2002;69:259-62.
  18. Aster RH. Drug-induced immune cytopenias. *Toxicology* 2005;209:149-53.
  19. Aster RH, Curtis BR, Bougie DW, et al. Thrombocytopenia associated with the use of GPIIb/IIIa inhibitors: position paper of the ISTH working group on thrombocytopenia and GPIIb/ IIIa inhibitors. *J Thromb Haemost* 2006;4:678-9.
  20. Visentin GP. Heparin-induced thrombocytopenia: molecular pathogenesis. *Thromb Haemost* 1999;82:448-56.
  21. Peck-Radosavljevic M, Zacherl J, Meng YG, et al. Is inadequate thrombopoietin production a major cause of thrombocytopenia in cirrhosis of the liver? *J Hepatol* 1997;27(1):127-31.
  22. Doi T, Homma H, Mezawa S, et al. Mechanisms for increment of platelet associated IgG and platelet surface IgG and their implications in immune thrombocytopenia associated with chronic viral liver disease. *Hepatol Res* 2002;24(1):23.
  23. Hamaia S, Li C, Allain JP. The dynamics of hepatitis C virus binding to platelets and 2 mononuclear cell lines. *Blood* 2001; 98(8):2293-300.
  24. Zhang W, Nardi MA, Li Z, et al. Role of molecular mimicry of hepatitis C-virus (HCV) protein with platelet GPIIIa in hepatitis C-related immunologic thrombocytopenia. *Blood* 2009; 113:4086-93.
  25. Hamaia S, Li C, Allain JP. The dynamics of hepatitis C virus binding to platelets and 2 mononuclear cell lines. *Blood* 2001;98(8):2293-300.
  26. Karpatkin S. Autoimmune thrombocytopenias. *Autoimmunity* 2004;37(4):363- 8.
  27. Kaslow RA, Phair JP, Friedman HB, et al. Infection with the human immunodeficiency virus: clinical manifestations and their relationship to immune deficiency. A report from the Multicenter AIDS Cohort Study. *Ann Intern Med* 1987;107(4):474-80.
  28. Burbano X, Miguez MJ, Lecusay R, et al. Thrombocytopenia in HIV-infected drug users in the HAART era. *Platelets* 2001;12(8):456-61.
  29. Stasi R, Willis F, Shannon M, Gordon-Smith E, Infectious Causes of Chronic Immune Thrombocytopenia. *Hematol Oncol Clin N Am* 23 (2009) 1275-1297
  30. Maeda S, Ogura K, Yoshida H, et al. Major virulence factors, VacA and CagA, are commonly positive in *Helicobacter pylori* isolates in Japan. *Gut* 1998; 42(3):338-43.
  31. Bai Y, Wang Z, Bai X, et al. Cross-reaction of antibody against *Helicobacter pylori* urease B with platelet glycoprotein IIIa and its significance in the pathogenesis of immune thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol* 2009;89(2):142-9.
  32. Gerhard M, Rad R, Prinz C, et al. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2002;7(Suppl 1):17-23.
  33. Sumoto C, Tominaga K, Okazaki H, et al. Long-term efficacy of *Helicobacter pylori* eradication in patients with idio-

- pathic thrombocytopenic purpura: 7-year follow-up prospective study. *Ann Hematol* 2009;88:789-93.
34. Jadhav UM, Patkar VS, Kadam NN. Thrombocytopenia in malaria—correlation with type and severity of malaria. *J Assoc Physicians India* 2004; 52:615-8.
  35. de Mast Q, Groot E, Lenting PJ, et al. Thrombocytopenia and release of activated von Willebrand factor during early *Plasmodium falciparum* malaria. *J Infect Dis* 2007;196(4):622-8.
  36. Cuker A, Recent advance in heparin induced thrombocytopenia *Curr Opin Hematol* 18: 315-322
  37. Kawano H, Yamamoto H, Miyata S, et al Prospective multicentre cohort study of heparin-induced thrombocytopenia in acute ischemic stroke patients *Br J Hematol* 2011; 1-9.
  38. Hook K, Abrams Ch. Treatment options in heparin-induced thrombocytopenia *Current Opinion in Hematology* 2010; 17:424-431
  39. Cervera R, Tektonidou MG, Espinosa G, et al. Task Force on Catastrophic Antiphospholipid Syndrome (APS) and Non-criteria APS Manifestations (II): thrombocytopenia and skin manifestations *Lupus*. 2011; 20:174-181
  40. Ruiz-Irastorza G, Crowther M, Branch W, Khamashta M, Antiphospholipid syndrome *Lancet* 2010; 376: 1498-1509
  41. Pradella P, Bonetto S, Turchetto S, et al Platelet production and destruction in liver cirrhosis. *Journal of Hepatology* 2011; 54: 894-900
  42. Cataland S, Wu H. Practical Issues in ADAMTS13 Testing and Emerging Therapies in Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *Semin Hematol* 2011; 48:242-250.
  43. Apelseh T, Hervig T, Bruserud O. Current practice and future directions for optimization of platelet transfusions in patients with severe therapy-induced cytopenia. *Blood Reviews* 2011; 25:113-122.
  44. Estcourt LJ, Stanworth SJ, Murphy MF. Platelet transfusions for patients with haematological malignancies: who needs them?. *Curr Opin Hematol*. 2010;17:411-7
  45. Hold E, Shwartz J. Platelet transfusión refractoriness. *Br J Haematol* 2008; 142: 348-360.
  46. McVey M, Cserti-Gazdewich C.M. Platelet transfusion refractoriness responding preferentially to single donor aphaeresis platelets compatible for both ABO and HLA. *Transfusion Medicine*, 2010; 20:346-353.

# Colecta de granulocitos y transfusión

FERNANDO MARTÍNEZ\*

## Introducción

En este capítulo se hará un sumario de la colecta y transfusión de granulocitos, se discutirán sus orígenes y se razonará acerca de su eficacia y de sus perspectivas futuras.

## Perspectiva histórica

La terapia con transfusión de granulocitos ha transcurrido entre periodos de entusiasmo y momentos de desaliento. Durante la segunda mitad del siglo XX se observó un cambio notorio en las causas de muerte en pacientes con neoplasias hematológicas. El uso de quimioterapia, agentes inmunosupresivos, y posterior-

\* *Profesor asistente, División de Patología y Medicina de Laboratorio, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, USA.*

mente el advenimiento del trasplante de médula ósea, se acompañaron de un aumento de los casos de neutropenia grave que produjo a su vez un incremento de eventos infecciosos que desplazaron a la hemorragia como primera causa de muerte en este grupo de pacientes.<sup>1,2</sup> Así, durante la década de 1960, los pacientes con neutropenia se enfrentaban a infecciones producidas por gérmenes Gram negativos y no contaban con la disponibilidad de antibióticos para su tratamiento, mientras el soporte transfusional con plaquetas para el manejo de la hemorragia posterior a trombocitopenia desplazaba a las hemorragias al segundo lugar como causa de muerte. Se dio, entonces, un inusitado interés en la transfusión de granulocitos como alternativa lógica para el tratamiento de la infección en estos enfermos.

No obstante, el uso terapéutico de granulocitos en pacientes neutropénicos no era un concepto nuevo. Strumia, en 1934, reportó una respuesta favorable en diez pacientes neutropénicos que recibieron capas leucocitarias (*buffy coats*) como terapia, aunque no mediante transfusión.<sup>3</sup> Sin embargo, no fue sino hasta la década de 1950 cuando Brecher y sus colegas, mediante experimentos en perros, colectaron granulocitos y los transfundieron a perros leucopénicos demostrando con ello que los granulocitos transfundidos migraban al foco de infección y producían, además, un efecto terapéutico.<sup>4</sup>

Sin embargo, a diferencia de los eritrocitos y las plaquetas, los granulocitos son células que usan el espacio vascular como vía de transporte para llegar a los tejidos donde hay infección y ejercer allí su función. El número de granulocitos

circulantes es muy bajo en los donantes sanos, por tanto la cantidad presente en una unidad de sangre completa es inadecuada para producir un efecto terapéutico adecuado en un adulto, lo cual es una limitante seria cuando de colección y transfusión de granulocitos se trata. Para sortear esta dificultad, Freireich y asociados obtuvieron dosis mayores de granulocitos e hicieron colecciones de unidades de sangre de pacientes con leucemia mieloide crónica.<sup>5-7</sup>

El desarrollo de la máquina de aféresis en la primera mitad de la década de los sesenta permitió la colección de componentes sanguíneos específicos y suscitó un creciente interés en la colección y transfusión de granulocitos.<sup>8</sup> Puesto que estas células tienen un gradiente similar al de los eritrocitos, la mayoría de las células colectadas eran linfocitos y monocitos. Se hizo entonces necesaria la utilización de compuestos que permitieran la sedimentación de los eritrocitos y se evaluaron distintos agentes de sedimentación para producir rouleaux,<sup>9</sup> lo cual favoreció la utilización del almidón hidroxietílico.<sup>10,11</sup> No obstante, a pesar de que la colección de granulocitos de pacientes con leucemia mielocítica crónica producía una cantidad adecuada de células, había una resistencia lógica a la utilización de granulocitos colectados de pacientes con cáncer. Además, la colección de granulocitos de pacientes con esta clase de leucemia tenía la finalidad de servir como terapia en ellos mismos a fin de prolongar la fase crónica, pero no se observó una reducción de la fase blástica,<sup>12</sup> lo que indujo a colectar granulocitos de donantes sanos. Empero, la transfusión de granulocitos obtenidos

de pacientes con leucemia mielocítica crónica llevó a dos hechos importantes: En primer lugar, la observación de una relación directa entre la cantidad de granulocitos transfundidos, el incremento de granulocitos post-transfusión y la respuesta del paciente;<sup>13</sup> y en segundo lugar, que igualmente había incrementos menos óptimos y mayor incidencia de reacciones transfusionales en pacientes aloinmunizados.

En los donantes sanos, el número de granulocitos circulantes seguía siendo muy bajo en comparación con el número de los circulantes en pacientes con leucemia mielóide crónica, por tanto la colección de granulocitos en donantes sanos rendía volúmenes de células inadecuados para la terapia. A finales de la década de los sesenta y comienzos de los setenta, se suscitó un marcado interés en el uso de agentes que promovieran la granulocitosis. La estimulación de donantes voluntarios para colectar un mayor número de células se hizo inicialmente con etioconalona<sup>14</sup> y posteriormente con dexametasona,<sup>15</sup> los cuales incrementaron la cantidad de granulocitos colectados. Simultáneamente, se fabricaron máquinas de aféresis más eficientes y la técnica de aféresis por filtración produjo cantidades mayores de granulocitos; desafortunadamente, este proceso causaba activación de las células y producía un número mayor de reacciones adversas.<sup>16</sup>

Durante finales de la década de los setenta y principios de los ochenta, se desarrollaron antibióticos y antimicóticos más potentes que permitían un mejor tratamiento en pacientes granulocitopénicos. Paralelamente, entre 1972 y 1982 se llevaron a cabo estudios para

determinar la eficacia de la transfusión de granulocitos que, sin embargo, llevaron a resultados contradictorios que mostraban unas veces eficacia,<sup>17-19</sup> otras eficacia en subgrupos de pacientes,<sup>19,20</sup> o simplemente ineficacia.<sup>21,22</sup> De igual manera, se publicaron estudios que reportaban reacciones adversas a la transfusión de granulocitos<sup>23-26</sup> lo cual en conjunto fue generando controversias y progresivamente apatías en el uso de granulocitos como terapia.<sup>27</sup> Así, la transfusión de granulocitos pasó del entusiasmo durante la década de los sesenta a su progresivo cuestionamiento en los ochenta, para finalmente desembocar un escueto desinterés durante los primeros años de 1990.

Sin embargo, a comienzos de dicha década se empieza a utilizar el G-CSF (*Granulocyte-Colony Stimulating Factor*) en donantes para estimular células madre,<sup>28</sup> lo cual facilitó el empleo en donantes de este factor solo o con esteroides, para la estimulación de granulocitos, lo cual permitía colectar una dosis terapéutica elevada. Se compararon distintos esquemas de movilización de granulocitos y se lograron esquemas óptimos<sup>29,30</sup> que despertaron nuevamente el interés en la colección y transfusión de granulocitos.

## Eficacia clínica de la transfusión de granulocitos

La validez de la transfusión de granulocitos como terapia en pacientes leucopénicos ha sido fuente de polémica. La interpretación de los múltiples estudios que han hallado favorable o desfavorable la terapia con granulocitos, ha sido socavada por la falta de homogeneidad en

dichas publicaciones.<sup>17-22</sup> Los resultados obtenidos en esos estudios no son, en consecuencia, comparables, debido a que presentan diferencias considerables en el diseño, los criterios de inclusión, el tipo de estimulación para la colección de granulocitos y la frecuencia de las transfusiones.

Strauss, en un análisis de 32 publicaciones de la terapia con transfusión de granulocitos en pacientes leucopénicos en extremo,<sup>31</sup> encontró que de 206 pacientes, el 62% con septicemia y el 83% con infección bacteriana localizada, tuvieron una respuesta favorable, mientras que el 71% de los pacientes con infecciones micóticas diseminadas no la tuvieron. Nuevamente, la interpretación de los datos fue difícil debido a la disimilitud de la terapia antimicrobiana, la heterogeneidad de los pacientes incluidos, la colección de los granulocitos, su cantidad en cada producto y el número de transfusiones, factores de los cuales los tres últimos tienen una importancia que ha sido subestimada. En los estudios en los que no se observaba eficacia o esta era modesta, el número de granulocitos transfundidos era subóptimo o habían sido colectados por aféresis por filtración, un procedimiento que se determinó producía activación de los granulocitos.<sup>16</sup>

Como ya ha sido mencionado, algunos de los estudios que no encontraron ventajas en el uso de granulocitos<sup>17,21</sup> fueron llevados a cabo en un momento en el cual la cantidad y la calidad de los granulocitos colectados eran inferiores a la de los que se pueden coleccionar actualmente, y por ende, la dosis transfundida era inadecuada e ineficaz. Morse y colaboradores<sup>6</sup> habían hecho

énfasis en la importancia de la dosis de granulocitos transfundidos, y encontraron que la respuesta clínica era directamente proporcional a la dosis de granulocitos transfundidos. Igualmente, Lowenthal<sup>32</sup> encontró que los pacientes cuya respuesta a la transfusión con granulocitos era favorable, habían recibido, en promedio, cuatro veces más células que los pacientes que no respondieron.<sup>32</sup> Resultados análogos fueron obtenidos en estudios realizados en perros.<sup>33, 34</sup>

Paralelamente, el hecho de que un ensayo clínico mostrara ineficacia se debía a que estaba influenciado por la tasa de sobrevivencia en el grupo control, puesto que si en algunos estudios el mero uso de antibióticos en los controles produjo mejoría,<sup>17,21,22</sup> esto sugiere que quizá en esos pacientes la neutropenia no era lo suficientemente grave y había recuperación de la médula ósea, o la infección no era lo suficientemente importante como para requerir el uso de granulocitos.

La disimilitud en los resultados de los estudios insinúa que una variable que parece jugar un papel importante en la mayoría de los estudios es que cuando existen alternativas terapéuticas eficaces la transfusión de granulocitos no está indicada, lo cual sugiere que la terapia con granulocitos debe estar reservada a pacientes seleccionados. Se ha observado que aquellos que se benefician con la terapia de granulocitos son los que muestran neutropenia persistente y quienes no se benefician son aquellos con evidencia de médula ósea funcional o en recuperación.<sup>31</sup> Podemos decir, entonces, que la eficacia de la transfusión de granulocitos depende de la selección del paciente receptor, de la eficacia del

producto en la elevación del conteo de granulocitos en el receptor y del número de transfusiones.

Por tanto, y a pesar de la controversia, la pregunta que debemos hacernos no es si la transfusión de granulocitos es eficaz, sino en qué grupo de pacientes lo es. Debemos, además, preguntarnos cuál es el mejor momento para empezar el tratamiento y cómo colectar una dosis terapéutica adecuada. Se ha propuesto, entonces, que la transfusión de granulocitos es una terapia eficaz en pacientes neutropénicos con menos de 500 neutrófilos por microlitro, sin precursores en la médula ósea, que presenten una infección aguda, no respondan a la terapia antibiótica y, preferiblemente, que tengan un soporte socio-familiar que permita proveer los donantes en caso de que no haya donantes voluntarios.

## Donantes de granulocitos

Cada donante debe recibir información sobre los efectos adversos de los medicamentos usados para estimular la liberación de granulocitos y llenar los requisitos de donación estándar establecidos por cada país.

Bensinger y colaboradores publicaron en 1993 su experiencia con el uso de G-CSF en la colección de granulocitos en donantes sanos.<sup>28</sup> G-CSF es la citoquina que estimula la producción y liberación de granulocitos de la médula ósea y su administración subcutánea produce un incremento en el conteo sanguíneo de estas células, con pico a las doce horas posteriores a su administración. Las actividades fagocíticas, bactericidas y fungicidas de los granulocitos liberados es acrecentada por el G-CSF al tiempo

que se reduce la apoptosis,<sup>35,36</sup> lo cual explica, en parte, la sobrevivencia de los granulocitos transfundidos.

La mayoría de los estudios publicados se han hecho en donantes que han recibido múltiples estímulos con G-CSF lo cual tiene la ventaja adicional de que se estimula desde una línea de base más alta si las donaciones son cercanas en tiempo. Al parecer, las células coleccionadas de estos donantes son un poco más inmaduras, lo que permitiría una mayor duración en el receptor. Los efectos adversos específicos de la estimulación con G-CSF son tolerables e idiosincráticos, de los cuales los más comúnmente descritos<sup>37,38</sup> incluyen cefalea, dolor de espalda y dolor en huesos largos, y aunque pueden exacerbarse en algunos donantes, la mayoría de las veces son leves y tratables con un analgésico oral, como el acetaminofén.

En los Estados Unidos, la mayoría de las colecciones se hacen en donantes que son familiares o amigos del paciente; sin embargo, en ciertas instituciones se ha empezado a colectar granulocitos de donantes voluntarios sin conexión alguna con el paciente.<sup>37</sup> Esta estrategia tiene la ventaja de que los granulocitos coleccionados estarían disponibles para quienes lo requieran.

Puesto que la adición de dexametasona incrementa el número de granulocitos coleccionados, Jendiroba y colaboradores estudiaron distintos esquemas de combinación de G-CSF y dexametasona para estimulación en donantes sanos.<sup>30</sup> No obstante, en los Estados Unidos algunos centros prefieren no usar G-CSF, puesto que este medicamento no está aprobado por la FDA (*Federal Food and Drug Administration*) para ser usado en

donantes sanos de granulocitos y por tanto, usan solo dexametasona para estimular donantes antes de la colección por aféresis.<sup>39</sup> En algunos países europeos tampoco se usa el G-CSF.<sup>40</sup> El uso de la dexametasona ha sido motivo de discusión debido a su posible asociación con cataratas subcapsulares posteriores, la cual es una complicación de la terapia con corticoesteroides a largo plazo.<sup>41, 42</sup>

Puesto que los donantes voluntarios de granulocitos pueden recibir múltiples dosis de dexametasona y dado que la exposición es breve y los intervalos no continuos, se ha considerado que el riesgo es inexistente o mínimo, concepto que ha sido motivo de polémica. En un estudio retrospectivo, Ghodsi y colaboradores compararon once donantes de granulocitos con nueve de plaquetas por aféresis y reportaron cataratas subcapsulares posteriores en cuatro donantes de granulocitos, pero no encontraron cataratas subcapsulares posteriores en los donantes de plaquetas.<sup>43</sup> En el 2005, Burch y colaboradores, en un estudio multicéntrico, no encontraron una diferencia estadísticamente significativa en el desarrollo de cataratas subcapsulares posteriores entre 89 donantes de granulocitos estimulados con dexametasona, frente a 89 donantes de plaquetas que nunca donaron granulocitos.<sup>44</sup> Clayton y colaboradores en el 2011, encontraron una tendencia hacia la formación de cataratas subcapsulares posteriores en 100 donantes de granulocitos cuando fueron comparados con 100 donantes de plaquetas; dicha tendencia se incrementaba a mayor número de exposiciones;<sup>45</sup> sin embargo, estos autores no encontraron una diferencia estadísticamente significativa. A pesar de que los resultados

de estos estudios no son conclusivos, parece lógico ser precavido con el uso continuo de dexametasona en donantes de granulocitos. Los efectos adversos inmediatos más comúnmente causados por la dexametasona son el insomnio y la ansiedad en este grupo de donantes.<sup>37</sup>

## Práctica actual

Si un paciente neutropénico presenta una infección que responde prontamente a la terapia antimicrobiana, entonces la terapia con granulocitos es innecesaria; sin embargo, es razonable el transfundir granulocitos en pacientes con infección grave, micótica o bacteriana, que a pesar del tratamiento antimicrobiano (al menos 48 horas de terapia antimicrobiana) y de la terapia con factores recombinantes de estimulación de la médula ósea, continúan sin mostrar mejoría. No obstante, la mayor dificultad en el manejo de dichos pacientes es la dificultad logística de la colección de granulocitos. La selección de los donantes es un proceso dispendioso ya que los granulocitos no son almacenados regularmente como lo son las plaquetas, y los glóbulos rojos empacados expiran a las 24 horas de colectados. Los donantes disponibles son usualmente limitados y cuando no hay donantes en la comunidad, se recurre a los familiares o amigos del paciente<sup>46</sup> los cuales deben ser estimulados con G-CSF y dexametasona.<sup>30,47,48</sup> El número de donantes y su compromiso en el proceso de donación son factores muy importantes, puesto que una vez la decisión de usar granulocitos ha sido tomada, se debe continuar la terapia hasta que se alcance la mejoría del paciente, lo que usualmente ocurre cuando la infección



ha sido resuelta o el conteo de neutrófilos es mayor de  $0.5 \times 10^9/l$ . La eficiencia de la colección con las máquinas de aféresis actuales es, típicamente, del 50% cuando se procesan uno y medio volúmenes sanguíneos totales. La dosis colectada debe ser administrada lo más pronto posible y no debe ser menor de  $1 \times 10^{10}$  por unidad en 75% de las unidades colectadas, y preferiblemente de  $4 \times 10^{10}$  por unidad colectada.

### Perspectivas futuras

Debido a la polémica alrededor del uso de los granulocitos como terapia en pacientes neutropénicos, es necesario definir los riesgos y beneficios y en qué circunstancias usar esta terapia. Definir el papel óptimo de la transfusión de granulocitos solo podrá llevarse a cabo con estudios apropiados de eficacia, costo beneficio y toxicidad. La morbilidad y mortalidad debidas a neutropenia han disminuido en forma notoria en las últimas décadas, sin lugar a dudas a consecuencia de nuevos antibióticos, nuevos antimicóticos y factores de estimulación de la médula ósea. Sin embargo, la neutropenia grave aún conlleva una morbi-mortalidad secundaria a infección en aproximadamente el 10% de los pacientes.<sup>49</sup> Las infecciones micóticas, principalmente las causadas por hongos filamentosos, han emergido como causa evidente de morbi-mortalidad.<sup>50</sup> La literatura concerniente al papel de la transfusión de granulocitos en el manejo de infección micótica diseminada, es insuficiente, y al igual que los reportes de éxito<sup>51-53</sup> o la falta de eficacia<sup>54</sup> no es definitiva a pesar de que estudios en animales

han mostrado eficacia.<sup>55,56</sup> Hay muchas variables que deben ser estudiadas más a fondo. Por ejemplo, los granulocitos colectados por primera vez después de estimulación con G-CSF, son cualitativamente distintos de los colectados después de varias estimulaciones con G-CSF. Estos últimos son más grandes y con moléculas de adhesión incrementadas, lo que puede cambiar su habilidad para localizar un área de inflamación.<sup>57</sup> Posibles reacciones transfusionales podrían también estar relacionadas con este factor. Otros aspectos por considerar incluyen, por ejemplo, la presencia de CMV en las células transfundidas, las técnicas de colección, la necesidad de irradiación de las células colectadas, y el momento de la transfusión dentro del horario de tratamiento antimicrobiano y de quimioterapia. Así, las perspectivas futuras de investigación deben incluir en los ensayos clínicos estas variables.

La perspectiva de los donantes es algo que debe ser discutido de igual manera. El uso de donantes de la comunidad frente a los donantes proveídos por la familia del enfermo genera dilemas éticos y logísticos. La estimulación de donantes sanos con G-CSF y dexametasona ha sido considerada segura; sin embargo, los potenciales efectos adversos a largo plazo han sido parcialmente definidos y la respuesta definitiva solo se podrá obtener mediante ensayos clínicos apropiados. Puesto que el G-CSF ha sido usado para la colección de células madre previamente a la utilización como estimulante para la colección de granulocitos, se considera que no tiene efectos a largo plazo y los efectos adversos inmediatos son tolerables. Los efectos de la dexametasona a largo plazo

deben, sin embargo, ser investigados debido al riesgo potencial de cataratas subcapsulares posteriores.

Actualmente se lleva a cabo en los Estados Unidos un estudio de fase III multi-institucional que tiene como fin definir la efectividad de la transfusión de granulocitos. En dicho estudio se emplean donantes de la comunidad y se han incluido múltiples variables basadas en la literatura. Dicho estudio, llamado RING (*Resolving Infections with Granulocytes*), empezó en 2008 y espera reclutar 236 pacientes.<sup>58</sup> De igual manera, el papel de la transfusión profiláctica de granulocitos debe ser revaluada y actualmente hay estudios que se llevan a cabo usando transfusión profiláctica de granulocitos en receptores de células madres.

## Referencias

1. Hersh EM, Bodey GP, Nies BA, Freireich EJ. Causes of Death in Acute Leukemia: A Ten-Year Study of 414 Patients from 1954-1963. *JAMA*. 1965;193:105-109.
2. Bodey GP, Buckley M, Sathe YS, Freireich EJ. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med*. 1966;64(2):328-340.
3. M.Strumia M. The effect of leukocytic cream injections in the treatment of the neutropenias. *The American Journal of the Medical Sciences*. 1934 1934;187(4):527-544.
4. Brecher G, Wilbur KM, Cronkite EP. Transfusion of separated leukocytes into irradiated dogs with aplastic marrows. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1953;84(1):54-56.
5. Freireich EJ, Levin RH, Whang J, Carbone PP, Bronson W, Morse EE. The Function and Fate of Transfused Leukocytes from Donors with Chronic Myelocytic Leukemia in Leukopenic Recipients. *Ann N Y Acad Sci*. 1964;113:1081-1089.
6. Morse EE, Freireich EJ, Carbone PP, Bronson W, Frei E. The Transfusion of Leukocytes from Donors with Chronic Myelocytic Leukemia to Patients with Leukopenia. *Transfusion*. 1966;6(3):183-192.
7. Frei E, 3rd, Levin RH, Bodey GP, Morse EE, Freireich EJ. The nature and control of infections in patients with acute leukemia. *Cancer Res*. 1965;25(9):1511-1515.
8. Freireich EJ, Judson G, Levin RH. Separation and collection of leukocytes. *Cancer Res*. 1965;25(9):1516-1520.
9. Roy AJ, Franklin A, Simmons WB, Djerassi I. A method for separation of granulocytes from normal human blood using hydroxyethyl starch. *Prep Biochem*. 1971;1(3):197-203.
10. Szymanski IO. A new method to collect granulocytes using a low dose of hydroxyethyl starch. *Vox Sang*. 1983;44(2):106-114.
11. Lee JH, Leitman SF, Klein HG. A controlled comparison of the efficacy of hetastarch and pentastarch in granulocyte collections by centrifugal leukapheresis. *Blood*. 1995;86(12):4662-4666.
12. Vallejos CS, McCredie KB, Brittin GM, Freireich EJ. Biological effects of repeated leukapheresis of patients with chronic myelogenous leukemia. *Blood*. 1973;42(6):925-933.
13. McCredie KB, Freireich EJ, Hester JP, Vallejos C. Leukocyte transfusion therapy for patients with host-defense failure. *Transplant Proc*. 1973;5(3):1285-1289.
14. McCredie KB, Freireich EJ, Hester JP, Vallejos C. Increased granulocyte collection with the blood cell separator and the addition of etiocholanolone and hydroxyethyl starch. *Transfusion*. 1974; 14(4):357-364.
15. Higby DJ, Mishler JM, Rhomberg W, Nicora RW, Holland JF. The effect of a single or double dose of dexamethasone on granulocyte collection with the continuous flow centrifuge. *Vox Sang*. 1975;28(3):243-248.
16. Schiffer CA, Buchholz DH, Aisner J, Betts SW, Wiernik PH. Clinical experience with transfusion of granulocytes obtained by continuous flow filtration leukopheresis. *Am J Med*. 1975;58(3):373-381.
17. Vogler WR, Winton EF. A controlled study of the efficacy of granulocyte transfusions

- in patients with neutropenia. *Am J Med.* 1977;63(4):548-555.
18. Herzig RH, Herzig GP, Graw RG, Jr., Bull MI, Ray KK. Successful granulocyte transfusion therapy for gram-negative septicemia. A prospectively randomized controlled study. *N Engl J Med.* 1977; 296(13):701-705.
  19. Graw RG, Jr., Herzig G, Perry S, Henderson ES. Normal granulocyte transfusion therapy: treatment of septicemia due to gram-negative bacteria. *N Engl J Med.* 1972;287(8):367-371.
  20. Alavi JB, Root RK, Djerassi I, Evans AE, Gluckman SJ, MacGregor RR, et al. A randomized clinical trial of granulocyte transfusions for infection in acute leukemia. *N Engl J Med.* Mar 31 1977;296(13):706-711.
  21. Fortuny IE, Bloomfield CD, Hadlock DC, Goldman A, Kennedy BJ, McCullough JJ. Granulocyte transfusion: a controlled study in patients with acute nonlymphocytic leukemia. *Transfusion.* 1975;15(6):548-558.
  22. Winston DJ, Ho WG, Gale RP. Therapeutic granulocyte transfusions for documented infections. A controlled trial in ninety-five infectious granulocytopenic episodes. *Ann Intern Med.* 1982;97(4):509-515.
  23. Appelbaum FR, Trapani RJ, Graw RG, Jr. Consequences of prior alloimmunization during granulocyte transfusion. *Transfusion.* 1977;17(5):460-464.
  24. Wright DG, Robichaud KJ, Pizzo PA, Deisseroth AB. Lethal pulmonary reactions associated with the combined use of amphotericin B and leukocyte transfusions. *N Engl J Med.* 1981;304(20):1185-1189.
  25. Dana BW, Durie BG, White RF, Huestis DW. Concomitant administration of granulocyte transfusions and amphotericin B in neutropenic patients: absence of significant pulmonary toxicity. *Blood.* 1981;57(1):90-94.
  26. Stroncek DF, Leonard K, Eiber G, Malech HL, Gallin JI, Leitman SF. Alloimmunization after granulocyte transfusions. *Transfusion.* 1996;36(11-12):1009-1015.
  27. Strauss RG. Therapeutic granulocyte transfusions in 1993. *Blood.* 1993;81(7):1675-1678.
  28. Bensinger WI, Price TH, Dale DC, Appelbaum FR, Clift R, Lilleby K, et al. The effects of daily recombinant human granulocyte colony-stimulating factor administration on normal granulocyte donors undergoing leukapheresis. *Blood.* 1993;81(7):1883-1888.
  29. Liles WC, Huang JE, Llewellyn C, SenGupta D, Price TH, Dale DC. A comparative trial of granulocyte-colony-stimulating factor and dexamethasone, separately and in combination, for the mobilization of neutrophils in the peripheral blood of normal volunteers. *Transfusion.* 1997;37(2):182-187.
  30. Jendiroba DB, Lichtiger B, Anaissie E, Reddy V, O'Brien S, Kantarjian H, et al. Evaluation and comparison of three mobilization methods for the collection of granulocytes. *Transfusion.* 1998;38(8):722-728.
  31. Strauss RG. Clinical perspectives of granulocyte transfusions: efficacy to date. *J Clin Apher.* 1995;10(3):114-118.
  32. Lowenthal RM, Grossman L, Goldman JM, Storring RA, Buskard NA, Park DS, et al. Granulocyte transfusions in treatment of infections in patients with acute leukaemia and aplastic anaemia. *Lancet.* 1975;1(7903):353-358.
  33. Appelbaum FR, Bowles CA, Makuch RW, Deisseroth AB. Granulocyte transfusion therapy of experimental *Pseudomonas* septicemia: study of cell dose and collection technique. *Blood.* 1978;52(2):323-331.
  34. Epstein RB, Chow HS. An analysis of quantitative relationships of granulocyte transfusion therapy in canines. *Transfusion.* 1981;21(3):360-362.
  35. Dale DC, Liles WC, Summer WR, Nelson S. Review: granulocyte colony-stimulating factor--role and relationships in infectious diseases. *J Infect Dis.* 1995;172(4):1061-1075.
  36. Liles WC, Huang JE, van Burik JA, Bowden RA, Dale DC. Granulocyte colony-stimulating factor administered in vivo augments neutrophil-mediated activity against opportunistic fungal pathogens. *J Infect Dis.* 1997;175(4):1012-1015.
  37. Price TH, Bowden RA, Boeckh M, Bux J, Nelson K, Liles WC, et al. Phase I/II trial of neutrophil transfusions from donors stimulated with G-CSF and dexamethasone for treatment of patients with infections in he-

- matopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2000;95(11):3302-3309.
38. Stroncek DF, Yau YY, Oblitas J, Leitman SF. Administration of G-CSF plus dexamethasone produces greater granulocyte concentrate yields while causing no more donor toxicity than G-CSF alone. *Transfusion*. 2001;41(8):1037-1044.
  39. Strauss RG, Klein HG, Leitman SF, Price TH, Lichtiger B, Martinez F, et al. Preparation of granulocyte concentrates by apheresis: collection modalities in the USA. *Vox Sang*; 100(4):426-433.
  40. Engelfriet CP, Reesink HW, Klein HG, Murphy MF, Pamphilon D, Devereux S, et al. International forum: granulocyte transfusions. *Vox Sang*. 2000;79(1):59-66.
  41. Black RL, Oglesby RB, Von Sallmann L, Bunim JJ. Posterior subcapsular cataracts induced by corticosteroids in patients with rheumatoid arthritis. *JAMA*. 1960;174:166-171.
  42. Fryer JP, Granger DK, Leventhal JR, Gillingham K, Najarian JS, Matas AJ. Steroid-related complications in the cyclosporine era. *Clin Transplant*. 1994;8(3 Pt 1):224-229.
  43. Ghodsi Z, Strauss RG. Cataracts in neutrophil donors stimulated with adrenal corticosteroids. *Transfusion*. 2001;41(12):1464-1468.
  44. Burch JW, Mair DC, Meny GM, Moroff G, Ching SS, Naidoff MA, et al. The risk of posterior subcapsular cataracts in granulocyte donors. *Transfusion*. 2005;45(11):1701-1708.
  45. Clayton JA, Vitale S, Kim J, Conry-Cantilena C, Byrne P, Reed GF, et al. Prevalence of posterior subcapsular cataracts in volunteer cytopheresis donors. *Transfusion*. 51(5):921-928.
  46. Strauss RG, Klein HG, Leitman SF, Price TH, Lichtiger B, Martinez F, et al. Preparation of granulocyte concentrates by apheresis: collection modalities in the USA. *Vox Sang*. 2011;100(4):426-433.
  47. Stroncek DF, Clay ME, Smith J, Ilstrup S, Oldham F, McCullough J. Changes in blood counts after the administration of granulocyte-colony-stimulating factor and the collection of peripheral blood stem cells from healthy donors. *Transfusion*. 1996;36(7):596-600.
  48. Stroncek DF, Matthews CL, Follmann D, Leitman SF. Kinetics of G-CSF-induced granulocyte mobilization in healthy subjects: effects of route of administration and addition of dexamethasone. *Transfusion*. 2002;42(5):597-602.
  49. Kuderer NM, Dale DC, Crawford J, Cosler LE, Lyman GH. Mortality, morbidity, and cost associated with febrile neutropenia in adult cancer patients. *Cancer*. 2006;106(10):2258-2266.
  50. Grow WB, Moreb JS, Roque D, Manion K, Leather H, Reddy V, et al. Late onset of invasive aspergillus infection in bone marrow transplant patients at a university hospital. *Bone Marrow Transplantation*. 2002;29(1):15-19.
  51. Yomtovian R, Abramson J, Quie P, McCullough J. Granulocyte transfusion therapy in chronic granulomatous disease. Report of a patient and review of the literature. *Transfusion*. 1981;21(6):739-743.
  52. Lee JJ, Song HC, Chung IJ, Bom HS, Cho D, Kim HJ. Clinical efficacy and prediction of response to granulocyte transfusion therapy for patients with neutropenia-related infections. *Haematologica*. 2004;89(5):632-633.
  53. Lee JJ, Chung IJ, Park MR, Kook H, Hwang TJ, Ryang DW, et al. Clinical efficacy of granulocyte transfusion therapy in patients with neutropenia-related infections. *Leukemia*. 2001;15(2):203-207.
  54. Bhatia S, McCullough J, Perry EH, Clay M, Ramsay NK, Neglia JP. Granulocyte transfusions: efficacy in treating fungal infections in neutropenic patients following bone marrow transplantation. *Transfusion*. 1994;34(3):226-232.
  55. Chow HS, Sarpel SC, Epstein RB. Experimental candidiasis in neutropenic dogs: tissue burden of infection and granulocyte transfusion effects. *Blood*. 1982;59(2):328-333.
  56. Chow HS, Sarpel SC, Epstein RB. Pathophysiology of *Candida albicans* meningitis in normal, neutropenic, and granulocyte transfused dogs. *Blood*. 1980;55(4):546-551.
  57. Price TH, Chatta GS, Dale DC. Effect of recombinant granulocyte colony-stimulating factor on neutrophil kinetics in normal young and elderly humans. *Blood*. 1996;88(1):335-340.
  58. Dale DC, Price TH. Granulocyte transfusion therapy: a new era? *Curr Opin Hematol*. 2009;16(1):1-2.

# Componentes sanguíneos leucorreducidos: laboratorio y aspectos clínicos

LUIS R. LARREA GONZÁLEZ\*

ROBERTO J. ROIG OLTRA\*\*

## Introducción

Los leucocitos presentes en la sangre total (ST) y en los componentes sanguíneos (CS) se asocian con diversos efectos adversos de la transfusión sanguínea. En principio, dichos leucocitos no ofrecen ningún beneficio y su eliminación puede evitar dichos efectos adversos.

Leucorreducción (LR), leucodepleción, leucofiltración o desleucotización son sinónimos y describen este proceso.<sup>1</sup> La LR se define como el proceso por medio del cual se eliminan los leucocitos de la sangre. La LR universal (LRU) es la aplicación de la LR en todas las transfusiones, independientemente del tipo de receptor y de su situación clínica. Se estima que en la ST humana el contenido medio de leucocitos es 1.000 millones por unidad.<sup>2</sup> Con los estándares actua-

\* *Doctor en Medicina y Cirugía. Médico Especialista en Hematología Hemoterapia. Jefe del Servicio de Fraccionamiento y Criopreservación. Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana. Valencia, España.*

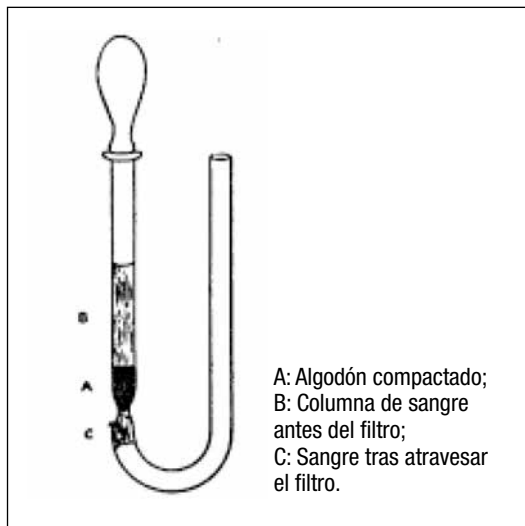
\*\* *Doctor en Medicina y Cirugía. Médico Especialista en Hematología y Hemoterapia. Máster Internacional de Alta Dirección Hospitalaria. Máster Universitario en Auditoría, Acreditación y Evaluación de las organizaciones y prácticas sanitarias. Director de la Cátedra Terumo de Medicina Transfusional y Terapia Celular de la Facultad de Medicina de la Universidad Católica de Valencia. Director del Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana. Valencia, España.*

les, el contenido total de leucocitos en una unidad de concentrado de hematíes (CH) debería ser menor de cinco millones<sup>3</sup> o de un millón.<sup>4</sup>

Inicialmente, este proceso se utilizó para subgrupos de pacientes seleccionados –tales como los multtransfundidos, inmunocomprometidos y/o con neoplasias– para prevenir la infección, la reactivación del citomegalovirus (CMV), la inmunización HLA y las reacciones febriles no hemolíticas (RFNH). A partir de la década de los ochenta se empezó a teorizar sobre la relación de los leucocitos con las infecciones postoperatorias y la recurrencia del cáncer.

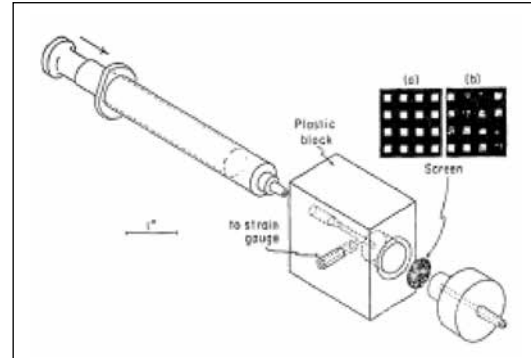
## Historia de la filtración

En 1928, Fleming utilizó algodón a modo de filtro para la eliminación de los leucocitos de la sangre.<sup>5</sup> El aparato que diseñó consistía en un tubo de vidrio acodado con un estrechamiento para el emplazamiento del algodón; la sangre se hacía fluir a presión para que pasara a través del algodón (Figura 1).



**Figura 1.** Filtro de leucodepleción como el utilizado por Fleming en 1928.

En 1961, Swank observó accidentalmente la importancia de la eliminación de los leucocitos cuando estudiaba la viscosidad de los pequeños vasos. Observó que se necesitaba grandes presiones para forzar sangre almacenada durante 2-10 días en ACD a través de microfiltros (Figura 2).



**Figura 2.** Microfiltro como el utilizado por Swank en 1961.

El bloque de plásticos está en una cámara atemperada. Se muestran dos cortes del microfiltro antes (a) y después (b) del paso de sangre con una alta presión.

Al examinar microscópicamente los filtros, constató que los poros estaban ocluidos por desechos y agregados de plaquetas y leucocitos. Posteriormente, filtró la sangre almacenada mediante un filtro de lana cristalizada, tras de lo cual esta sangre podía atravesar sin dificultad el microfiltro de manera análoga a como lo hace la sangre fresca.<sup>6</sup> En 1962, Greenwalt y col publicaron un método de filtración para utilizar en bancos de sangre.<sup>7</sup> Más tarde, se observó que las fibras de nylon eran superiores a las de Orlon, Dacron o Teflón y que además atrapaban selectivamente a los granulocitos y no a los linfocitos.<sup>8</sup>

Los filtros originales contenían algodón como agente filtrante y fueron diseñados por Diepenhorst,<sup>9</sup> quien consiguió

la eliminación de más del 95% de los leucocitos de la ST y el 90%-95% de las plaquetas con una pérdida de hematíes inferior al 10%.

Un tiempo después, se introdujeron los filtros de acetato de celulosa. La sustitución de fibras naturales por sintéticas se tradujo en unos filtros menos pirogénicos y en una constante calidad del material del filtro.<sup>8</sup>

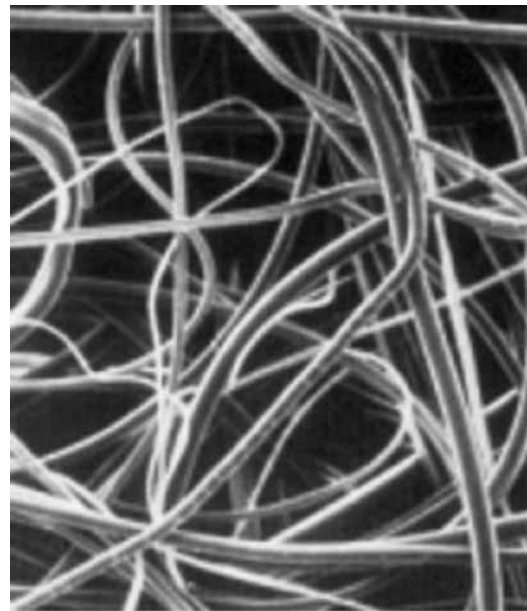
La primera generación de filtros estaba confeccionada con celulosa y eliminaba el 98% de los leucocitos, con lo cual se alcanzaron resultados clínicamente aceptables, pero estos filtros tenían dos inconvenientes: 1) activaban el sistema del complemento a través de la fracción C3 y generaban vasoconstricción y aumento de la permeabilidad capilar;<sup>10</sup> y 2) la eficacia de la LR dependía enormemente del flujo a través del filtro, lo que gastaba en este proceso al menos 30 minutos por cada unidad de CH.

En la actualidad, está disponible una nueva generación de filtros que combina un flujo rápido con una excelente eliminación de leucocitos<sup>11</sup> (eliminan el 99.995% de los leucocitos sanguíneos).<sup>8</sup>

### Mecanismos de eliminación de leucocitos mediante filtración

Para la mejora del flujo y de la capacidad de filtración, se utilizan filtros de profundidad y de pantalla. En los filtros de profundidad, el material tiene la forma de fibras comprimidas de lana (Figura 3). En algunas ocasiones, se utiliza poliéster y poliuretano que promueven la adhesión de leucocitos a través del filtro. En los filtros pantalla, este se elabora con capas de poliéster ordenado (Figura

4). Actualmente, los filtros consisten en diferentes capas de fibras de poliéster o de poliuretano recubiertas por sustancias químicas dentro de un molde de policarbonato. Las sustancias químicas varían según los fabricantes y confieren distintas cargas netas a las fibras (positivas o negativas), lo cual promueve la adhesión directa de los leucocitos, o la adhesión indirecta a través de las plaquetas. También existe un mecanismo de tamizado.

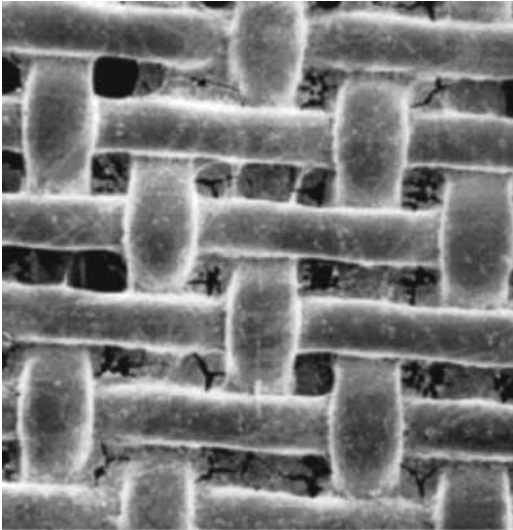


**Figura 3.** Microscopía electrónica. Sección de un filtro de profundidad. Obsérvese el orden aleatorio de las fibras. (Aumento: x100).

En este tipo de filtro, los leucocitos se unen a las sucesivas capas del material de filtro. Por lo tanto, la mayoría de los leucocitos quedan atrapados en las capas más externas del filtro y esto podría aumentar la resistencia sobre el filtro. La forma en la que los leucocitos están atrapados en filtro también influye en la eficacia y la capacidad del filtro.

La actual generación de filtros puede ser presurizada hasta 300 mm de Hg.

Esto permite la transfusión rápida, pero disminuye la eficacia; se ha demostrado que un mayor tiempo de contacto de los leucocitos con el filtro aumenta la eficacia.<sup>12</sup>



**Figura 4.** Microscopía electrónica. Sección de un filtro de pantalla. Obsérvese la estructura ordenada de las fibras. (Aumento: x150).

La eficacia de los filtros disminuye con el tiempo de filtración al saturarse con células y desechos.<sup>13</sup> Existen diversos factores que influyen en la filtración, tales como la temperatura,<sup>14</sup> la velocidad del flujo a través del filtro<sup>15</sup> y el recuento prefiltración de glóbulos blancos.<sup>16</sup> Los linfocitos y monocitos son capturados pasivamente en los pequeños poros de la red de fibras y los granulocitos son eliminados tanto por adhesión como por atrapamiento.<sup>17, 18</sup>

Los procesos de filtración se dividen generalmente en tres categorías:

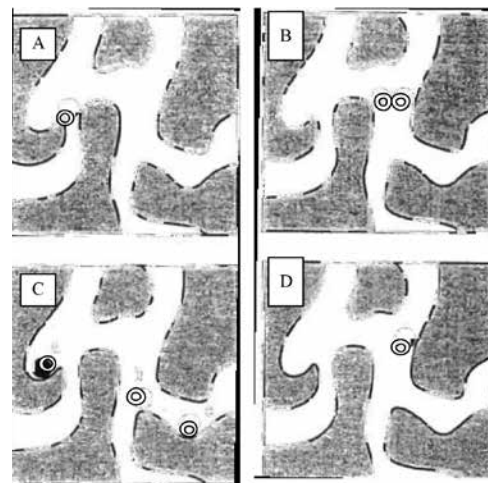
1. *La filtración de superficie:* Se entiende como el proceso por el cual las partículas más grandes de un determinado tamaño no pueden pasar la superficie de un filtro; este tipo de filtración sólo es posible si hay pocas

partículas grandes, porque de otra manera el filtro se obstruye.

2. *Filtración pastel:* Durante la filtración en pastel las partículas filtradas forman una capa porosa, como un pastel, en la parte superior del filtro, lo que contribuye a la filtración.

3. *Filtración en profundidad:* Para la filtración en profundidad la retención de las partículas no está restringida a la superficie del filtro. En general, los filtros de profundidad tienen una estructura porosa abierta, con diversos tamaños de poros a lo largo de la matriz del filtro. Esta estructura permite la retención de partículas en cualquier lugar dentro del filtro.

La filtración de los leucocitos puede ser considerada como una filtración en profundidad, basada en diferencias en la deformabilidad y adhesividad entre las diferentes células sanguíneas. Los mecanismos que influyen en los filtros en profundidad son, al menos, cuatro:<sup>19</sup> bloqueo, puenteo, intercepción y adhesión, y es este último el más importante.<sup>8</sup> (Figura 5).



**Figura 5.** Mecanismos de retención de partículas en los filtros de profundidad: A, bloqueo; B, puenteo; C, intercepción (a: callejón sin salida; b: lábil; c: estable); D, adhesión



Una explicación alternativa de la filtración en profundidad es distinguir el atrapamiento mecánico (tamizado) del atrapamiento físico-químico (adhesión).<sup>8</sup> El tamizado ocurre cuando las partículas son mayores de 30  $\mu\text{m}$  y la adhesión cuando son menores de 1  $\mu\text{m}$ , entre un tamaño de 1  $\mu\text{m}$  y 30  $\mu\text{m}$  (como ocurre durante la LR) ambos procesos ocurren simultáneamente.<sup>8</sup>

**Tamizado celular:** Las células sanguíneas difieren en tamaño y deformabilidad. El grado de deformabilidad de los leucocitos es mil veces inferior al de los hematíes y depende de las características viscoelásticas del citoplasma, la membrana plasmática, la forma celular, la relación superficie/volumen y el anticoagulante utilizado (la deformabilidad se reduce en presencia del ión  $\text{Ca}^{++}$ ). Al pasar la sangre a través del filtro, los leucocitos se eliminarán si el tamaño del poro se aproxima a su tamaño y obstruirán los poros de tamaño inferior, causando con ello una disminución del flujo. Este mecanismo atrapa fundamentalmente a los linfocitos.<sup>20</sup>

**Adhesión celular:** La membrana celular del leucocito regula la adhesión de la célula a diversos sustratos. Este proceso está regulado por diversos parámetros físico-químicos y biológicos y atrapa fundamentalmente a los granulocitos y monocitos.<sup>20</sup>

#### **Parámetros fisicoquímicos (adhesión directa) según la composición química de la superficie**

**Carga de la superficie:** Los leucocitos cargados negativamente se adhieren al material del filtro (cargado positivamente) por las fuerzas electrostáticas de Van der Waals. Esta adhesión es un proceso

activo y tiene la ventaja de permitir un mayor tamaño del poro y, por lo tanto, velocidades de flujo superiores. Superficies que contengan grupos hidróxilos, carbonilos y aminos aumentan la adhesión celular, mientras que los grupos sulfonatos inhiben la adhesión.<sup>8</sup> Para modificar la carga de superficie del filtro y así mejorar su eficacia, se emplea un revestimiento de metacrilato para los materiales del filtro, el cual crea una carga de superficie más positiva dando así lugar a enlaces más fuertes con los leucocitos cargados negativamente.<sup>45</sup>

**Hidrofilicidad de superficie:** La hidrofilicidad es importante para un contacto óptimo entre los leucocitos y las fibras para la adhesión posterior.

Las propiedades del material de filtro, tales como su carga superficial y la hidrofilicidad, determinan en gran manera su eficacia.

#### **Parámetros fisicoquímicos (adhesión directa) según la microestructura de la superficie**

**Morfología de la superficie:** La porosidad, la curvatura, la textura y la rugosidad influyen en la adhesividad.

#### **Parámetros biológicos (adhesión mediada)**

**Adsorción de proteínas:** Uno de los primeros procesos que ocurren tras el paso de la sangre es la adsorción de las proteínas plasmáticas por la superficie del filtro, facilitada por materiales hidrofóbicos. A su vez, la adhesión de los leucocitos se ve influenciada por las proteínas plasmáticas: la albúmina inhibe la adhesión de los leucocitos y las inmunoglobulinas y fibronectinas favorecen la adhesión.

**Adhesión de plaquetas:** Un inconveniente importante de los filtros leu-

correductores es la eliminación concomitante de las plaquetas. Por lo tanto, la aplicación de filtros puede interferir con la coagulación de la sangre. El 40% de las plaquetas que pasan por el filtro son atrapadas en él.<sup>21</sup> Allen y col, demostraron una diferencia significativa en los recuentos de plaquetas extrayendo muestras pre y post filtración.<sup>22</sup>

No obstante, una cierta cantidad de plaquetas depositadas en las fibras de poliéster del filtro ayudan a unir leucocitos<sup>23</sup> debido, al parecer, a que las plaquetas tienen una mayor afinidad por el material de filtro que los leucocitos.<sup>20</sup> Las plaquetas activadas liberan fibrinógeno, fibronectina o factor von Willebrand los cuales tienen propiedades adhesivas o pueden expresar receptores (P-selectina) que establecen una unión fuerte con los leucocitos.<sup>24</sup> Un aspecto benéfico de la eliminación de las plaquetas es que aquellas activadas liberan diferentes sustancias vasoactivas, por lo tanto la eliminación de las plaquetas podría reducir la liberación de tromboxano con el consecuente descenso de la vasoconstricción.<sup>25</sup>

*Cationes divalentes:* Algunos cationes (especialmente el  $\text{Ca}^{++}$  y el  $\text{Mg}^{++}$ ) favorecen la adherencia e influyen en la deformabilidad celular. Por tal razón es importante el anticoagulante que se utilice en la recogida de la sangre, de modo que en la sangre citratada la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  y el  $\text{Mg}^{++}$  es baja pero suficiente, y con EDTA o con oxalato la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  y el  $\text{Mg}^{++}$  es casi nula, inhibiéndose así la adherencia leucocitaria.

Lo anteriormente expuesto implica que la depleción óptima de los leucocitos sólo puede ocurrir si todo el filtro

es expuesto a la sangre, lo que significa que el vaciado de aire se debe realizar cuidadosamente antes de su uso. Un purgado de aire insuficiente perturba el flujo sanguíneo óptimo y reduce la eficacia del filtro. Otro efecto de las propiedades fisicoquímicas de los materiales del filtro es que los leucocitos parecen adherirse predominantemente a los puntos de cruce de las fibras,<sup>26</sup> por lo tanto introducir más puntos de entrecruzamiento aumentaría la eficacia del filtro. Para lograr esto último se necesitan fibras más finas, las cuales, sin embargo, conducen a un aumento de la resistencia al flujo.

La cantidad de plasma en los concentrados de hematíes, el tiempo de almacenamiento y la temperatura de filtración son factores importantes en el resultado de la filtración.<sup>27</sup>

## Técnicas de preparación de sangre pobre en leucocitos

La cantidad de leucocitos en 500 ml de ST es, en promedio, de  $2 \times 10^9$  y en los CH de  $1.8 \times 10^9$ .<sup>28,29</sup> Durante el proceso del fraccionamiento de la ST el 90% de los leucocitos se mantiene con los hematíes, los concentrados de plaquetas retienen el 8% de los glóbulos blancos y el 2% restante está presente en el plasma previo a su congelación.<sup>30</sup>

Los primeros estándares exigían la eliminación inicial de al menos un 70% de los leucocitos y la recuperación del 70% de los hematíes. Estos valores han sido objeto de revisión constante y actualmente se considera que una sangre está leucodepletada si el contenido total de leucocitos por unidad es menor que  $5 \times 10^6$ , junto con una retención de al menos el 85% de los glóbulos rojos.<sup>3</sup>

Existen muchas pruebas que demuestran que por debajo de  $5 \times 10^6$  leucocitos por unidad la inmunización por HLA no ocurre u ocurre raramente.<sup>31</sup> Incluso, ciertos autores definen la carga de leucocitos inmunogénicamente crítica como aquella necesaria para causar sensibilización en un individuo previamente no sensibilizado y se acepta un número de  $10^6$  leucocitos por unidad.<sup>32</sup>

La LR se puede conseguir por diversas técnicas, incluidos la centrifugación, la filtración, la sedimentación, el lavado, la congelación-descongelación y la aféresis<sup>31,33-36</sup> (Tabla 1).

Por centrifugación diferencial entendemos la sedimentación de los distintos componentes que forman la sangre de acuerdo con su tamaño y densidad, tras ser sometidos a este procedimiento. Con una centrifugación de alta velocidad se pueden obtener tres fracciones: glóbulos rojos, plasma acelular y una capa con leucocitos y plaquetas (*buffy-coat*, en inglés). Los concentrados de hematíes no sometidos a filtración en laboratorios europeos en los que se elimina la capa leucoplaquetar (BC), tienen menos de  $1.2 \times 10^9$  leucocitos por unidad. La separación del *buffy-coat* elimina un 70%-90% de leucocitos con una pérdida de hematíes cercana al diez por ciento.

La sedimentación con macromoléculas tipo dextrano consigue depleciones de leucocitos de alrededor del 80%, pero se trata de un proceso excesivamente laborioso, lo que hace que su aplicación con esta finalidad sea nula.

El lavado celular combina la centrifugación diferencial con diluciones continuas y soluciones isotónicas. Con máquinas automáticas se pueden con-

seguir eliminaciones de leucocitos de hasta el 95% con pérdidas de hematíes del 15%. Realmente es un método para eliminar el plasma y no es útil como método leucorreductor dados su precio, equipamiento, laboriosidad y generación de circuitos abiertos.

La congelación y descongelación se utiliza para el almacenamiento de unidades "raras". Se ha observado que tras la descongelación se elimina hasta el 95% de los leucocitos con una pérdida de hematíes del 10%. No es un método de aplicación para la rutina de la leucodepleción.

En la actualidad, la filtración es el método de elección para la preparación de CS leucorreducidos y el único capaz de alcanzar los niveles de leucocitos considerados críticos. Se trata de un procedimiento simple, fácil, con efectividad clínica y no requiere un equipamiento excesivamente costoso. En contraste con otras técnicas, permite trabajar en un sistema cerrado, favoreciendo de esta manera la vida útil de los componentes. Los filtros contienen diversos materiales como algodón, acetato de celulosa y policarbonato poroso, así como múltiples capas de fibras de poliéster sintético que retienen selectivamente glóbulos blancos y permiten el flujo a través de hematíes o plaquetas.

Los filtros son más baratos que otros métodos. De todas las anteriores técnicas es la más efectiva y con ella se logran fácilmente reducciones de al menos el 99,99% (4-5 logaritmos) del total de leucocitos de una unidad de sangre.<sup>35-38</sup> (Tabla 1). A pesar de ello se sigue trabajando en la mejora de la capacidad de eliminación de leucocitos, la recuperación de hematíes, el tiempo de filtración y el costo.

**Tabla 1.** Métodos de LR y su eficacia<sup>34</sup>

Método	Leucocitos residuales por unidad	Eficacia (reducción)	
		%	Log10
No LR	$1,8 \times 10^9 - 4,5 \times 10^9$	---	---
Eliminar Buffy-Coat	$5 \times 10^8 - 1,2 \times 10^9$	50-90	$\leq 1,0$
Congelación	$2 \times 10^7 - 1 \times 10^9$	80-99	$\leq 2,0$
Lavado	$1 \times 10^7 - 1 \times 10^8$	90-99,8	$\leq 2,5$
Filtración en cabecera	$5 \times 10^5 - 1 \times 10^7$	99,8-99-99	2,5-4,0
Filtración en línea (prealmacenamiento)	$5 \times 10^4 - 5 \times 10^6$	99,98-99,999	3,5-5,0

Actualmente se utilizan tres tipos de filtros en la transfusión de CS (Tabla 2): 1) Los filtros de primera generación, o filtros de pantalla, con un tamaño de poro de 170 a 260 micras, eliminan desechos pero no leucocitos.<sup>36-39</sup> 2) Los filtros de segunda generación, con un tamaño de poro de 20 a 50 micras, eliminan del 70% al 90% de los leucocitos.<sup>42-45</sup> Y 3) los filtros de tercera generación,<sup>42-45</sup> que son los más comúnmente utilizados, son de alta eficacia (eliminan el 99.9% de los leucocitos) y pueden ser utilizados en la cabecera del paciente durante la transfusión o antes de la distribución de la sangre. A diferencia de los filtros de primera y segunda generación cuya capacidad de acción radica en el tamaño del poro

para capturar los leucocitos, los filtros de tercera generación (también llamados de adhesión) eliminan los leucocitos por adhesión a superficies en el filtro cargadas negativamente.<sup>42-45</sup> La mayoría de los filtros de cabecera reducen el flujo de la transfusión (un CH/20-30 min), aunque existen filtros de alta eficacia diseñados para flujos altos (un CH/5 min).<sup>44,45</sup> Los filtros sanguíneos estándar y los filtros de microagregados no son necesarios cuando se utilizan filtros de reducción de leucocitos.<sup>37</sup>

Las técnicas de aféresis toman ventaja de las diferencias de densidad entre los componentes celulares de la sangre para separar los leucocitos contaminantes.<sup>38</sup>

**Tabla 2.** Filtros leucorreductores

Generación	Tamaño del poro	Mecanismo	Propósito
Primera	170-260 $\mu\text{m}$	Filtro de pantalla	No filtra leucocitos; filtro sanguíneo estándar
Segunda	20-49 $\mu\text{m}$	Filtro de pantalla	Filtro de microagregados; filtra leucocitos, 90%
Tercera	No aplicable	Filtro de adhesión	Filtro de adsorción; filtra leucocitos. 99.9%

## Momento de la filtración

Los filtros están disponibles en diferentes configuraciones. La filtración puede efectuarse en dos momentos diferentes:

1. **Durante la transfusión, en la cabecera del paciente.** Su bajo costo es discutible. Difícil de estandarizar al involucrar a muchas personas, lo que se traduce en mayores demandas de

formación. Es difícil el control del proceso, comporta alta probabilidad de error, con resultados insatisfactorios y deficiencias en el control de calidad

## 2. Antes de la transfusión:

*Post-almacenamiento:* Sólo cuando se requiere. Control de proceso, de calidad y formación adecuados. Pocas fallas. Retraso en el envío del componente. Sistema abierto generalmente. El tiempo de almacenamiento influye en el resultado de la filtración.

*Pre-almacenamiento:* Supera todos los inconvenientes anteriores pero conlleva establecer un inventario, por lo que puede aumentar el costo.

El tiempo es importante. La eliminación de leucocitos es mejor si se disminuye el lapso entre la filtración y la colecta de la sangre. La filtración prealmacenamiento realizada en las primeras 24 horas tras la recolección de la sangre es el estándar internacional.<sup>39</sup> La justificación para este hecho radica en la degranulación, fragmentación o muerte del leucocito durante su almacenamiento con la consiguiente liberación de su contenido intracelular, lo que puede dar lugar a reacciones febriles. Las citoquinas—especialmente la interleuquina 8 (IL-8)— se han relacionado con fallas para la prevención de reacciones febriles con la filtración en la cabecera del paciente.

Los leucocitos pueden ser eliminados al poco tiempo de la obtención de la ST (filtración prealmacenamiento) o tras el almacenamiento, pero antes de la transfusión (filtración postalmacenamiento). La filtración prealmacenamiento tiene lugar habitualmente en las primeras 24 horas tras la extracción de la ST. Existen

estudios en animales que sugieren que la filtración prealmacenamiento es más efectiva que la postalmacenamiento en la prevención de la aloinmunización plaquetaria.<sup>40</sup> La filtración prealmacenamiento minimiza la formación de los componentes “solubles” de los leucocitos, especialmente de los radicales oxidativos liberados por los leucocitos intactos, los cuales son tóxicos para las membranas celulares y representan una amenaza para la supervivencia de hemáties y plaquetas.<sup>41</sup> Se considera que la filtración prealmacenamiento da lugar a productos de superior calidad porque se evita la liberación de citoquinas de los leucocitos y además, en relación con las plaquetas, logra una mejor recuperación in vivo de las plaquetas y a una menor activación plaquetaria que la filtración en la cabecera del paciente.<sup>42</sup>

Actualmente, la filtración prealmacenamiento se realiza tras el fraccionamiento de los CS y la filtración de los productos obtenidos (CH, plaquetas y plasma). Estos procesos son laboriosos y se simplificarían con una filtración inicial de la ST previa a su fraccionamiento. Sin embargo, los actuales filtros de ST eliminan no sólo leucocitos sino también plaquetas, lo que los convierte en un obstáculo para aquellos centros de transfusión cuya producción de plaquetas se basa en las obtenidas de la ST, ya sea por el método del PRP o del BC.<sup>43</sup> El desarrollo de filtros de ST que no eliminen plaquetas, ofrecen la posibilidad de utilizar la ST filtrada como fuente para la elaboración de plaquetas.<sup>44,45,52</sup>

Las plaquetas pueden ser leucorreducidas durante la recolección del producto de aféresis con máquinas destinadas para tal fin<sup>46</sup> o por filtración.

## Métodos para recuento de leucocitos

La depleción de leucocitos hasta niveles tan bajos como  $1-5 \times 10^6$  células por unidad de producto, genera el problema de encontrar un modo para su recuento que sea fiable, sensible, exacto, estandarizable y aplicable en la rutina. El método elegido debe medir correctamente las concentraciones de leucocitos que actualmente se pueden alcanzar con la tecnología de filtración disponible.<sup>47</sup> Estas concentraciones pueden ser inferiores a un leucocito residual por microlitro, lo que requiere un procedimiento de recuento con un límite inferior de detección de 0,1 leucocitos por microlitro.<sup>48</sup>

Los analizadores automáticos (contadores celulares) se utilizan de rutina para la sangre y componentes sin filtrar, con niveles inferiores a 500 células/ $\mu$ l (en ST equivale a  $250 \times 10^6$  células/unidad de 500 ml o a cerca de  $30 \times 10^6$  células/unidad de 60 ml de plaqueta unitaria). Estos contadores no son fiables y como alternativa<sup>49</sup> se tienen la cámara de Nageotte y la citometría de flujo.<sup>50,51</sup>

La sensibilidad de la cámara de Nageotte se sitúa en cerca de 0,1 leucocitos/ $\mu$ l (equivalente a  $50 \times 10^3$  células/unidad en 500 ml o cerca de  $6 \times 10^3$  células/unidad de 60 ml). En este método, los parámetros críticos son tanto la dilución como el volumen de la muestra, además de la subjetividad del técnico en interpretar lo que es o no un leucocito. Consecuentemente, es un método sujeto a una amplia variabilidad.<sup>59</sup>

La citometría de flujo marca los leucocitos con un color específico que se une a los ácidos nucleicos (yoduro de propidio o bromuro de etidio). Es un

método exacto, preciso y consistente. Aún así, es más caro que el anterior y difícil de estandarizar por la preparación de la muestra y el establecimiento de las ventanas, que difiere según los aparatos y los distintos protocolos utilizados.<sup>52,53</sup>

En evaluaciones efectuadas en 20 laboratorios, los límites de detección para la citometría de flujo y para la cámara de Nageotte fueron de 0,1 y 1 leucocitos/ $\mu$ l, respectivamente.

## Efectos adversos

Se han comunicado pocos efectos adversos relacionados con la filtración de CS, entre ellos hipotensión arterial en pacientes transfundidos utilizando filtros de cabecera. La mayoría de estos pacientes (aunque no todos) estaban en tratamiento concomitante con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina,<sup>54</sup> e igualmente se ha reportado con filtración predeposición.<sup>55</sup> El mecanismo de este efecto adverso podría estar ligado a la generación de bradiquininas cuando el componente sanguíneo se expone a una superficie cargada negativamente. También se ha descrito un síndrome caracterizado por inyección conjuntival, dolor ocular, edema, artralgias y cefaleas, con un filtro predeposición de un fabricante.

Podríamos citar como un efecto adverso del proceso la pérdida de producto y aunque al parecer la función de los GR no se afecta por la filtración,<sup>56-58</sup> hay una pérdida de hematíes que varía entre el 4%-19%.<sup>57-60</sup> En relación con las plaquetas, tampoco parece afectarse su función, aunque se observan pequeños cambios en marcadores de activación (CD62P) y en la reactividad inmunológica (sHLA-1).<sup>58,59</sup> Parece que una

subpoblación de plaquetas que es más adherente y hemostáticamente activa, es la que se elimina prioritariamente por la filtración y ciertos tipos de filtros conducirían a un daño celular.<sup>60</sup>

Los fallos en los filtros que podrían incluirse dentro de los efectos adversos, son relativamente infrecuentes y difíciles de detectar dentro del control de calidad de rutina. Existen alteraciones de la filtración de hematíes en ciertas enfermedades, como el rasgo drepanocítico, generalmente asociado con filtración más lenta y oclusión del filtro. Aparte de estas dos características, rara vez se describen otras asociadas al fallo del filtro. Recientemente se han descrito la rapidez inusual de filtración (5 min.) y la presencia de aire en el tubular distal al filtro como signos de sospecha de un fallo de la filtración.<sup>61</sup>

### Efectos clínicos de la LR de CS

En los años setenta comenzó a surgir la preocupación de que los leucocitos presentes en los CS podían transmitir el citomegalovirus (CMV), provocar la formación de anticuerpos frente a antígenos leucocitarios humanos (HLA) y producir inmunosupresión. Los anticuerpos, frente a los leucocitos, pueden causar reacciones transfusionales febriles y refractariedad plaquetar; y en los pacientes en diálisis pueden prolongar el tiempo de espera para un adecuado trasplante renal con cross-match negativo. En cambio, los pacientes sometidos a trasplante renal mostraban un mejor resultado si previamente al trasplante habían recibido transfusiones.<sup>62</sup> Esta observación causó preocupación por la posible depresión de la vigilancia inmune contra el cáncer y el aumento

de la susceptibilidad a las infecciones postoperatorias.<sup>63</sup>

Además de la LR de las transfusiones de plaquetas, la filtración de los CH fue restringida a pacientes con alto riesgo de secuelas por anticuerpos anti-HLA y transmisión de CMV, como pueden ser las transfusiones intrauterinas, los neonatos prematuros, los pacientes con necesidades transfusionales de plaquetas y pacientes trasplantados o en espera de serlo.<sup>64</sup> Además, los pacientes que han sufrido previamente dos episodios de reacciones febriles no hemolíticas (FNHTR) deben recibir posteriormente componentes leucorreducidos.

Las situaciones clínicas en las que es necesario extremar las medidas de seguridad transfusional para evitar los efectos adversos relacionados con la presencia de leucocitos alogénicos y sobre las que existe consenso, figuran en la Tabla 3.<sup>48</sup>

La LR mejora varias situaciones clínicas, que incluyen una reducción en el riesgo de transmisión de CMV, una reducción de la incidencia de la refractariedad inmune a plaquetas, una posible reducción en el riesgo transfusional de la transmisión de la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, así como una reducción del riesgo general, tanto de la mortalidad del receptor como de la alteración funcional orgánica, especialmente en cirugía cardíaca y posiblemente en otras categorías. A lo largo del mundo, diecinueve países han implantado la LRU como parte de su política de seguridad transfusional. La principal razón para su no implantación parece ser el costo; sin embargo, la experiencia internacional apoya el concepto de que la LRU es un proceso que mejora la seguridad de los CS alogénicos.<sup>65</sup>

**Tabla 3.** Reacciones adversas relacionadas con la presencia de leucocitos e indicaciones aceptadas de la LR<sup>48</sup>

		LR
Efectos inmunológicos		
Aloinmunización HLA y antígenos leucocitarios		
	Refractariedad a transfusión de componentes	Indicada
	Reacción febril no hemolítica (RFNH)	Indicada
	Rechazo de trasplantes (no hematológicos)	
	Daño pulmonar agudo relacionado con la transfusión (TRALI)	No indicada
	Enfermedad injerto contra huésped	No indicada
	Inmunomodulación asociada a la transfusión (TRIM)	Cuestionable
	Recurrencia del cáncer	
	Infecciones postoperatorias	
Transmisión de infecciones		
Herpes virus		
	Citomegalovirus (CMV)	Indicada
	HTLV-1, HTLV-2	Irrelevante
	Epstein Barr virus (EBV)	Hipotética
	Bacterianas emergentes	Cuestionable
	Transmisión de enfermedad causada por priones	Hipotéticas

## Efectos inmunológicos

### Aloinmunización HLA y antígenos leucocitarios

Es la reacción adversa más frecuente. Los leucocitos de la donación alteran la regulación de los linfocitos T y como consecuencia, se forman anticuerpos dirigidos contra antígenos leucocitarios expresados también en la superficie de glóbulos rojos y en plaquetas del donante, los cuales acaban destruidos.

#### *Refractariedad a transfusión de componentes*

##### **Plaquetas:**

Los pacientes que reciben transfusiones de plaquetas pueden desarrollar refractariedad definida como una falta de incremento plaquetar postransfusional (inferior a  $20 \times 10^9/l$  a las 24 horas de la transfusión). La refractariedad

puede deberse a causas no inmunes y a causas inmunes. Las causas no inmunes incluyen septicemia, fiebre, coagulación intravascular diseminada y esplenomegalia. La etiología no inmunológica es la causa más frecuente de la refractariedad transfusional (75%); y la principal causa de refractariedad plaquetar de origen inmune es la aloinmunización.

El desarrollo de una respuesta inmune a las plaquetas transfundidas depende principalmente de la interacción entre las células presentadoras de antígenos (APC) transfundidas del donante, con las células T del receptor, las que después emiten señales para que las células B del receptor produzcan anticuerpos. Si eliminamos los leucocitos del donante (incluidas las APC: células dendríticas, monocitos y linfocitos B) previamente a la transfusión, se podría reducir la aloinmunización. Las plaque-



tas expresan antígenos HLA de clase I y según la fuerza de los aloanticuerpos, las plaquetas incompatibles transfundidas son destruidas inmediatamente o más tarde. La respuesta inmune a los antígenos HLA extraños es distinta de la respuesta inmune frente a otros antígenos que dependen de la vía indirecta. En la vía indirecta, el antígeno extraño es procesado a péptidos y presentado por antígenos propios HLA de clase II en células presentadoras de antígenos (APC) y activa células T CD4+ propias. A través de la vía directa, las APC que expresan HLA clase II del donante, estimulan directamente células CD4+ del receptor de modo más eficaz que por la vía indirecta.<sup>66</sup> En la sangre, los antígenos HLA de clase II son expresados por células dendríticas, monocitos y células B, pero no por las plaquetas; la eliminación de los glóbulos blancos que expresan la clase II elimina virtualmente la inmunización de la clase I HLA por plaquetas.<sup>67</sup> Además de antígenos HLA extraños (señal 1), son necesarias también moléculas coestimuladoras (señal 2) para una interacción efectiva de la célula T CD4+ con APC. Tras dos semanas de almacenamiento, los leucocitos pierden la expresión de las moléculas coestimuladoras (señal 2), lo cual se traduce en una disminución de la inmunogenicidad.<sup>68</sup> La adición de leucocitos viables y no la de fragmentos no viables, aumenta los anticuerpos contra antígenos HLA de clase I.<sup>69</sup> En un metanálisis de estudios iniciales en el que se compararon plaquetas filtradas y sin filtrar, se observó una disminución del riesgo de refractariedad plaquetar del 68% (95% CI: 0.18 to 0.56).<sup>70</sup> En el estudio TRAP se constataron unos resul-

tados similares (74% de reducción).<sup>85</sup> En ambos estudios, los pacientes que más se beneficiaron fueron aquellos sin embarazos previos.<sup>84</sup> A partir del inicio de la LR plaquetar, la refractariedad a las plaquetas procedentes de donaciones de ST debida a anticuerpos HLA, afecta a menos del 5% de los pacientes.<sup>71</sup>

### Concentrados de hematíes:

La aloinmunización de los glóbulos rojos puede ocurrir hasta en el 40% de las transfusiones y convertir al receptor en refractario a la transfusión de concentrados de hematíes. Está en relación, entre otros factores, con el número de transfusiones, el tiempo y el momento de realizar el estudio.<sup>72</sup> La dosis de leucocitos transfundidos con el nivel crítico es de  $5 \times 10^6$ /l.<sup>73</sup> Existen pocos estudios sobre la inmunización HLA tras la transfusión de CH leucorreducidos. Algunos realizados en pacientes en diálisis<sup>74</sup> y sometidos a cirugía cardíaca<sup>75</sup> no mostraron diferencias ni en la existencia de anticuerpos anti HLA ni de anticuerpos frente a hematíes. Los glóbulos rojos tienen pocos antígenos HLA de clase I, pero quizás su mayor supervivencia en el tiempo que las plaquetas proporciona una mejor oportunidad para la presentación indirecta. La relación entre los leucocitos de los CS y la generación de anticuerpos frente a antígenos de los hematíes no se ha confirmado, ya que estudios sobre este aspecto no han mostrado diferencias antes y después de la filtración.<sup>76</sup>

### Reacción febril no hemolítica (RFNH)

Las RFNH son las reacciones transfusionales más habituales con una frecuencia estimada entre el 0,5%-38%, según

el producto transfundido y el tipo de paciente que recibe la transfusión.<sup>77</sup> La RFNH es una reacción aguda que se produce durante la transfusión del hemoderivado o en las horas sucesivas a su realización<sup>78</sup> y se caracteriza por un incremento de 1 °C de temperatura del receptor, acompañado de frío, tiritona, rigidez y malestar. Suele ser una reacción autolimitada y no compromete la vida del paciente.<sup>92</sup>

Se han relacionado las reacciones febriles que ocurren durante la transfusión con las reacciones inmunológicas secundarias a los leucocitos del donante.<sup>79</sup> La RFNH se ha ligado con citoquinas elaboradas por los leucocitos residuales y con la interacción de anticuerpos anti HLA del receptor y antígenos leucocitarios específicos. Los leucocitos transfundidos destruidos por anticuerpos del receptor generan pirógenos in vivo o citoquinas pirogénicas, tales como IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  y CD40L que son liberadas durante el almacenamiento por los leucocitos y plaquetas.<sup>80,81</sup> El factor asociado a RFNH más significativo es la duración del almacenamiento más que la contaminación leucocitaria.<sup>82</sup> Por otra parte, son los sobrenadantes de plaquetas no leucorreducidas y no las plaquetas por sí mismas los que causan las reacciones febriles.<sup>92,83</sup> Los estudios controlados randomizados sobre el descenso de RFNH y la filtración son escasos (en un estudio de transfusión de plaquetas el descenso de RFNH fue de sólo 11,7%).<sup>84</sup> En los estudios TRAP y VATS no se encontró una disminución de las RFNH ni con las plaquetas ni con los CH leucorreducidos.<sup>85,86</sup> La mayor parte de los estudios reportados en la literatura son retrospectivos y algunos

muestran reducciones del 0,37%-0,19% ( $p=0,0008$ ),<sup>87</sup> o de 0,33%-0,11% con CH; y 0,45%-0,19% con plaquetas ( $p<0,001$ ).<sup>88</sup> Estos estudios, en general, disminuyen las RFNH a más de la mitad, pero hay que tener en cuenta que en los componentes no leucorreducidos no se había eliminado la capa leucoplaquetar. Las RFNH residuales en los componentes leucorreducidos pueden ser debidas a pequeñas cantidades de leucocitos remanentes en el caso de pacientes altamente inmunizados con anticuerpos fuertes o a factores solubles (IL-8, sCD40-ligand), liberados por los leucocitos y plaquetas en las horas previas a la filtración o durante el almacenamiento de las plaquetas.<sup>89,95,90</sup> En el caso de las transfusiones de plaquetas leucorreducidas, la reducción del periodo de almacenamiento –o incluso el lavado– puede disminuir las RFNH y otros efectos adversos.<sup>78</sup> El número mínimo de leucocitos necesarios para producir una reacción febril es desconocido; tampoco se sabe el papel que pueden tener los fragmentos de leucocitos.<sup>91,97</sup>

### *Rechazo de trasplantes (no hematológicos)*

La transfusión sanguínea pretrasplante de componentes no leucorreducidos y la reducción del rechazo del injerto renal han mostrado resultados dispares en distintos estudios: no reducción;<sup>92</sup> mejor supervivencia del injerto al año y a los cinco años;<sup>93</sup> no reducción pero disminución de la incidencia de los rechazos agudos en pacientes con transfusiones de productos con HLA-DR compartido.<sup>94</sup> Al no haber más estudios confirmatorios, no es posible una conclusión basada en la evidencia acerca

del efecto en la tolerancia del injerto por leucocitos alogénicos de los productos sanguíneos.<sup>78</sup>

### Inmunomodulación asociada a la transfusión (TRIM)

Los leucocitos en la sangre donada pueden producir supresión de la función inmune celular en el receptor, efecto conocido como inmunomodulación asociada a la transfusión (TRIM).<sup>95-98</sup> Distintas pruebas indican que las transfusiones alogénicas inducen una inmunosupresión clínica significativa, la cual se ha relacionado con una mejor evolución del trasplante renal,<sup>76</sup> un aumento de la recurrencia del cáncer,<sup>77</sup> un aumento del número de brotes de la enfermedad de Crohn y un aumento de la recurrencia de abortos espontáneos<sup>109</sup> y de la infección bacteriana postoperatoria.<sup>96-103</sup> En un estudio en animales, Opelz observó una mayor supervivencia en trasplantados renales que habían recibido transfusiones alogénicas.<sup>76</sup> Las transfusiones se asocian de una manera dosis-dependiente con complicaciones postoperatorias en la cirugía cardíaca, a diferencia de otro tipo de cirugías. Hay evidencia de que los CH con leucocitos contaminantes aumentan las complicaciones postoperatorias asociadas con mortalidad y la justificación de esta clara asociación con la cirugía cardíaca podría ser la adición de un segundo factor (la presencia de leucocitos) a la respuesta inflamatoria sistémica inducida por el procedimiento de la cirugía extracorpórea.<sup>97</sup>

Basándose en estudios aleatorizados es difícil probar estos dos últimos efectos, aunque en estudios observacionales se ha demostrado el efecto nocivo de

TRIM, lo que justifica la asociación entre los leucocitos alogénicos y el riesgo aumentado, tanto de la mortalidad como de la insuficiencia orgánica en los receptores.<sup>112</sup>

La eficacia de la reducción de leucocitos en la prevención de los efectos adversos relacionados con la TRIM se ha basado fundamentalmente en estudios observacionales y ha sido fuente de importante controversia; los estudios controlados también dan resultados contradictorios.<sup>48</sup>

### *Recurrencia del cáncer*

Existen más de cien estudios clínicos retrospectivos y observacionales acerca del efecto adverso de los leucocitos en la vigilancia inmune del cáncer sin resultados concluyentes.<sup>88</sup> En contraste, algunos estudios controlados en cirugía colorrectal que comparan CH sin BC con CH leucorreducidos, no muestran diferencias en la recurrencia del cáncer durante seguimientos cortos y a cinco años.<sup>98-101</sup> Hay que tener en cuenta que el cáncer colorrectal es un tumor inmunogénicamente débil que disminuye la expresión HLA y la de las moléculas coestimuladoras, permitiendo con ello que células tumorales escapen del ataque inmune, tanto si la respuesta inmune es suprimida o no por las transfusiones.<sup>99</sup> El efecto inmunosupresor de los leucocitos procedentes de los CS en la vigilancia inmune del cáncer no está demostrado para el cáncer colorrectal ni en otras neoplasias, aunque no hay estudios que lleven a excluirlo.<sup>88</sup>

### *Infecciones postoperatorias*

Otro posible efecto inmunosupresor relacionado con los leucocitos es la sus-

ceptibilidad a las infecciones, especialmente durante el periodo postoperatorio. Existen distintos RCT que valoran las infecciones postoperatorias tras recibir componentes leucorreducidos: seis en cirugía colorrectal,<sup>100-103,122,124</sup> seis en cirugía extracorpórea,<sup>101-105,117</sup> y cuatro en un grupo misceláneo de enfermedades.<sup>101-104</sup> Estos estudios son muy variables dados el tipo de enfermos, los centros, la documentación de las infecciones y las distintas proporciones de pacientes transfundidos (del 14 al 95%).

Se han realizado diferentes meta análisis que han llegado a diversas conclusiones: ausencia de asociación entre la LR y las infecciones postoperatorias (mediante análisis de intención de tratamiento)<sup>102</sup> y reducción de las infecciones (restringido para pacientes transfundidos) en un 60% tras la transfusión de CH leucorreducidos.<sup>103</sup>

El papel de los leucocitos en el aumento de las infecciones bacterianas postoperatorias no ha podido comprobarse más allá de toda duda razonable.

### *Estancia hospitalaria*

Existen seis estudios controlados que tienen en cuenta la estancia media hospitalaria pero sólo uno de ellos encuentra una ventaja en aquellos pacientes con componentes leucorreducidos,<sup>104,117,131,133,135,137</sup> los demás autores no describen una reducción significativa ni en unidades de cuidados críticos ni en la estancia hospitalaria global.

### *Mortalidad*

Un estudio randomizado holandés para el estudio del desarrollo de anticuerpos

HLA e infecciones postoperatorias tras la transfusión de CH en cirugía cardíaca, encontró, sorprendentemente, una mayor mortalidad en los pacientes con transfusiones de CH sin leucorreducir.<sup>131</sup> La mortalidad debida al síndrome de fallo multiorgánico (MODS) fue la principal causa de las muertes tras transfusiones no leucorreducidas. Un posterior estudio en cirugía cardíaca de alto riesgo investigó el efecto de la LR en la incidencia de MODS, sin encontrar diferencias.<sup>133</sup> En total, podemos encontrar 12 RCT que investigan la mortalidad: seis en cirugía cardíaca<sup>117,131-135</sup> y seis en otros escenarios clínicos.<sup>104,128,130,136-138</sup> En general, no se han hallado efectos adversos de los leucocitos en las transfusiones en la mortalidad a corto término (OR: 1.14; 95% CI: 0.89 - 1.45), con tan sólo una excepción para la cirugía cardíaca (OR: 1.72; 95% CI: 1.05 - 2.81).<sup>139</sup> Lo que predice la peor evolución no son los mediadores solubles liberados por los leucocitos durante el almacenamiento sino el número de unidades transfundidas.<sup>131,133</sup> Ello sugiere que los pacientes sometidos a cirugías más complejas que requieren más soporte transfusional son más susceptibles a TRIM.

## **Transmisión de infecciones**

Las infecciones víricas que pueden transmitirse a través de los leucocitos son fundamentalmente las causadas por la familia de los Herpes virus: citomegalovirus (CMV), Epstein Barr virus (EBV), Herpes virus tipo 8 (HV-8) y el virus de la leucemia linfoma T humano (HTLV I y II).

## Herpes virus

### CMV

El CMV –también conocido como HHV-5– puede transmitirse por contacto directo con las secreciones humanas (saliva, orina, leche materna, semen, CS celulares) o trasplantes de órganos. La infección en el huésped es de por vida y en el paciente no inmunocomprometido tiene pocas consecuencias clínicas. Tras una primoinfección, el virus permanece latente en los leucocitos (polimorfonucleares y monocitos).<sup>48</sup> Aproximadamente el 50% de los donantes son seropositivos y los productos sanguíneos celulares pueden transmitir el CMV y ser responsables de infecciones primarias, reinfecciones o reactivaciones.<sup>105</sup> En los pacientes inmunodeprimidos y seronegativos, el CMV causa alta morbilidad y mortalidad. A este subgrupo pertenecen embarazadas, fetos, prematuros de menos de 1,2 kg de madres seronegativas, receptores de trasplantes de progenitores hematopoyéticos y de órganos sólidos y pacientes con inmunosupresión de diversos orígenes (quimioterapia o SIDA).<sup>106,107</sup>

Tras la infección, el CMV está latente en las células mononucleadas. Cuando se pierde el control de los linfocitos T tras el tratamiento inmunosupresor, la replicación endógena del CMV puede llevar a enfermedad por CMV, la cual en pacientes inmunodeprimidos puede ser fatal. Fetos, neonatos prematuros y receptores de órganos sólidos o progenitores hematopoyéticos CMV negativos de donantes CMV negativos, son los pacientes más susceptibles de adquirir la infección por CMV transmitida por transfusión (TT-CMV).<sup>144</sup> Además de la

infección TT-CMV, está la posibilidad de que los leucocitos alogénicos de las transfusiones estimulen la replicación endógena en los receptores CMV-seropositivos.

Para la prevención de la infección TT-CMV se deben seleccionar donantes seronegativos (aproximadamente la mitad de la población).<sup>144</sup> El uso de sangre seronegativa no es seguro al 100%; la diferencia absoluta en el porcentaje de infección en diversos estudios entre el grupo que recibe sangre CMV-seronegativa y el grupo control varía de 14 a 32%.<sup>144</sup> La frecuencia de infección por CMV en receptores CMV-seronegativos que recibieron sangre CMV-seronegativa (y órganos y/o progenitores hematopoyéticos) fue de 5 entre 345 (1.45%; 95% CI, 0.54-3.6).<sup>144</sup>

En resumen, el escrutinio serológico es efectivo para disminuir el riesgo de transmisión de CMV en receptores CMV-negativos, aunque la variabilidad de los estudios no permite estimar la verdadera reducción del riesgo relativo con el escrutinio serológico que se estima baja (del orden del 1%).<sup>144</sup> Existen limitaciones del escrutinio, como son la sensibilidad y la especificidad del test, la variabilidad de los métodos y el hecho de que no exista un *gold standard*.<sup>144</sup> También existen limitaciones biológicas como es el periodo ventana, variaciones genotípicas del virus, disminución del nivel de anticuerpos a niveles indetectables tras la infección y la incapacidad de los receptores inmunodeprimidos de generar anticuerpos. Por otra parte, cabe destacar que si un paciente seronegativo se convierte en seropositivo tras una transfusión sanguínea, no significa necesariamente que la seroconversión

sea el resultado de la transfusión (puede tener origen en el injerto trasplantado, nosocomial o en otras fuentes). Por último, no toda la sangre CMV-positiva transmite la infección, bien porque el donante seropositivo no alberga virus infeccioso o por factores del receptor.<sup>144</sup>

La LR, que elimina leucocitos que contienen CMV latentes, es otra opción para disminuir el riesgo de infección TT-CMV. La introducción de la LRU planteaba la cuestión de si continuar con el escrutinio de los donantes era necesario. Una revisión sistemática de los estudios de la LR en neonatos demostró una reducción clínicamente relevante pero no significativa (OR: 0.19; 95% CI: 0.01 a 3.41) de la infección TT-CMV.<sup>108</sup> Sin embargo, estudios llevados a cabo fuera del mundo Occidental no encontraron un beneficio de la LR, probablemente por una alta incidencia de infecciones por CMV adquiridas en la comunidad en estas áreas donde el CMV es más endémico.<sup>109</sup> Un panel de expertos concluyó que la LR disminuye la transmisión de CMV, con una estimación de transmisión muy baja (0%).<sup>144</sup> Una de las ventajas de la LRU es que la disminución de la transmisión por CMV beneficia a todos los transfundidos y no sólo a los incluidos en grupos de riesgo. Otro beneficio es la transferencia pasiva de anticuerpos anti-CMV que puede ser importante en la protección de neonatos contra el CMV adquirido en la comunidad.<sup>144</sup> En teoría, la LR puede no ser eficaz al 100%, un escaso número de leucocitos residuales puede ser suficiente para transmitir la infección y es posible que puedan existir viriones CMV infecciosos en estado libre en plasma.<sup>144</sup>

También se ha estudiado la equivalencia entre la LR y la selección de donantes CMV negativos y parece que ambas aproximaciones son similares. En una revisión sistemática, los componentes CMV negativos y los filtrados reducían la infección por CMV en un 92% y 93% respectivamente. La incidencia de infección con donantes seronegativos fue de 1,45%, mientras que si se filtraban los componentes esta incidencia era del 2,73%.<sup>110</sup> Un meta-análisis de tres estudios randomizados mostró que la transfusión de productos CMV negativos, comparada con la transfusión leucorreducida, se asoció a una reducción del 58% del riesgo de CMV (OR: 0.42; 95% CI: 0.22 a 0.79).<sup>148</sup> Otro estudio que utilizó PCR-CMV, demostró una mayor tasa de conversión (6,5%), con una tasa de transmisión del 0,65%/componente, lo que indica que la LR no proporciona por completo la eliminación de la transmisión de la infección por CMV.<sup>111</sup> Además de fallos técnicos de la filtración, puede estar causado por CMV no ligado a células presente en el plasma el cual se puede detectar en los donantes hasta un año después de la primoinfección.<sup>112</sup> El estudio VATS (Viral Activation Transfusion Study), un estudio randomizado controlado en pacientes anémicos HIV positivos, mostró que la replicación viral de CMV y de HIV no aumentó tras la transfusión de CH no leucorreducidos y, por lo tanto, negaba la teoría de que los leucocitos alogénicos estimulaban la activación de CMV endógeno.<sup>100</sup> En algunos países se aconseja una doble estrategia: donantes seronegativos y componentes filtrados para pacientes de muy alto riesgo –como pueden ser los neonatos de muy bajo

peso o las transfusiones intrauterinas—mientras que los pacientes sometidos a trasplante sólo reciben componentes filtrados.<sup>78</sup>

En conclusión, podríamos decir que aunque la LR ha disminuido notablemente la infección TT-CMV, la cuestión de si es tan segura como la selección de donantes CMV negativos está por dilucidar.<sup>78</sup>

### *HTLV 1 y 2*

Las células diana de los retrovirus HTLV I y II son los linfocitos T y se transmiten sólo a través de los CS celulares; sin embargo, su transmisión transfusional es rara.<sup>113</sup> La transfusión de CS celulares infectados por HTLV es una ruta eficaz de transmisión con una proporción del 15-65% de infección en los receptores.<sup>114</sup> Ante la ausencia de estudios concluyentes la Canadian Coordinating Office for Health Technology Assessment afirmó que la leucodepleción no puede ser utilizada como un sustituto del escrutinio de HTLV-I.<sup>115</sup> Se ha demostrado que el riesgo de transmisión del HTLV-I disminuye con el tiempo de almacenamiento de los componentes celulares y que la infectividad in vitro de los leucocitos disminuye con la filtración.<sup>152</sup> La reducción del HTLV-1 se ha cifrado en 4,9-5,8 logaritmos tras la filtración de los CH, mayor que la reducción de leucocitos probablemente porque los filtros retienen más células mononucleares que granulocitos (el HTLV tiene más tropismo por los linfocitos CD4+ T) y porque la célula infectada aumenta en el filtro el mecanismo de retención por adhesión.<sup>152</sup> Tanto la eliminación como la alteración funcional de los linfocitos pueden prevenir la transmisión por HTLV-I por los componentes filtrados.<sup>152</sup>

### *EBV*

El Epstein–Barr virus es un herpes virus tumorigénico que es ubicuo en la población adulta. En general, el virus es diseminado entre los niños a través de la saliva y su primoinfección se suele demorar hasta la adolescencia, cuando una intensa reacción inmunopatológica conduce a los síntomas de la mononucleosis infecciosa en aproximadamente el 50% de los casos. Más del 90% de la población mundial es portadora de por vida del virus Epstein–Barr como una infección latente de los linfocitos B.<sup>116</sup> La seroprevalencia del EBV es alta, por lo cual se da un muy bajo porcentaje de posibles receptores seronegativos.<sup>117,118</sup> La infección de los linfocitos B de los donantes sanguíneos sanos proporciona una ruta potencial de transmisión, habiéndose documentado la infección tras la infusión de sangre.<sup>119</sup> Las infecciones primarias por EBV por transfusiones, pueden causar problemas en receptores EBV seronegativos.<sup>155</sup> Por lo anteriormente expuesto, en pacientes de alto riesgo la leucodepleción podría estar indicada.<sup>151</sup>

### *Otros virus*

Además del CMV, otros herpes virus, tales como HHV-6, HHV-7 y HHV-8 (o herpes virus relacionado con el sarcoma de Kaposi [KSHV]), se asocian con la contaminación de leucocitos.<sup>151</sup> La relevancia clínica de la transmisión de HHV-6, HHV-7 y HHV-8 a través de la transfusión es desconocida y por lo tanto la posible utilidad de la LR requiere más investigación.<sup>151</sup>

Otros virus susceptibles de transmisión por vía sanguínea son el virus de la hepatitis G, hepatitis D, el virus de Ébola

y el virus del Nilo. La cantidad mínima infectante necesaria es desconocida; estudios epidemiológicos sugieren que puede ser extremadamente baja.

### Bacterias

Los filtros pueden eliminar plaquetas directa e indirectamente. Las bacterias se adhieren a la matriz del filtro y los leucocitos fagocíticos (que ingieren bacterias) son retenidos en el filtro. Sin embargo, la eficacia clínica de la leucodepleción para la eliminación bacteriana es desconocida.<sup>151</sup>

### Protozoos

La toxoplasmosis ha sido transmitida por ST y por transfusiones de granulocitos.<sup>120</sup> Sin embargo y dado que su seroprevalencia es alta, la mayor parte de los receptores de transfusión no están en situación de riesgo.<sup>151</sup> El *Toxoplasma gondii* puede sobrevivir en CS refrigerados<sup>121</sup> y junto con otros agentes asociados a leucocitos su transmisión puede ser minimizada transfundiendo componentes leucorreducidos.<sup>151</sup>

### Transmisión de enfermedad causada por priones

Los priones causan enfermedades neurodegenerativas, tanto en animales como en humanos, tales como el kuru, la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ), la encefalopatía espongiiforme bovina y la nueva variante de ECJ (nvECJ).<sup>122</sup> La proteína alterada relacionada con el prion puede ser encontrada en las amígdalas y en el bazo de pacientes con nvECJ pero no en los de la forma clásica. Por lo tanto, los linfocitos B circulantes

pueden contener al agente responsable del desarrollo de la nvECJ.<sup>123-127</sup> La posibilidad de transmisión de priones a través de la transfusión sanguínea es muy reducida; sólo se han descrito cuatro posibles casos de transfusión sanguínea en Reino Unido.<sup>124,125</sup> La eliminación de los leucocitos de la sangre no es una forma efectiva de prevención ya que las plaquetas y los glóbulos rojos también pueden transmitir priones y la filtración podría liberar priones de las células favoreciendo con ello la infectividad.<sup>48</sup> Dos posibles métodos de prevención serían la implantación de tecnología capaz de eliminar los priones de los componentes y el desarrollo de pruebas de escrutinio.<sup>126</sup>

### Costo-efectividad de la leucodepleción

Existen escasos análisis de costo-efectividad de LR los cuales están basados en estudios observacionales en determinados subgrupos de pacientes. La LR es eficaz en grupos de pacientes, tales como en pacientes CMV-seronegativos, inmunocomprometidos, con aloinjunción HLA, con enfermedades onco-hematológicas que requieran transfusiones frecuentes, con anemias congénitas o adquiridas y con RFNH.<sup>127</sup> En estos pacientes la LR es también costo-efectiva.<sup>128</sup>

La LR de ST se ha asociado con menores costos hospitalarios en cirugía colorrectal<sup>129</sup> y la de plaquetas fue económicamente beneficiosa en el tratamiento de leucemias mieloides agudas y linfomas;<sup>130</sup> en cirugía cardíaca la LR de CH fue costo-efectiva.<sup>131,133</sup> Sólo hay un RCT disponible que calcula el costo



general de la LRU y se observó que no existía un claro beneficio ni un aumento del costo asociado con la LR.<sup>136</sup>

La ampliación de la LR a toda la población de pacientes (LRU) se ha ido introduciendo paulatinamente en diversos países. Han existido diversas razones para dicha implantación, entre ellas la transmisión de la nVEJ. La decisión se tomó inicialmente en el Reino Unido en 1999 como una medida de precaución ante la posibilidad de una epidemia y de una posible transmisión transfusional. Finalmente la epidemia no fue de proporciones masivas en el Reino Unido y tan sólo en Francia se observaron dos casos. Desde un punto de vista médico, si existen argumentos a favor de la LRU fuera del Reino Unido, dichos argumentos no deben dirigirse a la prevención de la transmisión de la nVEJ, una posibilidad muy improbable en un país que no sea el Reino Unido.<sup>169</sup>

El incremento del costo de la LR es aproximadamente de 25€ por unidad (USA: €21–€29; RU: €26; Holanda: €23). Este costo ha disminuido y disminuirá en el futuro por la aparición en el mercado de filtros más baratos.<sup>169</sup>

Desde la perspectiva de los centros y servicios de transfusión, existen claros argumentos económicos a favor de la LRU: reducción en gastos legales, potencial reducción o estabilización de las primas de riesgo de los seguros de responsabilidad civil, más estandarización de procedimientos y simplificación de la logística. Desde la perspectiva del cliente, la LRU es un incremento del costo con unos desconocidos y probablemente bajos beneficios.<sup>169</sup>

La población general espera la máxima seguridad sanguínea (Directiva

Europea 2002/98/EC). Esta esperanza es irracional, pero no se pueden ocultar a la opinión pública las decisiones acerca de la seguridad de las transfusiones sanguíneas.<sup>169</sup>

Existen pocos argumentos médicos o económicos para la introducción de la LRU. El problema central es de índole legal, a lo cual se une un deseo social de riesgo cero. Los centros y servicios de transfusión deben ser garantes de una seguridad transfusional óptima, pero no para todos los riesgos posibles e imaginables.<sup>169</sup>

Con la actual crisis económica, los centros y servicios de transfusión intentan rebajar costos y algunos han considerado pasar de la LRU a la LR selectiva por ser esta última más barata.<sup>131</sup> La LRU es una piedra angular de la transfusión moderna de alta calidad y un medio razonable para evitar las consecuencias de los fallos de identificación del subgrupo de pacientes que actualmente se reconoce como indicación establecida y de aquellos que necesitarán estos productos pero no han sido todavía identificados. Debería ser considerado como la mejor práctica médica el hecho de proporcionar productos leucorreducidos a todos los pacientes, eliminando así cualquier riesgo de que un paciente sea perjudicado si un CS es almacenado sin leucorreducir y transfundido inapropiadamente. Con el respaldo de numerosos estudios que apoyan la LR como un medio para disminuir riesgos futuros y actuales, es problemático reintroducir CS no LR como una manera de controlar el gasto. Tras la introducción de la LRU y con muchos pacientes que han experimentado sus beneficios, la reintroducción de sangre no LR fuerza

la discusión de qué grupos de pacientes deberían exponerse a los mayores riesgos de este tipo de CS.<sup>173</sup>

Incluso dejando aparte el aumento del riesgo, habría que plantearse la efectividad de dicha medida sobre el control del costo. Para ello habría que analizar que en algunos subgrupos es costo-efectiva; además, hay que tener en cuenta el costo del mantenimiento de un doble inventario, de los fallos de adjudicación de unidades, de la investigación de la fiebre en el caso de la RFNH, prolongaciones de estancias (en cuidados críticos y en hospital), el costo y el tiempo del tratamiento de la refractariedad plaquetar o de los pacientes que no se pueden trasplantar por aloinmunización.<sup>173</sup>

## Referencias

1. Aguado MJ, Villegas R, Marqués S, Corbacho B, Navarro JÁ. Leucorreducción universal de productos sanguíneos. Revisión sistemática de la literatura y evaluación económica. Sevilla: Agencia de evaluación de tecnologías Sanitarias de Andalucía; Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo, 2007.
2. Kumar H, Gupta PK, Mishra DK, Sarkar RS, Jaiprakash M. Leucodepletion and Blood Products. *MJAFI* 2006; 62 : 174-177
3. Roback JD, Grossman BJ, Harris T, Hillyer CD. Editores. Technical Manual. AABB. 17th edition. Maryland, USA. 2011
4. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components, 16th ed. Geneva: Council of Europe Press, 2010.
5. Fleming A. A simple method of removing leucocytes from blood. *Br J Exp Path* 1926; 7: 281-6
6. Swank RL. Alteration of blood in storage: Measurement of adhesiveness of 'aging' platelets and leukocytes and their removal by filtration. *N Eng J Med* 1961 265: 728-733
7. Greenwalt TJ, Gajewski M, McKenna JL. A new method for preparing buffy-coat poor blood. *Transfusion* 1962. 2: 221-229.
8. Bruil A, Beugeling T, Feijen A, van Aken WG. The mechanism of leukocyte removal by filtration. *Transfusion Medicine Reviews* 1995;IX: 145-166.
9. Diepenhorst P, Engelfriet CP. Removal of leucocytes from whole blood and erythrocyte suspensions by filterations through cotton wool. V, Results after transfusion of 1,820 units of filtered erythrocytes. *Vox Sang* 1975; 29: 15-8.
10. Gu YJ, van Oeveren W. Activation of plasma components by leukocyte removal filters. *ASAIO J* 1994; 40: 598-601
11. de Vries AJ, Gu D Y J, van Oeveren W. The Clinical Effects and Mechanisms of Leukocyte Depletion Filters During Cardiac Surgery. *Annals of Cardiac Anaesthesia* 2005; 8: 117-124
12. Smit JJ, de Vries AJ, Gu YJ, van Oeveren W. Efficiency and safety of leukocyte filtration Turing cardiopulmonary bypass for cardiac surgery. *Transfus Sci* 1999; 20: 151-165
13. Heggie AJ, Corder JS, Crichton PR. Clinical evaluation of the new Pall leukocyte-depleting blood cardioplegia filter (BC1). *Perfusion* 1998; 13: 17-25
14. Beaujean F, Segier JM, le Forestier C, Duedari N. Leukocyte Depletion of Red Cell Concentrates by Filtration: Influence of Blood Product Temperature. *Vox Sang* 1992; 62: 242-243
15. Sivakumaran M, Norfolk DR, Major KE, Revill JA, Hutchinson RM, Wood JK: A new method to study the efficiency of third generation blood filters. *Br J Haemato.* 1993;l 84:175
16. Sirchia G, Parravicini A, Rebuild P, Bertolini F, Morelati F, Marconi M. Preparation of Leukocyte-Free Platelets for Transfusion by Filtration through Cotton Wool. *Vox Sang.* 1983;4: 115-120.
17. Henschler, R , Rüster, B, Steimle A, Hansmann HL, Walker W, Montag T, Seifried E. Analysis of leukocyte binding to depletion filters: role of passive binding, interaction

- with platelets, and plasma components. *Annals of Hematology* 2005; 84: 538-544
18. Steneker I, Prins HK, Florie M, Loos JA, Biewenga J. Mechanisms of white cell reduction in red cell concentrates by filtration: the effect of the cellular composition of the red cell concentrates. *Transfusion* 1993; 33: 42-50
  19. Bruil A. Leukocyte filtration: Filtration mechanisms and material design. pp 8-9. Thesis 1993. TU Twente, The Netherlands
  20. Steneker I, van Luyn MJ, van Wachem PB, Biewenga J. Electronmicroscopic examination of white cell reduction by four white cell-reduction filters. *Transfusion* 1992; 32:450-457
  21. Wadenvik H, Kutti J, Lindholm A. Leukocyte removal filtration of platelet concentrates. A study of platelet loss using <sup>111</sup>In-labelled platelets and dynamic gamma camera scintigraphy. *Eur J Haematol* 1991; 47: 192-196
  22. Allen SM, Pagano D, Bonser RS. Pall leukocyte depleting filter during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1994; 58: 1560-561
  23. Steneker I, Prins HK, Florie M, Loos JA, Biewenga J. Mechanisms of white cell reduction in red cell concentrates by filtration: the effect of the cellular composition of the red cell concentrates. *Transfusion* 1993; 33: 42-50
  24. Rinder HM, Bonan JL, Rinder CS, Ault KA, Smith BR. Dynamics of leukocyte-platelet adhesion in whole blood. *Blood* 1991; 78: 173-176
  25. Bolling KS, Halldorsson A, Allen BS, Rahman S, Wang T, Kronon M, Feinberg H. Prevention of the hypoxic reoxygenation injury with the use of a leukocyte-depleting filter. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997; 113: 1081-089
  26. Oka S, Maeda K, Nishimura T, Yamawaki N. Mechanism of leukocyte removal with fibers. In: Sekiguchi S, ed. *Clinical application of leukocyte depletion*. Oxford: Blackwell, 1993; 105-18
  27. Ledent E, Berlin G. Factors influencing white cell removal from red cell concentrates by filtration. *Transfusion* 1996;36:714-718
  28. Bordin JO, Heddle NM, Blajchman MA. Biologic effects of leukocytes present in transfused cellular blood products. *Blood*, 1994; 84: 1703-1721.
  29. Jensen LS. Benefits of leukocyte-reduced blood transfusions in surgical patients. *Curr Opin Hematol* 1998;5:376-80.
  30. Sweeney JD. Leukoreduction of blood supply in Rhode Island. *Med Health/Rhode Island* 1998;81:386-91.
  31. Novotny W, van Doom R, Witvliet MD, Claas M. Occurrence of allogeneic HLA and non-HLA antibodies after transfusion of prestorage filtered platelets and red blood cells: A prospective study. *Blood* 1995; 85:1736-1741
  32. Widmann FK. Standards for blood banks and transfusion services. Arlington: American Association of Blood Banks, 1991.
  33. Wenz B: Leukocyte-poor blood. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci*.1906; 24: 1-20
  34. Treleaven JG, McGregor M, Blagdon J. An evaluation of some methods currently available on the production of leukocyte-poor blood. *Clin Lab Haematol* 6: 45-49,1984
  35. Meryman HT: The preparation of red cells depleted of leukocytes - Review and evaluation. *Transfusion*. 1986; 26:101-106
  36. Kientz D, Laforet M, Isola H, Cazenave JP. Leukodepletion of platelet concentrates and plasma collected with haemonetics MCS+ apheresis system. Experience of EFS-Alsace. *Transfus Apheresis Sci* 2001; 25; 55-9.
  37. Karger R, Kretschmer V. Inline-filtration. *Transf Apher Sci*. 2002. 27:137-152
  38. van der Meer P F, Pietersz RN, Nelis JT, Hinlopen B, Dekker WJ, Reesink HW. Six filters for the removal of white cells from red cell concentrates, evaluated at 4 degrees C and/or at room temperature. *Transfusion*, 1999; 39: 265-270.
  39. Buchholz DH, AuBuchon JP, Snyder EL, Kandler R, Piscitelli V, Pickard C, Napychank P, Edberg S. Effects of white cell reduction on the resistance of blood components to bacterial multiplication. *Transfusion* 1994; 34: 852-857.
  40. Rubella P, Dzik W. Multicenter evaluation use of the Nageotte haemocytometer to count low levels of white cells in white cell-reduced platelet products. *Transfusion* 1994; 35: 35-38.
  41. Lutz P, Dzik W. Large-volume hemocytometer chamber for accurate counting of white cells

- (WBCs) in WBC reduced platelets: Validation and application for quality control of WBC-reduced platelets prepared by apheresis and filtration. *Transfusion* 1993; 33: 409-412.
42. Meryman HT, Hornblower M. The preparation of red cells depleted of leukocytes: review and evaluation. *Transfusion* 1986;26:101-106.
  43. Snyder EL. Clinical use of white cell-poor blood components. *Transfusion* 1989;29:568-571.
  44. Ciavarella D, Snyder E. Clinical use of blood transfusion devices. *Transfus Med Rev* 1988;2:95-111.
  45. Dzik S. Leukodepletion blood filters: filter design and mechanisms of leukocyte removal. *Transfus Med Rev* 1993;7:65-77.
  46. Ajeet D. Sharma, Gautam Sreeram, Thomas Erb, Hilary P. Grocott, Thomas F. Slaughter. Leukocyte-Reduced Blood Transfusions: Perioperative Indications, Adverse Effects, and Cost Analysis. *Anesth Analg* 2000;90:1315-1323
  47. Schrezenmeier H, Seifried E. Buffy-coat-derived pooled platelet concentrates and apheresis platelet concentrates: which product type should be preferred? *Vox Sang*. 2010 Jul 1;99:1-15.
  48. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía. Leucorreducción universal de productos sanguíneos. Revisión sistemática de la literatura y evaluación económica. *Boletín de la SETS*; 2006: 60
  49. Blajchman MA, Bardossy L, Carmen RA, Goldman M, Heddle NM, Singal DP. An animal model of allogeneic donor platelet refractoriness: the effect of the time of leukodepletion. *Blood* 1992;79:1371-1375.
  50. Humbert JR, Fermin CD, Winsor EL. Early damage to granulocytes during storage. *Semin Hematol* 1991;28:10-13.
  51. Chalandon Y, Mermillod B, Beris P, Doucet A, Chapuis B, Roux-Lombard P, Dayer JM. Benefit of prestorage leukocyte depletion of single-donor platelet concentrates. *Vox Sang* 1999; 76:27-37
  52. Larsson S, Gullikson H, Paunovic D. Evaluation of a whole-blood WBC-reduction filter that saves platelets: in vitro studies. *Transfusion* 2001;41:534-539
  53. Lozano ML, Pérez Ceballos E, Rivera J, Paunovic D, Candela MJ, Vicente V. Evaluation of a new whole-blood filter that allows preparation of platelet concentrates by platelet-rich plasma methods. *Transfusion* 2003; 43: 1723-1728.
  54. Paunovic D, van der Meer P, Kjeldsen-Kragh J, kekumaki R, Larsson S, Greppi N, Porretti L, Balint B, Trjuljic M, Nedeljkovic N, Simonovic R, Massaro A, Labanca L, Kora S, Riggert J. Multicenter evaluation of a whole-blood filter that saves platelets. *Transfusion* 2004; 44:1197-1203
  55. Smit Sibinga CT, Elia MK. Collection and storage of single donor platelets prepared by elutriation. *Journal of Clinical Apheresis* 1991; 6: 196-197,
  56. Conte R, Bontadini A, Cirillo D, Fruet F. Process control of filtered red blood cells: which counting method? *Transfusion Medicine* 1997; 7: 217-219.
  57. Masse M. Universal leucorreduction of cellular and plasma components: process control and performance of the leucorreduction process. *Transf Clin Biol* 2001;8: 297
  58. Legler TJ, Riggert J, Dove G, Köhler M. Quantitative PCR for counting residual white blood cells in blood products. *Transfus Sci*. 1999 ;20:107-111.
  59. Müller TH, Döscher A, Schunter F, Scott CS. Manual and automated methods for the determination of leukocyte counts at extreme low levels: comparative evaluation of the Nageotte chamber and the Abbott Cell Dyn 3500 analyser. *Transfus Sci*. 1997 Dec;18:505-515.
  60. Dzik S, Moroff G, Dumond LJ. A multicenter study evaluating three methods for counting residual WBC-reduced blood components: Nageotte hemocytometry, flow cytometry and microfluorometry. *Transfusion* 2000; 40: 513-520
  61. Krailadsiri P, Seghatchian J, Rigsby P, Bukasa A, Bashir S. A national quality assessment scheme for counting residual leukocytes in unfixed leukodepleted products: the effect of standardisation and 48 hours storage. *Transf Apheresis Sci*. 2002; 42: 738-746

62. Goodfellow KJ, Storie I, Granger V, Whitby L, Antcliffe J, Reilly JT, Barnett D. Transfusion 2002; 42: 738-746.
63. Moore SB. Hypotensive reactions: are they a new phenomenon? Are they related solely to transfusion of platelets? Does filtration of components play a role?. Transfusion, 1996; 36: 852-853.
64. Sweeney JD, Dupuis M, Mega AP. Hypotensive reactions to red cells filtered at the bedside, but not to those filtered before storage, in patients taking ACE inhibitors. Transfusion, 1998; 38: 410-411.
65. Heddle NM, Soutar RL, O'Hoski PL, Singer J, McBride JA, Ali MA, Kelton JG. A prospective study to determine the frequency and clinical significance of alloimmunization post-transfusion. Brit J Haematol, 1995; 91: 1000-1005.
66. Smith KJ, Sierra ER, Nelson EJ. Histamine, IL-1, and IL-8 increase in packed RBCs stored for 42 days, but not in RBCs leukodepleted pre-storage. Transfusion, 1993; 33: 53S.
67. Sweeney JD, Holme S, Heaton WA, Nelson E. White cell-reduced platelet concentrates prepared by in-line filtration of platelet-rich plasma. Transfusion, 1995; 35: 131-136.
68. Boomgaard MN, Gouwerok CW, Palfenier CH, Pankalla-Blandeau IE, Veldman HA, de Korte D, Loos JA. Pooled platelet concentrates prepared by the platelet-rich-plasma method and filtered with three different filters and stored for 8 days. Vox Sang, 1995; 68: 82-89.
69. Kao KJ, Mickel M, Braine HG, Davis K, Enright H, Gernsheimer T, Gillespie MJ, Kickler TS, Lee EJ, McCullough JJ, McFarland JG, Nemo GJ, Noyes WD, Schiffer CA, Sell K, Slichter SJ, Woodson RD. White cell reduction in platelet concentrates and packed red cells by filtration: a multicenter clinical trial. The Trap Study Group. Transfusion, 1995; 35: 13-19.
70. Weisbach V, Putzo A, Zingsem J, Riewald M, Zimmermann R, Eckstein R, Riess H. Leukocyte depletion and storage of single-donor platelet concentrates. Vox Sang, 1997; 72: 20-25.
71. Heaton W. A. L., Holme S., Smith K., Brecher M. E., Pineda A., AuBuchon J. P., Nelson E. Effects of 3-5 log<sub>10</sub> pre-storage leukocyte depletion on red cell storage and metabolism Brit J of Haematol. 1994; 87: 363-368
72. Ahmed AS, Leheta O, Younes S. In vitro assessment of platelet storage lesion in leucoreduced random donor platelet concentrates. Blood Transfus. 2010; 8: 28-35.
73. Seghatchian J. Platelet storage lesion: an update on the impact of various leukoreduction processes on the biological response modifiers. Transfus Apher Sci. 2006 ;34:125-130.
74. Krailadsari P, Seghatchian MJ. A comparative análisis of 3 types of leukocyte filters using platelet concentrates from the same origin. Platelet Transfusion: Evolving alternative therapeutic products. BBTS blood components sig International Symposium/forum. Ollock Halls, University of Edinburgh, 10 April 1997
75. Wang JK, Sheldon SR, Klein HG, Leitman SF, Stroncek DF. Sporadic Leukocyte Reduction Filter Failure During RBC. Component Preparation: Beware of Rapid Filtration Transfusion . 2008; 48: 1766-1767
76. Opelz G, Sengar DDS, Mickey MR. Effect of blood transfusions on subsequent kidney transplants. Transplant Proc. 1973;5:253-259.
77. Gantt CL. Red blood cells for cancer patients. Lancet. 1981; 2:363.
78. Bilgin Y.M., van de Watering L.M.G., Brand A. Clinical effects of leucoreduction of blood transfusions. The Netherlands Journal Of Medicine. 2011; 69 : 441-450
79. Bassuni WY, Blajchman MA, Al-Moshary MA. Why implement universal leukoreduction? Hematol Oncol Stem Cell Ther. 2008;1:106-123.
80. Liu Z, Sun YK, Xi YP, Maffei A, Reed E, Harris P, Suci-Foca N. Contribution of direct and indirect recognition pathways to T cell alloreactivity. J Exp Med. 1993;177:1643-1650.
81. Semple JW. Leucodepletion and immune response mechanisms. Vox Sang. 2004;87(Suppl 2):136-138.
82. de Wolf J, Westerterp A, Smit Sibinga C, Halie MR. Prestorage Leukocyte depletion is not necessarily required for the prevention of refractoriness to platelet transfusion. Blood. 1995;8:3263-3264.

83. Claas FHJ, Smeenk RJT, Schmidt R, van Steenbrugge GJ, Eernisse JG. Alloimmunization against the MHC antigens after platelet transfusions is due to contaminating leukocytes in the platelet suspension. *Exp Hematol.* 1981;9:84-91.
84. Vamvakas EC. Meta-analysis of randomized controlled trials of the efficacy of white cell reduction in preventing HLA-alloimmunization and refractoriness to random-donor platelet transfusions. *Transf Med Rev.* 1998;12:258-270.
85. Novotny VM, van Doorn R, Witvliet MD, Claas FH, Brand A. Occurrence of allogeneic HLA and non-HLA antibodies after transfusion of prestorage filtered platelets and red blood cells: a prospective study. *Blood.* 1995;85:1736-41.
86. Brand A, van de Watering LM, Claas FH. Clinical significance of leukoreduction of blood components. *Vox Sang.* 2000. 78. Suppl 2: 227-229
87. Chapman JF, forman K, Kelsey P, Knoeles SM, Murphy LM, Williamson LM. Guidelines on the clinical use of leukocyte depleted blood components. *Transf Med.* 1998; 8:59-71
88. Karpinski M, Pochinco D, Dembinski I, Laidlaw W, Zacharias J, Nickerson P. Leukocyte reduction of red blood cell transfusions does not decrease allosensitization rates in potential kidney transplant candidates. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:818-24.
89. van de Watering L, Lorinser J, Versteegh M, Westendorp R, Brand A. Effects of storage time of red blood cell transfusions on the prognosis of coronary artery bypass graft patients. *Transfusion.* 2006;46:1712-1718.
90. Schonewille H, Brand A. Alloimmunization to red blood cell antigens after universal leucodepletion. A regional multicentre retrospective study. *Br J Haematol.* 2005;129:151-156.
91. TRIP rapport 2009, Hemovigilantie.
92. Heddle NM. Universal leukoreduction and acute transfusion reactions: putting the puzzle together. *Transfusion* 2004; 44:1-4
93. Perkins HA, Payne R, Fergusson J, Wood M. Non Haemolytic transfusion reactions. Quantitative effects of blood components with emphasis on isoantigenic incompatibility of leukocytes. *Vox Sang* 1966; 11: 578-600.
94. Muylle L, Peetermans ME. Effect of prestorage leukocyte removal on the cytokine levels in stored platelet concentrates. *Vox Sang.* 1994;66:14-17.
95. Silliman CC, Bjornsen AJ, Wyman TH, Kelher M, Allard J, Bieber S, Voelkel NF. Plasma and lipids from stored platelets cause acute lung injury in an animal model. *Transfusion.* 2003;43:635-640.
96. Heddle NM, Klama LN, Griffin L, Roberts R, Shukia G, Kelton JG. A prospective study to identify risk factors associated with acute reactions to platelet and red cell transfusions. *Transfusion.* 1993;33:794-797.
97. Heddle NM, Klama L, Singer J, Richards G, Fedak P, Walker I, Kelton JG. The role of plasma from platelet concentrates in transfusion reactions. *N Engl J Med.* 1994;331:625-628.
98. Heddle NM, Klama L, Meyer R, Walker I, Boshkov L, Roberts R, Chambers S, Podlosky L, O'Hoski P, Levine M. A randomized controlled trial comparing plasma removal with white cell reduction to prevent reactions to platelets. *Transfusion.* 1999;39:231-238.
99. The Trial to Reduce Alloimmunization to Platelets Study Group. Leukocyte Reduction and Ultraviolet B Irradiation of Platelets to Prevent Alloimmunization and Refractoriness to Platelet Transfusions. *N Engl J Med.* 1997;337:1861-1869.
100. Collier AC, Kalish LA, Busch MP, Gernsheimer T, Assmann SF, Lane TA, Asmuth DM, Lederman MM, Murphy EL, Kumar P, Kelley M, Flanigan TP, McMahon DK, Sacks HS, Kennedy MS, Holland PV. Leukocyte-reduced red blood cell transfusions in patients with anemia and human immunodeficiency virus infection: the Virus Activation Transfusion Study: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2001;285:1592-1601.
101. King KE, Shirey RS, Thoman SK, Bensen-Kennedy D, Tanz WS, Ness PM. Universal leukoreduction decreases the incidence of febrile nonhemolytic transfusion reactions to RBCs. *Transfusion.* 2004;44:25-29.

102. Yazer MH, Podlosky L, Clarke G, Nahirniak SM. The effect of prestorage WBC reduction on the rates of febrile nonhemolytic transfusion reactions to platelet concentrates and RBC. *Transfusion*. 2004; 44: 10-15.
103. Chudziak D, Sireis W, Pfeiffer H-U, Henschler R, Seifried E, Bunig H. Accumulation of soluble inflammatory mediators between blood donation and pre-storage leukocyte depletion. *Vox Sang*. 2009;96:163-166.
104. Khan SY, Keiher MR, Heal JM, Blumberg N, Boshkov LK. Soluble CD40 ligand accumulates in stored blood components, primes neutrophils through CD40, and is a potential cofactor in the development of transfusion-related acute lung-injury. *Blood*. 2006;108:2455-2462.
105. Federowicz I, Barrett BB, Andersen JW, Urashima M, Popovsky MA, Anderson KC. Characterization of reactions after transfusion of cellular blood components that are white cell reduced before storage. *Transfusion*. 1996 ;36:21-28.
106. Sanfilippo FP, Bollinger RR, Macquin JM, Brooks BJ, Koepke JA. A randomised study comparing leukocyte-depleted versus packed red cell transfusions in prospective cadaver renal allograft recipients. *Transfusion*. 1985;25:116-119.
107. Opelz G, Vanrenterghem Y, Kirste G, Gray DW, Horsburgh T, Lachance JG, Largiader F, Lange H, Vujaklija-Stipanovic K, Alvarez-Grande J, Schott W, Hoyer J, Schnuelle P, Descoeudres C, Ruder H, Wujciak T, Schwarz V. Prospective evaluation of pretransplant blood transfusions in cadaver kidney recipients. *Transplantation*. 1997;63:964-967.
108. Hiesse C, Busson M, Buisson C, Farahmand H, Bierling P, Benbunan M, Bedrossian J, Aubert P, Glotz D, Loirat C, Rondeau E, Viron B, Bleux H, Lang P. Multicenter trial of one HLA-DR matched or mismatched blood transfusion prior to cadaveric renal transplantation. *Kidney Int*. 2001;60:341-349.
109. Dellinger EP, Anaya DA. Infectious and immunologic consequences of blood transfusion *Critical Care* 2004, 8(Suppl 2):S18-S23
110. Blajchman MA, Vamvakas EC. Transfusion-related immunomodulation. In: *Practical Transfusion Medicine*, 3rd Edition. Murphy M, Pamphilon D (Eds). Wiley InterScience. 2009: 98-106.
111. Vamvakas EC, Bordin JO, Blajchman MA. Immunomodulatory and proinflammatory effects of allogenic blood transfusion. In: *Rossi's Principles of Transfusion Medicine*, 4th Edition. Simon TL, Snyder EL, Solheim BG, Stowell CP, Strauss RG, Petrides M (Eds). Wiley-Blackwell and AABB Press. 2009.
112. Blajchman MA. Transfusion immunomodulation or TRIM: what does it mean clinically? *Hematology*. 2005;10 Suppl 1:208-214.
113. Vamvakas EC. Pneumonia as a complication of blood product transfusion in the critically ill: transfusion-related immunomodulation (TRIM). *Crit Care Med*. 2006 ;34:S151-9.
114. Dzik WH. Leukoreduction of blood components. *Curr Opin Hematol*. 2002 ;9:521-526.
115. Llewelyn CA, Taylor RS, Todd AA, Stevens W, Murphy MF, Williamson LM; Leucodepletion Study Group. The effect of universal leukoreduction on postoperative infections and length of hospital stay in elective orthopedic and cardiac surgery. *Transfusion*. 2004 ;44:489-500.
116. Sitges-Serra A, Insenser JJ, Membrilla E. Blood transfusions and postoperative infections in patients undergoing elective surgery. *Surg Infect (Larchmt)*. 2006;7 Suppl 2:S33-35.
117. Wallis JP, Chapman CE, Orr KE, Clark SC, Forty JR. Effect of WBC reduction of transfused RBCs on postoperative infection rates in cardiac surgery. *Transfusion*. 2002 ;42:1127-1134.
118. Bilgin YM, van de Watering LM, Eijsman L, Versteegh MI, van Oers MH, Brand A. Is increased mortality associated with post-operative infections after leukocytes containing red blood cell transfusions in cardiac surgery? An extended analysis. *Transfus Med*. 2007 ;17:304-311.
119. Vamvakas EC. Meta-analysis of randomized controlled trials investigating the risk

- of postoperative infection in association with white blood cell-containing allogeneic blood transfusion: the effects of the type of transfused red blood cell product and surgical setting. *Transfus Med Rev.* 2002;16:304-314.
120. Innerhofer P, Klingler A, Klimmer C, Fries D, Nussbaumer W. Risk for postoperative infection after transfusion of white blood cell-filtered allogeneic or autologous blood components in orthopedic patients undergoing primary arthroplasty. *Transfusion.* 2005 ;45:103-110.
  121. Bilgin YM, Brand A. Transfusion-related immunomodulation: a second hit in an inflammatory cascade? *Vox Sang.* 2008 ;95:261-271.
  122. Houbiers JG, Brand A, van de Watering LM, Hermans J, Verwey PJ, Bijnen AB, Pahlplatz P, Eeftinck Schattenkerk M, Wobbles T, de Vries JE, Klementschtsch P, van de Maas AHM. A randomized controlled trial comparing the prognosis of colorectal cancer patients transfused with either leukocyte depleted or buffy coat depleted blood. *Lancet.* 1994;344:573-578.
  123. Lange MM, van Hilten JA, van de Watering LM, Bijnen BA, Roumen RM, Putter H, Brand A, van de Velde CJ. Leucocyte depletion of perioperative blood transfusion does not affect long-term survival and recurrence in patients with gastrointestinal cancer. *Br J Surg.* 2009;96:734-740.
  124. Skanberg J, Lundholm K, Haglind H. Effects of blood transfusion with leucocyte depletion on length of hospital stay, respiratory assistance and survival after curative surgery for colorectal cancer. *Acta Oncologica.* 2007;46:1123-1130.
  125. van de Watering LMG, Brand A, Houbiers JGA, Klein Kranenbarg WM, Hermans J, van de Velde CHJ. Perioperative blood transfusions, with or without allogeneic leukocytes, relate to survival, not to cancer recurrence. *Br J Surg.* 2001;88:267-272.
  126. Momburg F, Degener T, Bacchus E, Moldenhauer G, Hammerling GJ, Moller P. Loss of HLA-ABC and de novo expression of HLA-D in colorectal cancer. *Int J Cancer.* 1986;37:179-184.
  127. Jensen LS, Andersen AJ, Christiansen PM, Hokland P, Juhl CO, Madsen G, Mortensen J, Møller-Nielsen C, Hanberg-Sørensen F, Hokland M. Postoperative infection and natural killer cell function following blood transfusion in patients undergoing elective colorectal surgery. *Br J Surg.* 1992;79:513-516.
  128. Jensen LS, Kissmeyer-Nielsen P, Wolff B, Qvist N. Randomized comparison of leucocyte-depleted versus buffy-coat poor blood transfusion and complications after colorectal surgery. *Lancet.* 1996;34:841-845.
  129. Tartter P, Mohandes K, Azar P, Endres J, Kaplan J, Spivack M. Randomized trial comparing packed red blood cell transfusion with and without leukocyte depletion for gastrointestinal surgery. *Am J Surg.* 1998;176:462-466.
  130. Titlestad IL, Ebbesen LS, Ainsworth AP, Lillevang ST, Qvist N, Georgsen J. Leukocyte-depletion of blood components does not significantly reduce the risk of infectious complications. Results of a double-blinded, randomised study. *Int J Colorectal Disease.* 2001;16:147-153.
  131. van de Watering LM, Hermans J, Houbiers JG, van den Broek PJ, Bouter H, Boer F, Harvey MS, Huysmans HA, Brand A.. Beneficial effects of leukocyte depletion of transfused blood on postoperative complications in patients undergoing cardiac surgery: a randomized clinical trial. *Circulation.* 1998;97:562-568.
  132. Bracey AW, Radovancevic R, Nussmeier NA. Leukocyte-depleted blood in open-heart surgery patients: effects on outcome. *Transfusion.* 2002;42(Suppl):5S.
  133. Bilgin YM, van de Watering LM, Eijssman L, Versteegh MI, Brand R, van Oers MH, Brand A. Double-blind, randomized controlled trial on the effect of leukocyte-depleted erythrocyte transfusions in cardiac valve surgery. *Circulation.* 2004; 109: 2755-2760.
  134. Boshkov L, Chien G, VanWinkle D, Furnary AP, Wu Y, Grunkemeier G, Morris CD. Prestorage leukoreduction of transfused packed red cells is associated with significant ongoing 1-12 month survival benefit cardiac surgery patients. *Blood* 2006;108:578.



135. Connery CP, Toumpoulis IK, Anagnostopoulos CE, Hillel Z, Rahman FG, Katritsis D, Swistel DG. Does leukofiltration reduce pulmonary infections in CABG patients? A prospective, randomised study with early results and mid-term survival. *Acta Cardiol.* 2005;60:285-293.
136. Dzik WH, Anderson JK, O'Neill EM, Assman SF, Kalish LA, Stowell CP. A prospective randomised clinical trial of universal leukoreduction. *Transfusion.* 2002;42:1114-1122.
137. van Hilten JA, van de Watering LM, van Bockel JH, van de Velde CJ, Kievit J, Brand R, van den Hout WB, Geelkerken RH, Roumen RM, Wesselink RM, Koopman-van Gemert AW, Koning J, Brand A.. Effects of transfusion with red cells filtered to remove leukocytes: randomised controlled trial in patients undergoing major surgery. *BMJ.* 2004;328:1281-1284.
138. Nathens AB, Nester TA, Rubenfeld GD, Nirula R, Gernsheimer TB. The effects of leukoreduced blood transfusion on infection risk following injury: a randomized controlled trial. *Shock.* 2006;26:342-347.
139. Vamvakas EC. White-blood-cell-containing alloegenic blood transfusions and postoperative infection and mortality: an updated meta-analysis. *Vox Sang.* 2007;92:224-232
140. Blumberg N, Zhao H, Wang H, Messing S, Heal JM, Lyman GH. The intention-to-treat principle in clinical trials and meta-analysis of leukoreduced blood transfusions in surgical patients. *Transfusion.* 2007;47:573-581.
141. Blumberg N, Heal JM, Gettings KF. WBC reduction of RBC transfusions is associated with a decreased incidence of RBC alloimmunization. *Transfusion.* 2003 Jul;43:945-952.
142. Nielsen HJ, Hammer JH, Krarup AL, Nielsen LM, Reimert CM, Pedersen AN, Dybkjaer E, Partoft S, Alsbjörn B. Prestorage leukocyte filtration may reduce leukocyte-derived bioactive substance accumulation in patients operated for burn trauma. *Burns.* 1999;25:162-170.
143. Preiksaitis JK, Sandhu J, Strautman M. The risk of transfusion-acquired cytomegalovirus (CMV) infection in seronegative solid organ transplant recipients receiving non-leukoreduced blood products not screened for CMV antibody (1984-1996): Experience at a single Canadian center. *Transfusion.* 2002; 42: 396-402.
144. Laupacis A, Brown J, Costello B, Delage G, Freedman J, Hume H, King S, Kleinman S, Mazzulli T, Wells G. Prevention of post-transfusion CMV in the era of universal WBC reduction: a consensus statement. *Transfusion* 2001;41:560-569
145. Blajchman MA, Goldman M, Freedman JJ, Sher GD. Proceedings of a Consensus Conference: Prevention of Post-transfusion CMV in the Era of Universal Leukoreduction. *Transfus Med Rev* 2001;15:1-20
146. Ferguson D, Hebert PC, Barrington KJ, Shapiro SH. Effectiveness of WBC reduction in neonates: what is the evidence of benefit. *Transfusion.* 2002;42:159-165.
147. Ohto H, Ujiie N, Hirai K. Lack of difference of cytomegalovirus transmission via the transfusion of filtered-irradiated and nonfilteredirradiated blood to newborn infants in an endemic area. *Transfusion.* 1999;39:201-205.
148. Vamvakas EC. Is white blood cell reduction equivalent to antibody screening in preventing transmission of cytomegalovirus by transfusion? A review of the literature and meta-analysis. *Transfus Med Rev.* 2005;19:181-199.
149. Wu Y, Zou S, Cable R, Dorsey K, Tang Y, Hapip CA, Melmed R, Trouern-Trend J, Wang JH, Champion M, Fang C, Dodd R. Direct assessment of cytomegalovirus transfusion-transmitted risks after universal leukoreduction. *Transfusion.* 2010;50:776-786.
150. Ziemann M, Unmack A, Steppat D, Juhl D, Gorg S, Hennig BH. The natural course of primary cytomegalovirus infection in blood donors. *Vox Sang.* 2010;99:24-33.
151. Chu RW. Leukocytes in blood transfusion: adverse effects and their prevention. *The Hong Kong Medical Journal* 1999;5:280-284
152. Césaire R, Kérob-Bauchet B, Bourdonné O, Maier H, Amar KO, Halbout P, Dehée

- A, Désiré N, Dantin F, Béra O, Lézin A. Evaluation of HTLV-I removal by filtration of blood cell components in a routine setting. *Transfusion*. 2004 ;44:42-48.
153. Canadian Coordinating Office for Health Technology Assessment. Leukoreduction: the techniques used, their effectiveness and costs. Ottawa: Canadian Coordinating Office for Health Technology Assessment (CCOHTA); 1998.
  154. Macsween KF, Crawford DH. Epstein-Barr virus—recent advances *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 131–140
  155. Alifieri C, Tanner J, Carpenter L, Perpète C, Savoie A, Paradis K, Delage G, Joncas J. Epstein–Barr virus transmission from a blood donor to an organ transplant recipient with recovery of the same virus strain from the recipient’s blood and oropharynx. *Blood* 1996;87:812-7.
  156. Amir Moghaddam, Joachim Koch, Bethany Annis, and Fred Wang. Infection of Human B Lymphocytes with Lymphocryptoviruses Related to Epstein-Barr Virus *J Virol*. 1998 April; 72: 3205–3212.
  157. Gerber P, Walsh JH, Rosenblum EN, Purcell RH. Association of EB-virus infection with the postperfusion syndrome. *Lancet* 1969; 1: 593–596.
  158. Siegel SE, Lunde MN, Gelderman AH, Halterman RH, Brown JA, Levine AS, Graw RG Jr. Transmission of toxoplasmosis by leukocyte transfusion. *Blood* 1971;37:388-94.
  159. McCabe JR, Remington JS. Toxoplasmosis: The time has come. *N Engl J Med* 1988;318:313-315.
  160. Prusiner SB. The prion diseases. *Scientific American* 1995;272:48-57.
  161. Brown P. Can Creutzfeldt-Jakob disease be transmitted by transfusion. *Curr Opin Hematol* 1995;2:472-477.
  162. Collinge J, Rossor M. A new variant of Prion disease. *Lancet* 1996;347:1996-1997.
  163. Esmonde TF, Will RG, Slattery JM, Knight R, Harries-Jones R, de Silva R, Matthews WB. Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion. *Lancet* 1993;341:205-207.
  164. Klein R, Dumble LJ. Transmission of Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion. *Lancet* 1993;341:768.
  165. Will RG, Ironside JW, Zeidler M, Cousens SN, Estibeiro K, Alperovitch A, Poser S, Pocchiarri M, Hofman A, Smith PG. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the United Kingdom. *Lancet* 1996;347:921-925.
  166. Llewelyn CA, Hewitt PE, Knight RS, Amar K, Cousens S, Mackenzie J, Will RG. Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion. *Lancet*. 2004 Feb 7;363:417-421.
  167. Chohan G, Llewelyn C, Mackenzie J, Cousens S, Kennedy A, Will R, Hewitt P. Variant Creutzfeldt-Jakob disease in a transfusion recipient: coincidence or cause? *Transfusion*. 2010 May;50:1003-1006.
  168. Dodd RY. Prions and precautions: be careful for what you ask. *Transfusion* 2010;50:956-958.
  169. Cleemput I, Leys M, Ramaekers D, Bonneux L. Balancing evidence and public opinion in health technology assessments: The case of leukoreduction *International Journal of Technology Assessment in Health Care*, 22:4, 403–407.
  170. Nightingale SD. Universal WBC reduction. *Transfusion*. 2001;41:1306-1309.
  171. Jensen LS, Grunnet N, Hanberg-Sorensen F, Jorgensen J. Cost-effectiveness of blood transfusion and white cell reduction in elective colorectal surgery. *Transfusion*. 1995;35:719-722.
  172. Blumberg N, Heal JM, Kirkley SA, DiPersio JF, Rapoport AP, Rowe JM. Leukodepleted-ABO-identical blood components in the treatment of hematologic malignancies: a cost analysis. *Am J Hematology*. 1995;48:108-115.
  173. Rosenbaum L, Tomasulo P, Lipton KS, Ness P. The reintroduction of nonleukoreduced blood: would patients and clinicians agree? *Transfusion*. 2011 Dec;51:2739-2743.

# Plasma para fraccionamiento

CATALINA MASSA\*

## Resumen

El plasma se utiliza como material de partida para la elaboración industrial de medicamentos biológicos estratégicos para el tratamiento de distintas enfermedades. Las materias primas destinadas a la producción de medicamentos derivados de la sangre deben responder a estrictos requisitos de calidad que garanticen la eficacia, seguridad, calidad y trazabilidad de los productos finales obtenidos. Se describen las especificaciones correspondientes a la obtención de plasma a partir de sangre entera y de aféresis, y se considera la clasificación de los distintos tipos de plasma en función de las condiciones de obtención y conservación del mismo. Se definen estrategias dirigidas a aumentar la seguridad de la materia prima destinada a

\* *Magíster en Ciencias Químicas y en Ingeniería en Calidad. Directora Ejecutiva. Laboratorio de Hemoderivados. Universidad Nacional de Córdoba. República Argentina.*

fraccionamiento proteico y por último se plantean los requisitos del Sistema de Aseguramiento de Calidad y principios de Buenas Prácticas de Manufactura, a aplicar en los centros proveedores de plasma.

## Introducción

Gran parte del plasma obtenido en los establecimientos de colecta a partir de donaciones de sangre entera o por la técnica de plasmaféresis, es destinado a fraccionamiento proteico para la elaboración de especialidades medicinales industriales, tales como albúmina sérica humana, gamaglobulinas poliespecíficas, gamaglobulinas hiperinmunes y factores de coagulación, entre otros. Dado que la calidad final de los productos farmacéuticos obtenidos depende en gran medida de la calidad de la materia prima de partida, es imprescindible garantizar la calidad, seguridad y trazabilidad de la misma, en cada una de las etapas del proceso de obtención del plasma: selección del donante, identificación, extracción, procesamiento, control, almacenamiento y distribución.

El plasma destinado a materia prima de medicamentos hemoderivados debe responder a requisitos regulatorios específicos, exigidos por las autoridades nacionales o descritos en documentos de referencia oficial. Su no cumplimiento inhabilita para la aplicación del plasma a fraccionamiento industrial.

## Selección de donantes

Los criterios de selección que deben cumplir los donantes cuyo plasma es destinado a fraccionamiento proteico,

no difieren de los requisitos exigidos a donantes de sangre, cuyos componentes son destinados a transfusión directa.

El plasma debe provenir de donantes voluntarios sanos, su historia clínica, examen médico y estudios de laboratorio no deben presentar riesgos de transmisión de agentes infecciosos a través del mismo o de sus derivados industriales.

Los requisitos de selección son definidos por la autoridad regulatoria nacional del país donde el plasma es colectado. El fraccionador puede exigir requisitos complementarios con el fin de garantizar el rendimiento, la calidad, la eficacia y la seguridad de los productos finales a obtener, principalmente en función de los datos epidemiológicos de la región.

Existen regulaciones y recomendaciones internacionales de referencia sobre los criterios de selección y exclusión de donantes de sangre y de plasma.<sup>1,2</sup> Dichos criterios deben estar dirigidos a proteger la salud, tanto del donante de sangre o plasma como la del receptor de los productos sanguíneos y sus derivados. Se basan principalmente en la definición del tipo de donante a seleccionar, la provisión de información completa al mismo sobre los riesgos de transmisión de agentes infecciosos a través de la sangre, sus componentes y derivados, y las conductas y factores que aumentan dicho riesgo. Además, el procedimiento debe incluir la evaluación del estado de salud del donante a través de examen físico, estudios de laboratorio y análisis de antecedentes clínicos, y promover la detección a través del cuestionario predonación y entrevista confidencial, de la presencia de factores o conductas de riesgo de transmisión de

enfermedades transmisibles por la sangre y sus derivados.

En cuanto al tipo de donante a seleccionar, se debe garantizar que se trate de donantes sanos, voluntarios y no remunerados e impulsar el reclutamiento de donantes regulares, ya que hay evidencias de que este tipo de donantes presentan menor riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas.<sup>3,4</sup> En algunos países, para aumentar la seguridad de los donantes regulares se mantiene el plasma en cuarentena hasta la próxima donación de dicho donante, momento en el cual se repiten los ensayos de laboratorio y si los mismos dan resultados no reactivos se libera la unidad donada anteriormente. En consecuencia, y con base en lo anteriormente mencionado, los donantes de elección para el fraccionamiento proteico son aquellos que asisten con regularidad a donar sangre o plasma. En países donde aun no se ha logrado implementar un sistema de donación basado en donantes repetidos o regulares de sangre o plasma y se disponga de plasma proveniente de donantes familiares, en acuerdo con la autoridad regulatoria y el fraccionador del plasma, el mismo puede ser destinado a la producción de medicamentos hemoderivados profundizando en la evaluación de la presencia de conductas y factores de riesgo. Es importante resaltar que dada la mayor seguridad de los donantes regulares respecto a los de reemplazo, es imprescindible que los países trabajen para avanzar en la seguridad de los productos sanguíneos con la implementación de sistemas de donación basados en donantes regulares.

Respecto a la selección de donantes regulares de plasma por aféresis, los

requisitos deben incluir, además de los considerados para donantes de sangre entera, la determinación de proteínas totales y la concentración de albúmina e inmunoglobulina G en suero o plasma, con una periodicidad predefinida en función de la frecuencia de donación.

## Colecta

El plasma destinado a fraccionamiento proteico se puede obtener a través de la colecta de sangre entera y posterior separación del mismo de los elementos formes, o por extracción exclusiva de plasma con la técnica de aféresis.

Ambos procedimientos deben estar diseñados de manera tal de prevenir la contaminación con microorganismos y realizarse a través de procedimientos validados y estandarizados que permitan obtener resultados reproducibles en cuanto a la calidad del plasma finalmente obtenido. La calidad óptima del plasma está dada por la obtención de un producto con mínimo contenido de células sanguíneas, máxima actividad de Factor VIII y alto contenido proteico.

El método de colecta de plasma de elección para procesamiento industrial es la plasmáfesis, ya que esta técnica permite una mayor frecuencia de donación y la extracción de mayor volumen de plasma por sesión. Mientras el volumen medio de plasma obtenido a partir de una unidad de sangre entera es de 200 a 280 ml, a partir de una donación de plasma por aféresis es posible extraer entre 450 y 900 ml de este componente, lo cual depende de las características físicas del donante y de las regulaciones nacionales<sup>5,6</sup>

Además, esta metodología permite una rápida separación del plasma de los elementos celulares de la sangre y posibilita el congelamiento inmediato de la unidad, una vez finalizada la extracción, lo que garantiza una mejor preservación de los productos lábiles como los factores de coagulación. Las principales diferencias entre ambos tipos de plasma se encuentran descritas en la Tabla 1.

### Preparación y conservación

Tanto el método de colecta como las condiciones de preparación y conservación del plasma afectan la calidad final del mismo, en relación con la preservación de los factores de coagulación.

El procedimiento de preparación del plasma se basa en la separación de este componente de los elementos formes y su posterior congelamiento y conservación.

### Factores que afectan la calidad del plasma:

- *Tiempo y agitación durante el proceso de extracción:* el tiempo de extracción de la sangre debe ser lo más reducido posible, con el fin de evitar la activación de la cascada de

la coagulación. Este tiempo no debe superar los quince minutos, para mantener la agitación constante de la unidad para asegurar la mezcla adecuada de la sangre con el anticoagulante.<sup>7</sup>

- En los procedimientos de obtención de plasma por aféresis automáticas, la sangre se extrae del donante mezclada con anticoagulante, pasa luego a través de un separador celular (filtración, centrifugación o ambos), y posteriormente las células son retornadas al donante.<sup>8,9</sup> El tiempo que tarda la extracción depende del volumen de plasma colectado, el cual se calcula en función del peso y hematocrito del donante.
- *Temperatura de almacenamiento de la sangre entera:* en el caso del plasma destinado a fraccionamiento proteico se recomienda el enfriamiento inmediato de la sangre, una vez finalizada la extracción, a una temperatura de 22°C +/- 2°C, con el fin de preservar la actividad del Factor VIII. No se recomienda la conservación de las unidades de sangre a 4°C si el plasma se va a utilizar para la producción industrial de factor VIII<sup>10-14</sup>.

**Tabla 1.** Diferencias entre el plasma recuperado de sangre entera y el obtenido por aféresis.

	Plasma recuperado de sangre entera	Plasma por aféresis
<b>Volumen (ml)</b>	200 - 280 <sup>1</sup>	450 -900 <sup>2</sup>
<b>Concentración de proteínas (g%)<sup>3</sup></b>	≥ 5	≥ 5
<b>Actividad Factor VIII (UI/ml)<sup>4</sup></b>	≥ 0.7	≥ 0.7
<b>Frecuencia de donación</b>	Entre 3 y 6 veces al año, según regulación nacional	Mayor frecuencia, según regulación nacional

1. Calculado a partir de unidad de sangre estándar de 450 ± 10 ml, colectados en 60 -70 ml de anticoagulante.
2. Se considera que no debe superar el 16% del volumen sanguíneo estimado para el donante<sup>6</sup>.
3. En general el plasma obtenido de sangre entera tiene mayor concentración proteica.
4. El plasma obtenido por aféresis tiene mayor actividad de Factor VIII.

- *Tiempo que transcurre entre la colecta de sangre entera y la separación del plasma:* se ha observado que cuanto menor es el tiempo entre la finalización de la extracción de la sangre hasta la separación del plasma, menor es la pérdida de actividad del Factor VIII. Para garantizar su máximo rendimiento, el tiempo entre la colecta y la separación del plasma no deberá superar las 6-8 horas, ya que hay evidencia de que la sangre almacenada 24 horas a 22°C pierde entre 15% y 20% de la actividad del Factor VIII inicial.<sup>10,12</sup>
- *Condiciones de congelamiento de la unidad de plasma:* la farmacopea europea<sup>15</sup> establece que el plasma destinado a la producción industrial de proteínas lábiles (Factor VIII) debe ser congelado rápidamente dentro de las veinticuatro horas de colectado, a una temperatura de -30°C, en condiciones validadas para asegurar que el corazón de la unidad alcanza los -25°C o menos, dentro de las doce horas de inicio de su congelamiento; y que para la producción de proteínas estables (albúmina e inmunoglobulinas) debe congelarse a una temperatura de -20 °C o menor, dentro de las 72 horas si se trata de plasma de aféresis, y dentro de las veinticuatro horas si es plasma recuperado de sangre entera. Se ha observado que se obtienen mejores resultados cuando se acorta el tiempo entre la colecta y el congelamiento.<sup>11,16,17</sup> El plasma congelado de manera inmediata, una vez separado de los elementos celulares de la sangre o una vez finalizado el procedimiento de extracción en el caso de

colecta por aféresis, permite obtener mayor rendimiento proteico durante el fraccionamiento, y preservar el Factor VIII. Cabe mencionar que el punto crítico en la preservación de la actividad de este factor es la velocidad de congelamiento del plasma. Se ha demostrado que la pérdida de actividad de Factor VIII es mayor cuando el tiempo de congelamiento es superior a una hora. Para obtener un máximo rendimiento de este factor, el plasma se debe congelar a temperaturas iguales o menores a -30°C. El procedimiento de congelamiento óptimo debe estar dirigido a obtener una rápida velocidad de enfriamiento, de tal manera que el corazón de la unidad obtenga una temperatura igual o menor a -30°C dentro de los 60 minutos<sup>7</sup>. La experiencia muestra que con los equipos de congelamiento normalmente usados en los establecimientos de sangre, los cuales trabajan a una temperatura de  $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ , este proceso puede tardar varias horas. Por lo tanto, para obtener plasma con una óptima actividad de Factor VIII normalmente se requieren equipos de frío que alcancen temperaturas significativamente más bajas (entre  $-60^\circ\text{C}$  y  $-80^\circ\text{C}$ ). El procedimiento de congelamiento debe garantizar la máxima exposición de la unidad de plasma a la fuente de frío, extendiendo la superficie plana de la bolsa sobre la superficie del equipo o por inmersión en un entorno a muy bajas temperaturas.<sup>7</sup> Se ha observado que no se obtienen resultados satisfactorios cuando se ponen a congelar simultáneamente varias unidades de

plasma unas sobre otras en un freezer de  $-20^{\circ}\text{C}$ , al cual se van introduciendo diariamente nuevas unidades. El proceso de congelamiento debe ser controlado unidad por unidad y no por lotes de unidades. Otro método que permite alcanzar condiciones óptimas de congelamiento es el que brindan los equipos llamados “blast freezers”, el cual se basa en someter las unidades de plasma separadas entre sí, a una corriente de aire frío a la temperatura más baja que resista el plástico de la bolsa que contiene el plasma.<sup>1</sup>

El procedimiento utilizado para el congelamiento del plasma debe estar validado, para demostrar que las unidades congeladas alcanzan la temperatura requerida por el fraccionador y se preserva el nivel de la actividad de Factor VIII.

- *Temperatura y tiempo de almacenamiento:* una vez alcanzado el congelamiento completo de la unidad de plasma, se deben evitar las fluctuaciones de temperatura durante la conservación de la misma, se debe mantener la unidad completamente congelada durante todo el tiempo de almacenamiento. El periodo de conservación aceptado debe establecerse en función de la preservación de la actividad del Factor VIII, lo cual está directamente relacionado con la temperatura y las condiciones de almacenamiento. Generalmente se obtienen resultados satisfactorios en relación con la actividad de componentes lábiles cuando se conserva una temperatura de almacenamiento constante, igual o menor a  $-20^{\circ}\text{C}$ .<sup>18</sup> Se debe monitorear y registrar el mantenimiento de las condiciones

de almacenamiento durante todo el período de conservación del plasma. Se deben definir las medidas a tomar en caso de falla de los equipos de frío o en el suministro de electricidad, analizando, en conjunto con el fraccionador, y en función de la verificación de los registros correspondientes, el impacto sobre la calidad del plasma.

Se deben validar y estandarizar tanto el método de congelamiento utilizado como la temperatura y el tiempo de almacenamiento especificados.<sup>5</sup> En todos los casos se deberán aceptar las condiciones de preparación y almacenamiento del plasma sugeridas por el fraccionador y aprobadas por la autoridad regulatoria nacional.

## Tipos de plasma

El plasma de elección para fraccionamiento proteico es el plasma fresco congelado colectado por aféresis y congelado, dentro de un tiempo y una temperatura que permitan mantener adecuadamente los factores lábiles de la coagulación en estado funcional.<sup>5</sup> El plasma usado como materia prima para fraccionamiento debe cumplir con las especificaciones requeridas por la autoridad regulatoria correspondiente, o descritas en el documento tomado como referencia regulatoria.

La clasificación de los tipos de plasma para fraccionamiento depende fundamentalmente de la clasificación propuesta por cada fraccionador, con base en las regulaciones de cada país y el rendimiento comprobado a través del proceso de fraccionamiento proteico.



Esta clasificación normalmente considera el método de obtención del plasma, el contenido de factor VIII, el intervalo entre la colecta y el congelamiento y la temperatura de congelamiento y almacenamiento.

**La clasificación básica considera cuatro tipos de plasma:**

- **Plasma apto para la producción de proteínas estables (albúmina e inmunoglobulinas) y componentes lábiles (Factor VIII)**, el cual debe cumplir los siguientes requisitos:
  - Método de obtención: aféresis
  - Contenido de Factor VIII  $\geq 0.7$  UI/ml
  - Unidad separada y congelada dentro de las 6 – 8 h de colectada
  - Temperatura de congelamiento  $\leq -30^{\circ}\text{C}$
- **Plasma apto para la producción de proteínas estables y bajo rendimiento de componentes lábiles (Factor VIII)**, el cual debe cumplir los siguientes requisitos:
  - Método de obtención: plasma recuperado de sangre entera.
  - Contenido de Factor VIII  $\geq 0.7$  UI/ml.
  - Unidad separada y congelada dentro de las 6 – 8 h de colectada.
  - Temperatura de congelamiento  $\leq -30^{\circ}\text{C}$ .
- **Plasma apto para la producción de proteínas estables**, el cual debe cumplir los siguientes requisitos:
  - Método de obtención: plasma recuperado de sangre entera.
  - Unidad separada y congelada posterior a las 8 h y hasta las 72 h de colectada.
  - Temperatura de congelamiento  $\leq -20^{\circ}\text{C}$ .

- Contenido de Factor VIII  $< 0.7$  UI/ml.
- En todos los casos la temperatura de almacenamiento deberá ser  $\leq -20^{\circ}\text{C}$

- **Plasma hiperinmune**, corresponde a plasma con alto título de anticuerpos contra determinados agentes infecciosos. Está destinado a la elaboración de inmunoglobulinas específicas tales como gamaglobulinas anti Rho, anti hepatitis B y antitetánica, entre otras.

Este tipo de plasma normalmente es obtenido a partir de poblaciones de donantes con alto título anticuerpos, como resultado de la inmunización profiláctica previa para algún agente infeccioso, o a través del screening del título de anticuerpos de las unidades individuales, o por programas de inmunización activa de planteles de donantes.

Las unidades de plasma hiperinmune deben cumplir con los requerimientos establecidos para plasma destinado a producción de proteínas estables y además responder a una potencia mínima de anticuerpos especificada por el fraccionador.

Cabe mencionar que la clasificación del plasma utilizado para la elaboración industrial de medicamentos varía según la experiencia de los diferentes fraccionadores y las regulaciones nacionales respecto a la definición de las distintas categorías de plasma.

## Mantenimiento de la cadena de frío

Se debe garantizar el mantenimiento de la cadena de frío durante el congelamiento, almacenamiento, transporte

y conservación del mismo por el fraccionador.

La farmacopea europea<sup>15</sup> indica que el plasma debe ser almacenado y transportado a una temperatura de -20°C o menor, y que si por razones accidentales se supera esta temperatura en una o más oportunidades durante el almacenamiento o transporte, el mismo continúa siendo apto para fraccionamiento si se respetan las siguientes premisas:

- El período durante el cual la temperatura fue mayor a -20°C no supera las 72 h.
- La temperatura no superó los -15°C en más de una ocasión.
- La temperatura en ningún caso superó los -5°C.

### Requisitos de calidad del plasma para fraccionamiento

En general, todos los fraccionadores coinciden en que toda unidad de plasma utilizada para fraccionamiento proteico debe cumplir, como mínimo, los siguientes requisitos generales:

- *Origen.* El plasma debe ser colectado en instituciones habilitadas por la autoridad regulatoria nacional y debe provenir de donantes voluntarios sanos.
- *Envase:* La sangre o el plasma deben ser colectados en un sistema de bolsas de plástico estéril, o de otro material aprobado para tal fin, a través de un circuito cerrado herméticamente. El envase utilizado debe poseer número de lote, con el fin de permitir la trazabilidad a cada unidad de plasma y estar aprobado por la autoridad regulatoria nacional.

- *Rotulado:* Las unidades deben ser rotuladas con los siguientes datos:
  - ✓ Identificación del establecimiento proveedor del plasma.
  - ✓ Identificación del donante: debe haber un sistema seguro de identificación del donante, bolsa principal, bolsas satélites, muestras y documentación.
  - ✓ Fecha de extracción.
  - ✓ Nombre del producto.
  - ✓ Fecha de vencimiento.
  - ✓ Temperatura promedio de almacenamiento.
  - ✓ Volumen o peso
  - ✓ Nombre y volumen del anticoagulante.
  - ✓ En función de las regulaciones nacionales y de los requerimientos del fraccionador se podrá solicitar el agregado al rótulo de datos adicionales como el resultado del screening serológico, entre otros.
- *Control serológico:* Cada unidad de plasma debe ser enviada al fraccionador acompañada del certificado de controles serológicos no reactivos para el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg), anticuerpos contra el virus de la hepatitis C (anti HCV) y anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia humana 1 y 2 (anti HIV 1 y 2).<sup>15</sup> Las determinaciones correspondientes deben llevarse a cabo a través de métodos de última generación, de sensibilidad y especificidad adecuadas con uso de reactivos aprobados por la autoridad regulatoria nacional y aceptados por el fraccionador. Algunos fraccionadores procesan unidades de plasma reactivas para anti-core de virus de hepatitis B. En

- este caso se deberá certificar además que las mismas son no reactivas para HBsAg y poseen un título mínimo de anticuerpos anti-HBs, el cual generalmente es determinado por el fraccionador y se encuentra entre 50 y 100 UI/l.<sup>1</sup>
- *Contenido proteico*: se deberá garantizar en cada unidad de plasma un contenido proteico mínimo, que por lo general no deberá ser menor de 5 g%.<sup>15</sup>
  - *Aspecto*: debe corresponder a líquido límpido o ligeramente turbio con coloración que va desde amarillo claro a verdoso.<sup>15</sup>
  - *Actividad de Factor VIII*: en caso que el plasma sea destinado a la producción de este factor se deberá garantizar un contenido mínimo del mismo no menor a 0.7 UI/ml. Algunos fraccionadores aceptan plasma con menor actividad de factor VIII, y la consecuente reducción en el rendimiento del producto final obtenido.<sup>15</sup>
  - *Anticuerpos específicos*: en caso que el plasma sea destinado a la producción de gamaglobulinas específicas, se debe garantizar un título mínimo del anticuerpo correspondiente, generalmente especificado por el fraccionador.
  - *Integridad*: las unidades no deben presentar derrame de plasma antes del congelamiento y posterior a su descongelado.
  - *Células sanguíneas*: el contenido de células de la sangre (leucocitos, plaquetas) debe ser lo más reducido posible, y respetar los valores máximos estipulados por el fraccionador o la autoridad regulatoria.
  - *Lípidos*: ausencia de inspección visual que se verifica por el aspecto opalescente o turbio.
  - *Hemoglobina/hemólisis*: ausencia a inspección visual. Algunos fraccionadores especifican el valor máximo de hemoglobina aceptado.
  - *Documentación*: las unidades deberán estar acompañadas de un documento que certifique los datos de identificación, el origen y la calidad de las mismas.
  - *Buenas Prácticas de Manufactura (BMP)*: se deberá demostrar el cumplimiento de BPM durante todo el proceso de obtención y control del plasma, incluidas la relación adecuada plasma/solución anticoagulante y tiempo y condiciones de mezclado durante la colecta de la sangre.
- El plasma proveniente de pacientes sometidos a plasmaféresis terapéutica no reúne los requisitos de plasma para fraccionamiento porque no es obtenido a partir de donantes voluntarios sanos. Tampoco se considera apto para fraccionamiento el plasma obtenido a partir de donaciones autólogas.
- El fraccionador podrá incluir otros requerimientos tales como que cada unidad debe ser enviada con tubuladura lateral de una determinada longitud, la cual debe contener plasma, o contenido máximo de anticuerpos contra el grupo sanguíneo ABO u otros sistemas.

## Seguridad del plasma para fraccionamiento

Si bien durante el proceso de producción industrial de medicamentos derivados del plasma se aplican proce-

dimientos de inactivación y remoción viral, la seguridad de los productos finales obtenidos a partir de la sangre y sus derivados está dada principalmente por la seguridad del plasma usado como materia prima para la elaboración de los mismos. Por este motivo es fundamental reducir al máximo la introducción en el pool de plasma industrial de unidades que pudieran contener agentes infecciosos transmisibles por la sangre y sus derivados.

Las estrategias dirigidas a aumentar la seguridad del plasma destinado a fraccionamiento están dadas por las siguientes premisas:

- Minimizar contenido viral en pool de plasma industrial, a través de la exclusión de donantes de riesgo y de la detección de unidades reactivas para los marcadores virales relevantes.
- Garantizar la trazabilidad de las unidades donadas y la efectiva comunicación entre el centro de colecta y el fraccionador.
- Conocer la situación epidemiológica de la población de donantes.

Algunas de las medidas que permiten alcanzar las premisas anteriores son:

- a. **Implementación de un adecuado procedimiento de selección de donantes de sangre y plasma.** Este procedimiento debe estar dirigido a excluir, a través de entrevista personal, historia clínica, examen médico y pruebas de laboratorio todos aquellos donantes que presenten algún riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas transmisibles por sangre y sus derivados.
- b. **Control de presencia de marcadores virales en cada unidad individual.** Se debe hacer el control de los

marcadores virales exigidos por la autoridad regulatoria nacional y el fraccionador. Estos controles deben realizarse por métodos y reactivos de especificidad y sensibilidad apropiados, aprobados por la autoridad regulatoria. Los procedimientos correspondientes a la ejecución de los mismos deben estar validados y se deben realizar determinaciones simultáneas de controles positivos y negativos que permitan demostrar el correcto funcionamiento del sistema.

Las muestras utilizadas para realizar las determinaciones serológicas deben cumplir con requisitos de calidad previamente especificados con base en criterios de cantidad, aspecto, contaminación, etc.

Las unidades que presenten resultados repetidamente reactivos para algún marcador serológico no se deben usar con fines industriales.

A solicitud del laboratorio fraccionador o por requerimiento de la autoridad regulatoria, y en función de los datos epidemiológicos regionales, se pueden realizar ensayos adicionales de marcadores virales como el Ag P24 para HIV, Ag core para HCV, o pruebas dirigidas a detectar la presencia de otros agentes infecciosos.

En algunos países, la autoridad regulatoria exige a los establecimientos de sangre la realización de pruebas NAT para los marcadores virales relevantes. El fraccionador del plasma deberá realizar obligatoriamente ensayos para HBsAg, anticuerpos anti HIV 1 y 2 y la determinación del RNA virus para hepatitis C por técnicas validadas de amplificación de ácido nucleico.<sup>15</sup>

**c. Implementación de un sistema de aseguramiento de calidad que garantice el estricto cumplimiento de las BPM.**

Es importante asegurar la completa trazabilidad entre cada unidad individual de plasma, respecto al donante, la fecha de donación, los resultados de los marcadores virales relevantes y el producto final en el cual esta unidad fue utilizada como materia prima. El estricto cumplimiento de las BPM permite identificar cualquier problema que pueda afectar la calidad o seguridad del plasma durante el proceso de obtención del mismo y posteriormente identificar tanto al donante como al producto final correspondiente, y tomar las medidas preventivas o correctivas que correspondan. Es necesario contar con un sistema de rastreo de unidades, que en caso de detectar retrospectivamente que una unidad no debió ser procesada porque corresponde a un donante que presentó conductas o factores de riesgo, permita identificarlo e informar al fraccionador el número de la unidad correspondiente.

**d. Vigilancia epidemiológica de la población de donantes.**

Los datos obtenidos a partir de programas de vigilancia epidemiológica permiten conocer la prevalencia, la incidencia y la tendencia de los marcadores virales relevantes para los productos hemoderivados y tomar medidas preventivas al respecto. La vigilancia epidemiológica cobra mayor importancia en donantes de primera vez.

**e. Implementación de un sistema de información de eventos post**

**donación.** Debe haber un sistema que garantice la efectiva comunicación entre el centro de colecta y el fraccionador, de tal manera que se garantice que cualquier situación detectada en el primero posteriormente a la donación de la sangre o el plasma, relacionada con la posible presencia de un agente infeccioso en una unidad previamente enviada a fraccionar, pueda ser informada de inmediato al fraccionador. Entre los eventos que pueden detectarse de manera posterior a la donación y que deben obligatoriamente comunicarse al fraccionador se encuentran:

- Verificación posterior a la donación de que el donante presentaba factores o conductas de riesgo.
- Identificación de un donante regular con resultados reactivos para algún marcador viral en la última donación, cuando las donaciones anteriores fueron enviadas a fraccionar.
- Verificación posterior a la donación de que los controles serológicos no fueron realizados de acuerdo con los procedimientos validados y aprobados, o la verificación de la ocurrencia de una falla durante la realización del ensayo de laboratorio.
- Identificación de un donante que posterior a la donación, desarrolla enfermedad transmisible por sangre y sus derivados.
- Receptor de sangre o hemocomponente que desarrolla infección post transfusional relacionada con la transfusión de un hemocomponente obtenido de una unidad de sangre cuyo plasma fue enviado a fraccionar.

## Aseguramiento de calidad<sup>19</sup>

El centro de colecta debe contar con un sistema de aseguramiento de calidad que incluya la organización institucional, personal, instalaciones, materiales y equipos, documentación, manejo de donantes, preparación de hemocomponentes, almacenamiento, conservación, distribución, monitoreo de la calidad, ensayos de laboratorio, reclamos y retiro de productos. Además, este sistema deberá contemplar la toma de medidas preventivas y correctivas, el control de cambios o modificaciones de procesos o procedimientos y la realización de auditorías y autoinspecciones.

El sistema de aseguramiento de la calidad debe basarse en los principios de las Buenas Prácticas de Manufactura.

## Buenas prácticas de manufactura<sup>20,21</sup>

Las BPM permiten garantizar que los productos obtenidos son consistentemente elaborados y controlados de acuerdo con normas establecidas de calidad. La aplicación de las BPM en todas las etapas del proceso, desde la selección del donante hasta el envío del plasma al fraccionador, asegura la obtención de productos de la calidad y seguridad viral requeridas.

La aplicación de las BPM en los establecimientos destinados a la obtención de hemocomponentes, está dirigida a disminuir los riesgos inherentes a la manipulación de unidades de origen biológico, tales como contaminación microbiológica de los productos obtenidos, ocurrencia de errores en la identificación de donantes y unidades,

pérdida de trazabilidad en alguna etapa del proceso y transmisión de enfermedades, entre otras posibles situaciones que se pueden presentar.

Los principios básicos de las BPM dirigidos a evitar la ocurrencia de errores durante la obtención del plasma, se basan en la consideración de los siguientes factores:

- ✓ **Organización institucional:** se debe contar con un organigrama funcional de la organización, con la correspondiente descripción de funciones y responsabilidades, fundamentalmente aquellas relacionadas con la calidad.
- ✓ **Recursos:** se deben proveer todos los recursos necesarios para llevar a cabo las operaciones en condiciones adecuadas, lo cual incluye personal calificado y entrenado, instalaciones y equipamiento adecuados, materiales apropiados y condiciones seguras de almacenamiento y transporte.
- ✓ **Documentación:** todos los procesos involucrados en la obtención del plasma deben estar claramente definidos en procedimientos de trabajo aprobados, estandarizados y validados, los cuales se deben revisar periódicamente.
- ✓ **Registros:** todos los datos correspondientes a donantes, procesos productivos y resultados de ensayos de laboratorio deben quedar debidamente registrados e identificado el personal responsable de los mismos. En el caso de los ensayos de laboratorio se deben conservar los datos crudos correspondientes.
- ✓ **Equipos:** todos los equipos deben ser calificados y calibrados antes de ponerlos en uso. Se debe definir una

frecuencia de calificación, calibración y mantenimiento preventivo de los mismos. Se debe controlar, según frecuencia previamente definida, el correcto funcionamiento de los equipos y el mantenimiento del estado de calibración. Respecto a los procesadores de datos electrónicos deben estar completamente validados, con el fin de asegurar que cumplen los requisitos especificados para su correcto funcionamiento, que preservan la integridad de los datos almacenados y que su uso está en conformidad con los procedimientos operativos correspondientes.<sup>19</sup>

- ✓ **Condiciones de almacenamiento y transporte:** se deben garantizar condiciones adecuadas de temperatura e higiene durante todo el tiempo de almacenamiento de las unidades, las cuales deben ser controladas continuamente y se debe llevar un registro de dicho control. Se debe garantizar el almacenamiento segregado del plasma aun no liberado, el plasma reactivo para algún marcador serológico y el plasma liberado para fraccionamiento. Las unidades de plasma listas para enviar a fraccionar se deben almacenar en equipos de frío separados y, previo a su envío, se debe verificar que sólo se entregan unidades controladas y liberadas y revisar la documentación correspondiente, con el fin de corroborar el cumplimiento de las especificaciones del fraccionador.
- ✓ **Sistema de identificación y trazabilidad:** debe haber un sistema que permita el rastreo efectivo de las unidades y la documentación correspondiente.
- ✓ **Procedimiento de liberación del plasma destinado a fraccionamiento:** deben existir especificaciones para la liberación de las unidades destinadas a fraccionamiento y un sistema administrativo, computarizado o no, que impida la liberación de las unidades si aún no se han cumplido todos los requerimientos especificados para permitir su liberación. Las unidades todavía no liberadas se deben mantener físicamente segregadas. Cada unidad de plasma debe ser formalmente liberada por persona autorizada para tal fin y el procedimiento debe quedar formalmente registrado. El procedimiento de liberación de unidades de plasma requiere de la ejecución de un doble chequeo por una segunda persona autorizada.
- ✓ **Control de procesos:** se debe mantener un sistema de control de procesos que permita identificar desviaciones y tomar las medidas correctivas. La herramienta más comúnmente utilizada para llevar a cabo este proceso es la implementación del control estadístico de procesos, a través del establecimiento de cartas de control. Los procesos más frecuentemente controlados por esta metodología son los procedimientos de producción del plasma a través de los resultados del control de calidad del mismo y el seguimiento de los resultados correspondientes a controles positivos y negativos de los ensayos del screening serológico.
- ✓ **Acondicionamiento de unidades de plasma para su envío a fraccionamiento:** El fraccionador debe espe-

cificar el procedimiento de empaque de las unidades para su transporte. Este procedimiento debe estar diseñado de tal manera que prevenga la rotura o pérdida de propiedades del plasma durante el transporte. Las unidades de plasma de distinta calidad deben acondicionarse en contenedores diferentes. Cada contenedor debe tener una identificación única, acorde con las especificaciones del fraccionador.

### Archivo maestro del plasma<sup>22,23,24</sup>

Es un documento que contiene toda la información sobre el plasma utilizado como material de partida en la elaboración de medicamentos hemoderivados. Este documento se requiere por la autoridad regulatoria nacional al laboratorio fraccionador para el registro de los medicamentos correspondientes. El archivo maestro del plasma es elaborado por el fraccionador y debe contener, como mínimo, la siguiente información:

- ✓ Origen del plasma
- ✓ Sistema de aseguramiento de calidad, implementado en cada centro proveedor de plasma.
- ✓ Datos del contrato establecido entre el fraccionador y el centro proveedor de plasma.
- ✓ Sistema de selección de donantes aplicado en el centro proveedor de plasma.
- ✓ Información sobre métodos y reactivos utilizados para realizar el escreening de marcadores serológicos.
- ✓ Datos epidemiológicos de la población de donantes.

- ✓ Sistema de información post donación entre el proveedor de plasma y el fraccionador.
- ✓ Sistema de rastreo de donantes.
- ✓ Tipo de bolsas usadas para colecta de sangre o plasma.
- ✓ Control de calidad realizado por el fraccionador a las unidades y al pool de plasma inicial.

Este documento debe permitir la trazabilidad de cada unidad de plasma que conforma un lote de producto final desde el donante y la fecha de extracción hasta el lote de producto final correspondiente. El archivo maestro del plasma debe ser revisado una vez al año o cada vez que se produzcan modificaciones en los datos consignados

### Acuerdo de calidad entre el proveedor de plasma y el fraccionador<sup>1</sup>

Es importante que se formalice entre el centro proveedor de plasma y el fraccionador un acuerdo sobre los requisitos que tienen alto impacto en la calidad final del plasma. Dicho acuerdo de calidad forma parte del contrato de fraccionamiento suscrito entre ambos.<sup>25</sup> En él se documentan los criterios de calidad adoptados por el centro de colecta respecto, al menos, de los siguientes ítems:

- ✓ Tipo de donantes.
- ✓ Criterio de selección y exclusión de donantes.
- ✓ Requisitos de calidad para los distintos tipos de plasma.
- ✓ Sistema de trazabilidad de unidades.
- ✓ Rotulado de unidades.



- ✓ Procedimiento de obtención del plasma y condiciones de almacenamiento y transporte.
- ✓ Datos sobre el screening de donantes y los ensayos de laboratorio realizados.
- ✓ Informe de datos epidemiológicos.
- ✓ Sistema de información post donación.
- ✓ Auditorías realizadas por el fraccionador.
- ✓ Informe de resultado de inspección y re-análisis de unidades por el fraccionador.

## Referencias

1. Recommendations for the production, control y regulation of human plasma for fractionation. (Annex 4). In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. WHO Technical Report Series Nº 941. Ginebra. 2007.
2. Standards of Selection of Donors. In: Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components. 16<sup>th</sup> Edition. Strasbourg. Council of Europe Publishing; 2011. 199-212.
3. Wang B, Schreiber GB. Prevalence of transfusion-transmissible viral infections in first time US blood donor by donation site. *Transfusion*. 2003; 43: 705-712.
4. Allain JP, Sarkodie F, Kwame AM, Owusu-Ofori S. Relative safety of first-time volunteer and replacement donors in West Africa. *Transfusion*. 2010; 50: 340-343.
5. Principles of Blood Components. In: Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components. 1<sup>6th</sup> Edition. Strasbourg. Council of Europe Publishing; 2011. 113-140.
6. Principles of Donor Selection. In: Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components. 1<sup>6th</sup> Edition. Strasbourg. Council of Europe Publishing; 2011. 85-102.
7. Principles of Blood Collection. In: Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components. 16<sup>th</sup> Edition. Strasbourg. Council of Europe Publishing; 2011. 103-111.
8. Burgstaler EA. Blood component collection by Apheresis. *J Clin Apheresis*. 2006; 21: 142-151.
9. AABB. Aféresis. En: Manual Técnico. 15<sup>a</sup> Ed. Buenos Aires: Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología. 2007. p.143-165.
10. O'Neill EM. Effect of 24-hour whole blood storage on plasma clotting factors. *Transfusion*. 1999; 39: 488-491.
11. Carlebork G, Blomback M, Akerblom o. Improvement of Plasma Quality as Raw Material for Factor VIII:C Concentrates. *Vox Sang* 1983; 45: 233-242.
12. Pietersz RN. Storage of whole blood for up to 24 hours at ambient temperature prior to component preparation. *Vox Sang*. 1989; 56: 145-150.
13. Nilsson L, Hedner U, Nilsson IM, Robertson B. Shelf-life of bank blood and stored plasma with special reference to coagulation factors. *Transfusion*. 1983; 23: 377-381.
14. Cardigan R, Lawrie AS, Mackie IJ, Williamson LM. The quality of fresh-frozen plasma produced from whole blood stored at 4 °C overnight. *Transfusion*. 2005; 45: 1342-1348.
15. Farmacopea Europea 7<sup>ma</sup> ED. Monografía 0853: Plasma humano para fraccionamiento. Strasbourg. 2011. p. 2181-2182.
16. Alhumaidan H, Cheves T, Holme S, Sweeney J. Stability of coagulation factors in plasma prepared after 24-hour room temperature hold. *Transfusion*. 2010; 50: 1936-1942.
17. Sward-Nilsson A-M, Persson P-Q, Johnson U, Lethagen S. factors influencing Factor VIII activity in frozen plasma. *Vox Sang*. 2006; 90: 33-39.
18. Myllyla G. Factors determining quality of plasma. *Vox. Sang*. 1998; 74: 507-511.
19. Principles of a quality system for blood establishments. En: Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components. 16<sup>th</sup> Edition. Strasbourg. Council of Europe Publishing; 2011. 49-84.

20. PIC/S GMP Guide for Blood Establishments. 2007. Disponible en: <http://www.picscheme.org>.
21. Scharer C. Good practice in plasma collection and fractionation. ISBT Science Series. 2010; 5: 95-98.
22. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Guideline on requirements for plasma master file certification. Agencia Europea de Medicamentos. London. 2006. Disponible en: <http://www.ema.europa.eu>
23. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Guideline on the scientific data requirements for a plasma master file. Agencia Europea de Medicamentos. London. 2006. Disponible en: <http://www.ema.europa.eu/ema>
24. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Guideline on the scientific data requirements for a plasma master file. Annex 1. Agencia Europea de Medicamentos. London. 2006.
25. Federación Mundial de Hemofilia. Fraccionamiento por contrato. 2004. Disponible en: <http://www.wfh.org>

# Inmunoglobulinas (Anticuerpos) Estructura, función y aplicaciones médicas

MARÍA D. GUDIÑO\*

El sistema inmunológico está estructurado para reconocer, responder y destruir una gran cantidad de organismos invasores como bacterias, virus, hongos y parásitos, capaces de producir daño al cuerpo humano y a constituyentes del propio organismo, que por alguna razón se han alterado en tal forma que pueden ser perjudiciales, como en el caso de las células cancerosas. De tal manera que la respuesta inmune nos permite permanecer libres de invasiones extrañas. En general, la respuesta inmune se puede clasificar en dos sistemas: La *inmunidad celular* mediada por la población de linfocitos T que regula la síntesis de anticuerpos y la *inmunidad humoral* mediada por la población de linfocitos B. Aunque es difícil separar las acciones de estos dos grupos de células, en este

\* Médica Hematóloga, especializada en Medicina Transfusional. Médica Directora Baxter Healthcare Corporation BioScience/BioLife Plasma Services, USA.

capítulo solo discutiremos la inmunidad humoral que incluye la secreción de las inmunoglobulinas (Igs).

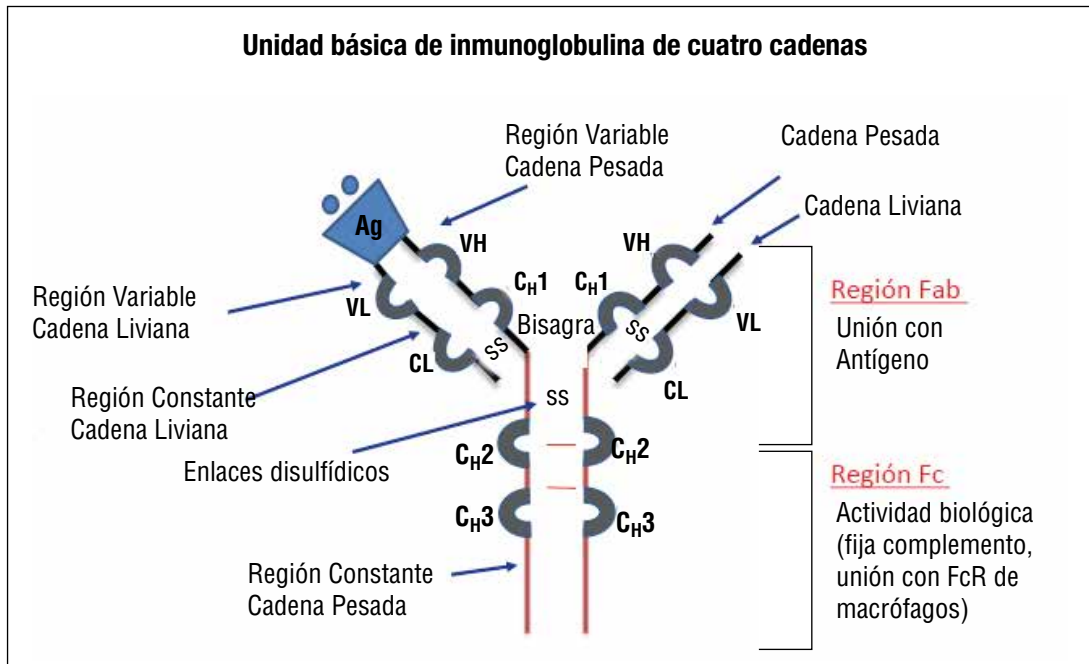
*Antígeno* es cualquier sustancia que induzca al sistema inmune producir anticuerpos contra él. Un antígeno puede ser una sustancia extraña proveniente del ambiente, como productos químicos, agentes infecciosos, polen, o puede ser un antígeno formado dentro del cuerpo humano, como células de tejido malignas, o toxinas producidas por bacterias.

*Anticuerpos* son las moléculas efectoras de la inmunidad humoral mediadas por las células B. Anticuerpos son Igs que reconocen y se unen a antígenos que estimularon su producción. Químicamente, los anticuerpos son glucoproteínas que se encuentran en dos formas, una *soluble*, también conocida como *anticuerpos libres* que son secretados en la sangre por los linfocitos B activados que se han diferenciado en célula plasmática. Estos anticuerpos libres se unen a antígenos y forman un *complejo antígeno-anticuerpo*, el cual es señalado para que sea destruido por el resto del sistema inmune. La otra forma de anticuerpos no es secretada, y se mantiene unida a la membrana celular del linfocito B y se le conoce con el nombre de *Ig de superficie*. Cuando los linfocitos B se activan, no solo se diferencian en células plasmáticas para secretar anticuerpos libres, ellos también se diferencian en linfocitos B *de memoria*, que sobreviven en el organismo por muchos años y permiten que el sistema inmune recuerde el antígeno y responda más rápido a futuras exposiciones con el agente previamente expuesto.

## Estructura de las inmunoglobulinas

Las Igs o anticuerpos son proteínas globulares de gran peso molecular típicamente constituidas por una unidad básica que tiene forma de “Y”, la cual consta de cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas, grandes e idénticas, llamadas H (heavy) y dos cadenas livianas llamadas L (light) más pequeñas (véase la Figura 1). Estas cadenas se unen mediante enlaces disulfídicos con un enlace entre las cadenas livianas y las cadenas pesadas y dos entre las cadenas pesadas. Estas estructuras forman monómeros (una unidad), dímeros (dos unidades) o pentámeros (cinco unidades). Las cadenas pesadas y las livianas presentan dos regiones diferentes: la región variable, V, y la región constante, C. La variable representa la parte recombinante de la molécula que varía de anticuerpo a anticuerpo y es la responsable de reconocer al antígeno y unirse a él. La constante se une a las células del sistema inmune para activarlas. En las cadenas pesadas aparece una zona denominada región bisagra que posee la característica de ser muy flexible, lo que permite adquirir distintos ángulos entre las regiones variables y constantes, y entre los “brazos” de la Ig.

La región del antígeno reconocida por la Ig se llama *epitopo*, y la región del anticuerpo que reconoce al epitopo se llama *paratopo*. Esta unión epitopo-paratopo es comparable a la unión entre una llave (epitopo) y la cerradura (paratopo). Los epitopos se unen con su Ig en una interacción altamente específica para permitir que la Ig se una solamente a su antígeno único en medio



**Figura 1.** Esquema de la IgG. Las cuatro cadenas están unidas por enlaces covalentes disulfídicos (S-S) VL y VH son las regiones variables de las cadenas L y H. CH1, CH2 y CH3 son las regiones constantes de las cadenas H. CL es la región constante.

de millones de antígenos presentes en el cuerpo humano. Este complejo “*antígeno-anticuerpo*” es señalado para que sea atacado por otras partes del sistema inmunológico o neutralizado.

### Fragmentos Fab y Fc

Las Igs pueden dividirse funcionalmente en dos regiones: el *fragmento de unión al antígeno (Fab)* y el *fragmento cristalizante (Fc)*. El tratamiento de la molécula de IgG con enzimas proteolíticas como la papaína, desdobra a la cadena pesada de la Ig en un punto inmediatamente por encima de la bisagra y origina tres regiones: dos de ellas idénticas formadas por las cadenas livianas y una parte de las cadenas pesadas, correspondientes a la porción que se une al antígeno (*fragmento Fab*). Las cadenas livianas aisladas o las mitades de la porción variable de la

cadena pesada no poseen la capacidad de combinarse con el antígeno. La región Fc desempeña un papel de modulación de la actividad de la célula inmunitaria y mediante la unión a proteínas específicas se asegura que cada anticuerpo genere una respuesta inmune apropiada. El fragmento Fc también se une a varios receptores celulares (*receptor del Fc*) y a otras moléculas del sistema inmunológico como las proteínas del complemento. Al fijar y activar el complemento suceden varios efectos fisiológicos como la opsonización, la lisis celular y la degranulación de las células cebadas, basófilos y eosinófilos.

### Dominios de las inmunoglobulinas

Los aminoácidos que constituyen las cadenas pesadas y livianas no se encuentran en una secuencia lineal, como

en un collar de perlas. De tal manera, ambas cadenas forman ondulaciones de aminoácidos, denominados *dominios*, que ocupan un espacio entre los enlaces disulfídicos que aproxima los aminoácidos no contiguos. Las cadenas livianas tienen dos dominios y las cadenas pesadas tienen cuatro o cinco, lo cual depende del isotipo.<sup>1</sup> (Véase Figura 1). El dominio más cercano al terminal amino de cada cadena pesada y liviana hace que la pequeña región del ápice de la proteína sea extremadamente variable (*región variable*). A este dominio se le llama dominio  $V_L$  para las cadenas livianas y dominio  $V_H$  para las cadenas pesadas. Este extremo ligeramente diferente es donde radica la especificidad de la molécula de Ig. La variabilidad de las Igs permite que el sistema inmune reconozca una gran diversidad de antígenos. Al dominio restante de la cadena liviana y a los tres o cuatro en la cadena pesada se les llama *dominios constantes*, designados  $C_L$  y  $C_H1$ ,  $C_H2$ ,  $C_H3$  y  $C_H4$ . Los cinco isotipos de cadenas pesadas y los dos de las cadenas livianas se pueden identificar por las secuencias de los aminoácidos de los dominios constantes. Es importante decir que los dominios constantes de las cadenas pesadas determinan los comportamientos serológicos y biológicos que expresará la molécula del anticuerpo.<sup>1</sup>

## Clases y subclases de inmunoglobulinas

### Isotipos

Este término se usa para identificar las clases y subclases de las Igs en mamíferos. Las cadenas pesadas tienen cinco

clases que se pueden identificar así:  $\alpha$  (IgA),  $\gamma$  (IgG),  $\mu$  (IgM),  $\delta$  (IgD) y  $\epsilon$  (IgE). Las distintas cadenas pesadas difieren en tamaño y composición. Existen dos clases de cadena liviana, llamadas  $\kappa$  y  $\lambda$ .

Las moléculas de IgG se clasifican en cuatro subclases designadas  $\gamma1$  (IgG1),  $\gamma2$  (IgG2),  $\gamma3$  (IgG3) y  $\gamma4$  (IgG4). Estas subclases son antigénicamente diferentes con una secuencia de aminoácidos similar pero no idéntica y con algunas diferencias en las propiedades generales. Por ejemplo, la IgG 1 es dominante en el adulto, la IgG3 es la más eficiente en fijar complemento, la IgG 4 no fija complemento y la IgG2 no cruza la placenta.<sup>2</sup> (Véase el Cuadro 1). La molécula de IgA tiene dos subclases  $\alpha1$  (IgA1) y  $\alpha2$  (IgA2). Estas dos subclases se diferencian en la estructura antigénica y en la variación en el arreglo de los enlaces disulfídicos de las cadenas.

El isotipo cambia durante la maduración y la activación de los linfocitos B. Los linfocitos B vírgenes (no expuestos a antígenos) sólo expresan el isotipo IgM en su forma unida a la membrana de superficie de la célula. Cuando el linfocito B alcanza la madurez, comienza a expresar tanto IgM como IgD unidos a la membrana de superficie y está listo para responder a un antígeno. Cuando un antígeno es detectado, el linfocito B se activa, se divide y se diferencia en una célula plasmática que comienza a secretar anticuerpos. Si una célula progenitora que originalmente producía IgD o IgM comienza a producir otros tipos de Ig (IgG, IgA o IgE) en su lugar, el proceso se denomina, *cambio de isotipo*.<sup>1</sup> Solo la región constante de la cadena pesada de la Ig cambia durante este proceso. La región variable (V) permanece sin

cambiar y por tanto la especificidad para reconocer el antígeno se mantiene igual.

### Alotipos

Alotipos son pequeñas variaciones en la secuencia de aminoácidos en la región constante de las cadenas pesadas y livianas, que no tienen relación con la especificidad del anticuerpo. En las cadenas pesadas de la IgG se ha descrito la variación alotípica, *Gm*. En la cadena pesada de la IgA se ha descrito la variación alotípica *Am*. El alotipo de la cadena liviana, *Km*, está presente en todas las clases de Igs.<sup>1,2</sup>

### Idiotipos

Este es el sitio de la molécula de anticuerpo situado en la región variable Fab que reconoce y se une al antígeno (epitopo) dándole especificidad al anticuerpo. Algunos idiotipos son comunes (*idiotipos públicos*) a todos los anticuerpos, con una especificidad única. Otros son restringidos a algunos clonos (idiotipos privados) que producen anticuerpos de especificidad similar, pero cada uno con diferencias mínimas (uno o dos aminoácidos) en la región variable Fab.<sup>3</sup>

## La base genética de la diversidad del anticuerpo

Se estima que en el humano puede haber por lo menos  $10^6$ - $10^7$  moléculas diferentes de anticuerpos.<sup>3</sup> Mecanismos genéticos especiales se desarrollan para producir un número muy grande de moléculas de Ig en respuesta al estímulo de un antígeno, sin necesidad de tener un número excesivo de genes.<sup>2</sup> Si no existiera un sistema inmune “adaptativo” y

el número de tipos diferentes de receptores presentes en los linfocitos fueran codificados por genes individuales, el genoma humano tendría que dedicarse por completo a estos receptores.<sup>4</sup> La diversidad del anticuerpo depende de la presencia de múltiples segmentos de genes, de su cambio en distintas secuencias, combinación de diferentes cadenas livianas y pesadas en el ensamblaje de las moléculas de Ig, así como también de mutaciones somáticas.

Algunos autores<sup>2</sup> han descrito que las moléculas de Igs son producidas por tres reservorios comunes (*pool*) de genes separados que codifican las cadenas  $\kappa$ ,  $\lambda$ , y las cadenas H respectivamente. El “pool” de genes para las cadenas livianas y pesadas se encuentra en cromosomas diferentes. En cada “pool”, segmentos separados de genes que codifican diversas partes de las regiones variables de las cadenas livianas y pesadas se pueden reunir por medio de una *recombinación*, que ocurre durante la maduración de la célula B. Este fenómeno se llama *reordenación o recombinación somática*. El “pool” de genes de cadena liviana contiene uno o más genes constante (C) y segmentos de genes variable (V) y “joining” o unión (J). El “pool” de genes de cadena H contiene un segmento de genes constante (C), variable (V), diversidad (D) y “joining” o unión (J). Para crear una molécula del anticuerpo, un segmento del gene VL se recombina con un segmento del gene JL para producir un gen V para la cadena liviana. También, un segmento del gene VH se recombina con segmentos D y JH para producir un gene V para la cadena pesada. Cada uno de los segmentos de genes ensamblados es transcrito con la secuencia apropiada de la región cons-

tante para producir una molécula de RNA mensajero que codifique la cadena completa del polipéptido. Por medio de varias combinaciones de segmentos de genes heredados que codifican las regiones VL y VH, los vertebrados pueden producir miles de diferentes cadenas livianas y miles de cadenas H diferentes que se pueden asociar y formar millones de moléculas de anticuerpo. Esta gran variedad de combinaciones recibe el nombre de *diversidad combinatoria*.<sup>2</sup>

El proceso de recombinación y mutación está muy regulado, de forma que cada linfocito B sólo expresa un gen reordenado de la cadena H y otro de la cadena L. Así, cada linfocito produce un tipo único de anticuerpo.

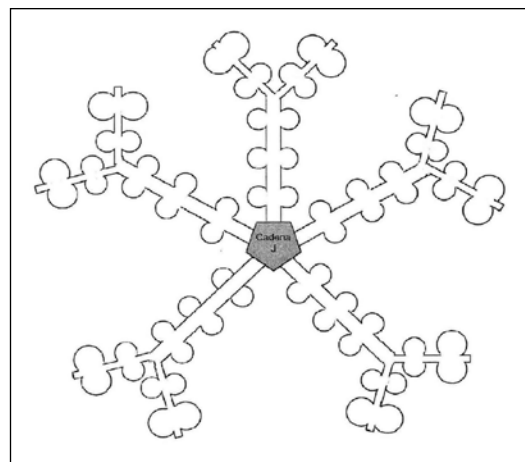
## Propiedades de las inmunoglobulinas

### Inmunoglobulina M

Esta glucoproteína es el primer anticuerpo producido por los linfocitos B en maduración y la primera en detectarse en la respuesta inmune primaria. Los precursores inmediatos de las células B (*células pre-B*), producen primero cadenas  $\mu$  que se acumulan en la célula y luego comienzan a sintetizar las cadenas livianas. Las cadenas  $\mu$  se combinan con las cadenas livianas para formar los monómeros de cuatro cadenas. El componente de dos cadenas  $\mu$  con dos cadenas livianas se inserta dentro de la membrana plasmática donde funciona como receptor para el antígeno. A este punto, las células se han transformado en linfocitos B y pueden responder a antígenos.<sup>2</sup>

La forma secretada de IgM es un pentámero formado por cinco unidades

(monómeros) con diez sitios que pueden combinarse con los antígenos, aunque solo cinco están realmente disponibles para combinarse con éstos. Cada pentámero de IgM contiene una copia de otra cadena de polipéptido, llamada cadena J (“joining”). Este polipéptido accesorio es producido por las células secretoras de IgM. (Véase Figura 2). En estudios de microscopio electrónico, algunas moléculas de IgM aparecen con una morfología de pez estrella con cinco brazos. Se piensa que ésta debe ser la forma original de la IgM y que la forma con diez brazos puede ser un artefacto presente durante la preparación del material para los estudios.<sup>5</sup>



**Figura 2:** Esquema de la molécula de IgM que demuestra la cadena J (esquema modificado de Abbas AK, Lichtman AH y Pober JS. *Cellular and Molecular Immunology*. Philadelphia, PA. W.B. Saunders. 1994).

El efecto biológico más importante de la IgM es que puede fijar complemento, lo cual hace que sea un agente muy potente en combatir invasiones microbianas, ya que intensifica los mecanismos de defensa inflamatorios y



fagocíticos y puede lisar las células portadoras de antígenos. La IgM secretada se limita a la circulación sanguínea y no cruza la placenta.

### Inmunoglobulina G

La IgG es el isotipo más estudiado en cuanto a estructura y función. Los anticuerpos de esta clase se producen durante la respuesta inmune secundaria y constituyen la Ig principal de la sangre. En respuesta a una infección, la región Fc de las moléculas de IgG se une a los receptores específicos de las células fagocíticas como macrófagos y neutrófilos, lo cual aumenta la eficacia con la cual las células fagocíticas pueden injerir y destruir los microorganismos infecciosos revestidos con IgG.<sup>2</sup> Estos receptores de anticuerpos encontrados en las células blanco o diana también guían a los linfocitos naturales asesinos, NK (*Natural Killers*) a ayudar a destruir los microorganismos recubiertos con IgG.

En estudios de microscopía electrónica, la IgG demuestra tener una morfología con “brazos” de la “Y” muy flexibles y con un rango entre una “T” (180°) a una “Y” (cerca de 0°).<sup>5</sup> La estructura de las cuatro subclases de la IgG difiere principalmente en las características de la *región bisagra* y el número de enlaces disulfídicos entre las cadenas pesadas. Las funciones biológicas, como la fijación de complemento, la capacidad de atravesar la placenta y la vida media también son distintas lo cual depende del tipo de subclase. (Véase el Cuadro 1).

La función más conocida de la IgG es la activación del complemento vía cascada clásica. La región Fc de la IgG puede fijar y activar el primer componente del sistema del complemento, que

desencadena un ataque bioquímico que destruye los microorganismos. Por lo menos dos moléculas de IgG se requieren para la activación del complemento comparada con una molécula de IgM, que tiene cinco regiones Fc.<sup>2</sup>

### Inmunoglobulina A

La IgA se encuentra en poca concentración en la sangre pero se ubica en áreas de la mucosa del intestino, del tracto respiratorio y del genitourinario donde previene la colonización de patógenos. También se halla en la leche materna, saliva, y lágrimas. Debido a su presencia cerca de las membranas externas, la IgA secretora constituye una primera línea de defensa contra microorganismos en el ambiente externo donde protege la penetración de bacterias y virus. La IgA también parece controlar la hipersensibilidad al combinarse con antígenos ambientales y formar complejos que se eliminan cuando se excretan las secreciones de superficie. Estos complejos pueden activar el complemento a través de la vía alternativa. La IgA existe como monómero de cuatro cadenas o también como dímeros. En las secreciones, las moléculas de IgA son dímeros que contienen una cadena J única, similar a la descrita con la molécula pentamérica de la IgM y una cadena de glucoproteína adicional denominada *pieza de secreción o SC* (secretory component).

Los dímeros de IgA toman la pieza de secreción en la superficie de las células epiteliales de la capa superficial del intestino, los bronquios o de los conductos lagrimales, salivares o de la leche. La pieza de secreción es sintetizada por las células epiteliales y se queda inicialmente en la parte externa (no

en el lado del lumen) de estas células, donde sirve como receptor del dímero obligatorio de la IgA.<sup>2</sup> Los complejos que se forman como resultado de esta unión son ingeridos por medio de endocitosis y transferidos a través del citoplasma de la célula epitelial en la forma de una vesícula de la membrana, la cual se funde con la membrana del plasma en el lado del lumen de la célula epitelial. El receptor de IgA que queda unido a la molécula de IgA después de algunas reacciones enzimáticas es liberado al lumen y constituye el componente secretorio de la IgA. De tal manera que el ensamble completo de la molécula dimérica de la IgA es producto de la síntesis de dos tipos de células, las epiteliales y las plasmáticas.<sup>2</sup> El componente secretorio también puede proteger el dímero de IgA de enzimas proteolíticas en las secreciones.

### Inmunoglobulina D

La IgD se halla en cantidades minúsculas en la sangre, pero es una inmunoglobulina muy importante presente en la mayoría de los linfocitos B vírgenes (no estimulados), especialmente en recién nacidos. Durante el curso de la maduración de los linfocitos B, estas células sintetizan y exhiben las moléculas de IgD, así como las moléculas de IgM.<sup>2</sup> Se ha demostrado que la IgD activa los granulocitos basófilos y mastocitos (cuando están presentes en los tejidos) para producir factores antimicrobianos.

La IgD suele detectarse en suero aproximadamente a los seis meses de edad, y su concentración a través de

la vida es siempre muy baja. En caso de una infección crónica, la IgD puede estar elevada, pero hasta la fecha no se ha asociado ningún aumento específico de IgD con una enfermedad particular y tampoco se le ha asignado un papel biológico específico como anticuerpo humoral. La IgD de superficie es un marcador para los linfocitos B maduros, y su papel como receptor ha sido generalmente aceptado aunque la naturaleza y el propósito de la señal que él transmite, son todavía controversiales.<sup>2</sup> La IgD no fija complemento, no cruza la placenta, y no se acopla a células por medio de su región Fc (Véase Cuadro 1). La forma secretada de IgD no tiene la estructura química necesaria para unirse a la superficie de los linfocitos B.

### Inmunoglobulina E

De todas las Igs, la IgE se encuentra en la concentración más baja en la sangre y se presenta como monómeros fuertemente unidos a la membrana de los granulocitos basófilos (mastocitos cuando están presentes en los tejidos). Estas células tienen un receptor de gran afinidad para la cadena pesada de la IgE. La IgE es responsable por la hipersensibilidad inmediata que se ve en el asma, la fiebre del heno y reacciones anafilácticas sistémicas. Como con la IgA, la IgE se produce principalmente en el revestimiento interno del tracto respiratorio y digestivo como parte del sistema secretorio externo del anticuerpo.<sup>2</sup> La IgE no cruza la placenta y los complejos de IgE-antígeno no fijan complemento. (Véase Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Propiedades de las inmunoglobulinas humanas

Propiedades	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Molécula	Monómero	Dímero	Pentámero	Monómero	Monómero
Cadena H (isotipo)	$\gamma$	$\alpha$	$\mu$	$\Delta$	$\epsilon$
# Subclases	4	2	1	?	?
Cadena L (tipos)	k, $\lambda$	k, $\lambda$	k, $\lambda$	k, $\lambda$	k, $\lambda$
Alotipos Gm (cadena H)	+	0	0	0	0
Alotipos Km (cadena kappa L)	+	+	+	?	?
Alotipos Am	0	+	0	0	0
Movilidad Electroforética	$\gamma$	$\gamma$	Entre $\beta$ y $\gamma$	Entre $\beta$ y $\gamma$	Rápida $\gamma$
Peso molecular (kD)	150	400	900	180	200
Ig total (%)	80	15	5	< 0.1	< 0.1
Concentración sérica (mg/dL)	1000 - 1500	200 - 350	85 - 205	3	0.01 - 0.07
Vida media sérica (días)	23 IgG1, IgG2, IgG4 (IgG3:10 días)	6	5	2 - 8	1 - 5
Actividad anticuerpo	sí	sí	sí	no	sí
Fija complemento	sí IgG3>IgG1>IgG2 (no IgG 4)	no	si	no	no
Atraviesa placenta	sí IgG1,IgG3,IgG4 (no IgG2)	no	no	no	no
Otras características	- Se secreta en leche materna - Se une a macrófagos y neutrófilos	Presente en secreción serosa y mucosa. Presente en leche materna y lágrimas	Presente en linfocitos B vírgenes unida a su membrana plasmática	Primera Ig sintetizada por linfocitos B vírgenes	Aumenta en procesos alérgicos

### Complejo antígeno-anticuerpo

La unión del antígeno con el anticuerpo es reversible. La afinidad y el número de sitios de unión contribuyen a la fuerza de la interacción del complejo antígeno-anticuerpo. La afinidad de una molécula de anticuerpo refleja el ajuste entre el determinante antigénico y el sitio único de unión el cual es independiente

del número de sitios antigénicos. Sin embargo, la avidéz de un anticuerpo (polímero con varias subunidades) con un antígeno multivalente es caracterizada por la fuerza total de todos sus sitios de unión. Una molécula típica de IgG se une 10.000 veces más fuerte a un antígeno multivalente si ambos sitios de unión están involucrados.<sup>2</sup> Por la misma

razón, si la afinidad de los sitios de IgG unida a un antígeno es igual para la IgM, la avidez de la molécula IgM para unirse a un antígeno multivalente es mucho mayor porque es un pentámero con diez sitios de uniones y la IgG solo tiene dos sitios de unión.<sup>2</sup> Esta diferencia es importante debido al hecho de que los anticuerpos producidos temprano en una respuesta inmune tienen generalmente afinidades mucho más bajas que los producidos más tarde. El aumento en la afinidad de los anticuerpos generados un tiempo después de la inmunización se llama maduración de la afinidad. Los anticuerpos con diversos sitios de unión con el antígeno son producidos por los clones correspondientes de los linfocitos B. Debido a la gran avidez, las moléculas IgM (producidas temprano en la respuesta inmune) pueden funcionar adecuadamente, a pesar de que cada sitio de unión tiene una afinidad baja.

El tamaño del complejo antígeno-anticuerpo es determinado por la valencia del antígeno y las concentraciones relativas del antígeno y del anticuerpo. La reacción de precipitación del antígeno-anticuerpo se basa en la unión de los antígenos polivalentes con los anticuerpos bivalentes. Si solamente un isotipo de anticuerpo (una respuesta monoclonal) está presente, las moléculas que poseen un determinante antigénico no pueden unirse, pero si un antígeno es bivalente, este puede formar complejos cíclicos pequeños o cadenas lineares, con el anticuerpo. En cambio, si un antígeno posee tres o más determinantes antigénicos, este puede formar los complejos tridimensionales grandes que se precipitan fácilmente. Sin embargo, la mayoría de los antiseros producidos en contra

de un antígeno contienen una variedad de diversos anticuerpos (una respuesta policlonal) que reacciona con diversos determinantes del antígeno y puede ayudar con la unión al antígeno. Por el contrario, los anticuerpos (monoclonales) homogéneos pueden precipitar las moléculas solamente si contienen determinantes antigénicos idénticos repetidos.<sup>2</sup>

Si las condiciones de la valencia del antígeno permiten la formación de agregados grandes, el tamaño del complejo antígeno-anticuerpo dependerá críticamente de la concentración molar de los dos componentes de la reacción. Si un exceso de antígeno o de anticuerpo está presente, es poco probable que los complejos grandes se formen. Esta característica es crucial para entender reacciones aparentemente paradójicas en algunas pruebas de laboratorio que dependen de la formación del complejo antígeno-anticuerpo.<sup>2</sup> Por ejemplo, un exceso extenso del antígeno puede saturar totalmente todos los sitios que se unen al anticuerpo y producir una señal negativa (es decir, ninguna aglutinación). Este fenómeno se refiere a veces como el *efecto de prozona*, que sigue siendo un problema potencial para los sistemas de ensayo modernos, donde anticuerpos con un título extremadamente alto pueden ser falsamente negativos a menos que el espécimen se pruebe en diluciones.

## Importancia clínica de las inmunoglobulinas

El estado de enfermedad puede presentarse como resultado de una función inmunológica alterada como sucede en

las reacciones de hipersensibilidad, enfermedad autoinmune o desórdenes de inmunodeficiencia. Otro aspecto clínico de importancia se da cuando el sistema inmunológico está intacto y por lo tanto puede producir rechazo del trasplante de órganos/tejidos alogénicos y enfermedad de injerto contra huésped.<sup>6</sup>

*Cambios en la concentración de inmunoglobulinas:* El nivel de Igs puede disminuir y producir hipogammaglobulinemia o agammaglobulinemia, que acompaña los desórdenes de inmunodeficiencia. En otras condiciones médicas, las Igs pueden aumentar ya sea en forma monoclonal o policlonal. Las Igs monoclonales son estructuras idénticas y se cree que resultan de la extensión clónica de una sola célula linfocítica productora de Ig y, por lo tanto, son específicas para un antígeno en particular. Las Igs policlonales son estructuralmente diferentes una de otra, ya sea por clase, cadena liviana o por especificidad del antígeno. Las Igs policlonales se producen por la expansión de diferentes células linfocíticas productoras de Igs. Como ejemplos de condiciones médicas donde las Igs están aumentadas en forma monoclonal tenemos el mieloma múltiple, la macroglobulinemia de Waldenström y el neoplasma de células B. El aumento de Igs en forma policlonal puede ocurrir en asociación con una inflamación crónica u otros desórdenes como la cirrosis hepática. En el caso de autoanticuerpos producidos en asociación con enfermedades autoinmunes, la mayoría de las Igs son policlonales.

El término “gammopatía monoclonal de significación indeterminada” (MGUS) se usa para identificar individuos que han demostrado un compo-

nente monoclonal en el suero pero que no está asociado con ninguna condición maligna. Aproximadamente un 3% de individuos con la edad de setenta años pueden tener esta condición.<sup>2</sup> En estos casos, la plasmocitosis en la médula ósea es mucho más baja que en el mieloma múltiple. Sin embargo, cerca del 20% de individuos con MGUS desarrollarán un desorden linfoproliferativo maligno de los linfocitos B o mieloma múltiple, en un período de diez años.<sup>2</sup> Algunos casos se convierten en leucemia linfocítica crónica, amiloidosis, linfoma linfocítico bien diferenciado y otras enfermedades proliferativas de las células B. Una consideración especial es el MGUS que se observa en pacientes sometidos a trasplante de órgano que han recibido drogas inmunosupresivas y que alteran las funciones de los linfocitos T. En la mayoría de estos casos las gammopatías monoclonales son transitorias.<sup>2</sup>

*Crioglobulinas:* Estas son inmunoglobulinas que precipitan en frío y se disuelven cuando se calientan. Las crioglobulinas se clasifican en tres tipos: tipo I (monoclonal – más común IgM o IgG), tipo II (mezcla de monoclonal con policlonal) y tipo III (policlonal). La crioglobulina tipo I se encuentra en la macroglobulinemia de Waldenström, mieloma múltiple o MGUS. La crioglobulina tipo II es típicamente asociada con hepatitis C. También se ve asociada con vasculitis, glomerulonefritis, enfermedad linfoproliferativa e infecciones crónicas. La crioglobulina tipo III no tiene un componente monoclonal y se halla en pacientes con infecciones o enfermedades inflamatorias y generalmente de poca importancia clínica, a menos que esté asociada a infección con hepatitis C.<sup>7</sup>

*Enfermedades autoinmunes:* Estas enfermedades se deben a que el sistema inmune ataca a las células del propio organismo en vez de protegerlo. Aunque las causas no están muy claras, se sabe que están relacionadas con el reconocimiento proteico de las superficies de las membranas celulares del sistema inmunológico y las que forman el organismo. Así, cuando no se reconocen las glucoproteínas, el sistema inmunológico comienza a atacar al propio organismo. La causa tiene que ver a veces con la predisposición o mutación genética, que codifica proteínas diferentes, bien en las células inmunológicas u orgánicas. Según su localización, las enfermedades autoinmunes se pueden clasificar en sistémicas o localizadas. En las sistémicas (multiorgánicas), los anticuerpos atacan antígenos no específicos de un órgano en particular. En este caso, a pesar de tener algunos antígenos específicos de algunos órganos, no presentan exclusividad para éstos, como por ejemplo, la poliomiositis o lupus eritematoso diseminado. En las localizadas, los anticuerpos atacan un órgano específico e involucran un tejido en particular. Por ejemplo, puede ser una condición endocrina como en la diabetes mellitus tipo 1 o tiroiditis de Hashimoto, dermatológica como el *pemphigus vulgaris*, o hematológica como en la anemia hemolítica, autoinmune.

## Aplicaciones médicas de las inmunoglobulinas (anticuerpos)

### Diagnóstico de enfermedades

En pruebas de diagnóstico es común la detección de anticuerpos de confirmación de enfermedad. En algunas pruebas

bioquímicas para el diagnóstico de enfermedades, se usa el título de anticuerpos, como en la toxoplasmosis.

Las enfermedades autoinmunes se pueden diagnosticar por anticuerpos que se unen a epitopos del propio organismo. Un ejemplo sería la prueba de Coombs para detectar anticuerpos de glóbulos rojos.

En la práctica hay muchos métodos inmunodiagnósticos basados en la detección de complejos antígeno-anticuerpo que se utilizan en el diagnóstico de enfermedades infecciosas, como por ejemplo ensayo inmunoenzimático (EIA), inmunofluorescencia, Western blot, inmunodifusión e inmonoelectroforesis. Anticuerpos purificados también se usan en muchas aplicaciones como por ejemplo en citometría de flujo, para diferenciar los tipos de células lo que depende de las proteínas que expresan. También se usa inmunoprecipitación para separar las proteínas y cualquier sustancia unida a ellas, en pruebas Western blot para identificar proteínas separadas por electroforesis y en inmunohistoquímica o inmunofluorescencia para examinar la expresión de proteínas en secciones de tejidos o localizar proteínas en el interior de las células.

### Medicina transfusional

Existen más de 300 antígenos eritrocitarios que han sido organizados en treinta sistemas por la Sociedad Internacional de Transfusión Sanguínea (ISBT). La detección de anticuerpos de grupos sanguíneos y su identificación constituye una de las prácticas más interesantes en el campo de la inmunohematología. Estas pruebas se realizan para prevenir reacciones transfusionales y la enfer-

medad hemolítica del recién nacido. Pacientes con problemas serológicos más complejos pueden requerir la utilización de una variedad de estudios inmunohematológicos especiales, como enzimas, adsorción o elución para poder identificar sangre compatible.

Los anticuerpos de grupos sanguíneos pueden ser de tipo IgG, IgM y raramente IgA (la mayoría de los anticuerpos que ocurren naturalmente son IgM). Dependiendo del isotipo (subclase), los anticuerpos de grupos sanguíneos de tipo IgG1, IgG2 e IgG3 pueden producir hemólisis. En cambio la IgG4 no produce hemólisis.<sup>8</sup> En ocasiones raras, si el anticuerpo es de tipo IgA, no se detectará por la prueba de Coombs porque la mayoría de los reactivos de antiglobulina no detectan IgA. Esta posibilidad se debe sospechar en pacientes que presentan un cuadro clínico de hemólisis y la prueba de Coombs es negativa.<sup>8</sup>

### Anticuerpos monoclonales

Un anticuerpo monoclonal (*Mab* – *monoclonal antibody*) es un anticuerpo homogéneo producido por una célula híbrida producto de la fusión de un clono de linfocitos B descendiente de una sola célula madre y una célula plasmática tumoral. Los Mab se usan en una gran cantidad de pruebas de laboratorio para detectar trazas de drogas, toxinas y hormonas, como también para purificar sustancias con técnicas de inmunoprecipitación y cromatografía. Mab se utilizan además en el diagnóstico de enfermedades infecciosas, o como marcadores específicos de tumores (cáncer). En los últimos años varios medicamentos han sido aprobados para tratamiento de en-

fermedades infecciosas, enfermedades autoinmunes, cáncer o en trasplantes para evitar el rechazo.

### Inmunoglobulinas usadas para la prevención o tratamiento de enfermedades

Inicialmente, la inmunoglobulina intravenosa (IGIV) se usaba solo como tratamiento de remplazo en pacientes con inmunodeficiencia, pero desde hace varios años se ha utilizado para tratar diferentes enfermedades, especialmente autoinmunes.<sup>9</sup> La inmunoglobulina Rh se usa en la profilaxis antenatal y postnatal para la prevención de la enfermedad hemolítica del recién nacido debido a la incompatibilidad Rh. También se usa después de la transfusión de componentes sanguíneos Rh (D) positivo y en el tratamiento de trombocitopenia inmune.<sup>10</sup>

Para la prevención de enfermedades infecciosas se usan soluciones de Igs derivadas del plasma de donantes que participan en programas de hiperinmunización con vacunas específicas. (Ej. tétanos, rabia, hepatitis B) o de personas convalecientes de una enfermedad infecciosa. Este tipo de tratamiento produce una inmunización pasiva temporal en los pacientes que reciben la solución de Ig, puesto que los anticuerpos desaparecerán en pocos meses. El tratamiento se usa en caso de exposición a ciertas enfermedades infecciosas como tétanos, rabia, hepatitis B, citomegalovirus, varicela zoster, etc.

### Resumen

En el humano existen cinco clases (isotipos) de anticuerpos (IgM, IgG, IgA, IgD, e IgE), cuatro subclases de anticuerpos IgG (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) y dos subclases

de anticuerpos IgA (IgA1 e IgA2). Cada uno de estos posee una cadena pesada distinta ( $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma 1$ ,  $\gamma 2$ ,  $\gamma 3$ ,  $\gamma 4$ ,  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$  respectivamente). Las cadenas pesadas contienen la región Fc del anticuerpo. Cada tipo de cadena liviana ( $\kappa$  y  $\lambda$ ) puede asociarse con cualquier tipo de cadena pesada.

Los antígenos se unen con los anticuerpos en la región Fab de la Ig, la cual contiene las regiones variables de las cadenas pesadas y livianas. La región Fc es parte de las cadenas pesadas y puede activar los siguientes mecanismos: 1) activación del sistema del complemento, que termina con la lisis del microorganismo; 2) opsonización de los microorganismos donde los anticuerpos se unen al antígeno, presentándolo a un macrófago para su destrucción; 3) precipitación de toxinas disueltas en el plasma para facilitar la destrucción por los macrófagos; 4) aglutinación de antígenos en una determinada zona, lo cual facilita la acción de los fagocitos y los linfocitos; y 5) activación de linfocitos.

Estado de enfermedad puede presentarse como resultado de una función inmunológica alterada, como por ejemplo reacciones de hipersensibilidad, enfermedad autoinmune o varios desórdenes de inmunodeficiencia. También puede haber desórdenes donde hay proliferación de un clono único de células plasmáticas secretoras de Ig, como ocurre en el mieloma múltiple y en la crioglobulinemia.

## Referencias

1. Vengelen-Tyler V. Technical Manual (Chapter 10). 12<sup>th</sup>ed. Bethesda, MD. AABB. 1996.
2. McPherson RA and Massey FD. Laboratory Evaluation of Immunoglobulin Function and Humoral Immunity. *En* McPherson RA and Pincus MR (eds). Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. Philadelphia, PA: Elsevier; 2011. P 899-913.
3. Mollison PL, Engelfriet CP y Contreras M. Blood Transfusion in Clinical Medicine (Chapter 3). 9<sup>th</sup> ed. Cambridge, MA. Blackwell Scientific Publications. 1993.
4. Market E and Papavasiliou N. V(D)J Recombination and the Evolution of the Adaptive Immune System. 2003; PLoS Biology 10.1371/journal.pbio.0000016. Disponible en: <http://www.plosbiology.org/article>
5. Roux KH. Immunoglobulin Structure and Function as Revealed by Electron Microscopy. *Int Arch Allergy Immunol.* 1999;120:85-99.
6. McPherson RA and Massey FD. Overview of the Immune System and Immunologic Disorders. *En* McPherson RA and Pincus MR (eds). Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. Philadelphia, PA: Elsevier; 2011. P 845-50.
7. Rajkumar SV and Kyle RA. Plasma Cell Disorders. *En* Goldman L and Ausiello D (eds). Cecil Medicine. Philadelphia, PA: Elsevier; 2007. P1426-36.
8. Zimring JC and Spitalnik SL. Molecular Biology and Immunology in Transfusion Medicine. *En* Roback JD, Grossman BJ, Harris T, and Hillyer CD. Technical Manual. Bethesda, MD: AABB Press; 2011. P 293-325.
9. Crow AR and Lazarus AH. IVIG: Potential Mechanisms of Action. Lazarus AH and Semple JW(eds). Immunoglobulin Therapy. Bethesda, MD: AABB Press; 2010. P 43-65.
10. Van der Schoot C. The Clinical Use of Anti-D. Lazarus AH and Semple JW(eds). Immunoglobulin Therapy. Bethesda, MD: AABB Press; 2010. P 175-86.



## Sección III

# Prevención y riesgos de la transfusión





# Estado actual de la Hemovigilancia

EDUARDO MUÑIZ DÍAZ\*

## Historia y evolución de la Hemovigilancia

Dieciocho años después de la creación en Francia del primer sistema de Hemovigilancia (HV), la HV europea ha alcanzado su mayoría de edad. Los países miembros de la Unión Europea (UE) han puesto a punto un sistema de HV y se avanza en lo que debería devenir un sistema europeo de HV sostenido sobre criterios y directrices comunes. Paralelamente, la preocupación por el uso óptimo de la sangre y los componentes sanguíneos también se ha ido desarrollando, y en algunos países la tutela sobre este uso adecuado se realiza con el propio sistema de HV. Consolidado, aunque con diferentes grados, el hábito de notificar las reacciones y efectos adversos de la transfusión sanguínea, se ha

\* *Jefe de la División de Inmunohematología. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España. Presidente de la Comisión de Hemovigilancia de Cataluña, España. Asesor del Ministerio de Sanidad (Madrid) para la Hemovigilancia en Europa. Miembro del "Working group on definitions" de la Comisión Europea, Bruselas, Bélgica.*

abierto una nueva etapa en la que HV y uso óptimo apuestan por un desarrollo común en el que las múltiples sinergias entre uno y otro proceso impacten positivamente en la calidad y seguridad de los componentes sanguíneos y del acto transfusional.<sup>1</sup>

El término HV fue por primera vez utilizado en Francia en 1991 en analogía al término ya existente de “farmacovigilancia”. Deriva del vocablo griego *hema* (sangre) y del vocablo latino *vigilans* (vigilancia). A finales de los años ochenta la creciente preocupación por las enfermedades transmisibles por transfusión condujo en Francia a crear unos comités de transfusión, encargados de tutelar el proceso de la transfusión y la seguridad transfusional. Estos comités sentaron las bases que hicieron posible tres años más tarde, en 1994, establecer el primer sistema estatal de HV (<http://afssaps.sante.fr>). El objetivo fundamental de la HV era y es detectar y analizar cualquier reacción o efecto adverso de la transfusión para poder implementar medidas correctoras que impidan, siempre que sea posible, su recurrencia (Tabla 1).

Dos años después, en 1996, se crea en el Reino Unido el sistema de HV que conocemos como SHOT (Serious Hazards Of Transfusion) (<http://www.shotuk.org>). A diferencia del sistema francés –más complejo en su estructura, gubernamental y de notificación obligatoria–, el sistema SHOT aboga por un modelo no gubernamental patrocinado por los colegios profesionales y las sociedades científicas, una estructura más simple y la notificación voluntaria de tan sólo las reacciones y efectos adversos graves de la transfusión. Aunque muy diferentes, ambos sistemas han venido

siendo modelos de referencia en los que se han basado los programas de HV que posteriormente han ido implementando otros países dentro y fuera de Europa.<sup>2</sup>

**Tabla 1.** Objetivos de la Hemovigilancia.

1.	Conocer las reacciones y efectos adversos de la transfusión (pacientes, donantes, componentes sanguíneos), su prevalencia y las causas responsables de los mismos.
2.	Conocer, en cada momento, la parte o las partes de la cadena transfusional más vulnerables.
3.	Introducir las acciones correctoras y preventivas pertinentes.
4.	Disponer de un documento de referencia, respetado por nuestras autoridades sanitarias que contribuya a establecer periódicamente una política racional de asignación de recursos (económicos, técnicos y humanos) de acuerdo con las necesidades reales detectadas por el programa de Hemovigilancia.

En España hizo falta que las diecisiete comunidades autónomas (CCAA), que tienen transferidas las competencias sanitarias desde el gobierno central, implementaran su propio sistema de HV para poder hablar de un sistema estatal de HV, y que no es más que la suma de los distintos programas autonómicos de HV.<sup>3</sup> En 2004 España presentó su primer informe de HV en el escenario europeo, pero todavía con datos parciales, porque no fue hasta 2009 cuando se sumó la última comunidad autónoma (CA) al sistema estatal de HV. El Ministerio de Sanidad, como autoridad competente en Europa, ha venido coordinando los distintos programas, elaborando un informe anual y suministrando a la Comisión Europea (CE) los datos que regularmente se solicitan. Aunque el grado de implantación y el avance de la HV en las diversas CCAA ha sido y es heterogéneo, podemos considerar que la

HV en España constituye hoy en día una herramienta integrada en el conjunto de actividades desarrolladas por los centros y servicios hospitalarios de transfusión para garantizar la calidad y la seguridad transfusional.

La aparición de la Directiva 2002/98/CE, que fija las normas de calidad y seguridad de la sangre y de los componentes sanguíneos,<sup>3</sup> y muy especialmente el surgimiento de la Directiva 2005/61/CE, también llamada coloquialmente Directiva de HV<sup>4</sup> –que regula la notificación de las reacciones y efectos adversos de la transfusión, así como la trazabilidad de los componentes sanguíneos–, han sido dos elementos claves para impulsar el desarrollo de la HV y acelerar la creación de programas de HV en los países miembros de la UE. El cambio más sobresaliente introducido por ambas directivas es la obligatoriedad tanto de disponer de un sistema de HV en todos los países de la UE como de las notificaciones.

Gracias a este impulso legal, a finales de 2007 los países con mayor tiempo de permanencia en la UE (Francia, Reino Unido, Dinamarca, Finlandia, Irlanda, Luxemburgo, Bélgica, Austria, Suecia, Holanda, Grecia, Portugal, España e Italia), junto a otros de incorporación más reciente, ya disponían de un sistema de HV (Tabla 2). Actualmente todos los países ya han implementado en alguna medida su propio sistema de HV, pero falta armonizar los diferentes sistemas, de manera que toda la información obtenida por los países de la UE refleje objetivamente el estatus de la calidad y de la seguridad de la sangre y de los componentes sanguíneos en Europa.<sup>1,2</sup>

**Tabla 2.** Año de inicio de la Hemovigilancia en los países de mayor permanencia en la Unión Europea.

Francia	1994
Reino Unido	1996
Dinamarca	1998
Alemania	1999
Finlandia	1999
Irlanda	1999
Luxemburgo	1999
Bélgica	2002
Austria	2003
Suecia	2003
Holanda	2003
España	2004
Portugal	2005
Grecia	2005
Italia	2007

Un elemento que también ha contribuido a difundir la cultura de la HV en Europa y a homologar la labor desarrollada por los diferentes países ha sido la llamada Red Europea de HV (EHN, European Haemovigilance Network) –actualmente Red Internacional de HV (IHN) (<http://www.ihn-org.net>)–. Creada en 1997 por iniciativa de los profesionales interesados en esta temática, la IHN ha sido, hasta la entrada en vigor de la Directiva 2005/61/CE, la organización europea aglutinante de toda la información generada por los distintos sistemas de HV.<sup>6</sup> Los objetivos perseguidos por la IHN han sido promover el desarrollo de la HV, centralizar las notificaciones de alerta rápida, conseguir la homogeneización progresiva de los diferentes programas e intercambiar experiencias entre los países miembros a través de una reunión anual de carácter itinerante. Con el cambio de denominación en 2009 se dio entrada oficial a países que hasta aho-

ra participaban e intervenían en calidad de miembros asociados, como Canadá, Japón, Australia y Estados Unidos. En el curso de la última reunión celebrada en Amsterdam en 2011 se presentó el símbolo de la HV, que corresponde a un león, ya que este animal permanece siempre atento a cuanto acontece a su alrededor, duerme poco y cuando lo hace sus ojos siguen abiertos (Figura 1).



**Figura 1.** El león, símbolo de la Hemovigilancia. Imagen procedente de la edición ilustrada del libro *Idea principis christiano politici*, de Saavedra (Bruselas, 1649).

Uno de los aportes más relevantes de la IHN, en colaboración con el Working Party en HV de la Sociedad Internacional de Transfusión Sanguínea (ISBT, International Society of Blood Transfusion), ha sido la estandarización de las definiciones de las reacciones y efectos adversos de la transfusión y las complicaciones de la donación. Las complicaciones de la donación de sangre

fueron validadas y aprobadas por la IHN y la ISBT en 2008. El documento que las recoge (*Standard for surveillance of complications related to blood donation*) puede ser consultado en la página web de ambos organismos ([www.ISBT-web.org/www.ihn-org.net](http://www.ISBT-web.org/www.ihn-org.net)).

Igualmente, las definiciones de las reacciones y efectos adversos de la transfusión pueden consultarse en la dirección [www.ihn-org.com/wp-content/uploads/2011/06/ISBT-definitions-for-non-infectious-transfusion-reactions.pdf](http://www.ihn-org.com/wp-content/uploads/2011/06/ISBT-definitions-for-non-infectious-transfusion-reactions.pdf).

Estas definiciones llevan incorporada una nueva estrategia para la evaluación del grado de gravedad y del grado de imputabilidad de las reacciones y efectos adversos observados.

Finalmente, las definiciones en torno a las incidencias que pueden producirse durante el procesamiento de la sangre, la preparación y el suministro de los componentes sanguíneos han sido adoptadas por la propia CE, ya que este tipo de incidentes, alineados con lo que podemos considerar la calidad y la seguridad de los componentes sanguíneos, son competencia legal y exclusiva de esta Comisión. Un comité de expertos constituido para tal efecto continúa trabajando en la redacción de un documento final que incluya estas definiciones y exprese de forma inequívoca el tipo de reacciones y efectos adversos ligados a la calidad y seguridad de los componentes sanguíneos que deben ser notificados a la CE.

## Estructura y función del sistema de Hemovigilancia

Actualmente definimos HV como “el conjunto de procedimientos organizados de vigilancia relativos a los efectos y reacciones adversas o inesperadas

que pueden producirse a lo largo de toda la cadena transfusional, desde la extracción de sangre y componentes sanguíneos hasta el seguimiento de los receptores, todo ello con el objetivo de prevenir y tratar su aparición o recurrencia”.

A menudo los sistemas de HV comienzan centrando su atención en las reacciones y efectos adversos de la transfusión, pero el objetivo final es abarcar también las complicaciones

que sufren los donantes y los incidentes que se producen durante los procesos de selección del donante, extracción, análisis, procesamiento y distribución de la sangre.

La experiencia ha demostrado que el buen funcionamiento y desarrollo de un programa de HV entraña una serie de elementos que deben ser tenidos muy en cuenta, en especial al establecer las bases del programa (Tabla 3):

**Tabla 3.** Diez claves fundamentales para el éxito de un programa de Hemovigilancia.

1.	Definiciones muy claras y consensuadas de las reacciones y efectos adversos, grados de gravedad e imputabilidad.
2.	Documentos de notificación comunes.
3.	Debe existir un responsable del tema en cada servicio hospitalario de transfusión y en cada centro de transfusión.
4.	El procedimiento de notificación y los circuitos deben ser conocidos por todas las partes implicadas, muy especialmente en situaciones que exijan una notificación urgente.
5.	Se debe de garantizar que el objetivo no es punitivo.
6.	Confidencialidad de la procedencia de las notificaciones.
7.	Informe anual de las reacciones y efectos adversos registrados con la máxima difusión posible: notificadores, prescriptores y autoridades sanitarias.
8.	Implementar las acciones correctoras y preventivas.
9.	Evaluación regular del grado de participación y de notificación, así como de los resultados conseguidos tras la implementación de medidas correctoras (¡Comité hospitalario de transfusión!).
10.	Redacción de guías, recomendaciones y protocolos específicos.

1. **El sistema de HV debe diseñarse con arreglo a las características sanitarias, organizativas, geográficas e institucionales propias de cada país.** La situación de España en este sentido es ejemplar, ya que la división territorial y administrativa del país en 17 CCAA, con competencias sanitarias transferidas desde

el gobierno central, obligó a diseñar un programa estatal suma de los diferentes programas autonómicos a fin de respetar esta peculiaridad política.

2. **Debe existir una estrecha cooperación entre los diferentes elementos participantes:** Centros de transfusión donde estén creados, bancos

de sangre o servicios de transfusión hospitalarios y usuarios de la transfusión (médicos prescriptores y enfermeras responsables de la transfusión de los pacientes). Esta colaboración es indispensable para que las notificaciones se realicen de forma sistemática, se investiguen en detalle las causas de todos aquellos incidentes cuya recurrencia puede evitarse y se disponga de los datos suficientes que nos permitan analizar el grado de imputabilidad real entre la transfusión y la reacción o el efecto adverso observado. Es necesario que en cada uno de estos estamentos exista una persona responsable de la HV, imprescindible en el caso del centro de transfusión y del servicio hospitalario de transfusión.

3. **Los Comités hospitalarios de transfusión** deben desempeñar un papel muy importante como dinamizadores del programa e impulsores de las medidas correctoras y preventivas adoptadas.
4. **Debe disponerse de un manual de HV** que incluya las definiciones de las reacciones y efectos adversos de la transfusión, las complicaciones de la donación y de cuantos aspectos de la cadena transfusional quieran vigilarse. Este manual garantiza la homogeneidad en el diagnóstico de las diversas complicaciones a notificar, y por ende en los resultados del análisis de la información. El manual debe difundirse no sólo entre los profesionales de los centros y servicios de transfusión sino también entre médicos prescriptores y enfermería.

5. **El análisis de la información debe garantizar la confidencialidad y el anonimato de los centros remitentes.** Todos los participantes en el programa deben tener la seguridad de que la información suministrada no podrá ser utilizada para una acción legal o de tipo disciplinario.
6. **La información, una vez analizada y sistematizada, debe retornar a los notificadores en forma de un informe anual que incluya recomendaciones y medidas correctoras o preventivas en los casos que sea pertinente.** La eficacia de estas medidas debe ser examinada regularmente, o como mínimo evaluada en los informes sucesivos. Los resultados del informe deben instar a la elaboración de guías, protocolos o procedimientos de trabajo que contribuyan a aumentar la calidad de la transfusión.

A estos elementos cabría añadir, desde la experiencia vivida en España, la importancia de **disponer de un grupo de trabajo en HV** constituido por especialistas en medicina transfusional, que en la fase inicial actuaron como un motor muy importante para difundir la importancia e interés de los programas de HV.<sup>3</sup> Este grupo fue a la vez responsable de elaborar todos los documentos, registros o formularios de notificación, que acabaron confluyendo en el Manual de Hemovigilancia. **Los formularios de notificación**, aún vigentes y comunes con otros programas europeos, fueron los siguientes:

1. Reacciones hemolíticas agudas y retardadas.
2. Reacción febril y/o hipotensiva.



3. Reacción alérgica/anafiláctica.
4. Edema pulmonar: cardiogénico y no cardiogénico.
5. Púrpura postransfusional.
6. Enfermedad del injerto contra el huésped asociada a transfusión.
7. Contaminación bacteriana (reacciones sépticas).
8. Infección postransfusional vírica.
9. Hemosiderosis transfusional.
10. Errores en la administración de componentes.
11. Incidentes sin efecto/Casi incidentes.
12. Reacciones adversas en donación.
13. Incidentes en la preparación de componentes sanguíneos.

La información recogida en las notificaciones debe incluir datos del paciente, o donante, datos del componente y el grado de gravedad e imputabilidad de la reacción observada.

**La identificación del paciente** debe incluir al menos la fecha de nacimiento, el sexo y un número de identificación exclusivo. Deben consignarse los principales signos y síntomas de los diversos efectos adversos conocidos, las pruebas de laboratorio realizadas para documentar la reacción y la evolución del paciente.

**Los datos relacionados con el componente** deben incluir el número de unidad y el código relativo a la donación y al donante. Se debe indicar el tipo de componente (hematíes, plaquetas, plasma, otros), el tipo de donación del que procede el componente (de sangre total, de aféresis), otras características (irradiado, desplasmalizado), condiciones y duración del almacenamiento antes de la transfusión.

**El grado de gravedad** se cuantifica con arreglo a la siguiente escala:

(0): Ausencia de signos y síntomas.

(1): Signos inmediatos sin riesgo vital para el paciente y resolución total de la complicación.

(2): Signos inmediatos con riesgo vital.

(3): Morbilidad de larga duración.

(4): Muerte del paciente.

(NC): No constan datos relativos a la gravedad, o no se han podido recabar.

Para cuantificar **el grado de imputabilidad** existente entre la reacción observada y el componente sanguíneo se emplea la siguiente escala:

(0): “Sin relación”. El efecto adverso observado está aparentemente relacionado con la transfusión, pero hay evidencia de que el componente no es el responsable.

(1): “Posible”. El efecto adverso observado está aparentemente relacionado con la transfusión, pero podría ser debido a otra causa distinta a la transfusión.

(2): “Probable”. El efecto adverso observado no parece explicable por otra causa distinta a la transfusión.

(3): “Seguro”. Se ha probado que el efecto adverso observado se debe o muy probablemente puede deberse a la transfusión.

(NC): “No consta”. No constan datos relativos a la imputabilidad en la notificación, o no se han podido recabar.

(NE): “No evaluable”. Los datos son insuficientes para evaluar la imputabilidad.

Un aspecto importante del sistema de HV es **el circuito de “alerta”**. Se trata del procedimiento a seguir para la notificación rápida de aquellos efectos o reacciones indeseables que puedan

afectar a más de un donante o receptor, a fin de actuar en cada caso con la máxima celeridad y eficacia. Un ejemplo paradigmático de la necesidad de emplear este circuito corresponde a los casos de receptores que han adquirido una infección supuestamente transmitida por un componente sanguíneo que nos obliga a localizar a los restantes receptores o aquellos componentes sanguíneos que todavía no se hubieran transfundido. En otro contexto, los problemas, probados o potenciales, asociados a los materiales (bolsas, reactivos) y equipos empleados en el procesamiento de los componentes sanguíneos también podrían ser motivo de una alerta rápida que permitiera la comunicación inmediata de esta información a los centros que pudieran estar utilizando los mismos equipos, y así proceder a su retirada provisional. En Europa ha venido funcionando el circuito de “Alerta” rápida en el seno de la IHN gestionado por la que ha sido en Luxemburgo la sede de la secretaría de esta organización.

Otro concepto ligado al programa de HV es el de **trazabilidad total de los componentes sanguíneos**. Se entiende por trazabilidad la capacidad de identificar al receptor de cada componente sanguíneo, y a la inversa, a todos los donantes que han intervenido en la transfusión de un determinado paciente. La trazabilidad no queda garantizada por el hecho de conocer el destinatario teórico de un componente sanguíneo, sino que es necesaria la confirmación en el punto de destino conforme el paciente ha sido finalmente transfundido con el componente previsto para él. Igualmente, en el caso de que el paciente sufra algún tipo de complicación, ésta debe ser registrada

y notificada de inmediato al servicio de transfusión. La importancia de esta parte de la HV se refleja en que la Directiva 2005/61/CE subraya la obligatoriedad de disponer de la trazabilidad total de los componentes sanguíneos junto a la de notificar las reacciones y efectos adversos de la transfusión. Las dificultades para mantener un nivel de trazabilidad óptimo en el ámbito hospitalario han contribuido en algunos casos a la práctica de una HV más activa en la que el servicio de transfusión desplaza a una persona para conocer de primera mano el destino final de cada componente y las posibles incidencias surgidas en la cabecera del paciente. Esta figura es lo que en la literatura anglosajona se denomina *transfusion officer* y en España se conoce como *enfermera de HV*, a quien también se le encomiendan otros cometidos relacionados con la seguridad del paciente y la calidad transfusional (investiga y reporta las reacciones y efectos adversos, redacta y revisa los procedimientos de administración segura de la sangre y las guías de uso de los componentes sanguíneos, y participa activamente en los programas de formación, entrenamiento y cualificación del personal que transfunde).

### Los riesgos de la transfusión sanguínea según los programas de Hemovigilancia y medidas correctoras implementadas

Desde los primeros informes anuales de HV emitidos por Francia y el Reino Unido se evidenció que los riesgos actuales de la transfusión sanguínea están asociados principalmente a las reacciones

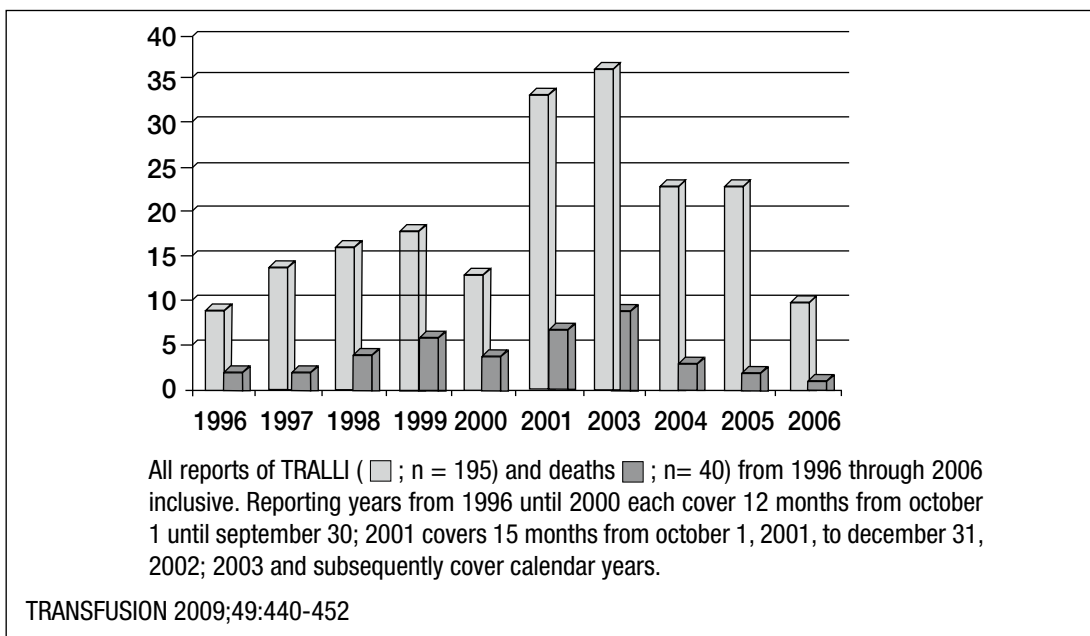
transfusionales de mecanismo inmune y a los errores en la administración de los componentes sanguíneos (EAC).<sup>7-10</sup> En el primer grupo la lesión pulmonar aguda asociada a la transfusión (LPA-AT), denominada TRALI (*transfusion related acute lung injury*) por los anglosajones, se ha impuesto como una de las reacciones transfusionales más graves, con tasas de morbilidad y mortalidad muy elevadas en todos los países. En el grupo de EAC se ha comprobado que la deficiente, insuficiente o negligente identificación de los pacientes en el momento de la extracción o en el de administración del componente es la principal causa de error. Lejos de la percepción ciudadana del riesgo, todavía ligada a las enfermedades transmisibles por transfusión, año tras año, la HV europea viene demostrando que las complicaciones más graves y frecuentes de la transfusión sanguínea se producen en el último tramo de la cadena transfusional, en el ámbito hospitalario, y más concretamente en la cabecera del paciente.

El programa inglés SHOT, en una reciente revisión,<sup>10</sup> refiere algunos de los resultados obtenidos tras la implementación de diferentes medidas destinadas a reducir o evitar las principales reacciones y efectos adversos de la transfusión:

1) En el caso de los EAC el Reino Unido exige desde el 2004 que el personal que transfunde disponga de un certificado oficial que acredite su competencia tras realizar un curso de formación y capacitación para la administración de sangre y componentes sanguíneos, el cual incluye las nociones necesarias para la segura extracción de las muestras

y la correcta administración de los componentes sanguíneos.

- 2) Por otra parte, los errores de identificación se han ido reduciendo a medida que se han ido mejorando los sistemas de identificación de los pacientes, fundamentalmente con la ayuda de pulseras identificativas con código de barras. Ambas medidas han resultado especialmente efectivas, pues se ha reducido el número de errores de grupo ABO y el de las reacciones hemolíticas subsiguientes.
- 3) El uso de plasma para transfusión procedente exclusivamente de donantes masculinos no transfundidos también ha implicado una notable reducción del número de casos de LPA-AT,<sup>11</sup> con 22 casos anuales en 2003, 13 en 2004 y tan sólo 6 en 2005 (Figura 2). Resultados similares en otros países como Holanda (<http://tripnet.nl>) o Canadá (<http://phac-aspc.gc.ca/hcai-iamss/tti-it>), incluidos los obtenidos en la comunidad autónoma de Cataluña (Tabla 4), sirvieron para que el Ministerio de Sanidad español recomendara recientemente el uso exclusivo de plasma de donante masculino para transfusión ([www.mspsi.es](http://www.mspsi.es)).
- 4) Otra medida de mejora en la seguridad rápidamente adoptada por múltiples países en Europa es desechar los primeros mililitros de sangre durante la extracción, lo que ha contribuido a reducir significativamente las reacciones sépticas debidas a la contaminación por bacterias presentes en la zona de venopunción del donante.<sup>10</sup>



**Figura 2.** Evolución de la morbilidad y mortalidad por LPA-AT en el Reino Unido en el período 1996-2006. La medida fue introducida en octubre de 2003 y a partir de 2004 se observa una marcada disminución del número de casos y de las muertes producidas por esta complicación.

**Tabla 4.** Número de casos de LPA-AT en Cataluña (España) producidos según el tipo de componente sanguíneo en los períodos 2003-2008 y 2009-2010, respectivamente. Con la transfusión exclusiva de plasma de donante de sexo masculino se observa en el periodo 2009-2010 la total desaparición de los casos de LPA-AT producidos por plasma.

Periodo	No. Casos	Plasma	Plaquetas	Hematíes	Multicomponentes	Tasa
2003-2008	48	15 (31%)	9 (19%)	18 (37%)	6 (13%)	1/43.000
2009-2010	7	0	0	6 (86%)	1 (14%)	1/96.000

A medida que los errores de identificación de los pacientes se han ido corrigiendo han comenzado a emerger otro tipo de errores, entre los que destacan los de prescripción. En este contexto se sitúa una de las reacciones adversas que ha ido creciendo año tras año en los informes de HV y que en el 2010 alcanzó su cuota más alta de morbilidad y mortalidad: el edema

pulmonar cardiogénico por sobrecarga de volumen. Quienes lo sufren son por lo general pacientes de edad avanzada y con factores predisponentes que reciben un volumen de sangre inadecuado o a una velocidad inadecuada, o ambas cosas. En España, Reino Unido y Francia fallecieron por esta complicación 1, 6 y 4 pacientes, respectivamente, y muchos más sufrieron morbilidad por este

motivo<sup>12-14</sup> (Tabla 5). Esta situación, que han puesto en evidencia diferentes programas de HV, ha conducido a recomendar que el informe de HV llegue necesariamente y con toda seguridad a

los médicos prescriptores de la transfusión, quienes deben tomar conciencia de la necesidad de establecer pautas específicas de administración de la sangre para este tipo de pacientes.

**Tabla 5.** Número de casos de edema pulmonar cardiogénico, número de componentes transfundidos, tasa y número de éxitos en España, Reino Unido y Francia en 2010.

2010	España	Reino Unido	Francia
No. Casos	38 (2,4%)	40 (2,7%)	246 (4,2%)
No. Componentes transfundidos	1.974.526	2.898.425	3.039.073
Tasa de edema pulmonar cardiogénico por componentes	1/51.961	1/72.460	1/12.353
Éxitos	1	6	4

Se ha confirmado en estos años la relevancia de los comités hospitalarios de transfusión activos como eje de mejora de la calidad y de la seguridad transfusional. Su papel de impulsores de medidas correctoras acordes con los resultados de la HV y la evaluación periódica de la eficacia de estas medidas es una pieza fundamental para el éxito de la HV hospitalaria.<sup>10</sup>

## El futuro de la Hemovigilancia

La HV nos sigue brindando la oportunidad de conocer cuáles son las complicaciones de la transfusión sanguínea en cada momento, cuál es el nivel de calidad y seguridad de nuestros componentes y cuál el grado de seguridad de nuestros procedimientos de trabajo. Sin embargo, si sólo nos limitamos a coleccionar notificaciones que una vez analizadas suelen llevarnos a unas mis-

mas conclusiones, no solo estaremos desaprovechando la oportunidad de mejora que aportan los programas de HV sino que además estaremos incumpliendo uno de sus objetivos fundamentales: implementar medidas correctoras y preventivas, y posteriormente analizar su eficacia. No caben mejores acciones que éstas para retroalimentar el sistema de HV, para convencer a los profesionales implicados en el proceso de la transfusión de la razón de ser del programa de HV y en definitiva para garantizar el buen funcionamiento del programa.

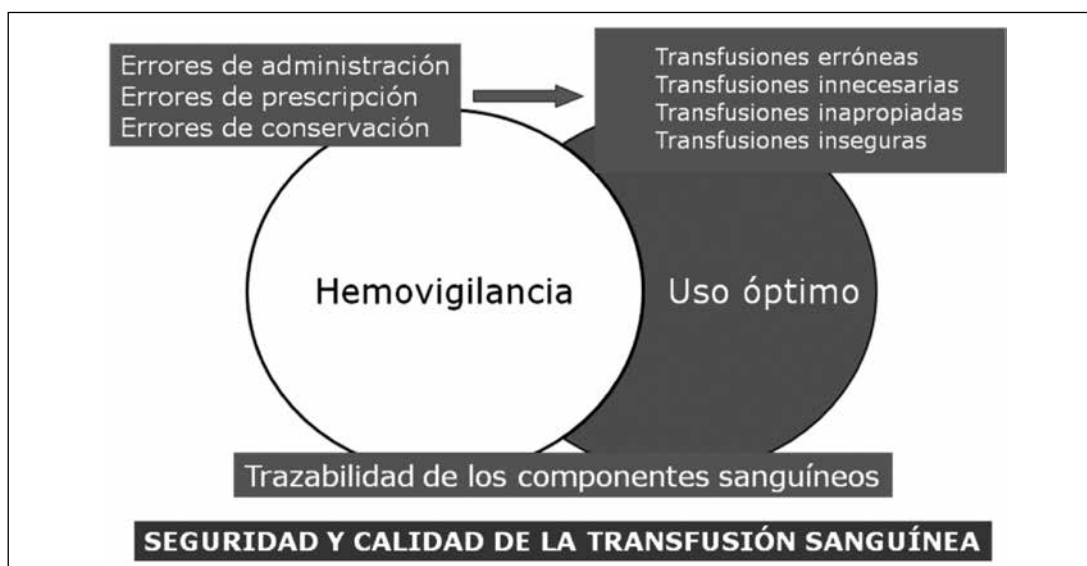
Transcurridos los primeros dieciocho años de HV en Europa, el balance es positivo, pero sigue pendiente alcanzar algunas de las metas marcadas inicialmente. La trazabilidad total de los componentes sanguíneos no es un tema resuelto ni interpretado por igual, y probablemente para conseguirlo será necesario cambiar de una HV pasiva a

una HV activa que nos lleve a la cabecera del paciente para controlar cada transfusión y el destino final de cada componente. El uso apropiado de la sangre y de los componentes sanguíneos ya ha sido adoptado por la IHN como uno de los temas prioritarios para los próximos años; una decisión previsible y necesaria una vez arraigado el hábito de detectar, registrar y analizar cuáles son las principales reacciones y efectos adversos de la transfusión sanguínea.<sup>1</sup> En un foro de la revista *Vox Sanguinis*<sup>15</sup> se interrogó recientemente a dieciséis países del mundo –nueve de ellos europeos, incluida España– sobre la conveniencia de incorporar el “uso óptimo al programa de HV del país. Tres países (Irlanda, Holanda y Bélgica) ya lo habían efectuado, y los restantes países, con la excepción de tres que no se lo habían planteado, consideraban que la sinergia entre HV y uso óptimo podía rendir excelentes resultados en aras de seguir mejorando la calidad de la transfusión sanguínea. Ciertamente, los programas de HV tienen el hábito de coleccionar y analizar la información y de introducir medidas correctoras de acuerdo con los resultados de los informes que anualmente se elaboran. Este marco puede ayudar a desarrollar e implementar estrategias de “uso óptimo de los componentes sanguíneos y posteriormente a evaluar la eficacia de las medidas implementadas. En su estructura actual los programas de HV ya recaban información estrechamente ligada al uso óptimo, ya que los errores de administración, de prescripción y de conservación de los componentes sanguíneos que se recogen y analizan nos dan una medida de las transfusiones erróneas, inapropiadas,

innecesarias e inseguras que se realizan, lo que es contrario al “uso óptimo, si entendemos como tal el uso seguro, eficaz y eficiente de la sangre y los componentes sanguíneos<sup>15,16</sup> (Figura 3). La tasa 2010 de errores en la administración de componentes sanguíneos indica que en España 1 de cada 13.000 componentes sanguíneos y en Reino Unido en 1 de cada 5.000 componentes sanguíneos no tuvo el uso seguro, eficaz y eficiente esperado (Tabla 6). Por otra parte, el nivel de trazabilidad conseguido por un servicio hospitalario de transfusión también es un índice del grado de uso óptimo adoptado. Pero es que, además, una buena selección de indicadores de uso óptimo incorporados a un nuevo formulario de HV podría informarnos regularmente de la evolución del uso óptimo en el ámbito hospitalario, lo cual permitiría implementar medidas correctoras y recomendaciones acordes con los resultados observados.

En el curso de los últimos años se han ido desarrollando otros sistemas similares al de HV para velar por la seguridad y calidad de otros productos, como las células progenitoras, los tejidos y los órganos empleados para trasplante.<sup>1</sup> El término “biovigilancia” se acuñó en Estados Unidos para referirse a esta nueva actividad (<http://aabb.org/programs/biovigilance>), que se ha nutrido de la experiencia organizativa y funcional de la HV para su implementación y desarrollo.

Una de las posibles reflexiones a realizar cuando la HV europea ha alcanzado su mayoría de edad es que actualmente disponemos de componentes sanguíneos muy seguros, por lo menos en los países más desarrollados, pero la trans-



**Figura 3.** Relación entre Hemovigilancia y uso óptimo. Los errores de administración, prescripción y conservación de los componentes sanguíneos recogidos por el programa de hemovigilancia nos informan de las transfusiones erróneas, innecesarias, inapropiadas e inseguras que se realizan, y ésta es una medida del grado de uso óptimo alcanzado.

**Tabla 6.** Errores en la administración de componentes sanguíneos y tasa de errores por componentes transfundidos en España y Reino Unido en 2010.

	España	Reino Unido
Transfusiones erróneas	62* (42%)	89 (16%)
Transfusiones inapropiadas o innecesarias	26 (18%)	110** (20%)
Transfusiones inseguras	6 (4%)	239 (44%)
Transfusiones con componentes que no cumplen con requisitos previstos	53 (36%)	111 (20%)
Total	147	549

No. componentes transfundidos	1.974.526	2.898.425
Tasa de errores por componentes	1/13.432	1/5.280

\* 2 Éxitos por RHA por incompatibilidad ABO

\*\* 2 Éxitos: 1 Prescripción incorrecta (EAP), y 1 Soporte transfusional inapropiado

fusión sanguínea, el acto transfusional y todo lo que acontece en el escenario hospitalario todavía no ha alcanzado el mismo grado de seguridad. No hay duda de que uno de los grandes retos del fu-

turo, sino el mayor, es conseguir que la calidad y la seguridad de la transfusión sanguínea sea equiparable a la de los componentes sanguíneos que hoy en día producimos.

## Referencias

1. De Vries RRP, Faber JC, Strengers PFW. Haemovigilance: an effective tool for improving transfusion practice. *Vox Sanguinis* 2011;100(1): 60-67.
2. Faber JC. Worldwide overview of existing haemovigilance systems. *Transfus Apher Sci* 2004; 31: 99-100.
3. Muñiz Diaz E. Hemovigilancia. En Estándares de acreditación en transfusión sanguínea. Editado por Asociación española de Hematología y Hemoterapia. Acción Médica, editorial. Barcelona 2006.
4. Directive 2002/98/CE setting standards of quality and safety for the collection, testing, processing, storage and distribution of human blood and blood components. *Official J Eur Communities*, 8/2/2003.
5. Directive 2005/61/EC as regards traceability requirements and notification of serious adverse reactions and events. *Official J Eur Communities*, 1/10/2005.
6. Faber JC. Work of the European Haemovigilance Network (EHN). *Transfus Clin Biol* 2004;11:2-10.
7. Andreu G, Morel P, Forestier F, Debeir J, Rebibo D, Janvier G et al. Haemovigilance network in France: organization and analysis of immediate transfusion incident reports from 1994 to 1998. *Transfusion* 2002; 42: 1356-1364.
8. Williamsom LM. Serious hazards of transfusion annual report 1996-1997. ISBN 0 9532 789 0 5, 1998.
9. Muñiz-Diaz E. Los riesgos de la transfusión en su punto justo. *Boletín de la SETS* 2003(3):1-2.
10. Stainsby D. Haemovigilance, not just a register. The impact of transfusion safety initiatives in the UK. *ISBT Science Series* 2007; 2: 189-193.
11. Chapman CE, Stainsby D, Jones H, Love E, Massey E, Win N et al. Ten years of hemovigilance reports of transfusion-related acute lung injury in the United Kingdom and the impact of preferential use of male donor plasma. *Transfusion* 2009;49(3): 440-452.
12. Pérez M. Informe estatal de Hemovigilancia 2010.
13. Steering group. Serious Hazards of Transfusion (SHOT). Annual Report 2010.
14. Agencie française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS) . Rapport annuel d Hémovigilance 2010.
15. Reesink HW, Panzer S, González CA, Lena N, Muntaabski P, Gimbatti S et al. Haemovigilance for the optimal use of blood products in the hospital. *Vox Sang* 2010;99:278-293.
16. McClelland B, Contreras M. Appropriateness and safety of blood transfusion. *BMJ* 2005;330:104-405.



# Importancia clínica y prevención de la aloimmunización de eritrocitos

ARMANDO CORTÉS BUELVAS\*

## Importancia clínica

Los pacientes expuestos a los antígenos eritrocitarios por transfusión, embarazo o trasplante pueden producir anticuerpos contra los aloantígenos expresados en los eritrocitos. Durante los trasplantes de órganos sólidos se emplea la inmunosupresión farmacológica para prevenir el rechazo del injerto; en contraste, esta medida no se utiliza durante la exposición a aloantígenos en la transfusión de sangre. Hoy en día, la práctica de la transfusión sanguínea es el único escenario clínico en el que los pacientes están expuestos de manera rutinaria a aloantígenos humanos, sin la precaución de prevenir la aloimmunización.

\* *Patólogo Clínico. Profesor Titular y Jefe del Departamento de Patología, Escuela de Medicina, Universidad del Valle, Cali. Director Hemocentro del Valle del Cauca, Cali. Director Servicio de Transfusión Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia.*

Estos aloanticuerpos pueden causar reacción transfusional hemolítica aguda (RHA) y reacción hemolítica tardía (RHT), morbilidad grave e incluso la muerte.<sup>1,2</sup>

La aloinmunización puede hacer más difícil la búsqueda de unidades compatibles, que se hace crítica en situaciones de emergencia, en especial cuando se trata de anticuerpos contra antígenos de alta incidencia o múlti-

ples aloanticuerpos. Por otra parte, en pacientes con anemia de células falciformes (ACF), la respuesta inflamatoria ocasionada por una reacción a la transfusión puede promover la crisis de células falciformes, eventos cerebro-vasculares y otras complicaciones graves de la enfermedad. Igualmente, los aloanticuerpos pueden estar involucrados en casos de enfermedad hemolítica del feto y el recién nacido. (Ver Cuadro 1)

#### Cuadro 1. Problemas asociados a la aloinmunización

1. Retarda la disponibilidad de sangre en emergencias (anticuerpos contra antígenos de alta incidencia y múltiples aloanticuerpos).
2. A largo plazo, riesgo de RHT (por error, limitación técnica, el fenómeno de evanescencia de anticuerpos o decisión médica en situaciones críticas).
3. RHT, a veces relacionada con eventos que amenazan la vida.
4. En la anemia de células falciformes (ACF), la respuesta inflamatoria promueve las crisis, eventos cerebro-vasculares y otras complicaciones graves.
5. Enfermedad hemolítica del recién nacido y el feto.
6. La incidencia de la RHT se ha estimado en 1/2.500 a 1/14.000 unidades transfundidas.<sup>3,4</sup>

Varios estudios relacionan la RHT como una complicación clínica menor en la mayoría de las situaciones.<sup>5-7</sup> Por el contrario, hay informes de casos y series que documentan la gravedad de la RHT y los efectos perjudiciales que empeoran la condición clínica de los pacientes y producen o contribuyen a la muerte.<sup>8-11</sup>

Con frecuencia, el paciente que experimenta una RHT padece de enfermedades concomitantes subyacentes críticas, y la RHT agrava la condición clínica y en ocasiones puede motivar el uso de procedimientos para aclarar el diagnóstico y recibir terapias invasivas o agresivas, que representan un riesgo mayor. Es el caso de situaciones como la investigación de una fiebre postoperatoria, disminución del hematocrito, o ictericia de

causa desconocida que puede dar lugar a cambios de antibióticos y de la línea venosa central, estudios por imágenes, e inclusive cirugías de exploración.<sup>12-14</sup>

No existe hasta hoy ninguna investigación prospectiva que presente las diversas complicaciones clínicas e intervenciones resultantes de la aloinmunización eritrocitaria.

La frecuencia reportada de aloinmunización de eritrocitos varía considerablemente y se ha estimado del 2% al 21%.<sup>15-20</sup>

Una gran dificultad puede surgir cuando se produce la aloinmunización a múltiples antígenos de eritrocitos; el manejo clínico de esta situación requiere una estrecha cooperación entre los servicios clínicos y el banco de sangre.

Además, la inducción de aloanticuerpos se puede asociar con la formación de autoanticuerpos,<sup>15,16</sup> que aunque raras veces son clínicamente significativos, en ocasiones pueden ser hemolíticos, y jugar un papel clave en el fenómeno poco conocido de la hiperhemólisis postransfusional.<sup>21</sup> Por último, la presencia de autoanticuerpos complica considerablemente las pruebas serológicas y puede producir retrasos en el suministro de unidades compatibles.

Con la exclusión de los pacientes con anemia de células falciformes y talasemia, es muy escasa la literatura que investiga la relación entre la aloinmunización de eritrocitos y los resultados clínicos.

Estudios recientes dan cuenta de dos fenómenos que pueden ocasionar un aumento del riesgo de RHT: la evanescencia de anticuerpos, que se refiere a la desaparición de los anticuerpos del suero del individuo con el paso del tiempo; se estima que al cabo de diez años todos los anticuerpos pueden desaparecer y aun cerca del 50% lo hacen después de seis meses, si no ha habido una exposición nueva al antígeno implicado.<sup>22</sup>

Por otro lado, cerca del 20% de los individuos aloinmunizados presentan más de un anticuerpo y estos pueden ser persistentes o evanescentes.<sup>23</sup> (Ver en el Cuadro 2 las implicaciones de estos fenómenos).

**Cuadro 2.** Impacto clínico de la evanescencia, concurrencia y aloinmunización múltiple.<sup>21,24-28</sup>

- Consume tiempo y dinero, y hace difícil la interpretación de los resultados de las pruebas pre-transfusionales y disponer de glóbulos rojos compatibles.
- El 25%-64% de los anticuerpos no son detectados con el tiempo.
- Interfiere en la detección e identificación de nuevos aloanticuerpos.
- Se pueden inducir autoanticuerpos, potencialmente hemolíticos, y terminar con el desarrollo de hiperhemólisis.
- Aumenta el riesgo de recibir una transfusión incompatible, y causar RHA o RHT

Al momento, ningún método de tamizaje puede detectar todos los anticuerpos eritrocitarios clínicamente significativos, lo cual motiva a desarrollar mejoras para la detección de anticuerpos, como también evaluar nuevas estrategias que aseguran la compatibilidad entre el donante y el receptor.

En un informe de la FDA de los Estados Unidos sobre las muertes por reacción hemolítica aguda asociada a la transfusión entre 1976 y 2008 se observa una disminución de los casos atribuibles a incompatibilidad ABO del 13.1% a

5.5%, mientras que se han incrementado las debidas a anticuerpos diferentes del sistema ABO de 2.7% a 8.5% (Ver Figura 1), al punto que durante el periodo 2005-2008, los anticuerpos no-ABO fueron implicados en el 60.7% de todas las RHT fatales, e involucraron a los siguientes anticuerpos: anti-Jk<sup>b</sup>, -Jk<sup>a</sup>, -Kell, -Fy<sup>a</sup> -Fy<sup>b</sup>, -E, -Js<sup>a</sup>, -I y múltiples.<sup>29</sup>

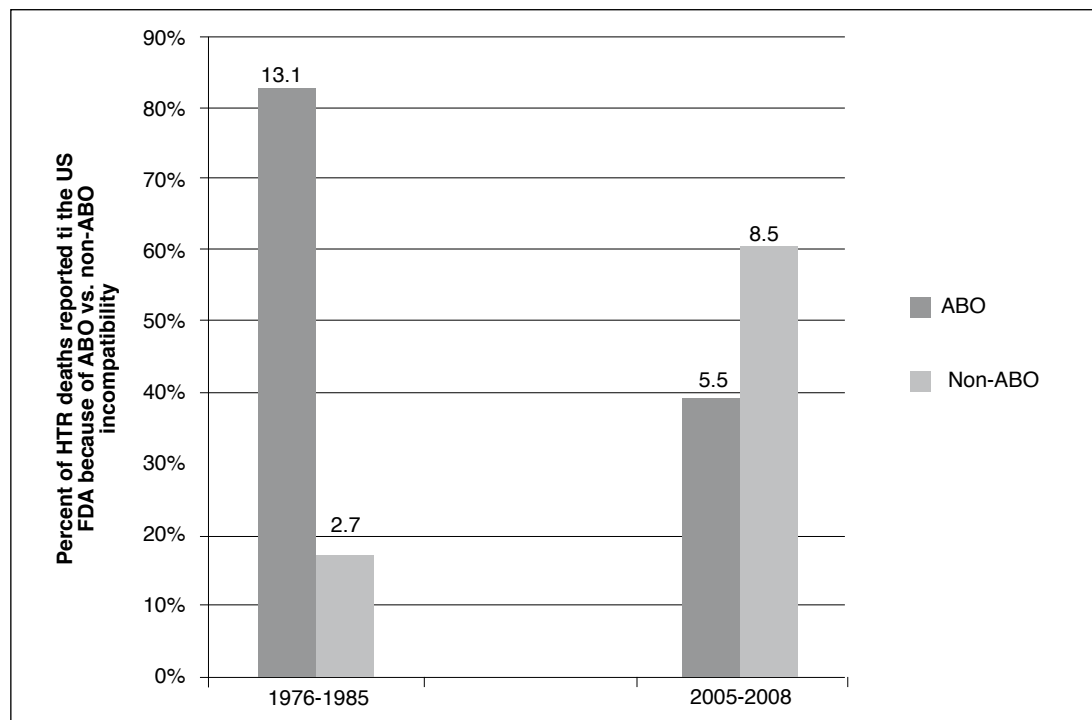
Se ha considerado que la RHT es probablemente la reacción menos reconocida y menos reportada por la disociación temporal de causa y transfusión.<sup>3,7</sup>

No es posible seguir desconociendo a la RHT como causa de una morbilidad seria y aun de la muerte.<sup>10, 11</sup>

Por otro lado hay más de cincuenta antígenos de eritrocitos, asociados con enfermedad hemolítica del feto y el recién nacido (EHRNF). Los anticuerpos asociados frecuentemente con afectación fetal severa incluyen el anti-D, -c, y -Kell (K1)

En un estudio realizado en Manitoba (Canadá) orientado a identificar los casos de aloinmunización materna durante un periodo de 26 años, se incluyeron 1022 casos de aloinmunización no-D, un mortinato hidrópico por anti-c, exanguin-

no-transfusión o transfusión intrauterina por anti-c y -K, -k, -Fy<sup>a</sup>, -Jk<sup>a</sup>, -CCw y -E. Este estudio ha permitido mostrar el impacto de la profilaxis con globulina inmune Rh en la reducción de la aloinmunización por anti-D, productos de la concepción afectados o mortinatos, y cómo la práctica del tamizaje serológico con la prueba Coombs indirecta, tanto en madres D negativas como D positivas, ha aumentado la detección de los casos de aloinmunización por anticuerpos diferentes de anti-D y disminución de los casos de muerte por estos anticuerpos, atribuibles a la intervención obstétrica temprana<sup>30</sup>. (ver Tabla 1)



**Figura 1.** Muerte por RHA asociada a transfusión (1976-2008) informadas a Food Drugs Administration (FDA) en Estados Unidos de América (USA)

**Tomado de:** Vamvakas EC, Blajchman MA. Blood Still Kills: Six Strategies to Further Reduce Allogeneic Blood Transfusion-Related Mortality Transfusion Medicine Reviews, 2010, 24 (2): 77-124.<sup>29</sup>

En los últimos años hemos presenciado lo que se denomina un cambio en la cara de la incidencia de la aloinmunización; mientras la aloinmunización para antígeno D ha disminuido de 16.5 a 2.7 casos/1000 por efecto de la aplicación de la globulina inmune Rh, la aloinmunización para Kell aumentó de 1.6 a 3.2/1000, superando la debida a anti-D, lo cual podría estar relacionado con el no uso de sangre Kell-negativa

en la transfusión de niñas y mujeres en edad fértil; el 75% de las mujeres con anti-K en USA tienen historia de transfusión.<sup>31</sup>

La probabilidad de incompatibilidad feto materna en caso que la madre porte un anticuerpo no anti-D se ha estimado en 47%, aunque puede incrementarse a 56% si se demuestra que el padre porta el antígeno correspondiente.<sup>32,33</sup>

**Tabla 1.** Patrón de aloinmunización materna en Manitoba.<sup>30</sup>

Periodo (años)	Anti-D	Productos afectados por anti-D	% de Muertes por anti-D	No anti-D	Productos afectados por no anti-D	% de Muertes por No anti-D
62-67	194	149	13	14	10	4
67-72	141	89	7	44	8	2.5
72-77	69	37	3	57*	10	2
77-82	33	15	4	87	15	-
82-88	28	13	5	88	17	-

La severidad de la EHRNF por aloanticuerpos No-D en la mayoría de los casos es leve a moderada y las severas o muy severas son debidas a anti-c, -E, -K.<sup>32</sup>

La afectación leve por aloanticuerpos no-D, usualmente no requiere ninguna intervención; las moderadas se tratan con fototerapia y/o transfusión; mientras que las severas requieren exanguino-transfusión y las muy severas transfusión intrauterina (TIU) o terminan en hidrops y muerte, lo cual se ha estimado corresponde al 14-22% de los casos.<sup>34</sup>

La mortalidad perinatal por anti-c se ha calculado en 1/250.000 nacidos, mientras la debida a anti-D es de 1/25.000 nacidos.<sup>35</sup>

La historia natural de la EHRNF anti-K se ha determinado en una experiencia

mayor de 40 años, encontrándose que en el 82% de los casos los neonatos de madres aloinmunizadas por anti K son K1 (-) o no tienen registro de enfermedad; mientras el 11% presentan abortos espontáneos o inducidos; el 7% resultan afectados, de los cuales el 2.6% tuvieron afectación severa, 1.4% requieren TIU y/o exanguino-transfusión y 1.1% fallecen (la mayoría hidrópicos).<sup>31,36</sup>

Un estudio holandés de casos y controles demostró que la transfusión ha sido el factor de riesgo independiente más importante para la aloinmunización no-D en la embarazada (OR 16.7; 95% CI: 11.4-24.6) por encima de la multiparidad (OR 3.2; 95% CI: 1.8-5.8); en especial para anti-K (OR 96.4; 95%-CI: 56.6-164.1) y anti-c.<sup>37</sup>

Este hallazgo ha sido igualmente observado en otros estudios, donde el 77% y 78% de las mujeres aloinmunizadas por anti-K y anti-c habían sido transfundidas,<sup>38-40</sup> y que el antecedente de transfusión era más prevalente entre las embarazadas que tuvieron los recién nacidos más afectados.<sup>40</sup>

El impacto de la aloinmunización no-D en USA se puede evidenciar en el curso de las cerca de los cuatro millones de gestaciones que se registran anualmente, en las cuales se observa que hay 2.5 veces más embarazos complicados por aloinmunización No-D que por -D y que cerca de 1000 fetos requieren transfusión intrauterina por aloinmunización No-D, mientras solo cerca de 400 por anti-D.<sup>41-44</sup>

No podemos seguir desconociendo la importante morbi-mortalidad asociada a la aloinmunización No-D en mujeres con expectativa obstétrica, en la cual la transfusión tiene una gran implicación

### Susceptibilidad y mecanismos de inducción de aloanticuerpos por transfusión de eritrocitos

En general, para que un paciente forme un aloanticuerpo contra un aloantígeno de eritrocitos se requiere que: 1) el receptor sea genéticamente negativo para el antígeno, 2) los eritrocitos transfundidos porten el antígeno extraño, y 3) el receptor tenga moléculas MHC de clase II capaces de presentar el péptido con variantes de aminoácidos presentes solo en los eritrocitos del donante; y probablemente 4) determinantes genéticos diferentes de antígenos de eritrocitos y de MHC de clase II, 5) factores ambientales que afectan a la unidad donada, y

6) factores ambientales que afectan al receptor de la transfusión.

Se han descrito varios cientos de antígenos diferentes de grupo sanguíneo; la distribución de cada uno de ellos varía en las poblaciones humanas. Así, una unidad de sangre contiene eritrocitos que expresan una gran variedad de aloantígenos, cada uno de los cuales puede potencialmente inducir una respuesta de anticuerpos. Por tanto, es sorprendente que la aloinmunización humoral a la transfusión de eritrocitos sea relativamente rara. De hecho, cuando se administran unidades de eritrocitos ABO-D compatibles, sólo aproximadamente el 3% de los pacientes transfundidos se aloinmuniza, incluso después de múltiples transfusiones de eritrocitos.<sup>6,45</sup>

La frecuencia de la aloinmunización varía tanto con el antígeno en cuestión como con la genética subyacente y la fisiopatología del receptor.<sup>46-51</sup>

Los estudios clínicos han contribuido de forma sustancial a la comprensión de la aloinmunización de eritrocitos en poblaciones de pacientes transfundidos en múltiples ocasiones.<sup>29,52,53</sup> Los pacientes con ECF que han recibido múltiples transfusiones, muestran tasas de aloinmunización sustancialmente mayores en el rango de 19% a 43%.<sup>33,54,55</sup> Para la explicación de este fenómeno se han postulado: la disparidad demográfica entre los donantes/receptores, altas tasas de transfusión, alteraciones inmunobiológicas, debidas a la enfermedad y desequilibrio de genes inmunorreguladores asociados al gen globina. Es probable que el número de transfusiones tenga una importante influencia.<sup>2,45,56-58</sup>

La influencia de la disparidad en la distribución de fenotipos, diferencias étnicas o raciales entre donantes y pacientes en la aloinmunización se evidencia en un estudio que muestra altas tasas de aloinmunización entre individuos afroamericanos con ECF en el Reino Unido (76%) que reciben transfusiones donadas principalmente por caucásicos, en comparación con pacientes en Jamaica que son transfundidos con donaciones de afroamericanos (2.6%).<sup>59</sup> Igualmente, la alta mezcla racial africana en donantes de sangre y pacientes brasileños con hemoglobinopatías, explica el menor riesgo de aloinmunización por Kell en pacientes con ECF.<sup>60</sup>

Una mayor exposición a los antígenos de eritrocitos; es decir, a más transfusiones de sangre mayor riesgo de aloinmunización.<sup>2,20,46</sup> Es así como se ha estimado que el 4% de los pacientes desarrollan anticuerpos antes de recibir la décima unidad;<sup>56</sup> entre el 2.5-8% después de diez unidades,<sup>61,62</sup> y entre 6.5-14% antes de recibir la unidad número cuarenta.<sup>56,62</sup> Un estudio reciente propuso que el número de transfusiones es sólo un determinante débil de la formación de aloanticuerpos,<sup>19</sup> pero no quedó claro cómo fueron tratados los pacientes incluidos con hemoglobinopatías y los niños. Estos grupos de pacientes, junto con aquellos que previamente han formado anticuerpos, es probable que reciban un más amplio apareamiento fenotípico de la sangre transfundida, lo cual disminuye el riesgo de aloinmunización.

Los pacientes con aloinmunización previa tienen una respuesta inmune potenciada contra aloantígenos de eritrocitos, en comparación con la respuesta al

primer anticuerpo.<sup>27,63</sup> Se ha observado, desde hace décadas, que los aloanticuerpos de eritrocitos no están distribuidos equitativamente entre los pacientes transfundidos. Por el contrario, los pacientes que han hecho un aloanticuerpo contra un antígeno de grupo sanguíneo tienen más probabilidad de producir anticuerpos adicionales con las transfusiones posteriores. En contraste, los receptores que no se inmunizan con el evento inicial de la transfusión no parecen responder a los antígenos extraños durante las transfusiones posteriores. Esto es cierto, incluso para el antígeno D altamente inmunogénico. Estos dos grupos han sido llamados “respondedores” y “no respondedores”, respectivamente. Se desconoce si el grupo no respondedor simplemente no monta una respuesta inmune a la transfusión eritrocitaria, o si corresponde a un fenómeno de tolerancia, que incide en las tasas de aloinmunización con la transfusión. Esta observación tiene implicaciones prácticas para el manejo de los pacientes que requieren terapia de transfusión crónica (ver Cuadro 3)

Aunque los nuevos fármacos inmunosupresores son más selectivos y más potentes, se desconoce el efecto de estos agentes en las tasas de aloinmunización; sin embargo, se ha documentado que los pacientes presensibilizados que han recibido tratamiento inmunosupresor mantienen la capacidad de responder a la presentación de nuevos antígenos de eritrocitos, con una regularidad similar a las personas no inmunosuprimidas pero también presensibilizadas,<sup>63</sup> siendo la tendencia hacia la aloinmunización muy similar a la de las poblaciones no inmunizadas, en casos donde la dis-

**Cuadro 3.** Eventos relacionados con el concepto de respondedores y no respondedores.<sup>6,27,52,53,56,63-65</sup>

- El riesgo de inmunización aumenta con el número de eventos transfusionales,
- Los que forman anticuerpos lo hacen tempranamente
- Si no desarrollan anticuerpos en las transfusiones iniciales, es poco probable que los desarrollen posteriormente.
- Algunos individuos D (-) no desarrollan anti-D después de múltiples transfusiones con glóbulos rojos D (+).
- La probabilidad de que un individuo desarrolle anticuerpos adicionales aumenta de 2-20 veces y el 30% desarrollan múltiples anticuerpos, independiente de que reciban terapia inmunosupresora intensiva.

paridad en la frecuencia del antígeno entre donantes y pacientes favorece la aloinmunización.

Las variaciones tan amplias en los rangos de aloinmunización descritos pueden obedecer a las diferencias en el diseño de los estudios, en las poblaciones estudiadas, y en el número exacto de transfusiones recibidas antes de la formación de anticuerpos, antecedentes de transfusión antes del estudio, especificidad de anticuerpos, seguimiento y consideración del fenómeno de evanescencia, lo cual es a menudo desconocido o mal documentado. Para conocer la incidencia real de la aloinmunización se requiere el diseño de un estudio con seguimiento prospectivo a la transfusión en los pacientes sin historia de transfusión y no inmunizados, hasta la aparición del primer aloanticuerpo, si se considera que el tiempo que se necesita para que los anticuerpos puedan ser detectados es diferente, y una vez formado, pueden desaparecer, dependiendo del tipo de antígeno.<sup>52</sup> De lo contrario, puede dar lugar a una serie de aloinmunizaciones no detectadas y por lo tanto, los resultados podrían ser subestimados y alterar la incidencia real.

También se han mencionado factores de herencia en pacientes con ECF

relacionados con la expresión del antígeno HLA-B35, el cual parece conferir mayor riesgo de aloinmunización;<sup>58</sup> de igual manera, el polimorfismo rs660 en el gen Ro52 se ha presentado como un marcador de eficiencia en la inducción de tolerancia y mayor capacidad de respuesta inmune contra los antígenos de eritrocitos lo cual incide con la cinética de la aloinmunización en pacientes con anemia drepanocítica.<sup>67</sup> En teoría, rs660C/T disminuye la expresión de TRIM21 con pérdida del feedback negativo, e incremento de la aloinmunización. En contraste, estudios en roedores muestran que la disminución de la expresión TRIM21 no produce un incremento significativo de las tasas de aloinmunización.<sup>68</sup> Aún se desconoce cuál puede ser el valor predictivo de estas determinaciones y no se ha demostrado que existan rasgos genéticos para regular la aloinmunización de eritrocitos. Dilucidar el poder predictivo de tales características en relación con la aloinmunización de eritrocitos puede proporcionar estrategias más eficaces para disminuir el riesgo de aloinmunización en pacientes que requieren terapia de transfusión crónica.

Por otro lado, se ha estimado que es necesaria la activación del sistema



inmune innato para que pueda haber un desarrollo de la respuesta inmune adaptativa. Por lo general, la inmunidad innata se activa por la exposición a estímulos químicos presentes en los patógenos microbianos, pero ausentes en los tejidos humanos.<sup>69</sup> De esta manera, el sistema inmunológico distingue los antígenos extraños que no deben incitar una respuesta inmune y los antígenos extraños que probablemente representan entidades peligrosas como son las bacterias patógenas. Algunas unidades de eritrocitos se pueden contaminar con bacterias. Aunque el desarrollo de las pruebas de detección rápida ha disminuido las tasas de reacción séptica, el número de bacterias contaminantes necesaria para activar la inmunidad innata puede ser inferior a la requerida para producir síntomas clínicos. Además, a pesar de la detección de muchos agentes patógenos peligrosos y el aplazamiento de donantes enfermos, sigue siendo probable que algún virus humano se transmita por transfusión. Aunque estas infecciones sean limitadas, asintomáticas o por gérmenes no patógenos, estos pueden activar los receptores del sistema inmune innato.

Estudios que exploran los efectos de la lesión por almacenamiento en animales han demostrado que la transfusión de sangre almacenada, no fresca, se constituye en una tormenta de citoquinas pro-inflamatorias y que la inoculación de antígenos HOD (lisozima huevo gallina, ovalbúmina, y Duffy<sup>b</sup>) induce una respuesta de anti-HOD mayor cuando el animal recibe sangre de más de catorce días de almacenamiento, en comparación con los que reciben la sangre fresca.<sup>70,71</sup> Aunque se desconoce el efecto de

los aditivos en las bolsas para colectar productos sanguíneos; en general, se considera que es posible que la “lesión por almacenamiento” contribuya a la activación inmune.<sup>72</sup> Desafortunadamente aún las unidades a transfundir no son monitorizadas para inductores de inflamación o de la inmunidad innata, pero se conoce que en pacientes con ECF; un alto nivel IL-10 y bajo de Interferon-gamma reduce el riesgo de aloinmunización, y se ha observado un incremento de IL-4 en linfocitos CD4+ en individuos respondedores.<sup>77</sup> No se ha definido aún si estas sustancias se puedan usar como bio-marcadores de individuos “respondedores”.

Estos datos sugieren que hay variables independientes específicas de los receptores, y no de las unidades donadas, lo que aparentemente contradice la influencia en la inmunogenicidad de factores como la duración del almacenamiento.<sup>72</sup> Sin embargo, las hipótesis parecen complementarse al pretender que los factores de almacenamiento afectan la aloinmunización, pero solo aquellos que pueden generar los anticuerpos, es decir, los “respondedores”.

En este sentido, la activación de la inmunidad innata puede estar determinada por factores propios del receptor. En animales, la inflamación afecta dramáticamente las tasas de aloinmunización en receptores. Se ha inoculado a un grupo de ratones con una lisozima de huevo de gallina (HEL) que corresponde a un modelo de grupo sanguíneo, y a otro grupo además se les aplicó ácido policitídílico (poly[I:C]), un inductor de inflamación, obteniéndose diez veces más respuesta aloinmune en este último grupo de animales que en

el primer grupo inoculados solo con solución salina.<sup>74-76</sup> En estos modelos animales, es evidente que la inflamación afecta dramáticamente las tasas de aloinmunización en los receptores de la transfusión; mientras los diversos subtipos de inflamación pueden tener efectos diferentes.<sup>77</sup>

Dada la amplia gama de trastornos que requieren transfusión, y las enfermedades concomitantes que pueden afligir a un determinado receptor, la activación de la inmunidad innata puede ser una función del receptor de la transfusión.

En humanos, los pacientes que desarrollan reacción febril no hemolítica postransfusión (que implican un proceso inflamatorio en el receptor) se han asociado con mayores tasas de aloinmunización;<sup>78</sup> sin embargo, en este pequeño estudio solo se utiliza la fiebre como un marcador de la inflamación. Por tanto, no es claro cuál es el papel de la inflamación en la aloinmunización de eritrocitos en humanos, ni se ha explicado un aumento de la susceptibilidad a la aloinmunización en pacientes con neoplasias sólidas, postrasplante de células

madres alogénico o diabetes mellitus, y un efecto protector en alteraciones linfoproliferativas y aterosclerosis.<sup>79</sup>

La identificación de los factores que aumentan las tasas de aloinmunización puede permitir el desarrollo de las pruebas de pesquisa e intervenciones terapéuticas para disminuir estas tasas.

## Estrategias para la evitar la inmunización a antígenos eritrocitarios

Dentro de las estrategias aceptadas para la transfusión en pacientes con enfermedad de células falciformes se incluye el fenotipaje extendido al momento del diagnóstico, antes de la transfusión, y por lo general incluye la selección de la unidad a transfundir basada en el fenotipaje extendido o limitado para todas las transfusiones. La transfusión de sangre seleccionada basada en el fenotipaje ha demostrado ser una importante estrategia preventiva para evitar la aloinmunización, aproximándose a un índice de 0% para el desarrollo de anticuerpos contra eritrocitos.<sup>80</sup> (ver Tabla 2)

**Tabla 2.** Prevención primaria de la aloinmunización

Autor	# de pacientes	# Transfusiones	% Aloinmunizados	# aloanticuerpos /100 unidades transfundidas	Estrategia
Ambruso <sup>81</sup> Aygün <sup>86</sup> Castro <sup>84</sup> Sakhalkar <sup>85</sup>	85 140 351 387	1.941 3.239 8.939 14.263	34 37 35 31	3.4 2.8 3.8 1.7	Cruce ABO y D
Vichinsky <sup>83</sup> Sakhalkar <sup>85</sup>	61 113	1.830 2.345	11 5	0.5 0.26	Cruce ABO, D y C, E, K
Tahhan <sup>80</sup>	40	SD	0	SD	Cruce ABO, D, C, E, K, S Fya, Fyb

Los esfuerzos para proporcionar sangre fenotipada pueden ser obstaculizados por la dificultad en la obtención de suficientes unidades de eritrocitos y el costo de hacer coincidir el fenotipaje extendido.<sup>5,81</sup> En algunas institucio-

nes, se les garantiza a los pacientes con anemia de células falciformes y talasemia, unidades coincidentes para los antígenos del sistema Rh y K para reducir la incidencia de inmunización (ver Cuadro 4)

**Cuadro 4.** Estrategias para prevenir la aloinmunización eritrocitaria en pacientes con ECF y talasemia<sup>5,81,95</sup>

*Opción 1:* Sangre con fenotipaje extendido (C, c, E, e, K, Fya, Fyb, S, s, JKa, Jkb) en todos los pacientes desde la primera prestación del servicio

*Opción 2:* Fenotipaje limitado (C, c, E, e y Kell) en todos los pacientes desde la primera prestación del servicio

- Barreras para proporcionar sangre fenotipada:
  1. Dificultad en la obtención de suficientes unidades frescas
  2. Costo de hacer coincidir el fenotipaje extendido

*Opción 3:* Solo los pacientes aloinmunizados deben recibir unidades Ag negativos o fenotipaje extendido, o genotipo después del primer anticuerpo

- No se puede distinguir entre respondedores de no respondedores, el 75% de los pacientes no se aloinmunizan a pesar de la politransfusión
- La detección de aloanticuerpo inicial (o autoanticuerpo) es indicador de respuesta inmune, y mayor riesgo de desarrollar anticuerpos

En todos los casos se debe evitar la falta de homogeneidad en el origen étnico del paciente y donante y proporcionar sangre compatible fresca.

Sopesar beneficios de prevención para algunos, con posibilidad de suministro inadecuado para los demás.

Requiere una excelente comunicación y una gestión eficaz de las Uds Ag-negativo por parte de los servicios de transfusión y proveedores.

Una alternativa al fenotipaje extendido (Kell, Kidd y Duffy) en algunas instituciones para todos los pacientes en protocolos de transfusión crónica, es considerar sólo la coincidencia ABO y D durante el tratamiento inicial. Una vez que el paciente hace un alo-anticuerpo de eritrocitos, se ofrece sangre compatible con fenotipaje extendido, en todas las transfusiones posteriores; en cambio, los pacientes que no desarrollan alo-anticuerpos continúan recibiendo los eritrocitos sólo compatibles para ABO y D.

Esto ahorra recursos al no proporcionar la sangre con fenotipaje extendido a

supuestos “no respondedores”. Sin embargo, da como resultado el desarrollo de al menos un anticuerpo de eritrocitos, lo que habría podido evitarse si se usara fenotipaje extendido desde el principio. Cuando surgen los anticuerpos, las unidades de eritrocitos deben coincidir para cada nuevo anticuerpo, siendo más difícil encontrar sangre compatible. Por lo tanto, hay ventajas y desventajas en cada enfoque.

Un objetivo de la práctica de la medicina transfusional clínica es tratar de limitar la aloinmunización de eritrocitos. En algunas poblaciones de

pacientes, esta prevención puede ser de poco interés clínico cuando se trata, por ejemplo, de reanimar un paciente con pérdida masiva de sangre o en una mujer sin expectativa obstétrica.

En otras condiciones clínicas, con diagnósticos diferentes a anemia drepanocítica, en general, solo se ofrece una mayor atención y vigilancia clínica del paciente. Debido a la rareza de la RHT severa, puede haber renuencia a seleccionar y transfundir sangre basada en el fenotipaje extendido.

Siempre que se considere el beneficio de hacer coincidir los eritrocitos acorde con el fenotipaje para evitar la aloinmunización, hay que sopesar los beneficios de la prevención en algunos pacientes con la posibilidad de un suministro inadecuado para los demás. Si se emplean unidades de eritrocitos antígeno-negativo para transfusión, tanto a los que pueden o no pueden llegar a desarrollar aloanticuerpos, puede disminuir el inventario disponible para un paciente que ya tenga varios aloanticuerpos. De por sí, la exigencia del suministro de sangre compatible con fenotipaje extendido en pacientes con anemia de células falciformes, requiere una gestión eficaz de las unidades antígeno-negativo por parte de los servicios de transfusión y proveedores de sangre.

En particular, cuando hay falta de homogeneidad entre el origen étnico de un paciente y la población de donantes, el suministro de sangre en una región puede comprometer la satisfacción de las necesidades de un solo paciente.

Además, la información actual sobre la lesión por almacenamiento de sangre ha cuestionado algunas de nuestras tradicionales prácticas de la transfusión.

Es concebible que la sangre fenotipada “vieja” sea menos óptima para el paciente que la sangre fresca no fenotipada. El compromiso de proporcionar sangre compatible fenotipada más fresca agravaría la situación de los inventarios.

La decisión de embarcarse en una norma de prevención de la aloinmunización de eritrocitos obliga al servicio de transfusión a aplicar de forma coherente la práctica y compromete a los proveedores de sangre para apoyarla constantemente.

Otra medida útil para evitar la aloinmunización es proporcionada por la disponibilidad de un inventario de grupos raros, los pacientes con ECF usan el 30% de estos inventarios,<sup>96</sup> igualmente se hace necesario el empleo de programas de reclutamiento activo y retención de donantes afroamericanos; en este sentido la Cruz Roja Americana presenta un “modelo para colegios y universidades”.<sup>97,98</sup>

Claramente, evitar la aloinmunización de eritrocitos será un beneficio para cualquier paciente. Sin embargo, hay que conservar un equilibrio entre las expectativas para mejorar la evolución de los pacientes a través de un programa de fenotipaje ampliado y su efecto en el inventario, las colectas de sangre, y otras funciones necesarias que compiten por los recursos.

Sin embargo, una experiencia en Hong Kong que permitió fenotipar todos los pacientes, y dar eritrocitos fenotipados (ABO, Rh, Kidd, Kell, MNS, y Miltenberger) sin pruebas pretransfusionales, permitió que el costo del fenotipaje fuese compensado con la eliminación de las pruebas de compatibilidad serológicas.<sup>82</sup>

Las plataformas de alto rendimiento para genotipo pueden mejorar el inventario disponible de donantes con genotipo extendido y aliviar la situación de los inventarios,<sup>23</sup> permiten la búsqueda de donantes y satisfacen la necesidad de pacientes altamente aloinmunizados con tipos raros,<sup>87</sup> e investigar los individuos recientemente transfundidos, o cuando no hay reactivos disponibles como anti-Js<sup>a</sup> y - Js,<sup>88</sup> identificar discrepancias entre eritrocitos fenotipados y los fenotipos probables con el beneficio de mejorar la supervivencia de los eritrocitos transfundidos y disminuir la frecuencia de la transfusión,<sup>89</sup> y son costo eficientes.<sup>63,90</sup>

Por lo pronto, se puede prevenir la aloinmunización con la administración de sangre fenotipada/genotipada coincidente a los pacientes que están particularmente en riesgo de aloinmunización, con base en sus factores de riesgo clínicos y de transfusión.

Un problema que afrontan los pacientes es la llamada “transfusión promiscua”, cuando acuden a diferentes centros de atención y les ofrecen estrategias de manejo no estandarizadas según las posibilidades del centro. En estos casos, la falta de disponibilidad de los registros de pruebas y transfusiones previas, colocan al paciente a riesgo de reacción hemolítica por el desconocimiento de los anticuerpos desarrollados que han podido desaparecer con el tiempo. Las experiencias de los registros regionales de anticuerpos irregulares, muestran cómo se pueden evitar posibles reacciones transfusionales al compartir los registros de anticuerpos entre varias instituciones.<sup>91</sup>

La estrategia de transfusión se simplificaría si se pudiera distinguir los respondedores de los no respondedores antes de la aloinmunización. El estudio de MHC puede comenzar a permitir este tipo de predicciones, por lo menos con los antígenos para los cuales las respuestas de anticuerpos son restringidos al HLA. Sin embargo, es necesario una mayor comprensión de la biología del fenómeno de respondedores/no respondedores para predecir y/o manipular las respuestas a los aloantígenos de eritrocitos e investigar la relación causal y el poder predictivo de estas variables.

Un problema adicional es la existencia de antígenos parciales, al presuponer que la reactividad positiva al reactivo de fenotipo refleja el estado de la totalidad de la molécula que porta el antígeno de grupo sanguíneo. En el caso de antígenos parciales, el donante y el receptor pueden compartir el epítotope reconocido por el reactivo, pero difieren en otras partes de la molécula, lo que facilita la aloinmunización. El genotipado de ADN es probablemente la única manera de manejar este tipo de situaciones.

En el caso del antígeno D, si no se puede evitar la exposición al antígeno, la aplicación de inmunoglobulina Rh puede prevenir la aloinmunización de pequeñas cantidades de eritrocitos D-positivos. Sin embargo, actualmente, no hay otros métodos aceptados para prevenir la aloinmunización a otros antígenos de grupos sanguíneos.

Aún no es claro si la leucorreducción incide en las tasas de aloinmunización; un estudio retrospectivo en Holanda, no muestra un efecto benéfico demostrado de la implantación de la leucorreducción universal en las tasas de aloinmu-

nización,<sup>92</sup> y en pacientes con talasemia los resultados son discordantes.<sup>93-95</sup>

En relación con la esplenectomía en animales, se ha demostrado el papel de los macrófagos esplénicos y las células dendríticas en la presentación de los antígenos de glóbulos rojos en condiciones de inflamación y cómo los mediadores inflamatorios en la infección viral potencian la aloinmunización, pero este efecto solo se logra en animales no esplenectomizados.<sup>75</sup> Se considera que es necesario un componente celular del bazo para la respuesta aloinmune. Aún no es claro el papel de IL-6 y el desarrollo de la aloinmunización.

Al momento no existe un marcador biológico que permita distinguir entre respondedores y no respondedores, no es claro el papel de la expresión del Ag HLA-B35, ni el polimorfismo rs660 en gen Ro52 como marcadores, o el incremento de IL-4 en CD4+

Por lo pronto, sabemos que el 75% de los pacientes no se aloinmunizan a pesar de la politransfusión, por tanto la detección de un aloanticuerpo inicial (o autoanticuerpo) es un indicador de respuesta inmune, y de un mayor riesgo de desarrollar anticuerpos.<sup>95</sup>

Además de determinar la probabilidad de que un receptor puede hacer aloanticuerpos, el hecho de conocer los receptores genéticos que predisponen a la aloinmunización puede proporcionar objetivos para la intervención terapéutica y ser beneficioso el empleo de medicamentos que modulen la respuesta inmune innata, algunos de los cuales ya están aprobados para uso humano en otras circunstancias clínicas similares. Si se aclara y define el papel protagónico de la inflamación en el riesgo de aloinmunización, el empleo de anti-inflamatorios

de forma concomitante con la transfusión podría disminuir las tasas de aloinmunización.

En el mismo sentido, si la “lesión por almacenamiento” es la causante de la inflamación, se espera que el empleo de las nuevas soluciones de almacenamiento pueda mitigar estos efectos, e impedir la aloinmunización.

## Conclusiones

Proveer sangre compatible para pacientes que reciben transfusión crónica, ECF, talasemia y mujeres con expectativa obstétrica es uno de los mayores retos de los servicios de transfusión y centros de donantes.

La aloinmunización podría ser evitada por la coincidencia exacta de las unidades donadas con el fenotipo del receptor.

Esta estrategia es laboriosa, cuesta y tiene una carga logística que puede dificultar la disponibilidad (debe ser coherente y comprometer a los proveedores).

Evitar la aloinmunización de eritrocitos será un beneficio para cualquier paciente (conservar el equilibrio entre expectativas para mejorar la evolución de los pacientes y su efecto en los inventarios y recursos).

La sangre fenotipada coincidente a pacientes en riesgo de aloinmunización, con base en sus factores de riesgo clínicos y de transfusión

Niñas y mujeres en edad reproductiva (< de 45 años) deben recibir prevención primaria del desarrollo de anticuerpos anti-eritrocitarios irregulares, con:

a. Aplicación de una política de transfusión selectiva

b. Evitar la exposición a antígenos c, E y K, previniendo la aloinmunización en más del 50% de los embarazos.

Se hace necesario una amplia investigación humana para evaluar el uso

potencial de estos enfoques en la medicina transfusional (Ver Cuadro 5). Tales cambios se deben basar idealmente en la investigación de resultados clínicos.

**Cuadro 5.** Límites y alcances de las estrategias de prevención de la aloinmunización de eritrocitos

<p><b>No podemos modificar:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• La antigenicidad.</li> <li>• Identificar los susceptibles con marcadores biológicos.</li> <li>• Evitar los procesos inflamatorios de base en receptores.</li> <li>• Esterilizar las unidades o eliminar virus (reducción de patógenos).</li> <li>• Esplenectomizar a los pacientes.</li> </ul> <p><b>No es claro el papel</b> Efectos de la leucorreducción. Efectos de los productos con aditivos. Efectos de anti-inflamatorios con la transfusión. Reducir el uso de sangre “vieja”.</p> <p><b>Podemos modificar</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Moderar las diferencias raciales entre donantes y receptores <ul style="list-style-type: none"> <li>- Promover la donación de afroamericanos</li> </ul> </li> <li>• Reducir el uso de transfusiones innecesarias <ul style="list-style-type: none"> <li>- Guías, auditorías de pertinencia</li> </ul> </li> <li>• Evitar la transfusión promiscua <ul style="list-style-type: none"> <li>- Programa para compartir la información entre instituciones</li> </ul> </li> <li>• Reducción de la exposición a antígenos carentes <ul style="list-style-type: none"> <li>- Fenotipaje ampliado o limitado, y manejo en centros especializados</li> </ul> </li> </ul> <p><b>Futuro</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Medicamentos que modulen la respuesta inmune innata, algunos aprobados para uso humano.</li> <li>• Anti-inflamatorios de forma concomitante con la transfusión</li> <li>• La profilaxis inmune, la “vacuna” para aloanticuerpos diferentes de D, no está en desarrollo</li> <li>• Nuevas soluciones de almacenamiento pueden mitigar “lesión por almacenamiento”</li> <li>• Ampliar la investigación de resultados clínicos para evaluar el uso potencial de estos enfoques en la medicina transfusional.</li> <li>• La inequívoca determinación del grupo sanguíneo del donante por oligohibridización y secuenciamiento, como también el genotipaje de receptores para la provisión de glóbulos rojos fenotipados serán integrados en los centros de sangre y servicios de transfusión.</li> <li>• La remoción o camuflaje de los antígenos eritrocitarios de la superficie de los glóbulos rojos donados por bioingeniería.</li> </ul>
---

## Referencias

1. Vichinsky EP, Earles A, Johnson RA, Hoag MS. Alloimmunization in sickle cell anemia and transfusion of racially unmatched blood. *N Engl J Med* 1990; 322:1617-21.
2. Rosse WF, Gallagher D, Kinney TR, Castro O. The cooperative study of sickle cell disease. Transfusion and alloimmunization in sickle cell disease. *Blood* 1990; 76:1431-7.
3. Pineda AA, Vamvakas CE, Gorden DL, Winters LJ, Moore BS. Trends in the incidence of delayed hemolytic and delayed serologic transfusion reactions. *Transfusion* 1999; 39:1097-1103 44
4. Combs MR, Arney RS, Telen MJ. Prevention and diagnosis of delayed hemolytic transfusion reactions. *Vox Sang* 2006; 91: 353-68.
5. Blumberg N, Ross K, Avila E, Peck K. Should chronic transfusions be matched for antigens other than ABO and Rho(D)? *Vox Sang* 1984; 47:205-8.
6. Heddle NM, Soutar RL, O'Hoski PL, Singer J, McBride JA, Ali MA, Kelton JG. A prospective study to determine the frequency and clinical significance of alloimmunization post-transfusion. *Br J Haematol* 1995; 91:1000-5.
7. Ness PM, Shirey RS, Thoman SK, Buck SA. The differentiation of delayed serologic and delayed hemolytic transfusion reactions: incidence, long-term serologic findings and clinical significance. *Transfusion* 1990; 30:688-93.
8. Pineda AA, Brzica SM Jr, Taswell HF. Hemolytic transfusion reaction. Recent experience in a large blood bank. *Mayo Clin Proc* 1978; 53:378-90.
9. Hillman NM. Fatal delayed hemolytic transfusion reaction due to anti-c + E. *Transfusion* 1979; 19:548-51.
10. Sazama, K. Reports of 355 transfusion-associated deaths: 1976 through 1985. *Transfusion* 1990; 30: 583-590.
11. Pineda, A. A., Taswell, H. F., Brizca, S. M., "Delayed hemolytic transfusion reaction. An immunologic hazard of blood transfusion", *Transfusion* 1978; 18:1-7.
12. Soper DE. Delayed hemolytic transfusion reaction: a cause of late postoperative fever. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 153: 227-8.
13. Takeuchi K, Suzuki S, Koyama K, Hatanaka R, Narita J, Odagiri S, Fukui K, Takashima K, Koie H. Delayed hemolytic transfusion reaction with anti-Jkb erythrocyte antibody after open heart surgery. *Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 41: 104-6.
14. Beauregard P, Blajchman MA. Hemolytic and pseudo-hemolytic transfusion reactions: an overview of the hemolytic transfusion reactions and the clinical conditions that mimic them. *Transfus Med Rev* 1994; 8:18499.
15. Abou-Ellella AA, Camarillo TA, Allen MB, et al.: Low incidence of red cell and HLA antibody formation by bone marrow transplant patients. *Transfusion* 1995; 35:931-935
16. Ameen R, Al SS, Al-Bashir A: Red blood cell alloimmunization among sickle cell Kuwaiti Arab patients who received red blood cell transfusion. *Transfusion* 2009; 49:1649-1654
17. Tormey CA, Fisk J, Stack G: Red blood cell alloantibody frequency, specificity, and properties in a population of male military veterans. *Transfusion* 2008; 48:2069-2076
18. de La Rubia J, Arriaga F, Andreu R, et al. Development of non-ABO RBC alloantibodies in patients undergoing allogeneic HPC transplantation. Is ABO incompatibility a predisposing factor? *Transfusion* 2001; 41:106-110
19. Higgins JM, Sloan SR: Stochastic modeling of human RBC alloimmunization: evidence for a distinct population of immunologic responders. *Blood* 2008; 112:2546-2553
20. Davies SC, McWilliam AC, Hewitt PE, et al: Red cell alloimmunization in sickle cell disease. *Br J Haematol* 1986; 63:241-245
21. Mota M, Bley C, Aravechia MG, et al. Auto-antibody formation after alloimmunization inducing bystander immune hemolysis. *Immunohematology* 2009; 25:9-12.
22. Tormey CA, Stack G. The persistence and evanescence of blood group alloantibodies in men transfusion 2009; 49:505-512
23. Tormey CA, Stack G. The characterization and classification of concurrent blood group antibodies *Transfusion* 2009; 49:2709-2718
24. Schonewille H, Haak HL, van Zijl AM. RBC antibody persistence. *Transfusion* 2000; 40: 1127-1131



25. Tormey CA, Fisk J, Stack G. Red blood cell alloantibody frequency, specificity, and Transfusion 2009; 49:505-51
26. Osby M, Shulman IA. Phenotype matching of donor red blood cell units for nonalloimmunized sickle cell disease patients. Arch Pathol Lab Med. 2005; 129:190-3.
27. Schonewille H, van de Watering LM, Brand A. Additional red blood cell alloantibodies after blood transfusions in a nonhematologic alloimmunized patient cohort: is it time to take precautionary measures? Transfusion 2006; 46:630-35.
28. Davenport RD. Hemolytic transfusion reactions. In: Popovsky MA, editor. Transfusion Reactions., 3rd ed. Bethesda, MD: AABB Press; 2007:1-56.
29. Vamvakas EC, Blajchman MA. Blood Still Kills: Six Strategies to Further Reduce Alloimmune Blood Transfusion-Related Mortality Transfusion Medicine Reviews, Vol 24, No 2 (April), 2010: pp 77-124
30. Bowman J. M.; Treatment options for the fetus with alloimmune hemolytic disease; Transfus Med 1990; 4: 191
31. McKenna DS, et ál. Management of pregnancies complicated by anti-Kell isoimmunization. Obstet Gynecol 1999; 93:667-73
32. Lenkiewicz B, Zupanska B. Significance of alloantibodies other than anti-D hemolytic disease of the fetus and newborn (HDF/N) Ginekol Pol. 2003;74:48-54
33. Koelewijn JM, Vrijkotte TG, Van der Schoot CE, et ál. Effect of screening for red cell antibodies, other than anti-D, to detect hemolytic disease of the fetus and newborn: a population study in the Netherlands. Transfusion. 2008;48:941-52
34. Van Dijk BA, Hirasing RA, Overbeeke MAM. Hemolytische ziekte van de pasgeborene en irregulaire-bloedgroepantagonisme in Nederland: prevalentie en morbiditeit. Ned Tijdschr Geneesk 1999; 143: 1465-9.
35. Clarke CA, Mollison PL. Deaths from Rh haemolytic disease of fetus and newborn, 1977-1987. J R Coll Phys. 1989; 23:181-184.
36. Lewis M, Bowman JM, Pollock JM, Lown B. Absorption of red cells from the... Obstet Gynecol 1992:79:239-44
37. Koelewijn JM. Risk factors for RhD immunization despite antenatal and postnatal anti-D prophylaxis. BJOG 2009; 116:655-64
38. Bowman JM, Pollock JM. Reversal of Rh alloimmunization. Fact or fancy? Vox Sang 1984; 47:209.
39. Wenk RE, Goldstein P, Felix JK. Kell alloimmunization, hemolytic disease of the newborn, and perinatal management. Obstet Gynecol. 1985; 66(4):473-6
40. Wenk RE, Goldstein P, Felix JK. Alloimmunization by hr'(c), hemolytic disease of newborns, and perinatal management. Obstet Gynecol. 1986; 67:623-626.
41. Public Health Service. Centers for Disease Control and Prevention congenital. Teratology 1993; 48:545-709.
42. Bowman JM. In: Creasy RK, Resnik R, eds. Maternal-fetal medicine. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1999:736-67.
43. Daffos F, Capella-Pavlovsky M, Forestier F. Fetal blood sampling during pregnancy with use of a needle guided by... Am J Obstet Gynecol 1985;153:655-602
44. ACOG educational bulletin. No. 227. Washington, D.C.: American College of Obstetricians and Gynecologists, 1996.
45. Hoeltge GA, Domen RE, Rybicki LA, et al: Multiple red cell transfusions and alloimmunization. Experience with 6996 antibodies detected in a total of 159,262 patients from 1985 to 1993. Arch Pathol Lab Med 1995; 119:42-45
46. Blumberg N, Peck K, Ross K, et ál.: Immune response to chronic red blood cell transfusion. Vox Sang 1983; 44:212-217
47. Chiaroni J, Dettori I, Ferrera V, et al. HLA-DRB1 polymorphism is associated with Kell immunization. Br J Haematol 2006;132:374-8.
48. Giblett ER. A critique of the theoretical hazard of inter vs. intra-racial transfusion. Transfusion 1961; 1:233-8.
49. Noizat-Pirenne F, Tournamille C, Bierling P, et ál. Relative immunogenicity of Fya and K antigens in a Caucasian population, based on HLA class II restriction analysis. Transfusion 2006; 46:1328-33.
50. Reviron D, Dettori I, Ferrera V, et al. HLA-DRB1 alleles and Jk(a) immunization. Transfusion 2005; 45:956-9.

51. Tormey CA, Stack G. Immunogenicity of blood group antigens: A mathematical model corrected for antibody evanescence with exclusion of naturally occurring and pregnancy-related antibodies. *Blood* 2009;114:4279-82.
52. Schonewille H, Haak HL, van Zijl AM. Alloimmunization after blood transfusion in patients with hematologic and oncologic diseases. *Transfusion* 1999; 39:763-71.
53. Schonewille H, Brand A. Does an alloimmune response to strong immunogenic red blood cell antigens enhance a response to weaker antigens? *Transfusion* 2008; 48:958-63.
54. Shaz BH, Zimring JC, Demmons DG, Hillyer CD. Blood donation and blood transfusion: special considerations for African Americans. *Transfus Med Rev* 2008; 22:202-14.
55. Garratty G. Severe reactions associated with transfusion of patients with sickle cell disease. *Transfusion* 1997;37:357-61
56. Fluit CR, Kunst VA, Drenthe-Schonk AM: Incidence of red cell antibodies after multiple blood transfusion. *Transfusion* 1990; 30:532-535
57. Sarnaik S, Schornack J, Lusher JM: The incidence of development of irregular red cell antibodies in patients with sickle cell anemia. *Transfusion* 1986; 26:249-252
58. Reisner EG, Kostyu DD, Phillips G, et ál.: Alloantibody responses in multiply transfused sickle cell patients. *Tissue Antigens* 1987; 30:161-166
59. Olujohungbe, A., Hambleton, E., Stephens, L., Serjeant, B. & Serjeant, G. Red cell antibodies in patients with homozygous sickle cell disease: a comparison of patients in Jamaica and the United Kingdom. *British Journal of Haematology* 2001; 113: 661-665
60. Murao M, Viana MB. Risk factors for alloimmunization by patients with sickle cell disease. *Braz J Med Biol Res.* 2005; 38:675-82
61. Redman M, Regan F, Contreras M: A prospective study of the incidence of red cell allo-immunization following transfusion. *Vox Sang* 1996; 71:216-220
62. Zalpuri S, Zwaginga JJ, le Cessie S, Elshuis J, Schonewille H, van der Bom JG Red blood cell alloimmunization and number of red-blood-cell transfusions. *Vox Sanguinis* 2011: 1-6
63. Schonewille H, de Vries RRP, Brand A. Alloimmune response after additional red blood cell antigen challenge in immunized hematooncology patients. *Transfusion* 2009; 49:453-457.
64. Gunson HH, Stratton F, Cooper DG, Rawlinson VI. Primary immunization of Rh-negative volunteers. *BMJ* 1970; 1:593-5
65. Cook IA. Primary rhesus immunization of male volunteers. *Br J Haematol* 1971; 20:369-75
66. Alarif L, Castro O, Ofosu M, et ál. HLA-B35 is associated with red cell alloimmunization in sickle cell disease. *Clin Immunol Immunopathol* 1986; 38: 178-83. 88.
67. Tatari-Calderone Z, Minniti CP, Kratovil T, et ál. rs660 polymorphism in Ro52 (SSA1; TRIM21) is a marker for age-dependent tolerance induction and efficiency of alloimmunization in sickle cell disease. *Mol Immunol* 2009; 47:64-70.
68. Patel SR, Hendrickson JE, Smith NH, Cadwell CM, Ozato K, Morse HC, Yoshimi R, Zimring JC. Alloimmunization against RBC or PLT antigens is independent of TRIM21 expression in a murine model. *Mol Immunol* 2011; 48:909-13.
69. Janeway CA Jr, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Ann Rev Immunol* 2002; 20:197-216.
70. Hod EA, Zhang N, Sokol S, et al. Harmful effects of red blood cell transfusions: Iron and inflammation (abstract). *Transfusion* 2009; 49 (Suppl):2A.
71. Hendrickson JE, Hod EA, Perry JR, Ghosh S, et ál. Alloimmunization to transfused HOD red blood cells is not increased in mice with sickle cell disease. *Transfusion* 2012;52:231-40
72. Hendrickson JE, Hod EA, Spitalnik SL, et al. Storage of murine red blood cells enhances alloantibody responses to an erythroid-specific model antigen. *Transfusion* 2010; 50:642-8.
73. BAO W, Zhong H, Li X, Lee MT, et ál. Immune regulation in chronically transfused allo-antibody responder and nonresponder patients with sickle cell disease and beta-thalassemia major. *Am J Hematol.* 2011; 86:1001-6.
74. Hendrickson JE, Desmarests M, Deshpande SS, et ál. Recipient inflammation affects the

- frequency and magnitude of immunization to transfused red blood cells. *Transfusion* 2006; 46:1526-36.
75. Hendrickson JE, Chadwick TE, Roback JD, et ál. Inflammation enhances consumption and presentation of transfused RBC antigens by dendritic cells. *Blood* 2007; 110:2736-43.
76. Zimring JC, Hendrickson JE. The role of inflammation in alloimmunization to antigens on transfused red blood cells. *Curr Opin Hematol* 2008; 15:631-5.
77. Hendrickson JE, Roback JD, Hillyer CD, et ál. Discrete toll-like receptor agonists have differential effects on alloimmunization to transfused red blood cells. *Transfusion* 2008; 48: 1869-77.
78. Yazer MH, Triulzi DJ, Shaz B, et ál. Does a febrile reaction to platelets predispose recipients to red blood cell alloimmunization? *Transfusion* 2009; 49:1070-5.
79. Bauer MP, Wiersum-Osselton J, Schipperus. et ál. Clinical predictor of alloimmunization after red blood cell transfusion. *Transfusion* 2007, 47: 2066-71
80. Tahhan HR, Holbrook CT, Braddy LR, Brewer LD, Christie JD. Antigen-matched donor blood in the transfusion management of patients with sickle cell disease. *Transfusion* 1994; 34:562-69.
81. Ambruso DR, Githens JH, Alcorn R, Dixon DJ, Brown LJ, Vaughn WM, Hays T. Experience with donors matched for minor blood group antigens in patients with sickle cell anemia who are receiving chronic transfusion therapy. *Transfusion* 1987; 27:94-8.
82. Lau, FY. Provision of phenotype-matched blood units: no need for pre-transfusion antibody screening *Haematologica* 2001; 86: 742-748
83. Vichinsky EP, Luban N, Wright E, Olivieri N. Prospective RBC phenotype matching in a stroke prevention trial in sickle cell anemia: a multicenter transfusion trial. *Transfusion* 2001; 41:1086-92.
84. Castro O, Sandler SG, Houston-Yu P, Rana S. Predicting the effect of transfusing only phenotype-matched RBCs to patients with sickle cell disease: theoretical and practical implications. *Transfusion* 2002; 42:684-90.
85. Sakhalkar VS, Roberts K, Hawthorne LM, McCaskill DM, Veillon DM, Caldito GC, Cotelingam JD. Allosensitization in patients receiving multiple blood transfusions. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1054:495-9
86. Aygun B, Padmanabhan S, Paley C, Chandrasekaran V. Clinical significance of RBC alloantibodies and autoantibodies in sickle cell patients who received transfusions. *Transfusion.* 2002; 42(1):37-43. Review
87. Avent ND. Large scale blood group genotyping. *Transfus Clin Biol.* 2007; 14:10-15
88. Lee S. The value of DNA analysis for antigens of the Kell and Kx blood group systems. *Transfusion.* 2007; 47:32S-39S
89. Castilho L, Rios M, Bianco C, et ál. DNA-based typing for the management of multiply-transfused sickle cell disease patients. *Transfusion* 2002; 42:232-238
90. Jungbauer C, Hobel CM, Schwartz DW, Mayr WR et ál. High-throughput multiplex PCR genotyping for 35 red blood cell antigens in blood donors. *Vox Sanguinis* 2012; 102: 234-242.
91. Schwickerat V, Kowalski M, Menitove JE. Regional registry of patient alloantibodies: first-year experience. *Transfusion* 2010, 50:1465-1470
92. Schonewille H, Brand A. Alloimmunization to red blood cell antigens after universal leucodepletion. A regional multicenter retrospective study. *Br. J. Haematol.* 2005; 129:151-156
93. Singer S.T., Wu V., Mignacca R., Kuypers F.A., Morel P. & Vichinsky E.P. Alloimmunization and erythrocyte autoimmunization in transfusion-dependent thalassemia patients of predominantly Asian descent. *Blood* 2000, 96: 3369-3373.
94. Ameen R, Al-Shemmari S, Al-Humood S, Chowdhury RI, Al-Eyaadi O, Al-Bashir A. RBC alloimmunization and autoimmunization among transfusion-dependent Arab thalassemia patients. *Transfusion.* 2003; 43(11):1604-1610.
95. Ness PM. To match or not to match: the question for chronically transfused patients with sickle cell anemia. *Transfusion.* 1994; 34:558-61.

96. Mallory D, Malamut D, Sandler SG. A decade of rare donor services in the United States. *Vox Sang.* 1992; 63:186–91
97. American Red Cross. “CIAA Increase Minority Blood and Bone Marrow Donations.” Available at: [http://www.redcross.org/article/0,1072,0\\_332\\_23](http://www.redcross.org/article/0,1072,0_332_23)
98. Afenyi-Annan A. African American blood donors at a local historically black college/university (abstract). *Transfusion* 2004; 44 (Suppl 9):183-18.

# Infecciones emergentes

CELSO BIANCO\*

El SIDA surgió en una época en que muchos consideraban que la amenaza de enfermedades infecciosas era cosa del pasado, posible de controlar con medidas preventivas, vacunas y antibióticos. La magnitud y la realidad de la epidemia del SIDA como tragedia mundial han urgido a que se reexaminen las condiciones que pueden llevar a la emergencia de nuevas enfermedades infecciosas transmisibles por transfusión sanguínea. La preocupación de amenazas futuras es particularmente intensa entre los receptores crónicos de la sangre y productos derivados de la sangre, como proteínas plasmáticas. Justificadamente ellos están asustados con la posibilidad de que un agente transmisible desconocido pueda

\* *Especialista en Medicina Transfusional y Banco de Sangre. Consultor Privado. Bethesda Maryland; Estados Unidos de América.*

causar tanta devastación en el futuro como el VIH lo hizo a principios de los ochenta.

## El concepto de infecciones emergentes

El Instituto de Medicina de la Academia Nacional de Ciencias de los EE.UU. definió enfermedades infecciosas emergentes aquellas de origen infeccioso y cuya incidencia en humanos ha aumentado en las últimas dos décadas, o amenaza con aumentar en el futuro próximo.<sup>1</sup> Este concepto puede aplicarse a enfermedades infecciosas conocidas que por varias razones reaparecen y expanden el área geográfica en que ocurren (por ejemplo, el dengue) y a enfermedades anteriormente desconocidas que pueden adquirir carácter epidémico, como el SIDA. En verdad el concepto es más reciente, pero eventos similares ocurrieron en muchas ocasiones en la historia

de la humanidad, como claramente lo discuten Morens, Folker y Fauci en una revisión histórica publicada en 2008.<sup>2</sup>

De las enfermedades clásicamente reconocidas como transmisibles por transfusión de la sangre con incidencia y prevalencia estable se habla en otros capítulos de este libro. Ellas incluyen hepatitis B y C, VIH-1/2, HTLV-I/II, enfermedad de Chagas, malaria, citomegalovirus y sífilis.

## Factores en la emergencia de patógenos

Los cambios globales que han ocurrido en el último siglo han facilitado la emergencia de enfermedades infecciosas (Tabla 1). Un factor importante es la expansión geográfica de artrópodos asociada con el cambio climático.<sup>3</sup> Se estima que cerca de 70% de las enfermedades emergentes en el pasado reciente son zoonosis.

**Tabla 1.** Factores en la emergencia de enfermedades infecciosas transmisibles por transfusión con ejemplos

Comida	Hábitos alimentarios que facilitan la transmisión de zoonosis para humanos (VIH, ingestión de monos).
Cuidados de salud	Trasplantes de órganos y tejidos, inmunosupresión inducida por medicamentos ( <i>Trypanosoma cruzi</i> ).
Conducta	Conducta sexual, uso de drogas (VIH, HTLV), viajes (SARS), recreación al aire libre (arbovirus como el virus West Nile).
Cambios climáticos	Favorecen la expansión geográfica de vectores (dengue).
Eventos sociales	Pobreza, decaimiento urbano, barrios bajos (dengue).
Higiene pública	Reducción de programas de prevención, reducción de vigilancia, investigación y entrenamiento, cambios de insecticidas (restricciones en el uso de DDT).
Adaptación microbiana	Cambios en virulencia, adaptación a nuevos vectores (chikungunya).

## Sospechas no confirmadas: el precio del temor causado por la emergencia del SIDA

En los años que siguieron a la tragedia del VIH varias enfermedades y agentes etiológicos se consideraron amenazas a la seguridad de la sangre que después no fueron confirmadas. El descubrimiento de la T-CD4+ -linfocitopenia idiopática (abreviada como ICL en inglés) en 1992, también llamada *SIDA sin VIH*, causó grande preocupación entre hemofílicos y otros pacientes transfundidos; investigaciones subsiguientes demostraron que la enfermedad era rara y no era transmisible por transfusión.<sup>4</sup>

El Simian Foamy Virus (SFV, virus simio espumante) fue una fuente de controversia en EE.UU. y Canadá en 2004. No se ha reconocido ninguna enfermedad causada por SFV en humanos, pero el hecho de que 2-3% de los individuos que trabajan con monos están infectados con este retrovirus y de que el virus puede ser transmitido de mono para mono<sup>5</sup> llevó a las autoridades sanitarias de Canadá a recomendar que no se acepten donadores que tengan contacto con monos. Por otro lado, se discutió sobre SFV en sesiones públicas del comité asesor de sangre de la FDA, el BPAC en los EE.UU., y se concluyó que no existían razones científicas claras para rechazar a donantes que tengan contacto con monos.<sup>6</sup> No obstante, las autoridades canadienses están preocupadas por el riesgo de adaptación genética del retrovirus en humanos, lo cual puede tener consecuencias que no se han previsto y prefieren que los candidatos a donantes no tengan contacto con estos animales.

En 2006 un estudio sobre la posibilidad de transmisión del herpes virus HHV-8 en Uganda, un área de altísima incidencia y prevalencia en África, ofreció documentación de que el virus es transmitido por transfusión por el desarrollo de anticuerpos en pacientes transfundidos con unidades de sangre serológicamente positivas.<sup>7</sup> Como dato interesante, las unidades conservadas por cuatro días o más tenían capacidad disminuida de infectar a los pacientes. La publicación causó mucha discusión en los EE.UU. La comunidad de medicina de transfusión afirmó que no se necesitaban medidas especiales para prevenir la transmisión de HHV-8 porque la prevalencia en las Américas era pequeña, las investigaciones publicadas no documentaron aumento del riesgo clínico de sarcoma de Kaposi asociada con transfusión de sangre positiva para anticuerpos contra HHV-8 y porque el almacenamiento y la leucorreducción disminuyen sustancialmente el riesgo de transmisión.<sup>8</sup>

En octubre de 2009 un artículo de Lombardi et al.<sup>9</sup> publicado en la revista científica *Science* indicó que un virus llamado Xenotropic Murine Leukemia Virus-Related Virus, o XMRV, podía detectarse por PCR y cultivo in vitro en 67% de 101 pacientes con síndrome de fatiga crónica (CFS). En el pasado este virus se había asociado con el cáncer de la próstata. Los investigadores también identificaron secuencias virales del XMRV en 3.7% de donantes de sangre normales. El XMRV es un gammaretrovirus; no un oncogén (no causa cáncer directamente), y no se encuentra en ratones, generalmente disponibles para investigación. La CFS no tiene hasta el

momento una etiología bien definida. La enfermedad está distribuida por todo el mundo. Hay entre 1.2 y 4 millones de pacientes diagnosticados con CFS en los EE.UU. El síndrome se caracteriza por fatiga persistente y no se alivia con el descanso, así como por dolores musculares intensos, dolores de cabeza y dolor en los nódulos linfáticos cervicales y axilares. El diagnóstico clínico se hace por exclusión de otras patologías. El progreso en elucidación de las causas de CFS es lento y causa frustración entre los pacientes muy organizados y buscan más soporte para investigaciones y una cura para la enfermedad. La AABB (anteriormente conocida como la Asociación Americana de Bancos de Sangre) creó un grupo de trabajo para XMRV que recomendó como precaución rechazar a donantes con historia de CFS. El Comité de Enfermedades Transmitidas por Transfusión de la AABB desarrolló un documento de información<sup>10</sup> y una tabla continuamente actualizada con las publicaciones sobre XMRV y CFS.<sup>11</sup>

Gradualmente, con el progreso de las investigaciones, se verificó que muchos de los experimentos no se repetían fácilmente y que eventos de contaminación en PCR eran muy frecuentes. La mayoría de los estudios no detectó secuencias de RNA de XMRV en donantes o en pacientes con CFS. Estos estudios están en la tabla de la AABB.<sup>11</sup> Finalmente, investigadores concluyeron que ensayos bien controlados no pudieron encontrar XMRV u otros virus de leucemia de ratones en pacientes o individuos normales, y que el virus XMRV era la recombinación de dos provirus, que ocurrió en el curso de pasaje experimental de tumores en

ratones.<sup>13</sup> Finalmente, la evidencia fue tan abrumadora que los editores de *Science* retractaron la publicación inicial, de 2009, de la relación de CFS con XMRV.<sup>14</sup> La manera como la comunidad de transfusión de sangre, médicos, científicos y pacientes trabajaron juntos para considerar los riesgos de XMRV para receptores de sangre y componentes constituye un modelo que debe ser seguido en desafíos similares que aparezcan en el futuro.<sup>15</sup> No existe actualmente información sobre transmisibilidad del virus por transfusión.

El más reciente ejemplo de una enfermedad emergente desconocida viene de China, con la identificación de un síndrome de fiebre intensa con trombocitopenia (SFTS), atribuida a un nuevo bunyavirus.<sup>16</sup>

### Infecciones emergentes conocidas: cuáles deben considerarse en el contexto de enfermedades transmisibles por transfusión

Varias organizaciones gubernamentales y privadas examinaron en profundidad el potencial de que las infecciones emergentes reconocidas hoy constituyan una amenaza a la seguridad de la sangre. Entre las publicaciones más significativas están el resumen de un taller sobre infecciones emergentes y transfusión de sangre organizada en 2010 por la Food and Drug Administration (FDA), de los EE.UU.,<sup>17</sup> y una revisión de la expansión geográfica de mosquitos y garrapatas resultantes de cambios climáticos.<sup>3</sup>

La revisión más completa de agentes infecciosos conocidos que presentan riesgo potencial para transfusión es la del Comité de Enfermedades Trans-



mitidas por Transfusión de la AABB, publicada en agosto de 2009 como un suplemento de *Transfusion*.<sup>18</sup> La publicación, con adición de nuevos agentes y actualización, está disponible en Internet.<sup>19</sup> La revisión incluye evaluación a fondo de 68 agentes con riesgo actual o potencial de transmisión por transfusión en los EE.UU. y Canadá con tablas de prioridades de riesgo basadas en evidencia científica y epidemiológica y en la preocupación del público y de las autoridades sanitarias en relación con la seguridad de la sangre. Nótese que la preocupación del público fue un

factor importante, por ejemplo, con la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, tema individual en este libro.

Las prioridades de riesgo están agrupadas en colores: rojo para la más alta, y naranja, amarillo y blanco para las más bajas, que no causan preocupación en el momento. Como dato curioso, valga decir que el virus del Nilo Occidental (West Nile Virus) no está incluido en el suplemento de la AABB porque aunque es considerado un agente epidémico/endémico en los EE.UU. y en Canadá en estos países se realiza el tamizaje por NAT para WNV en todos los donantes.

**Tabla 2.** Prioridades de riesgo para transfusión de sangre en los EE.UU. y Canadá (adaptado del Apéndice 1, Stramer et ál., referencia 18).

Agente	Riesgo Epidemiológico/Científico
<b>Categoría roja (riesgo alto)</b>	
Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob variante* (prion, ingestión de carne bovina contaminada)	Bajo, preocupación del público
Dengue* (virus, mosquitos, áreas tropicales)	Alto
<i>Babesia</i> sp* (parasita garrapatas, EE.UU.)	Moderado/Alto
<i>Plasmodium</i> sp* (mosquitos, áreas tropicales)	Alto en áreas endémicas
<b>Categoría naranja</b>	
Chikungunya (virus, mosquitos)	Teórico
Encefalitis de Saint Louis (mosquitos, EE.UU.)	Teórico
<i>Leishmania</i> sp (mosquitos)	Bajo
<i>Trypanosoma cruzi</i> * (vinchucas, América Latina)	Muy bajo, tamizaje de donantes
<b>Categoría amarillo</b>	
VIH - Variantes (sexual, sangre, fluidos)	Teórico
Hepatitis A (virus, contaminación fecal)	Bajo
Influenza A (H5N1) (respiratorio, aerosol)	Teórico
HHV-8* (virus, contacto, ¿saliva?)	Bajo
Parvovirus humano B19* (respiratorio, aerosol)	Bajo
Simian foamy virus (monos)	Teórico
<i>Borrelia burgdorferi</i> (espiroqueta, enfermedad de Lyme, EE.UU)	Teórico

\* Transmisión por transfusión documentada.

## Arbovirus como agentes infecciosos emergentes de importancia en transfusión

Arbovirus es un nombre para definir el grupo de virus transmitidos a humanos por artrópodos como mosquitos y garrapatas (arthropod-borne viruses). Ellos pertenecen a diferentes familias (*Bunyaviridae*, *Flaviviridae* y *Togaviridae*) y en la naturaleza viven en ciclos entre los vectores y los hospederos vertebrados. Ciertos arbovirus, como el West Nile Virus, pueden infectar un grande número de especies diferentes; otros, como el caso del dengue y el chikungunya,<sup>3</sup> pueden solamente infectar humanos y monos al pasar de un individuo a otro.

**El virus del Nilo Occidental** West Nile Virus, WNV fue una verdadera experiencia de emergencia de una enfermedad transmitida por transfusión en los EE.UU., cuando en 1999 fue introducido en New York. Este virus lo transmiten los mosquitos, y la consecuencia de la infección depende del estado del sistema inmune y de la edad del individuo; los inmunodeprimidos y las personas de más de cincuenta años son más propensos a complicaciones. La mayoría de los infectados permanecen asintomáticos, cerca de 20% presentan fiebre y 1 de 150-350 presentan meningoencefalitis, que puede ser fatal.

El WNV fue inicialmente identificado en Uganda en 1937 y causó pequeñas epidemias en África, Oriente Medio y Europa Oriental. En años recientes llegó a Italia. Es endémico en los EE.UU. con epidemias recurrentes desde 1999. El número de casos reportados al Centers for Disease Control and Prevention (EE. UU.) entre 1999 y 2011 llegó a 31.406;

13.225 fueron neurológicos, y 1.262, fatales. Con la introducción de ensayos moleculares (NAT) desde 2003 se detectaron cerca de 3.000 donaciones positivas para WNV (información personal de María Ríos de la FDA). Si incluimos los casos asintomáticos (entre 1:150 y 1:350), entre 1,75 y 4 millones de individuos fueron infectados en ese período.

Los principales hospederos en que el virus se amplifica son los pájaros. Ellos facilitaron la difusión del WNV del este al oeste de EE.UU. Hoy el WNV se encuentra en todos los estados continentales del país. Otros vertebrados también son susceptibles a la infección, incluidos caballos, reptiles y roedores. La difusión explosiva del WNV en Norteamérica resultó posiblemente de la adaptación viral por mutaciones.

Estudios moleculares documentaron un aumento en el número de mutaciones en el genoma del virus desde que llegó a New York en 1999.<sup>20, 21</sup> La transmisión del WNV por trasplante de órganos se reconoció por primera vez en 2002, y por transfusión, en 2003. En julio de 2003 la cooperación entre centros de sangre, fabricantes de diagnósticos y autoridades sanitarias americanas permitió introducir ensayos moleculares para el WNV (PCR y TMA) para selección de donantes. Estudios retrospectivos detectaron 23 casos de transmisión de WNV en 2002, antes de la introducción de tamizaje. El número de casos de WNV asociados con transfusión se redujo sustancialmente después de la introducción de ensayos moleculares: hubo cinco transmisiones desde 2004 (información personal de María Ríos, de la FDA).

El **Dengue (tipos 1 – 4)** (genus *Flavivirus*, familia *Flaviviridae*) se consi-

dera el más importante arbovirus en el mundo: causa más de 50 millones de infecciones por año y muchas muertes, principalmente en infantes. Es prevalente en países tropicales y subtropicales de las Américas, el sudeste de Asia y las Islas del Pacífico, y en África y Oriente Medio. El vector principal (*Aedes aegypti*) se difundió significativamente en las últimas décadas. La transmisión por transfusión se documentó en Hong Kong en 2002, y en Singapur en 2007.<sup>22</sup>

El **Chikungunya virus (CHIKV)**, de la familia *Togaviridae*, genus *Alpha-virus*, se reconoció por primera vez después de una epidemia en Tanzania en 1952-53. En años recientes el virus reemergió en áreas de África y Sur y Sudeste de Asia después de más de veinte años de ausencia. En 2005-06 una epidemia en La Réunion se asoció con presentación clínica grave de CHIKV y las primeras muertes confirmadas. En esta epidemia se observó que hubo mutaciones en el virus, que le permitió replicarse en el mosquito *Aedes albopictus* además del *Aedes aegypti*, aumentando así el área geográfica de expansión de la epidemia.<sup>22</sup>

### **Estimativas del riesgo de infecciones emergentes para receptores de transfusión de sangre y componentes. Gestión de riesgos**

El sistema de salud de Canadá tiene dos proveedores de sangre: Héma-Quebec, que colecta y distribuye sangre para hospitales en la Provincia de Quebec, y Canadian Blood Systems (CBS), que provee la sangre para el resto de Canadá

y distribuye cerca de 1,3 millones de componentes por año a los hospitales. El CBS convocó un comité de médicos, economistas y profesionales de seguros para construir modelos matemáticos para estimar el número de transmisiones por transfusión si una epidemia de un agente crónico como VIH y una epidemia de agente agudo como WNV ocurrieran en el futuro.<sup>23</sup> Ellos estimaron que teóricamente eran posibles cerca de 700 casos de transmisión aguda del agente y cerca de 3.500 casos de transmisión crónica e indicaron que la mejor manera de prevenir una catástrofe sería introducir sistemas de inactivación de patógenos. Este estudio ofrece principios para análisis cuantitativos de riesgos, muy útiles en la preparación para infecciones emergentes en el área de transfusión.<sup>23</sup>

El CBS también organizó una conferencia de consenso en 2010 para discutir cómo tomar decisiones basadas en el riesgo en vez de decisiones reactivas basadas en el temor de un nuevo VIH en el área de seguridad de la sangre. El sumario de las deliberaciones y las recomendaciones fueron publicados en 2011.<sup>24, 25</sup> La conferencia describió métodos racionales utilizados en otras áreas de actividad humana que podrían ser aplicadas a la gestión de riesgo en medicina de transfusión.

### **Conclusión**

El VIH no será fácilmente olvidado por los receptores de sangre y derivados. La preocupación con el potencial de transmisión de infecciones por transfusión continúa incrementándose a pesar del progreso en la seguridad. Hoy el riesgo de transmisión de infecciones

por la sangre es menor que el riesgo de la mayoría de procedimientos médicos habituales. Pero la demanda del público hace que continuemos trabajando para prevenir que una otra infección emergente produzca una otra tragedia.

## Referencias

1. Emerging Infections. Microbial threats to health in the United States. Washington, DC: Institute of Medicine, 1992.
2. Morenz DM, Folkers GK, Fauci AS. Emerging infections: a perpetual challenge. *Lancet Inf Dis* 2008; 8:710-19.
3. Rios M. Climate change and vector-borne viral diseases potentially transmitted by transfusion. *ISBT Science Series*. 2009;4:87-94
4. Smith DK, Neal JJ, Holmberg SD and the Centers for Disease Control Idiopathic CD4+ T Lymphocytopenia Task Force. *N Engl J Med* 1993;328:373-379.
5. Brooks JI, Merks HW, Fournier J, Boneva RS, Sandstrom PA. Characterization of blood-borne transmission of simian foamy virus. *Transfusion* 2007;47:162-170.
6. Issue Summary, FDA Blood Products Advisory Committee, October 21-22, 2004 (fecha de acceso 30 de marzo de 2012); Disponible en: [http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/04/briefing/2004-4074b1\\_02\\_topic%202.pdf](http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/04/briefing/2004-4074b1_02_topic%202.pdf)
7. Hladik W, Dollard SC, Mermin J, Folkes AL, Downing R, Amin MM et al. *N Engl J Med* 2006;355:1331-8.
8. Katz LM, Dodd RY. Human herpesvirus-8: what (not) to do redux? *Transfusion* 2010;50:959-962
9. Lombardi VC, Ruscetti FW, Gupta JD, Pfost MA, Hagen KS, Peterson, DL et al. Detection of an Infectious Retrovirus, XMRV, in Blood Cells of Patients with Chronic Fatigue Syndrome. *Science*.2009;326:585-589.
10. XMRV Fact Sheet, Xenotropic Murine Leukemia Virus-Related Virus (XMRV) and other Murine Leukemia Virus-Related Viruses (MLRV). AABB (fecha de acceso 30 de marzo de 2012). Disponible en: <http://www.aabb.org/resources/bct/eid/Documents/xmrvfactsheet.pdf>
11. Table. Published Studies on XMRV and MLRV Findings in Human Diseases and the General Population. AABB. (fecha de acceso 30 de marzo de 2012). Disponible en: <http://www.aabb.org/resources/bct/eid/Documents/xmrvtable.pdf>
12. Simmons G, Glynn SA, Komaroff AL, Mikovits JA, Tobler LH, Hackett Jr J et al. Failure to confirm XMRV/MLVs in Blood of Patients with Chronic Fatigue Syndrome: A Multi-Laboratory Study. *Science*. 2011; 334:814-817
13. Paprotka T, Delviks-Frankenberry KA, Cingoz O, Martinez A, Kung H, Teppre CG et al. Recombinant Origin of the Retrovirus XMRV. *Science*. 2011;333:97-101.
14. Alberts, B, Retraction. Science is fully retracting the Report Detection of an infectious retrovirus, XMRV... *Science*. 2011;334:1636.
15. Karafin MS and Stramer SL. The scientific method at work: xenotropic murine leukemia virus-related virus is neither a cause of chronic fatigue syndrome nor a threat to de blood supply. *Transfusion*. 2012;52:222-225.
16. Yu X, Liang M, Zhang S, Liu Y, Li J, Sun Y et al. Fever with Thrombocytopenia Associated with a Novel Bunyavirus in China. *N Engl J Med*. 2011; 1523-1532
17. Atreya C, Nakhasi H, Mied P, Epstein J, Hughes J, Gwinn M etc al. FDA workshop on emerging infectious diseases: evaluating emerging infectious diseases (EIDs) for transfusion safety. *Transfusion*. 2011; 51:1855-1871.
18. Stramer SL, Hollinger FB, Katz LM, Kleinman S, Metzger PS, Gregory KR et al. Emerging infectious disease agents and their potential threat to transfusion safety. *Transfusion* 49;49:1S-235S.
19. Emerging Infectious Disease Agents and their Potential Threat to Transfusion Safety. AABB (fecha de acceso 30 de marzo de 2012) Disponible en: <http://www.aabb.org/resources/bct/eid/Pages/default.aspx>
20. Grinev A, Daniel S, Stramer SL, Rossmann S, Caglioti S, Rios M. Genetic Variability in West Nile Virus in Human Infections: study

- of blood donor populations during four consecutive years (2002 to 2005) in the USA. *Emerg Infect Dis* 2008; 14:436-444.
21. Grinev A, Lu Z, Chancey C, Daniel S, Chizhikov V, Rios M. Genetic analysis of West Nile virus in the U.S. shows increasing variability, 2002-2010. *Am J. Trop Med Hyg*, 85S: 2011
  21. Wilder-Smith A, Chen LH, Massad E, Wilson ME: Threat of dengue to blood safety in dengue-endemic countries. *Emerg Infect Dis* 2009; 15:8-11.
  22. Bianco C. Dengue and Chikungunya viruses in blood donations: risks to the blood supply? *Transfusion* 2008;1279-1281.
  23. Kleinman S, Cameron C, Custer B, Busch M, Katz L, Kralj B et al. Modeling the risk of an emerging pathogen entering the Canadian blood supply. *Transfusion*. 2010;50:2592-2606
  24. Stein J, Besley J, Brook C, Hamill M, Klein E, Krewski D et al. Risk-based decision making for blood safety: preliminary report of a consensus conference. *Vox sang*. 2011; 101: 277-288.
  25. Bennett JL, Blajchman MA, Delage G, Fearon M, Devine D. Proceedings of a Consensus Conference: Risk-Based Decision Making for Blood Safety. *Trans Med Rev*. 2011:267-292.



# Hepatitis virales y transfusión

ALEJANDRO OSCAR CHIERA \*

En este capítulo se tratarán los aspectos fundamentales de lo relacionado con los agentes virales causales de hepatitis y la transfusión de hemocomponentes y hemoderivados, sus características y los modos de minimizar el riesgo transfusional. No pretende profundizar en aspectos propios de la clínica o la epidemiología, sino en los tópicos importantes que debemos tener en cuenta en nuestra especialidad con respecto a estos virus.

## Transmisión de virus por la sangre

Un gran número de virus patógenos para el hombre presentan una o más fases

\* *Magíster en Biología Molecular e Ingeniería Genética; Jefe del Servicio de Coordinación, Centro Regional La Plata del Instituto de Hemoterapia de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.*

de viremia durante su multiplicación en el organismo. Una vez que la infección se inicia en las proximidades de la puerta de entrada del virus, como el tracto digestivo en el caso del virus de la hepatitis A (VHA), esta se generaliza y origina la denominada viremia; luego se disemina y el virus pasa a la sangre. Esta también da cuenta de la reanudación de la multiplicación temporal viral en el caso de virus, que pueden permanecer latentes en el organismo después de la primoinfección, como en el caso del citomegalovirus (CMV), o bien puede darse en la multiplicación crónica de un virus en un órgano blanco donde la producción viral se libera al torrente sanguíneo, como en el caso de la infección crónica por virus de la hepatitis B (VHB) o por el de la inmunodeficiencia humana adquirida (VIH). Los virus presentes en la sangre pueden encontrarse libres o asociados a células, principalmente los leucocitos.

El concepto de viremia o presencia del virus en sangre no representa por sí mismo el hecho de que ese virus sea transmitido por la sangre en forma unívoca. La transmisión de un virus por transfusión depende de varios factores. Las causas tradicionalmente reconocidas son:<sup>1</sup>

1. Que en la población de donantes que estemos considerando haya una posible alta incidencia de infecciones transmisibles por la sangre en estadios asintomáticos durante periodos variables y que pueden pasar inadvertidas en la entrevista médica pre donación, como en el caso de VHB, VIH, hepatitis C (VHC).
  2. Virus con mutaciones o variantes genéticas que podrían no detectarse con las pruebas actualmente en uso.<sup>2</sup>
  3. El periodo ventana, es decir, el tiempo en el cual no se detectan infecciones en el donante mediante las pruebas de tamizaje inmunoserológico. Con la creciente utilización de las pruebas de detección de ácidos nucleicos (en inglés, NAT), al menos teóricamente se está reduciendo cada vez más este período, y precisamente a partir de su aplicación se ha podido definir la llamada “fase eclipse” como el tiempo entre el ingreso del virus al organismo y la detección de la viremia.<sup>3-4</sup>
  4. La presencia del agente en cuestión en la sangre de portadores asintomáticos con pruebas de tamizaje negativas pero que aun así podrían transmitir la infección.
  5. Los posibles errores administrativos o de laboratorio, o ambos, que según el grado de aplicación de medidas de seguridad y sistemas de calidad pueden disminuirse notoriamente. Al respecto, todos los laboratorios de infecciones transmisibles de los bancos de sangre deberían contar con protocolos escritos para la evaluación de la sensibilidad, la especificidad y la reproducibilidad de todos los reactivos a utilizar en el tamizaje de las donaciones y así poder evaluar si son adecuados para ese fin antes de incorporarlos como medida habitual. Estas medidas son particularmente importantes en Latinoamérica, donde aún la implementación de sistemas de calidad institucionales está en progreso.
- El conocimiento de las características estructurales de los virus resulta im-



portante para conocer su epidemiología, diagnóstico y prevención.

Los virus son entidades biológicas simples, que una vez que se introducen en las células blanco del organismo son replicadas en estas mismas células infectadas debido a un proceso comandado por la expresión del genoma viral, que llevará a que proteínas y ácidos nucleicos (ADN o ARN) constituyan nuevas partículas virales.<sup>5</sup> Un tercer elemento importante es su cubierta o envoltura, que deriva de las membranas celulares y generalmente contiene distintas cantidades de proteínas (antigénicas en muchos casos) y fosfolípidos. Los virus que no presentan envoltura se denominan “desnudos”, los cuales son paradójicamente más resistentes a los procesos de inactivación físicos o químicos que los envueltos. La envoltura lipídica es más fácilmente alterada que la proteica por el calor y agentes químicos como el solven-

te y el detergente. Esta cubierta tampoco parece tener la misma fragilidad en todos los casos; el VHB es ciertamente más resistente que el VIH. Como numerosos virus envueltos pueden ser transmitidos por la sangre, se han desarrollado métodos de inactivación por calor y solvente/detergente para aumentar la seguridad de los hemoderivados.

Los genomas virales pueden estar constituidos por ADN o ARN. Los primeros son relativamente más estables dado que sus sistemas de replicación corrigen más eficientemente los errores que los del ARN, por lo que la variabilidad genética de los virus ARN es mayor que las de los ADN. Esta característica es importante para el diagnóstico, la prevención en el caso de vacunas y el tratamiento, debido a la posible aparición de variantes resistentes a los fármacos en uso.

**Tabla 1.** Clasificación y estructura de los principales virus causantes de hepatitis

	Abreviatura usual	Familia	Genoma	Cápside	Envoltura	Otro modo de transmisión
Hepatitis A	VHA	Picornaviridae	ARN	Cúbica	Desnudo	Fecal-oral
Hepatitis B	VHB	Hepadnavirus	ADN	Cúbica	Envuelto	Sexual Madre-hijo
Hepatitis C	VHC	Flaviviridae	ARN	Cúbica	Envuelto	Sexual ?
Hepatitis D	VHD	-	ARN	Indeterminada	Envuelto	-
Hepatitis E	VHE	Virus HEV-like	ARN	Cúbica	Desnudo	Fecal-oral
Citomegalovirus	CMV	Herpesviridae	ADN	Cúbica	Envuelto	Madre-hijo Sexual Saliva
Virus Epstein Barr	VEB	Herpesviridae	ADN	Cúbica	Envuelto	Saliva Sexual?

## Virus causantes de hepatitis

La hepatitis se define como una inflamación del hígado, producida no solo por virus sino también por agentes químicos tóxicos y otros agentes infecciosos. Entre los hepatotrópicos por excelencia se encuentran los virus de la hepatitis A (VHA), B (VHB), C (VHC) D (VHD) y E (VHE), pero también pueden asociarse a hepatitis clínicas el CMV, el virus de Epstein –Barr (VEB) y el virus de la hepatitis G (VHG / VGB-C), el VIH, el herpes tipo 8 (VHH-8) de transmisión excepcional por vía transfusional y el virus transmitido por transfusión (VTT). En 1943 se produjeron los primeros reportes de transmisión de hepatitis por vía transfusional.<sup>6-7</sup>

### Virus de la hepatitis A y hepatitis E

Los VHA y VHE contienen ARN de cadena simple como material genético, no envueltos (no tiene cobertura lipídica), mayormente de transmisión fecal-oral y en el caso del VHA la transmisión directa entre humanos es habitual; son capaces de provocar epidemias. Son endémicos en países menos desarrollados. Dado que la viremia transitoria del VHA puede durar hasta 28 días, se han descrito casos de transmisión por transfusión, sobre todo de componentes celulares y factor VIII.<sup>8-10</sup> En este último caso debido a que por ser un virus desnudo no lo destruyen algunos de los métodos de inactivación aplicados en la obtención de derivados plasmáticos, como los solvente / detergente, mientras que sí son efectivos los tratamientos por calor, los de intercambio aniónico por cromatografía, liofilización y neutralización por anticuerpos.

La infección aguda por este virus se resuelve sin originar estado de portador crónico; además, sobre todo en los países de poco desarrollo, el título de anticuerpos protectores es elevado desde edades tempranas, por lo que su posibilidad de transmisión por transfusión es muy baja. Sumado a esto, la persona en estadio de viremia suele tener sintomatología, lo que de por sí no lo hace elegible para la donación. Algunas situaciones como vivir en zonas de baja condición higiénico-sanitaria, viajar a zonas donde el VHA es endémico, convivir con personas que padecen hepatitis A aguda, el sexo oral - anal y ser usuario de drogas endovenosas son consideradas situaciones de riesgo para adquirir esta infección, por lo que una buena entrevista pre-donación no detecta a la mayoría de las personas que podrían estar en condiciones de transmitir la infección.

La vacunación contra el VHA brinda protección efectiva, dado que existe solo un serotipo y es recomendable para los países de bajo desarrollo.

El VHE es también transmitido por vía entérica a través de aguas o alimentos contaminados. Causa generalmente infecciones autolimitadas pero tiene características particulares, como la de causar alta mortalidad si la infección ocurre en embarazadas y la de poder transmitirse entre el cerdo y el humano.<sup>11</sup> La transmisión entre humanos, en cambio, no parece ser efectiva, si bien hay algunos casos reportados<sup>12</sup>. Por ser un virus no envuelto, los procesos de inactivación por solvente/detergente no son eficaces para su eliminación en la producción de hemoderivados, pero sí otros métodos de inactivación de patógenos utilizados.

Las medidas de prevención de su transmisión por transfusión son las mismas que para el VHA.

### Virus de la hepatitis B

La identificación del virus de la hepatitis B se inició en 1963 con los estudios de Baruch Blumberg y sus colegas,<sup>13</sup> que estaban utilizando técnicas de difusión en gel para identificar aloantígenos en plasma de aborígenes australianos. Descubrió así una proteína única antigénica, que denominó antígeno Australia. Luego de varios años advirtió que estaba en presencia de la proteína de la envoltura del VHB y que era frecuente en pacientes transfundidos. La relación de esa proteína, ahora conocida como antígeno de superficie del VHB (AgHBs), con la hepatitis B la realizó en forma independiente Alfred Prince en el New York Blood Center.<sup>14</sup>

Constituye un grave problema de salud en el mundo entero, y de acuerdo con estimaciones de la OMS el número de portadores de AgHBs podría llegar a 400 millones,<sup>15</sup> con prevalencias según las diferentes regiones que van desde el 10% en algunos países asiáticos al 0,5% en los Estados Unidos de América.

El VHB contiene como genoma un ADN de doble cadena incompleta, una envoltura lipoproteica que lo hace sensible a los métodos de inactivación por solvente/detergente y su transmisión se cumple de manera efectiva por vía sexual, perinatal y parenteral. Aproximadamente 90% a 95% de los infectados curan y eliminan eficientemente el ADN viral, negativizan el AgHBs y desarrollan anticuerpos protectores contra este virus; pero cerca del 5% a 10%

se transforman en portadores crónicos, con el consecuente riesgo de desarrollar daño hepático progresivo y carcinoma hepatocelular. Estos estados de portador crónico, que pueden ser asintomáticos por mucho tiempo, son particularmente arriesgados para la donación de sangre, puesto que durante ese período se podría transmitir la infección.

Una vez que el virus penetra en el hepatocito, que es su célula blanco (aunque también se lo encuentra en células linfoides y mononucleares de sangre periférica),<sup>16</sup> entra en el núcleo, y su ADN se convierte en una molécula circular súper enrollada que se utiliza para la transcripción en ARN viral,<sup>17</sup> que se transcribe a continuación en ADN viral a través de una transcriptasa reversa. Este ADN se protege con una proteína denominada core o nucleocápside, y está compuesta por una proteína antigénica (AgHBc). Otra proteína viral de importancia en el diagnóstico y seguimiento de la infección es el antígeno e (AgHBe). Tanto el AgHBs y el AgHBc como el AgHBe originan anticuerpos específicos en los individuos infectados. La superproducción de AgHBs y su salida al torrente sanguíneo durante la replicación viral hacen que este sea uno de los marcadores que pueden detectarse tempranamente en los infectados y por eso se ha convertido en el primero de los estudios realizados en el banco de sangre. Está presente durante la infección aguda y también en la crónica, ya que si el AgHBs es detectable en sangre por más de seis meses, esto indica la progresión de la infección a la cronicidad. Cuando está presente el marcador anti-HBc de clase IgM, indica infección aguda, mientras

que el anti-HBc total puede encontrarse tanto en individuos recuperados de una infección pasada como en crónicos. El AgHBe se asocia con activa replicación viral y su anticuerpo correspondiente, el anti-HBe, con progresión hacia la recuperación y en conjunto con el anticuerpo contra el AgHBs (anti-HBs), indican recuperación. Este último anticuerpo indica estado de inmunidad posterior a la infección por tratarse de un anticuerpo protector en ausencia de AgHBs. Es también el que se produce como respuesta a la vacunación contra el VHB.

La vacunación contra este virus es efectiva y de amplio uso en todo el mundo desde hace más de veinte años. Ha tenido buenos resultados sobre todo en países con mediana y alta prevalencia.<sup>18</sup> Con programas de vacunación dirigidos en principio a las personas en riesgo y con el correr del tiempo a recién nacidos y niños la diseminación del virus ha disminuido.

Por otra parte, a pesar de que los virus de ADN tienen tasas de mutación menores que los virus de ARN, la presión inmunológica producida por la vacunación hace posible que el virus intente escapar a la respuesta inmune mutando, motivo por el cual se está observando permanentemente si alguna mutación en el “dominio antigénico a” del AgHBs podría ocasionar una pérdida en su detección con los métodos actualmente en uso en los bancos de sangre.

Se conocen varias mutaciones del VHB, algunas de ellas importantes de tener en cuenta para el diagnóstico, como las que se originan en la región “pre-core” y generan un codón de parada en esa región por la sustitución de G

por A (1896) y no permiten la aparición de AgHBe; o en la región del “promotor”, por la sustitución de A por T (1762), que causa producción disminuida de AgHBe. Otras mutaciones surgen por el uso de drogas como el YMDD por lamivudina y la N236T por adefovir. Como se expresó anteriormente, las que afectan al “dominio antigénico a” son las que podrían originar problemas en la detección del AgHBs. Hasta ahora las conocidas G 145 R y K141 E no han ocasionado estos problemas.

En el mundo se detecta el AgHBs usualmente por métodos de Elisa o quimioluminiscencia; de esta manera, el período ventana se estima en 59 días, con rangos de 37 a 87 días.<sup>19</sup> También se usa corrientemente en varios países el anti-HBc total en simultáneo con el AgHBs para el tamizaje de donantes de sangre.

Como herramienta para disminuir el período ventana y así evitar transfusiones que podrían transmitir la infección se aplican en forma creciente métodos de NAT para VHB tanto en mini *pools* como en muestra individual; esta última modalidad demostró ser la más sensible. En áreas de baja prevalencia se discute aún el rendimiento de estas pruebas. Se ha estimado que la reducción del período ventana con NAT en mini *pools* es de 9 a 11 días<sup>20</sup>, mientras que en áreas de mayor incidencia ha demostrado una mayor efectividad;<sup>21</sup> asimismo, cuando se realiza en muestra individual (ID NAT) la reducción del período ventana es algo mayor, de 25 a 36 días.<sup>22</sup> No obstante, aún se necesitan ensayos más sensibles para detectar donaciones en período ventana con la misma eficiencia que el NAT para VHC o VIH.

La determinación de anti-HBc aplicada en forma sistemática en el tamizaje de donantes, a pesar de la gran cantidad de resultados falso-positivos que arroja, demostró ser útil para la detección de infectados crónicos con AgHBs no detectable y que resultaron NAT VHB positivos (infección B oculta, OBI en inglés), aun con bajos niveles de viremia.<sup>23-26</sup>

Definitivamente, los criterios de aplicación de pruebas para evitar la transmisión de este virus no son homogéneos en todo el mundo. Debido a lo ya mencionado acerca de la relativa baja eficiencia del NAT para reducir el riesgo combinado con pruebas serológicas, si bien el AgHBs es obligatorio prácticamente en todo el mundo, hay países que han implementado el anti-HBc en sus prácticas habituales de tamizaje, otros NAT en *minipools* de forma voluntaria y anti-HBc obligatorio y algunos NAT sin anti-HBc.

Se ha discutido ampliamente el reingreso de donantes anti-HBc reactivos con niveles de anti-HBs  $\geq 100$  UI/ml y con muy baja o nula carga viral, y se ha comprobado que el mayor riesgo de transmisión proviene de donantes con títulos de anti-HBs  $> 10$  UI/ml o cercanos.<sup>27</sup> No obstante, siempre existe el riesgo de reactivación de infección del HVB, sobre todo en pacientes inmunosuprimidos, así como también es un riesgo transmitir complejos inmunes<sup>28</sup>.

### Virus de la hepatitis C

A partir de 1989 luego de los trabajos de Choo y colaboradores<sup>29</sup> y de Michael Houghton y colaboradores,<sup>30</sup> se determinó que el VHC era el responsable de la mayoría de los casos de hepatitis postransfusionales, hasta ese momen-

to llamadas NoA-NoB, y de hepatitis crónica en todo el mundo, y muy poco tiempo después estuvieron disponibles las primeras pruebas diagnósticas aplicables al banco de sangre.

Este virus pertenece a la familia *Falvoviridae*. Posee una simple cadena de ARN de polaridad positiva y una envoltura lipídica lo que lo hace sensible a los métodos de inactivación por solvente/detergente.

Su principal vía de transmisión es la parenteral y a través del contacto con sangre infectada, por lo cual el uso de drogas inyectables implica un riesgo aumentado para contraer esta infección. Antes del tamizaje habitual en los bancos de sangre, del estudio del plasma destinado a la producción de hemoderivados por biología molecular para permitir la detección directa del virus y de la aplicación de métodos específicos de inactivación durante la producción de hemoderivados, las transfusiones de hemocomponentes y hemoderivados implicaban un gran riesgo de transmisión y se producían brotes epidémicos entre sus receptores. Dichos brotes, por ejemplo, fueron comunes en pacientes receptores de factores de la coagulación, como en el caso de hemofilia y otras coagulopatías, mientras que fueron más restringidos entre los receptores de gammaglobulinas endovenosas.

Otras vías posibles pero menos eficientes de transmisión son la sexual y perinatal de madre a hijo, y aún hay algunas vías de transmisión no identificadas.

Como en el caso de los virus hepatotropos directos, su célula blanco es el hepatocito, en cuyo retículo endoplasmático el ARN viral es transcrito para

producir las proteínas necesarias para la replicación. La infección por HCV tiene una alta tasa de pasaje a la cronicidad: se estima que al menos el 20% de los infectados desarrollará cirrosis en los veinte años siguientes si la infección persiste, y de ellos entre el 1% y el 5% podrá presentar posterior desarrollo de hepatocarcinoma.<sup>31-33</sup>

Tras la primera ronda de replicación la alta frecuencia de mutación, característica de los virus ARN, determina que la progenie viral resultante muestre alto grado de diversidad genética en un mismo individuo infectado en el curso de la evolución de su infección; se presenta lo que se denomina “distribución de quasiespecies”. Estas tienen su origen en que el genoma de este virus posee las llamadas regiones “hipervariables”, que pueden mutar a gran velocidad por la presión inmunológica en el curso de la infección.

Esta diversidad genética originará en mayor o menor grado una diversidad antigénica. En el momento temprano de la infección aguda la respuesta de anticuerpos neutralizantes se dirigirá contra las variantes mayoritarias. Si el grado de diversidad antigénica de la población viral no es muy grande, se neutralizarán todas las variantes y el sistema inmune controlará y eliminará la infección. Sin embargo, lo más frecuente será que alguna de las variantes sea lo suficientemente distinta como para que no se la reconozca, con lo que escapará a la neutralización y podrá infectar nuevas células, comenzando así una nueva ronda de replicación en el hígado. A medida que avanza este proceso el espectro de variantes de escape se abre, lo cual permite que se

establezca la infección persistente y se mantenga en el tiempo.

En los casos en que por medio de la respuesta inmune se logre eliminar la infección, los anticuerpos originados no protegerán en caso de un nuevo ingreso de virus; por eso puede el individuo sufrir reinfecciones incluso con persistencia del virus re infectante.

Durante la etapa de persistencia se producen ciclos periódicos de infección y liberación de virus al torrente sanguíneo por destrucción de los hepatocitos infectados, con el consiguiente aumento de viremia y elevación de las transaminasas séricas, intercalados por períodos de baja producción de virus en sitios extrahepáticos con baja o nula destrucción de hepatocitos.

En personas jóvenes e inmunológicamente competentes la progresión de la hepatopatía suele ser muy lenta; sin embargo, en pacientes inmunosuprimidos la progresión a cirrosis puede ser muy rápida.

Se describen seis principales genotipos virales, numerados de 1 a 6, y estos se dividen en varios subtipos, que se designan con letras minúsculas empezando por la *a*. Inicialmente, se pensaba que solo se trataba de divergencias genéticas; pero con el devenir de las investigaciones se pudo corroborar que estos genotipos tienen una distribución geográfica determinada en el mundo, y lo que es más importante: algunos son más sensibles a los tratamientos que otros.

Mientras que en América y Europa predominan los genotipos 1 y 2, el genotipo 3 proviene de Asia, pero se han producido brotes en América y Europa; el tipo 4 corresponde a Egipto y África;

los de nomenclatura 5 y 6 son los menos estudiados y se han presentado en áreas menos desarrolladas. Los diferentes genotipos son factores predictivos a la respuesta del tratamiento. Los genotipos 1 y 4 responden con más lentitud a la terapia con drogas antivirales como el interferón, por lo que en estos casos la terapia debe prolongarse en el tiempo; por su parte, los genotipos 2 y 3 responden mejor.

Otros factores predictivos de respuesta favorable son la carga viral, la edad, el peso y el grado de fibrosis observado en la biopsia hepática.

En general, el diagnóstico se realiza en la fase crónica debido a que la etapa aguda es a menudo asintomática. En lo que se refiere a la donación de sangre la detección de anti-HCV puede retrasarse aproximadamente 70 días desde la infección (período ventana); más aún, se ha descrito su desaparición en algunos raros casos pero que ha persistido la infección,<sup>34</sup> por lo que se han ido aplicando nuevos ensayos que permiten acortar este período en pos de la seguridad transfusional, como el de que en teoría acorta el período ventana aproximándose al NAT y resulta útil para las regiones donde el NAT no está disponible aún. El ARN viral se detecta en el plasma durante gran parte del período ventana serológico.

La detección de anti-VHC en donantes, sobre todo en regiones de baja prevalencia, arroja cierto número de resultados falso-reactivos, en cuyo caso es conveniente aplicar métodos suplementarios de “inmunoblot” como el RIBA (del inglés Recombinant Immunoblot Assay) o el LIA (del inglés Line Immuno Assay), que se basan en la detección

de anticuerpos anti-VHC con antígenos recombinantes fijados en tiras de nitrocelulosa sobre las cuales se realiza un enzimoimmunoensayo. Esta prueba colabora en dilucidar si el hallazgo inicial de anti-VHC era verdadero. Los donantes con anti-VHC reactivos y RIBA o LIA negativo o indeterminado tienen una escasa posibilidad de estar realmente infectados; por eso en muchos países estos aspirantes son candidatos a ingresar como donantes de sangre a través de protocolos de reingreso, previa reentrevista para descartar riesgos posibles y en muchos casos previo NAT negativo.

Independientemente del resultado de RIBA o LIA, no se debe transfundir los hemocomponentes provenientes de donantes con pruebas de anti-VHC repetidamente reactivas.

Las pruebas de NAT son obligatorias en bancos de sangre de muchos países y permiten acortar el período ventana a aproximadamente 12 días, mientras que las de VHC Ag/Ac lo hacen a 16-17 días.<sup>35-36</sup> La aplicación de estos métodos ha bajado sustancialmente el riesgo residual postransfusional en el mundo. El impacto de la aplicación de pruebas de NAT es lógicamente menor en las regiones de baja incidencia-prevalencia, donde es menor la aparición de casos en período ventana NAT positivos, anti-HCV no reactivos.

En la actualidad hay varios progresos en relación con la obtención de una vacuna protectora realizados en modelos animales, pero la gran dificultad se encuentra en la alta variabilidad genética de este virus, que le permite un amplio escape a la respuesta inmunitaria.<sup>37</sup>

## Virus de la hepatitis D

El VHD, también llamado agente o virus delta, contiene como material genético ARN circular de cadena simple y polaridad positiva. Se trata de un virus defectivo, pues carece de cubierta propia. La infección del hígado por este virus solo se puede dar cuando está asociado al HVB, puesto que usa el AgHBs como su propia cubierta;<sup>38</sup> de este modo, la mayoría de las características de esta infección son similares a las del VHB con algunas particularidades.

El genoma de este virus codifica para dos importantes proteínas que regulan su replicación y presenta una variabilidad importante de ciertas regiones; se han identificado tres subgrupos. Esta variabilidad explicaría la elevada frecuencia de formas crónicas y la resistencia al tratamiento con antivirales.

Para la fijación y la penetración del VHD en el hepatocito necesita como el VHB de las proteínas de envoltura pre-S1 y pre-S2 existentes en el AgHBs pero la replicación de su ARN en el hepatocito se realiza independiente del VHB.

Las vías de transmisión son las mismas que para el VHB, y la presencia de VHD en sangre indica enfermedad hepática aguda.

La infección por VHD es frecuente en algunas regiones del mundo, donde el virus B es altamente prevalente: zonas del Mediterráneo (particularmente en Italia, donde fue descubierto), Europa del Este y algunos países de América Latina y África; sin embargo, es más rara en otras regiones de fuerte endemia, como China o el Sudeste Asiático.<sup>38</sup> No obstante, el número de infectados en el mundo ha ido decreciendo conforme ha avanzado la vacunación anti hepatitis B.

La coinfección de este virus con el VHB por lo general origina hepatitis aguda con un grado de evolución hacia la cronicidad similar al del VHB, mientras que si el VHD infecta a un individuo portador crónico de VHB, lo que se denomina superinfección, puede agravarse la infección aguda con una mayor probabilidad de hepatitis crónica y cirrosis.<sup>38-39</sup> El riesgo de carcinoma hepato-celular es parecido al que se presenta en la cirrosis por virus B.

Dado que el HDV se presenta con el HBV, no es necesario implementar la detección específica para este virus ya que los donantes serán permanentemente diferidos por infección con VHB.

## Algunas consideraciones sobre otros virus que podrían causar hepatitis

### Virus de la hepatitis G y virus transmitido por transfusión

El actualmente conocido como virus VHG /VGB-C fue descubierto por dos grupos de investigadores durante el estudio de casos de hepatitis no A, no B, no E.<sup>40-41</sup> Las letras GB corresponden a las iniciales de un cirujano de Chicago con hepatitis aguda en el cual se identificó este virus.

Es un virus ARN con una organización genómica que lo sitúa en la familia de los Flavivirus y posee un 25 % de homología con el VHC.

Se transmite por vía transfusional<sup>42</sup> de manera similar al VHV y VHC, tiene una tasa alta de prevalencia en la población de donantes y mayor al 35% en infectados por VIH, pero se lo asocia más con enfermedades hepáticas leves



que con graves y no está aún del todo claro si es el directo responsable de ellas; carece en la mayoría de las veces de significado clínico con escasa elevación de transaminasas.

Predominantemente la replicación del VHG se produce en mononucleares de sangre periférica, linfocitos y médula ósea. El mecanismo por el cual produciría hepatopatías aún es controversial;<sup>43-44</sup> sin embargo, su tropismo por los hepatocitos se ve apoyado por la detección de ARN VGB-C en ellos, aunque esto no es muy frecuente. Está también comprobado su impacto en la coinfección con VIH, ya que su presencia reduce la mortalidad y mejora los parámetros clínicos de la infección, por lo que aumenta la eficiencia de la terapia antirretroviral.

Por lo expuesto, algunos autores ponen en duda la denominación de virus “de hepatitis G” y no se ha implementado su detección en donantes de sangre.

El VTT es un virus ADN de cadena simple sin envoltura, con genoma circular y polaridad negativa. Se lo designó *TT* porque son las iniciales del paciente del cual se lo aisló por primera vez; coincidentalmente se aplica también a “*transfusion-transmitted virus*” (virus transmitido por transfusión). Se pudo comprobar que era hepatotropo y coincidente con elevación de ALT, por lo que se supuso que era causante de hepatitis; pero posteriormente se demostró que la mayoría de los individuos VTT positivos no presentaban evidencia de una verdadera enfermedad hepática. Comparte algunas características con la familia *Circoviridae* y *Parvoviridae*,<sup>45</sup> pero no existen similitudes significativas en las secuencias de ácidos nucleicos y se lo

ha clasificado como un miembro de una nueva familia de virus: *Circinoviridae*; esto con base en sus particularidades distintivas moleculares y biofísicas. Se han identificado al menos tres genotipos mayores y múltiples subtipos (designados 1a, 1b, 1c, 2a-f y 3) sin distribución geográfica definida.

Al igual que el VHG, la prevalencia en la población es muy alta; por lo tanto, lo mismo ocurre en la población donante. Puede variar desde el 2% en Inglaterra hasta el 62% en Brasil.

Está demostrada su transmisión por transfusión.<sup>46-47</sup> Se lo detectó en pacientes hemofílicos, con talasemia y en adictos a drogas endovenosas. La infección se transmite por sangre infectada, leche materna y por la vía fecal-oral.

Si bien inicialmente se lo asoció con hepatitis viral, actualmente se conoce que no es una causa importante de enfermedad hepática.

Al igual que ocurre con el VHG, no se ha implementado ni parece necesaria su detección en donantes de sangre.

### Citomegalovirus y virus de Epstein-Barr

El CMV pertenece a la familia de los herpes virus o herpesviridae. Posee como material genético una doble cadena de ADN y es un virus envuelto.

En personas inmunocompetentes la infección primaria por CMV es usualmente asintomática, con la producción de anticuerpos específicos como único indicador de infección pasada. En la resolución de la infección el virus permanece en latencia en los leucocitos, responsables de su transmisión a través de la transfusión de componentes celulares

de la sangre. El riesgo es proporcional al número de componentes transfundidos, y solo un bajo porcentaje desarrolla un síndrome mononucleosis-like 3 a 6 semanas después de la transfusión.

Periódicamente a lo largo de la vida ocurren reactivaciones virales en los individuos seropositivos, lo que provee el estímulo para el mantenimiento de los anticuerpos específicos. También es transmitido por contacto sexual, saliva, orina, amamantamiento y trasplante de órganos.

La primoinfección en individuos inmunocomprometidos seronegativos, como los recién nacidos de bajo peso, de menos de 1.200 g, nacidos de madres seronegativas, pacientes oncológicos, infectados con VIH y receptores de trasplantes de células hematopoyéticas puede producir enfermedad grave con elevada morbilidad y mortalidad. La severidad de la infección clínica tiene estrecha relación con el grado de inmunosupresión del paciente.

La seroprevalencia de CMV en la población general es alta en todo el mundo y se incrementa con la edad. Como referencia, en EE.UU. se eleva entre el 40% y 90%. No obstante, de estos seropositivos una pequeña proporción, estimada en menos del 1%, tiene viremia estudiada por PCR.<sup>48</sup>

La transmisión postransfusional en nacidos prematuros de madres seronegativas para CMV se produce con elevada frecuencia, cercana al 25% de los casos, en que la mitad se traduce en neuropatías, hepatitis o encefalitis que pueden ser graves o mortales.

Dado que la latencia de este virus se produce en los linfocitos, hay dos tipos de estrategia para evitar su transmisión

por transfusión en los casos que se justifiquen (receptores inmunodeprimidos seronegativos para CMV): 1) La leucorreducción por filtración prealmacenamiento, o por aféresis para reducir el número de leucocitos presentes; y 2) Utilización de hemocomponentes celulares provenientes de donantes seronegativos para CMV (la menos utilizada). Ambas medidas tuvieron algo más del 93% de eficacia en la reducción del riesgo de infección.<sup>49-51</sup>

El virus de Epstein-Barr (VEB) pertenece a la familia herpesviridae, por lo cual es también conocido como herpes tipo 5. Como todos los virus que componen esta familia, contiene ADN asociado fuertemente a proteínas como material genético. Sus células blanco son los linfocitos B, pero puede infectar también las células epiteliales de la orofaringe, que es la vía de ingreso al organismo a través de saliva contaminada.

Las infecciones por este virus se adquieren por lo general en edades tempranas y se caracterizan por ser asintomáticas o por manifestarse solo con adenopatías u odinofagia. Si la infección se produce en un adulto inmunocompetente se manifiesta por un síndrome sistémico (mononucleosis infecciosa) con fiebre, adenopatías, alteraciones hematológicas y en ocasiones hepatitis.

Ocasiona también al menos una forma de linfoma de Burkitt y se encuentra su participación en algunos carcinomas nasofaríngeos.

El VEB también se puede transmitir por transfusión, caso excepcional como causante de hepatitis postransfusional,<sup>52</sup> y por lo general ocasiona infecciones asintomáticas, a pesar de que está involucrado en la aparición de enfermedades

linfoproliferativas en pacientes que reciben trasplantes de órganos o de células hematopoyéticas.

De todos modos, al igual que ocurre con el CMV, el mayor riesgo está en los pacientes inmunosuprimidos, VEB negativos que reciben hemocomponentes u órganos de donantes con VEB. Dado que la tasa de seropositividad en la población general es alta (ronda el 90%) el riesgo de la enfermedad clínica para los pacientes inmunocompetentes es muy baja o casi nula.

La forma de disminuir el riesgo de su transmisión por transfusión, tal como con CMV, es desleucocitar por filtración los componentes celulares de la sangre, sobre todo para los receptores inmunosuprimidos seronegativos para el VEB.

## Referencias

1. Kleinman S, Busch MP. The risks of transfusion-transmitted infection: direct estimation and mathematical modeling. *Baillière's Clinical Haematology* 2000; 13: 631-649.
2. Foglieni B, Candotti D, Guarnori I, Molteni C, Gatti M, La Russa E. A cluster of human immunodeficiency virus type-1 recombinant form escaping detection by commercial genomic amplification assays. *Transfusion* 2010 Nov 18 (Epub ahead of print; doi: 10.1111/j.1537-2995.2010.02942.x).
3. Fiebig EW, Wright DJ, Rawal BD, Garrett PE, Schumacher RT, Peddada L, Heldebrant C, Smith R, Conrad A, Kleinman SH, Busch MP. Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *AIDS* 2003;17:1871-9.
4. Glynn SA, Wright DJ, Kleinman SH, Hirschorn D, Tu Y, Heldebrant C, Smith R, Giachetti C, Gallarda J, Busch MP. Dynamics of viremia in early hepatitis C virus infection. *Transfusion* 2005;45:994-1002.
5. Harrison SC: Principles of virus structure. En: Fields BN, Knipe DM, eds. *Virology*. New York; Raven Press, 1990.p. 37-61.
6. Beeson, P.B. Jaundice occurring one to four months after transfusion of blood or plasma: report of seven cases. *JAMA*.1943;121:1332-4.
7. Morgan, H.W. and Williamson, D.A. Jaundice following administration of human blood products. *BMJ*. 1943;1: 750-3.
8. Menitove J. Hepatitis. In: Anderson KC, Ness PM, eds, *Scientific basis of transfusion medicine. Implications for clinical practice*. Philadelphia: WB Saunders,1994. p. 620-36.
9. Dood R. Hepatitis. In: Petz LD, Swisher SN, Kleinman S, et al, eds. *Clinical practice of transfusion medicine*. 3 ed. New York: Churchill Livingstone, 1996:847-73.
10. Gowland P, Fontana S, Niederhauser C, Taleghani BM. Molecular and serologic tracing of a transfusion transmitted hepatitis A virus. *Transfusion* 2004;44:1555-61.
11. Anderson, D.A. and Shrestha, I.L. Hepatitis E virus. En: *Clinical Virology*, eds D.D. Richman, R.J. Whitley and F.G. Hayden. Washington DC, ASM Press. 2002. p.1061-74
12. Boxall, E., Herborn, A., Kochethu, G, Pratt G, Adams D, Ijaz S. Transfusion-transmitted hepatitis E in a 'nonhyperendemic' country. *Transfus Med*. 2006; 16: 79- 83.
13. Blumberg BS, Alter HJ, Visnich SA. "New" antigen in leukaemia sera. *JAMA* 1965;191:541-6.
14. Prince AM. An antigen detected in the blood during the incubation period of serum. hepatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1968;60:814-21.
15. Lee WM. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997;337:1733-45.
16. Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection-natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004; 350:1118-29.
17. Previsani, N., Lavanchy, D. and Siegl, G. Hepatitis A. En: *Viral Hepatitis: Molecular Biology, Diagnosis, Epidemiology and Control (Perspectives in Medical Virology)*, I.K. Mushahwar ed, Vol 10 Amsterdam, Elsevier; 2004:1-98
18. Mc Mahon BJ, Bruden DL, Petersen KM, Bulkow LR, Parkinson AJ, Nainan O, Khristova M, Zanis C, Peters H, Margolis HS:

- Antibody levels protection after Hepatitis B vaccination; results of a 15-year follow-up. *Ann Intern Med* 2005; 142: 333-41.
19. Kleinman, S.H., Strong, D.M., Tegtmeier, G.G., (2005) Hepatitis B virus (HBV) DNA screening of blood donations in mini-pools with the COBAS AmpliScreen HBV test. *Transfusion* 2005;45: 1247-57.
  20. Biswas, R., Tabor, E., Hsia, C.C. Wright DJ, Laycock ME, Fiebig EW, (2003) Comparative sensitivity of HBV nucleic acid tests and HBsAg assays for detection of acute HBV infections. *Transfusion* 2003; 43: 788-98
  21. Comanor, L. and Holland, P. (2006) Hepatitis B virus blood testing: unfinished agendas. *Vox Sang* 2003; 91, 1-12
  22. Bush MP: Should HVB DNA NAT replace HBsAg and/or anti-HBc screening of blood donors? *Transfus Clin Biol* 2004; 11:26-32
  23. Biswas R, Tabor E, Hsia CC, Wright DJ, Laycock ME, Fiebig EW, Comparative sensitivity of HBV NATs and HBsAg assays for detection of acute HBV infection. *Transfusion* 2003;43:788-98.
  24. Stramer SL. Pooled hepatitis B virus DNA testing by nucleic acid amplification: implementation or not. [Editorial]. *Transfusion* 2005;45:1242-6.
  25. Hollinger FB. Hepatitis B virus infection and transfusion medicine: science and the occult. *Transfusion* 2008;48:1001-26.
  26. Kleinman SH, Busch MP. Assessing the impact of HBV NAT on window period reduction and residual risk. *J Clin Virol* 2006;36 Suppl 1:S23-9.
  27. Bush MP: Should HVB DNA NAT replace HBsAg and/or anti-HBc screening of blood donors? *Transfus Clin Biol* 2004; 11:26-32
  28. Gerlich WH: Breakthrough of hepatitis B virus escape mutants after vaccination and virus reactivation. *J Clin Virol* 2006;36:8-22.29.
  29. Choo, Q.L., Kuo, G., Weiner, A.J., et al. (1989) Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*, 244,359-6
  30. Kuo G, Choo QL, Alter HJ, Gitnick GL, Redeker AG, Purcell RH., An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989;244:362-4.
  31. WHO. Hepatitis C: global prevalence. *Wkly epidemiol Rec* 1997;72:341-4.
  32. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C. *Hepatology* 1997;26( suppl 1):62-5.
  33. Kim W. The burden of hepatitis C in the United States. *Hepatology* 2002;36( suppl ):30-4
  34. Lauer, G.M. and Walker, B.D. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2001;345:41-52
  35. Gonzalez M., Regine, Piccinini, V, Vulcano F, Giampaolo A, Hassan H. (2005) Residual risk of transfusion-transmitted human immunodeficiency virus, hepatitis C virus, and hepatitis B virus. infections in Italy. *Transfusion* 2005;45: 1670-5
  36. Tobler, L.H., Stramer, S.L., Lee, S.F, Baggett D, Wright D, Hirshkorn D. Performance of ORTHOHCV core antigen and trak-C assays for detection of viraemia in pre-seroconversion plasma and whole blood donors. *Vox Sang* 2005;89:201-7
  37. Houghton, M. and Abrignani, S. Prospects for a vaccine against the hepatitis C virus. *Nature* 2005;436, 961-6
  38. Previsani, N., Lavanchy, D. and Siegl, G. Hepatitis A. En: *Viral Hepatitis: Molecular Biology, Diagnosis, Epidemiology and Control (Perspectives in Medical Virology)*, I.K. Mushahwar ed, Vol 10. Amsterdam Elsevier. 2004:1-98
  39. Macnaughton, T.B. New directions and predictions for the future - hepatitis D. *Proceedings of the 11th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease, Sydney*, eds A.R. Jilbert, E.V.L. Grgacic and K. Vickery, 2003. p. 237-40
  40. Simons JN, Pilot-Matias TJ, Leary TP, Dawson GJ, Desai SM, Schlauder GG, Muerhoff AS, Erker JC, Buijk SL, Chalmers ML. Identification of two flavivirus-like genomes in the GB hepatitis agent. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:3401-3405
  41. Linnen J, Wages J Jr, Zhang-Keck ZY, Fry KE, Krawczynski KZ, Alter H, Koonin E, Gallagher M, Alter M, Hadziyannis S, Ka-

- rayiannis P, Fung K, Nakatsuji Y, Shih JW, Young L, Piatak M Jr, Hoover C, Fernandez J, Chen S, Zou JC, Morris T, Hyams KC, Ismay S, Lifson JD, Hess G, Fong SK, Thomas H, Bradley D, Margolis H, Kim JP. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: a transfusion transmissible agent. *Science* 1996; 271: 505-508
42. Alter HJ, Nakatsuji Y, Melpolder J, Wages J, Wesley R, Shih Jw. The incidence of transfusion-associated Hepatitis G virus infection and its relation to liver disease. *N Engl J Med* 1997;336:747-54.
  43. Mikhailov MI. Hepatitis G: problems of studies. *Virus hepato*1997; 1: 3-11
  44. Loginov AS, Sharafanova TI, Reshetniak VI, Il'chenko Llu, Shepeleva SD, Serova TI, Tkachev VD. [HGV and TTV -new hepatitis viruses] *Ter Arkh* 2000; 72: 9-13
  45. Okamoto H, Nishizawa T, Kato N, Ukita M, Ikeda H, Lizuka H. Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepato Res* 1998; 10: 1-16.
  46. Matsumoto A, Yeo AET, Shih JWK, Tanaka E, Kiyasawa K, Alter HJ. Transfusion-associated TTV infection and its relationship to liver disease. *Hepatology* 1999; 30: 283-8.
  47. Kobayashi M, Chayama K, Arase Y, Tsubota A, Saitoh S, Koida I et ál. Prevalence of T virus before and after blood transfusion in patients with chronic liver disease treated surgically for hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 358-63.
  48. Drew W.L., et ál. Frequency and duration of plasma CMV viremia in seroconverting blood donors and recipients. *Transfusion* 2003; 43(3):309-13.
  49. Laupacis A., et ál. Prevention of posttransfusion CMV in the era of universal WBC reduction: a consensus statement. *Transfusion* 2001;41(4):560-9.
  50. Vamvakas E.C. Is white blood cell reduction equivalent to antibody screening in preventing transmission of cytomegalovirus by transfusion? A review of the literature and metaanalysis. *Transfus Med Rev* 2005; 19(3):181-99.
  51. Sayers M. Cytomegalovirus and other herpesviruses. In: Petz LD, Swisher SN, Kleiman S, et als, eds. *Clinical practice of transfusion medicine*. 3 ed. New York: Churchill Livingstone, 1996.p.875-89.
  52. Giusti G, Galanti GB, Gallo C. Etiological, clinical and laboratory data of post-Transfusion hepatitis: A restropective study of 379 cases from Italian hospitals. *Infection* 1987;15:111-4



# Infección por retrovirus: aspectos vinculados a la transfusión sanguínea

MIRTA C. REMESAR\*

Los retrovirus se distribuyen ampliamente en la naturaleza y se encuentran en insectos,<sup>1</sup> reptiles y mamíferos.<sup>2</sup> Estos virus son envueltos, poseen cadenas simples de ARN y requieren de la presencia de transcriptasa reversa en su ciclo de replicación. En una infección típica las partículas virales se unen a la membrana de la célula huésped e ingresan a ella. En el interior de la célula la transcriptasa reversa será capaz de utilizar el ARN para copiar una doble cadena de ADN complementaria que podrá integrarse al genoma celular. Con el auxilio de enzimas de la célula huésped se completará el ciclo viral con la producción de viriones, que saldrán de la célula por brotación llevando consigo

\* *Doctora en Ciencias Biológicas (Universidad de Buenos Aires) Responsable del Área de Infecciones Transmisibles por Transfusión, Servicio de Hemoterapia, Hospital de Pediatría Prof Dr. JP Garrahan. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.*

parte de la membrana celular e infectando así otras células.

En la familia *Retroviridae* se encuentran los retrovirus humanos de la Inmunodeficiencia Humana (HIV 1 y 2) y los Virus Linfotrópicos T Humanos (HTLV I y II). Los virus HIV 1 y HIV 2 pertenecen al grupo de los *Lentivirus*. En el mismo grupo se encuentran el virus de la Anemia Infecciosa Equina, el virus Visna/Maedi, el virus de la Inmunodeficiencia Bovina, el virus de la Inmunodeficiencia Felina y el virus de la Inmunodeficiencia Simiana. Todos ellos producen desórdenes del sistema inmune y del sistema nervioso en distintos huéspedes animales.<sup>3</sup>

Los virus HTLV I y HTLV II se encuentran en el grupo *Oncovirinae*, junto con el Virus de la Leucemia Bovina.<sup>4</sup>

## Virus de la Inmunodeficiencia Humana 1 y 2

El virus de la Inmunodeficiencia Humana fue descubierto a principios de la década de los años ochenta, primeramente en Francia por Barré-Sinoussi, Chermann y Luc Montagnier,<sup>5</sup> y seguidamente por el grupo de Robert Gallo en los Estados Unidos de América. En 1983 el grupo de investigadores franceses aislaron el retrovirus a partir de nódulos linfáticos de un individuo con linfadenopatía generalizada persistente, y al reconocerse similitudes con el Virus de la Leucemia T Humana (HTLV) se lo clasificó inicialmente como un miembro de estos retrovirus. Esta conclusión fue influenciada por la publicación concomitante del hallazgo de un virus con iguales propiedades que había sido aislado de pacientes con Síndrome de

Inmunodeficiencia Humana Adquirida (Sida), por Gallo y colaboradores.<sup>6</sup>

Sin embargo, parecía poco probable que este virus identificado primariamente como un miembro del HTLV fuese el agente etiológico del sida, dado que el HTLV presenta un nivel de replicación bajo que requiere estrecho contacto entre membranas celulares. Por el contrario, el virus que producía sida poseía una tasa alta de replicación. Asimismo, comenzaban a informarse casos de sida en individuos con hemofilia, que habrían adquirido la infección a partir de virus libre en plasma o sus derivados, contrariamente a lo que ocurre con HTLV, cuyos viriones no se encuentran libres en el plasma.

Además, el virus presente en los individuos con sida causaba la pérdida de linfocitos CD4+, otra diferencia importante con respecto al HTLV, el cual no induce la muerte de los linfocitos que infecta sino que provoca un continuo crecimiento de estas células.<sup>7</sup>

Se llegaba así al mayor conocimiento e identificación de un nuevo agente viral, denominado LAV (Virus Asociado a Linfadenopatía) por el grupo de Montagnier, HTLV III por Gallo y colaboradores,<sup>8</sup> y ARV (Retrovirus asociados a Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida) por Levy y colaboradores.<sup>9</sup> Exhaustivas investigaciones de distintos grupos en el mundo concluyeron en corto tiempo que el agente viral poseía características comunes y constituía un mismo agente, denominado HIV (Virus de la Inmunodeficiencia Humana) en 1986 por el Comité Internacional de Taxonomía Viral.<sup>10</sup>

Poco tiempo después de la identificación del HIV-1, otro virus, el HIV-2,



se identificó en pacientes con sida provenientes del oeste de África, particularmente de las Islas de Cabo Verde y Senegal.<sup>11</sup>

Existe una considerable homología en la secuencia genómica de HIV-1 y HIV-2. Ambos virus causan sida, aunque la enfermedad es más leve cuando es originada por HIV-2.

La mayor diferencia serológica entre HIV-1 y HIV-2 reside en las glicoproteínas de envoltura. Los anticuerpos contra HIV-2 presentan reactividad cruzada con las proteínas de la región Gag y Pol de HIV-1 pero pueden ser incapaces de detectar las proteínas de envoltura de HIV-1 y viceversa. Por esta razón en los bancos de sangre se requiere que los ensayos para la detección de anticuerpos sean capaces de detectar las proteínas de ambos virus.<sup>12</sup>

### Patogénesis

Los individuos recientemente infectados, generalmente dentro de las dos a tres semanas, pueden presentar síntomas tales como cefaleas, dolor retro-orbital, dolores musculares, fiebre, inflamación de los nódulos linfáticos y eritema macular sin prurito en el tronco (tipo *rash*) y posteriormente en las extremidades. Todo ello constituye el síndrome agudo retroviral. Alrededor de una a dos semanas luego de la aparición de los síntomas surgen los anticuerpos, que seguirán presentes durante todo el periodo asintomático del curso de la infección. En los días iniciales de la infección tiene lugar una activa replicación viral en el sitio de entrada del virus en los linfocitos activados, células dendríticas y macrófagos de las mucosas

o tejido linfoide (por ejemplo, en la lámina propia) del tracto gastrointestinal o la zona cérvico-vaginal.

Luego de tres a seis meses de la infección primaria los linfocitos CD4 positivos retornan a un nivel cercano al normal. Estos linfocitos decrecen gradualmente a través de los años durante el periodo asintomático. En este periodo la replicación viral se mantiene en un nivel bajo, y luego se suprime por acción de los linfocitos CD8+.

Dentro de los diez años postinfección la mayoría de los individuos infectados desarrollan síntomas y muestran un descenso marcado de los linfocitos CD4+ (menor a 350 células/ $\mu$ L), aumento de la carga viral y disminución de la respuesta antiviral mediada por las células CD8+. En los nódulos linfoides ocurre un fenómeno similar, aumenta la replicación viral en forma concomitante con la destrucción del tejido linfoide. Estos eventos hacen que el individuo infectado sea susceptible a infecciones oportunistas y marca el comienzo del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida). Esta enfermedad, en su curso natural, lleva a la muerte alrededor de un año después de establecidos los síntomas. El empleo de la Terapia Anti-retroviral de Gran Actividad (TARGA o HAART en inglés), constituida por una combinación de drogas, ha mostrado ser efectiva en el control de la infección por HIV y ha prolongado, en consecuencia, la expectativa de vida de los individuos infectados. Pero esta terapia presenta problemas que son materia de nuevas investigaciones, como las dificultades en la adherencia al tratamiento, los efectos tóxicos de algunas drogas y la

emergencia de cepas virales resistentes al tratamiento.

### Organización genómica

El genoma del HIV contiene una región gag (que codifica para los antígenos del core grupo específicos), una región pol (da lugar a la enzima polimerasa e integrasas) y una env (codifica para las proteínas presentes en la envoltura); todas ellas son porciones de genoma que codifican para las proteínas estructurales del virus y comunes a todos los retrovirus. El genoma de HIV contiene además seis genes que codifican para proteínas regulatorias y factores de virulencia.

El transcriptor primario de HIV es un ARNm completo, el precursor Pr160, que es traducido en proteínas de la región Gag-Pol. La poliproteína precursora Pol es autoclivada por la misma proteasa viral (PR) en las enzimas virales de actividad de proteasa, transcripción reversa e integrasa. Por el clivaje proteolítico del precursor Gag p55 se da lugar a proteínas más pequeñas, tales como p24, p17 y p6. Las proteínas de envoltura gp 120 y gp41 se obtienen a partir del precursor gp160 a través del clivaje producido por enzimas de la célula huésped.<sup>13</sup>

En la Tabla 1 se enumeran las proteínas virales y sus respectivas funciones.

**Tabla 1.** Proteínas del HIV y su caracterización

Proteínas	Tamaño (kDa)	Función/Localización
Gag	p24	Cápside, proteína estructural
	P17	Matriz, situada bajo la envoltura
	P7	Nucleocápside, ayuda en transcripción reversa
	p6	Contribuye en brotación
Polimerasa (Pol)	p66, p51	Transcripción reversa, ARNasa H, presente en el core viral
Proteasa	p10	Procesamiento post-traducción de proteínas virales, presente en el core viral
Integrasa	p32	Integración del cADN viral, presente en el core viral
Envoltura (Env)	gp120	Proteína de envoltura de superficie, interviene en el reconocimiento de receptores celulares
	gp 41	Proteína de envoltura de transmembranada, interviene en el reconocimiento de receptores celulares
Tat	P14	Transactivación
Rev	P19	Regulación de la expresión de ARNm
Nef	P27	Aumenta o disminuye la replicación
Vif	P23	Incrementa la infectividad, contribuye en la síntesis de ADN pro-viral y/o en el ensamblaje viral
Vpr	P15	Contribuye en la replicación viral
Vpud	P16	Ayuda en la liberación viral
Vpxe	P15	Ayuda en el ingreso e infectividad
Tev	P26	Actividades Tat/Rev

Las denominaciones de las proteínas virales se corresponden con su tamaño en kilodaltons.

d. Sólo presente en HIV-1

e. Sólo codificada por HIV-2.

### Ciclo de replicación viral

La fijación del virus a la membrana celular representa el primer paso para la penetración en la célula. Para esto se necesita el reconocimiento y acoplamiento de las proteínas de envoltura del virión, gp 120 y gp41, junto con los receptores de la célula blanco, las moléculas CD4. Este reconocimiento es posible con la interacción de correceptores de quimiocinas propios de las células susceptibles: los denominados CCR5 para los virus macrófago-trópicos, y los CXCR4 para los linfotrópicos.

La penetración viral es la segunda etapa. El virión se vacía dentro de la célula al fusionarse la envoltura lipídica del virión con la membrana plasmática celular. Las dos cadenas de ARN virales salen de la cápside con la ayuda de proteínas p24 y algunas enzimas. Aún asociado a las proteínas virales de la matriz, el ARN del virus comienza la transcripción reversa por acción de su propia enzima, la que presenta actividades ADN polimerasa dependiente de ARN y ADN, y de ARNasa H. Como resultado se obtiene en primer lugar un ADN monocatenario complementario al ARN original, que sirve de template para la obtención posterior de una doble cadena de ADN. Esta doble cadena de ADN viral forma parte del complejo de preintegración junto con la proteína de la matriz, la Vpr y la integrasa viral. El complejo de preintegración es transportado hasta el núcleo de la célula para integrarse como un ADN lineal en los cromosomas de la célula por acción de la integrasa viral y de factores de la célula huésped.

Luego de la integración en el genoma celular, los primeros ARN mensajeros

fabricados en la célula infectada corresponden a transcritos codificados por los principales genes regulatorios *tat*, *rev* y *nef*. Mientras que *tat* y *nef* activan la producción y replicación viral, *rev* promueve el transporte hacia el citoplasma de ARN mensajeros de mayor tamaño, responsables de la traducción de proteínas estructurales y enzimas que dan lugar a los viriones infectivos. El ensamblaje viral tiene lugar en la proximidad a la membrana celular, donde el ARN viral se incorpora en la cápside y se produce la brotación a partir de la membrana celular incorporando las proteínas de envoltura gp120 y gp41.

El HIV es capaz de replicar activamente en los individuos infectados, y su transcriptasa reversa es propensa a errores de transcripción. Se ha estimado que en cada ciclo de replicación viral pueden producirse hasta 10 errores en el copiado de nucleótidos en relación con los 10.000 nucleótidos que componen el genoma viral. El resultado de la generación de estas variantes conduce al desarrollo de una heterogeneidad de secuencias, denominadas cuasiespecies. En el transcurso de una infección persistente las cuasiespecies evolucionan rápidamente y se seleccionan las más aptas, tanto por factores propios de la replicación viral como por la selección inmunológica del huésped. Esta propensión a la mutación y selección propia del huésped también explica la resistencia a la terapia por drogas anti-retrovirales.

### Grupos y Subtipos de HIV-1 y HIV-2

La familia del HIV-1 consiste de tres grupos denominados M (main), O (outlier) y N (no M ni O).

En el grupo M existen 11 subtipos o “*clades*” (A-K). El grupo B se encuentra ampliamente distribuido en Estados Unidos de América y Europa. En África Central, donde se estima que se ha originado la pandemia, existe una mayor diversidad de subtipos virales.<sup>14</sup> En Europa, y en menor grado en Suramérica y Asia, se ha identificado mayor cantidad de subtipos diferentes del B, tanto en pacientes como en donantes de sangre.

En poblaciones donde cocirculan distintos subtipos o “*clades*” emergen virus recombinantes, y adquieren en algunos casos un linaje de importancia epidemiológica. Estas formas circulantes recombinantes se designan como CRF (Circulating Recombinant Forms, en inglés), y para su denominación reciben una numeración secuencial junto con las letras correspondientes a los subtipos involucrados en su formación.

El grupo O fue originalmente hallado en Camerún y se estima que entre 1-2% de los individuos infectados en África Occidental poseen cepas virales pertenecientes a este grupo. A mediados de la década del noventa se detectaron aislamientos del grupo O en Europa. En dicho periodo las pruebas comerciales eran deficientes en la detección de anticuerpos hacia tales cepas virales.<sup>15</sup> Esto determinó la introducción de proteínas recombinantes del grupo O en la fabricación de las pruebas para facilitar la detección de individuos infectados con el grupo O del HIV-1.

El HIV-2 fue descubierto en 1985 en países de África Occidental, y es muy poco frecuente detectarlo fuera de dicha área geográfica. Se han identificado ocho grupos de secuencia (A-H) en la familia HIV-2.<sup>16</sup> La introducción de ensayos de

tamizaje que combinan la detección de HIV-1 y HIV-2 en donantes de sangre permitió detectar solamente tres donantes HIV-2 positivos en 50 millones de donaciones en Estados Unidos de América, en contraste con la detección de 4.000 donantes positivos para HIV-1 en dicho total de donaciones.<sup>17</sup> Sólo dos donantes HIV-2 positivos se detectaron en el Reino Unido, mientras que en Europa continental se identificó un mayor número de donantes HIV-2 positivos.

### Transmisión del virus

La frecuencia de transmisión de HIV es influenciada tanto por la cantidad de virus del agente infeccioso en las secreciones o fluidos corporales como por la cantidad de contactos que un individuo haya mantenido con dichos fluidos corporales. El establecimiento de la infección depende de los tres puntos clásicos en epidemiología: las características del agente infeccioso (virulencia, infectividad), factores relativos al huésped (susceptibilidad, posibilidad de contagio efectivo, respuesta inmune) y factores ambientales (sociales, culturales y políticos).

Los estudios epidemiológicos realizados durante 1981 y 1982 indicaban que las vías de transmisión preponderantes eran el contacto sexual y la sangre contaminada.<sup>18</sup> El sida fue inicialmente descrito en hombres homosexuales y bisexuales y en usuarios de drogas endovenosas, pero prontamente se describió la transmisión por la actividad heterosexual. Asimismo, se describió la adquisición de sida en receptores de transfusión sanguínea y en personas con

hemofilia,<sup>19</sup> y la transmisión de madres infectadas a sus niños recién nacidos.<sup>20</sup>

El HIV fue aislado a partir de sangre, semen, secreciones cervicales, líquido cerebroespinal, lágrimas, saliva, orina y leche materna. Si bien las técnicas de detección han variado en su sensibilidad, las vías de transmisión principales del virus continúan siendo las mismas: sangre, contacto sexual y transmisión materna.

La transmisión del virus por transfusión de unidades de sangre infectadas presenta una tasa de infección del 90%, y las posibles causas de ausencia de transmisión son la carga viral extremadamente baja en la donación, el largo periodo de almacenamiento de la unidad previo a la transfusión o mutaciones en el genoma viral producidas en el receptor de la transfusión.<sup>21</sup>

Si bien la infección del HIV por transfusión de sangre contaminada es la vía más efectiva de transmisión, aun cuando se produzca por una única exposición, la transfusión sanguínea es la causa de infección en sólo el 2% al 5% de los individuos en todo el mundo.<sup>22</sup>

La transmisión secundaria del virus a partir de receptores infectados por transfusión a sus parejas sexuales o a sus hijos recién nacidos representa un ejemplo de transmisión multifactorial. La causa de la transmisión secundaria es la alta carga viral del receptor de la transfusión contaminada.<sup>23</sup>

### Factores de riesgo

Los bancos de sangre deben realizar un tamizaje en distintos pasos para evitar la transmisión de HIV y de otros agentes infecciosos. Este tamizaje comprende,

en primer lugar, la entrevista al donante de sangre, y en segundo término, la detección de anticuerpos a-HIV y antígeno p24, o bien la detección directa del HIV por técnicas de biología molecular. La entrevista al donante de sangre no presenta un formato homogéneo en distintos países del mundo pero en todos los casos intenta reconocer a los donantes potencialmente infectados efectuando para ello preguntas relativas a los factores de riesgo vinculados a la infección. Las preguntas referidas a parejas sexuales con personas que padecen de hemofilia, relaciones sexuales de un hombre con otro hombre, el uso de drogas endovenosas ilegales, el hecho de haber mantenido sexo a cambio de dinero o drogas se incluyen en la mayoría de las entrevistas al donante de sangre. El cuestionario realizado a los donantes de sangre ha mejorado en las últimas dos décadas; no obstante, la selección del donante requiere de su honestidad para reconocer los riesgos de infección y evitar la donación de sangre en caso de haber existido dichos riesgos.

En los últimos años algunas agrupaciones de hombres homosexuales han ejercido cierta presión sobre los bancos de sangre para suprimir de los cuestionarios a donantes de sangre las preguntas relativas a hombres que mantienen o hayan mantenido sexo con hombres (HSH), aludiendo que son de carácter discriminatorio. Asimismo, se ha cuestionado el periodo por el cual los HSH deben ser diferidos para la donación de sangre, dado que en algunos países el diferimiento es permanente con al menos un contacto desde 1977, pero en la actualidad dicho periodo podría reducirse por la detección temprana

de la infección con la realización de pruebas para ácidos nucleicos. Si bien la evidencia científica muestra mayor riesgo de infección entre HSH<sup>24, 25,26</sup> las decisiones con respecto a su diferimiento están influenciadas por aspectos sociales, culturales y políticos. Por lo tanto, no se ha llegado hasta el momento a un consenso uniforme al respecto, y son diferentes las conductas adoptadas en distintos países. En una publicación reciente<sup>27</sup> se revisaron las políticas de veinticuatro países, de los cuales trece difieren permanentemente al donante hombre que haya tenido sexo con otro hombre desde 1977, seis países difieren por un período definido de cinco años (como en Nueva Zelanda) y doce meses en Australia, Brasil, Japón y República Checa. En Sudáfrica dicho periodo se reduce sólo a seis meses. En cinco de los países participantes no se incluye una pregunta en el cuestionario relativa a HSH: Polonia, Rusia, India, España e Italia.

### Estudios para la detección de la infección por HIV en donantes de sangre

El tamizaje en donantes de sangre se basa en la detección de anticuerpos específicos hacia proteínas del HIV y de secuencias propias del genoma viral.

Las primeras pruebas para la detección del HIV se desarrollaron a principios de la década del ochenta. Estas pruebas estaban basadas en un diseño de enzimo-inmuno-ensayo que utilizaba lisados virales obtenidos a partir de cultivos celulares como composición antigénica. Estas pruebas son las denominadas de primera generación. La

incorporación de antígenos recombinantes o péptidos sintéticos en las pruebas de segunda generación hizo posible alcanzar preparaciones antigénicas más estables y ensayos más sensibles. Posteriormente se introdujeron antígenos propios de HIV-2, permitiendo así la detección combinada de HIV-1 y HIV-2, y se incorporaron antígenos propios del grupo O de HIV-1.

Las pruebas de tercera generación utilizan un diseño tipo “sándwich”. Esto implica que en fase sólida se encuentran los antígenos propios del virus, a los que podrán unirse los anticuerpos presentes en suero o plasma, y a tales anticuerpos se unen antígenos de igual composición a los adheridos en fase sólida pero marcados con alguna enzima que permita expresar la presencia de estos anticuerpos por alguna señal química, según el diseño del ensayo. Este diseño en las pruebas para anticuerpos permite una menor dilución de la muestra, la detección de IgM y una mayor sensibilidad para detección de la seroconversión temprana.

Con el objeto de evitar la transmisión de la infección por donaciones en el periodo previo a la seroconversión se implementó la prueba de Elisa para el antígeno p24 en USA en 1996. En los primeros cinco años sólo se encontraron siete donaciones en periodo de ventana; número de donaciones positivas menor a lo previamente estimado.<sup>28</sup>

Hacia fines de los noventa en Europa y USA la adopción de las pruebas para ácidos nucleicos (NAT, Nucleic Acid Testing, en inglés) para reducir la ventana inmunológica para HCV aceleró, además, la introducción de esta prueba para HIV. En los primeros tres años luego

de la implementación se detectaron en Estados Unidos doce donaciones positivas para ARN de HIV-1, negativas para p24 y anticuerpos.<sup>29</sup>

La situación relativa al tamizaje de la infección por HIV en donantes de sangre en países en desarrollo muestra diferentes características. La implementación de NAT presenta dificultades no sólo por razones económicas sino por cuestiones organizativas de los bancos de sangre. La ausencia de centralización en bancos de sangre representa un obstáculo, ya que los centros carecen del número suficiente de donaciones diarias para la realización de estas pruebas. En estas regiones tampoco es homogénea la aplicación de la prueba de Elisa para el antígeno p24, pero en los últimos años el desarrollo de pruebas duales o “combo” para la detección de anticuerpos a-HIV y antígeno p24 ha remplazado el uso de ambas pruebas por separado, facilitando el tamizaje. Las pruebas duales son denominadas de cuarta generación, se encuentran tanto en formatos de Elisa tradicionales como en ensayos con lecturas por fluorescencia o quimioluminiscencia y son capaces de detectar la infección entre cuatro y veinte días antes que los ensayos de tercera generación.<sup>30</sup>

Las pruebas de tamizaje para anticuerpos a-HIV en los donantes de sangre presentan falsos positivos en distintos porcentajes, según la población de donantes de sangre estudiada. En países desarrollados un alto porcentaje de los donantes reactivos por tamizaje pueden resultar negativos por pruebas suplementarias o confirmatorias.<sup>31</sup> Ante un resultado reactivo por tamizaje existen dos algoritmos para confirmar dicho resultado: otra prueba de Elisa de igual

o mayor sensibilidad que la utilizada en primer lugar, o una prueba suplementaria o confirmatoria. La prueba confirmatoria más empleada es la de Western Blot, que se considera positiva cuando se observan al menos las bandas correspondientes a las proteínas de envoltura gp41, gp120/gp160 y p24 de la región gag. Cualquier patrón de bandas que no pueda clasificarse como positivo debe considerarse indeterminado. Dado que estos resultados no definen el estado de infección del donante se requiere de resultados adicionales por la prueba de tamizaje durante el seguimiento del donante, o bien de la interpretación conjunta con las pruebas para ácidos nucleicos.

Más recientemente, las pruebas de inmunoblots han incorporado proteínas recombinantes, y también proteínas específicas de HIV-2. En caso de utilizarse un algoritmo de diagnóstico con dos Elis as en forma secuencial debe tenerse presente la posibilidad de reactividad cruzada en ambas pruebas, dada la similar composición antigénica de las pruebas de tamizaje. Por lo tanto, se precisa una prueba de inmunoblot o un ensayo de NAT para definir resultados en una población de bajo riesgo de infección por HIV, como la población de donantes de sangre.

Si un donante repetido se detectara como positivo para HIV en una nueva donación, se debe proceder a una investigación que comprenda el estudio de la muestra correspondiente a la donación inmediatamente anterior, en caso de encontrarse disponible. Además, los receptores de la última donación anterior deben ser identificados y estudiados, si es posible.

Las pruebas de NAT utilizadas en la actualidad para el tamizaje en donantes

de sangre se basan en ensayos de detección múltiple para HIV, HCV y HBV. Las metodologías están preparadas para el desarrollo de las pruebas en forma automatizada y para el procesamiento de un alto número de muestras. Dos pruebas predominan en el mercado: una de ellas se basa en el método de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en tiempo real y la otra en Amplificación Mediada por Transcripción (TMA).<sup>32</sup>

### Periodo de ventana

Teniendo en consideración los avances en los ensayos para la evaluación de la

infección por HIV, el periodo de ventana quedaría definido como el tiempo transcurrido entre el momento de la infección y la posibilidad de detectarla. Con los ensayos para anticuerpos de primera, segunda y tercera generación la ventana inmunológica fue estimada en 56, 33 y 22 días, respectivamente. Las pruebas de Elisa para p24 y combo permitirían detectar la infección luego de 16 días en promedio. Más tarde, con la implementación de las pruebas de NAT para el ARN de HIV en *pool*es o conjuntos de muestras, la ventana residual quedaría reducida a 11 días<sup>33, 34</sup> (Tabla 2).

**Tabla 2.** Estimación de la duración del periodo de ventana según método de tamizaje

Método de tamizaje	Tiempo estimado de duración del periodo de ventana
Detección de anticuerpos- Primera generación	56 días
Detección de anticuerpos- Segunda generación	33 días
Detección de anticuerpos- Tercera generación	22 días
Pruebas para Antígeno p24 o "Combo"	16 días
Detección de ARN viral por NAT en minipools	11 días

Luego del ingreso del virus al organismo comienza la etapa de la infección denominada eclipse, en que el virus se replica en los tejidos del sitio de entrada antes de producirse la viremia. A esta etapa de eclipse la sigue una fase de activa replicación viral caracterizada por el crecimiento exponencial de los títulos virales (*ramp-up*). El conocimiento de la infección durante el periodo de ventana, que comprende tanto la etapa de eclipse como el periodo de crecimiento exponencial del virus, es esencial para entender el fenómeno de la transmisión del virus por transfusión sanguínea. En

estudios con modelos animales la aparición del ARN viral en la circulación sanguínea con las pruebas moleculares se correlacionaba con la infectividad in vivo. En dichas investigaciones el inóculo de sangre proveniente de un chimpancé infectado en el momento en que la viremia era detectable era capaz de infectar un chimpancé sano. Sin embargo, el inóculo de sangre del mismo chimpancé infectado en el período previo a la detección de viremia no era capaz de infectar el receptor sano. Estos trabajos permitían concluir que con la implementación de pruebas de NAT



suficientemente sensibles la probabilidad de transmisión viral por transfusión sanguínea sería casi nula.<sup>35</sup>

Estudios posteriores con monos macacos infectados con el Virus de la Inmunodeficiencia Simia (SIV) mostraron que el inóculo de macacos infectados en la etapa inmediatamente previa a la replicación exponencial del virus (*pre-ramp-up*) era capaz de infectar macacos sanos, aun cuando esta carga viral de los monos infectados se encontraba por debajo del límite de detección. Además, se comprobó que el virus de la etapa *pre-ramp-up* era de mayor potencial infeccioso con respecto al virus presente en la infección ya establecida. Estas experiencias comprueban que la transmisión de la infección por una donación de sangre infectada con bajos niveles de virus y sin anticuerpos es posible, aun con la utilización de pruebas de NAT altamente sensibles.<sup>36</sup>

### Riesgo de transmisión por transfusión

Si bien es posible detectar la infección por HIV en donantes de sangre en forma temprana, considerando los avances alcanzados en los métodos accesibles en la actualidad, la posibilidad de transmitir esta infección puede ser muy diferente según la región del mundo que consideremos.

El riesgo residual para la transmisión de la infección de HIV por componentes sanguíneos depende de varios factores que incluyen tanto la incidencia y la prevalencia de la infección en los donantes de sangre como el periodo de ventana estimado de acuerdo con los métodos de tamizaje empleados (seroló-

gicos solamente o junto con NAT) y su sensibilidad. Debe, además, tomarse en cuenta la tasa de error en estas pruebas en la población en cuestión. En algunos países estos datos se conocen o es factible estimarlos y por lo tanto es posible calcular el riesgo residual. En Estados Unidos el empleo de los ensayos de anticuerpos de tercera generación arrojaba un riesgo residual de dos donaciones infectadas por cada millón de donaciones. El uso de la prueba de Elisa para el antígeno p24 redujo el riesgo en 0,7 por millón y la introducción del NAT para HIV en *mini-pool* permitió una estimación del riesgo aun menor, de 0,5 por millón.<sup>37</sup> Estimaciones algo menores del riesgo de transmisión pueden estimarse para algunos países de Europa.<sup>38</sup>

La estimación del riesgo residual de transmisión en América Latina es deficiente, dado que no existen suficientes datos para estimar la incidencia o bien la tasa de error en el tamizaje propiamente dicho. Por lo tanto, el riesgo de transmisión por HIV en la región sólo puede ser estimado según la prevalencia de la infección y la cobertura de tamizaje, es decir, el porcentaje de donantes estudiados con respecto al número de donantes totales.<sup>39, 40</sup>

En algunas regiones de África, como Zimbabwe y Sudáfrica, los esfuerzos propiciados por la Organización Mundial de la Salud para lograr donaciones voluntarias y mejorar los procedimientos para la selección de donantes han logrado un impacto importante. En dicha región la prevalencia de HIV en la población adulta era del 25% entre 1998-1999, mientras que en donantes de sangre nuevos era del 2,3% y en donantes repetidos del 0,7%.<sup>41</sup>

## Virus de la Leucemia T del adulto I y II (HTLV-I y HTLV-II)

Los virus linfotrópicos tipo I y tipo II fueron los primeros retrovirus humanos descritos. El HTLV tipo I es reconocido como el agente etiológico de dos enfermedades disímiles: la leucemia a células T del adulto (ATL)<sup>42</sup> y un desorden desmielinizante progresivo conocido como paraparesia espástica tropical o mielopatía asociada a HTLV-I (TSP/HAM).<sup>43,44</sup> El HTLV-II fue aislado de pacientes con leucemia de células T vellosas,<sup>45</sup> y si bien se ha asociado a síndromes neurológicos similares a la HAM/TSP, no se ha establecido claramente su rol etiológico. Recientemente se han identificado dos nuevos retrovirus, HTLV-3<sup>46</sup> y HTLV-4,<sup>47</sup> en Camerún y hasta el presente no han sido asociados con patología alguna. EL HTLV-I se clasifica filogenéticamente en tres linajes principales: Cosmopolita, Central Africano y Melanesio, y cada linaje puede dividirse en varios subtipos.<sup>48</sup> El HTLV-II incluye al menos dos subtipos moleculares principales: el HTLV-IIA y HTLV-IIIB.<sup>49</sup>

La infección por HTLV-I es endémica en el Sur de Japón, en varias regiones de África subsahariana, Caribe, América del Sur y en Medio Oriente y se estima que 15-20 millones de personas estarían infectadas en el mundo. La infección por HTLV-I ha sido registrada en casi todos los países de Sudamérica, incluso Brasil, Colombia, Argentina, Perú, Bolivia, Uruguay, Guayanas Francesas y Chile.<sup>50</sup> Se han encontrado focos endémicos de HTLV-2 en algunas poblaciones originarias de América del Sur<sup>51,52</sup> y en usuarios de drogas inyectables en ciudades de Europa y América del Norte.<sup>53,54</sup> Aún

no hay información disponible sobre la epidemiología de HTLV-3 y HTLV-4.

### Patogenia

Los individuos infectados por HTLV-I o HTLV-II permanecen como portadores asintomáticos en casi la totalidad de los casos. La leucemia T del adulto puede ocurrir luego de cuarenta o más años luego de la infección en un pequeño porcentaje (2-4%) de las personas infectadas. La paraparesia espástica tropical/HAM, caracterizada por el desarrollo de una progresiva y permanente debilidad en las extremidades inferiores, disturbios sensoriales, uveítis e incontinencia urinaria, presenta un periodo de incubación más corto y se desarrolla en un 1,5% a 3% de los infectados. Sin embargo, si la infección se produce por vía transfusional, asciende el riesgo de padecer HAM/TSP.<sup>55</sup>

Los factores que determinan la patogenia viral no resultan claros aún. Se ha propuesto que la carga viral jugaría un rol importante en la patogenia de la infección, como se ha observado en otras infecciones virales crónicas. Entre los factores genéticos del hospedador se ha mostrado que la susceptibilidad a la infección está relacionada con determinados alelos del complejo HLA.<sup>56</sup>

### Vías de transmisión

La transmisión de HTLV-1 y 2 ocurre por vía sexual (principalmente de hombre a mujer),<sup>57</sup> de madre a hijo por leche materna,<sup>58</sup> por transplante de órganos y tejidos,<sup>59</sup> por compartir agujas contaminadas con sangre infectada<sup>60</sup> y por transfusión de componentes sanguíneos celulares.<sup>61</sup> La probabilidad de transmi-

sión por transfusión de concentrados de glóbulos rojos disminuye a medida que el tiempo de almacenamiento de las unidades aumenta, y es muy baja a partir de los quince días de almacenamiento. Los productos libres de células, tales como el plasma fresco congelado y los derivados del plasma, no transmiten la infección. El proceso de leucodepleción por filtración es efectivo en la reducción de la transmisión de esta infección. Se ha demostrado que la filtración disminuye la carga proviral de HTLV de dos a seis logaritmos según el componente celular y del tipo de filtro utilizado.<sup>62</sup>

### Tamizaje de donantes de sangre

El tamizaje de donantes de sangre para anticuerpos a-HTLV no se introdujo en forma uniforme en el mundo. En regiones endémicas como Japón y el Caribe el tamizaje se comenzó en 1986 y 1989, respectivamente. Estados Unidos y Canadá incluyeron el tamizaje para HTLV-I en 1988. Varios países de Europa (Francia, Holanda, Alemania, España, Irlanda y Suecia) implementaron el tamizaje para HTLV en los primeros años de la década del noventa, al igual que Australia. En Latinoamérica la implementación obligatoria del tamizaje en donantes de sangre comienza en la década del 2000.

La detección de anticuerpos a-HTLV se realiza por Elisa o aglutinación de partículas de gelatina. Primeramente ambos métodos utilizaban como fuente de antígeno el material purificado a partir del lisado de cultivos infectados con el virus. Posteriormente, las pruebas de Elisa incorporaron antígenos recombinantes, así como también antígenos propios de HTLV-II. Algunos Elisos accesibles

en el mercado emplean el diseño tipo “sándwich”, lo cual permite una mayor sensibilidad y excelente desempeño.

Las muestras de donantes de sangre reactivas por tamizaje para HTLV-I/II son confirmadas por Western blot o inmunoensayo en línea. Actualmente, las pruebas de Western blot son capaces de identificar HTLV-I y HTLV-II por el agregado de proteínas recombinantes específicas. El inmunoensayo en línea ha probado ser tan sensible como el Western blot y también capaz de clasificar los anticuerpos positivos hacia HTLV-I o HTLV-II, pero de mejor especificidad, dado que presenta menor proporción de pruebas indeterminadas.<sup>63</sup>

El estudio por PCR es de gran ayuda para la orientación y consejo clínico de aquellos donantes de sangre con resultados indeterminados o positivos que no hayan podido ser tipificados serológicamente. Se han desarrollado métodos de PCR anidada (*nested PCR*) capaces de detectar dos fragmentos virales: uno correspondiente al gen *tax* y otro al gen *pol*, siendo este gen el que permite diferenciar el tipo viral.<sup>64</sup>

El tamizaje de ADN de HTLV en donantes de sangre no se considera hasta el momento como factible, dado el bajo riesgo residual de esta infección y la necesidad de desarrollar métodos más complejos de extracción de ácidos nucleicos virales a partir de los componentes celulares de la sangre, ya que las pruebas de NAT implementadas hasta el momento están dirigidas hacia los virus presentes en el plasma.

### Periodo de ventana

El periodo de ventana para la infección por HTLV fue estimado en 51 días (con

un rango de 36 a 72 días) en estudios epidemiológicos que evaluaron individuos que habían recibido transfusiones de donantes infectados.<sup>61</sup> Hasta el presente no existen estudios sobre el nivel o cantidad de provirus necesario para la transmisión de la infección, o sobre la posibilidad de existencia de virus en plasma durante el periodo de ventana.

### Seroprevalencia en donantes de sangre

La prevalencia de anticuerpos a-HTLV I y II en donantes de sangre se encuentra entre 1 en 10.000 y 1 en 100.000 en países considerados no endémicos.<sup>65</sup> En Japón se ha reducido notablemente la prevalencia a través del tiempo: entre 0% y 0,38% en los individuos nacidos luego de 1987.<sup>66</sup> En algunos países de África la prevalencia se encuentra entre 0,2% y 0,9%.<sup>67, 68</sup> En Chile, Brasil y Argentina se documentaron altas prevalencias de HTLV en donantes de sangre, y además son heterogéneas entre distintas regiones geográficas del mismo país.<sup>69, 70, 71</sup>

### Conclusiones

El impacto del HIV en la seguridad transfusional ha sido quizá el más importante en la historia de esta especialidad de la medicina. El conocimiento de este virus obligó a los profesionales a realizar mayores esfuerzos no sólo en la realización de nuevas pruebas para evitar su transmisión, sino también a revisar y perfeccionar constantemente muchos de los procedimientos que se llevan a cabo en el banco de sangre.

Pero si bien el avance científico ha acompañado estos procesos, la pre-

gunta queda abierta: ¿Se producirán nuevamente transmisiones de retrovirus de origen simiano u otras especies a la especie humana, tal como ocurrió con el HIV, para dar lugar a una nueva pandemia? La vigilancia epidemiológica será necesaria para dar respuesta a este interrogante.

### Referencias

1. Malik HS, Henikoff S. Positive Selection of Iris, a Retroviral Envelope-Derived Host Gene in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genetics*. 2005; 1: 429-43.
2. Ariel E. Viruses in reptiles. *Veterinary Research*. 2011; 42:100-12.
3. Haase AT. Pathogenesis of lentivirus infections. *Nature*. 1986; 322: 130-36.
4. Gillet N, Florins A, Boxus M, Burteau C, Nigro A, Vandermeers F, et al. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. *Retrovirology*. 2007; 4: 18-50.
5. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*. 1983; 220: 868-71.
6. Gallo RC, Sarin PS, Gelmann EP, Robert-Guroff M, Richardson E, Kalyanaraman VS, et al. Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*. 1983; 220:865-67.
7. Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, Bunn PA, Minna JD, Gallo RC. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T cell lymphoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1980; 77: 7415-18.
8. Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, Shearer GM, Kaplan M, Haynes BF, et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science*. 1984; 224: 500-03.

9. Levy JA, Hoffman AD, Kramer SM, Landis JA, Shimabukuro JM, Oshiro LS. Isolation of lymphocytotropic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. *Science*. 1984; 225: 840-42.
10. Coffin J, Haase A, Levy JA, Montagnier L, Oroszlan S, Teich N, et al. Human immunodeficiency viruses. *Science*. 1986; 232: 697.
11. Clavel F, Guetard D, Brun-Vezinet F, Chamarret S, Rey MA, Santos-Ferreira MO, et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science*. 1986; 233: 343-46.
12. O'Brien TR, George JR, Holmberg SD. Human immunodeficiency virus type 2 infection in the United States. *JAMA*. 1992; 267: 2775-79.
13. Levy JA. Discovery, Structure, Heterogeneity, and Origins of HIV. *En: HIV and the Pathogenesis of AIDS*. 3rd ed. Washington, D.C.: ASM Press; 2007. p. 8-12.
14. Janssens W, Buvé A, Nkengasong JN. The puzzle of HIV-1 subtypes in Africa. *AIDS*. 1997; 11: 705-12.
15. Apetrei C, Loussert-Ajaka I, Descamps D, Damond F, Saragosti S, Brun-Vézinet F, et al. Lack of screening test sensitivity during HIV-1 non-subtype B seroconversions. *AIDS*. 1996; 10: F57-60.
16. Reeves JD, Doms RW. Human immunodeficiency virus type 2. *J. Gen. Virol.* 2002; 83: 1253-65.
17. Sullivan MT, Guido EA, Metler RP, Schable CA, Williams AE, Stramer SL. Identification and characterization of an HIV-2 antibody-positive blood donor in the United States. *Transfusion*. 1998; 38: 189-93.
18. Jaffe HW, Bregman DJ, Selik RM. Acquired immune deficiency syndrome in the United States: the first 1,000 cases. *J. Infect. Dis.* 1983; 148: 339-45.
19. Centers for Disease Control. *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 1982; 31: 365-7.
20. Oleske J, Minnefor A, Cooper R Jr, Thomas K, dela Cruz A, Ahdieh H, et al. Immune deficiency syndrome in children. *J.A.M.A.* 1983; 249: 2345-9.
21. Busch MP, Operskalski EA, Mosley JW, Lee TH, Henrard D, Herman S, et al. Factors influencing human immunodeficiency virus type 1 transmission by blood transfusion. Transfusion Safety Study Group. *J. Infect. Dis.* 1996; 174:26-33.
22. Adler MW, Meheust AZ. Epidemiology of sexually transmitted infections and human immunodeficiency virus in Europe. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2000; 14: 370-7.
23. Operskalski EA, Stram DO, Busch MP, Huang W, Harris M, Dietrich SL, et al. Role of viral load in heterosexual transmission of human immunodeficiency virus type 1 by blood transfusion recipients. Transfusion Safety Study Group. *Am. J. Epidemiol.* 1997; 146: 655-61.
24. Bautista CT, Sanchez JL, Montano SM, Laguna-Torres VA, Lama JR, Sanchez JL, et al. Seroprevalence of and risk factors for HIV-1 infection among South American men who have sex with men. *Sex. Transm. Infect.* 2004; 80: 498-504.
25. Sanchez AM, Schreiber GB, Nass CC, Glynn S, Kessler D, Hirschler N, et al. Retrovirus Epidemiology Donor Study. The impact of male-to-male sexual experience on risk profiles of blood donors. *Transfusion*. 2005; 45: 404-13.
26. Pillonel J, Heraud-Bousquet V, Pelletier B, Semaille C, Velter A, Saura C, et al. Blood Donor Epidemiological Surveillance Study Group. Deferral from donating blood of men who have sex with men: impact on the risk of HIV transmission by transfusion in France. *Vox. Sang.* 2012; 102: 13-21.
27. Benjamin RJ, Bianco C, Goldman M, Seed CR, Yang H, Lee J, et al. Deferral of males who had sex with other males. *Vox Sang.* 2011; 101: 339-67.
28. Lackritz EM. Prevention of HIV transmission by blood transfusion in the developing world: achievements and continuing challenges. *AIDS*. 1998;12 Suppl A:S81-6.
29. Stramer SL, Glynn SA, Kleinman SH, Strong DM, Caglioti S, Wright DJ, et al. National Heart, Lung, and Blood Institute Nucleic Acid Test Study Group. Detection of HIV-1 and HCV infections among antibody-negative blood donors by nucleic acid-amplification testing. *N.Engl. J. Med.* 2004; 351: 760-8.

30. Kwon JA, Yoon SY, Lee CK, Lim CS, Lee KN, Sung HJ, et al. Performance evaluation of three automated human immunodeficiency virus antigen-antibody combination immunoassays. *J. Virol. Methods*. 2006; 133: 20-6.
31. Tynell E, Norda R, Ekermo B, Sanner M, Andersson S, Björkman A. False-reactive microbiologic screening test results in Swedish blood donors-how big is the problem? A survey among blood centers and deferred donors. *Transfusion*. 2007; 47: 80-9.
32. Phikulsod S, Oota S, Tirawatnapong T, Sakuldamrongpanich T, Chalermchan W, Louisirirotchanakul S, et al, and the Working Group for NAT Study in Thai Blood Donations. One-year experience of nucleic acid technology testing for human immunodeficiency virus Type 1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus in Thai blood donations. *Transfusion*. 2009; 49: 1129-35.
33. Busch MP, Lee LL, Satten GA, Henrard DR, Farzadegan H, Nelson KE, et al. Time course of detection of viral and serologic markers preceding human immunodeficiency virus type 1 seroconversion: implications for screening of blood and tissue donors. *Transfusion*. 1995; 35:91-7.
34. Fiebig EW, Wright DJ, Rawald BD, Garretts PE, Schumachere RT, Peddada L, et al. Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *AIDS*. 2003; 17: 1871-79.
35. Murthy KK, Henrard DR, Eichberg JW, Cobb KE, Busch MP, Allain JP, et al. Redefining the HIV-infectious window period in the chimpanzee model: evidence to suggest that viral nucleic acid testing can prevent blood-borne transmission. *Transfusion*. 1999; 39:688-93.
36. Zhong-Min M, Stone M, Piatak M Jr., Schweighardt B, Haigwood NL, Montefiore D, et al. High specific infectivity of plasma virus from the pre-ramp-up and ramp-up stages of acute simian immunodeficiency virus infection. *J. Virol*. 2009; 83: 3288-97.
37. Dodd RY, Notari EP 4th, Stramer SL. Current prevalence and incidence of infectious disease markers and estimated window-period risk in the American Red Cross blood donor population. *Transfusion*. 2002; 42: 975-9.
38. Glynn SA, Kleinman SH, Wright DJ, Busch MP; NHLBI Retrovirus Epidemiology Donor Study. International application of the incidence rate/window period model. *Transfusion*. 2002; 42: 966-72.
39. Schmunis GA, Zicker F, Cruz JR, Cuchi P. Safety of blood supply for infectious diseases in Latin American countries, 1994-1997. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 2001; 65: 924-30.
40. Schmunis GA, Zicker F, Segura EL, del Pozo AE. Transfusion-transmitted infectious diseases in Argentina, 1995 through 1997. *Transfusion*. 2000; 40: 1048-53.
41. World Health Organization. Blood Transfusion Safety. Global database on blood safety. Summary report 1998-1999. Fecha de acceso 2001. Disponible en: [http://www.who.int/bloodsafety/global\\_database/en/SumRep\\_English.pdf](http://www.who.int/bloodsafety/global_database/en/SumRep_English.pdf)
42. Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, Takatsuki K, Uchino H. Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. *Blood*. 1977; 50: 481-92.
43. Gessain A, Barin F, Vernant JC, Gout O, Maurs L, Calender A, de Thé G. Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet*. 1985; 2: 407-10.
44. Osame M, Matsumoto M, Usuku K, Izumo S, Ijichi N, Amitani H, et al. Chronic progressive myelopathy associated with elevated antibodies to human T-lymphotropic virus type I and adult T-cell leukemia-like cells. *Ann Neurol*. 1987; 21: 117-22.
45. Kalyanaraman VS, Sarngadharan MG, Robert-Guroff M, Miyoshi I, Golde D, Gallo RC. A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. *Science*. 1982; 218: 571-3.
46. Calattini S, Chevalier SA, Duprez R, Bassot S, Froment A, Mahieux R, et al. Discovery of a new human T-cell lymphotropic virus (HTLV-3) in Central Africa. *Retrovirology*. 2005; 2: 30.
47. Wolfe ND, Heneine W, Carr JK, Garcia AD, Shanmugam V, Tamoufe U, et al. Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 22: 7994-9.

48. Slattery JP, Franchini G, Gessain A. Genomic evolution, patterns of global dissemination, and interspecies transmission of human and simian T-cell leukemia/lymphotropic viruses. *Genome Res.* 1999; 6: 525-40.
49. Hall WW, Ishak R, Zhu SW, Novoa P, Eiraku N, Takahashi H, et al. Human T lymphotropic virus type II (HTLV-II): epidemiology, molecular properties, and clinical features of infection. *J. Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1996; 13 Suppl 1: S204-14.
50. Gotuzzo E, Arango C, de Queiroz-Campos A, Istúriz RE. Human T-cell lymphotropic virus-I in Latin America. *Infect Dis Clin North Am.* 2000; 1: 211-39, x-xi.
51. Pardi D, Kaplan JE, Coligan JE, Folks TM, Lal RB. Identification and Characterization of an Extended Tax Protein in Human T-Cell Lymphotropic Virus Type II Subtype b Isolates. *J. Virol.* 1993; 67: 7663-67.
52. Bouzas MB, Zapiola I, Quiruelas S, Gorvein D, Panzita A, Rey J, et al. HTLV type I and HTLV type II infection among Indians and natives from Argentina. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 1994; 10: 1567-71.
53. Krook A, Blomberg J. HTLV-II among injecting drug users in Stockholm. *Scand. J. Infect. Dis.* 1994; 26: 129-32.
54. Khabbaz RF, Onorato IM, Cannon RO, Hartley TM, Roberts B, Hosein B, et al. Seroprevalence of HTLV-I and HTLV-II among intravenous drug users and persons in clinics for sexually transmitted diseases. *N. Engl. J. Med.* 1992; 326: 375-80.
55. Gout O, Baulac M, Gessain A, Semah F, Saal F, Périès J, et al. Rapid development of myelopathy after HTLV-I infection acquired by transfusion during cardiac transplantation. *N. Engl. J. Med.* 1990; 322: 383-8.
56. Jeffery KJ, Usuku K, Hall SE, Matsumoto W, Taylor GP, Procter J, et al. HLA alleles determine human T-lymphotropic virus-I (HTLV-I) proviral load and the risk of HTLV-I-associated myelopathy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1999; 96: 3848-53.
57. Kaplan JE, Khabbaz RF, Murphy EL, Hermansen S, Roberts C, Lal R, et al. Male-to-female transmission of human T-cell lymphotropic virus types I and II: association with viral load. The Retrovirus Epidemiology Donor Study Group. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* 1996; 2: 193-201.
58. Ando Y, Nakano S, Saito K, Shimamoto I, Ichijo M, Toyama T, et al. Transmission of adult T-cell leukemia retrovirus (HTLV-I) from mother to child: comparison of bottle-with breast-fed babies. *Jpn. J. Cancer Res.* 1987; 4: 322-4.
59. Martín-Dávila P, Fortún J, López-Vélez R, Norman F, Montes de Oca M, Zamarrón P, et al. Transmission of Tropical and Geographically Restricted Infections during Solid-Organ Transplantation. *Clinical Microbiology Reviews,* 2008; 21: 60–96.
60. Fukushima Y, Takahashi H, Hall WW, Nakasone T, Nakata S, Song P, et al. Extraordinary high rate of HTLV type II seropositivity in intravenous drug abusers in south Vietnam. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 1995; 11: 637-45.
61. Manns A, Wilks RJ, Murphy EL, Haynes G, Figueroa JP, Barnett M, et al. A prospective study of transmission by transfusion of HTLV-I and risk factors associated with seroconversion. *Int. J. Cancer.* 1992; 51: 886-91.
62. Césaire R, Kérob-Bauchet B, Bourdonné O, Maier H, Amar KO, Halbout P, et al. Evaluation of HTLV-I removal by filtration of blood cell components in a routine setting. *Transfusion.* 2004; 44: 42-8.
63. Thorstensson R, Albert J, Andersson S. Strategies for diagnosis of HTLV-I and -II. *Transfusion.* 2002; 42: 780-91.
64. Mangano AM, Remesar M, del Pozo A, Sen L. Human T lymphotropic virus types I and II proviral sequences in Argentinian blood donors with indeterminate Western blot patterns. *J. Med. Virol.* 2004; 74: 323-7.
65. Davison KL, Dow B, Barbara JA, Hewitt PE, Eglin R. The introduction of anti-HTLV testing of blood donations and the risk of transfusion-transmitted HTLV, UK: 2002-2006. *Transfus Med.* 2009; 19: 24-34.
66. Iwanaga M, Chiyoda S, Kusaba E, Kamihira S. Trends in the seroprevalence of HTLV-1 in Japanese blood donors in Nagasaki Prefecture, 2000-2006. *Int. J. Hematol.* 2009; 2: 186-90.

67. Gudo ES, Abreu CM, Mussá T, Augusto Ado R, Otsuki K, Chambo E, et al. HTLV in Mozambique Study Group. Serologic and molecular typing of human T-lymphotropic virus among blood donors in Maputo City, Mozambique. *Transfusion*. 2009; 49: 1146-50.
68. Diop S, Calattini S, Abah-Dakou J, Thiam D, Diakhaté L, Gessain A. Seroprevalence and molecular epidemiology of human T-Cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2 in blood donors from Dakar, Senegal. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44: 1550-4.
69. Chandía L, Sotomayor C, Ordenes S, Salas P, Navarrete M, Lopez M, et al. Seroprevalence of human T-cell lymphotropic virus type 1 and 2 in blood donors from the regional hospital of Valdivia, Chile. *Med. Microbiol. Immunol.* 2010; 199: 341-4.
70. Catalan-Soares B, Carneiro-Proietti AB, Proietti FA; Interdisciplinary HTLV Research Group. Heterogeneous geographic distribution of human T-cell lymphotropic viruses I and II (HTLV-I/II): serological screening prevalence rates in blood donors from large urban areas in Brazil. *Cad Saude Publica.* 2005; 21: 926-31.
71. Gastaldello R, Hall WW, Gallego S. Seroepidemiology of HTLV-I/II in Argentina: an overview. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2004; 35: 301-8.



# Transmisión de parásitos por transfusión

AMADEO SÁEZ ALQUEZAR\*

## Enfermedad de Chagas

### Introducción

La enfermedad de Chagas es causada por el protozooario *Trypanosoma cruzi*. Fue descrita por Carlos Chagas en 1909<sup>1</sup> y hasta hoy es uno de los principales problemas de salud en Latinoamérica.

Existen diversas fases clínicas y formas de la enfermedad de Chagas. La fase aguda en general tiene corta duración y puede no identificarse, principalmente en los casos en que no hay sintomatología. Las personas infectadas que no fueron tratadas en la fase aguda evolucionan hacia la fase crónica pero la mayoría de ellas no desarrollará ningún

\* Asesor científico del Programa Nacional de Control de Calidad de la Sociedad Brasileña de Análisis Clínicos. Consultor de OMS para tamizaje de Chagas en Bancos de Sangre, Sao Paulo, Brasil.

tipo de sintomatología durante muchos años, a veces por el resto de sus vidas, lo que corresponde a la fase indeterminada de la infección. Después de veinte años o más cerca del 30% al 50% de las personas en fase indeterminada tendrán manifestaciones clínicas que caracterizan las fases cardíaca, digestiva, cardíaca y digestiva o neuroanatómica.

Se observa un amplio espectro de manifestaciones patológicas en distintas áreas geográficas de Latinoamérica, y también se ha podido ver que las cepas de *T. cruzi* en individuos infectados son heterogéneas. Por medio de técnicas bioquímicas y de biología molecular se ha observado una gran diversidad genética entre cepas de *Trypanosoma cruzi*. Actualmente, se consideran dos grupos principales: *T. cruzi* I (TcI) y *T. cruzi* II (TcII). El TcI predomina en la región al norte de la cuenca del Amazonas hasta Centro América y México, y está asociado a los ciclos domiciliar y selvático. El TcII predomina en los países de la América del Sur debajo de la cuenca amazónica, aunque también está presente en los países al norte, asociado al ciclo domiciliar y presenta mayor morbilidad.<sup>2-4</sup>

Las formas habituales de transmisión de la infección por el *Trypanosoma cruzi* son la vectorial, por transfusión sanguínea y la congénita.

Inicialmente la principal vía de transmisión fue la vectorial, a través de insectos hematófagos (triatóminos) que colonizaban domicilios y peridomicilios de comunidades pobres del área rural en países endémicos. La transmisión vectorial ocurre por el contacto de las heces u orina del triatómino con la piel, en el sitio de la picada, o en mucosas.

El área endémica, donde existen los triatomíneos transmisores del *T. cruzi*, se extiende desde México hasta el sur de Chile y Argentina, abarcando prácticamente todos los países de la América Latina.<sup>5</sup>

La vía transfusional es considerada la segunda vía en importancia epidemiológica y ocurre por la transfusión de sangre o hemocomponentes provenientes de donantes infectados por el *T. cruzi*.<sup>5</sup>

La tercera vía de transmisión es la congénita, de madres infectadas, por vía transplacentaria.<sup>5</sup>

Además, el *T. cruzi* puede transmitirse por otras vías alternas, como el trasplante de órganos de individuos infectados y por vía oral por la ingesta de alimentos contaminados por triatomíneos infectados o heces de estos que contengan *T. cruzi*. La transmisión también puede ocurrir en casos de accidentes en laboratorios de triatomíneos, en la captura del vector en áreas endémicas o en estudios experimentales con mamíferos infectados o cultivos de *T. cruzi*.<sup>6</sup>

El problema de la transmisión del *T. cruzi* se ha ido modificando con el tiempo debido a los procesos migratorios de personas infectadas con él. Al principio la migración de personas del área rural hacia los centros urbanos en países endémicos aumentó el riesgo de transmisión por vía transfusional. Posteriormente la migración de personas infectadas de países endémicos a países no endémicos representó y representa un riesgo verdadero para la transmisión por vía transfusional, trasplante de órganos y Chagas congénito en tales países no endémicos de la enfermedad.<sup>7-8</sup> De esa forma se ampliaron significativamente

los límites geográficos de la distribución mundial de la enfermedad de Chagas.<sup>7-8</sup>

A partir de los años setenta las autoridades nacionales de todos los países endémicos de *T. cruzi*, con la participación y ayuda de entidades internacionales, aplicaron medidas concretas de combate al vector, por lo cual hubo una disminución significativa de la transmisión vectorial, de forma que a partir de los años ochenta la transmisión por transfusión pasó a ser la principal vía de transmisión del *T. cruzi* en los países endémicos.<sup>9</sup>

El número de personas infectadas por el *T. cruzi* llegó a ser de más de 30 millones en Latinoamérica en los años ochenta y noventa, con una incidencia de 700.000 casos anuales y más de 45.000 muertes por año. La estimación en aquel periodo se basa en una población de más de 100 millones de personas en riesgo de adquirir el estado de infección por el *T. cruzi* en América Latina. En 2006, datos de la OPS/OMS indicaban que el número de personas infectadas por el *T. cruzi* había caído a 15 millones, con una incidencia anual de 41.200 casos y una mortalidad anual de 12.500. En 2011, datos de la OMS/OPS mostraron que el número de personas infectadas por el *T. cruzi* estaría entre 8 millones y 11 millones, con una población alrededor de 28 millones en riesgo de adquirir la enfermedad en Latinoamérica.<sup>10</sup>

Con respecto a las acciones implementadas para interrupción de la infección por el *T. cruzi* en las tres vías principales de transmisión (vectorial, por transfusión y congénita) caben algunos comentarios:

Actualmente podemos afirmar que las acciones subregionales para interrumpir la transmisión vectorial en áreas endémicas han sido bastante eficaces en muchos países de Latinoamérica.

La obligatoriedad del tamizaje serológico de donantes de sangre también ha sido muy eficaz para interrumpir la transmisión por transfusión en áreas endémicas, a pesar de que no todos los países en Latinoamérica tienen un 100% de cobertura, según datos de la OPS.

Infelizmente, hasta hoy pocas acciones se han implementado para la prevención, diagnóstico y tratamiento de los casos de infección por vía transplacentaria (congénita).

## Chagas transfusional

La transmisión de Chagas por la vía transfusional fue considerada inicialmente en los años treinta, en Argentina.<sup>11</sup> Los primeros casos de transmisión se describieron a principio de los cincuenta, en Brasil.<sup>12</sup> Durante esos años se iniciaron las primeras encuestas epidemiológicas utilizando para ello pruebas serológicas en las poblaciones de diversos países de Latinoamérica, con limitaciones, porque en aquel momento la calidad de las pruebas serológicas no era la adecuada. Dado que la infección por el *T. cruzi* podía ocurrir por vía transfusional y que los resultados obtenidos en las encuestas mostraron niveles elevados de prevalencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* varios países empezaron a utilizar medidas de tamizaje serológico para excluir a los donantes con riesgo de transmitir la infección por *T. cruzi*. Al principio pocos países tomaron esa iniciativa, y las pruebas disponibles no

tenían un buen desempeño y carecían de una adecuada estandarización.

A partir de los años cuarenta se observaron dos tendencias en todos los países de Latinoamérica que aumentaron el riesgo de transmisión del *T.cruzi* por vía transfusional: incremento considerable de la práctica de la transfusión en esos países y al mismo tiempo un crecimiento de la migración de personas infectadas por el *T.cruzi* del área rural para los centros urbanos. Esas tendencias hicieron que el riesgo de transmisión del Chagas transfusional aumentara significativamente en los centros urbanos, al mismo tiempo que la población expuesta a la transmisión vectorial disminuía en el área rural.

A partir de los años setenta diversos estudios realizados en Latinoamérica mostraron que la prevalencia de anticuerpos anti-*T.cruzi* positivos era alta en la población de los centros urbanos, llegaba a valores de 10%, lo que hizo la donación de sangre extremadamente arriesgada, y además no había un tamizaje serológico adecuado para la selección de donantes. En la década del setenta en Brasil, por ejemplo, se consideró que la transmisión por transfusión de la infección por el *T.cruzi* puede haber sido responsable de aproximadamente 20.000 nuevos casos por año de la enfermedad de Chagas. Situaciones semejantes se observaron en los demás países de Latinoamérica.<sup>9</sup>

La transmisión del *T.cruzi* puede ocurrir por la transfusión de sangre total, concentrado de glóbulos rojos, plaquetas, leucocitos, plasma fresco congelado y crioprecipitado.<sup>5</sup> Se considera que el riesgo de desarrollar infección transfusional por cada unidad de sangre

transfundido sería de 12% a 20% en la mayoría de los países, pero se observó que podría ser mayor en países con prevalencia más alta de infección de *T.cruzi* en la población, como por ejemplo en Bolivia. La mayor parte de los casos de infección por transfusión pueden haber pasado inadvertidos porque el inicio de la sintomatología es tardío, alrededor de cuatro a cinco semanas después de la transfusión, porque no se identificó el *T.cruzi* como agente etiológico de la infección o porque realmente la infección fue totalmente asintomática.<sup>5</sup>

Dos puntos fueron de fundamental importancia para que el tamizaje en donantes de sangre fuese considerado obligatorio en los países endémicos. El primero fue indirecto: con el surgimiento del sida se obligó a que todos los países hicieran un tamizaje obligatorio en bancos de sangre a partir de 1984 y eso permitió que varios países adoptaran también el tamizaje para Chagas de manera oficial. El segundo, y sin duda el más efectivo, fue cuando los ministros de salud de los países del Cono Sur (Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay) se reunieron en Brasilia en julio de 1991 en el marco de la Iniciativa de Salud de los Países del Cono Sur (Incosur) y crearon una comisión intergubernamental encargada de elaborar y ejecutar un plan de acción subregional para eliminar el *Triatoma infestans*, vector domiciliario en esa subregión, e interrumpir la transmisión del *T.cruzi* por transfusión de sangre.<sup>13</sup> De esa forma se reconocía de manera oficial la importancia del Chagas transfusional y se abrían las puertas para que el tamizaje en bancos de sangre se estableciera de manera oficial en todos

los países de Latinoamérica. Realmente a partir de esa iniciativa del Cono Sur se observó una colaboración entre los países de Latinoamérica para estandarizar procedimientos a fin de reducir la transmisión vectorial y por transfusión. Esas acciones fueron subregionales y tuvieron la participación de la comunidad científica y de organizaciones internacionales como la OPS, MSF, JICA.

A partir de 1990-1993 la mayoría de los países de Latinoamérica establecieron normas para la selección de donantes de sangre, las cuales incluían una entrevista para obtener información sobre los factores de riesgo para la infección por el *T.cruzi* y también el tamizaje serológico para detectar anticuerpos anti-*T.cruzi*.

Hoy en día podemos advertir de forma retrospectiva que la prevalencia observada en la población de donantes de sangre en los países endémicos es mucho menor que la considerada en los años setenta y ochenta, lo que significa que hubo una disminución importante en la transmisión tanto por vía vectorial como transfusional. Los valores de prevalencia de anti-*T.cruzi* en donantes de sangre desde el inicio de los años noventa fueron bien inferiores a las décadas anteriores y se viene observando una disminución gradual de esos valores o una estabilización en las regiones donde mejor se aplican los procedimientos de control en el tamizaje (Cuadro 1). Según datos de la OMS, en los últimos años todavía se han utilizado unidades de sangre sin tamizaje para anti-*T.cruzi*, del orden de 769.370 en 2007, 503.651 en 2008 y 288.405 en 2009.<sup>14-15</sup> Eso significa que aunque se han obtenido muchos logros en la interrupción de

la transmisión por transfusión, todavía hace falta que se continúen adoptando medidas de control y de hemovigilancia en todos los países de Latinoamérica.

El tamizaje serológico en donantes de sangre para interrumpir la transmisión por transfusión depende de algunos factores primordiales: a) Que existan normas oficiales que obliguen a realizar el tamizaje en todos los donantes de sangre; b) Que se utilicen pruebas serológicas de buena calidad, dentro de estrategias bien definidas; c) Que los laboratorios responsables del tamizaje serológico adopten criterios estrictos de control de calidad; d) Que funcione un sistema de vigilancia dirigido a la evaluación del desempeño de todos los laboratorios involucrados en ese proceso.

A partir de los años ochenta y noventa se observaron movimientos migratorios intensos desde países endémicos de Latinoamérica hacia otros países no endémicos, en el hemisferio norte del continente americano y hacia países de otros continentes. Como consecuencia de esa migración la enfermedad de Chagas pasó a ser también un problema de salud pública en países no endémicos donde no existía la transmisión vectorial, pero se establecía el riesgo de transmisión por transfusión y por trasplante de órganos y también del Chagas congénito. En los Estados Unidos se estima que en 2007 2,0% de 17 millones de inmigrantes provenientes de Latinoamérica estarían infectados por el *T.cruzi*, lo que significaba que alrededor de 65.000 personas podrían presentar síntomas de la enfermedad de Chagas crónica. En Canadá en 2006 se estimó que 3,5% de un total de 156.960 inmigrantes de Latinoamérica podrían

**Cuadro 1.** Prevalencia de marcadores serológicos para Chagas en donantes de sangre de países de la América Latina entre 1993 y 2009. Prevalencia de anti-*T.cruzi*(%)

Países	1993-95*	1999*	2007**	2008**	2009**
Argentina	4,92	4,40	3,75	3,80	3,08
Bolivia	14,79	ND	2,53	2,36	2,62
Brasil	ND	0,76	0,59	0,32	0,20
Chile	1,20	ND	0,34	ND	ND
Colombia	1,20	ND	0,48	0,55	0,45
Costa Rica	0,80	0,14	0,08	0,49	0,42
Ecuador	0,20	0,13	0,17	0,18	1,93
El Salvador	1,47	2,50	2,09	2,46	1,93
Guatemala	1,40	0,81	0,97	1,42	1,75
Honduras	1,24	2,05	1,06	1,56	1,55
México	ND	0,38	0,41	0,45	0,41
Nicaragua	0,24	0,35	0,31	0,43	0,12
Panamá	0,13	1,40	0,06	0,38	0,36
Paraguay	4,50	4,70	3,27	3,22	2,85
Perú	ND	0,14	0,77	0,54	0,73
Uruguay	0,62	0,45	ND	ND	ND
Venezuela	1,32	0,60	ND	ND	ND

ND: Sin datos disponibles.

(\*): Schmunis GA & Cruz JR, 2005;

(\*\*): OPS, 2010; (HSS/A2:F23/2010/01Esp)

estar infectados por *T.cruzi*. También en Australia se estimó que el 3,8% de un total de 80.522 inmigrantes podrían estar infectados. En Japón en 2007 se estimaba un total de 105.606 inmigrantes provenientes de países de América Latina, con un porcentaje de infección por *T.cruzi* que podría ser semejante a los citados anteriormente.<sup>15</sup>

En Europa, aunque el primer caso de enfermedad de Chagas se describió en 1981, solamente a partir del 2000 empezaron a surgir publicaciones frecuentes de nuevos casos de personas infectadas por el *T.cruzi*. Ese movimiento migratorio ocurrió debido a problemas socioeconómicos en los países de origen y fue

direccionado principalmente hacia los países del Sureste Europeo, en función de aspectos culturales e históricos.<sup>16</sup> En 2005 se estimaba que 2,9% de un total de 483.074 inmigrantes distribuidos por quince países de Europa estuviesen infectados por el *T.cruzi*. España puede considerarse como un caso aparte porque el total de inmigrantes provenientes de países endémicos era mucho mayor: 1.678.711 en 2008, con una prevalencia de infección por *T.cruzi* superior al 5,0%.<sup>15</sup>

Actualmente se considera que en España los inmigrantes latinoamericanos representan el 34% del total de la población extranjera. Estudios preliminares

en centros de transfusión sanguínea han mostrado una seroprevalencia de la infección por *T.cruzi* en donantes de sangre alrededor de 1,0%. Desde el 2005 los centros de transfusión sanguínea están obligados a realizar una prueba validada para descartar la infección por *T.cruzi* en individuos con riesgo epidemiológico.<sup>17</sup>

Hasta el 2009 se habían descrito en España seis casos de Chagas transfusional: dos fatales y cuatro con evolución favorable. También en España se observa una seroprevalencia entre 1,0% y 4,8% en mujeres embarazadas, con una tasa de transmisión de 7,3%.<sup>17</sup>

Después de España, Italia, Reino Unido, Suiza y Francia también presentan un número importante de inmigrantes de países endémicos, pero todavía faltan datos definitivos en cuanto a la seroprevalencia en donantes de sangre y en mujeres embarazadas.

La preocupación en esos países, principalmente en España, por la enfermedad de Chagas ha sido muy clara, de modo que se han tomado o se están tomando medidas efectivas para mejorar el diagnóstico, tanto en servicios médicos como en centros de transfusión, aplicando para ello pruebas de tamizaje y también medidas para prevención y diagnóstico del Chagas congénito, así como acciones de tratamiento.

Algunas acciones internacionales han contribuido a controlar la enfermedad de Chagas en países no endémicos: a) En 2007 la Organización Mundial de la Salud y la Organización Panamericana de la Salud realizaron una reunión en Ginebra con el título de *Revisiting Chagas disease: from a Latin American health perspective to a global health perspective*, en la cual participaron re-

presentantes de veintiocho países donde la enfermedad estaba presente. En esa reunión quedó oficializado el aspecto de la enfermedad de Chagas en países no endémicos y se tomaron iniciativas importantes para dar continuidad a las mejoras necesarias para el control de la enfermedad en países endémicos y no endémicos; b) En mayo de 2010 la 63ª World Health Assembly aprobó una nueva resolución (WHA63.20) que reconoce el aumento de casos de la enfermedad de Chagas en países no endémicos y establece que deberán abordarse todas las vías de transmisión, considerando que a todos los pacientes con la enfermedad de Chagas se los integre en el sistema primario de atención de salud; c) En octubre de 2010 el primer informe de WHO sobre negligencia con enfermedades tropicales incluyó la enfermedad de Chagas entre diecisiete enfermedades.<sup>16</sup>

Sin duda, todavía hay mucho para hacer en el control de la enfermedad de Chagas en los países no endémicos, como el tamizaje serológico obligatorio para donantes de sangre que procedan de países endémicos y la adopción de procedimientos de control de calidad adecuados.

### **Pruebas de laboratorio para el diagnóstico de la infección por el *Trypanosoma cruzi***

Las pruebas de laboratorio para diagnóstico de la infección por el *T.cruzi* pueden clasificarse en dos categorías principales: las pruebas parasitológicas y las pruebas serológicas.

Las pruebas parasitológicas pueden clasificarse en directas e indirectas. Las

pruebas parasitológicas directas tienen como objetivo detectar la presencia de parásitos en muestras de sangre, y corresponden a la primera alternativa cuando existe una sospecha de Chagas agudo, independientemente de la vía de transmisión. Las principales pruebas parasitológicas directas son la gota gruesa, el extendido sanguíneo teñido por Giemsa, la prueba del micro hematocrito para examen de la capa de glóbulos blancos y la de concentración de Strout. La prueba directa en fresco (gota gruesa) es más sensible que el frotis sanguíneo con coloración de Giemsa. Cuando estas pruebas son negativas se pueden utilizar los métodos de concentración como el micro-hematocrito y Strout, que dan mejores resultados en la fase aguda tardía (más de 30 días) debido a la disminución de la parasitemia en este periodo.

Las pruebas parasitológicas indirectas, también dependen de la presencia de parásitos circulantes.

Las más conocidas son el xenodiagnóstico, el hemocultivo y las técnicas de amplificación de los ácidos nucleicos de los parásitos, PCR (Protein Chain Reaction).

Las técnicas parasitológicas indirectas muestran alta sensibilidad en la fase aguda pero presentan algunas dificultades técnicas, como el tiempo prolongado para obtener el resultado final, el volumen de sangre necesario para el hemocultivo y la manutención de ninfas de triatomíneos en el caso del xenodiagnóstico, bien como la necesidad de equipamientos e instalaciones especiales en el caso de la PCR. El xenodiagnóstico el hemocultivo y la PCR tienen un valor real cuando el resultado es positivo, pero cuando el resultado es negativo no

se puede excluir la posibilidad de infección por el *T.cruzi*. La aplicación de las técnicas parasitológicas indirectas para la confirmación de resultados en muestras de individuos en la forma crónica de la infección por *T.cruzi* ha mostrado positividad variando de 9,0% a 87,5% para el xenodiagnóstico y de 0% a 94% para el hemocultivo y de 3,8% a 100% para la PCR.<sup>18</sup>

La técnica de PCR, en general presenta sensibilidad superior a las demás pruebas parasitológicas indirectas y en los últimos años ha mostrado resultados auspiciosos en algunas situaciones, como la confirmación de resultados serológicos dudosos del tamizaje serológico, principalmente en áreas con prevalencia del *T.rangeli* y en el control de cura, después del tratamiento. La técnica de PCR puede ser extremadamente importante para el diagnóstico de la transmisión congénita en recién nacidos, de madres infectadas por el *T.cruzi*, al poseer una sensibilidad mucho mayor que la técnica del micro hematocrito<sup>19-20</sup> que se usa en general en esas situaciones. Desafortunadamente todavía no ha sido recomendada para uso en los sistemas públicos de salud en los países endémicos de América Latina por no estar disponible en el escenario de la atención primaria. De esa forma el uso de la PCR queda reservado para los centros especializados.<sup>21</sup>

### Pruebas serológicas

Desde 1936, cuando fue descrita la primera prueba de fijación de complemento (FC) para la detección de anticuerpos anti-*T.cruzi*,<sup>22</sup> innumerables pruebas fueron descritas con el mismo propósito.



Algunas de ellas, incluyendo la de FC, fueron abandonadas debido a problemas técnicos de calibración, de sensibilidad y de especificidad, al paso que otras se continúan empleando hasta hoy.

El tamizaje serológico para donantes de sangre en Latinoamérica ha utilizado pruebas únicas o asociación de dos o más pruebas de acuerdo con decisiones gubernamentales o de asociaciones.

Durante los últimos 25 años, las pruebas serológicas más usadas para el diagnóstico de la infección por *T.cruzi* en el tamizaje serológico de donantes de sangre han sido la Hemaglutinación Indirecta (HAI), la Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y las pruebas inmunoenzimáticas (ELISA), que son llamadas Pruebas Convencionales. (Cuadro 2)

**Cuadro 2.** Pruebas serológicas más utilizadas para el tamizaje en donantes de sangre en la América Latina durante los últimos 25 años.

Pruebas serológicas convencionales para anticuerpos Anti – <i>T.cruzi</i>			
	HAI	IFI	ELISA
Inicio	1962	1966	1975
Ac detectados	IgG	IgG e IgM	IgG
Lectura	Visual	Visual	Por instrumentos
Valor de corte	1/16 – 1/20	1/40	Punto de corte
Sensibilidad	Variable	Alta	97,7 – 100%
Especificidad	Baja	Baja	93,3 – 100%
Tamizaje en donantes de sangre	No Recomendado	No Recomendado	Recomendado

## Pruebas Convencionales

**1- Hemaglutinación Indirecta (HAI).**<sup>23</sup> Es una técnica que sirve para la detección de anticuerpos anti-*T.cruzi* del tipo IgG. Representa bajo costo y no necesita de instrumentos especiales para el procesamiento y para la lectura, que es visual. El valor de corte utilizado en el tamizaje serológico ha sido de 1/16 ó 1/20. El mayor inconveniente para el uso de la HAI en el tamizaje serológico es que se observa un alto porcentaje de resultados falsos positivos y falsos negativos.<sup>24-25</sup> Esos resultados pueden ser atribuidos a varios factores, como por ejemplo la lectura visual que es subjetiva y también a la calidad de los

reactivos utilizados. Un estudio realizado para evaluar el desempeño de once kits diagnósticos por HAI para anti-*T.cruzi*, comercializados en Brasil, mostró que solamente 4 (36%) presentaban sensibilidad aceptable (ausencia de resultados falsos negativos) para uso en laboratorios clínicos o en el tamizaje de donantes.<sup>26</sup> Con seguridad la HAI no es una prueba adecuada para el uso en el tamizaje serológico de donantes de sangre.

**2- Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).**<sup>27</sup> La IFI permite la detección de anticuerpos anti-*T.cruzi* de los tipos IgG e IgM. Para realizar la prueba hacen falta microscopios de fluorescencia bien

calibrados y operadores bien entrenados para hacer la lectura que también es visual. Durante muchos años la IFI fue utilizada en el tamizaje serológico de bancos de sangre, en general asociada a otras pruebas. El valor de corte recomendado en el tamizaje es de 1/40. La IFI es una prueba que presenta alta sensibilidad para el diagnóstico, principalmente cuando los títulos observados son superiores a 1/8, pero cuando se aplica en el tamizaje serológico de donantes, se observa un porcentaje muy alto de resultados falsos positivos (RFP), lo que denota su baja especificidad.<sup>28</sup> También pueden contribuir para el surgimiento de RFP el uso de microscopios en condiciones no satisfactorias y operadores poco experimentados. Cuando se utiliza la prueba de IFI en rutinas de tamizaje con número grande de ensayos diarios, lo mejor es que se haga la lectura de cada muestra por dos operadores distintos y que se comparen los resultados; en el caso de que las lecturas sean diferentes, un tercer operador deberá hacer otra lectura. Debido a todos esos problemas, definitivamente la prueba de IFI no es recomendada para uso en el tamizaje de donantes de sangre. En muchas instituciones la IFI también ha sido usada como prueba complementaria para confirmar resultados reactivos de otras pruebas serológicas, pero se recomienda mucha cautela para analizar los resultados, en función de todos los hechos que hemos comentado y también porque la prueba de IFI suele dar reacciones cruzadas con muestras de suero positivas para Leishmania.

**3. Pruebas ELISA (enzyme immunoassay).**<sup>29</sup> Las pruebas ELISA convencionales en general utilizan

antígenos totales o parcialmente purificados de formas epimastigotes del *T.cruzi*. Para realizar la prueba hacen falta equipamientos específicos como lavadores, incubadoras y lectoras que hoy en día son de uso común y hacen parte de la infraestructura de la mayoría de los laboratorios de serología. La gran ventaja de utilizar estas pruebas es que pueden ser automatizadas, para procesar gran número de muestras por día y que la lectura final, por espectrofotómetro no sufre las variaciones de subjetividad de la lectura visual. La sensibilidad de las pruebas ELISA convencionales ha variado entre el 97,7% y el 100% y la especificidad entre 93,3% y 100%.<sup>30-33</sup> Sin duda las pruebas ELISA son las más confiables para uso en el tamizaje serológico de donantes de sangre.

En el Cuadro 3 se pueden observar las características de algunas pruebas convencionales más utilizados en el tamizaje serológico de donantes de sangre.

**Pruebas serológicas modificadas.** Corresponden a pruebas por ELISA o por Quimioluminiscencia (ChLIA) que utilizan como fracciones antigénicas proteínas recombinantes o péptidos sintéticos o una mezcla de ambos.

Las pruebas que utilizan proteínas recombinantes y/o péptidos sintéticos tienen la ventaja de que los distintos lotes pueden presentar mejor reproducibilidad al ser preparados a partir de las mismas fracciones antigénicas que no sufren las alteraciones de los antígenos crudos usados en las pruebas convencionales, que pueden sufrir modificaciones a cada lote de cultivo de las cepas de *T.cruzi*. Además, las pruebas serológicas modificadas han mostrado mejor sensibilidad y espe-

cificidad en diversos estudios. Un estudio comparando la especificidad de diversas pruebas ELISA convencionales y modificadas, frente a muestras de sueros positivas para *Leishmania spp* y *T.rangeli*, mostró que ninguno de ellos presentaba resultados falsos positivos con las muestras de *T.rangeli*,

y las pruebas convencionales modificadas estudiadas tampoco presentaron reacciones cruzadas con las muestras de *Leishmania* al punto que los pruebas convencionales, apenas con antígenos totales, presentaron resultados falsos positivos con diversas muestras positivas para *leishmania*.<sup>34</sup>

**Cuadro 3.** Pruebas Convencionales para detección de anti-T.cruzi

(kit) Fracciones antigénicas	Técnica	Sensibilidad	Especificidad
(1) Ag totales (epimastigotes)	ELISA	100%	99,6%
(2) Ag totales (cepas Y, Talahuen, MNV2)	ELISA	100% 99,4%	100% 99,6%
(3) Ag totales purificados	ELISA	100% 99,4%	90% 99,2%
(4) Ag totales (epimastigotes)	ELISA	99,7% 98,9% 100%	100% 99,4% 100%
(5) Ag totales	ELISA	100%	99,6%

(1): BioMérieux; Instrucciones técnicas

(2): BiosChile; Instrucciones técnicas; Otani M, et al. Transfusion 2009

(3): Chagatek; Instrucciones técnicas; Otani M, et al. Transfusion 2009

(4): Ortho; Instrucciones técnicas/ Transfusion 2007;47:90-96/ Transfusion 2008; 48(3)

(5): Wiener; Instrucciones técnicas

Lo que se observa es que el mejor desempeño se obtiene cuando se utiliza una mezcla de antígenos recombinantes o péptidos sintéticos, en vez de utilizar solamente una proteína recombinante o un péptido sintético. O sea, cuando se establece el diseño de una nueva prueba se pueden seleccionar distintas fracciones antigénicas, en una proporción adecuada, que permitan detectar más epítopes inmunodominantes del *T.cruzi* lo que redundará en un aumento de la sensibilidad y la especificidad.

Eso no significa que todas las pruebas convencionales modificadas sean mejores que los pruebas convencionales. El desempeño dependerá de la región

donde se aplique la prueba y de las características de cada una de las pruebas. Debido a la expansión geográfica de la enfermedad de Chagas, hoy en día se observa un aumento significativo de kits diagnósticos a disposición en el mercado internacional. Consideramos prudente que todos los nuevos kits sean muy bien evaluados antes de incluirlos en los procedimientos de tamizaje, para evitar exceso de resultados falsos positivos y especialmente resultados falsos negativos. En el Cuadro 4 se pueden observar las características de algunas pruebas convencionales modificadas más utilizadas en el tamizaje serológico de donantes de sangre.

**Cuadro 4.** Pruebas Convencionales modificadas para detección de anti-T.cruzi

(kit)	Fracciones antigénicas	Técnica	Sensibilidad	Especificidad
(1)	(TcF, FP3, FP6 y FP10)	ChLIA	100% 99,36% 99,74%	99,94% 99,96% >99,73%
(2)	(TcD, TcE, PEP-2 y TcLo1)	ELISA	100% 100%	99,5% 99,24%
(3)	(Ag1, Ag2, Ag30, SAPA, Ag13 y Ag36)	ELISA	100%	99,6%
(4)	(Ag1, Ag2, Ag30, SAPA, Ag13 y Ag36)	ELISA	100%	99,7%

(1): Abbott. Transfusion 2006; 46(10):1737-44 / Diag Microbiol Infect Dis 2011; 69:74-81

(2): BioKit. Sáez-Alquezar A 2000 / Otani M, et al. Transfusion 2009;

(3): Wiener 3.0. Sáez Alquezar A 2004.

(4): Wiener 4.0. Sáez-Alquezar A 2009

### Pruebas No convencionales

Las pruebas No convencionales o pruebas rápidas corresponden a pruebas de pronta ejecución que no necesiten reactivos adicionales, instrumentos o refrigeración. Deben ser fáciles de usar, incluso por personas sin mucha capacitación laboratorial. Lo que se espera es que estas pruebas puedan ser utilizadas como alternativa para situaciones en que las condiciones operacionales (falta de infraestructura de laboratorios) no permitan el uso de las pruebas habituales. En general la sensibilidad y especificidad de estas pruebas es inferior a las pruebas convencionales o modificadas, pero aun así son útiles en situaciones específicas como encuestas de vigilancia epidemiológica, tamizaje en gestantes para vigilancia de la transmisión congénita y diagnóstico clínico en el terreno, principalmente en niños, para iniciar el tratamiento de la enfermedad. En algunos países se han usado para pre-tamizaje de donantes de sangre, lo que no excluye el posterior tamizaje de esos donantes por pruebas convencionales.

La mayoría de estas pruebas son por inmunocromatografía, usando sangre total o suero y utilizan como fracciones antigénicas proteínas recombinantes.

En los últimos años el número de pruebas rápidas a disposición en el mercado internacional ha aumentado mucho y es importante que exista un referencial para poder evaluarlos. Algunas organizaciones internacionales, como la OMS y Médicos sin Fronteras (MSF) están trabajando en ese sentido, para poder seleccionar los TR de mejor desempeño (sensibilidad y especificidad) para uso en el terreno.<sup>35</sup> Sin duda, la utilización de TR con buen desempeño en estudios en el terreno para la prevención del Chagas congénito y para la indicación del tratamiento en niños infectados es un tema de interés actual que puede beneficiar mucho a las poblaciones carentes de áreas endémicas de Latinoamérica.<sup>36-38</sup>

En el Cuadro 5, se pueden observar las características de alguna pruebas no convencionales más utilizadas en Latinoamérica.

**Cuadro 5.** Ejemplos de Pruebas No Convencionales usadas para el diagnóstico de la infección por *T.cruzi*

<b>Pruebas No Convencionales (Pruebas rápidas)</b>			
Ensayos	Fracciones antigénicas	Sensibilidad	Especificidad
Chembio*	B13, 1F8, H49/JL7	98,5-100% 99,6%	94,8-98,6% 99,9%
Inbios**	TcF,SAPA,pep (30,60,1),Kmp	99,3%	99,3%

(\*): 1- Luquetti AO ET al. 2003; 2- Ponce C, ET al. 2005.

(\*\*): Lorca M, et al. 2008.

### Pruebas Complementarias

Hasta el momento, ninguna prueba serológica ha sido aceptada universalmente como padrón oro para el diagnóstico de la infección por el *T.cruzi*. Al mismo tiempo, existe una necesidad urgente para que se puedan aplicar pruebas suplementarias en laboratorios de diagnóstico y en bancos de sangre. Durante los últimos veinte años, debido a la ausencia de una prueba confirmatoria adecuada, la mayoría de las instituciones (laboratorios y bancos de sangre) utilizaron la prueba de la IFI para confirmar los resultados obtenidos por otras pruebas serológicas convencionales. Ese procedimiento tal vez no sea el más correcto, si llevamos en consideración que la IFI presenta una baja especificidad y también da reacción cruzada con muestras positivas para *leishmania*.

En los Estados Unidos de América se ha utilizado como confirmatoria la prueba de radioinmunoprecipitación (RIPA) que detecta la presencia de anticuerpos (glicoproteínas de 72-96 kD).<sup>39-40</sup> El problema es que esa prueba es de ejecución bastante compleja y difícil de ser adoptado en laboratorios de diagnóstico y de tamizaje serológico en bancos de sangre. Tampoco existen datos

conclusivos para decir que esa prueba pueda ser considerada como estándar.

Al final de los años noventa fueron desarrolladas algunas pruebas, que aunque no fueran 100% correctos para la confirmación de las muestras de suero, con reactividad en el tamizaje serológico de donantes de sangre, solucionaban el diagnóstico de un número importante de casos.<sup>41-43</sup> Desafortunadamente, durante mucho tiempo, ninguna de ellas estuvo a disposición comercial, debido a problemas en los departamentos de marketing de los fabricantes que las producían.

Actualmente se encuentran a disposición en el mercado por lo menos dos pruebas complementarias, con buen desempeño para diferenciar entre muestras realmente positivas para anti-*T.cruzi* y muestras con resultados falsos positivos. Una de ellas es un Wester Blot (TESA blot) producido por el laboratorio BioMérieux y el otro es un Inmuno blot producido por el laboratorio Abbott.

El TESA blot utiliza como fracciones antigénicas antígenos excretados/secretados de formas *Trypomastigotes*.<sup>41</sup> Se consideran resultados positivos cuando son detectadas bandas entre 116 y 205 kD. La sensibilidad descrita ha sido de 100% y la especificidad de 99,6%. Cuando es usado como prueba confirmatoria en muestras reactivas o indeterminadas

provenientes del tamizaje serológico en bancos de sangre ha mostrado un Valor Predictivo Positivo de 98% y un Valor predictivo Negativo de 100%.<sup>44</sup>

El Inmuno blot de Abbott utiliza como fracciones antigénicas los multiepitopos recombinantes FP10 (epi), FP6 (epi & try-po), FP3 (epi & try-po) y TcF (epi & tri-po). En total esos antígenos recombinantes representan un total de catorce distintos epítomos. Los resultados preliminares en

345 muestras conocidas positivas para anti-*T.cruzi* y en 500 muestras aleatorias de donantes de sangre han mostrado una sensibilidad de 100% y una especificidad también de 100%.<sup>45</sup>

En el Cuadro 6, se pueden observar las características de algunas pruebas complementarias que han sido más utilizadas en la confirmación de muestras dudosas del tamizaje serológico de donantes de sangre.

**Cuadro 6.** Pruebas complementarias para confirmar la infección por *T.cruzi* utilizadas en los últimos quince años.

<b>Pruebas Complementarias (confirmatorias)</b>			
<b>Métodos</b>	<b>Fracciones antigénicas</b>	<b>Sensibilidad</b>	<b>Especificidad</b>
RIPA§	Dirigidas para Ac 72-90 kD	Concordancia de 89% con la IFI	
Western Blot*	TESA (Excreted-secreted antigens)	100%	98,5%
Inmunoblot**	CRA,FRA Tc-24,SAPA, MAP,TcD,Ag39	100%	99,3%
Inmunoblot***	FP10,FP6,FP3,TcF	99,4%	98,1%
		100%	100%

(§): Leiby DA ET al, 2000.

(\*): Umezawa ES ET al, 1996.

(\*\*): 1- Oelemann WN et al, 1999. 2- Sáez-Alquezar A et al, 2000

(\*\*\*): Cheng KY et al, 2007

## Estrategias de Tamizaje serológico

Las estrategias para el tamizaje serológico en donantes de sangre han variado con el tiempo en distintas áreas geográficas. Por ejemplo, la OMS recomendaba en 1991 el uso de dos pruebas, pero a partir de 2002 pasó a recomendar el uso de una única prueba inmunoenzimático que fuese reforzada por estrictos procedimientos de control de calidad.<sup>46</sup> En Brasil, fue obligatoria realizar dos pruebas de principios diferentes hasta diciembre de 2002, cuando pasó a ser obligatoria apenas una prueba que fuese inmunoenzimática y de alta sensibi-

lidad. En Argentina, a partir de 2004, es obligatorio realizar dos pruebas. En Costa Rica, desde 2005 hasta 2010 fue obligatorio realizar dos pruebas inmunoenzimáticas, siendo una convencional y la otra convencional modificada. A partir de 2011 se realiza únicamente una prueba inmunoenzimática modificada (antígenos recombinantes). En los demás países de la América Latina, la mayoría obedece a la recomendación de utilizar solo una prueba. En Europa, España y Francia empezaron el tamizaje para candidatos a donación provenientes de países endémicos con el uso de dos inmunoensayos, uno lisado y otro recombinante, pero actualmente utili-

zan solamente una prueba. En Inglaterra se utiliza una sola prueba.

En la práctica, aunque la recomendación oficial sea para usar solo una prueba, muchos laboratorios, en Latinoamérica, prefieren utilizar una asociación de dos o más pruebas, con el objetivo de reforzar el procedimiento de tamizaje. Cuando esa asociación se hace entre una prueba de ELISA con pruebas de HAI y/o IFI, se acaba generando un gran número de resultados indeterminados, que en su mayoría corresponden a RFP, sin que se obtenga mejor eficacia en el tamizaje.<sup>26</sup> Debido a la ausencia de una prueba confirmatoria confiable y de uso común, esos resultados indeterminados acaban por traer serios problemas para la comunicación a los donantes y también una pérdida excesiva de unidades de sangre. Cuando la asociación ocurre entre pruebas de ELISA o ChLIA, siendo que una de las pruebas usa antígenos recombinantes y la otra antígenos nativos, como se adoptó por algún periodo en Costa Rica, Francia y España, los resultados pueden ser mejores en relación con el uso de apenas una prueba en el tamizaje. En verdad, aun falta una respuesta definitiva para dos preguntas, con respecto a la estrategia de tamizaje serológico para Chagas en bancos de sangre: a) ¿Es suficiente usar solamente una prueba en el tamizaje? b) ¿El comportamiento de las pruebas ELISA o ChLIA, que utilizan antígenos nativos o proteínas recombinantes y péptidos sintéticos, es el mismo en el tamizaje?

Algunos estudios han demostrado, en determinadas áreas geográficas, que el uso de solamente una prueba en el tamizaje serológico no es suficiente para identificar todos los donantes infectados

con *T.cruzi*.<sup>47-48</sup> Claro que lo mejor sería poder usar solamente una prueba serológica en el tamizaje como ocurre para otros agentes etiológicos como el VIH, pero hemos de tomar en consideración que debido a las diferencias observadas con las cepas de *T.cruzi* en distintas regiones que tienen comportamiento diferente frente a las pruebas serológicas y que todavía no existe una prueba confirmatoria definitiva, la situación es un poco diferente. La mayoría de los donantes infectados por *T.cruzi*, se encuentran en la fase crónica de la enfermedad, donde la parasitemia es baja y a veces indetectable lo que hace a las pruebas de biología molecular poco eficientes para confirmar los resultados de las pruebas serológicas usadas en el tamizaje de donantes. Para efectos de comparación se pueden consultar diversos estudios que comparan el desempeño de las pruebas serológicas realizadas desde el inicio de los años 90.<sup>34,40, 49-51</sup>

Cuando se utiliza un inmunoensayo de alta sensibilidad asociado a otra prueba convencional en el tamizaje y se observa una discrepancia de resultados, la unidad de sangre será descartada pero la confirmación dependerá del resultado de las pruebas complementarias usadas. Por otro lado, si se utiliza solamente un inmunoensayo de alta sensibilidad y el resultado es reactivo, la unidad de sangre también será descartada, pero si el resultado es no reactivo, la unidad de sangre será usada para transfusión. El riesgo teórico de esta situación corresponde a la posibilidad de que la muestra sea reactiva, pero debido a las características de la cepa de *T.cruzi* infectante, la prueba utilizada no consiga identificar la reactividad de la muestra. Siguiendo

este raciocinio, tendríamos un resultado falso negativo y la unidad de sangre, aunque fuese infectante, sería utilizada normalmente para transfusión.

### Procedimientos de control de calidad para los laboratorios que realizan el tamizaje serológico para Chagas

La aplicación de procedimientos de control de calidad en laboratorios de serología, tanto para tamizaje como para diagnóstico clínico, es una obligación que debe ser atendida de forma rigurosa. En el caso del tamizaje para Chagas, la OMS recomienda como estrategia el uso de una sola prueba (inmunoensayo), pero que sea respaldada por estrictos procedimientos de control de calidad.<sup>46</sup>

Los laboratorios de serología deben utilizar, en cada corrida analítica, sueros control interno (SCI) de baja reactividad para validar los resultados obtenidos. Se recomienda que esos SCI presenten una reactividad (lectura/valor de corte) entre 2,0 y 4,5. Se pueden preparar por diluciones de pools de sueros positivos para anti-*T.cruzi*. Después que se consiga el valor de lectura dentro del rango recomendado, se ha de hacer una calibración con por lo menos veinte repeticiones de la misma muestra para determinar la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación. Con esos valores se construye el gráfico de Levey-Jennings, donde se podrán insertar los valores encontrados para los SCI en cada corrida analítica. El análisis de los valores encontrados ha de ser inmediato (en el mismo día) aplicando las reglas establecidas previamente, para aceptar o rechazar el ensayo.

Debemos tener en consideración, que cuando ocurren cambios de lotes

de la prueba utilizada, los SCI deberán ser calibrados nuevamente, para que su uso continúe siendo eficaz.

Otro punto importante, en cuanto al control de calidad, es con respecto al desempeño de las pruebas utilizadas. Hoy en día casi todos los laboratorios de tamizaje usan kits diagnósticos comerciales. No queda mucho espacio para pruebas hechas en casa, que en general no atienden a las recomendaciones de reproducibilidad y de mantenimiento de las propiedades del producto, lote a lote.

Cuando el laboratorio va a utilizar un kit diagnóstico ha de saber cuál es el desempeño de la prueba. Es recomendable que se haga una evaluación interna antes de usar el producto para tener una idea del desempeño. Eso puede parecer un poco complicado pero teniendo en consideración el gran número de productos disponibles en el mercado internacional, para el diagnóstico de *T.cruzi*, que no siempre presentan sensibilidad y especificidad adecuadas, es un punto fundamental para obtener resultados confiables en el tamizaje.

Algunos países de Latinoamérica, pero no todos, disponen de un servicio oficial para evaluar los kits diagnósticos antes de la comercialización. Esa medida puede ayudar a escoger los productos de mejor calidad, principalmente en los servicios públicos donde las compras se efectúan basadas en el menor precio, a no ser que se pueda hacer alguna justificación fundamentada en la evaluación previa de la calidad. Aun así, siempre que sea posible, es mejor hacer alguna evaluación interna, pues los órganos oficiales evalúan los productos en plazos largos, durante los cuales diversos lotes podrán ser comercializados y en algunas



situaciones, no todos los lotes tendrán el mismo desempeño.

En muchas ocasiones se han realizado evaluaciones separadas o conjuntas de diversos kits comerciales en cada país.<sup>34, 40, 49, 51-54</sup> Ese procedimiento puede traer muchos beneficios, no solo para poder comparar los resultados e identificar algunas fallas en determinados productos pero también puede traer informaciones importantes, relacionadas con las cepas de *T.cruzi*, circulantes en cada país. Es común escuchar que un kit producido en un país, tal vez no tenga buen desempeño en otro país porque las cepas de *T.cruzi* son diferentes. En muchos casos eso no corresponde a la realidad, pero con respecto al tamizaje serológico puede ser verdadero, exigiendo que más de un kit sea utilizado en el escrutinio. Un estudio reciente en que se analizaron muestras provenientes de áreas donde predomina el TcI con reactivos producidos con cepas de TcII mostró que el origen de los antígenos utilizados no afectó el desempeño de las pruebas serológicas aplicados en muestras de Brasil, Honduras y México.<sup>54</sup>

Para los fabricantes de kits diagnósticos para anti-*T.cruzi* se deben reforzar algunas recomendaciones: a) que informen las fracciones antigénicas que utilizan; b) si se trata de antígenos crudos o proteínas recombinantes o péptidos sintéticos; c) si ocurrieron cambios esporádicos en nuevos lotes del producto. Esas informaciones permiten trabajar con conocimiento del producto y poder comparar los resultados con otros servicios que usan kits diferentes.

Recientemente la Organización Mundial de la Salud (OMS), inició un

estudio para preparar estándares biológicos para anti-*T.cruzi*.<sup>55</sup>

Esta es la primera vez que se intentó preparar estándares oficiales para el diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas. Sin duda esta iniciativa representa un marco importante para el control y evaluación de las pruebas usadas en el diagnóstico de la infección por el *T.cruzi*. Los estándares fueron producidos a partir de muestras obtenidas en pacientes de distintas áreas donde predomina el TcI y el TcII (Brasil, México y Chile), que después pasaron por amplia evaluación frente a la mayoría de las pruebas disponibles en el mercado internacional y en laboratorios de referencia de diversos países. Los estándares finales son liofilizados (uno corresponde a sueros provenientes de áreas donde predomina el TcI y el otro de áreas donde predomina el Tc2) y se recomienda hacer diluciones en serie para comparar el desempeño de los kits que se van a evaluar.

En nuestra opinión, este ha sido un paso muy importante, por ser la primera vez que se dio atención al diagnóstico de una enfermedad que durante mucho tiempo se ha sido negligente y al mismo tiempo se constituye en un referencial, que era inexistente, para que los fabricantes de kits diagnósticos puedan establecer condiciones mínimas de desempeño en sus productos, antes de colocarlos en el comercio.

Otro punto fundamental en la aplicación de procedimientos de control de calidad es la necesidad de que todos los laboratorios de tamizaje serológico participen de por lo menos un programa de evaluación externa de la calidad (PEEC)

Al contrario de la aplicación de los SCI que permiten controlar solamente la fase analítica del laboratorio, la participación adecuada en PEEC permite evaluar el desempeño general del laboratorio y a veces observar no conformidades en las fases pre y post analíticas. Aunque los PEEC sean usados principalmente para evaluar el desempeño global de los laboratorios, en algunas situaciones el análisis de los resultados enviados por todos los participantes permite identificar problemas referentes a la sensibilidad y especificidad de las pruebas usadas por los laboratorios.

En el inicio de los años noventa fue creado un modelo en Brasil para el desarrollo de PEEC inicialmente local y después fue adoptado por la OPS, a partir de 1995, como modelo para ser desarrollado en todos los países de Latinoamérica.<sup>24,25,56-60</sup>

El apoyo de OPS a esos programas fue fundamental para controlar el desempeño del tamizaje de los bancos de sangre en toda la América Latina. La idea inicial fue seleccionar uno o más centros de referencia de cada país para participar de un PEEC internacional, pero al mismo tiempo capacitar a cada centro de referencia de cada uno de los países, para que pudieran desarrollar sus propios programas nacionales y de esa forma evaluar el desempeño de la red interna de bancos de sangre del país. Fue desarrollado un programa intenso de reuniones y talleres, con la participación de dieciséis países de la América Latina para la capacitación, y también para la actualización sobre temas relacionados con el tamizaje serológico de donantes. Aprovechando esa acción, la mayoría de los países de Latinoamérica

implementaron sus propios PEEC y continúan participando hasta hoy del PEEC internacional. Sin duda fue y continúa siendo una acción de extrema importancia para mejorar la calidad de los productos liberados por los bancos de sangre.

Las primeras evidencias de problemas con los tests de HAI e IFI en el tamizaje de donantes de sangre fueron producto de análisis de resultados de PEEC en Brasil y en países de la América Latina.<sup>24,25,60</sup>

Al principio la periodicidad de esos programas fue semestral en Latinoamérica y cuatrimestral en Brasil. Actualmente, se considera la necesidad de que la periodicidad de esos programas sea mensual, para que las no conformidades puedan ser analizadas eficazmente y el desempeño de los laboratorios se mantenga monitoreado de manera estricta.<sup>61</sup>

El uso de muestras liofilizadas en los paneles empleados para el desarrollo de los PEEC, ha permitido que la periodicidad sea mensual en Brasil y también en programas desarrollados para la evaluación externa de laboratorios de diagnóstico y de tamizaje en países de Europa que están organizando servicios de atención a los migrantes provenientes de países endémicos de Latinoamérica (observación personal)

Sin duda, la participación en programas externos de control de calidad es muy importante pero es fundamental que existan organismos oficiales, en cada país, que fiscalicen los resultados obtenidos por los laboratorios participantes y acompañen las providencias adoptadas para encontrar las causas de las no conformidades y la adopción de medidas preventivas.

## Conclusiones

La transmisión del *Trypanosoma cruzi* ocurre cuando la sangre o los hemocomponentes de individuos infectados son usados en transfusión. Esa vía de transmisión puede ocurrir en países endémicos o no endémicos.

Es fundamental que se utilicen procedimientos adecuados para interrumpir esa vía de transmisión que corresponden a la entrevista de candidatos a la donación para averiguar factores de riesgo, y el tamizaje de donantes de sangre utilizando pruebas serológicas de alta sensibilidad.

En países no endémicos, el tamizaje serológico se recomienda para candidatos a la donación de sangre que sean provenientes de países endémicos.

La estrategia del tamizaje serológico debe usar uno o dos pruebas serológicas (ELISA o ChLIA) de acuerdo con las normas internacionales o de cada país.

No se recomienda usar las pruebas de HAI o IFI para el tamizaje serológico de donantes de sangre y tampoco las pruebas no convencionales.

La utilización de inmunoensayos con antígenos totales o con una mezcla de proteínas recombinantes y péptidos sintéticos debe ser analizada en cada región geográfica, de acuerdo con la prevalencia de las distintas cepas de *T.cruzi*.

En el Cuadro 7 están listados los principales problemas observados en países de Latinoamérica referentes al tamizaje serológico para *T.cruzi*, en bancos de sangre y en el Cuadro 8 las recomendaciones sugeridas.

### Cuadro 7. Problemas observados en países de Latinoamérica referentes al tamizaje serológico para anti-*T.cruzi* en bancos de sangre.

---

Las estrategias de tamizaje no son uniformes entre países o entre distintos laboratorios  
 Todavía falta el 100% de cobertura para el tamizaje serológico en algunos países, de acuerdo con datos de la OPS  
 No todos los países disponen de evaluaciones oficiales para los kits diagnósticos antes de la comercialización  
 Algunos kits disponibles en el comercio no refieren las fracciones antigénicas utilizadas  
 Faltan estudios definitivos comparando el desempeño de kits que utilizan antígenos totales y recombinantes  
 No todos los países desarrollan PEEC, ni obligan al uso de SCI para validar las corridas analíticas

---

### Cuadro 8. Recomendaciones para el tamizaje serológico para anti-*T.cruzi* en bancos de sangre

#### Recomendaciones

- 
- Realizar el tamizaje serológico de donantes de sangre
- Por un Inmunoensayo de alta sensibilidad (ELISA/ChLIA)
  - Por dos Inmunoensayos de alta sensibilidad, ELISA o ChLIA (1Lys + 1 rec)\*
- Aplicar procedimientos de control de calidad
- Usar SCI diariamente para validar las corridas analíticas
  - Participar en por lo menos un programa de evaluación externa (PEEC)
  - Evaluar los kits comerciales antes de usarlos o por lo menos utilizar alguna evaluación hecha en el país.
  - Evaluar el desempeño de nuevos lotes de los kits en uso.
- 

(\*): Lys: antígenos totales; rec: proteínas recombinantes ChLIA: Quimioluminiscencia

## Referencias

- Chagas C. Nova tripanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo de *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. Mem Inst Oswaldo Cruz 1909; 1:159-218.
- Risso MG, Sartor PA, Burgos JM, Briceño L, Rodríguez EM, Guhl F, et al. Immunological identification of *Trypanosoma cruzi* lineages in human infection along the endemic area. Am J Trop Med Hyg. 2011; 84(1): 78-84.
- Bosseno MF, Barnabe C, Magallon GE, Lozano KF, Ramsey J, Espinoza B, et al. Prevalence of *Trypanosoma cruzi* lineage I in México. J Clin Microbiol 2002; 40:627-32.
- Zingales B, Andrade SG, Briones MR, Campbell DA, Chiari E, Fernandes O, et al. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2009; 104(7):1051-4.
- Schmunis GA. A Trypanosomíase Americana e seu impacto na saúde pública nas Américas. In: *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. Editores: Brenner Z, Andrade ZA, Barral-Neto M. Editora Guanabara Koogan, RJ, 2000 p 1-15.
- Dias JCP, Neto VA. Prevention concerning the different alternative routes for transmission of *Trypanosoma cruzi* in Brasil. Rev Soc Bras Med Trop. 2011; 44(suppl II): 68-72.
- Schmunis GA. Prevention of transfusional *Trypanosoma cruzi* Infection in Latin America. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 1999; 94, Suppl. I: 93-101.
- Schmunis GA. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz 2007; 102(Suppl.I): 75-85.
- Moraes-Souza H, Silva MMF. O controle da transmissão transfusional. Rev Hematologia Hemoterapia 2011; 44(sup II): 64-67
- Dias JCP, Prata A, Correia D. Problems and perspectives for Chagas disease control: in search of a realistic analysis. Rev Soc Bras Med Trop. 2008; 41(2):193-196.
- Mazza S, Montana A, Benitez C, Janzi EZ. Transmisión Del *Schizotrypanum cruzi* al niño por leche de la madre con enfermedad de Chagas. MEPR, 1936; 28:41-46.
- Freitas JLP, Amato Neto A, Sonntag R, Biancalana a, Nussenzweig V, Barreto JG. Primeiras verificações da transmissão acidental da moléstia de Chagas ao homem por transfusão de sangue. Rev Paulista de Medicina, 1952; 40:36-40.
- Schmunis GA. Tripanosomíase Americana: seu impacto nas Américas e perspectivas de eliminação. In: Dias JCP, Coura JR, editores. Clínica e terapêutica da doença de Chagas. Rio de Janeiro: Fiocruz Editora; 1997. p.11-23.
- OPS, Suministro de sangre segura para transfusiones en los países del Caribe y de Latinoamérica 2006, 2007, 2008 y 2009: Avances desde 2005 del Plan regional de seguridad transfusional. Washington, D.C.: OPS, 2010. (HSS/MT/2010/01Esp)
- Schmunis GA, Yadon ZE. Chagas disease: A Latin american health problem becoming a world health problem. Acta Tropica; 2010;115.14-21.
- Albajar-Viñas P, Jannin J. The hidden Chagas disease burden in Europe. Euro Surveill, 2011; 16(38): pll=19975. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19975>.
- Flores-Chávez M, Cruz I, Rodríguez M, Nieto J, Franco E, Gárate T & Cañavete C. Comparación de técnicas serológicas convencionales y no convencionales para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas importada en España. Enfer Infecc Microbiol Clin. 2010; 28(5):284-293.
- Portela-Lindoso AA, Shikanay-Yasuda MA. Chronic Chagas' disease: from xenodiagnosis and hemoculture to polymerase chain reaction. Rev Saude Publica, 2003. 37(1): 107-115.
- Virreira M, Truyens C, Alonso-Vega C, Brutus L, Jijena J, Torrico F, ET al. Comparison of *Trypanosoma cruzi* Lineages and levels of parasitic DNA in infected mothers and their newborns. Am J Trop Med Hyg 2007; 77(1): 102-106.
- Freilij H et al, Direct micromethod for diagnosis of acute and congenital Chagas disease. J Clin Microbiol. 1983; 18: 327-330.
- Russomando G, Sánchez Z, Meza G, De Guillen Y. Shed acute-phase antigen protein in an ELISA system for unequivocal diagnosis

- of congenital Chagas disease. *Expert Rev Mol Diagn* 2010; 10(6): 705-707.
22. Guerreiro C, Machado A. Da reação de Bordet e Gengou na mplaéstia de Carlos Chagas como elemento diagnóstico. *Brasil Med.* 1913; 27: 225-227.
  23. Camargo ME, Hoshino-Shimizu S, Correa NS, Peres BA. Hemagglutination test for Chagas' disease with chromium chloride, formalin-treated-erythrocytes, sensitized with *Trypanosoma cruzi* extracts. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1971; 13:45-50.
  24. Sáez-Alquézar, A.; Otani, MM.; Sabino, EC.; Ribeiro dos Santos, G.; Salles, NA.; Chamone, DAF. Evaluation of the Performance of Brazilian Blood Banks in Testing for Chagas Disease. *Vox Sanguinis* 1998, 74 (4): 228 – 231. [PMID: 9691403]
  25. Sáez-Alquezar A, Murta M, Pereira WM, Da Silva GR. Resultados de un programa de control de calidad externo del tamizaje serológico de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en donantes de sangre en Brasil. *Rev Panam Salud Publica.* 2003; 13:129-137.
  26. Sáez-Alquézar, A , Luquetti, AO, Borges-Pereira, J, Moreira, EF.; Gadelha, MFS.; Garcia-Zapata, MT.; Arruda, AHS. Estudo multicêntrico: Avaliação do desempenho de conjuntos diagnósticos de Hemaglutinação Indireta, disponíveis no Brasil, para o diagnóstico sorológico da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. *Revista de Patologia Tropical.* 1997; 26 (2): 343-374.
  27. Camargo ME, Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of American trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1966; 8:227-35.
  28. Salles NA, Sabino EC, Cliquet MG, Eluf-Neto J, Mayer A, Almeida-Neto C, Mendonça MC, Dorlhiac-Llacer P, Chamone DF, Sáez-Alquezar A. Risk of exposure to Chagas' disease among seroreactive Brazilian blood donors. *Transfusion* 1996; 36: 969-73.
  29. Voller A, Draper C, Bidwell DE, Bartlett A. Microplate enzyme-linked immunosorbent assay for Chagas' disease. *Lancet* 1975; 1(7904): 426-428.
  30. Astorga B, Herskovic LP. Reactivos comerciales en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Rev Med Chile.* 1990; 118:1119-1122.
  31. Lorca M, Child R, Garcia A, Silva M, Martinez L, Jerez G, et al. Evaluation of comercial kits used for Chagas disease diagnosis in blood Banks in Chile. II. Routine application. *Rev Med Chile.* 1994; 122:925-931.
  32. Oelemann WM, Teixeira MD, Verissimo-Da-Costa GC, Borges-Pereira J, De-Castro JÁ, Coura JR, Peralta JM. Evaluation of three commercial enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of Chagas disease. *J Clin Microbiol.* 1998; 36: 2423-2427.
  33. Teixeira MGM, Borges-Pereira J, Peralta J. Avaliação de testes sorológicos aplicados para a detecção de infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. *Rev Bras Patol Clin.* 1994; 30:133-139.
  34. Caballero ZC, Sousa OE, Marques WP, Sáez-Alquezar A, Umezawa ES. Evaluation of serological tests to identify *Trypanosoma cruzi* infection in humans and determine cross-reactivity with *Trypanosoma rangeli* and *Leishmania spp.* *Clinical and vaccine immunology* 2007 (14): 1045-1049.
  35. Technical Report - International meeting: new diagnostic tests are urgently needed to treat patients with Chagas Disease. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* 2008; 41:315-319.
  36. Lorca M, Contreras MC, Salinas P, Guerra A, Raychaudhuri S. Evaluation of a rapid diagnosis test for *Trypanosoma cruzi* Infection in serum simple. *Parasitol Latinoam.* 2008; 63: 29-33.
  37. Ponce C, Ponce E, Vinelli E, Montoya A, De Aguilar V, González A, et al. Validation of a rapid and reliable test for diagnosis of Chagas' disease by detection of *Trypanosoma cruzi*-specific antibodies in blood of donors and patients in Central America. *J Clin Microbiol* 2005; 43:5065-8.
  38. Verani JR, Seitz A, Gilman RH, LaFuente C, Galdos-Cardenas G, Kawai V, et al. Geographic variation in the sensitivity of recombinant antigen-based rapid tests for chronic *Trypanosoma infection*. *Am J Med Hig.* 2009; 80:410-415.
  39. Kirchof LV, Gam AA, Gusmao RA, Goldsmith RS, Rezende JM, Rassi A. Increased specific-

- ity of serodiagnosis of Chagas' disease by detection of antibody to the 72- and 90-kilodalton glycoproteins of *trypanosoma cruzi*. *J Infect Dis* 1987; 155:561-4.
40. Leiby DA, Wendel S, Takaoka DT, Fachini RM, Oliveira LC, Tibbals MA. Serologic-Comparison of radioimmunoprecipitation assay with commercially available indirect immunofluorescence assay, indirect hemagglutination assay and enzyme-linked immunosorbent assay kits. *J Clin Microbiol.* 2000; 38:639-42.
  41. Umezawa, ES.; Nascimento, MS.; Kesper Jr, N.; Coura, JR.; Borges-Pereira, J.; Junqueira, ACV.; Camargo, ME. Immunoblot Assay Using Excreted-Secreted Antigens of *Trypanosoma cruzi* in Serodiagnosis of Congenital, Acute, and Chronic Chagas' Disease. *Journal of Clinical Microbiology*, Sept. 1996, p. 2143-2147.
  42. Oelemann WBO, Vanderborcht GC, Da Costa V, Teixeira MG, Borges-Pereira J, De Castro JA, et al. A recombinant peptide antigen line immunoassay optimized for the confirmation of Chagas' disease. *Transfusion* 1999; 39: 711-717.
  43. Sáez-Alquézar A, Sabino EC, Salles N et al. Serological confirmation of Chagas' disease by a recombinant and peptide antigen line immunoassay: INNO-LIA Chagas. *J Clin Microbiol* 2000;38:851-4.
  44. Silveira-Lacerda EP, Silva AG, Junior SF, Souza MA, Kesper N, et al. Chagas' disease: application of TESA-blot in inconclusive será from a Brazilian blood bank. *Vox Sanguinis* 2004; 87: 204-207.
  45. Cheng KY, Chang CD, Salbilla VA, Kirchhoff LV, et al. Immunoblot assay using recombinant antigens as a supplemental test to confirm the presence of antibodies to *Trypanosoma cruzi*. *Clinical and Vaccine Immunology.* 2007; 14(4): 355-361.
  46. World Health Organization. Control of Chagas disease. Geneva; WHO Technical Report Series 905. World health Organization, Geneva, 2002.
  47. Gadelha AAM, Verçosa AFA, Lorena VMB, Nakazawa M, Carvalho AB, Souza WV, et al. Chagas' disease diagnosis: comparative analysis of recombinant ELISA with conventional ELISA and the haemagglutination test. *Vox Sanguinis* 2003; 85: 165-170.
  48. Pirard M, Lihoshi N, Boelaert m, Basanta P, Lopez F & Stuyft VD. The validity of serologic tests for *Trypanosoma cruzi* and the effectiveness of transfusional screening strategies in a hyperendemic region. *Transfusion.* 2005; 45: 554-61.
  49. Malan AK, Avelar E, Litwin SE, Hill HR. Serological diagnosis of *Trypanosoma cruzi*: evaluation of three enzyme immunoassays and an indirect immunofluorescent assay. *J Med Microbiol* 2006; 55: 171-178.
  50. Otani MM, Vinelli E, Kirchhoff LV, del Pozo AE, Sands A, Vercauteren G and Sabino EC. WHO comparative evaluation of serologic assays for Chagas disease. 2009; *Transfusion* 49(6): 1076-1082.
  51. Tobler LH, Contestable P, Pitina L, Groth H, Shafer S, Blackburn GR, et al. Evaluation of a new enzyme-linked immunosorbent assay for detection of Chagas antibody in US blood donors. *Transfusion* 2007; 47: 90-96.
  52. Sáez-Alquézar, A.; Marques, W.; Botini, MB.; Evaluación de un kit ELISA para detección de enfermedad de Chagas. *NotiWiener* n° 125, 1-3, 2004. (<http://www.wiener-lab.com.br>).
  53. Sáez-Alquézar A. Evaluación de un kit ELISA para detección de anticuerpos anti-T.cruzi. *NotiWiener*, 2011; n° 151:1-3.
  54. Luquetti AO, Espinoza B, Martínez I, Hernandez-Becerril N, Ponce C, Ponce E, ET AL. Performance levels of four Latin American laboratories for the serodiagnosis of Chagas disease in Mexican será samples. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 2009; 104(5): 797-800.
  55. World Health Organization (WHO). New global effort to eliminate Chagas disease. Geneva: WHO;3 July 2007. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2007/pr36/en/index.html>
  56. Organización panamericana de la Salud. Manual de procedimientos de control de calidad para los laboratorios de serología de los bancos de sangre. Washington, documento técnico PAHO/HPC/HCT 94.21,1994.

57. Duran MB & Guzmán MA. Evaluación externa de los resultados serológicos en los bancos de sangre de Colombia. *Rev Panam Salud Publica*. 2003 13(2/3): 138-143.
58. Grijalva MJ, Chiriboga RF, Vanhassel H, Arcos-Teran L. Improving the safety of the blood supply in Ecuador through external performance evaluation of serological screening of blood donors. *J Clin Virol*. 2005; 34 Suppl, 2. S47-S52.
59. Oknaian S, Remesar M, Ferraro I, del Pozo AE. External performance evaluation of screening in blood Banks in Argentina: results and strategies for improvement. *Rev Panam Salud Publica*. 2003; 13: 149-153.
60. Sáez-Alquezar A, Otani MM, Sabino EC, Salles NA and Chamone DF. Programas de control externo de la calidad en serología desarrollados en América Latina con el apoyo de la OPS entre 1997 y 2000. *Rev Panam Salud Pública/ Pan Am J Public Health* 13(2/3), 2003.
61. Schmunis GA, Zicker F, Cruz JR and Cuchi P. Safety of blood supply for infectious diseases in Latin American countries, 1994-1997. *Am J Trop Med Hig*. 2001; 65(6): 924-930.

# Malaria

## Introducción

La malaria es una enfermedad infecciosa causada por protozoos del género *Plasmodium*.

Cinco especies son infectantes para seres humanos: *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* y *Plasmodium knowlesi*. (Cuadro 1)

Los parásitos invaden el hígado y se multiplican en los hematíes. Causan anemia y otros síntomas generales que en casos graves pueden ocasionar coma y muerte.

Las infecciones más graves ocurren por *Plasmodium falciparum* que predomina en el África subsahariana. Las infecciones por *P. vivax* son menos peligrosas, pero su distribución mundial es más amplia. En Latinoamérica están presentes los plasmidios, *falciparum*, *vivax* y *malariae*. Las infecciones debidas a las otras especies son menos frecuentes y restringidas a áreas específicas. El *P. ovale* es endémico en el África occidental, Filipinas, Indonesia y Papúa Nueva Guinea. Los episodios de infección por *Plasmodium knowlesi* ocurren principalmente en el sudeste asiático, pero ya se han descrito casos de infección en viajeros de países europeos.<sup>1-3</sup>

La malaria existe en todas las regiones tropicales y en muchas regiones subtropicales del planeta. Los mosquitos resisten temperaturas medias entre los 20°C y los 30°C, con alta humedad y altitudes inferiores a 1.500 metros sobre el nivel del mar.

Actualmente la región subsahariana es más afectada por la malaria. Otras

áreas endémicas incluyen México, región del Caribe, el Norte de la América del Sur, Oriente Medio, subcontinente indiano, Asia Central, sudeste asiático, Filipinas Indonesia y el sur de China. Se observan más de 300 millones de casos de malaria en el mundo, con un número de muertes de uno a dos millones, de las cuales cerca de un millón corresponde a niños menores de cinco años. Casi el 90% de las muertes ocurre en la región subsahariana donde la mayoría de las infecciones son causadas por *P. falciparum*.

Se estima que en el 2006 había en el mundo una población cercana a los tres mil trescientos millones en riesgo de contraer malaria y se observaron alrededor de 247 millones de casos, en los cuales los niños menores de cinco años fueron los más afectados (OMS 2008). El 86% de los casos observados se dieron en África. De los casos fuera de la región africana, 80% se dieron en India, Sudán, Myanmar, Bangladesh, Indonesia, Papúa Nueva Guinea y Paquistán. El número estimado de muerte por malaria en el 2006 fue alrededor de 900.000, de los cuales el 91% se presentó en África y de estos el 85% afectó a niños menores de cinco años.

Del total de personas en riesgo en el 2006, 2,1 billones fueron consideradas como de bajo riesgo; o sea, en regiones con menos de un caso descrito por cada 1.000 habitantes y los demás 1,2 billones considerados como de alto riesgo, en regiones con uno o más casos descritos por 1.000 habitantes. El 97% de las poblaciones de bajo riesgo estaba en países fuera de África, mientras que



el 49% de la población en alto riesgo estaba en África y el 37% en el sudeste asiático.<sup>4</sup>

En general, las informaciones sobre incidencia del paludismo y número de muertes están basadas en informaciones reportadas por los programas nacionales de control de malaria, los cuales en muchos casos dejan de reportar el total de números observados en cada país. De esa forma, las informaciones de los programas nacionales representan solamente el 34%-37% de los casos estimados por la OMS.

Según la OMS, en el 2008 109 países fueron considerados endémicos para malaria, de los cuales 45 estaban dentro de la región de África.

Se estima que alrededor de 7.000 casos de malaria importada son registrados anualmente en Europa.

En las Américas la malaria es endémica en la mayoría de los países, desde México hasta el sur de Argentina –con excepción de Chile y Uruguay– y es el *P.vivax* la especie predominante; sin

embargo, el *P.falciparum* representa más del 25% de los casos y también se han observado algunos casos de *P.malariae*. En la región del Caribe la malaria es endémica únicamente en Haití y República Dominicana, con presencia del *P.falciparum*.<sup>5</sup>

En Estados Unidos el CDC reportó 1.691 casos de malaria en 2010 de los cuales la mayoría (1.688) eran importados y un caso relacionado con transfusión. Esos datos corresponden al mayor número de casos descritos en el país desde 1980 y representan un aumento del 14% sobre los casos descritos en 2009. La infección por *P.falciparum*, *P.vivax*, *P.malariae* y *P.ovale* fue identificada en el 58%, 19%, 2% y 2% de los casos, respectivamente. El CDC considera que la población de viajeros que visitan amigos o parientes en áreas endémicas es la de mayor riesgo y se deben implementar medidas y estrategias efectivas para la prevención de los casos de malaria en EEUU.<sup>6-7</sup>

**Cuadro 1.** Especies de plasmodios causantes de la malaria y los respectivos períodos de incubación de la infección en seres humanos.

Especies de plasmodios		Periodo de incubación
<i>Plasmodium falciparum</i>	(Welch, 1897)	7 – 10 días
<i>Plasmodium vivax</i>	(Grassi & Feleti, 1890)	10 -17 días
<i>Plasmodium malariae</i>	(Laveran, 1881)	18 – 40 días
<i>Plasmodium ovale</i>	(Stephens, 1922)	≥ 8 días
<i>Plasmodium knowlesi</i>	(Sinton & Mulligan, 1933)	10 – 12 días

## Formas de transmisión de la malaria

La principal vía de transmisión es por la picadura de hembras de mosquitos

del género *Anopheles*. Otras formas de transmisión son por vía sanguínea (transfusional y uso de drogas inyectables) y la vertical (malaria congénita).

## Malaria transmitida por transfusión (MTT)

La transmisión de malaria por transfusión fue descrita inicialmente en 1911.<sup>8</sup> La MTT se asocia a la transfusión de sangre total, concentrado de glóbulos rojos de plaquetas y de leucocitos. La transmisión a través de crioprecipitados es menos frecuente y no se ha reportado con plasma.

Los parásitos son estables en sangre total y en plasma por periodos de hasta 18 días cuando están almacenados a + 4°C o por periodos mayores en productos congelados.

En general, la transmisión ocurre entre 7 a 40 días después de la infección, pero son frecuentes los casos de personas que viven en áreas endémicas y tienen infecciones asintomáticas con baja parasitemia debido a la exposición crónica que ha llevado al desarrollo de inmunidad parcial, o semi-inmunidad. Esa misma situación puede ocurrir en áreas con bajo índice de transmisión, como en Sudamérica. En esos casos la parasitemia puede persistir por periodos de hasta tres años o más. Existen relatos de casos de infecciones crónicas por *P. falciparum* y *P. vivax* por periodos de cinco años y de siete por *P. ovale* y aun más largos por *P. malariae*. En los casos de infecciones agudas los episodios febriles impiden que los individuos donen sangre.<sup>9-12</sup> Cuadro 2.

Durante los años 1950, el mayor porcentaje de casos de malaria transfusional en países no endémicos fueron por el *P. vivax*. A partir de los años 1970 empezaron a predominar los casos por *P. falciparum*, de tal forma que actualmente en algunos países no endémicos, como

por ejemplo Inglaterra, la proporción de casos por *P. falciparum* es mayor que la suma de casos por los otros plasmidios.<sup>13</sup>

Desde una perspectiva global, la malaria todavía es una de las infecciones transmitidas por transfusión más frecuentes. Debido a las facilidades actuales para viajar, el tránsito de personas desde países no endémicos hacia regiones endémicas y viceversa, crea un problema real para la selección de donantes de sangre en regiones no endémicas.

El gran desafío continúa siendo cómo seleccionar donantes en regiones endémicas y no endémicas para eliminar el riesgo de transmisión de la malaria por vía transfusional.

Los mecanismos que se aplican para disminuir el riesgo de transmisión por transfusión son el uso de pruebas de laboratorio para el tamizaje de donantes y la selección por entrevista con los candidatos a donantes, siguiendo guías o criterios pre-establecidos.

## Pruebas de laboratorio

Las pruebas de laboratorio incluyen: a) la detección directa de parásitos por microscopía; b) técnicas con microscopía de fluorescencia usando colorantes que tienen afinidad con los ácidos nucleicos de los parásitos; c) detección de anticuerpos contra antígenos presentes en los géneros de plasmodios; d) detección de antígenos presentes en los plasmodios; e) pruebas de biología molecular para ácidos nucleicos; f) métodos alternativos.

**a) Detección directa de parásitos por microscopía.** El más usado y eficaz es el examen de gota gruesa y el frotis sanguí-

neo en lámina coloreado por Giemsa o Wright. La gota gruesa es más sensible y es una prueba de relativamente bajo costo y todavía considerada como la prueba estándar para la malaria. Es necesario examinar por lo menos cien campos cuyos resultados van a depender de la experiencia de los técnicos que la ejecutan. Se considera que en manos experimentadas se consigue una identificación positiva en muestras que contengan entre 5 a 50 parásitos/ $\mu\text{l}$ . Todavía, en condiciones de rutina de laboratorios, la detección puede limitarse a muestras con 500 parásitos/ $\mu\text{l}$ .

Las pruebas para detección directa de parásitos son consideradas la base del diagnóstico de la malaria aguda y permiten determinar la especie del parásito además de cuantificar la parasitemia y visualizar las formas del plasmodio. Eso representa una ayuda importante para evaluar la gravedad de la infección y orientar la terapia que se va a adoptar. Por otro lado, hemos de considerar que el examen microscópico en muchos casos no permite la diferenciación entre especies de plasmodios únicamente por la morfología.<sup>14</sup>

**Cuadro 2.** Aspectos relacionados con el riesgo de malaria transmitida por transfusión

<b>Malaria transfusional</b>	
Asociada a la fase del ciclo eritrocitario	7 – 40 días después de la infección
Infección primaria del adulto	Los síntomas impiden la donación
Individuos con exposición crónica (mayor riesgo transfusional)	-Inmunidad parcial -Baja parasitemia que puede persistir por periodos $\geq$ 3 años - <i>P.vivax</i> y <i>P.falciparum</i> : 5 años - <i>P.ovale</i> : 5 años - <i>P.malariae</i> > 5 años -Ausencia de síntomas clínicos

Las pruebas para detección directa de parásitos por microscopía son extremadamente útiles para el diagnóstico en áreas endémicas, a pesar de los inconvenientes que representa la demora de ejecución de las pruebas y la posible falta de sensibilidad en casos de baja parasitemia; pero en muchas ocasiones no es lo suficientemente sensible para uso en el tamizaje serológico de donantes de sangre. También hemos de considerar que el examen directo no permite la aplicación de sistemas automatizados de modo que es inviable para grandes rutinas de tamizaje.<sup>13</sup>

**b) Técnicas con microscopio de fluorescencia usando colorantes que tienen afinidad con los ácidos nucleicos de los parásitos.** El procedimiento requiere menos tiempo que para la gota gruesa, pero necesita equipos especializados. Presenta dificultades para diferenciar entre las formas de los parásitos teñidos y fluorescentes y residuos celulares que contienen ácidos nucleicos. De esta manera la sensibilidad se limita a un número mayor que 100 parásitos/ $\mu\text{l}$ . A través de este método es difícil diferenciar entre las especies de plasmodios, de modo que la confirmación en muchas

ocasiones requiere el uso de pruebas alternativas. El test QBC (Quantitative Buffy Coat-QBC®), que utiliza naranja de acridina, puede presentar una sensibilidad más alta que la gota gruesa, principalmente para la detección de *P. falciparum*. De cualquier manera, se considera que estas pruebas tampoco son ideales para el tamizaje de candidatos a donación de sangre, debido a la baja sensibilidad en casos de individuos con semi-inmunidad.<sup>11,13</sup>

**c) Pruebas para detección de anticuerpos contra los antígenos presentes en los géneros de plasmodios.** Son pruebas que detectan anticuerpos anti-plasmodios producidos en los episodios de infección. Durante mucho tiempo las pruebas más utilizadas fueron las de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para detección de anticuerpo de la clase IgG. El diseño de estas pruebas está fundamentado en el uso de antígenos de *P. vivax* y *P. falciparum* y no detectan infecciones por *P. ovale* y *P. malariae*. Los anticuerpos pueden ser detectados en los primeros días de la infección y pueden persistir durante varios años. Por otro lado, individuos con anticuerpos positivos puede ser que no tengan plasmodios circulantes no infectantes para malaria. De esa manera las pruebas que detectan la presencia de anticuerpos no consiguen evaluar el riesgo real para transmitir malaria, pero sirven para identificar infecciones anteriores. Aunque la IFI sea considerada como *gold standard* para la serología de malaria, las pruebas más recientes por ELISA que utilizan antígenos nativos o recombinantes, muestran mejor sensibilidad y son una alternativa al uso de la IFI. Las pruebas de ELISA recientes que

utilizan como fracciones antigénicas un extracto soluble de *P. falciparum* junto con proteínas recombinantes de *P. vivax* consiguen detectar inmunoglobulinas IgG e IgM, con el uso de anticuerpos monoclonales anti-IgG e IgM humanas, muestran una sensibilidad mejor que la de las pruebas de IFI<sup>16</sup>. Las pruebas de ELISA tienen la ventaja de que la lectura se hace por instrumentos, no siendo subjetiva como en la IFI y además pueden ser automatizadas permitiendo su uso en grandes rutinas de tamizaje. También se han desarrollado pruebas rápidas por inmunocromatografía para detectar anticuerpos específicos para malaria. Por ejemplo, el SD Bioline Malaria Pf/Pv es una prueba rápida para la detección cualitativa de anticuerpos (IgG, IgM y IgA) específicos para antígenos del *P. falciparum* y de *P. vivax*. La prueba utiliza una proteína recombinante de superficie de merozoítos (MSP) para detectar la presencia de anticuerpos contra los dos tipos de plasmodios, en muestras de sangre, suero o plasma. La sensibilidad de la prueba frente a muestras consideradas positivas por el examen del frotis con Giemsa y con PCR ha sido de 94%.<sup>13,17-19</sup>

**d) Detección de antígenos presentes en los plasmodios.** Están fundamentadas en la detección de proteínas específicas (antígenos parasitarios) tales como la proteína rica en histidina-2 (HRP-2) específica para el diagnóstico de *P. falciparum*, la enzima parasitaria láctico deshidrogenasa de plasmodio (p LDH) común a todas las especies de plasmodios y la isoenzima p-LDH específica del *P. falciparum* o el antígeno panmalarico aldolasa expresado en los estadios sanguíneos de todas las especies de plasmodios. Al principio las pruebas rápidas

tenían dos bandas para la interpretación. Una de ellas era la línea control y la otra para el *P. falciparum* (histidina-2 (HRP-2) o Pf pLDH). Las pruebas rápidas más recientes contienen tres líneas: una control, otra para *P. falciparum* y otra para especies de plasmodios (aldolasa o pan *Plasmodium*- específica pLDH) pan-pLDH. Hasta hoy, se han producido más de 200 productos distintos por diversos fabricantes. Un estudio realizado por la OMS y por la *Foundation for Innovative New Diagnostics* (FIND) para evaluar 70 pruebas rápidas de 26 fabricantes, mostró que 39 eran del tipo de tres bandas para detectar y diferenciar *P.falciparum* de especies no *falciparum*.<sup>19</sup>

En general, las pruebas para detección de antígenos tienen el formato de pruebas rápidas (TR) por inmunocromatografía y se utiliza sangre total. El uso de TR ha aumentado significativamente a nivel mundial, en los últimos años. Se considera que durante el 2006 fueron liberados por los programas nacionales de control de malaria cerca de 16 millones de pruebas rápidas, siendo 11 millones de ellos utilizados en África. En realidad el número es pequeño si consideramos el número total de casos de malaria observados.<sup>4</sup>

La importancia de las pruebas rápidas radica en poder obtener resultados rápidos y de esta forma agilizar la implementación terapéutica para prevenir formas graves y muertes.

La sensibilidad de estas pruebas puede variar entre 100 a 1.000 parásitos por ml, de forma que no son recomendados para el tamizaje serológico, a no ser en condiciones especiales, cuando sean la única alternativa para el tamizaje.

Las pruebas NOW® ICT, OptiMAL®, Para-Sight-F® y CareStart™ Malaria

HRP-2/pLDH (Pf/pan) Combo Test, son ejemplos de pruebas rápidas para la detección de antígenos específicos de plasmodios.

La prueba NOW ICT detecta la proteína rica en histidina (HRP-2) específica para el *P. falciparum* y el antígeno aldolasa. Teóricamente, esta prueba permite diferenciar entre malaria por *P. falciparum* y malaria causada por otros géneros de plasmodios. Estudios con NOW ICT, comparando los resultados con la PCR muestran una sensibilidad entre 95,5% y 94,3%.

La prueba OptiMAL detecta la enzima p-LDH; contiene un anticuerpo monoclonal específico contra la p-LDH común para todos los géneros de plasmodios que causan malaria en seres humanos. La sensibilidad y especificidad del test OptiMAL es de 94,7% y 97,6%, respectivamente, para *P. falciparum* y de 90,4% y 100% para *P. vivax*

La prueba Para-Sight-F® detecta solamente antígenos del *P. falciparum* a través del uso de anticuerpos monoclonales anti-PfHRP2. Consigue detectar la presencia de 20 – 40 parásitos /µl de sangre, mostrando una sensibilidad de 96,8% y una especificidad de 100% en muestras de personas infectadas con el *P. falciparum*.

La prueba CareStart™ Malaria HRP-2/pLDH (Pf/pan) Combo Test detecta el antígeno rico en histidina, proteína (HRP-2) específico para el *P. falciparum* y el antígeno, pan-plasmodio, láctico deshidrogenasa (pLDH). La prueba mostró una sensibilidad de 88,8% para el *P. falciparum*, que puede aumentar para 94,3% en muestras con densidad de parásitos entre 100 y 1.000/microlitro. Para *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae*,

las sensibilidades son de 77,6%, 18,4% y 30,4%, respectivamente. Al mismo tiempo se ha observado identificación incorrecta de especies en 2,2% de los casos estudiados.<sup>19-28</sup>

**e) Pruebas de biología molecular para ácidos nucleicos.** Existen técnicas de PCR con alta sensibilidad para la detección del DNA de plasmodios que constituyen una forma de diagnóstico rápido y sensible. Varios países en áreas no endémicas usan la técnica de PCR para el tamizaje de donantes de sangre. La sensibilidad se ha mostrado superior a la gota gruesa. Aun así, el uso de la PCR en el tamizaje serológico de donantes es motivo de controversia. La sensibilidad de la PCR permite, en los mejores casos, detectar 0,004 parásitos/ $\mu$ l. Considerando el volumen de la muestra recolectada (en general 1,0 ml) podría ser que la PCR no fuese capaz de detectar la presencia de parasitemia en muestras con baja carga de plasmodios, que podrían transmitir malaria. Se considera que una bolsa de hematíes de 250 ml que contenga 10 parásitos, puede ser una fuente de transmisión de malaria, si es transfundida. La sensibilidad requerida para detectar todas las posibles unidades de sangre infectantes sería de 0,00004 parásitos/microlitro y esta característica todavía no se ha alcanzado por ninguna prueba de biología molecular.

Recientemente se han descrito algunas pruebas de PCR que muestran un mejor desempeño cuando son comparadas con el examen microscópico y el uso de pruebas rápidas para detección de antígenos. Algunos son PCR en tiempo real y otros PCR anidado. Esas pruebas se han aplicado a muestras individuales positivas para algunos de los

plasmodios y también a “pools” de diez muestras. Los resultados preliminares revelan que en 49 muestras positivas 46 fueron detectadas por las PCR (tiempo-real y anidada) y solamente 32 por las pruebas rápidas utilizadas. Cuando se utilizaron 15 “pools”, 13 fueron positivos por las PCR (tiempo-real y anidada) y solamente 11 por las pruebas rápidas. Esta información, además de comprobar un mejor desempeño de las pruebas de biología molecular, abre la perspectiva para el uso de “pools” de muestras, lo que aumenta la velocidad para obtener los resultados y permite que se monten sistemas de diagnóstico seguro, sin subjetividad y muy ágiles.

La comparación entre los resultados de la PCR en tiempo real con los del examen microscópico directo ha mostrado sensibilidad entre 93,88% a 99,41% y especificidad de 100%.

La PCR, todavía no se ha considerado como alternativa para sustituir la gota gruesa como prueba de tamizaje en áreas endémicas, debido al costo elevado, a la falta de infraestructura adecuada para ejecutar las pruebas de biología molecular y, en la mayoría de los casos, a la no disponibilidad de estas pruebas.

Existen dos posibilidades para la detección de ácidos nucleicos de plasmodios por biología molecular. Las pruebas de PCR que amplifican el DNA y la prueba QT-NASBA que amplifica el RNA. Las pruebas de PCR en general usan como blanco la sub-unidad 18S rRNA que está presente en todas las especies de plasmodios. Las pruebas en tiempo real, con principio semejante a los PCR tradicionales y con sensibilidad y especificidad prácticamente idéntica a la PCR, tienen la ventaja de

operar en un sistema cerrado que evita problemas de contaminación y acortan un poco el proceso de realización de las pruebas. El factor limitante para uso de esas pruebas es el costo más elevado y la necesidad de equipamientos e infraestructura específicos, que en general no están disponibles en los sistemas primarios de atención a la salud.

Las pruebas NASBA actualmente han sido adaptadas al tiempo-real y utilizan sondas fluorescentes para las distintas especies de plasmodios. Como las reacciones de la prueba son isotérmicas, el costo acaba siendo inferior a la PCR en tiempo-real. Presentan sensibilidad y especificidad comparables con las técnicas de PCR y tienen la ventaja de poder ser usados para detectar e identificar las especies de plasmodios en muestras con baja parasitemia o en casos de duda de las pruebas de microscopía directa. Se considera que esa prueba puede presentar un límite inferior de detección de hasta 0,002 parásitos/ml, con una especificidad cercana al 100%.

En los últimos años se ha podido verificar un aumento considerable en el uso de las pruebas de biología molecular, con mejorías de la sensibilidad y especificidad y también de los procedimientos técnicos. A pesar de las limitaciones, con respecto a la sensibilidad para detectar el riesgo total de infección, a partir de muestras de donantes con baja parasitemia (semi-inmunes), esas técnicas presentan mejor desempeño que el examen microscópico directo, pueden ser automatizadas, para uso en grandes rutinas y no dependen de operadores expertos. Poco a poco se observa que los procedimientos y equipamientos son cada vez más accesibles y en nuestra

opinión, el uso de las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos de plasmodios, deberá ser utilizado cada vez más frecuentemente para el diagnóstico de malaria, tanto en áreas endémicas como en las no endémicas.

Con respecto a las infecciones con el *P. knowlesi*, el examen microscópico no consigue diferenciar morfológicamente las infecciones por *P. knowlesi* y *P. vivax* o *P. falciparum*. Lo mismo ocurre con las pruebas rápidas para identificación de antígenos. La pDHL está presente en las otras cuatro especies de plasmodios y también en el *P. knowlesi*. Los anticuerpos contra la pDHL presentes en *P. vivax* y *P. falciparum* dan reacción cruzada contra los anticuerpos producidos por el *P. knowlesi*, lo que impide la identificación de co-infecciones por esos plasmodios. En esos casos, las pruebas de PCR son las únicas que pueden hacer la identificación correcta del plasmodio.<sup>29-38</sup>

**f) Métodos alternativos** En los últimos años se ha reportado el uso de analizadores hematológicos automatizados como prueba indirecta que puede ayudar en el diagnóstico de malaria. Aunque esos equipamientos no son específicos para detectar anormalidades relacionadas con la infección, se ha verificado que esas alteraciones se observan muy frecuentemente en pacientes con una carga parasitaria de más 100 parásitos/ $\mu$ l. El diagnóstico de malaria basado en la citometría de flujo de los analizadores hematológicos puede representar una herramienta importante principalmente en individuos con episodios febriles, tanto en regiones endémicas como en aquellos que retornan de áreas endémicas. La precisión del diagnóstico puede

ser influenciada por varios factores como la especie de plasmodio infectante, la carga parasitaria, inmunidad y estado clínico del paciente. Se consideran distintas anormalidades observadas en cada equipamiento, referentes a los leucocitos y reticulocitos. La sensibilidad y la especificidad observada pueden variar entre 86% a 97% y 81% a 98% respectivamente. Aún hace falta que se introduzcan algunas modificaciones para mejorar las aplicaciones de los analizadores hematológicos en el diagnóstico de rutina para malaria.<sup>39</sup>

### Guías y recomendaciones para la selección de donantes de sangre<sup>11,13,40-45</sup>

El escenario actual para el análisis de las acciones que deben ser adoptadas para la selección de donantes de sangre y disminuir el riesgo de transmisión de malaria considera tres situaciones específicas: a) selección de donantes en áreas no endémicas; b) selección de donantes en áreas endémicas; c) selección de donantes provenientes de áreas endémicas, en áreas no endémicas.

En verdad, la diferenciación entre áreas endémicas y no endémicas puede ocurrir entre países o también entre regiones de un mismo país, situación bastante frecuente en Latinoamérica.

En Brasil, por ejemplo, donde coexisten los dos tipos de situación, la recomendación para la selección de donantes, para evitar la transmisión de malaria constan de la RDC N° 153 del Ministerio de Salud. En regiones no endémicas o en candidatos provenientes de áreas no endémicas el tamizaje por pruebas de laboratorio no es obligatorio. El rechazo

para el acto de la donación debe ocurrir de acuerdo con los criterios establecidos a partir de la incidencia local de la enfermedad, usándose como criterio de referencia el índice parasitario anual (IPA). El IPA clasifica las regiones para la transmisión activa de alto, intermedio y bajo riesgo. En áreas endémicas se debe rechazar al candidato a donación que haya tenido malaria en los doce meses que anteceden a la donación y también a aquellos con fiebre o cuando se sospecha de malaria en los últimos treinta días. Se considera aceptar candidatos procedentes o que residan en áreas de medio y bajo riesgo si se someten a una prueba parasitológica. En áreas no endémicas se excluyen los candidatos a donación que en los últimos seis meses estuvieron en área endémica con transmisión activa; excluir candidatos que en los últimos tres años tuvieron malaria o que residieron en áreas endémicas. En áreas endémicas o no endémicas excluir definitivamente a los candidatos que tuvieron infección por *P. malariae*. En regiones endémicas con transmisión activa (IPA de alto riesgo) se debe realizar una prueba parasitológica. En regiones endémicas sin transmisión activa se recomienda una prueba serológica.

Como consecuencia de las facilidades actuales del transporte aéreo que han llevado a un gran aumento del número de viajeros a través del planeta y de la migración de personas provenientes de áreas endémicas, las autoridades de países en áreas no endémicas han establecido criterios y guías para evitar la transmisión de malaria por transfusión que podría ocurrir cuando candidatos a donación, procedentes de áreas endémicas, donan sangre en esos países.



Por ejemplo, el Consejo de la Comunidad Europea establece la realización de una prueba para la detección de anticuerpos contra malaria, en varias situaciones: a) donantes que vivieron en áreas endémicas para malaria durante un periodo continuo de seis meses, o más, en algún momento de sus vidas; b) Donantes con historia de malaria o de enfermedad febril no identificada, durante un periodo de seis meses, después de haber retornado de área endémica para malaria; c) Donantes que visitaron áreas endémicas para malaria por periodos inferiores a seis meses. Cuando el resultado de las pruebas es positivo o cuando no son realizadas, los donantes son rechazados por un periodo de tres años. Al final de ese periodo se recomienda una nueva evaluación.

Para individuos que han viajado a áreas endémicas para malaria, la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) considera que los candidatos a donación se diferan hasta que se cumplan doce meses de la partida del área endémica, siempre que no presenten síntomas que no puedan explicarse por otra razón clínica. También recomienda para individuos procedentes de, o que han vivido por lo menos cinco años consecutivos en un país endémico para malaria, que se diferan los donantes durante tres años luego de que partieran del área endémica. Individuos con historia de malaria también se diferan por tres años.

### Selección de donantes en áreas endémicas

Es casi imposible identificar individuos de bajo riesgo para transmitir malaria en áreas endémicas. También es difícil dife-

renciar entre los casos de malaria transmitidos por transfusión y aquellos que fueron resultado de transmisión natural por la picadura de mosquitos. La forma habitual para seleccionar donantes en áreas endémicas es realizar una prueba parasitológica directa (gota gruesa). Aun así, en condiciones ideales, cuando el examen es realizado por personal experimentado, visualizando por lo menos cien campos por lámina, podremos tener resultados negativos en aquellos casos en que hay baja parasitemia, por debajo del límite de sensibilidad del método y en esos casos podrá ocurrir transmisión de malaria. La misma situación puede ocurrir cuando se utilizan las pruebas que usan colorantes con afinidad para los ácidos nucleares de plasmodios o pruebas rápidas para la detección de antígenos. También se pueden utilizar pruebas rápidas para detección de antígenos de plasmodios, pero en general la sensibilidad de estas pruebas es inferior al examen directo por microscopía.

Se considera importante para la selección de donantes en áreas endémicas tener en consideración episodios febriles recientes y de malaria en los últimos doce meses. Paralelamente realizar una prueba de laboratorio para detectar la presencia de plasmodios circulantes. La prueba habitual es el examen microscópico pero siempre que sea posible, realizar una prueba de biología molecular que es más sensible y diferir aquellos con resultados positivos, tanto en la entrevista clínico-epidemiológica como en las pruebas de laboratorio utilizadas.

Cuando no exista la posibilidad de otras pruebas se pueden utilizar las pruebas rápidas para detección de antígenos que por lo menos representan una tenta-

tiva que puede ayudar a excluir muchos casos con excepción de aquellos con semi-inmunidad. En algunas regiones con transmisión activa y alta prevalencia para malaria durante mucho tiempo, y aún actualmente, el único criterio para considerar donantes aptos a la donación es cuando no reportan episodios febriles recientes. Ese procedimiento es bastante arriesgado y debe ser complementado con un estudio clínico-epidemiológico más estricto y con la realización de una prueba de laboratorio.

Las pruebas para detectar anticuerpos anti-falciparum, no son válidas para el tamizaje en áreas endémicas porque indican solamente que la persona estuvo infectada anteriormente, pero no comprueban el estado de infección actual ni la presencia de los agentes infectantes. En general el porcentaje de anticuerpos anti-plasmodios positivos en áreas de alta prevalencia y transmisión activa es bastante elevado; además de no representar el verdadero potencial de transmisión, acabarían excluyendo la mayor parte de los candidatos a donación en esas regiones.

En algunas situaciones se han administrado drogas anti-malaria en los receptores para prevenir con el uso de hemocomponentes con eventual riesgo de transmisión. El uso adecuado de las transfusiones puede minimizar la transmisión por transfusión de malaria o por lo menos evitar que algunos receptores sean expuestos innecesariamente.

### Selección de donantes en áreas no endémicas

El mayor riesgo para transmitir malaria en regiones no endémicas se debe a las

personas que vivieron en áreas con alto índice de transmisión siendo expuestas a diversos episodios de infección y acabaron desarrollando semi-inmunidad. Esas personas son asintomáticas y cuando se transfieren para áreas no endémicas y son candidatas a donación de sangre, pueden transmitir malaria porque tienen bajos niveles de parasitemia que en general no son detectados por las pruebas habituales de microscopía.

Debido a las facilidades actuales para viajar que acaban creando un flujo intenso de desplazamiento entre áreas no endémicas y áreas endémicas, viajeros de áreas no endémicas que pasaron por cortos periodos en áreas endémicas con alta o media transmisión activa, también pueden representar un riesgo potencial para transmitir malaria cuando retornan a sus países de origen. En ese sentido la OPS, en su boletín de 2009 recomienda para los servicios de sangre que dispongan de mapas actualizados que detallen los países con zonas endémicas para malaria, así como de una lista de orden alfabético de los países, zonas y ciudades endémicas, que puedan ser consultados cuando los donantes potenciales informen que han realizado viajes de más de cinco días.

En regiones no endémicas es fundamental que se haga una selección a través de interrogatorio, con preguntas referentes a la procedencia del donante, a los viajes para áreas endémicas y a los episodios de fiebre en los últimos seis meses. Por eso es muy importante que sean definidas guías y recomendaciones oficiales, no tan solo para uso en países no endémicos sino también en áreas no endémicas dentro de países que también tengan áreas endémicas.

Dos estrategias se han recomendado, internacionalmente, para selección de donantes en áreas no endémicas:

a) Un interrogatorio clínico-epidemiológico adecuado, asociado a un tamizaje con pruebas de biología molecular.

b) Un interrogatorio clínico-epidemiológico adecuado, asociado a un tamizaje con una prueba para detección de anticuerpos anti-plasmodios (ELISA o IFI).

Si bien la primera alternativa pueda presentar resultados más inmediatos, la segunda es bastante efectiva y por supuesto más económica.

## Referencias

1. Bronner U, Divis PC, Farnert A, Singh B. Swedish traveller with *Plasmodium knowlesi* malaria after visiting Malaysian Borneo. *Malar J*. 2009; 8:15.
2. Cox-Singh J, Davis TM, Lee KS, Shamsul SS, Matusop A, Tarnam S, Rahman HA, Conway DJ and Singh B; *Plasmodium knowlesi* malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. *Cin Infect Dis* 2008; 46:165-171.
3. Miller LH, Good MF, Milton G; Malaria pathogenesis. *Science* 1994; 264:1878-1883
4. World malaria report WHO 2008; WHO/HTM/GMP/2008.1
5. OPS "Elegibilidad para la donación de sangre: Recomendaciones para la educación y la selección de donantes potenciales de sangre" 2009; Washington, D.C.: OPS. ISBN: 978-92-75-32939-9.
6. Mali S, Kachur SP, Arguin PM. MMWR-Centers for Disease Control and Prevention. Malaria Surveillance- United States, 2010. *Surveillance Summaries* 2012; 61(2):1-16.
7. Mali S, Steele S, Slutsker L, Arguin PM. Malaria Surveillance – United States, 2007. *MMWR – Surveillance Summaries*. 2009; 58(SS02):1-16.
8. Woolsey G. Transfusion for pernicious anemia: two cases. *Ann Surg*, 1911; 53:132-135.
9. Sulistyaningsih E, Fitri LE, Löscher T, Berens-Riha N. Diagnostic difficulties with plasmodium knowlesi infection in humans. *Em In. Dis*. 2010; 16(6):1033-34.
10. Coura JR, Suarez-Mutis M, Ladeia-Andrade S. A new challenge for malaria control in Brazil: asymptomatic plasmodium infection—a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2006; 101:229-237.
11. Sáez-Alquezar A, Ramos AMSV, Di Santi SM, Branquinho MS, Kirchgatter K, Cordeiro IAC, Murta M, Saraiva JCP, Oliveira SG, Bochetti MGG, Pirolla JÁ, Guertzoni D and Chamone D. Transfusion malaria control in both endemic and non endemic region of Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 1998 31(1): 27-34.
12. Laishram D, Sutton PL, Nanda N, Vijay LS, Sobti RC, Carlton JM, Joshi H. The complexity of malaria disease manifestations with a focus on asymptomatic malaria. *Malaria Journal*, 2012; 11(29). <http://www.malariajournal.com/content/11/1/29>
13. Kitchen AD and Chiodini PL. Malaria and blood transfusion. *Vox Sanguinis* 2006 90(2): 77-84.
14. Di Santi SM, Kirchgatter K, Brunialti KCS, Oliveira AM, Ferreira SRS, Boulos M. PCR – Based diagnosis to evaluate the performance of malaria reference centers. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 2004; 46:183-187.
15. Elghouzzi MH, Senegas A, Steinmetz T, Guntz P, Barlet V, Assal A, Gallian P, Volle P, Chuteau C, Beolet M, Berrebi S, Filisetti D, Doderer C, Abdelrahman T and Candolfi E. Multicentric evaluation of the DiaMed enzyme-linked immunosorbent assay malaria antibody test for screening of blood donors for malaria. *Vox Sanguinis* 2008 94, 33-40.
16. Craig MH, Bredenkamp BL, Williams CH, Rossouw EJ, Kelly VJ, Kleinschmidt I, et al. Field and laboratory comparative evaluation of ten malaria diagnostic tests. *Trans R Soc Med Hyg* 2002; 96:258-265
17. Lima GFMC, Levi JE, Geraldi MP, Sanchez MCA, Segurado AAC, Hristov AD, Inoue J, Costa-Nascimento MJ and Di Santi SM. Malaria diagnosis from pooled samples: comparative analysis of real-time PCR, nested

- PCR and immunoassays as a platform for the molecular and serological diagnosis of malaria on a large-scale. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2011; 106(6): 691-700.
18. Doderer C, Heschung A, Guntz Ph, Cazenave JP, Hansmann Y, Senegas A, et al. A new ELISA kit which uses a combination of *Plasmodium falciparum* extract and recombinant *Plasmodium vivax* antigens as an alternative to IFAT for detection of malaria antibodies. *Malaria Journal*, 2007; 6(19). [Http://www.malariajournal.com/content/6/1/19](http://www.malariajournal.com/content/6/1/19)
  19. World Health Organization. Malaria Rapid Diagnostic Test Performance; Results of WHO product testing of malaria RDTs: Round 2 (2009). 2010. [[http://www.finddiagnostics.org/resource-centre/reports\\_brochures/malaria-diagnostic-test-reportround2.html](http://www.finddiagnostics.org/resource-centre/reports_brochures/malaria-diagnostic-test-reportround2.html)]
  20. Farcas GA, Zhong KJY, Lovegrove FE, Graham CM, Kain KC. Evaluation of the BINAX NOW® ICT TEST versus polymerase chain reaction and microscopy for the detection of malaria in returned travelers. *Am J Trop Med Hyg* 2003; 69(6): 589-592.
  21. Maltha J, Gillet P, Bottieau E, Cnops L, Van Esbroeck M. Evaluation of a rapid diagnostic test (CareStart Malaria HRP-2/pLDH (Pf/pan) Combo test) for the diagnosis of malaria in a reference setting. *Malaria J*. 2010; 9:171. <http://www.malariajournal.com/content/9/1/171>
  22. McCutchan TF, Piper RC, Makler MT. Use of malaria rapid diagnostic test to identify *Plasmodium knowlesi* infection. *Emerg Infect Dis*. 2008;14:1750-2.
  23. Moody A. Rapid diagnostic tests for malaria parasites. *Clin Microbiol Rev*. 2002; 15:66-78.
  24. Penhalbel RSR, Fugikaha E, Lorenzetti A, Alves RT, Cavasini CE, Rossit ARBR, ET al . Evaluation of an immunochromatography test for malaria diagnosis under different storage conditions. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005; 38(2):194-195.
  25. Rodrigues MHC, Cunha MG, Machado RLD, Ferreira O, Rodrigues M, Soares IS. Serological detection of *Plasmodium vivax* using recombinant proteins corresponding to the 19-kDa C-terminal region of the merozoite surface protein-1. *Malaria Journal* 2003; 2(39) . <http://www.malariajournal.com/content/2/1/39>
  26. Van den Broek I, Hill O, Gordillo F, Angarita B, Hamade P, Counihan H, Evaluation of three rapid tests for diagnosis of *P. falciparum* and *P. vivax* malaria in Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. 2006;75:1209-15.
  27. Van der Palen M, Gillet P, Bottieau E, Cnops L, Esbroeck MV, Jacobs J. Tests characteristics of two rapid antigen detection tests (SD FK50 and SD FK60) for the diagnosis of malaria in returned travellers. *Malaria Journal*. 2009; 8:90. <http://www.malariajournal.com/content/8/1/90>
  28. Hellemond Jjv, Rutten M, Koelewijn R, Zeeman A-M, Verweij JJ, Wismans PJ, et al. Human *Plasmodium knowlesi* infection detected by a rapid diagnostic test for malaria. *Emerg Infect Dis*, 2009; 15(9):1478-80.
  29. Andrews L, Andersen RF, Webster D, Dunachie S, Walther RM, Bejon P, et al. Quantitative real-time polymerase chain reaction for malaria diagnosis and its use in malaria vaccine clinical trials. *Am J Trop Med Hyg* 2005; 73:191-198.
  30. Boonma P, Christensen PR, Suwanarusk R, Price RN, Russell B, Lek-Uthai U. Comparison of three molecular methods for the detection and speciation of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum*. *Malaria J* 2007; 6:124.
  31. Han ET, Watanabe R, Sattabongkot J, Khuntirat B, Sirichaisinthop J, Iriki H et al. Detection of four *Plasmodium* species by genus-and species-specific loop-mediated isothermal amplification for clinical diagnosis. *J Clin Microbiol*, 2007; 45:2521-2528.
  32. Khainar K, Martin D, Lau R, Ralevski F, Pillai DR. Multiplex real-time quantitative PCR, microscopy and rapid diagnostic immunochromatographic tests for the detection of *Plasmodium* spp: performance, limit of detection analysis and quality assurance. *Malar J*. 2009; 284.
  33. Marangi M, Di Tullio R, Mens PF, Martinelli D, Fazio V, Angarano G, ET al. *Malaria Journal*, 2009; 8(12). <http://www.malariajournal.com/content/8/1/12>
  34. Mens PF, Schoone GJ, Kager PA, Schallig HDFH. Detection and identification of human *Plasmodium* species with real-time

- quantitative nucleic acid sequence-based amplification. *Malaria J* 2006; 5:80
35. Patsoula E, Spanakos G, Sofianatou D, Parara M, Vakalis NC. A single step, PCR-based method for the detection and differentiation of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum*. *Ann Trop Med Parasitol* 2003; 97:15-21.
  36. Perandin F, Arcangeletti MC, Snounou G, Dettori G, Chezzi C. Development of a real-time PCR assay for detection of *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, and *Plasmodium ovale* for routine clinical diagnosis. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 1214-1219.
  37. Rubio JM, Buhigas I, Subirats M, Baquero M, Puente S, Benito A: Limited level of accuracy provided by available rapid diagnosis tests for malaria enhances the need for PCR-based reference laboratories. *J Clin Microbiol* 2001, 39:2736-2737.
  38. Schneider P, Wolters L, Schoone G, Schallig H, Sillekens P, Hermsen R, et al. Real-time nucleic acid sequence-based amplification is more convenient than Real-time PCR for quantification of *Plasmodium falciparum*. *J Clin Microbiol* 2005; 43:402-405.
  39. Campuzano-Zuluaga G; Hanscheid T, Grobush MP. Automated haematology analysis to diagnose malaria. *Malaria Journal*. 2010. <http://www.malariajournal.com/content/9/1/346>
  40. Seed CR, Kee G, Wong T, Law M and Ismay S. Assessing the safety and efficacy of a test-based, targeted donor screening strategy to minimize transfusion transmitted malaria. *Vos Sanguinis* 2010; 98:182-92
  41. Calderaro A, Gorrini C, Peruzzi S, Peccolo G, Dettori G, Chezzi C. Na 8-years survey on the occurrence of imported malaria in a non endemic area by microscopy and molecular assay. *Diagn Micr Infec Dis*, 2008; 61:434-439.
  42. Echeverri D, Barreto DK, Osorio L, Cortés A, Martínez E. Malaria por *Plasmodium vivax* transmitida por transfusión de un donante asintomático a un recién nacido prematuro. *Biomédica* 2011; 32(SUpl):8-12.
  43. Figtree M, Lee R, Bain L, Kennedy T, Mackertich S, Urban, Cheng Q and Hudson BJ. *Plasmodium knowlesi* in human, Indonesian Borneo. *Emerging Infectious Diseases* 2010; 16(4): 672-674
  44. Pistone T, Guibert P, Gay F, et al. Malaria risk perception, knowledge and prophylaxis practice among travelers of African ethnicity living in Paris and visiting their country of origin in sub-Saharan Africa. *Trans R Soc Trop Med* 2007;101(10):990-5
  45. Sojo-Milano M, Cáceres G JL, Lugo S, Sarmiento L, Araujo R, Acero Y et al. Brote de malaria inducida en sala de pediatría del Hospital José G. Hernández, Trujillo, Venezuela 2006. *Bol Mal Salud Amb*. 2007; 47)20: 159-167.

## Babesiosis

La babesiosis humana es una enfermedad causada por un protozoo parásito de los eritrocitos y transmitida por garrapatas (principalmente *Ixodes scapularis*). También puede ser transmitida por transfusión sanguínea y por vía transplacentaria. Fue descubierta en Rumania por Victor Babès, en 1888, como una enfermedad de los bovinos y es la primera enfermedad conocida transmitida por artrópodos a los animales.<sup>1</sup> El primer caso de infección en seres humanos se detectó en la antigua Yugoslavia en 1957.<sup>2</sup>

El cuadro clínico inicial puede consistir en fiebre, mialgias, fatiga, ictericia secundaria a una anemia hemolítica, disfunción renal y compromiso pulmonar, que puede durar desde varios días hasta meses. La mayoría de las infecciones son asintomáticas pero también pueden ocurrir formas graves que determinan el óbito. En algunos pacientes la parasitemia asintomática puede durar meses o años.

Existen más de cien especies de *Babesia* que infectan vertebrados. Varias de ellas como *Babesia microti*, *Babesia divergens*, y las variantes WA-1, CA-1, MO-1, EU-1, KO-1 y TW-1, causan enfermedad en seres humanos. La denominación de *B. duncani* ha sido designada para sustituir la denominación de la variante WA-1. En Estados Unidos la mayoría de los casos en seres humanos, en las regiones del este y centro han sido atribuidos a la *B. microti* y en la costa occidental al tipo WA1. En Europa, la especie más frecuente es la *B. divergens*. En los últimos tiempos cerca de 30 casos de infección por *B. divergens* se

han descrito en Europa, generalmente con evolución fulminante. La aparición de los síntomas es rápida (entre una a tres semanas) post infección con fiebre, hemoglobinuria o ictericia debida a hemólisis grave y cerca de 42% de los pacientes fallecen.<sup>3</sup>

Se han identificado casos de infección por *Babesia* en Estados Unidos, Europa y Asia. A pesar de que la distribución es mundial, el mayor problema de babesiosis ocurre en Estados Unidos debido a la transmisión por *B. microti*. En este país la distribución geográfica acompaña la diseminación del *Ixodes scapularis* que sirve como vector. Se consideran regiones endémicas algunas islas de la costa oriental y el sur de Connecticut; pero también se han notificado infecciones en Wisconsin, Minnesota, California, Washington y Missouri. En Europa han ocurrido infecciones en seres humanos por *B. divergens* en Alemania, España, Rusia, Francia, Irlanda, Reino Unido, Serbia y Montenegro y Suecia.<sup>3,4</sup>

Los reservorios para la *B. microti* son los roedores y para la *B. divergens* el ganado vacuno. Todavía no se han identificado los reservorios de algunas especies de *Babesia*, como la *B. duncani*.

### Babesiosis transmitida por transfusión

Como la *Babesia* infecta los glóbulos rojos esta puede ser transmitida por transfusión.

Las especies de *Babesia* sobreviven a los procedimientos realizados en bancos de sangre –incluido el conge-

lamiento— y pueden ser transmitidas a través de la transfusión de glóbulos rojos, plaquetas y glóbulos rojos desglucosilados.

La mayoría de los casos de transmisión por transfusión están asociados a componentes con glóbulos rojos, pero las plaquetas provenientes de sangre total también han sido asociadas en muchos casos.<sup>5</sup> La causa podría ser residuos de glóbulos rojos infectados con los parásitos o también formas de *B. microti* extracelulares presentes en el preparado de plaquetas.<sup>4</sup>

La *B. microti* presenta una sobrevivencia de por lo menos 35 días en glóbulos rojos conservados a 4°C. Parece que los parásitos no sobreviven en plasma congelado en la ausencia de criopreservación. Los derivados del plasma no transmiten *Babesia*. La leucodeplección parece ser ineficiente para reducir el riesgo de transmisión de babesia.<sup>5,6</sup>

En Estados Unidos se han descrito numerosos casos de transmisión por transfusión desde el primer caso por *B. microti*, descrito en 1980. Hasta 2007, la FDA había recibido notificación de nueve casos de babesiosis mortal transmitida por transfusión desde finales de 2005, tras casi una década sin registrar ningún caso y al mismo tiempo ha recibido también notificación de un número creciente de casos no mortales y de enfermedad postdonación.

De acuerdo con la AABB, hasta 2009 fueron descritos más de 70 casos de babesiosis transmitida por transfusión por *B. microti*, con un saldo de 12 muertes asociadas a esta transmisión. Adicionalmente se han reportado dos casos de *B. duncani* transmitida por transfusión.<sup>5-7</sup>

El periodo de incubación es de una a ocho semanas después de la transfusión

y de una a seis semanas después de la picada de la garrapata.

La seroprevalencia estimada de donantes infectados por *B. microti* sufre la influencia de variaciones en las estaciones de año (más en el verano) y geográficas. En los estados americanos más afectados la seroprevalencia observada ha variado de 0,3% en Wisconsin hasta 4,6% en Rhode Island.

Estudios realizados en donantes infectados por *B. microti* han demostrado que algunos donantes pueden permanecer asintomáticos por periodos de hasta tres años.<sup>5</sup>

## Pruebas diagnósticas

Las pruebas diagnósticas de laboratorio para identificar la infección por *Babesia* son el examen directo, la detección de anticuerpos específicos, la demostración de parasitemia activa por PCR y la inoculación en animales de laboratorio.

### Microscopía

Permite la identificación directa de eritrocitos infectados por *Babesia* en extendidos de sangre periférica teñidos con Wright o Giemsa. Debido a la gran similitud con los parásitos de la malaria (plasmodios), hace falta que el examen sea realizado por operadores con gran experiencia en la identificación de estas formas parasitarias.<sup>8</sup>

### Identificación de anticuerpos anti-*Babesia* spp en suero o plasma

Las pruebas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) descritas inicialmente en 1978, continúan siendo el “estándar de oro” para detectar anticuerpos anti-*B.*

*microti*. En general, se usan para confirmar el diagnóstico cuando el examen microscópico es negativo. Títulos de 1/256 indican infección aguda. La prueba es capaz de detectar anticuerpos IgG e IgM. La detección de anticuerpos IgG es indicativa de infección presente o pasada por *B. microti*, incluso en los casos en que haya desaparecido la parasitemia. También se debe considerar que la IFI es específica y no ocurren reacciones cruzadas entre especies de *Babesia*. De tal forma que se deben utilizar antígenos diferentes si se quiere identificar anticuerpos de otras especies.<sup>9</sup>

Las pruebas ELISA necesitan ser mejor estandarizadas y evaluadas para que puedan ser aplicadas en rutinas de tamizaje serológico.<sup>9,10</sup> Un ELISA que utiliza antígenos recombinantes ha sido descrito recientemente en la literatura.<sup>5</sup>

### Pruebas por biología molecular (PCR)

Es una prueba muy específica para confirmación del diagnóstico. También puede detectar la infección en pacientes con sintomatología prolongada y en aquellos con baja parasitemia.<sup>11-13</sup>

### Inoculación en animales de laboratorio

Animales de laboratorio como los hámsteres son extremadamente sensibles a la infección por *Babesia*. La inoculación de 1,0 ml de sangre por vía intraperitoneal permite que ocurra una gran amplificación de la parasitemia aun cuando el inóculo sea escaso. A partir de esa amplificación es posible identificar la especie utilizando otras pruebas. La inoculación también induce la forma-

ción de anticuerpos en el animal que se pueden usar como confirmación. En general, la inoculación en animales se utiliza cuando los resultados del examen directo y de la PCR se muestran insuficientes.<sup>3</sup>

## Consideraciones finales

En los últimos años se ha notado un aumento en los casos de babesiosis transmitidos por transfusión, principalmente en los Estados Unidos. Por tratarse de una situación relativamente reciente se carece de guías actualizadas que recomienden los procedimientos adecuados para la selección de donantes, principalmente en áreas endémicas y en las épocas del año en que la transmisión pueda ser mayor. Para el diagnóstico se considera usar la prueba de IFI como *gold estándar*; las pruebas de biología molecular se están mejorando y aún falta una estandarización adecuada de las pruebas inmunoenzimáticas.

Para terminar, las siguientes son algunas recomendaciones de la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) y de la Organización Panamericana de la salud (OPS):

La AABB recomienda deferir definitivamente donantes con historia de babesiosis (Reference Standards 5.4.1<sup>a</sup>)<sup>14</sup>. Debido al aumento del número de casos de transmisión por transfusión, también recomienda que sean diferidos aquellos donantes con pruebas positivas para anticuerpos anti-*B. microti* o identificación por PCR.

Debido a la ausencia de pruebas aprobadas por la FDA para el tamizaje de donantes para *Babesia*, algunos estados en Estados Unidos han implementado



pruebas selectivas en áreas geográficas de mayor riesgo y en los meses del año que ocurre mayor transmisión de babesiosis por vectores. Los resultados de esa intervención todavía no se han evaluado adecuadamente para verificar su efectividad.<sup>14</sup>

La OPS recomienda que los donantes potenciales que tuvieron diagnóstico de babesiosis se deben diferir. A pesar de la limitada extensión del área geográfica en la que se han encontrado las varias especies de *Babesia*, al evaluar el riesgo de infecciones transmisibles por transfusión en las zonas no endémicas para *Babesia* debe considerarse la movilidad y migraciones humanas para establecer criterios para la selección de donantes.<sup>15</sup>

## Referencias

1. Babes V. Sur l'hémoglobinurie bacterienne du boeuf. Comt Rend Acad Sci Ser. Ser. III Sci Vie. 1888; 107: 692-694.
2. Skrabalo Z, Deanovic Z. Piroplasmosis in man: report o a case. Doc Med Geogr Trop. 1957; 9: 11-16.
3. Hunfeld KP, Hildebrandt A and Gray JS. Babesiosis: Recent insights into an ancient disease. International Journal for Parasitology 2008; 38:1219-1237.
4. Leiby DA. Transfusion-transmitted *Babesia spp.*: Bull's-eye on *babesia microti*. Clinical Microbiology Reviews, jan 2011.24(1): 14-28.
5. Advancing transfusion and cellular therapies worldwide. AABB, association Bulletin #09-06. August 5, 2009.
6. Gubernot DM, Lucey CT, Lee KC, Conley GB, Holness LG and Wise RP. Babesia Infection through blood transfusions: Reports received by the US Food and Drug Administration, 1997-2007. Clinical Infectious Diseases 2009; 48:25-30.
7. Asad S, Sweeney J and Mermel LA. Transfusion-transmitted babesiosis in Rhode Island. Transfusion 2009; 49: 2564-2573.
8. Sharan KP, Krause PJ. 2000. Babesiosis. In: Cunha BA (Ed), Tick-Borne Infectious Diseases: Diagnosis and management. Marcel Decker Inc. New York. Pp.111-120.
9. Krause PJ, Telford SR, Ryan R, Conrad PA, Wilson M, Thomford JW, Speilman A. Diagnosis of babesiosis: evaluation of a serologic test for the detection of *Babesia microti* antibody. J Infect Dis. 1994; 169: 923-926.
10. Houghton RL, Homer MJ, Reynolds LD, Sleath PR, Lodes MJ, Berardi V, et al. Identification of babesia microti-specific immunodominant epitopes and development of a peptide EIA for detection of antibodies in serum. Transfusion, 2002; 42: 1488-1496.
11. Persing DHD, Nathiesen WF, Marshall SR, Tekfird A, Spielman JW, et al. Detection of babesia microti by polymerase chain reaction. J Clin Microbiol, 1992; 30:2097-2103.
12. Espy MJJR, Uhl LM, Sloan SP, Buckwalter MF, Jones EA, Vetter JD, et al. Real-Time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing. Clin Microbiol. 2006; 19:165-256.
13. Haselbarth k, Tenter AM, Brade V, Krieger G, Hunfeld KP. First case of human babesiosis in Germany-Clinical presentation and molecular characterization of the pathogen. Int J Med Microbiol. 2007; 297: 197-204.
14. Price TH, ed. Standards for blood banks and transfusion services. 26th edition. Bethesda MD: AABB, 2009:59.
15. OPS "Elegibilidad para la donación de sangre: Recomendaciones para la educación y la selección de donantes potenciales de sangre" 2009; Washington,D.C.: OPS. ISBN: 978-92-75-32939-9.

## Leishmaniasis

La Leishmaniasis incluye un conjunto variado de manifestaciones clínicas que son producidas por la infección con parásitos que pertenecen al género *Leishmania*.<sup>1</sup>

La leishmaniasis se transmite por la picadura de hembras hematófagas de insectos dípteros de los géneros *Phlebotomus*, en el Viejo Mundo (Europa, norte de África, Oriente Medio y Asia) y *Lutzomyia* en el Nuevo Mundo (desde el sur de los Estados Unidos hasta el norte de Argentina). La transmisión vectorial es la más frecuente, pero puede ocurrir también en menor grado, por vía vertical (congénita), sexual y parenteral. También se ha descrito la transmisión persona a persona.<sup>2-6</sup>

Existen tres formas clínicas de la leishmaniasis. La forma más grave corresponde a la leishmaniasis visceral, también conocida como Kala-azar, que cuando no se trata alcanza una mortalidad cercana al 100%. Otra forma es la leishmaniasis cutánea, la cual produce úlceras en la piel de las partes expuestas del cuerpo, como brazos y piernas y también en el rostro. Otra forma es la llamada mucocutánea que puede ocasionar desfiguración al afectar las membranas mucosas de la boca, la nariz y la garganta.<sup>7</sup>

La leishmaniasis representa un problema de salud pública en más de 80 países distribuidos entre África, Asia, Sudamérica y Europa. La prevalencia mundial es de 12 millones de personas, con otros 350 millones en riesgo de infección. La mayoría de los casos de leishmaniasis visceral ocurren en India,

China, Nepal, Bangladesh, Sudán, en el sur de Europa y en Latinoamérica. La forma cutánea se encuentra más frecuentemente en Afganistán, Pakistán, Latinoamérica, Irán y en el sur de Europa, África, Arabia Saudita y Siria. El 90% de los casos de leishmaniasis mucocutánea ocurren en Latinoamérica (Bolivia, Brasil y Perú) y con menor frecuencia en Etiopía y Sudán.<sup>8</sup>

Se han descrito cerca de 30 especies de *Leishmanias* de las cuales veinte son potencialmente patógenas a los seres humanos. La variedad de las formas clínicas depende de la susceptibilidad genética y del estado inmunológico del hospedero, así como de la especie de *Leishmania* infectante. Tanto nuevas infecciones como reactivación en personas infectadas se observan en pacientes con SIDA. Pacientes oncológicos en tratamiento, pacientes con terapias de esteroides y aquellos sometidos a trasplantes son muy susceptibles a la infección por *Leishmania* transmitida por transfusión.

Las especies *L. donovani*, *L. infantum infantum*, y *L. infantum chagasi* pueden producir la leishmaniasis visceral. En casos moderados producen solamente las manifestaciones cutáneas. Las especies *L. major*, *L. trópica*, *L. aethiopica*, *L. mexicana*, *L. braziliensis* y *L. peruviana* producen leishmaniasis cutánea o mucocutánea.

La transmisión de *Leishmania* por transfusión sanguínea se ha descrito en diversos países que incluyen India, China y algunos países de Europa.

Para que ocurra la transmisión por transfusión es necesario que los parásitos estén presentes en la sangre periférica y que se mantengan viables después del fraccionamiento y almacenaje de las unidades de sangre en los servicios de hemoterapia. Claro que el mayor problema reside en individuos asintomáticos en quienes los antecedentes epidemiológicos no hayan sido detectados.

Se considera que el 95% de los individuos infectados por *L. donovani* y *L. infantum* no evolucionan hacia un cuadro clínico aparente de la infección visceral, aunque persista. Eso representa una situación de alto riesgo cuando esas personas van a donar sangre.<sup>9</sup>

En la infección por *Leishmania* se observa un periodo inicial asintomático subclínico en el cual los parásitos pueden estar circulantes en la sangre y de esta forma, aunque con baja parasitemia, pueden ocasionar la transmisión por transfusión. Guardando las debidas proporciones, es una situación semejante a la que se observa en individuos con paludismo, semi-inmunes, que con baja parasitemia pueden transmitir malaria por transfusión.

El período de parasitemia con ausencia de síntomas clínicos y sin cambios hematológicos significativos, puede variar de acuerdo con la especie de *Leishmania* infectante. Para la *L. donovani* este periodo puede variar de uno a catorce meses y para las otras especies oscila alrededor de dos a ocho semanas.<sup>7</sup>

Con respecto a la supervivencia de los parásitos en los hemocomponentes, para la *L. donovani* y *L. trópica*, se observa una sobrevivencia de 25 días en monocitos presentes en glóbulos rojos mantenidos a 4°C, cinco días en

plaquetas a 25°C, treinta y cinco días en glóbulos rojos congelados con glicerol y 30 días en sangre total, no fraccionada, almacenada a 4°C.<sup>7</sup>

En individuos infectados por transfusión, el principal síntoma es la fiebre en cien por ciento de los casos y hepatoesplenomegalia en el 82%. El periodo descrito entre la transfusión y el surgimiento de los síntomas está entre siete y doce meses.<sup>8</sup>

El mayor riesgo para la transmisión de *leishmania* por transfusión ocurre en áreas endémicas; pero los cambios recientes en la movilidad de las personas por viajes, procesos de migración y acciones de guerra, tornan real la posibilidad de transmisión por transfusión también en áreas no endémicas.

El diagnóstico de laboratorio incluye diversos tipos de pruebas, tales como el examen microscópico directo, el cultivo, las pruebas inmunológicas y el PCR.

Para las leishmaniasis cutánea y visceral, es fundamental que se realice el diagnóstico diferencial con otras enfermedades que pueden presentar síntomas similares. Para la leishmaniasis cutánea se deben descartar otras enfermedades como lepra, cáncer de piel, tuberculosis y micosis cutáneas; para la forma visceral, malaria, esquistosomiasis, tripanosomiasis africana, brucelosis, histoplasmosis, linfomas y leucemias, entre otras.<sup>7</sup>

En la aplicación de pruebas de laboratorio para la selección de donantes de sangre, el examen microscópico no es considerado una prueba sensible; el examen y cultivo de aspirados esplénicos o de médula ósea, son invasivos y pueden ser considerados anti éticos.

Una posibilidad es el tamizaje de candidatos a donación por medio de

pruebas de ELISA, Western blot o PCR. Las pruebas ELISA que usan el antígeno recombinante rK-39 o pruebas rápidas que usan el antígeno rKE16, desarrollados respectivamente a partir de *L. chagasi* y *L. donovani* de India, han presentado buenos resultados. Del mismo modo, pruebas de PCR se pueden usar para el tamizaje de un gran número de muestras. Los resultados obtenidos en diversos países en la aplicación de pruebas de laboratorio para el tamizaje de donantes muestran resultados distintos para las pruebas ELISA, Western blot, PCR y cultivo de muestras de sangre.

Se ha discutido la aplicación de tamizaje por pruebas de laboratorios para leishmaniasis en zonas endémicas, porque podrían disminuir de manera considerable el número de donantes aptos para la donación.

El uso de filtros para leucodepleción parece ser un mecanismo efectivo en unidades de sangre infectadas ya que excluyen los parásitos presentes en leucocitos y las formas extracelulares, amastigotes y promastigotes de *Leishmania*. El bajo número de casos de transmisión de *Leishmania* por transfusión descritos recientemente en áreas no endémicas de Europa, tal vez pueda ser explicado por el amplio uso de filtros de leucodepleción.<sup>9-11</sup>

También es importante tener en consideración el diagnóstico de leishmaniasis cuando se presenta un cuadro febril en individuos inmunosuprimidos, que recibieron transfusión.

Algunas medidas pueden ayudar a disminuir el riesgo de transmisión de leishmaniasis por transfusión.

En áreas no endémicas:

1. Descartar candidatos a donación que hayan residido en áreas endémicas.
2. Estudiar la prevalencia de anticuerpos anti leishmania en personas que vivieron durante largos periodos en áreas endémicas para leishmaniasis o aplicar una prueba de PCR. Aquellos individuos con resultados positivos deben ser diferidos para la donación de sangre.

En áreas endémicas donde la leishmaniasis es una enfermedad emergente y en general no controlada, es importante establecer estrategias de tamizaje que permitan excluir donantes con parasitemia. La prueba más adecuada sería el PCR, pero también se puede usar la estrategia para identificar la presencia de anticuerpos anti *leishmania*. En cualquier situación se ha de llevar en consideración la lógica del costo-beneficio para aplicar las acciones de tamizaje, incluso la posibilidad de disminución significativa de donaciones que podrían perjudicar al sistema de salud en la región.

La Comunidad Europea requiere diferimiento permanente de los donantes potenciales que hayan tenido leishmaniasis.

La OPS recomienda: a) que los individuos que tienen historia de infección por *Leishmania* deben ser diferidos en forma permanente para la donación; b) diferir por dos años a los donantes asintomáticos cuyos viajes o historias transfusionales los colocaron en riesgo de haber adquirido la infección.<sup>12</sup>

## Referencias

1. Roberts LH. Leishmaniasis- Clinical review. *Brit Med J*, 2000; 321(7264): 801-804
2. Sarman S, New development in diagnosis of leishmaniasis. *Indian J Med Res.* 2006; 123: 311-330.
3. Cohen C, Corazza F, Moll PD, Brasseur D. Leishmaniasis acquired in Belgium. *Lancet* 1991;338:128.
4. Cummins D, Amin S, Halil O, Chiodini PL, Hewitt PE, Radley-Smith R. Visceral leishmaniasis after cardiac surgery. *Arch Dis Child* 1995;72:235-6.
5. Singh S, Chaudhry VP, Wali JP. Transfusion-transmitted kalaazar in India. *Transfusion* 1996;36:848-9.
6. Luz KG, da Silva VO, Gomes EM, Machado FC, Araujo MA, Fonseca H, *et al.* Prevalence of *anti-Leishmania donovani* antibody among Brazilian blood donors and multiply transfused hemodialysis patients. *Am J Trop Med Hyg* 1997;57:168-71.
7. Dey A, Singh S. Transfusion transmitted leishmaniasis: A case report and review of literature. *Indian J Med Microbiol*, 2006; 24(3):165-70.
8. Alfaro MLC & Echevoyen RG. Leishmaniasis y transfusión. Artículo de revisión. *Rev Mex Med Tran*, 2010; 3(1):S42-S47.7
9. Cardo JL. Leishmania: risk to the blood supply. *Transfusion*, 2006; 46: 1641-1645.
10. Cardo JL, Salata J, Harman R, Mendez J, Weina PJ. The use of leukodepletion filters at collection to reduce the risk of transfusion transmission of *Leishmania donovani* infantum and *Leishmania major*. *Transfusion*, 2005; 45:45(suppl 3):30A.
11. Kyriakou DS, Alexandrakis MG, Passam FH, *et al.* Quick detection of leishmania in peripheral blood by flow cytometry: is prestorage leukodepletion necessary for leishmaniasis prevention in endemic areas? *Transfus Med*, 2003; 13:59-62.
12. OPS “Elegibilidad para la donación de sangre: Recomendaciones para la educación y la selección de donantes potenciales de sangre” 2009; Washington, D.C.: OPS. ISBN: 978-92-75-32939-9.



# Contaminación bacteriana de productos sanguíneos

ARMANDO CORTÉS BUELVAS\*

## Introducción

Los servicios de sangre enfrentan un reto continuo para mejorar la seguridad de los componentes sanguíneos. Si bien la transmisión de las infecciones virales por transfusión han disminuido dramáticamente, como resultado de las mejoras en la selección de donantes y las pruebas a la sangre donada, la contaminación bacteriana asociada a la transfusión (CBAT), ha demostrado ser más difícil de abordar y sigue siendo la infección más frecuentemente asociada a la transfusión y una causa principal de morbilidad y mortalidad en los receptores de la transfusión, que puede llevar a problemas médico-legales.<sup>1</sup> La CBAT

\* *Patólogo Clínico. Profesor Titular y Jefe del Departamento de Patología, Escuela de Medicina, Universidad del Valle, Cali. Director Hemocentro del Valle del Cauca, Cali. Director Servicio de Transfusión Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia.*

se ha reducido pero sigue ocurriendo a pesar de las medidas preventivas y la aplicación de pruebas de control de calidad, el uso de sistemas de colecta íntegramente conectados y normas estrictas para la preparación de la piel, la colecta y almacenamiento de la sangre y sus componentes. Los programas de hemovigilancia continúan informando los efectos adversos graves debidos a la contaminación bacteriana.

### Reseña histórica

Las publicaciones de los últimos sesenta años han documentando la ocurrencia e importancia clínica de la contaminación bacteriana de la sangre. Desde 1939, una publicación advierte el riesgo de la CB de la sangre, estimándola en cerca del 5% en la sangre almacenada durante diez días a 4-6 °C.<sup>2</sup> El primer informe de la CBAT describe las manifestaciones de una reacción febril grave en cuatro pacientes después de la transfusión de pooles de plasma.<sup>3</sup> Dos informes, en 1945 y 1953, del Laboratorio de Control Biológico del Servicio de Salud Pública en USA, indicaban una gran preocupación por la contaminación bacteriana de los productos sanguíneos.<sup>4,5</sup> Desde entonces se han reportado numerosos casos sobre CB y sepsis asociada a la transfusión, en especial en la medida que la terapia de transfusión de plaquetas se ha intensificado.<sup>6,7</sup>

### Situación actual

Se desconoce la incidencia exacta de la contaminación bacteriana de los productos sanguíneos debido a la gran variabilidad de los métodos que se usan

para identificarla. Desde la década de los noventa, se la ha reconocido como la causa más común de infección transmisible por transfusión, lo que explica entre el 14% y el 24% de las muertes asociadas a la transfusión notificadas a la Food and Drug Administration (FDA) en Estados Unidos, y en diversos sistemas de hemovigilancia.<sup>8</sup> Con base en los métodos de control que emplean medios de cultivo sensibles, 1 de cada 2000 unidades de plaquetas (por aféresis y unidades al azar) están contaminadas con bacterias.<sup>9-10</sup>

El riesgo actual de recibir plaquetas contaminadas con bacterias puede ser 10 a 1000 veces mayor que el riesgo combinado de recibir unidades con VIH, VHC y HTLV.<sup>11</sup> En los Estados Unidos, la sepsis bacteriana es considerada la segunda causa más común de muerte ligada a la transfusión, con tasas de mortalidad que van desde 1/20, 000 a 1/85, 000 exposiciones a unidades donadas.<sup>12</sup>

La bacteriemia asociada a plaquetas se produce con una frecuencia cincuenta veces mayor que la de los eritrocitos.<sup>13</sup> Los resultados de las pruebas de esterilidad estandarizadas en Alemania, mostraron que las tasas de CB fueron comparables entre un concentrado plaquetario (CP) obtenido a partir de sangre completa (0,210%) o por aféresis (0,156%). Los CP en pool producidos a partir de buffy coats con empleo de procedimientos estériles mostraron una tasa de contaminación significativamente mayor (0,604%) en comparación con los CP derivados de sangre completa y aféresis.<sup>14</sup> El riesgo de sepsis es tres veces mayor cuando se transfunden plaquetas, en comparación con glóbulos rojos, y existe un riesgo significativamente ma-



yor si la transfusión es de CP en pool que los obtenidos por aféresis.<sup>15</sup>

En la última década muchos centros de sangre y servicios de transfusión han puesto en práctica métodos para limitar y detectar la contaminación bacteriana de plaquetas (CBP), implementando de manera rutinaria métodos con diferente sensibilidad analítica para el control de calidad de los CP obtenidos a partir de sangre completa o aféresis.

En Estados Unidos, antes de 2004, la tasa de CBP al momento de la infusión había sido informada entre 1 de 1.000 a 3.000 unidades transfundidas.<sup>16-19</sup> La Cruz Roja Americana evaluó el impacto en los dos primeros años de la implementación rutinaria de los cultivos bacteriológicos, como pruebas de control de calidad en los CP, encontrándose una reducción de la tasa de CBP por aféresis en un nivel de aproximadamente 50% (1 en 5399).<sup>20</sup> Sin embargo, durante el mismo período, se presentaron veinte complicaciones sépticas y tres muertes relacionadas con la transfusión de plaquetas, lo que demuestra que la CBP puede evadir el control de calidad por medio de los cultivos y por lo tanto sigue siendo un riesgo residual significativo de la transfusión. Las tasas de CBP pueden variar de un lugar a otro, al igual que la incidencia de reacciones sépticas. La incidencia observada puede estar influenciada por la técnica de limpieza de la piel, el uso de sistemas para desviar los primeros ml, el tiempo de almacenamiento, los métodos de preparación de plaquetas, el método de detección, el momento en que se toma la muestra y el volumen de la misma. Los informes recientes de centros que también utilizan cultivo bacteriológico

muestran tasas de contaminación muy variables entre 1:1169 y 1:7210.<sup>20-24</sup>

La tasa observada de reacciones sépticas también está sujeta a variables que incluyen la calidad del sistema de vigilancia y notificación, y la estructura del inventario de plaquetas. El sistema de hemovigilancia del Reino Unido (The Serious Hazards of Transfusion group SHOT) registra en el lapso de diez años, con alrededor de 3.000.000 de plaquetas transfundidas: 40 episodios de sepsis relacionada con las plaquetas, con 11 muertes; es decir, aproximadamente 1:75,000 reacciones sépticas, y 1 en 273.000 muertes.<sup>25</sup> Mientras los datos del sistema de hemovigilancia en Francia revelan una tasa de reacciones sépticas de 1 en 59.000;<sup>26</sup> en los EE.UU., tras la introducción de un programa de detección de bacterias en los centros de la Cruz Roja, en 2004, la tasa observada de sepsis fue 1:59,000 en los primeros 26 meses del programa, cayendo levemente a 1/83,000 después de que el volumen de la muestra para cultivo se incrementara de 4 a 8 ml, presentándose tres reacciones fatales en la primera fase del programa, con una tasa de mortalidad de 1:498,711.<sup>27</sup> Según el tipo de medidas preventivas empleadas, las reacciones sépticas asociadas a la transfusión ocurren con una frecuencia muy variable que va de 1 en 6.437 a 1 en 100.000 transfusiones.<sup>27-34</sup>

Con el empleo de pruebas adicionales de control al final del periodo de almacenamiento de plaquetas (5-7 días) se estima que la tasa verdadera de control bacteriano es probablemente mayor, con tasas de detección en el rango entre 1 en 1072 a 1 en 1183;<sup>23,32</sup> lo cual da a entender que el control de

calidad actual basado en cultivos tiene una sensibilidad tan baja como 24% a 40% y que un número significativo de plaquetas contaminadas con bacterias se escapan a la detección temprana y se transfunden.

La gran diferencia en las tasas de reacción séptica asociadas a la transfusión de plaquetas puede atribuirse en buena parte al método de vigilancia empleado. Los informes voluntarios de eventos clínicos adversos tienen una tasa mucho menor de lo esperado, en general la vigilancia pasiva conduce a la falta de reconocimiento de los efectos adversos.<sup>35</sup> Por otro lado, algunas definiciones de la reacción séptica asociada a la transfusión han aumentado la tasa de notificación, al incluir también los síntomas leves y/o a la falta de criterios que se utilizan normalmente para definir clínicamente una sepsis.<sup>36</sup>

Hoy en día, a pesar de cierta incertidumbre en torno a la magnitud del problema clínico, el riesgo residual de la sepsis bacteriana asociada a transfusión sigue siendo importante no obstante las intervenciones recientes.

## Dificultades en la definición y diagnóstico de la CB

La vigilancia pasiva en gran medida subestima la incidencia de la CBP.<sup>37</sup> En muchos casos no es fácil la confirmación de un evento con sospecha de CB, y es muy baja la proporción de casos sospechosos para confirmar en los informes de hemovigilancia.<sup>38</sup> Esto se debe en gran parte a que la población que recibe más transfusiones de plaquetas son los pacientes hematooncológicos, que a menudo están febriles, inmunodeprimidos,

con neutropenias, recibiendo antibióticos de amplio espectro, con sondas y accesos vasculares,<sup>15,39,40,41,42</sup> en general condiciones que pueden enmascarar o desviar la necesidad de considerar la CBP como causa de su comportamiento clínico.

Un estudio prospectivo reciente advierte que la bacteriemia y aun el choque séptico asociado a la transfusión de plaquetas es una complicación frecuente en pacientes trasplantados neutropénicos que experimentan una elevación de la temperatura de 2°C o mayor.<sup>42</sup>

Se requiere un alto índice de sospecha para que estos casos se descubran rápidamente y se manejen de forma adecuada. El desafío del diagnóstico es considerable, dada la gran variabilidad de su presentación, que va desde el paciente asintomático a la fiebre, hipotensión, choque y muerte.<sup>9,15,43</sup>

Por otro lado, la definición de lo que constituye un caso de CBAT es aún motivo de debate.<sup>44</sup> En general, se considera como un caso cuando el receptor tiene evidencia de infección después de la transfusión, y no hay tal evidencia antes de ella, y es claro que no existe una fuente alterna de infección, y sí al menos uno de los componentes recibidos por el receptor infectado fue donado por un donante que tenía evidencia de la misma infección, o por lo menos se ha demostrado que un componente recibido por el receptor infectado contiene el agente infeccioso. Pero no es infrecuente que los componentes implicados, o bien no están disponibles para su examen, porque han sido descartados, o su almacenamiento o manipulación no asegura la fiabilidad de las pruebas de laboratorio y el caso no puede ser confirmado.

Los métodos de vigilancia activa basados en cultivo se realizan en general dentro de las 12 y 36 horas de preparado el producto, y en diversos tiempos durante el almacenamiento o en el momento de su liberación para el paciente. Si se hace muy temprano durante el tiempo de almacenamiento, la carga bacteriana es a menudo demasiado baja para ser detectada. Cuando el cultivo tuvo lugar cerca del momento de la liberación, los resultados pueden no estar disponibles al tiempo para evitar la transfusión.

En algunas series, el cultivo se desarrolla el día tres o el cuatro, aumenta la tasa de detección.<sup>22</sup> La incidencia tanto de las reacciones sépticas como de las fatales es considerablemente mayor cuando se emplea un sistema de vigilancia activa.<sup>19,33,45-48</sup>

## Patogenia y organismos implicados en la CB de la sangre y sepsis bacteriana asociada a la transfusión

La sepsis bacteriana transmitida por la transfusión es debida a la contaminación de los productos sanguíneos, la cual puede ocurrir de la siguiente forma: en los donantes, cuando portan una bacteriemia asintomática,<sup>49</sup> en el momento de la colección, la cual es contaminada durante y después de la desinfección de la piel,<sup>50</sup> con bacterias que penetran en el sistema de bolsas sanguíneas durante el procesamiento y almacenamiento, y en el momento de la transfusión. Las plaquetas se almacenan a temperatura ambiente (20-24 °C), en donde tienen mejor sobrevivencia que cuando se almacenan en refrigeradores.<sup>51</sup> El almacenamiento a

temperatura ambiente, sin embargo, permite el crecimiento y la transmisión de ciertas bacterias, las cuales pueden proliferar a partir de una baja concentración (<1 UFC/mL), en el momento de la colección, a una muy alta concentración (> 1 x 10<sup>8</sup> UFC/mL) durante el periodo de almacenamiento de los componentes sanguíneos líquidos.

Los estudios realizados antes y después de la implementación de los programas rutinarios de vigilancia de bacterias indican que los comensales de la piel, especialmente los estafilococos coagulasa-negativos son las bacterias más comunes. La contaminación de bacterias gramnegativas, aunque menos común, generalmente se asocia con complicaciones clínicamente significativas y una alta tasa de víctimas mortales. La gravedad clínica de una sepsis asociada a la transfusión puede variar considerablemente, lo que depende de las especies de bacterias en la unidad, el número de bacterias infundidas, la presencia de endotoxinas, su velocidad de propagación, la inmunidad y otras características del receptor. Inmediatamente después de la exposición a los elementos constitutivos de la sangre colectada, las bacterias son eliminadas, secuestradas, o inhibidas. Sin embargo, la preservación de la sangre a una temperatura lo suficientemente caliente para inhibir la actividad del complemento y la fagocitosis, pueden también aumentar el riesgo de permitir que las esporas de otro modo inofensivas, pasen a estados vegetativos o de proliferación y emergen como patógenos. No es difícil imaginar que los pacientes tengan problemas con sus propios organismos comensales durante los períodos de profunda inmunosupresión,

cuando pueden acomodar  $10^5$  unidades formadoras de colonias de estafilococos coagulasa negativos en su línea central, con completa ecuanimidad biológica.

Esto también aplica para los bajos niveles de contaminación en las unidades de glóbulos rojos, y en el plasma la congelación no esteriliza. En las plaquetas, y en los pacientes que las reciben, forman su propio nicho microbiológico, por tanto los comensales benignos y estables de la piel de un donante sano pueden convertirse en un invasor tóxico, a veces letal. En el caso de la *Yersinia enterocolítica*, que emergió como una complicación letal de la transfusión de sangre en los años 1970 y 1980, aparentemente de la nada;<sup>52</sup> era una causa común de intoxicación alimentaria, con una fase transitoria y asintomática intravascular, pero su capacidad para sobrevivir al frío, de adherirse a las células de la sangre sin ser eliminada y resistir la destrucción del complemento, permitió la contaminación de los productos sanguíneos.

La eliminación de leucocitos es vista como una opción posible para reducir el riesgo de contaminación.<sup>53</sup> La leucorreducción por filtración no impide el crecimiento bacteriano, pero reduce la cantidad de bacterias contaminantes, y posiblemente, el riesgo de sepsis bacteriana,<sup>54,55</sup> pero la eficacia parece variar considerablemente con las especies bacterianas<sup>56</sup> e incluso por las propiedades físicas del filtro.<sup>57</sup>

Cuando se preparan pools de los componentes de la sangre de varias donaciones, el riesgo de la contaminación se traslada a la del producto final, y si la tasa de contaminación de los productos agrupados es inferior se puede atribuir a la autoesterilización.<sup>58</sup>

Al introducir la aguja durante la flebotomía se puede obtener un pequeño fragmento de piel que puede contener bacterias viables, las cuales entran en la bolsa de recolección. Los sitios con cicatrices de flebotomías previas pueden hacer difícil la limpieza efectiva de la zona e incluir un gran número de bacterias que pueden ser introducidas en el producto de la donación.<sup>59</sup>

Aunque se ha demostrado que las buenas “técnicas de desinfección” del brazo pueden reducir sustancialmente la carga biológica en las capas superiores de la piel, es virtualmente imposible desinfectar las capas inferiores.<sup>60</sup> La carga biológica bacteriana puede ser muy considerable en la fosa antecubital, hasta el punto que más del 50% de los donantes tienen  $10^5$  organismos por  $\text{cm}^2$  en el sitio de la venopunción antes de la desinfección.<sup>61</sup>

También han sido implicados en la transmisión de bacterias los donantes asintomáticos, porque tienen una infección crónica de bajo grado o se encuentran en el período de incubación

Dos informes publicados de pacientes que desarrollaron septicemia por *Serratia marcescens* después de la transfusión, dan cuenta de que la contaminación puede provenir de la parte exterior de las bolsas de sangre,<sup>56,62</sup> así como también por fugas en los sellos, tubuladoras rotas o perforaciones mínimas en bolsas colectoras.

Un informe reciente de una reacción fatal debido a *Clostridium perfringes* vinculó a un donante que había cambiado los pañales a su hijo recién nacido. Este organismo, que hace parte de la flora fecal, creció en una muestra de cultivo tomado del brazo del donante.<sup>63</sup>

El redireccionamiento del flujo inicial de la sangre, desde la tubuladura a la bolsa de colección en un dispositivo satélite, ha demostrado reducción de la contaminación.<sup>64</sup> Las unidades contaminadas con bacterias en el momento de la recogida suelen contener menos de 10 unidades formadoras de colonias (UFC)/ml; pero durante la fase exponencial de multiplicación bacteriana y con un tiempo de duplicación de veinte minutos, a las seis horas podrían estar presentes aproximadamente  $3 \times 10^5$  organismos por bolsa.<sup>65</sup>

Muchos estudios han sugerido que hay una correlación directa entre el tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente de las plaquetas y la incidencia de contaminación bacteriana.<sup>59,66</sup> Las reacciones sépticas asociadas con plaquetas contaminadas generalmente se presentan con una unidad que ha sido almacenada al menos durante tres días.<sup>67</sup> De hecho, con las plaquetas almacenadas por cinco días, la tasa de sepsis asociada a transfusión es cinco veces mayor que la de las plaquetas almacenadas durante cuatro días o menos; 1.8/10,000 vs 11,9/10.000 unidades, respectivamente. Las unidades almacenadas durante períodos más largos permiten un inóculo bacteriano mayor, y tienen un mayor riesgo de causar una reacción séptica en el receptor.<sup>68</sup>

Un reciente estudio en EE.UU. (PASSPORT), con el propósito de determinar la viabilidad de volver a los siete días de almacenamiento de las plaquetas sobre la base de las primeras pruebas con los cultivos como control de calidad,<sup>69</sup> demostró que con el aumento del tiempo de almacenamiento crece la probabilidad de una reacción séptica

severa, lo cual llevó a la FDA a reducir el almacenamiento de las plaquetas hasta cinco días.

Otros factores que contribuyen a la posibilidad de contaminación son el manejo inadecuado de las unidades en los sitios de transfusión, y de la infusión por el personal de enfermería y la práctica de procedimientos inapropiados durante la separación de los componentes. Otras fuentes de contaminación incluyen las bacteriemias de los donantes<sup>70,71</sup> y la contaminación durante la recolección, fabricación o manipulación posterior.<sup>72,73</sup> Las manipulaciones dentales, las extracciones, y el uso de dispositivos de irrigación de goma pueden inducir bacteriemias transitorias.

Muchas especies de bacterias pueden contaminar los productos sanguíneos, pero no todas causan sepsis en los receptores de transfusiones. Las bacterias gramnegativas, especialmente cuando están asociadas con la producción de endotoxina, conllevan una proporción sustancial de casos graves y fatales.<sup>33,43</sup> Algunos organismos gramnegativos, como especies de *pseudomonas* y de *serratia* crecen bien en las temperaturas de refrigeración para el almacenamiento de los glóbulos rojos.

Los estudios realizados antes y después de la aplicación de control de calidad de rutina de las plaquetas han demostrado que los organismos comensales de la piel, especialmente los estafilococos coagulasa-negativo (SCN) son los organismos más comúnmente implicados en la CBP, debido a su crecimiento lento, lo cual facilita los falsos negativos en los cultivos de control de calidad obtenidos al inicio de la vida útil de las plaquetas.

La gama de especies bacterianas asociadas a muerte por CBP son similares entre países e incluyen especies de *Staphylococcus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Serratia* y *Enterobacter* spp.<sup>15,74,75</sup>

La mayoría de las bacterias asociadas con las reacciones son especies de aerobios o facultativos.<sup>27,69</sup> Sin embargo, se han reportado varias reacciones sépticas relacionadas con anaerobios, como el *P. acnes*<sup>15,76</sup> y *Clostridium perfringens*.<sup>63,77,78</sup>

## Enfoque para reducir la sepsis bacteriana asociada a la transfusión

Estrategias para prevenir la contaminación bacteriana de los componentes sanguíneos

### *Examen de la salud antes de la donación*

Entre los elementos más importantes para la reducción del riesgo de contaminación de productos sanguíneos se incluye la cuidadosa selección de los donantes de sangre, basada en la historia de la salud y el examen físico, para excluir aquellos con los riesgos identificados para la CB de los componentes sanguíneos. Es muy útil explorar en los donantes los signos o síntomas que sugieran posibles riesgos de infección bacteriana, tales como los procedimientos dentales, lesiones en la piel y enfermedades gastrointestinales; sin embargo, no se conoce la sensibilidad y especificidad de este proceso para identificar estos riesgos.<sup>79,80</sup> Existen dificultades para identificar donantes que pueden estar en la fase de recuperación

de una infección bacteriana o tener una bacteriemia asintomática temprana. Los donantes también deben ser orientados para suministrar información relevante con prontitud ante cualquier afectación de la salud post-donación, que permita enviar a cuarentena las unidades en riesgo, para prevenir su transfusión y permitir la práctica de las pruebas pertinentes.

### *Mejoras en la desinfección de la piel de los donantes.*

Muchos estudios han demostrado la importancia de la limpieza de la piel antes de la punción venosa para disminuir la entrada de organismos comensales en los contaminación sanguínea durante la recolección.<sup>60,61</sup> Aunque una técnica adecuada de desinfección de la piel es una de las barreras más importantes para prevenir la contaminación bacteriana, hoy en día se reconoce que no es totalmente eficaz.<sup>61</sup> Hay varios factores que limitan la eficacia de la desinfección de la piel, como la limitada actividad esporicida y la disminución de la eficacia frente a algunas bacterias gram negativas o cepas formadoras de anti-biopelículas.<sup>61,81</sup> La alta densidad de bacterias en la superficie de la piel de algunos donantes, la presencia de bacterias en las capas profundas de la piel<sup>82,83</sup> o la ocurrencia de bacteriemia asintomática en algunos donantes, son factores adicionales que evaden aun a los mejores métodos de desinfección.

Por otro lado, para elegir el mejor método hay que considerar otros factores, que incluyen el número, tipo, volumen, y concentración del desinfectante o tipo de envase, la decisión de realizar una desinfección con uno o dos pasos,

el modo de la aplicación (en espiral o hacia arriba y hacia abajo), dispositivo para la aplicación y el tiempo de secado, las características de los donantes, y la experiencia personal. Un requisito importante de la eficacia de la desinfección es asegurar que la zona cuenta con una cantidad suficiente del desinfectante aplicado. La práctica de aplicar desinfectante en la forma tradicional de espiral puede ser defectuosa debido a que el sitio real de la punción venosa puede estar sujeto a la desinfección inadecuada.<sup>61</sup> Es muy importante la atención cuidadosa de la preparación del sitio de la venopunción por parte del personal que realiza la colecta. Aunque los mejores métodos de limpieza de la piel no van a eliminar todas las bacterias presentes en la piel o en sus apéndices, las mejoras en estos métodos se han asociado con una menor presencia de bacterias en los componentes sanguíneos.

Se han descrito muy buenos resultados con el uso de alcohol isopropílico al 70%,<sup>29</sup> varias preparaciones de yodo o clorhexidina al 1%,<sup>84</sup> utilizados solos o en combinaciones con varios pasos.<sup>61,85</sup> Una reciente revisión Cochrane resume los estudios publicados sobre desinfección de la piel en el contexto de la donación de sangre y otras situaciones.<sup>86</sup> Sin embargo, debido a las grandes diferencias metodológicas, los revisores de Cochrane fueron incapaces de llegar a conclusiones firmes con respecto a las diferencias entre los distintos métodos y su eficacia en la reducción de la contaminación bacteriana de productos sanguíneos.

El método que utiliza el alcohol isopropílico seguido de tintura de yodo produce una reducción sustancial en la

CB<sup>61</sup>. Recientemente, se ha definido que el uso de la combinación de gluconato de clorhexidina al 2%/alcohol isopropílico al 70% es al menos tan eficaz como otros desinfectantes,<sup>81,94,87-91</sup> y su empleo como método de un solo paso es capaz de mantener la eficacia de la desinfección, lo que simplifica y reduce el tiempo del proceso.<sup>81,87,90</sup>

#### *Eliminación de la primera alícuota de la sangre donada*

Se ha usado el método fácil y económico de desviar los primeros ml (10-50 ml) de la sangre donada, porque en teoría puede desviar las bacterias de la piel que evaden la limpieza del brazo, así como los ubicados en las capas profundas de la piel.<sup>29,82</sup>

Este procedimiento ha conducido a una disminución significativa en la contaminación bacteriana de plaquetas obtenidas por aféresis causada por bacterias de la piel.<sup>20,27,87,92</sup> Sin embargo, se han identificado casos con contaminaciones por *Streptococcus bovis* y *Klebsiella pneumoniae*, lo que sugiere que el riesgo restante de bacteriemia en los donantes no puede ser eliminado completamente. Hoy en día, en general, las plaquetas obtenidas a partir de sangre total y aféresis son recogidas con kits que tienen una bolsa hacia la cual se desvían los primeros 30 a 50 ml de sangre del donante, para capturar algunas bacterias contaminantes de la piel y reducir el riesgo (40%-88%) de la CBP.<sup>27,29,82</sup>

Un estudio japonés demostró con más de 40.000 donaciones, una reducción del 71% ( $p = 0,0003$ ) en la CBP al comparar los cultivos de las plaquetas almacenadas al menos cuatro días antes

y después de la introducción del método de desviación de los primeros 25 ml.<sup>92</sup>

Otros autores han descrito los resultados de sus experiencias al combinar las mejoras en los métodos de desinfección de la piel y el desvío.<sup>27,29,64,93</sup>

### Factores ambientales

Las Buenas Prácticas de Fabricación son esenciales para la preparación y suministro de componentes sanguíneos seguros. Son elementos fundamentales la disponibilidad de personal capacitado y competente en sus tareas, y la adhesión a los procedimientos documentados de operación estándar para la evaluación del donante, la extracción, el procesamiento, almacenamiento y manipulación de los productos sanguíneos. El caso de una contaminación bacteriana debida al uso de una clorhexidina contaminada en la preparación del sitio de la flebotomía reafirma la importancia de la vigilancia en todos los aspectos del proceso.<sup>94</sup>

Se debe considerar cuidadosamente la elección del método de colecta (por ejemplo, procedimiento con una o dos punciones en los brazos) en el contexto de otras medidas para reducir la contaminación bacteriana.<sup>20</sup>

Es muy importante el empleo de equipos e insumos apropiados, que permitan la separación y manipulación de los componentes para conservar la integridad del sistema cerrado y para evitar su contaminación. Es también necesaria una correcta limpieza y mantenimiento de las instalaciones y equipos, y vigilar el medio ambiente. Se debe observar un correcto almacenamiento de la sangre y sus componentes durante el transporte hacia y desde el centro de sangre y

el hospital, y durante la preparación; considerando los tiempos y las especificaciones de temperatura en cada etapa del proceso.

### Donación de plaquetas por aféresis y a partir de sangre completa

La mayoría de los casos de contaminación bacteriana se producen por la presencia de bacterias derivadas de los donantes en el componente transfundido. Por tanto, un enfoque propuesto para proteger a los receptores ha sido minimizar tanto como sea posible la exposición a donantes. Con cada procedimiento de aféresis se puede producir lo equivalente a dos o tres dosis para un paciente, mientras que los productos obtenidos a partir de donaciones de sangre completa requieren de cuatro a seis donaciones para proporcionar una dosis terapéutica. En el caso de productos preparados en pool, incluso a pesar de obtenerlos con sistemas cerrados y con una cuidadosa manipulación, son el resultado de la exposición a cuatro o seis donantes; por tanto, como se espera, tienen un incremento en la tasa de contaminación proporcional al número de unidades mezcladas.

En el University Hospital Johns Hopkins (HUJ) se encontró que durante un seguimiento de 13 años, la incidencia de eventos sépticos disminuyó de 1 en 4.515 a 1 en 15.098 transfusiones cuando la proporción de las transfusiones de plaquetas obtenidas por aféresis aumentó de 51,7% al 99,4%. La tasa de reacción séptica encontrada con los productos producidos en pool fue 5,39 veces mayor que las de las unidades obtenidas por aféresis (IC 95%, 1.89-12.9).<sup>76</sup>



El University Hospitals Case Medical Center (UHCMC) observó tasas de contaminación bacteriana similares entre los productos obtenidos por aféresis y a partir de sangre completa, 1 de 2213 y 1 en 2090, respectivamente, con una tasa en los pooles de 5 unidades de 1 en 418.<sup>19,95</sup> Cabe señalar que el estudio de Johns Hopkins utiliza la vigilancia pasiva, mientras que el de UHCMC emplea la vigilancia activa con cultivo al momento de la liberación, lo que explica las grandes diferencias en las tasas de CB entre las dos instituciones. La tasa de UHCMC es consistente con el rango habitual reportado de la CB de 1 en 1.000 a 1 en 3.000 unidades.

Otros estudios publicados, basados en la vigilancia activa con cultivos<sup>21,29,96</sup> no hallan diferencias significativas entre las tasas de CB de plaquetas entre pooles y componentes obtenidos por aféresis; igualmente el programa de hemovigilancia francés no observó diferencias en las tasas de reacciones clínicas entre los dos tipos de componentes.<sup>97</sup>

Lo anterior puede deberse en parte a la aplicación en los últimos años de mejores métodos de desinfección de la piel y a las técnicas de desviación.

Si bien parecen haber disminuido las diferencias en las tasas de CB de plaquetas entre los diferentes tipos de componentes, algunos prefieren seguir empleando las plaquetas obtenidas por aféresis, como una estrategia para reducir la exposición a las bacterias procedentes de donantes<sup>76,92,98</sup> y además seguir ofreciendo otras ventajas importantes de limitar la exposición a donantes, como reducir el riesgo de sensibilización HLA y transmisión de infecciones virales, entre otras.

### Pruebas y pool pre-almacenamiento de unidades obtenidas a partir de sangre completa

La introducción del sistema Acrodose PL (Pall Medical, East Hills, Nueva York), para la producción de pooles pre-almacenamiento (PPA), y plaquetas obtenidas a partir de sangre completa leucorreducida, permite la práctica del cultivo bacteriológico de control de calidad; puede así liberar un producto con cultivo negativo sin necesidad de manipulación adicional. La Cruz Roja Americana informó recientemente sobre su experiencia con el sistema de Acrodose PPA.<sup>74</sup> Durante un período de cuatro años antes de la implementación del PPA, con el uso de 2,535,043 unidades de plaquetas se presentó una tasa de reacciones sépticas de 7.9 por millón y 0.79 por millón de víctimas mortales. Mientras que luego de la implementación del PPA no se observaron reacciones sépticas después de distribuir 25.936 unidades; sin embargo, puede causar confusión la implementación paralela del desvío de los primeros ml en 20.725 de estas unidades. Se constató además que la CB con el PPA fue 5.8 veces superior a la tasa actual de las unidades de aféresis que utilizan protocolos de cultivo temprano, lo que sugiere que la sensibilidad del cultivo temprano del sistema PPA es comparable al de las unidades de aféresis, y que la tasa más alta para el PPA está directamente relacionada con el número de unidades obtenidas a partir de sangre completa utilizadas para producir los pooles.

Por otro lado, la CB con organismos de la piel en las unidades PPA disminuyó de 1:474 a 1:1036 con la desviación. Sin embargo, dicha tasa con microor-

ganismos entéricos no cambió con la desviación, y los autores advierten que a pesar del aparente mayor riesgo de reacciones sépticas con los PPA estos representan una buena alternativa para complementar el inventario a un costo relativamente bajo.

El almacenamiento no refrigerado durante la noche, la incubación con los leucocitos donados y tal vez de plasma, a una temperatura biológicamente permisible y la leucodepleción (tal vez sólo después de calentamiento por tiempo prolongado) pueden reducir la carga bacteriana<sup>54,99</sup> y se relaciona, por cualquier razón, con una incidencia reducida de sepsis bacteriana asociada a plaquetas.

#### Toma de decisiones clínicas, monitoreo y seguimiento del paciente

Aunque la transfusión es una práctica generalizada, a menudo no se hace de manera apropiada. Muchas instituciones cuentan con políticas y procedimientos de la transfusión, que incluyen la investigación y el manejo de las reacciones transfusionales; sin embargo, los médicos con frecuencia no son conscientes de ello. El personal médico y de enfermería a menudo han tenido poca formación en clínica transfusional y no están informados sobre los riesgos, además de la pequeña pero real posibilidad de la contaminación bacteriana de los componentes de la sangre o la manera en que esta se puede reducir, incluido el almacenamiento y manejo correctos, e inspección de componentes antes de la administración. Un estudio reciente con especialistas en enfermedades infecciosas encontró, sor-

prendentemente, una escasa conciencia de la CB, o poca experiencia en la investigación de una reacción a la transfusión debido a la CB.<sup>100</sup>

Un estudio canadiense describe una variación sustancial en la práctica transfusional, lo que sugiere la necesidad de educación, disponibilidad de pautas de manejo, y fácil acceso al asesoramiento experto en medicina de transfusión.<sup>101</sup>

#### La detección de la contaminación bacteriana de los componentes sanguíneos

La medición del pH y la glucosa, la coloración de Gram, son técnicas simples y económicas, pero no lo suficientemente sensibles o específicas para el uso rutinario en la detección de CB.<sup>102-105</sup> En un estudio con análisis del pH, todos los resultados positivos eran falsos, lo que lleva al descarte de casi el 2% de las unidades. Además, la prueba de pH no pudo detectar cinco unidades contaminadas.<sup>19</sup> El examen microscópico de los frotis teñidos con naranja de acridina o la tinción de Gram pueden ser de bajo costo, aunque consumen mucho tiempo para detectar la CB. Las plaquetas contaminadas con bacterias tratadas con tinción con naranja de acridina examinadas al microscopio de fluorescencia detectan con éxito una concentración de  $10^6$  UFC / ml y el 83% de las plaquetas con  $10^5$  UFC / ml. La tinción de Gram tiene una sensibilidad similar, sobre todo en las unidades más “envejecidas”. Con unidades de cuatro y cinco días de preparadas, la sensibilidad fue del 100% y la especificidad del 99,93% para las concentraciones de bacterias superiores a  $10^6$  UFC / ml<sup>9</sup>. La desventaja del mé-

todo es su laboriosidad y que requiere de una formación especializada, no necesariamente disponible en un banco de sangre; sin embargo, si se realiza en el momento de la liberación proporciona una prueba en tiempo real para las concentraciones de bacterias que más probablemente pueden causar graves eventos adversos. La inspección visual de cambio de color, los aglomerados, etc. no es sensible, pero sigue siendo muy importante antes de la administración, como la última oportunidad para evitar la aplicación de un componente muy contaminado.

Se usa en varios países el tamizaje bacteriológico de rutina, previo a la liberación de las plaquetas, y si bien la presencia de bacterias detectables no siempre se asocia con consecuencias clínicas, la detección de bacterias con métodos sensibles pueden prevenir la liberación y transfusión de algunas unidades contaminadas.<sup>106,107</sup> Se ha reportado la experiencia de los programas de vigilancia basados en cultivos en varias instituciones.<sup>20-23,26,27,32,33,108-116</sup> En algunos países, el tamizaje con cultivos para plaquetas se ha utilizado para extender la vida útil más allá de los cinco días, de manera rutinaria o en ocasiones.<sup>117</sup> Muchos organismos requieren cerca de 24-48 horas para crecer en los sistemas basados en cultivo utilizados en la actualidad.

Con esta medida tampoco se puede garantizar la esterilidad de las plaquetas, debido a: (1) una concentración muy baja de bacterias en la unidad de plaquetas puede escapar a la detección cuando se hace un cultivo temprano,<sup>22</sup> que puede proliferar hasta un inóculo letal, y (2) aun las pruebas altamente

sensibles que detectan 1-10 bacterias en la muestra pueden ser demasiado retardadas para obtener resultados, y las pruebas que dan resultados rápidos para ser utilizados inmediatamente antes de la transfusión son muy insensibles, para solucionar este problema. Debido a la posibilidad de estos resultados falsos negativos, no se puede eliminar el riesgo. Se han reportado casos de eventos clínicamente significativos después de la transfusión de plaquetas, con los resultados de tamizaje negativo.<sup>20,22,23,107,108,100,111,113,118</sup> Para mejorar los resultados de la vigilancia se deben emplear múltiples medidas para prevenir la contaminación y detectar las bacterias. Para el seguimiento de los efectos de estas intervenciones es necesario mantener un equilibrio entre la reducción de la contaminación bacteriana, lograda a través de la detección, contra el hecho de que los componentes no sean demasiado “viejos” en el momento de la liberación (debido a la “espera” por el período previo a la toma de muestras, y el tiempo requerido en el proceso de la prueba), así como el requisito de mantener un inventario suficiente de este componente de vida útil muy corta. No obstante, con la introducción de estos sistemas de vigilancia se ha contribuido a una reducción en el riesgo de reacción séptica a la transfusión. Varios informes muestran la experiencia de la interdicción de la mayoría de los componentes, en los cuales existían bacterias clínicamente significativas que se detectaron a tiempo para prevenir su transfusión.<sup>29,108,113</sup>

Las plaquetas son probablemente eficaces como agentes hemostáticos después de siete u ocho días de al-

macenamiento, pero el aumento del riesgo de contaminación bacteriana con el tiempo de almacenamiento<sup>119</sup> ha llevado a limitar su vida útil. Aunque se considera que las plaquetas tienen una vida útil de cinco días, en algunos lugares se restringe a solo tres días<sup>26</sup> a causa de este problema. Algunos grupos han tratado de evitar este inconveniente con otros protocolos de pruebas, pero hay obstáculos teóricos y prácticos. Se ha utilizado un protocolo de dos fases de pruebas para prolongar el tiempo de almacenamiento de las plaquetas a siete días con un nivel de seguridad teóricamente alto,<sup>120</sup> pero el proceso requiere un manejo sofisticado del inventario y de la cadena de suministro. Para maximizar la eficiencia se debe organizar el momento del muestreo a lo largo de la vida útil del producto, y considerar la sensibilidad de la prueba usada. En las fases tempranas de la vida útil del producto el número de bacterias es bajo, y las bacterias contaminantes pueden estar en una fase de reposo. En este momento, las tasas de error de muestreo serán inevitablemente altas, incluso con pruebas muy sensibles. Así, una unidad sin una carga bacteriana suficiente para que sea positiva en un punto de su vida útil puede aparecer contaminada masivamente varios días más tarde. Las pruebas basadas en técnicas de cultivo detectan algunas características de los cambios inducidos por las bacterias en el medio que crecen, como la generación de gas, la producción de ácido, etc. Estas pruebas requieren (1) que las bacterias crezcan en las condiciones de cultivo de la prueba y (2) que el cultivo continúe durante el tiempo suficiente para permitir la detección de la señal generada

por el crecimiento de las bacterias (3) sean capaces de detectar tan poco como una UFC en la muestra inoculada, y en general de forma fiable detectar 10-100 UFC en la muestra. La sensibilidad de la prueba se basa predominantemente en el volumen de la muestra, cuanto mayor sea el volumen de la muestra mayor es la probabilidad de detectar bacterias. Las bacterias en las plaquetas pueden ser muy pocas en número al comienzo de la vida útil, por debajo de 1 UFC por ml de concentrado de plaquetas.<sup>22,111</sup>

Un gran problema con los métodos de cultivo es que puede dar un resultado positivo solo después de varios días de crecimiento. Los centros de sangre se ven forzados a liberar unidades de plaquetas, mientras que el cultivo continúa en el laboratorio, dando lugar a tener que informar a los médicos que su paciente ha recibido una unidad de plaquetas que luego resultó contaminada con bacterias.

Los métodos de cultivo se aplican generalmente dentro de unas pocas horas a dos días luego de la recogida de la donación, y el cultivo vuelve a ser evaluado uno o dos días después, y nuevamente al final de la vida útil de la unidad de plaquetas. Los métodos basados en cultivo usan un volumen de la muestra que varía entre 2 ml y 15 ml, y permiten la elección de cultivo aeróbico solamente, o aeróbico y anaeróbico, pero en general las bacterias anaeróbicas obligadas muy rara vez se asocian con reacciones graves a las transfusiones de plaquetas.<sup>63</sup> La Cruz Roja Americana utilizaba inicialmente muestras de 4 ml en frascos de aerobios, pero recientemente aumentó el volumen a 8 ml, para incrementar en un 54% la sensibilidad del cultivo.<sup>27</sup> En general,

los métodos de cultivo son capaces de detectar aproximadamente 1-10 UFC/ml.<sup>121</sup> Un método rápido, de inmunoensayo cualitativo (DPG) ha sido aprobado por la FDA para la detección de bacterias grampositivas y gramnegativas aeróbicas y anaeróbicas, en plaquetas obtenidas por aféresis o a partir de sangre completa y en pool. Este sistema debe ser utilizado como un complemento de las pruebas bacteriológicas de control de calidad.<sup>122</sup> La prueba se debe usar para un rendimiento óptimo, en unidades que han cumplido 72 horas después de la recolección hasta el quinto día de almacenamiento. Su uso ha demostrado que las unidades contaminadas pueden escapar a la detección por la metodología basada en pruebas tempranas.<sup>123</sup> En un informe de un estudio a gran escala patrocinado comercialmente, se propuso su aplicación para reducir este riesgo residual mediante ensayos el “día de la transfusión” en el hospital.<sup>124</sup> Debido a su baja sensibilidad, el período de seguridad proporcionado por el DGP es tal vez de un día o menos. Pero tiene la ventaja de producir un resultado negativo o positivo más rápidamente que los métodos de cultivo.<sup>35,126</sup> El fabricante de PGD afirma que la sensibilidad analítica o límite de detección está en el intervalo de  $8,2 \times 10^3$  a  $8,6 \times 10^5$  UFC/ml, lo que depende del organismo, aunque algunos informes indican que la sensibilidad de ciertas cepas de organismos gram negativos (*Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*) están por debajo de esta afirmación<sup>126</sup> y algunos organismos pueden no detectarse a pesar de hallarse en una concentración de UFC/ml mayor que el límite de detección.<sup>124</sup> Se sabe que la contaminación de  $10^5$  UFC / ml o

por encima ha causado sepsis e incluso la muerte.<sup>33</sup> Mientras, los fabricantes de los eBDS y la prueba de BacT/ALERT han indicado una sensibilidad en el intervalo de 1 a 10 UFC/ml.<sup>35,127,128</sup> La prueba de DGP no es adecuada para sustituir los cultivos como una prueba que se indica a las 24 horas después de la recolección, debido a su relativa falta de sensibilidad analítica.

Los métodos basados en el cultivo, tales como BacT/ALERT, eBDS presentan tasas de verdaderos positivos de 0.02-0.05% para las unidades individuales por aféresis o a partir de sangre completa y de 0,1-0,25% para los pool.<sup>9,104,118,129-133</sup> Sin embargo, los resultados no son comparables debido a las diferencias metodológicas.

Queda por decidir si es útil la adición rutinaria de cultivo anaerobio a los cultivos aeróbicos en la detección de la CB. De las muertes reportadas por transfusión a la Food and Drug Administration (FDA) en USA desde 2005 a causa de la CVB, solo uno fue causado por un anaerobio estricto (*Eubacterium limosum*).<sup>134</sup> Sin embargo, muchos de los organismos que se identifican solo por el cultivo anaeróbico no se consideran clínicamente significativos, y aun se podría lograr una mayor tasa de detección simplemente aumentando el volumen de muestra en botellas de cultivo aerobio,<sup>27,112</sup> por lo que el papel del cultivo anaeróbico de rutina, como una forma de aumentar la detección de contaminación bacteriana significativa, sigue siendo un tema de discusión.

### Otros métodos

Hay otros métodos, como la citometría de flujo y el PCR, capaces de detectar

bacterias en una muestra pequeña, con una mayor sensibilidad, las cuales son de utilidad en la práctica hospitalaria.<sup>135-140</sup> Otros métodos también han sido investigados, pero su utilidad como pruebas de rutina aún no ha sido determinada. La mayoría de estos métodos son adecuados para usar en el momento de la liberación de los productos plaquetarios. Pero para que un método sea útil con este propósito, debería ser fácil de realizar, capaz de detectar una amplia variedad de organismos, y de proporcionar un resultado en corto tiempo. Un inconveniente con los métodos moleculares es su incapacidad para diferenciar organismos vivos o muertos, es decir cuáles resultados positivos pueden ser clínicamente significativos. Varios enfoques nuevos e interesantes se han descrito recientemente, e incluyen: métodos de microcalorimetría, empleo de esporas bacterianas como biosensores, evaluar la respuesta bacteriana al estrés fisiológico, y sistemas no invasivos con luz infrarroja.<sup>141-144</sup>

### Tecnologías de reducción de patógenos

El sistema para reducción de patógenos (RP) es una tecnología prometedora que inhibe eficazmente el crecimiento bacteriano y mantiene la funcionalidad del producto sanguíneo hasta el final del período de almacenamiento,<sup>145,146,147</sup> como un alternativa viable ante las limitaciones de sensibilidad, así como la baja especificidad con los métodos de cultivo actuales, lo cual resulta en el descarte de un recurso muy limitado.<sup>20,118,148,149</sup> Los procedimientos de RP semejan los procedimientos estándar de los bancos de sangre, y hoy en día se le reconocen

ventajas muy prometedoras;<sup>147,150</sup> aunque hay preocupaciones específicas que se deben superar.<sup>147, 151 152 154</sup> Hay tres tecnologías para la eliminación de microorganismos a partir de unidades de plaquetas o el Cerus (amotosaleno/luz UV, INTERCEPT), Caridian (riboflavina/luz UV, MIRASOL) y MacoPharma (luz ultravioleta solamente). Todas son eficaces contra las bacterias, y podrían ser utilizadas para tal fin. A pesar de la amplia aceptación lograda en una conferencia de consenso de 2007,<sup>152</sup> la penetración de la RP en el mercado ha sido muy lenta. Las ventajas potenciales de RP en las plaquetas incluyen la capacidad de inactivar una amplia gama de bacterias<sup>155</sup> y otros agentes infecciosos poco tiempo después de la recolección, para mejorar la seguridad y permitir la pronta liberación para la transfusión y la posibilidad de aumentar la vida útil de cinco a siete días. Las desventajas potenciales incluyen la incertidumbre sobre la inactivación de bacterias formadoras de esporas, y una cierta pérdida de plaquetas durante el proceso, que en algunos estudios, ha significado un aumento de las necesidades de transfusión para los pacientes.<sup>156,157</sup> Esto último ha sido controvertido en otro estudio con un método diferente para evaluar el uso de plaquetas.<sup>158</sup> Si bien a corto plazo las plaquetas tratadas con RP parecen seguras para el uso, la posibilidad de efectos desconocidos a largo plazo por la exposición a las trazas residuales de componentes tales como los psoralenos, especialmente en pacientes que tienen repetidas exposiciones a lo largo de meses e incluso años. La efectividad del costo está aún por determinar. Dos publicaciones recientes<sup>26,159</sup> resumen

los interrogantes y plantean un debate interesante.

Al igual que Francia, otros países desarrollados y en desarrollo han adoptado la RP para reducir la presencia de sepsis y otros riesgos de la transfusión de plaquetas.<sup>158,160,161</sup> Esta técnica podría sumarse a la aplicación de una desinfección apropiada, la desviación de los primeros ml y reemplazar el uso de cultivos rutinarios en el futuro.

## Conclusión

Se han implementado una variedad de medidas para prevenir y detectar la contaminación bacteriana de plaquetas. Estas medidas han reducido pero no eliminado el riesgo de reacciones transfusionales sépticas. Se han desarrollado varias técnicas para la detección de la contaminación, y el sistema de detección de bacterias se ha convertido en una prueba de rutina en muchos servicios de sangre. Además, los expertos también se han concentrado en la reducción de la fuente, al mejorar el protocolo de desinfección de la piel y la desviación de la primeros ml de sangre desde el inicio de la recolección, para reducir aún más el riesgo de contaminación, pero sigue gravemente comprometida la eficacia de las técnicas disponibles.

No obstante, las pruebas de bacterias han mejorado significativamente la seguridad de la transfusión de plaquetas. Los métodos de cultivo son ahora ampliamente utilizados, pero tienen una baja sensibilidad y especificidad cuando se hacen muy temprano, y proporcionan información retrasada en el tiempo. Muchos métodos de detección se han desarrollado o están en fase de desarro-

llo. Sin embargo, aún quedan muchos retos para determinar las funciones de los distintos métodos de prevención y detección.

Tal vez una nueva tecnología pueda resolver los problemas de las técnicas actuales para reducir el riesgo de la sepsis asociada a la transfusión. Hasta el momento la RP puede ser la ruta más rápida para reducir el riesgo residual de bacterias. Pero, incluso si se implementa la RP, habrá preocupaciones que deberán ser abordadas, en particular la presencia inevitable de las esporas que no se pueden eliminar.

La combinación de los esfuerzos para reducir la contaminación bacteriana de los componentes de la sangre, de los que el cribado es sólo un elemento, también debe ir acompañada de esfuerzos para promover la práctica clínica más apropiada basada en la evidencia, para mejorar el conocimiento y manejo de la sepsis relacionada con la transfusión y la notificación de efectos adversos que traen beneficios reales para los pacientes.

Con el reconocimiento creciente de la sepsis asociada a transfusión se espera que el personal de salud esté más atento a los signos de alarma y se investiguen más a fondo los casos con sospecha de reacción a la transfusión.

## Referencias

1. Mathai J: Problem of bacterial contamination in platelet concentrates. *Transfus Apher Sci* 2009; 41(2):139-144
2. Novak M. Preservation of stored blood with sulfanilamide. *JAMA* 1939;113:2227-9
3. Strumia MM, Mc Graw JJ. Frozen and dried plasma for civil and military use. *JAMA* 1941;116:2378-82

4. Proby TF, Pittman M. The pyrogenicity of bacterial contaminants found in biologic products. *J Bact* 1945;50:397–411.
5. Pittman MA. A study of bacteria implicated in transfusion reactions and bacteria implicated in transfusion reactions and of bacteria isolated from blood products. *J Lab Clin Med* 1953; 42:273–88.
6. Yomotovian R, Palavecino E. Bacterial and parasitic contamination of blood components—history and epidemiology. In: Brecher M, editor. Bethesda: American Association of Blood Banks; 2003.
7. Sazama K. Bacteria in blood for transfusion: a review. *Arch Pathol Lab Med* 1994;116:2378–82.
8. AABB Association. Bulletin #05-02. Guidance on management of blood and platelet donors with positive or abnormal results on bacterial contamination tests. 2005. [cited 2011 Feb 14]. Available from: URL: <http://www.aabb.org/>
9. Yomotovian R, Lazarus HM, Goodnough LT, et al. A prospective microbiologic surveillance program to detect and prevent transfusion of bacterially contaminated platelets. *Transfusion* 1993; 33:902–9
10. Dykstra A, Jacob MR, Yomotovian R. Prospective microbiologic surveillance of random donor and single donor apheresis platelets (abstract). *Transfusion* 1998; 38(Suppl.):S104.
11. Blajchman MA. Incidence and significance of the bacterial contamination of blood components. *Dev Biol Stand* 2002;108: 56–67.
12. Blajchman MA. Bacterial contamination of cellular blood components: risks, sources and control. *Vox Sang* 2004; 87(Suppl. 1):S98–S103.
13. Ortolano GA, Freundlich LF, Holme S, et al. Detection of bacteria in WBC-reduced PLT concentrates using percent oxygen as a marker for bacteria growth. *Transfusion* 2003; 43:1276–84.
14. Walther-Wenke G, Doerner R, Montag T, et al. Working party on Bacteria Safety in Transfusion Medicine of the Advisory Board of the German Ministry of Health, Berlin, Germany. Bacterial contamination of platelet concentrates prepared by different methods: results of standardized sterility testing in Germany. *Vox Sang* 2006; 90:177–82.
15. Perez ZP, Salmi LR, Folley G, et al. Determinants of transfusion-associated bacterial contamination: results of the French BACTNEM Case–Control Study. *Transfusion* 2001; 41:862–72.
16. Jacobs MR, Palavecino E, Yomotovian R. Don't bug me: the problem of bacterial contamination of blood components – challenges and solutions. *Transfusion* 2001; 41:1331–4.
17. Brecher ME, Hay SN. Bacterial contamination of blood components. *Clin Microbiol Rev* 2005;18:195–204.
18. Blajchman MA, Beckers EA, Dickmeiss E, et al. Bacterial detection of platelets: current problems and possible resolutions. *Transfus Med Rev* 2005;19:259–72.
19. Yomotovian RA, Palavecino EL, Dysktra AH, et al. Evolution of surveillance methods for detection of bacterial contamination of platelets in a university hospital, 1991 through 2004. *Transfusion* 2006;46:719–30.
20. Eder AF, Kennedy JM, Dy BA, et al. Bacterial screening of apheresis platelets and the residual risk of septic transfusion reactions: the American Red Cross experience (2004–2006). *Transfusion* 2007;47: 1134–42
21. Schrezenmeier H, Walther-Wenke G, Muller TH, et al. Bacterial contamination of platelet concentrates: results of a prospective multicenter study comparing pooled whole blood-derived platelets and apheresis platelets. *Transfusion* 2007;47:644–52.
22. Murphy WG, Foley M, Doherty C, et al. Screening platelet concentrates for bacterial contamination: low numbers of bacteria and slow growth in contaminated units mandate an alternative approach to product safety. *Vox Sang* 2008;95:13–9.
23. Dumont LJ, Kleinman SH, Murphy JR, et al. Screening of singledonor apheresis platelets for bacterial contamination: the PASSPORT study results. *Transfusion* 2010;50:589-99.
24. Souza S, Bravo M, Poulin T, et al. Improving the performance of culture-based bacterial screening by increasing the sample volume from 4 mL to 8 mL in BacT/ALERT aerobic culture bottles. *Transfusion* 2011; doi: 10.1111/j.1537-2995.2011.03489.x.



25. Serious hazards of transfusion. Annual Report 2009. Accessed at <<http://www.shotuk.org/shot-reports/report-and-summary-2009/>>; accessed February 2012.
26. Pietersz RN, Engelfriet CP, Reesink HW, et al. Detection of bacterial contamination of platelet concentrates. *Vox Sang* 2007;93:260–77.
27. Eder AF, Kennedy JM, Dy BA, et al. The American Red Cross Regional Blood Centers. Limiting and detecting bacterial contamination of apheresis platelets: inlet-line diversion and increased culture volume improve component safety. *Transfusion* 2009;49:1554-63.
28. Ramirez-Arcos S, Goldman M, Blajchman MA. Bacterial contamination. In: Popovsky M, editor. *Transfusion reactions*. 3rd ed. Bethesda (MD): AABB Press; 2007. p. 163-206.
29. de Korte D, Curvers J, de Kort WL, et al. Effects of skin disinfection method, deviation bag, and bacterial screening on clinical safety of platelet transfusions in the Netherlands. *Transfusion* 2006;46:476-84.
30. Goldman M, Delage G, Beauregard P, et al. A fatal case of transfusion-transmitted *Staphylococcus epidermidis* sepsis. *Transfusion* 2001;41:1075-6.
31. Jafari M, Forsberg J, Gilcher RO, et al. Salmonella sepsis caused by a platelet transfusion from a donor with a pet snake. *N Engl J Med* 2002;347:1075-7.
32. Pearce S, Rowe GP, Field SP. Screening for platelets for bacterial contamination of the Welsh Blood Service. *Transfus Med* 2011;21:25-32.
33. Jacobs MR, Good CE, Lazarus HM, et al. Relationship between bacterial load, species virulence, and transfusion reaction with transfusion of bacterially contaminated platelets. *Clin Infect Dis* 2008;46:1214-20.
34. Fuller AK, Uglich KM, Savage WJ, et al. Bacterial culture reduces but does not eliminate the risk of septic transfusion reactions to single-donor platelets. *Transfusion* 2009;49:2588-93.
35. Palavecino EL, Yomtovian RA, Jacobs MR. Bacterial contamination of platelets. *Transfus Apher Sci* 2010;42:71-82.
36. Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. *Lancet* 2005;365:63-78.
37. Roth VR, Kuehnert MJ, Haley NR, et al. Evaluation of a reporting system for bacterial contamination of blood components in the United States. *Transfusion* 2001;41:1486–92.
38. TRIP (Transfusion Reactions in Patients) Annual Report 2007. Available at: [http://www.tripnet.nl/pages/en/documents/TRIP\\_Annualreport2007.pdf](http://www.tripnet.nl/pages/en/documents/TRIP_Annualreport2007.pdf), accessed February 2012
39. Qureshi H, Lowe D, Dobson P, et al: National Blood Service / Royal College of Physicians National Comparative Audit of Blood Transfusion programme. National comparative audit of the use of platelet transfusions in the UK. *Transfus Clin Biol* 2007; 14:509–513
40. Polizzotto MN, Waters N, Comande M, et al: Understanding and meeting clinical platelet requirements: an analysis of indications and urgency of platelet use from the prospective utilisation of platelets and plasma (Puppy) study. *Haematologica* 2009; 94 (Suppl. 2):455 abs. 1122
41. Olsen KE, Sandler SG: Febrile neutropenia contributes to underreporting of potential septic platelet transfusion reactions. *Vox Sang* 1996; 70:118
42. Chiu EK, Yuen KY, Lie AK, et al: A prospective study of symptomatic bacteremia following platelet transfusion and of its management. *Transfusion* 1994; 34:950–954
43. Kuehnert MJ, Roth VR, Haley NR, et al: Transfusion-transmitted bacterial infection in the United States, 1998 through 2000. *Transfusion* 2001; 41:1493–1499
44. Taylor C (Ed.), Cohen H, Mold D, Cohen H et al., on behalf of the Serious Hazards of Transfusion (SHOT) Steering Group: The 2008 annual SHOT report (2009). Available at: <http://www.shotuk.org/SHOT%20Report%202008.pdf> Accessed febrero 2012
45. Bacterial contamination of platelet pools – Ohio, 1991. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1992;41:36–7.

46. Zaza S, Tokars JI, Yomtovian R, et al. Bacterial contamination of platelets at a university hospital: increased identification due to intensified surveillance. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994;15: 82–7.
47. Sapatnekar S, Wood EM, Miller JP, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* sepsis associated with the transfusion of contaminated platelets: a case report. *Transfusion* 2001;41:1426–30.
48. Hewitt Patricia E. Bacterial contamination. In: Murphy Michael F, Pamphilon Derwood H, editors. *Practical transfusion medicine*. Blackwell Publishing; 2005.
49. McDonald CP, Barbara JA, Hewitt PE, et al.: *Yersinia enterocolitica* transmission from a red cell unit 34 days old. *Transfus Med* 1996; 6(1):61–63
50. Puckett A, Davison G, Entwistle CC, et al.: Post transfusion septicaemia 1980-1989: importance of donor arm cleansing. *J Clin Pathol* 1992; 45(2):155–157
51. Murphy S, Gardner FH. Platelet preservation: effect of storage temperature on maintenance of platelet viability: deleterious effect of refrigerated storage. *N Engl J Med* 1969;280:1094-8.
52. Jones BC, Saw MH, Hanson MF, Mackie MJ, Scott J, Murphy WG. *Yersinia enterocolitica* from blood transfusion. *J Clin Pathol* 1993;46:477–8.
53. Blajchman MA, Goldman M, Baeza F. Improving the bacteriological safety of platelet transfusion. *Transfus Med Rev* 2004; 18:11–24
54. Holden F, Foley M, Devin G, et al. Coagulase negative staphylococcal contamination of whole blood and its components: the effect of WBC reduction. *Transfusion* 2000; 40:1508–13.
55. McDonald CP, Roy A, Lowe P, et al. Evaluation of the BacT/Alert automated blood culture system for detecting and measuring their growth kinetics in leucodepleted and non-leucodepleted platelet concentrates. *Vox Sang* 2001;81:154–60.
56. Gong J, Hogman CF, Hambræus A, et al. Transfusion-associated *Serratia marcescens* infection: studies of the mechanism of action. *Transfusion* 1993;33:802–8.
57. Holden F, Foley M, Devin G, et al. Coagulase negative staphylococcal contamination of whole blood and its components: the effect of WBC reduction. *Transfusion* 2000;40: 1508–13.
58. Cortus MA, Clong C, Garcez R, et al. Bacterial growth in single versus pooled platelet rich plasma derived platelet concentrates (PRP-PC). *Transfusion* 1998; 38:S50.
59. Anderson KC, Lew MA, Gorgone Bc, et al. Transfusion-related sepsis after prolonged platelet storage. *Am J Med* 1986;81:405–11.
60. Goldman M, Roy G, Frechette N, Decary F, Massicotte L, Delage G. Evaluation of donor skin disinfection methods. *Transfusion* 1997;3(7):309–12.
61. McDonald CP, Lowe P, Roy A, et al. Evaluation of donor arm disinfection techniques. *Vox Sang* 2001;80:135–41.
62. Hogman CF, Fritz H, Sandberg L. Post transfusion *Serratia marcescens* septicaemia. *Transfusion* 1993;33:189–91.
63. McDonald CP, Hartley S, Orchard K, Hughes G, Brett MM, Hewitt PE, et al. Fatal clostridium perfringes sepsis from a pooled platelet transfusion. *Transfusion Med* 1998;8:19–22.
64. McDonald CP, Roy A, Mahajan P, et al. Relative values of the interventions of diversion and improved donor-arm disinfection to reduce the bacterial risk from blood transfusion. *Vox Sang* 2004;86:178–82.
65. Wagner SJ, Moroff G, Katz AJ, et al. Comparison of bacterial growth in single and pooled platelet concentrates after deliberate inoculation and storage. *Transfusion* 1995;35:298–302
66. Morrow JF, Braine HG, Kickler TS, et al. Septic reactions to platelet transfusions. A persistent problem. *JAMA* 1991;266:555–8.
67. Goldman M, Blajchman MA. Bacterial contamination. In: Popovsky M, editor. *Transfusion reactions*. Bethesda, MD: AABB; 2001. p. 133–59.
68. Buchholz DH, Young VM, Friedman NR, Reilly JA, Mardiney Jr MR. Detection and quantitation of bacteria in platelet products stored at ambient temperature. *Transfusion* 1973;13:268–75

69. Dumont LJ. Gambro/Fenwal PASSPORT post marketing study – 7 day platelets; FDA Blood Products Advisory Committee, Rockville, MD; 2008 <<http://www.fda.gov/ohrms/dockets/AC/08/slides/20084355S1-7.ppt>>.
70. Bryant BJ, Conry-Cantilena C, Ahlgren A, et al: *Pasteurella multocida* bacteremia in asymptomatic plateletpheresis donors: a tale of two cats. *Transfusion* 2007; 47:1984–1989
71. Haimowitz MD, Hernandez LA, Herron RM Jr: A blood donor with bacteraemia. *Lancet* 2005; 365:1596
72. Heltberg O, Skov F, Gerner-Smidt P, et al: Nosocomial epidemic of *Serratia marcescens* septicemia ascribed to contaminated blood transfusion bags. *Transfusion* 1993; 33:221–227
73. Hong Kong Hospital Authority: Investigation Panel Report on Transfusion Reaction Event, Summary and Recommendations, 22 January 2008. Available at: [http://gia.info.gov.hk/general/200801/22/P200801220191\\_0191\\_35758.pdf](http://gia.info.gov.hk/general/200801/22/P200801220191_0191_35758.pdf) Accessed 2 August 2009
74. Benjamin RJ, Kline L, Dy BA, et al. Bacterial contamination of wholeblood-derived platelets: the introduction of sample diversion and prestorage pooling with culture testing in the American Red Cross. *Transfusion* 2008;48:2348–55.
75. Stainsby D, Williamson L, Jones H, et al. Six-years of shot reporting – its influence on UK blood safety. *Transfus Apheresis Sci* 2004;31:123–31.
76. Ness P, Braine H, King K, et al. Single-donor platelets reduce the risk of septic platelet transfusion reactions. *Transfusion* 2001;41:857–61.
77. Blajchman MA, Sarwal S, Loeb M. A second example of a transfusion associated septic reaction associated with *Clostridium perfringens*. *Transfusion* 2001;41:427–8.
78. Niu MT, Knippen M, Simmons L, et al. Transfusion transmitted *Klebsiella pneumoniae* fatalities, 1995 to 2004. *Transfus Med Rev* 2006;20:149–57..
79. Grossman BJ, Kollins P, Lau PM, et al: Screening blood donors for gastrointestinal illness: a strategy to eliminate carriers of *Yersinia enterocolitica*. *Transfusion* 1991; 31:500–501
80. Olsen I: Update on bacteraemia related to dental procedures. *Transfus Apher Sci* 2008; 39:173–178
81. Ramirez-Arcos S, Goldman M: Skin disinfection methods: prospective evaluation and post implementation results. *Transfusion* 2010; 50(1):59–64
82. Liunbruno GM, Catalano L, Piccinini V, et al. Reduction of the risk of bacterial contamination of blood components through diversion of the first part of the donation of blood and blood components. *Blood Transfus* 2009;7:86-93.
83. Wagner SJ. Transfusion-transmitted bacterial infection: risks, sources and interventions. *Vox Sang* 2004;86:157-63.
84. Wong PY, Colville VL, White V, et al: Microbial Contamination and Infection Control Subcommittee, Australian Red Cross Blood Service. Validation and assessment of a blood-donor arm disinfectant containing chlorhexidine and alcohol. *Transfusion* 2004; 44:1238–1242
85. Lee CK, Ho PL, Chan NK, et al: Impact of donor arm skin disinfection on the bacterial contamination rate of platelet concentrates. *Vox Sang* 2002; 83:204–208
86. Webster J, Bell-Syer SE, Foxlee R: Skin preparation with alcohol versus alcohol followed by any antiseptic for preventing bacteraemia or contamination of blood for transfusion. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; 3:CD007948
87. Benjamin RJ, Dy B, Warren R, et al.: Skin disinfection with a single-step 2% chlorhexidine swab is more effective than a two-step povidone-iodine method in preventing bacterial contamination of apheresis platelets. *Transfusion* 2011; 51(3):531– 538
88. Adams D, Quayum M, Worthington T, et al.: Evaluation of a 2% chlorhexidine gluconate in 70% isopropyl alcohol skin disinfectant. *J Hosp Infect* 2005; 61(4):287–290
89. Hibbard JS, Mulberry GK, Brady AR: A clinical study comparing the skin antiseptics and safety of ChlorPrep, 70% isopropyl alcohol, and 2% aqueous chlorhexidine. *J Infus Nurs* 2002; 25(4):244–249

90. McDonald C, McGuane S, Thomas J, et al.: A novel rapid and effective donor arm disinfection method. *Transfusion* 2010; 50(1):53–58
91. Small H, Adams D, Casey AL, et al.: Efficacy of adding 2% (w / v) chlorhexidine gluconate to 70% (v / v) isopropyl alcohol for skin disinfection prior to peripheral venous cannulation. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29(10):963–965
92. Satake M, Mitani T, Oikawa S, et al. Frequency of bacterial contamination of platelet concentrates before and after introduction of diversion method in Japan. *Transfusion* 2009;49(10):2152–2157
93. Andreu G, Caldani C, Morel P: Reduction of septic transfusion reactions related to bacteria contamination without implementing bacteria detection. *ISBT Science Series* 2008; 3:124–132
94. García-Erce JA, Grasa JM, Solano VM, Gimeno JJ, López A, Hernández MJ, Marco ML, Arribas JL, Giralt M: Bacterial contamination of blood components due to Burkholderia cepacia contamination from chlorhexidine bottles. *Vox Sang* 2002; 83:70–71
95. Dykstra A, Hoeltge G, Jacobs M, et al. Platelet bacterial contamination (PBC) rate is surveillance method (SM) dependent. *Transfusion* 1998;38:104S.
96. Kleinman SH, Kamel HT, Harpool DR, et al: Two-year experience with aerobic culturing of apheresis and whole blood-derived platelets. *Transfusion* 2006; 46(10):1787–1794
97. Willaert B, Vo Mai MP, Caldani C: French Haemovigilance Data on Platelet Transfusion. *Transfus Med Hemother* 2008; 35:118–121
98. Vamvakas EC: Relative safety of pooled whole blood-derived versus single-donor (apheresis) platelets in the United States: a systematic review of disparate risks. *Transfusion* 2009; 49:2743–2758
99. Högman CF. Aspects of platelet storage. *Transfus Sci* 1994;15:351–5.
100. Rao PL, Strausbaugh LJ, Liedtke LA, et al: Infectious Diseases Society of America Emerging Infections Network. Bacterial infections associated with blood transfusion: experience and perspective of infectious diseases consultants. *Transfusion* 2007; 47:1206–1211
101. Traore AN, Delage G, McCombie N, et al: Clinical and laboratory practices in investigation of suspected transfusion-transmitted bacterial infection: a survey of Canadian hospitals. *Vox Sang* 2009; 96:157–159
102. McKane AV, Ward N, Senn C, Eubanks J, Wessels L, Bowman R: Analysis of bacterial detection in whole blood-derived platelets by quantitative glucose testing at a university medical center. *Am J Clin Pathol* 2009; 131(4):542–551
103. Wagner SJ, Robinette D: Evaluation of swirling, pH, and glucose tests for the detection of bacterial contamination in platelet concentrates. *Transfusion* 1996; 36(11–12):989–993
104. Werch JB, Mhawech P, Stager CE et al.: Detecting bacteria in platelet concentrates by use of reagent strips. *Transfusion* 2002; 42(8):1027–1031
105. Yomtovian R, Brecher ME. pH and glucose testing of single-donor apheresis platelets should be discontinued in favor of a more sensitive detection method. *Transfusion* 2005;45:646–8.
106. Yomtovian R: Bacterial contamination of blood: lessons from the past and road map for the future. *Transfusion* 2004; 44(3):450–460
107. Benjamin RJ: Bacterial culture of apheresis platelet products and the residual risk of sepsis. *ISBT Science Series* 2008; 3:133–138
108. Ramírez-Arcos S, Jenkins C, Dion J et al.: Canadian experience with detection of bacterial contamination in apheresis platelets. *Transfusion* 2007; 47(3):421–429
109. Chen CL, Yu JC, Holme S et al.: Detection of bacteria in stored red cell products using a culture-based bacterial detection system. *Transfusion* 2008; 48(8):1550–1557
110. Lessa F, Leparc GF, Benson K et al.: Fatal group C streptococcal infection due to transfusion of a bacterially contaminated pooled platelet unit despite routine bacterial culture screening. *Transfusion* 2008; 48(10):2177–2183
111. Benjamin RJ, Wagner SJ: The residual risk of sepsis: modeling the effect of concentration on bacterial detection in two-bottle culture systems and an estimation of false-negative culture rates. *Transfusion* 2007; 47(8):1381–1389

112. Wagner SJ, Eder AF: A model to predict the improvement of automated blood culture bacterial detection by doubling platelet sample volume. *Transfusion* 2007; 47(3):430–433
113. Walther-Wenke G, Schrezenmeier H, Deitenbeck R et al.: Screening of platelet concentrates for bacterial contamination: spectrum of bacteria detected, proportion of transfused units, and clinical follow-up. *Ann Hematol* 2009 89;83-91
114. Walther-Wenke G, Wirsing von König CH, Daubener W, et al.: Monitoring bacterial contamination of blood components in Germany: effect of contamination reduction measures. *Vox Sang* 2011;100(4):359–366
115. Kleinman S, Dumont LJ, Tomasulo P et al.: The impact of discontinuation of 7-day storage of apheresis platelets (PASSPORT) on recipient safety: an illustration of the need for proper risk assessments. *Transfusion* 2009; 49(5):903–912
116. Borosak M, Dennington P, Bryant S et al.: Adverse transfusion reaction reporting to the Australian Red Cross Blood Service – 3 years experience, 2006-2008. *Blood Transfus* 2010; 8(Suppl 1):s34 (abstract P23)
117. Benjamin RJ, Mintz PD: Bacterial detection and extended platelet storage: the next step forward. *Transfusion* 2005; 45(12):1832–1835
118. Hundhausen T, Müller TH, GERMS group: False-positive alarms for bacterial screening of platelet concentrates with BacT / ALERT new-generation plastic bottles: a multicenter pilot study. *Transfusion* 2005; 45(8):1267–1274
119. Braine HG, Kickler TS, Charache P, et al. Bacterial sepsis secondary to platelet transfusion: an adverse effect of extended storage at room temperature. *Transfusion* 1986;26:391–3.
120. Murphy WG, Smyth J. Testing for bacteria in platelet concentrates: defining the parameters. *Transfus Apheresis Sci* 2001;24:247–9.
121. Savini V, Balbinot A, Giancola R, et al. Comparison between the BACTEC 9240 and the Pall eBDS system for detection of bacterial platelet concentrate contamination. *Transfusion* 2009.
122. Platelet PGD. Test product insert, Verax Biomedical Incorporated, Worcester, MA. <http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/BloodBloodProducts/ApprovedProducts/SubstantiallyEquivalent-510kDeviceInformation/UCM190256.pdf>. Accessed febrero, 2012.
123. Ramirez-Arcos S, Kou Y, Mastronardi C, Perkins H, Goldman M. Bacterial screening of outdated buffy coat platelet pools using a culture system and a rapid immunoassay. *Transfusion*, 51: 2566–2572
124. Jacobs MR, Smith D, Heaton WA, Zantek ND, Good CE; PGD Study Group. Detection of bacterial contamination in prestorage culture-negative apheresis platelets on day of issue with the Pan Genera Detection test. *Transfusion* 2011; 51:2573-2582
125. Verax Biomedical Incorporated. Platelet PGD® test. 2009. [cited 2011 Sep 6]. Available from: URL: <http://www.fda.gov/downloads/biologicsbloodvaccines/bloodbloodproducts/approvedproducts/substantiallyequivalent510kdeviceinformation/ucm190504.pdf>
126. Vollmer T, Hinse D, Kleesiek K, Dreier J. Pan genera detection immunoassay: a novel point-of-issue method for detection of bacterial contamination in platelet concentrates. *J Clin Microbiol* 2010;48:3475-81
127. Pall Corporation. Pall eBDS bacteria detection system. Test product insert. 2010. [cited 2011 Sep 6]. Available from: URL: [http://www.pall.com/variants/pdf/pdf/medical\\_28112.pdf](http://www.pall.com/variants/pdf/pdf/medical_28112.pdf)
128. bioMérieux. BacT/Alert 3D microbial detection system. Test product insert. bioMérieux, Durham, NC.
129. Fang CT, Chambers LA, Kennedy J, et al. Detection of bacterial contamination in apheresis platelet products: American Red Cross experience, 2004. *Transfusion* 2005;45:1845–52.
130. Castro E, Bueno JL, Barea L, Gonzalez R. Feasibility of implementing an automated culture system for bacteria screening in platelets in the blood bank routine. *Transfus Med* 2005;15:185–95.
131. te Boekhorst PA, Beckers EA, Vos MC, Vermeij H, van Rhenen DJ. Clinical significance of bacteriologic screening in platelet concentrates. *Transfusion* 2005;45:514–9.
132. Larsen CP, Ezligini F, Hermansen NO, Kjeldsen-Kragh J. Six years' experience of

- using the BacT/ALERT system to screen all platelet concentrates, and additional testing of outdated platelet concentrates to estimate the frequency of false-negative results. *Vox Sang* 2005;88:93–7.
133. Rock G, Neurath D, Toye B, et al. The use of a bacteria detection system to evaluate bacterial contamination in PLT concentrates. *Transfusion* 2004;44:337–42.
134. US Food and Drug Administration: Fatalities reported to FDA following blood collection and transfusion: annual summary for Fiscal Year 2009. Available at: <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/SafetyAvailability/ReportaProblem/TransfusionDonationFatalities/ucm204763.htm> Accessed 29 March 2010
135. Mohr H, Lambrecht B, Bayer A et al.: Basics of flow cytometry-based sterility testing of platelet concentrates. *Transfusion* 2006; 46(1):41–49
136. Karo O, Wahl A, Nicol SB et al.: Bacteria detection by flow cytometry. *Clin Chem Lab Med* 2008; 46(7):947–953
137. Dreier J, Vollmer T, Kleesiek K: Novel flow cytometry-based screening for bacterial contamination of donor platelet preparations compared with other rapid screening methods. *Clin Chem* 2009; 55(8):1492–1502
138. Reesink HW, Mohammadi T, Pietersz RN, Savelkoul PH: Rapid screening by real-time 16S rDNA PCR for bacterial contamination of blood products. *Clin Chem Lab Med* 2008; 46:954–96
139. Dreier J, Stormer M, Kleesiek K: Real-time polymerase chain reaction in transfusion medicine: applications for detection of bacterial contamination in blood products. *Transfus Med Rev* 2007; 21:237–254
140. Rood IG, Pettersson A, Savelkoul PH, de Korte D: Development of a reverse transcription-polymerase chain reaction assay for eubacterial RNA detection in platelet concentrates. *Transfusion* 2010;50(6):1352-8
141. Trampuz A, Salzmann S, Antheaume J, Daniels AU. Microcalorimetry: a novel method for detection of microbial contamination in platelet products. *Transfusion* 2007;47:1643–50.
142. Rotman B, Cote MA. Application of a real-time biosensor to detect bacteria in platelet concentrates. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;300:197–200.
143. Rieder R, Zavizion B. Monitoring the physiologic stress response: a novel biophysical approach for the rapid detection of bacteria in platelet concentrate. *Transfusion* 2008;48:2596–605.
144. Saranwong S, Ezuki S, Kawabata K et al.: A noninvasive near infrared system for detection of platelet components contaminated with bacteria. *Transfusion* 2010; 50(1):178–184
145. Allain JP, Bianco C, Blajchman MA, et al. Protecting the blood supply from emergency pathogens: the role of pathogen inactivation. *Transfusion Med Rev* 2005;19:110–26.
146. Lin L, Dikeman R, Molini B, et al. Photochemical treatment of platelet concentrate with amotosalen and UVA inactivates a broad spectrum of pathogenic bacteria. *Transfusion* 2004;44:1496–504.
147. Corash L. Pathogen reduction technology: methods, status of clinical trials, and future prospects. *Curr Hematol Rep* 2003;2:495-502.
148. Castro E, Bueno JL, Barea L, Gonzalez R. Feasibility of implementing an automated culture system for bacteria screening in platelets in the blood bank routine. *Transfus Med* 2005;15:185-95.
149. Goldman MR. Should we attempt to detect bacteria in red blood cells? *Transfusion* 2008;48:1538-40.
150. Vamvakas EC, Blajchman MA. Transfusion-related mortality: the ongoing risks of allogeneic blood transfusion and the available strategies for their prevention. *Blood* 2009;113:3406-17.
151. AuBuchon JP. Pathogen reduction technologies: what are the concerns? *Vox Sang* 2004;87 Suppl 2:84-9.
152. Klein HG, Anderson D, Bernardi MJ, Cable R, Carey W, Hoch JS, Robitaille N, Sivilotti ML, Smaill F. Pathogen inactivation: making decisions about new technologies— preliminary report of a consensus conference. *Vox Sang* 2007;93:179-82.

153. Solheim BG. Pathogen reduction of blood components. *Transfus Apher Sci* 2008;39:75-82.
154. Solheim BG, Seghatchian J. The six questions of pathogen reduction technology: an overview of current opinions. *Transfus Apher Sci* 2008;39:51-7
155. Nussbaumer W, Allersdorfer D, Grabmer C, et al: Prevention of transfusion of platelet components contaminated with low levels of bacteria: a comparison of bacteria culture and pathogen inactivation methods. *Transfusion* 2007; 47:1125-1133
156. van Rhenen D, Gulliksson H, Cazenave JP, et al: euroSPRITE trial. Transfusion of pooled buffy coat platelet components prepared with photochemical pathogen inactivation treatment: the euroSPRITE trial. *Blood* 2003;101:2426-2433
157. Snyder E, McCullough J, Slichter SJ, et al. SPRINT Study Group : Clinical safety of platelets photochemically treated with amotosalen HCl and ultraviolet A light for pathogen inactivation the SPRINT trial. *Transfusion* 2005;45:1864-1875
158. Osselaer JC, Doyen C, Defoin L, et al: Universal adoption of pathogen inactivation of platelet components: impact on platelet and red blood cell component use. *Transfusion* 2009; 49:1412-1422
159. Klein HG: Pathogen inactivation: an American view. *ISBT Science Series* 2008; 3:39-44
160. Cazenave JP, Isola H, Waller C, et al. Use of additive solutions and pathogen inactivation treatment of platelet components in a regional blood center: impact on patient outcomes and component utilization during a 3-year period. *Transfusion* 2011;51:622-9.
161. Lozano M, Knutsen F, Tardivel R, et al. A multi-centre study of therapeutic efficacy and safety of platelet components treated with amotosalen and ultraviolet A pathogen inactivation stored for 6 or 7 d prior to transfusion. *Br J Haematol* 2011;153:393-401.





# Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD) y su variante (vCJD)

CELSO BIANCO\*

CJD es una enfermedad degenerativa fatal del sistema nervioso central, de desarrollo rápido. Se caracteriza por demencia, mioclonia multifocal y descargas periódicas trifásicas en el electroencefalograma. Aproximadamente el 10% de los casos se manifiestan como ataxia. La mayoría de los individuos afectados se mueren dentro del siguiente año al inicio de síntomas.<sup>1,2</sup> El CJD clásico se describió primero en 1920-1921. Más del 85% de los casos son esporádicos y aparecen en individuos sin historia familiar. Aproximadamente un 10% de los casos son familiares y casi 80% son iatrogénicos. Las enfermedades priónicas se clasifican como TSE (Transmissible Spongiform Encephalopathies o Encefa-

\* *Especialista en Medicina Transfusional y Banco de Sangre. Consultor Privado. Bethesda Maryland; Estados Unidos de América.*

lopatías Espongiformes Transmisibles). Las TSE incluyen el CJD clásico o esporádico y otras demencias en humanos y en animales, incluso la enfermedad de Gerstmann-Sträussler-Scheiker, insomnio familiar fatal, kuru, scrapie de ovejas y cabras, y la encefalopatía espongiforme bovina (BSE). La transmisión de este tipo de enfermedad fue inicialmente reconocida por la epidemia de kuru entre los pueblos Fores que viven en regiones montañosas de Nueva Guinea. La transmisión se relacionó con el canibalismo ritual y virtualmente desapareció cuando la práctica fue abandonada.

En 1985 la CJD se identificó entre siete de 6284 receptores de hormona de crecimiento derivada de glándula pituitaria humana.<sup>3</sup> Al considerar la posibilidad teórica de transmisión por transfusión, la FDA recomendó como medida de precaución que aquellos individuos que recibieron hormona de crecimiento derivada de glándula pituitaria humana sean excluidos como donantes de sangre (25 de noviembre de 1987); este problema también fue muy serio en Europa. En noviembre de 1994 había once casos en el U.S. catorce en el Reino Unido y treinta y dos en Francia. La transmisión iatrogénica de CJD fue documentada entre algunos receptores de duramadre humana<sup>4</sup> y en casos donde se usaron electrodos de electroencefalograma sin la esterilización apropiada.<sup>1</sup> El periodo de incubación para la manifestación de la enfermedad ha variado de uno a más de veinte años.

La incidencia de CJD ha sido estudiada por Schonberger y col., del Centers for Disease Control and Prevention de los EE.UU. (CDC, [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)) y es estimada en 1:1,000,000 en U.S. La in-

cidencia es cero individuos entre 5-19 años, y alcanza 6:1,000,000 entre los mayores de sesenta años de edad. La incidencia ha permanecido constante durante años, y es la misma en todos los estados americanos. No hay registro oficial de transmisión de CJD clásico por contacto sexual o social.<sup>1</sup>

El agente causante de CJD fue polémico por muchos años, inicialmente, se pensaba que provenía de un virus de manifestación lenta (según Gajdusek). Más recientemente, estudios de la transmisión del scrapie en ovejas indicaron que el material infeccioso estaba desprovisto de cantidades mensurables de ácido nucleico. La evidencia a favor de una proteína infecciosa, el prion, se presentó cuidadosamente en una revisión en 1995<sup>1</sup> y gradualmente fue adoptada con base en la evidencia científica. Esencialmente, el prion es una proteína normal de la membrana plasmática de células nerviosas (proteína relacionada con el prion o PrP<sup>C</sup>). Esta proteína puede asumir una conformación espacial alterada, termodinámicamente compacta llamada PrP<sup>SC</sup> (la encontrada en scrapie). La proteína anormal puede inducir el cambio de conformación de la PrP normal y es, por consiguiente, "infecciosa". Este cambio puede requerir co-factores. PrP<sup>SC</sup>, la forma alterada, es muy resistente a las proteasas, forma multímeros y precipita como una sustancia amiloidea en el cerebro de los animales afectados. Se han atribuido las alteraciones del cerebro de pacientes de CJD al depósito amiloideo de PrP<sup>Sc</sup>.<sup>2</sup>

Pocos autores todavía favorecen una etiología viral para el CJD, o creen que el co-factor para las alteraciones de PrP es un virus.<sup>5</sup> Sin embargo, la mayoría de investigadores en el área acepta la etiología

del prion para CJD. Stanley Prusiner, el creador de esta teoría, recibió el premio Nobel de Medicina en 1997.<sup>6</sup>

## CJD, vCJD y la Encefalopatía bovina espongiforme (BSE)

La enfermedad de las vacas locas o encefalopatía espongiforme bovina, es una enfermedad fatal del ganado. Se la identificó primero en Inglaterra, en 1986; es contagiosa y su transmisión ha sido asociada con la práctica de alimentar al ganado con desperdicios de oveja y de vaca. Un grupo de casos de CJD entre los individuos jóvenes con un cuadro neuropatológico típico, se identificó en 1996 y se llamó variante CJD o vCJD.<sup>7</sup> Las características moleculares de priones asociadas con la variante son relacionadas con BSE y vCJD, lo que generó una preocupación pública tan intensa en el Reino Unido y en el resto del mundo, que llevó a la Comunidad Europea a prohibir la importación de carne británica hasta que las medidas diseñadas para controlar la BSE fueran

implementadas. El número total de vCJD definido y probable en Inglaterra en enero de 1998 era de veintitrés.

La comparación del cuadro clínico de la vCJD con la CJD clásica muestra que la variante ataca jóvenes, en tanto que la CJD clásica es una enfermedad de individuos de edad más avanzada. Los síntomas psiquiátricos aparecen más temprano y la duración de la enfermedad es más corta. La patología revela una acumulación anormal de proteínas priónicas en tejidos linfáticos.

Casos humanos empezaron a ser reconocidos en 1985 en el Reino Unido. La Figura 1 muestra el número de muertes por vCJD por año en el Reino Unido y la Tabla 1 el número total de casos reconocidos en todo el mundo, desde 1985 hasta noviembre de 2011.

El Reino Unido tiene una central de información muy completa, The National Creutzfeldt-Jakob Disease Research & Surveillance Unit (NCJDRSU), que puede consultarse a través de la internet<sup>8</sup> <http://www.cjd.ed.ac.uk/index.htm>.

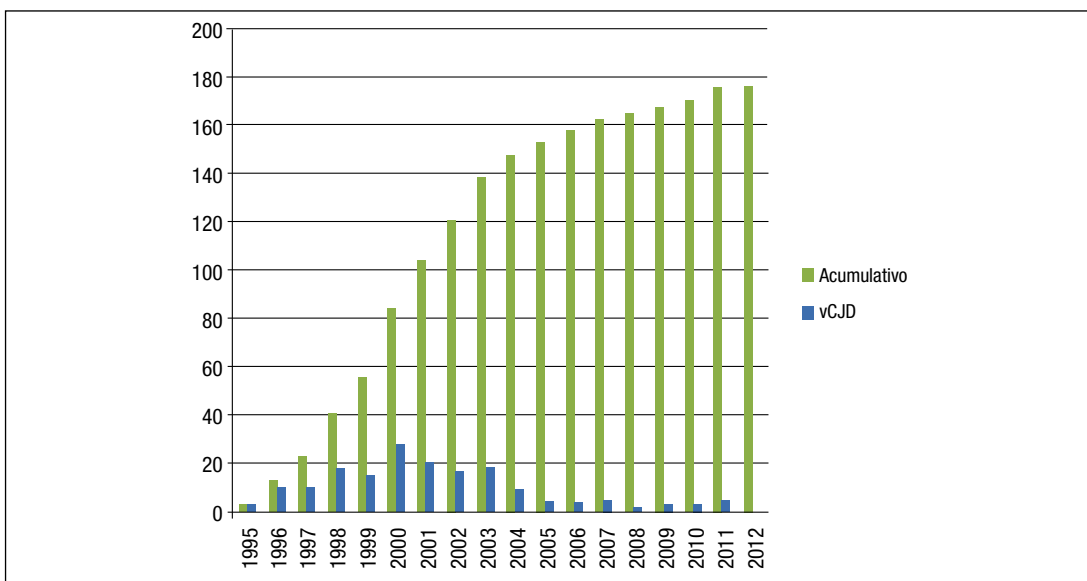


Figura 1. Muertes por vCJD en el Reino Unido, 1995-marzo 2012

**Tabla 1.** La vCJD en el mundo (noviembre 2011)

País	Número total de casos primarios
	(número de vivos)
Reino Unido	173 (0)
Francia	25 (0)
República de Irlanda	4 (0)
Italia	2 (0)
EE.UU.	3† (0)
Canadá	2 (1)
Arabia Saudita	1 (0)
Japón	1* (0)
Holanda	3 (0)
Portugal	2 (0)
España	5 (0)
Taiwán	1 (0)

<http://www.cjd.ed.ac.uk/vcjdworld.htm>

## vCJD, transfusión de plasma y derivados plasmáticos

El 18 de octubre de 1994, la Cruz Roja Americana (CRA) informó a la FDA que un donante de sangre de 64 años, que había donado más de noventa veces en un período de más de treinta años habría fallecido con un diagnóstico clínico de CJD. El plasma de sus donaciones se mezcló para la fabricación de derivados del plasma. El 27 de octubre de 1994 la CRA retiró voluntariamente del mercado los componentes de las últimas cuatro donaciones hechas por el donante. El 17 de noviembre de 1994, Baxter y CRA retiraron del mercado IVIg, Factor VIII, Albúmina, y Proteína de Plasma. Pronto, Miles retiró alfa-1 inhibidor de proteína y Sandoz retiró IVIg que contenían donaciones hechas por este donante. En noviembre de 1994, los médicos responsables por el tratamiento de los hemofílicos en Nueva York comenzaron a notificar pacientes que habían recibido

productos que contenían plasma de un donante que después desarrolló CJD.

Las preocupaciones iniciales sobre la posibilidad de transmisión de CJD por transfusión fueron derivadas de unas publicaciones de Manuelidis et ál., en 1985.<sup>9</sup> Estos investigadores inocularon leucocitos de la sangre periférica de dos pacientes con CJD en cerebros de roedores. Después de 200-500 días, estos animales mostraron degeneración esponjiforme, mientras los experimentos de control “nunca produjeron CJD”. En una publicación de 1993 estos investigadores injertaron leucocitos de voluntarios normales sin historia familiar de demencia en los cerebros de marmotas.<sup>10</sup> Luego de un periodo largo de observación, 26/30 preparaciones leucocitarias (86.7%) indujeron lesiones esponjiformes en los cerebros de los animales. Los investigadores concluyeron que el agente de CJD “endémicamente infecta a los humanos pero sólo infrecuentemente produce demencia”. Esta interpretación

fue muy polémica, porque estos experimentos constituyen el control lógico para los realizados anteriormente; además, estos no podrían reproducirse en roedores o en primates.

En diciembre de 1994, el problema de CJD y su transfusión fue repasado por el Comité Asesor de los productos de sangre de la Food and Drug Administration de los EE.UU (FDA). Después de mucha discusión, el Comité recomendó que los productos de individuos que después desarrollaran CJD debían ser retirados del mercado. En el caso que estos productos se transfundieran, el Comité recomendó que debía notificarse a médicos y pacientes. En el caso del plasma mezclado para la fabricación, el Comité no recomendó la notificación a los usuarios de los productos fabricados, debido a la falta de evidencia para la transmisión. La comunidad hemofílica quedó realmente descontenta con esta recomendación. El Comisario de la FDA decidió reemplazar el Comité Asesor y se creó un nuevo Comité Asesor Especial el 22 de junio de 1995. Se consideró que debían retirarse del mercado todos los productos del plasma que contuvieran plasma de individuos que murieron posteriormente de CJD, incluso la albúmina, a pesar de la falta de evidencia sobre la transmisión de CJD por estos productos. La FDA emitió un memorándum dirigido a los establecimientos proveedores de sangre, en agosto de 1995, sugiriendo la cuarentena de estos productos. Otro memorándum señaló que individuos con una historia familiar de CJD (“pariente sanguíneo”) que hubieran recibido trasplantes de duramadre debían ser excluidos de donar sangre o plasma.

## nvCJD, linfocitos B y transfusión sanguínea

El reconocimiento del isoformas de la proteína del prion (PrP<sup>C</sup>) durante la maduración del leucocito humano por citometría de flujo con anticuerpos monoclonales generó más preocupación entre aquellos pacientes que reciben sangre y productos de la sangre. La proteína del prion está presente en células CD34(+) en la médula ósea.<sup>11</sup> Basados en esta observación, los investigadores concluyeron que células de la médula, que incluyen células primitivas CD34(+), posiblemente contienen el agente del prion, a pesar de que las pautas actuales, no reconocen la médula ósea como tejido de alto riesgo y que es posible que los leucocitos periféricos podrían participar en la enfermedad de scrapie. Algunos datos de interés indican que los monocitos y los macrófagos son claves para la propagación del scrapie.<sup>12</sup>

Aunque estas observaciones fueran hechas en un modelo animal de scrapie, algunos investigadores recomendaron que todos los productos celulares sean filtrados antes de la transfusión para eliminar los leucocitos. Este procedimiento fue adoptado para transfusiones de componentes celulares en Canadá y Europa, en 1998. Los EE.UU. no adoptaron esta recomendación.

El Reino Unido apoyó muchas medidas para la prevención de la transmisión de vCJD. Por ejemplo, suspendió la manufactura de productos de plasma a partir de plasma colectado de donantes locales. Toda manufactura fue basada en plasma importado de países sin BSE; las transfusiones de plasma para jóve-

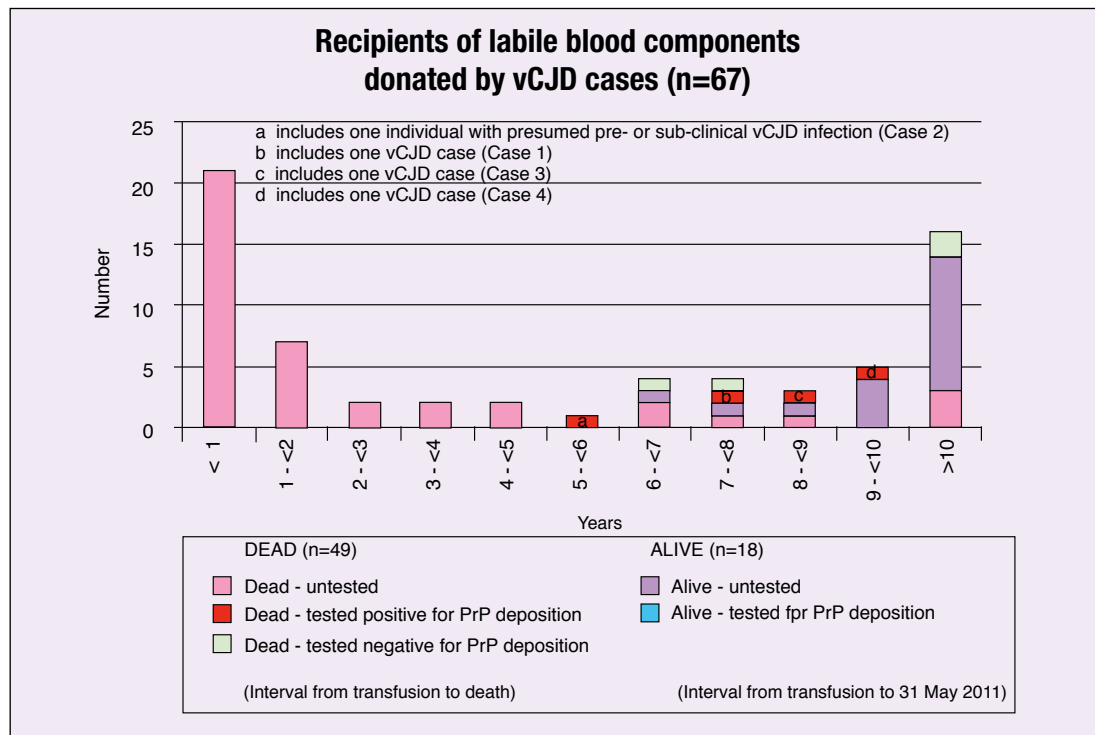
nes menores de dieciséis años también utilizan plasma importado.

## Evidencia para la transmisión de vCJD por la sangre e sus componentes.<sup>11</sup>

Finalmente dos eventos críticos documentaron la transmisión de vCJD por transfusión de componentes de sangre.<sup>12</sup> El primero fueron los estudios de Houston et ál.<sup>13, 14</sup> Estos investigadores

desarrollaron un modelo experimental de transmisión de priones en ovejas; para ello alimentaron animales con tejidos de ganado infectados con BSE y tejido de ovejas infectadas con scrapie y detectaron la enfermedad en receptores de grandes volúmenes de sangre de los animales infectados.

El otro fueron los estudios de pacientes que recibieran transfusiones de donantes que después desarrollaron vCJD en el Reino Unido. La Figura 2 presenta un sumario de estas investigaciones.



<http://www.cjd.ed.ac.uk/TMER/fate.htm>

**Figura 2.** Receptores de componentes sanguíneos lábiles donados por casos de vCJD.

Treinta y uno de los casos de vCJD detectados en el Reino Unido fueron donantes de sangre. Componentes de dieciocho de estos individuos fueron enviados a hospitales. Los investigadores establecieron que de sesenta y siete

componentes transfundidos para receptores específicos; cuarenta y nueve están muertos y dieciocho vivos.

Fueron identificados cuatro casos de transmisión probable por transfusión. El caso 1 desarrolló síntomas de vCJD seis

y medio años después de recibir una transfusión de glóbulos rojos donadas por un individuo que presentó síntomas de vCJD tres años y seis meses antes de la donación (donador 1). El caso 2 falleció de una enfermedad no neurológica cinco años después de recibir sangre del donante 2, que subsecuentemente desarrolló vCJD. El diagnóstico en el caso 1 fue confirmado por la detección de proteína prion resistente a proteasa (PrP<sup>res</sup>) en el bazo, pero no en el cerebro. Esta fue la primera vez que se identificó un caso de vCJD sub-clínico por autopsia en el Reino Unido. El caso 3 desarrolló síntomas de vCJD siete años y diez meses después de una transfusión de glóbulos rojos donados por un individuo que desarrolló vCJD veintiún meses después de la donación (donante 3). El caso 4 recibió glóbulos rojos del mismo donante del caso 3 y desarrolló síntomas de vCJD ocho años y cuatro meses después de la transfusión. El donante 3 presentó síntomas de vCJD diecisiete meses luego de la donación para el Caso 4. Estas observaciones confirman sin duda la transmisibilidad de vCJD por transfusión.<sup>14</sup>

### **Políticas para prevención de la transmisión de vCJD por donantes en los EE.UU.**

Estas políticas, implementadas en 2002, llevaron al rechazo de un gran número de donantes; ellas están contenidas en un documento disponible en internet de la FDA.<sup>16</sup>

Esencialmente no pueden donar sangre o plasma para manufactura de derivados los candidatos que estaban en riesgo de CJD (recibieron trasplante

de duramadre, hormona de pituitaria derivada de cadáveres humanos o tienen un pariente con CJD, a menos que se eliminara la posibilidad de CJD familiar). Tampoco pueden donar los individuos que vivieron tres meses o más en el Reino Unido, entre 1980 y 1996 (cuando los controles de alimentación del ganado estaban firmemente implementados), o recibieron una transfusión de sangre en el Reino Unido o en Francia, o se inyectaron con insulina bovina preparada desde 1980, o vivieron cinco años o más en Francia o en bases militares norteamericanas en Europa, entre 1980 y 1996 (con variaciones).

Pueden donar plasma para manufactura, mas no pueden donar componentes de sangre para transfusión los que vivieron cinco años o más en Europa desde 1980.

Varias publicaciones sobre vCJD y sangre explican la evolución de los conceptos y comprensión de los riesgos.<sup>17-20</sup>

### **Medidas que podrían reducir el impacto de vCJD.**

Hay mucho interés tanto en el Reino Unido como en otros países acerca de los procedimientos que podrían disminuir el riesgo de transmisión de vCJD por transfusión. Varios ensayos fueron desarrollados para la detección de priones anormales en animales y humanos con fines de vigilancia y diagnósticos.<sup>19</sup> Existe también interés en el desarrollo de ensayos para la calificación de donantes de sangre. Desafortunadamente, ninguno de los ensayos disponibles en el momento mostró la sensibilidad y la especificidad requeridas para este fin, incluso hay ensayos utilizados para

vigilancia en animales que son aplicados en humanos. Se necesita conocer las dificultades para el desarrollo de estos ensayos porque la cantidad de materiales de referencia en humanos es extremadamente limitada dado el pequeño número de casos y además existen cuestiones éticas muy serias sobre la aplicación de un ensayo para vCJD en una población extensa –los donantes– sin que se entienda el valor predictivo del ensayo.

Hay también en desarrollo filtros capaces de remover priones de productos sanguíneos; algunos de ellos reducen los glóbulos blancos y los priones, en tanto que otros reducen principalmente los priones. El Reino Unido e Irlanda consideraron la implementación de estos filtros. Una publicación muy reciente con base en Irlanda indica que la filtración de priones no es una medida costo-efectiva.<sup>20</sup>

## Conclusión

La enfermedad de las vacas locas tuvo un impacto muy importante en la medicina de transfusión, debido particularmente a la preocupación de la población de hemofílicos y de otros pacientes que reciben grandes cantidades de productos y componentes derivados de sangre. El temor de un nuevo SIDA fue la fuerza que fomentó las investigaciones científicas que culminaron con la identificación de la causa de BSE, en la prevención con los consecuentes cambios en la alimentación y el control del ganado, y en el cuidado de la transmisión en humanos, particularmente por transfusión. En verdad, la prevención fue básica porque limitó el número de

casos humanos para un total de 220 al momento. Esta es la menor epidemia registrada en la historia médica, porque todos hicieron el máximo esfuerzo posible para controlar la epidemia. La preocupación que existe hoy es cuándo podremos disminuir el interés en vCJD y empezar a investigar en otros grandes problemas en la medicina de transfusión que no recibieron la misma atención ni los recursos requeridos.

## Referencias

1. DeArmond S.J. and Prusiner S.B. Etiology and Pathogenesis of prion diseases. *Am J Path* 1995; 146:785-811
2. Gajdusek D.C. Nucleation of amyloidogenesis in infectious and non-infectious amyloidoses of the brain. *Ann NY Acad Sci*, 724:173-190, 1994
3. Fradkin J.E., Schonberger L.B., Mills J.L. et ál. Creutzfeldt-Jakob Disease in pituitary growth hormone recipients in the United States. *JAMA*, 1991;265:880-884.
4. Martinez-Lage JF, Poza M. and Tortosa J.D. Creutzfeldt-Jakob disease in patients who received a cadaveric dura mater graft - Spain, 1985-1992. *MMWR - Morbidity & Mortality Weekly Report* 1993;42:560-563.
5. Manuelidis L. The dimensions of Creutzfeldt-Jakob disease. *Transfusion* 34:915, 1994
6. Prusiner SB. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science*.1982;216:136-144.
7. Will RG, JW, Zeidler M, Ironside et ál. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 1996: 347:921-5
8. The National Creutzfeldt-Jakob Disease Research & Surveillance Unit (NCJDRSU) que puede ser accesada a través de la internet <http://www.cjd.ed.ac.uk/index.htm>.
9. Manuelidis EE., Kim JH, Mericangas JR, Manuelidis L. Transmission to animals of Creutzfeldt-Jakob disease from human blood. *Lancet* 1985; ii:896.



10. Manuelidis EE., Manuelidis L. A transmissible Creutzfeldt-Jakob disease-like agent is prevalent in the human population. *Proc Nat Acad Sci* 90:7724-8, 1993
11. Esmonde TFG, Will RG, Slattery, JM et ál. Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion. *Lancet* 1993; 341:205,
12. Dodelet VC, Cashman NR. Prion protein expression in human leukocyte differentiation *Blood* 1998; 91(5):1556-1561.
13. Houston F, Foster JD, Chong A, Hunter N, Bostock CJ. Transmission of BSE by blood transfusion in sheep. *Lancet* 2000; 356: 999-1000
14. Hunter N, Foster J, Chong A, McCutcheon S, Parham D, Eaton S et ál. Transmission of prion diseases by blood transfusion. *J Gen Virol* 2002; 83:2897-2905.
15. Transfusion Medicine Epidemiological Review. Disponible en <http://www.cjd.ed.ac.uk/TMER/TMER.htm>. Acesado 330 de marzo de 2012. *Vox Sanguinis* 2012; 102: 100-109
16. FDA Guidance for Industry: Revised Preventive Measures to Reduce the Possible Risk of CJD and vCJD by Blood and Blood Products. Disponible a <http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM213415.pdf>. Acesado en el 30 de marzo de 2012.
17. Hewitt PE, Llewelyn CA, Mackenzie J, Will RG. Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion: results of the UK Transfusion Medicine Epidemiology Review study. *Vox Sanguinis* 2006; 91: 221-230.
18. Wroe SJ, Pal S, Siddique D, Hyare H, et al Clinical presentation and premortem diagnosis of variant Creutzfeldt - Jakob disease Associated with blood transfusion: a case report. *Lancet* 2006; 368:2061-7.
19. Cooper JK, Ladhani K and Minor P. Comparison of candidate vCJD in vitro diagnostic assays using identical sample sets. *Vox Sanguinis*. Published online 29 November 2011, DOI: 10.1111/j.1423-0410.2011.01525
20. Teljeur C, Flattery M, Harrington P, O'Neill M, Moran P, Murphy L and Ryan M. Cost-effectiveness of prion filtration of red blood cells to reduce the risk of transfusion transmitted variant Creutzfeldt-Jakob disease in the Republic of Ireland. *Transfusion*. 2012; publicado en la internet en marzo de 2012.



# Inactivación de patógenos

LUIS R. LARREA GONZÁLEZ\*

ROBERTO J. ROIG OLTRA\*\*

## Introducción, justificación y algo de historia

El riesgo de transmisión infecciosa por transfusión se ha reducido con la introducción de procedimientos más estrictos de selección de donantes, y con la implantación de pruebas de escrutinio para patógenos conocidos, susceptibles de ser transmitidos a través de la sangre y de sus componentes,<sup>1</sup> aún así persiste la amenaza, para el suministro de sangre, de los patógenos nuevos o reemergentes.<sup>2</sup> El riesgo residual de transmisión viral tras la aplicación de tecnologías de detección de ácidos nucleicos (AN), se cifra en menos de un caso por cada dos millones de unidades

\* *Doctor en Medicina y Cirugía. Médico Especialista en Hematología y Hemoterapia. Jefe del Servicio de Fraccionamiento y Criopreservación. Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana. Valencia, España.*

\*\* *Doctor en Medicina y Cirugía. Médico Especialista en Hematología y Hemoterapia. Máster Internacional de Alta Dirección Hospitalaria. Máster Universitario en Auditoría, Acreditación y Evaluación de las organizaciones y prácticas sanitarias. Director de la Cátedra Terumo de Medicina Transfusional y Terapia Celular de la Facultad de Medicina de la Universidad Católica de Valencia. Director del Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana. Valencia, España.*

para el VIH; menos de uno por 1,5 millones para el VHC, menos de uno por 200.000 para el VHB, y menos de uno por 2-3 millones para el HTLV I/II. El riesgo de contaminación bacteriana de componentes sanguíneos (CS) es mayor, alrededor de 1/2500 para concentrados de plaquetas (CP) obtenidos de sangre total (ST) y 1/5000 para las plaquetas de aféresis,<sup>3</sup> con un episodio séptico por cada 50.000 CP y uno por cada 500.000 concentrados de hematíes (CH) transfundidos.<sup>4</sup>

Sin embargo, como todos sabemos, la transfusión no está exenta de riesgos. Las muertes e infecciones relacionadas con la transfusión continúan siendo comunicadas y, además, actualmente las donaciones no son objeto de escrutinio en busca de ciertos agentes patógenos potencialmente peligrosos. El actual enfoque reactivo para la seguridad sanguínea, es decir, la adición de nuevos criterios de exclusión de donantes y/o pruebas de laboratorio tras el descubrimiento de cada nueva amenaza, se acerca al límite de lo factible.<sup>5</sup> Además, la aparición de nuevos agentes tales como el Virus del Nilo Occidental (VNO), demuestra que las potenciales amenazas para el suministro de sangre continúan presentes en todo el mundo. Este hecho nos recuerda que, algunas veces, los agentes patógenos pueden ser capaces de adelantarse a nuestra capacidad de detectarlos mediante pruebas de laboratorio.<sup>6</sup>

Idealmente las técnicas de inactivación de patógenos, o también conocidas como técnicas de reducción de patógenos (RP), proporcionarían una seguridad adicional. Estos tratamientos son selectivos para los potenciales

patógenos porque actúan sobre los AN, ausentes en las plaquetas y los hematíes (células anucleadas y que por lo tanto carecen de AN).

La intención de la tecnología de RP tiene el fin de inactivar agentes patógenos (virus, bacterias y protozoos) para evitar los efectos adversos derivados de ellos, sin inducir neoantígenos ni reducir la función o vida media de un producto y sin que permanezca cualquier agente tóxico residual.<sup>7</sup>

En cuanto a la terminología, se emplean indistintamente inactivación y RP, aunque algunos profesionales nos inclinamos por la reducción, ya que la tecnología actual no garantiza una total esterilidad del componente final.

El empleo de la RP en ST está investigándose, aunque, en la actualidad, se emplea sobre cada componente individual. Dichas técnicas ya se aplican en el plasma desde hace años y más recientemente en las plaquetas, mientras que para los CH se hallan en fase avanzada de investigación.

Desde mediados de los años cuarenta se practica la inactivación viral de los productos plasmáticos. Posteriormente, los métodos dependientes de temperatura fueron sustituidos por el solvente detergente (SD) y el tratamiento con beta propiolactón y nanofiltración.<sup>8</sup> La inactivación viral mediante SD obtuvo licencia para su utilización para los concentrados de factores de coagulación en 1985.<sup>9</sup>

## Métodos actuales

La capacidad de supervivencia de los patógenos y de los leucocitos depende de los AN, mientras que la capacidad

terapéutica de plaquetas, hematíes y de las proteínas plasmáticas no. Los métodos que tienen como diana el ADN o el ARN inhiben la supervivencia y la infectividad de células dependientes de AN, mediante la interrupción irreversible de la replicación, transcripción y biosíntesis de proteínas.<sup>8</sup>

La mayoría de los mecanismos inactivadores de patógenos para CS se basan en procesos fotoinactivadores a través de los llamados fotosensibilizadores (moléculas orgánicas con propiedades de absorción de luz). La radiación con luz (ultravioleta o visible) activa los sensibilizadores y la reacción con moléculas celulares. El mecanismo de acción puede ser fotodinámico o fotoquímico. En el mecanismo fotodinámico [riboflavina, fenotiacinas (tionina y azul de metileno) y cianina], los radicales libres de oxígeno fotosensibilizadores dañan las membranas de las bacterias, las cápsidas virales o los AN (reacción tipo II) o reaccionan directamente con el sustrato, gracias a su alto potencial de óxido-reducción, lo que da como resultado la formación de radicales libres (reacción de tipo I). El mecanismo fotoquímico (amotosaleno), a diferencia del anterior, se basa en la formación de enlaces covalentes entre bases de AN y fotosensibilizadores activados. También hay moléculas que forman enlaces covalentes con AN, sin necesidad de procesos externos de activación (S-303).<sup>8</sup>

Los métodos de RP deberían eliminar o inactivar patógenos, incluyendo patógenos emergentes, sin dañar la función o la longevidad del CS. Además cualquier sustancia química utilizada así como sus catabolitos tienen que

demostrar estar carentes de toxicidad o inmunogenicidad. Cualquier riesgo del CS manipulado tiene que ser menos que el riesgo de la enfermedad adquirida del producto sin manipular. El agente RP ideal todavía no existe.<sup>9</sup>

Idealmente, un colorante fotoquímico necesita atravesar membranas (tanto de patógenos como membranas plasmáticas) para inactivar agentes tanto intra como extracelulares. Segundo, ya que se adhieren predominantemente a los AN deberían no dañar los glóbulos rojos. Tercero, dado que la hemoglobina absorbe luz a longitudes de onda inferiores a 600 nm, el fotocompuesto ideal debería absorber luz a otras longitudes de onda. Por último, el colorante sin unir no debería dañar excesivamente el hematíe. El compuesto necesita ser activo sólo en presencia de luz y de ser inactivo mientras que los CS estén almacenados.<sup>9</sup>

En la Tabla 1 podemos ver un resumen de los métodos que en la actualidad se están utilizando y los que han sido abandonados o están en desarrollo.

#### a) Tratamiento con azul de metileno (AM)

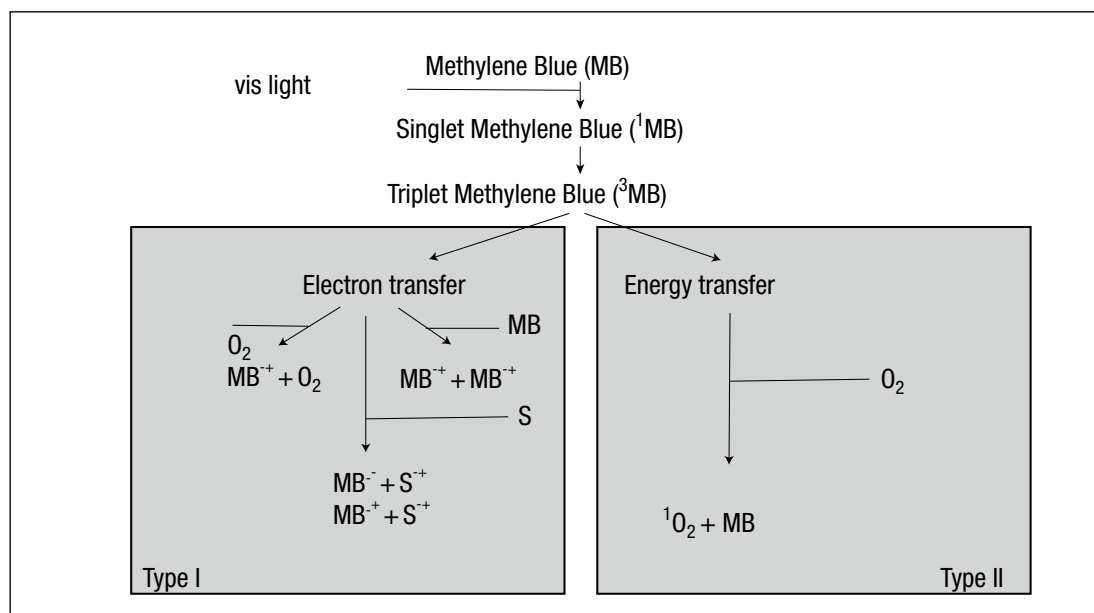
El AM es un colorante fenotiacínico cargado positivamente, con una gran afinidad por los compuestos cargados negativamente. El AM tras la activación con luz visible, a través de una reacción fotodinámica, genera especies de oxígeno reactivas que afectan especialmente a la guanina y son responsables del daño del AN.<sup>7</sup> El AM tiene un pico de absorción entre 620-670 nm, con este espectro se produce una reacción (ver Figura 1) tipo I (redox) o tipo II

**Tabla 1.** Estatus actual de la tecnología de RP.<sup>10</sup>

Producto	Compañía	Compuesto/filtro	Ensayo clínico/ status regulador
CH	Cerus	S303	Rediseño Fase II
	Caridian	Riboflavina+UV	Fase III
	Vitex	Inactina	Abandonado
Filtro de priones para CHs	MacoPharma	P-Capt	Marcado CE Sept 2006
	Pall	Leukotrap Affinity Plus	Marcado CE Febrero 2010
Plaquetas	Cerus	Amotosaleno+UV	Marcado CE 2002
	CaridianBCT	Riboflavina+UV	Marcado CE Octubre 2007
	MacoPharma	Luz UV	Fase III
Plasma	Cerus	Amotosaleno+UV	Marcado CE Nov 2006
	CaridianBCT	Riboflavina+UV	Marcado CE Agosto 2008
	MacoPharma	AM + luz	Marcado CE 2001 (en Alemania licencia 2007)
	Octapharma	S/D	Con Licencia (RU 1998), en pools
	VIPS; Colombier, Suiza	S/D	Marcado CE Sept 2009 (donante único/minipools)

(fotodinámica o fotooxidativa).<sup>9</sup> También reacciona con las proteínas y lipoproteínas de las membranas celulares, pero, debido a su fuerte hidrofilia, penetra difícilmente en la célula<sup>8</sup> y/o no inactiva

virus intracelulares. Tampoco reduce la incidencia de enfermedad de injerto contra huésped asociada a transfusión (EICH-AT).<sup>9</sup>



**Figura 1.** Mecanismo fotodinámico del AM, en el plasma el principal es el tipo II.<sup>11</sup>

El tratamiento con AM es efectivo contra algunos virus no encapsulados (parvovirus B19)<sup>12</sup> y contra virus encapsulados, no es activo frente a patógenos intracelulares (intraleucocitarios).<sup>7</sup> Un resumen de la actividad viral se muestra en la Tabla 2.

El AM reduce más de seis logaritmos de VIH y del VSV y más de cinco logaritmos del VNO (virus no encapsulado), tiene poca actividad contra bacterias y es más efectivo frente a bacterias gram+ que frente a gram-. También puede inactivar *Candida albicans* y *Tripanosoma brucei*<sup>9</sup> y se ha afirmado que este sistema

de reducción de patógenos podría prevenir la enfermedad de Chagas transfusional.<sup>13</sup> Las fenotiacinas pueden interactuar con la proteína priónica resistente a la degradación (PrP<sup>res</sup>)<sup>7</sup> pero, aunque se ha sugerido que el AM tiene una acción inhibitoria frente a las encefalopatías espongiiformes transmisibles, no hay pruebas in vitro de la inactivación de la infectividad a las concentraciones utilizadas en transfusión.<sup>31</sup>

Por su unión con las proteínas afecta los factores de coagulación plasmáticos e impide su utilización para inactivar los hematíes.<sup>7</sup>

**Tabla 2.** Reducción logarítmica viral con AM.<sup>11</sup>

Virus	Familia	Modelo de	Logs de reducción
Virus capsulados			
VIH-1	Retro	VIH	≥5,45
VNO	Flavi	VNO	≥5,78
BVDV	Flavi	VHC	≥5,44
PRV	Herpes	VHB,CMV	≥5,48
VHB pato	Hepadna	VHB	≥6
Influenza H3N2	Ortomixo	Influenza	≥4,40
CMV	Herpes	CMV	≥4,08
IBV	Corona	SARS	≥4,90
Cólera	Flavi	VHC	≥5,92
Herpes simple	Herpes	Herpes	≥5,50
Herpes bovino	Herpes	Herpes	≥8,11

## b) Tratamiento con psoralenos

Las furocumarinas, dentro de las cuales se incluyen los psoralenos son fotosensibilizadores aislados de plantas (apio, perejil). Son utilizados desde 1550 a.C. en el antiguo Egipto y la India, para el tratamiento de lesiones cutáneas.<sup>9</sup> El amotosaleno, también conocido como S-59, es un psoraleno sintético; con la adición de las cadenas laterales el compuesto se convierte en hidrosoluble, lo que incrementa su afinidad por los AN.<sup>9</sup>

El amotosaleno es capaz de atravesar las membranas celulares y actúa sobre la región helicoidal de la doble hélice o de la cadena simple de ADN o ARN, intercalándose instantáneamente tras su adición.<sup>7</sup> El amotosaleno puede utilizarse para inactivar plasma o plaquetas tras su exposición a la luz UVA, con una longitud de onda de 320-400 nm. No puede emplearse con CH porque la hemoglobina absorbe la luz UVA.<sup>9</sup> El amotosaleno actúa a través de una reacción

química de tres pasos. 1º El compuesto químico se intercala entre las cadenas del ADN o ARN. 2º Tras la exposición a luz UVA (320-400 nm) el amotosaleno se une covalentemente a las bases pirimidínicas (timidina, citosina, uracilo) y forma un monoadducto o puente (en el lado furano de la molécula) lo cual origina que la hélice se desenrede ligeramente. 3º Al continuar la exposición a la luz se forma un doble puente, lo que da como resultado un entrecruzamiento estable entre hebras; el material genético queda inutilizado.<sup>4</sup> De esta manera, los patógenos y los leucocitos de los CS son inactivados.<sup>9</sup> Sin la iluminación, el amotosaleno presenta una unión reversible con las cadenas de AN, sin que se produzca ninguna reacción.

Una vez producida la reacción, las plaquetas o el plasma son incubados a temperatura ambiente con un dispositivo de adsorción (CAD, compound adsorption device).<sup>4</sup> El CAD está compuesto por carbón activado en una matriz de dietil benceno emplazada en un contenedor poroso. Esta fase de adsorción elimina el amotosaleno y sus fotoproductos.<sup>9</sup> Además de unirse a los AN, un 15% del S-59 permanece en plasma y unido a plaquetas, la mayoría asociado a lípidos aunque un 1-2% lo hace con proteínas. No se utiliza con hematíes ya que los glóbulos rojos absorben UVA.<sup>7</sup>

El tratamiento fotodinámico con psoralenos inactiva un amplio espectro de virus encapsulados, virus intra y extracelulares, bacterias, protozoos y leucocitos residuales, su efecto en virus

no encapsulados es más variable.<sup>7</sup> Para la mayoría de los virus, bacterias y protozoos tanto extra como intracelulares se consiguen unas reducciones de al menos cinco logaritmos. El proceso se ha mostrado eficaz para el VIH, virus de la hepatitis B en patos (DHBV), BVDV, *S. epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *T. cruzi*, *Treponema pallidum*, *Borrelia burgdorferi*, CMV latente y libre en ratones y muchos más agentes.<sup>9</sup> Determinadas condiciones, como el tiempo de incubación con psoraleno previo a la iluminación, tienen un impacto positivo en la eficacia de inactivación del parvovirus B19 y se consigue con ello una reducción hasta de 5,8 logaritmos.<sup>4</sup> En la Tabla 3 podemos ver un resumen del espectro de acción del amotosaleno.

Después del tratamiento con amotosaleno, los CS contienen trazas de psoraleno y fotoproductos libres y unidos a macromoléculas y a plaquetas menores del 1% de las concentraciones iniciales. Los estudios de toxicocinética en animales demuestran que el amotosaleno tiene una vida media corta y que no hay acumulación de dosis tras tres meses de tratamiento. No se evidenció toxicidad cardiaca, renal, de sistema nervioso central ni irritación venosa. Por otra parte, los estudios de genotoxicidad o de carcinogenicidad ponen de manifiesto la ausencia de dichos efectos, aun con dosis muy superiores a las del uso clínico. Tampoco se han desarrollado neoantígenos ni alteraciones de la membrana plaquetaria.<sup>4</sup>



**Tabla 3.** Inactivación de patógenos en CP tras amotosaleno y luz UVA<sup>14</sup>

Patógeno	Reducción en logaritmos
<b>Virus capsulados</b>	
VIH libre	>6,2
VIH asociado a células	>6,1
CMV	>5,9
VHB	>5,5
VHC	>4,5
VHB del pato	>6,2
Virus de la diarrea viral bovina	>6,0
HTLV I/II	>4,7/5,1
VNO	>6,0
<b>Virus no capsulados</b>	
Lengua azul	6,1-6,4
Parvovirus B19	4,0-4,9
<b>Bacterias gram -</b>	
<i>E. coli</i>	>6,4
<i>Serratia marcescens</i>	>6,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>5,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>4,5
<i>Salmonella choleraesuis</i>	>6,2
<i>Yersinia enterocolitica</i>	>5,9
<i>Enterobacter cloacae</i>	5,9
<b>Bacterias gram +</b>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,6
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	>6,6
<i>Streptococcus pyogenes</i>	>6,8
<i>Listeria monocytogenes</i>	>6,3
<i>Corynebacterium minutissimum</i>	>6,3
<b><i>Bacillus cereus</i></b>	>6,0
<b>Bacterias anaerobias gram +</b>	
<i>Lactobacillus species</i>	>6,9
<i>Propionibacterium acnes</i>	>6,7
<i>Clostridium perfringens</i>	>7,0
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	>6,5
<b>Protozoos</b>	
<i>Trypanosoma cruzi</i>	>5,3
<i>Plasmodium falciparum</i>	>7,0
<i>Leishmania mexicana</i>	>5,2

### c) Tratamiento con riboflavina

La riboflavina (RF), también conocida como vitamina B2, ha sido investigada desde diferentes perspectivas en los últimos setenta años.<sup>9</sup> La RF es una coenzima que participa en varios pasos

de la cadena respiratoria mitocondrial y es hidrosoluble, por lo que atraviesa las membranas celulares intercalándose entre las cadenas de ARN y ADN.<sup>8</sup> A pesar de actuar sobre los AN, la vitamina B2 se considera segura, basándose en

la ausencia de efectos secundarios de la fototerapia para el tratamiento de la ictericia neonatal. La RF y sus fotoproductos se encuentran en alimentos y en sangre normal. El efecto fototóxico de la RF que daña los AN es mediado por un mecanismo oxígeno dependiente (con la formación de radicales libres) y por un mecanismo oxígeno independiente (de transferencia de electrones).<sup>7</sup> La generación de los radicales es responsable de la mayoría del daño a los AN y da lugar a rupturas y fragmentación.<sup>9</sup> Una vez activada por la luz ultravioleta (5-10 J/cm<sup>2</sup>) induce uniones cruzadas de AN y rupturas de bandas.<sup>8</sup> Además de la generación de radicales libres de oxígeno, también se originan fotoproductos como lumicromo, lumiflavina, 2'ketoflavina, 4'ketoflavina, mononucleótido de flavina y formilmetilflavina.<sup>9</sup> La RF se puede emplear para la reducción de patógenos con luz ultravioleta en plasma, en CP y en ST. La RF y sus fotoproductos no se eliminan al final del proceso de inactivación debido a la ausencia de efectos genotóxicos o tóxicos agudos.<sup>8</sup> En estudios alimentarios, la lumiflavina provocó mutagenicidad para enzimas del colon y hepáticas, pero no se ha estudiado en CS. Los restos de fotoproductos están presentes en escasa concentración y además reaccionan para volver a sintetizar RF por lo que difícilmente serán capaces de generar cualquier alteración. Basándose en numerosos estudios la RF se clasifica como un compuesto GRAS (generally regarded as safe).<sup>9</sup>

El tratamiento fotodinámico con RF es eficaz contra una serie de patógenos que incluyen bacterias, virus encapsulados, protozoos, leucocitos y algunos virus no encapsulados.<sup>7</sup> Se han observado

reducciones superiores a seis logaritmos para el parvovirus porcino (virus no encapsulado modelo del parvovirus B19), virus de la estomatitis vesicular (VSV), HIV asociado a células y extracelular y para el VNO fue superior a cinco logaritmos.<sup>9, 15</sup> El sistema es capaz de reducir diversas bacterias: *S. epidermidis* (4,5 logs), *S. aureus* (3,5-4,8 logs), *B.cereus* (1,9 logs), *E. coli* (4,38 logs), *P. aeruginosa* (4,48 logs) y *S. marcescens* (4 logs).<sup>15</sup> El tratamiento con RF es un medio efectivo para disminuir *Leishmania donovani* en plaquetas y plasma, con una reducción superior a cinco logaritmos.<sup>16</sup> En las Tablas 4, 5 y 6 se pueden observar resumidos el espectro antiviral, parasitario y bacteriano de la RF. Por otra parte, este método de RP es capaz de inactivar funcionalmente los leucocitos en los CS y debería, por lo tanto, evitar las consecuencias inmunológicas que producen estas células en los receptores de dichos CS. Los datos procedentes de estudios in vitro y de estudios clínicos sugieren que es tan efectivo como la gamma irradiación para la prevención de la enfermedad injerto contra huésped (EICH) y más efectivo que la leucorreducción en la prevención de la aloinmunización.<sup>17</sup>

#### d) Tratamiento con luz ultravioleta

Una desventaja de la mayoría de los tratamientos fotoquímicos y fotodinámicos desarrollados hasta la fecha es la necesidad de añadir y, a veces, eliminar el sensibilizador y sus metabolitos. Una alternativa es utilizar solo luz UV. La longitud de onda teórica para dañar el ADN sin la necesidad de un fotosensibilizador es 254 nm, esto es, el rango de la luz UVC (Figura 2). La luz UVC causa la dimerización de las pirimi-

**Tabla 4** Logaritmos de reducción viral.<sup>18</sup>

Virus	Modelo de virus utilizado	Log de reducción/ml	Tipo
HIV latente	VIH intracelular humano	4,5	Encapsulado
HIV activo	VIH asociado a células humano	5,9	Encapsulado
Virus del Nilo Occ	Virus del Nilo Occ	>5,0	Encapsulado
VHC	Virus sindbis	3,2	Encapsulado
VHB	Virus pseudorrabia	2,5	Encapsulado
Virus de la rabia	Virus estomatitis vesicular	>6,2	Encapsulado
Virus Influenza	Virus influenza A	>4,9	Encapsulado
Citomegalovirus	Virus de la rinotraqueitis bovina infecciosa	2,1	No encapsulado
Parvovirus B19	Parvovirus porcino	>4,9	No encapsulado
Virus hepatitis A	Hepatitis A	1,8	No encapsulado
Virus hepatitis A	Virus de la encefalomiocarditis	3,2	No encapsulado
Virus Chikunguya	Aislamiento clínico de la reunión	2,1	Encapsulado

**Tabla 5.** Logaritmos de reducción de parásitos<sup>18</sup>

Enfermedad	Parásito	Reducción log/ml*
Leishmaniasis	<i>Leishmania donovani</i>	≥4,0
Malaria	<i>Plasmodium falciparum</i>	≥3,2
Enfermedad de Chagas	<i>Trypanosoma cruzi</i>	≥5,0
Babesiosis	<i>Babesia microti</i>	≥4,0
Tifus de las malezas	<i>Orientia tsutsugamushi</i>	≥5,0

Los resultados expresados como ≥ indican que la carga del patógeno se redujo al límite de detección

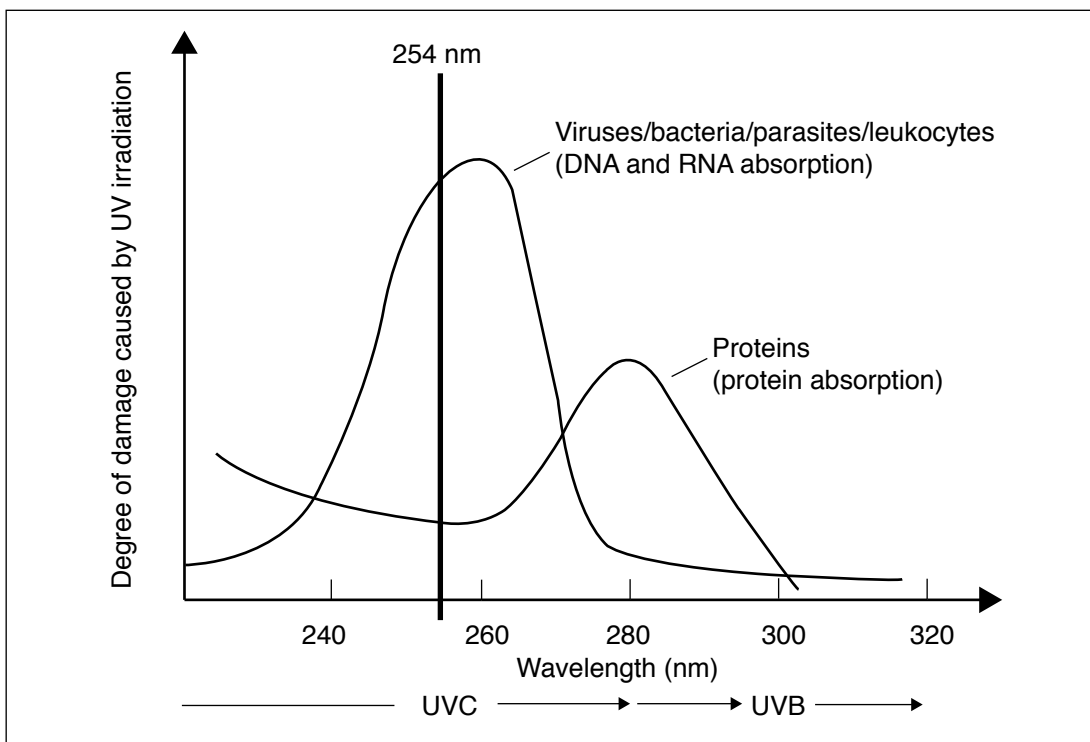
**Tabla 6.** Comparación de la RF con el cultivo para inactivar o detectar bacteria<sup>18</sup>

Bacteria	Gram	Frecuencia	Efectividad de la RF	% de efectividad del método de cultivo
<i>S. epidermidis</i>	+	20	100	27
<i>E. Coli</i>	-	8	100	100
<i>B. cereus</i>	+	7	100	100
<i>S. aureus</i>	+	6	90	53
<i>Streptococcus agalactiae</i>	+	5	100	100
<i>Streptococcus mitis</i>	+	5	100	100
<i>Streptococcus pyogenes</i>	+	5	100	100
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	4	100	100
<i>Propionibacterium acnes</i>	+	3	100	0
<i>Serratia marcescens</i>	-	3	100	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	2	100	100
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	1	66	100
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	1	100	100
<b>Efectividad total</b>			98	66

Los resultados expresados como ≥ indican que la carga del patógeno se redujo al límite de detección

dinas adyacentes y da lugar a enlaces cruzados intranucleótidos que impiden la replicación del patógeno. Además, la luz UVC también genera radicales libres. Se obtiene una buena RP para bacterias

(Tabla 7), un amplio espectro de virus (con la excepción del VIH), con un efecto limitado en distintos parámetros de calidad in vitro de las plaquetas.<sup>19</sup>



**Figura 2** Grado de daños a los diferentes patógenos, leucocitos y proteínas, según la longitud de onda de la luz.<sup>20</sup>

**Tabla 7.** Factores de inactivación de diferentes bacterias en CPs tras tratamiento con UVC<sup>20</sup>

Especie	Aerobio/anaerobio	Gram	Forma esporas	Logs de reducción
<i>Bacillus cereus</i>	aerobio	+	+	4,3 ± 0,81
<i>Clostridium perfringens</i>	anaerobio	+	+	≥4,73
<i>Escherichia coli</i>	facultativo anaerobio	-	-	≥4,01
<i>Enterobacter cloacae</i>	facultativo anaerobio	-	-	≥4,29
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	facultativo anaerobio	-	-	4,8 ± 0,28
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	aerobio	-	-	≥4,92
<i>Propionibacterium acnes</i>	anaerobio	+	-	4,53 ± 1,13
<i>Serratia marcescens</i>	facultativo anaerobio	-	-	≥4,99
<i>Staphylococcus aureus</i>	aerobio	+	-	≥4,78
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	aerobio	+	-	≥4,78

**Tabla 8.** Logaritmos de reducción para distintos virus a una dosis de 0,4 J/cm<sup>2</sup> de UVC

Virus	Cadena	AN	Cápsula lipídica	Modelo para	Reducción en logs.
EMCV	única	ARN	No	Hepatitis A	≥ 6,42
PPV	única	ADN	No		5,46
Sinbis	única	ARN	Sí	VHC	5,55±0,03
SHV-1, pseudorrabia	doble	ADN	Sí	CMV	3,53±0,47
VSV	única	ARN	Sí		≥6,4±0,09
VNO	única	ARN	Sí	VHC	6,36
HIV-1	única	ARN	Sí		1,4

El método consigue un factor de reducción alto (superior a cuatro logaritmos) para el parvovirus canino, el virus de la gastroenteritis transmisible, el virus de la estomatitis vesicular, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *E. Coli*<sup>19</sup> VNO, EMCV, PPV, Sindbis virus, SHV-1,<sup>21</sup> un factor de reducción intermedio (tres logaritmos, aproximadamente) para el virus de la diarrea bovina viral, virus de la pseudorrabia y el *B. cereus* y un factor de reducción bajo (aproximadamente un logaritmo) para el VIH y el virus simio 40.<sup>19</sup>

La luz UVC ha sido empleada para esterilizar suero, plasma y concentrados de proteínas plasmáticas (p.ej. albúmina inmunoglobulina intravenosa y factor VIII). Sin embargo, su eficacia disminuye en soluciones turbias o soluciones con proteínas. Para resolver este problema, los CS tienen que ser manejados en dispositivos especiales (p.ej. cámaras de irradiación con agitación) en los cuales se forman finas capas que pueden ser atravesadas por la luz UVC.<sup>21</sup>

### e) Tratamiento con FRALE

Frangible anchor linker effectors (FRALEs, en castellano, efectores con anclaje unidos por un conector frágil) actúa de manera análoga a los psoralenos<sup>8</sup> y da lugar a ADN o ARN no funcionante por

su unión covalente a los AN; la reacción proviene de un cambio de pH y es de luz independiente. El S-303 se divide en tres partes: la acridina, que es la parte de la molécula que actúa de anclaje, un conector frágil y un grupo efector.<sup>22</sup> Una de las partes reacciona con los AN formando redes entrecruzadas de bases y la otra se disuelve nuevamente como molécula de carga negativa.<sup>8</sup> El S-303 es un FRALE para la RP de los hematíes a temperatura ambiente. El S-303 inactiva virus, bacterias, protozoos y leucocitos (Tabla 9).<sup>7</sup>

El S-303 es eficaz contra los virus de una manera análoga al S-59 aplicado a las plaquetas y al plasma. Para el virus respiratorio sincitial, virus del simio 40 y herpes simple se consiguen reducciones superiores a los cinco logaritmos. El tratamiento también ha sido efectivo contra la mayoría de bacterias grampositivas y negativas con importancia en la transfusión. Por otra parte se han comunicado reducciones de 6,8 logaritmos para el *Plasmodium falciparum*, de 5,3 para el *Trypanosoma cruzi*, de 4,9 para la *Babesia microti* y de 6 para el VNO. Para el adenovirus-5 (ejemplo de virus sin envoltura) se consigue una reducción de 8 logaritmos.<sup>4</sup>

**Tabla 9.** Eficacia de inactivación de patógenos

Organismo	Media de reducción en logs
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,1 ± 0,3
<i>Yersinia enterocolitica</i>	≥6,8 ± 0,2
<i>Serratia marcescens</i>	5,1 ± 0,1
<i>Escherichia coli</i>	≥6,7 ± 0,1
HIV	> 5,9 ± 0,1
Virus de la diarrea bovina viral	> 4,8 ± 0,1
Lengua azul	≥5 ± 0,04
Adenovirus humano tipo 5	>7,4 ± 0,2

#### f) Tratamiento con Inactina

Las inactinas son pequeñas moléculas con una cola catiónica que las une al ADN y un grupo efector que consiste en etilenimina o azindina. PEN 110 es un catión muy soluble en agua, con un oligómero de etilenimina, selectivo para AN, capaz de atravesar las membranas celulares.<sup>7</sup> Se trata de otro compuesto RP que también rompe los AN y que de manera análoga al S-303 no necesita luz y sirve para el tratamiento de los hematíes.<sup>9</sup> Se activa a través de uniones electrostáticas, por enlaces iónicos con AN, para posteriormente alquilar la guanina, inducir la apertura del anillo imidazol, e inhibir así la acción de polimerasas de ARN y ADN con la consiguiente interrupción de la transcripción y la replicación.<sup>8</sup> El tratamiento de los hematíes con PEN 110 se realiza a temperatura ambiente durante 18-22 horas seguido de un lavado con tiosulfato de sodio.<sup>23</sup> Es eficaz frente a virus encapsulados y no encapsulados, bacterias, protozoos y leucocitos.<sup>7</sup> La reducción de gérmenes se cuantifica alrededor de 4 logaritmos.<sup>8</sup>

#### g) Tratamiento con solvente detergente

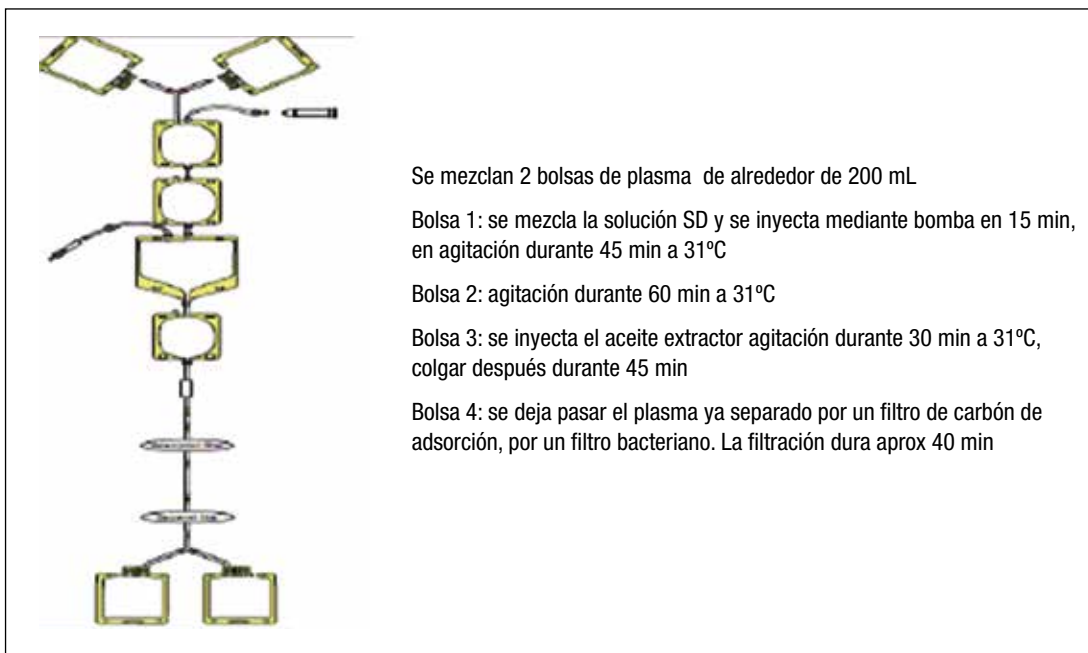
El tratamiento con solvente detergente rompe las membranas lipídicas de los virus encapsulados, bacterias, protozoos y eucariotas. El PFC es descongelado y filtrado (1 µm, para eliminar células y sus fragmentos). La combinación más frecuentemente usada es un 1% de tri-(N-butil)-fosfato (TNBP) y un 1% de polioxietileno-p-t-octilfenol (Triton X-100) durante cuatro horas a 30°C. El TNBP actúa como un disolvente orgánico que elimina lípidos de las membranas extrayéndolos y secuestrándolos en micelas (fase coloidal), mientras que el Triton X-100 es un detergente no iónico que estabiliza el TNBP y rompe la doble capa lipídica para una más fácil extracción de los lípidos.<sup>9</sup> Debido a que el SD desintegra las membranas plasmáticas no puede utilizarse con componentes celulares. Ni el TNBP ni el Triton-X-100 actúan sobre proteínas. El método no inactiva virus no capsulados.<sup>7</sup> Debido a que la reacción química es no selectiva los agentes deben ser eliminados antes que el producto sea transfundido.<sup>9</sup> Los

reactivos son eliminados mediante extracción con aceite de castor, separación y filtración (elimina el TNBP) y la cromatografía hidrofóbica elimina el Triton X-100. Posteriormente se realiza una filtración estéril (0,2  $\mu$ m) y se ubican en bolsas de 200 mL.<sup>9</sup>

Aunque para gran parte de factores se conserva una actividad  $>0,7$  U/mL hay una pérdida de un 15% -20% para la mayoría de factores.<sup>9</sup> Como desventaja de este método debe considerarse la labilidad de proteínas plasmáticas sensibles (FVIII, PS,  $\alpha 2$  antiplasmina y el multímero del factor von Willebrand).<sup>7</sup> Hay una disminución en los factores antitrombóticos (PS en un 35-50%, inhibidores de la plasmina en un 76%, y  $\alpha 2$  antiplasmina en un 50%) y una ausencia total de  $\alpha 2$  antitripsina.<sup>9</sup>

La RP que se consigue es de seis logaritmos en el caso del VHB, y el VIH y de cinco logaritmos en el caso del VHC, sindbis virus, virus de la estomatitis vesicular (VSV) y virus de la diarrea bovina viral (BVDV). No es efectiva frente a virus encapsulados (reducción de 1,22 logaritmos para la hepatitis A). No se han comunicado alteraciones reproductivas o mutagénicas. La aparición de trombosis y/o hemorragia en pacientes trasplantados hepáticos hizo que su uso disminuyera en EE.UU. Sin embargo, continúa en Europa.<sup>9</sup>

En general, se trata de un método industrial aunque, recientemente, se ha desarrollado un sistema que permite la inactivación en minipools de crioprecipitados (400  $\pm$  20 ml) o de una unidad de plasma de aféresis o de dos plasmas en los centros de transfusión (ver Figura 3).<sup>24</sup>



**Figura 3.** Método de SD no industrial. Tiempo total: alrededor de cuatro horas

El solvente detergente industrial emplea pools de 300-1250 litros (380-5000 donantes). Ello le confiere la posible ventaja de incluir anticuerpos protectores frente a ciertos patógenos (para parvovirus B19 y VHA).<sup>9</sup> El SD se ha utilizado como RP en PFC en Alemania, Suiza, Austria, Bélgica, Francia, Holanda y Noruega desde la década de los años noventa.<sup>9</sup>

Otro producto disponible es Uniplas, un plasma universal tratado con SD, en el cual se eliminan las isoaglutininas anti-A y anti-B, mediante antígenos solubles A y B que forman inmunocomplejos hidrofóbicos que son eliminados por el tratamiento con SD.<sup>9</sup>

#### h) Tratamiento con tionina

EL CP se irradia durante treinta minutos con luz visible (595 nm), luego con luz ultravioleta por cuatro minutos (300-330 nm) tras haber administrado previamente de 1-3  $\mu$ M de tionina. El espectro de acción abarca leucocitos, virus con cápsula y sin ella, y bacterias.<sup>8</sup>

### Las dianas

Las enfermedades infecciosas transmitidas por transfusión son muy variadas. Por bacterias (la infección más frecuente), por patógenos conocidos (las pruebas en rutina sólo cubren un número limitado de ellos) y por patógenos nuevos y emergentes.<sup>25</sup> Para algunas de ellas, tales como VIH, VHC, VHB, VNO, enfermedad de Chagas, HTLV I-II, existen pruebas de alta sensibilidad y especificidad que se pueden aplicar en rutina. En cambio, hay otros patógenos capaces de transmitir infección a través de la sangre, aunque con consecuencias

menos lesivas y que en la actualidad no son sometidos a pruebas de escrutinio, principalmente por su prevalencia y, algunas veces, por su costo. En este último apartado estarían incluidos babesia, erlichia, parvovirus, citomegalovirus (CMV) y enterovirus. Algunos de estos microorganismos no causan enfermedad o tan sólo la producen en pacientes inmunocomprometidos.<sup>9</sup>

Los riesgos relativos más frecuentes de las infecciones transmisibles por transfusión se pueden ver en la Tabla 10 y los patógenos con sus enfermedades en la Tabla 11.

Otros agentes con sus frecuencias que potencialmente se pueden transmitir por sangre son el VHA (1/1000000), parvovirus B19 (1/300 a 1/10000) y CMV (1/250 en CS no leucorreducidos). Otros virus que pueden ser transmitidos por transfusión pero con significado clínico desconocido o leve, incluyen SEN-V y virus transmitido por transfusión (VTT).

El riesgo de infección bacteriana es 1:30000 para los CH y 1:1500-3000 para los CP procedentes de sangre total o de aféresis; las pruebas de detección bacteriana disminuyen este riesgo pero no lo eliminan. Los microorganismos más frecuentemente encontrados son los constituyentes de la flora cutánea normal. También se han hallado enterobacterias y flora ambiente. Las vías de entrada de bacterias en los CS son varias: el arrastre de pequeños fragmentos de piel al interior de la bolsa de extracción, la presencia en la sangre del donante en el momento de la extracción (poco frecuente), los poros o los pequeños defectos de fabricación/rupturas en la bolsa o los errores de manipulación durante el fraccionamiento.<sup>25</sup>



**Tabla 10.** Riesgo relativo de las infecciones transmisible por transfusión.<sup>26,27</sup>

Agente infeccioso	EE.UU.	Europa
VIH	1/2135000	1/909000 a 1/5500000
VHC	1/1930000	1/2x10 <sup>6</sup> a 1/4400000
VHB	1/277000	1/72000 a 1/1100000
VNO	1/350000	No hay casos informados
HTLV	1/299300	1/8300000
Bacterias en CH	1/38500	1/38500
Bacterias en CP	1/5000	1/5000
Enfermedad de Chagas	7 casos informados	1/147000
Malaria	1/10 <sup>6</sup> a 1/5x10 <sup>6</sup>	No disponible

**Tabla 11.** Infecciones transmitidas por transfusión.<sup>14</sup>

Patógenos	Enfermedad	Encontradas de rutina en EE.UU.	
		sí	no
VHC, VHB	Hepatitis	X	
VIH	SIDA	X	
Virus hep G y E	Hepatitis		X
HTLV I/II	Linfoma maligno	X	
CMV	Retinitis, hepatitis, neumonía	X	
Herpes virus tipo 8	Sarcoma de Kaposi		X
EBV	Sd viral		X
Bacterias	Sepsis	X	
<i>Treponema palidum</i>	Sífilis	X	
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Enf. de Lyme		X
<i>Rickettsia rickettsii</i>	Fiebre de las Montañas Rocosas		X
<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	Erlíquiosis		X
<i>Trypanosoma cruzi</i>	Enfermedad de Chagas		X
<i>Babesia microti</i>	Babesiosis		X
<i>Leishmania donovani</i>	Leishmaniasis		X
<i>Plasmodium species</i>	Malaria		X
VNO	Meningitis, encefalitis	X	
Virus del dengue	Fiebre hemorrágica		X
Prion	Enf de Creutzfeldt-Jakob		X

La incidencia de casos postransfusio-  
nales de malaria en países endémicos se  
estima en unos cincuenta por millón y  
en no endémicos 1-2 casos por millón  
de transfusiones.<sup>25</sup> La seroprevalencia  
del parásito *Trypanosoma cruzi* es de  
1:7500-33000 y de la *Babesia microti*

es de 1: 100.<sup>9</sup> Con los cambios demo-  
gráficos y la creciente inmigración, la  
enfermedad de Chagas puede ser una  
amenaza en los países no endémicos. En  
EE.UU. se han comunicado cincuenta  
casos de infección por *Babesia* y todavía  
no existe ningún método validado para

ser utilizado en las donaciones de sangre.<sup>25</sup> Los riesgos para la leishmaniasis y la toxoplasmosis son desconocidos. Los niveles de transmisión de las enfermedades dependen de la población donante.<sup>9</sup>

Sin embargo, la gran amenaza para la seguridad transfusional la constituyen los agentes infecciosos emergentes. Éstos tardarán en ser identificados y hasta que se puedan tomar medidas de prevención serán muchos los pacientes infectados. Se consideran emergentes todos los agentes infecciosos nuevos, reemergentes, migratorios o resistentes a los fármacos, cuya incidencia de infección ha aumentado en las pasadas dos décadas, o existe la amenaza de que crezca en un futuro próximo.<sup>25</sup>

## Rendimiento de los diferentes sistemas de reducción de patógenos

La RP de productos sanguíneos lábiles ofrece el mismo mecanismo de protección que el utilizado en el fraccionamiento plasmático para disminuir las potenciales infecciones transmitidas por transfusión, aunque los métodos usados en el fraccionamiento plasmático no son directamente aplicables a los CS. En el fraccionamiento plasmático, el rendimiento requerido es de 6 log/ml mediante múltiples métodos.<sup>28</sup>

El supuesto más crítico y la base para el desarrollo de estas tecnologías es que la reducción o inactivación de los niveles de patógenos en sangre conducirán a una disminución de la posibilidad de transmisión de la enfermedad. La expectativa del rendimiento de estos sistemas varía ampliamente, desde la eliminación de toda posibilidad de transmisión, a la

reducción del riesgo residual derivado del periodo ventana de las infecciones virales, o a la inactivación de enfermedades transmitidas por transfusiones frecuentes (CMV, malaria) o emergentes (dengue, babesia) para las cuales no es posible la realización de pruebas de escrutinio de rutina.<sup>28</sup>

Diferentes factores dificultan la aplicación de las guías para las validaciones de los procesos de la inactivación viral de la industria fraccionadora (como la del Committee for Human Medicinal Products (CHMP)). Dentro de estos factores destacan los lotes de mezclas de milares de unidades en el fraccionamiento plasmático industrial (lo que permite una economía de escalas), o la necesidad de mantener intactas las células (plaquetas o hematíes) en ciertos CS, lo que desaconseja la utilización de mecanismos de inactivación tales como el SD, el calor o la ultrafiltración. Todo ello dificulta la aplicación en unidades individuales de distintos procedimientos ortogonales de inactivación de patógenos (los procesos ortogonales son dos procesos que actúan independientemente para inactivar o eliminar patógenos). Sin la aplicación de procesos ortogonales múltiples es improbable que los productos procedentes de un único donante alcancen niveles tan altos como los de la inactivación de patógenos que se obtienen en el fraccionamiento plasmático.<sup>28</sup>

Para los fabricantes de aparatos médicos y de soluciones antisépticas, el objetivo es alcanzar una reducción de 6 log/mL, esta cifra se estableció basándose en los niveles estimados de bacterias contaminantes que pueden introducirse en los ambientes no estériles, pero no tenía en cuenta ni virus, ni parásitos, ni

la presencia de leucocitos en la sangre. Es importante resaltar que este nivel de inactivación no garantiza un producto estéril pero sugiere que la probabilidad de contaminación con bacterias (especialmente las bacterias formadoras de esporas) es improbable<sup>28</sup> y por lo tanto la posibilidad de transmisión de la enfermedad a través de estos productos remota. Es razonable entonces que las autoridades y los representantes de la industria comenzaran a utilizar esta cifra para la inactivación de productos sanguíneos con la esperanza de que una capacidad de 6 log/mL tuviera una muy baja factibilidad de transmisión de la enfermedad.

Los donantes de sangre infectados tienen niveles ampliamente variables de los agentes infectantes, lo que depende del momento de la infección y de la donación (Tabla 12). Los agentes virales suelen medirse en equivalentes de genoma(geq)/ml de plasma o de sangre. Esta medida equivale al número de partículas detectadas en una muestra basándose en secuencias específicas del gen que son analizadas con las pruebas de ácidos nucleicos (NAT), su presencia denota la existencia de la partícula viral pero no corresponde necesariamente con la presencia de partículas virales infecciosas. La frecuencia de replicación de partículas virales incompetentes varía según el estadio de la infección y del agente, pero se sitúa entre 1/10 a 1/1000000 de partículas virales infecciosas por geq. Generalmente se asume que cada geq es un agente infeccioso, aunque de esta manera se sobreestime la infectividad.

La fase inicial de viremia se caracteriza (Figura 4) por viremias muy bajas,

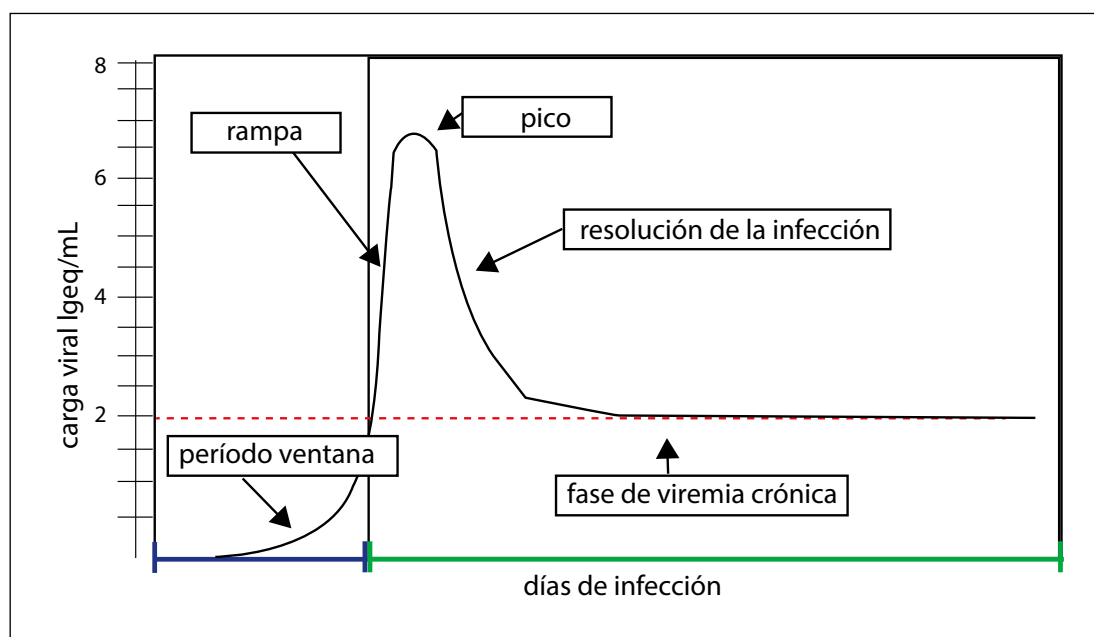
el virus puede estar en plasma, en los leucocitos o ligados a las plaquetas, a los hematíes o a micropartículas procedentes de células en la sangre. Viremias muy bajas pueden no ser detectadas aunque se utilicen técnicas muy sensibles en unidades individuales (NAT p.ej.) y ser capaces de transmitir la infección al receptor, esta fase se conoce como la fase de eclipse o el periodo ventana pre-NAT. El donante puede ser capaz de erradicar la infección con eliminación de todos los virus, como por ejemplo el de la hepatitis A (VAH) y el VNO, mientras que con otro tipo de agentes como el VHC sólo un subgrupo de pacientes elimina el virus o como con el HIV que muy pocos o ninguno eliminan la infección. Una vez desechada, el huésped ya no es ningún riesgo para la transmisión de la infección y se considera inmune. Donantes potenciales con infecciones persistentes o crónicas pueden mantener bajas viremias durante años en ausencia de síntomas, el nivel de virus es variable y pueden ser claramente infecciosos.

En algunas fases de la infección, la eliminación de 6logs/ml es adecuada y en otras es insuficiente o excesiva, p.ej. en el caso del VNO el pico de viremia difícilmente alcanza niveles por encima de 5 logs/ml y además durante poco tiempo. Este hecho explicaría los pocos casos de infección por transfusión de VNO entre 1999 y 2002 en EE.UU. Sólo los casos con donantes infectados pero asintomáticos pudieron transmitir, tras la adopción de pruebas NAT para VNO; la fase precoz de la rampa supone un riesgo y además es de poca duración. La RP demuestra una capacidad de reducción de infectividad del VNO de 3 a 4 log/ml y elimina la mayoría de las partículas

**Tabla 12.** Niveles de viremia (geq/mL) pertinente a la inactivación de los CS

Agentes	Estadio de infección	Pico de viremia*
VIH, VHC, VHB	Periodo ventana	$10^6-10^8$
	Infección crónica	$10^4-10^6$
CMV, EBV, HTLV	Periodo ventana	$10^4-10^6$
	Infección crónica	$<10^2-10^4$
VHA, B19	Periodo ventana	$10^8-10^{12}$
	Infección crónica	$<10^2-10^4$
VHG, VTT, SEN-V	Infección crónica	$10^4-10^6$
VNO, enterovirus	Periodo ventana (viremia transitoria)	$10^1-10^6$

\* Por mL de plasma o por  $10^6$  células mononucleadas de SP para CMV, EBV, y HTLV.



**Figura 4.** Curva de replicación. La línea punteada representa el límite de detección de pruebas NAT.

infecciosas y por lo tanto la posibilidad de transmisión de la enfermedad. Para el VHB el nivel de eliminación de 6 log/ml no es suficiente para cubrir todas las fases de la infección, durante el pico de viremia hay altos títulos con magnitudes de 9 a 10 log geq/ml, si la RP sólo elimina 6 log/ml no podrá prevenir la transmisión de la enfermedad de una unidad sangrada en ese momento, pero sí podrá reducir el número de días que un donante infectado donaría un

componente infeccioso. En el caso del VHC la reducción de 6 log/ml cubriría la mayor parte de la fase de eclipse y de rampa. Los donantes con 6 log/ml de viremia sólo infectarían si la sangre del donante no se hubiera verificado con pruebas NAT (al menos en mini pool) o si la prueba hubiera fallado. El verdadero desafío de las pruebas de detección es el periodo ventana preNAT, o la fase de viremia crónica (niveles indetectables pero potencialmente infecciosos),

esto correspondería a niveles de 1-2 log/ml de virus. Por lo tanto, en aquellos virus para los cuales hay pruebas NAT el desafío de los métodos de RP es proporcionar una cobertura para el periodo ventana preNAT, o para la fase crónica. En cambio, para los virus no sometidos a detección (VHA, parvovirus o virus emergentes) las técnicas de RP serían el único mecanismo de seguridad y reducciones de 2-4 log/ml alterarían, pero no eliminarían la fase ventana infecciosa. De estos ejemplos debería quedar claro que no existe un único nivel de reducción viral en los CS que cumpla los requisitos y los límites de rendimiento necesarios para definir la eficacia de las tecnologías de RP. La reducción del riesgo alcanzable por la RP no es un número fijo, depende de la capacidad de cada tecnología, de la epidemiología, de la dinámica de la viremia y de las medidas de seguridad previamente instauradas.

En la última década el interés en la contaminación bacteriana de los CS, especialmente de los CP, ha crecido enormemente. La temperatura ambiente, en presencia de glucosa, aminoácidos y otros nutrientes constituyen las condiciones ideales para el crecimiento bacteriano. La frecuencia de contaminación de productos plaquetares se cifra en torno a 1/2000-3000 donaciones, con complicaciones graves en los receptores de 1/50000. En cambio la frecuencia en los CH es mucho menor, 1/50000-100000 que se traducen en diez veces menos efectos adversos. El almacenamiento refrigerado inhibe el crecimiento o mata las bacterias, lo que convierte al CH en un vehículo menos probable de transmisión de bacterias. El plasma se almacena

congelado, la mayoría de las bacterias no resiste la congelación/descongelación y tan sólo se han comunicado diez casos de transmisión por PFC en un periodo de vigilancia de veinte a treinta años.

Las fuentes de la contaminación bacteriana varían e incluyen donantes con baja carga de bacterias secundaria a infecciones ocultas, flora intestinal benigna, o incluso por mascotas. Los donantes con bacteriemia generan concentraciones bajas de bacterias, inferiores a 10 CFU/ml en la ST. Estos niveles pueden ser indetectables, y métodos como el desvío de los primeros mililitros (que intenta prevenir la flora cutánea) son probablemente insuficientes para el manejo de esta situación. La bacteriemia es extremadamente infrecuente ya que, por lo general, un donante bacteriémico estará febril o con sintomatología en el momento o poco después de la donación y dará tiempo a retirar las unidades del inventario. Otra fuente de contaminación y, además, la más frecuente, es la contaminación de la piel del donante. Los métodos de limpieza reducen esta vía pero no la eliminan, por la resistencia de algunos organismos y la complejidad de los pliegues cutáneos. La introducción de bolsas de desvío en los equipos de extracción ha disminuido la frecuencia de detección de bacterias en los CS por contaminantes cutáneos de 40%-90%. Recientemente se han introducido sistemas de detección de bacterias para los productos plaquetares; una de las limitaciones de estos sistemas es la necesidad de un tiempo de espera que permita el crecimiento de la bacteria para su posible detección ulterior, sin este tiempo de incubación los volúmenes de muestra necesarios para detec-

ción de bacterias son mucho mayores. El tiempo de incubación depende de la cinética del crecimiento bacteriano que, para algunas bacterias, tales como *Staphylococcus* spp. y *Propionibacterium acnes* es lento requiriendo incubaciones de 72 horas para el nivel de detección necesario. Incluso con organismos de crecimiento rápido como *E. coli* se precisa un periodo de incubación de 10-20 horas. La adopción de métodos de cultivo ha reducido pero no eliminado, el riesgo bacteriano. Además, hay que tener en cuenta que la muestra obtenida a las 24 horas de la extracción debe ser incubada a 37°C durante 12-24 horas lo que lugar a reducciones de la caducidad de 24-48 horas, en un producto que tiene tan sólo una caducidad de cinco días. Se podría aumentar la caducidad a siete días pero ello supondría que distribuiríamos plaquetas de tres días, tiempo en el que la calidad de la plaqueta empieza a declinar. Además, en EE.UU., por la posibilidad de cultivos positivos tardíos por niveles bajos de bacterias de crecimiento lento, la FDA ha eliminado la posibilidad del alargamiento de la caducidad a siete días.

El nivel de bacterias en el momento de la donación es extremadamente bajo (10-100 bacterias por producto). En un CP de 300 ml se traduce en 0,03 a 0,3 bacterias/ml. La clave del éxito de sistemas de RP es la capacidad de inactivar completamente los niveles bajos de bacterias en el momento del tratamiento de inactivación y así prevenir su crecimiento durante el almacenamiento. Pero, paralelamente a lo que ocurre con los virus, hay que evaluar los sistemas en términos de los riesgos reales que existen. El 80%-90% de las bacterias

contaminantes relacionadas con efectos adversos graves en los receptores son *Staphylococcus* spp., *E. coli*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, y *P. acnes*. La técnica que sea capaz de mantener productos negativos tras inocular 100 CFUs de estos patógenos será más adecuada clínicamente que una técnica que sea 100% efectiva frente a otros organismos que rara vez se detecten en sepsis secundarias a transfusión de CS.

Dado el porcentaje de fallos de los métodos de detección bacteriana (30-50%) y la necesidad del almacenamiento de estos productos durante 40-48 horas adicionales para la confirmación del resultado, los beneficios de la RP en el momento de la donación/elaboración parecen obvios.

Los niveles de parásitos en CS varían en función del tipo de parásito y el estadio de infección del donante. Como ocurre con los virus, las infestaciones parasitarias permanentes se caracterizan por periodos prolongados de latencia asintomáticos, durante los cuales el donante puede donar con el riesgo potencial de transmisión de la infección. Un parásito viable puede ser suficiente en un CS para causar la transmisión. Se han comunicado infecciones con niveles muy altos ( $10^7$  parásitos/ml) de *Plasmodium falciparum*. Sin embargo, esto es infrecuente, dado que con esos niveles generalmente hay síntomas significativos que serían detectados en la donación. Se han comunicado niveles de parasitemia de malaria en donantes asintomáticos de  $7,9 \times 10^4 \pm 10,7 \times 10^4$  parásitos/ml, estos niveles de parasitemia es lógico que sean menores en CP o en PFC, dado que el parásito se moviliza en

el hematíe. El *Trypanosoma cruzi* existe a muy bajos niveles como parásito libre en plasma, tejidos y músculo, la detección por NAT es difícil por la presencia del agente en el compartimento celular y, además los bajos niveles (1 parásito/ml) hacen que no sea sensible al NAT. Por ello se requiere el escrutinio de anticuerpos, lo que da lugar a pérdidas de donantes y a controversia sobre su aplicación a población seleccionada de riesgo. El agente se puede transmitir de madre a feto, haciendo no válido sólo el país de nacimiento como discriminante de riesgo.

Para casi todos los parásitos las concentraciones en sangre de los donantes con infección crónica son muy bajas especialmente de aquellos que pueden ser una preocupación en países desarrollados (*Babesia*, malaria y Chagas importado).

A pesar de la leucorreducción, los CS aún contienen niveles de leucocitos que son capaces de causar efectos adversos, la mayoría de los filtros reducen entre 4-6 logs de leucocitos y dejan alrededor de 100-10000 leucocitos en el CS. Estos leucocitos residuales pueden causar EICH asociada a transfusión, microquimerismo, reacciones febriles no hemolíticas, aloinmunización y modulación inmune. Alguno de estos efectos pueden ser originados por células madre residuales aisladas, o por linfocitos alorreactivos del donante, con capacidad de proliferar in vivo en el donante. Dado que los efectos adversos ligados a leucocitos pueden continuar apareciendo en receptores de CS leucorreducidos, parece que la reducción de seis logaritmos no sería suficiente, la RP, además de o quizás en lugar de la leu-

correducción y de la gammairradiación, podría disminuir y quizás erradicar estas complicaciones.

En resumen, incluso con el escrutinio por medio de técnicas NAT para VIH, VHC y VHB el riesgo de infecciones en periodo ventana permanece, aunque este método ha sido extraordinariamente efectivo para reducir la transmisión de estos virus. Combinar los beneficios de las técnicas NAT para detectar niveles altos de viremia, con los beneficios de la RP que eliminan bajos niveles de infectividad podría conseguir erradicar infecciones en periodo ventana y limitar la expansión de agentes emergentes. Las técnicas de RP deberían ser muy efectivas en la reducción del riesgo de infecciones bacterianas y parasitarias, dados los bajos niveles de estos agentes en la sangre donada. La inactivación simultánea de los leucocitos residuales ofrecería una oportunidad para una mayor reducción de los riesgos asociados con la aloinmunización, EICH y las posibles consecuencias del microquimerismo y la modulación inmune. El nivel apropiado del rendimiento de los métodos de RP para ser eficaz depende de los patógenos:

1. *Virus*. Para agentes en los que se realiza escrutinio con pruebas NAT, la RP podría eliminar el riesgo residual durante el periodo ventana preNAT e infecciones ocultas. Métodos que demuestren niveles de inactivación por debajo de la viremia pico, de la rama precoz o de la fase crónica conferirían una cierta protección o una reducción de la transmisión de la infección.

Para aquellos virus no sometidos a escrutinios, emergentes o no, la

reducción en la transmisión de la enfermedad dependerá de la epidemiología, de las características virales y de la respuesta del donante a la infección.

2. *Bacterias*. La eficacia de las técnicas de RP se debería medir por su capacidad de mantener los CS con cultivos negativos durante su almacenamiento, enfrentándolos a cargas de bacterias clínicamente relevantes de entre 10-100 CFUs.
3. *Parásitos*. Leucocitos. Se debe evaluar la completa inactivación de estos agentes para un 100% de eficacia.

## Evaluación de la toxicología

El proceso de RP puede dañar los CS y dar lugar a una disminución de la vida media de los hematíes o plaquetas, o a un descenso de las proteínas de la coagulación en el PFC. La toxicidad sigue siendo tema de preocupación. Es necesaria la eliminación de los compuestos que dañan claramente los CS lábiles, se debe evitar la hemólisis franca (>1%), la alteración de la función plaquetar y la reducción superior al 30% de los factores de la coagulación.<sup>9</sup>

## Sangre total

Si tratamos la sangre total con un sistema de RP que sea seguro y eficaz obtendremos un beneficio significativo, con ahorro de recursos (principalmente tiempo y dinero) si lo comparamos con los tratamientos individuales en cada CS.<sup>29</sup> El sistema de RP con RF está siendo desarrollado para el tratamiento de ST, proporcionando un único paso para

la reducción de patógenos y la inactivación de leucocitos seguido o bien del uso del producto como ST, o bien de la separación en CS.

El tratamiento de la sangre total y un corto almacenamiento a temperatura ambiente, podría permitir la utilización de esta tecnología en aquellas situaciones donde se requiera una rápida infusión de los tres componentes, como en los politraumatizados con pérdidas masivas de sangre.<sup>29</sup>

El tratamiento de la sangre total o del CH es un auténtico desafío, debido a la absorción de luz por parte de la hemoglobina. Aunque el pico de absorción de la hemoglobina (400–450 nm) está fuera del espectro de las lámparas del sistema de la RF, la dosis de energía suministrada a las unidades de sangre total se modifica para el volumen de hematíes ( $J/ml_{\text{hematíe}}$ ).<sup>18,29</sup> Actualmente el tratamiento de la ST con RF consiste en la exposición de la unidad a  $80 J/ml_{\text{hematíe}}$ . Tras la iluminación la sangre total se puede separar en sus componentes; en el CH la hemólisis aumenta durante el almacenamiento y se encuentra por debajo del 1% a los 35 días de almacenamiento, el potasio aumenta y el sodio disminuye en comparación con unidades no tratadas, con curvas de fragilidad similares en los dos grupos a lo largo de cuarenta y dos días de almacenamiento; la actividad de los factores de coagulación es inferior en las unidades tratadas que en el control pero comparable al plasma directamente tratado con RF; en las plaquetas los remolinos y el pH no se afectaron por el tratamiento durante los cinco días de almacenamiento, mientras que como ya estaba descrito aumentó el consumo de glucosa y la producción de lactato. La



efectividad de la RP de la RF en sangre total se midió para virus (no capsulados: virus de la lengua azul, VHA y parvovirus canino; encapsulados: virus de la estomatitis vesicular, virus de la rino-traqueitis bovina infecciosa) bacterias y parásitos e inactivación de leucocitos. En los virus la reducción de patógenos varió de 1.2 log/ml para el VHA a 4.5 log/ml para el virus de la estomatitis vesicular. El tratamiento fue 100% efectivo contra las bacterias frecuentemente encontradas en CH (*S. liquefaciens* y *Y. enterocolitica*) y un 83% contra *S. epidermidis*. La reducción de *T. cruzi* se observó cercana al límite de detección de la prueba a las concentraciones relevantes del parásito. Los leucocitos se inactivan al límite de detección de la prueba con dosis de 33 y 44 J/ml<sub>hematíe</sub> con lo que se evita el injerto de células T.<sup>18</sup> Estos datos indican que la RF más luz UV puede ser una alternativa válida a la irradiación gamma.<sup>29</sup> Resultados de distintos estudios indican que el S-303 puede ser aplicable como RP no sólo en CH sino también en ST.<sup>30</sup>

## Plasma y crioprecipitados

Se ha estimado que el riesgo residual de una unidad de Plasma Fresco Congelado (PFC) es de 1 por 10 millones para el VIH, 1 por 50 millones para el VHC y 1 por 1,2 millones para el VHB. Con estos niveles de riesgo se ha cuestionado si la RP en PFC es una estrategia necesaria y/o si es el mejor uso de los recursos sanitarios.<sup>31</sup>

EL PFC cuarentenado tiene una buena actividad hemostática, pero acarrea consigo el riesgo de transmisión de agentes infecciosos transmitidos por sangre,

que no son detectados por las pruebas de escrutinio habituales.<sup>1</sup> Hasta el momento, casi todos los procedimientos desarrollados para reducir patógenos en plasma en los centros de transfusión utilizan tratamientos fotoquímicos<sup>1</sup> y comprenden los siguientes: azul de metileno, psoralenos y riboflavina. Hay que recordar que el PFC puede ser tratado de manera industrial mediante el método del SD y recientemente este método se ha adaptado para poder utilizarlo también en los centros de transfusión.<sup>10, 24</sup>

Tres métodos de plasma tratado con SD han estado comercializados en Europa: Octaplas (grupo ABO específico), Bioplasma (universal, ABO independiente) y PLAS+SD que se ha retirado del mercado.

El AM es un compuesto fenotiacínico que, tras la activación con luz visible, genera especies de oxígeno reactivo, a través de reacciones fotodinámicas de tipo II.<sup>31</sup> Recientemente se ha desarrollado un filtro comercial postinactivación para la eliminación del AM (dejando una concentración de AM de 0.1-0.3 microM).<sup>31</sup>

En general, el tratamiento con AM emplea una concentración 1 µm de AM seguida de una exposición a luz roja (600-700nm) con 10mW/cm<sup>2</sup> durante 600 segundos.<sup>9</sup> El protocolo Springe tenía un paso inicial de congelación-descongelación para romper los leucocitos y poder liberar organismos intracelulares antes de la adición del AM y del tratamiento con luz.<sup>1</sup> El método modificado (Tabla 13) incorpora la conexión estéril a un sistema de bolsa con un filtro de leucorreducción y con el AM y la posibilidad de mediante un filtro eliminar el AM residual tras la iluminación así

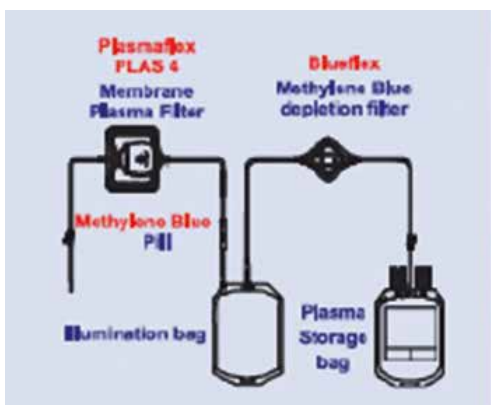
como de los productos intermedios.<sup>1</sup> El filtro de membrana de 0,65 µm elimina plaquetas, leucocitos y restos celulares. El plasma pasa después a través de un tubular que contiene una píldora seca de AM (80 µg) que se disuelve conforme fluye el plasma a su través hacia la bolsa de iluminación. El plasma con AM es sometido a iluminación por sus dos caras

por medio de lámparas de sodio de baja presión y alta intensidad que emiten luz amarilla con una longitud de onda de 590 nm durante 15-20 minutos,<sup>2</sup> se generan 180 J/cm.<sup>2</sup> <sup>9</sup> El proceso puede acabar aquí, o bien, el plasma se hace pasar a través de un filtro que elimina más del 95% del colorante residual y de sus subproductos que podrían tener propiedades mutagénicas.<sup>2</sup> (Figura 5).

**Tabla 13.** Comparación de los distintos métodos de procesamiento con AM.<sup>11</sup>

Pasos	Springe	Theraflex (Macotronic V)	Theraflex (Macotronic B)
1. Congelación/descongelación	Sí	No	no
2. Leucorreducción	no	sí*	sí*
3. Adición de AM	50 µmol/l de solución AM vol ajustado a 1 µmol/l	85 µg de AM en una píldora seca	85 µg de AM en una píldora seca
4. Iluminación	Una cara	Dos caras	Dos caras
	Tubos fluorescentes	Tubos de sodio	Diodos que emiten luz
	Sin control de temperatura	Monitorización de temperatura	Monitorización de temperatura
5. Eliminación del AM	no	sí	sí

\* Hay un filtro de membrana de 0.65 µm integrado.



**Figura 5.** Fungible del sistema de inactivación con AM e iluminador

Debido a la unión a proteínas, hay una pérdida cercana al 10%-30% de los factores de coagulación y de un 20-40% del fibrinógeno tras el tratamiento del plasma con AM.<sup>9</sup> El AM tiene poco efec-

to en las proteínas anticoagulantes o en las fibrinolíticas tales como la proteína C, S, anti-trombina III y plasminógeno.<sup>11</sup> Se piensa que la pérdida de actividad es secundaria a la oxidación de los resi-

duos de histidina y otros aminoácidos. El AM también se une a las subunidades alfa del fibrinógeno generando un menor anclaje del receptor de plaquetas.<sup>9</sup> En un estudio de validación reciente efectuado por nuestro grupo (resultados no publicados) la pérdida de factores estudiados con el método que en la actualidad se sigue con el AM fue ligeramente inferior al observado en la literatura para algunos factores, que fundamentalmente está descrito con el método original de Springe (Tabla 14).

**Tabla 14.** % de variación de proteínas de la coagulación con AM

Factor	Media± D.E.
Fibrinógeno	-31,72±8,12*
FII	1,69±8,59
FV	2,20±51,7
FVII	-0,87±11,85
FVIII	-10,25±32 (p=0,09)
FIX	-16,1±16,11*
FX	-4,68±5,96*
FXI	-22,45±12,72*
VW:Ag	5,33±16,26
ATIII	-4,17±22,93
PS	-1,50±2,04
PC	0,84±8,56

\*p<0,05 Mann-Whitney Test (diferencia de cada método con el plasma control)

El crioprecipitado preparado a partir de PFC e inactivado con AM contiene aproximadamente 20%-40% menos fibrinógeno y FVIII que el obtenido de PFC no tratado, pero todavía cumple las especificaciones del Consejo de Europa (FVIII ≥70% del valor de la unidad de plasma fresco).<sup>11</sup>

El AM se ha utilizado en Europa durante más de quince años, en diversos periodos y en distintos países tales como Alemania, Dinamarca, Portugal, Reino

Unido o España. Se han desarrollado distintos sistemas comerciales y millones de unidades individuales de plasma con AM se han transfundido en Europa, con ausencia de efectos adversos inesperados.<sup>32</sup> El AM se ha usado como antiséptico oral, como desinfectante y como antídoto frente a la intoxicación con nitrato, también en el tratamiento de la metahemoglobinemia, para localizar campos quirúrgicos y para la validación del cumplimiento de la prescripción de tratamientos. En los últimos 100 años se han tratado con AM tanto infecciones bacterianas como tropicales (malaria).<sup>9</sup> La toxicidad del AM es motivo de preocupación, sin embargo, el AM ha sido utilizado rutinariamente como fármaco para el tratamiento de la metahemoglobinemia a dosis de 1-2 mg/kg (aproximadamente 1000 veces los niveles usados para la inactivación viral de una unidad de plasma), sin observar toxicidad alguna.<sup>33</sup> Se han utilizado dosis de AM de 50 mg t.i.d. para el tratamiento de la encefalopatía inducida por ifosfamida y de 2mg/kg para el choque séptico sin efectos secundarios notables.<sup>9</sup> Un experto en toxicología ha afirmado que el riesgo es comparable al de fumar un paquete de cigarrillos en toda la vida.<sup>31</sup>

Estudios observacionales realizados en España dan la impresión de que el plasma inactivado con AM es menos efectivo que el plasma cuarentenado para el tratamiento de la púrpura trombocitopénica trombopática (PTT). En un estudio posterior multicéntrico prospectivo se constató que con el plasma tratado con AM se necesitaba un mayor volumen de plasma y existía una mayor tasa de recurrencia. Estos estudios tienen metodológicamente como punto

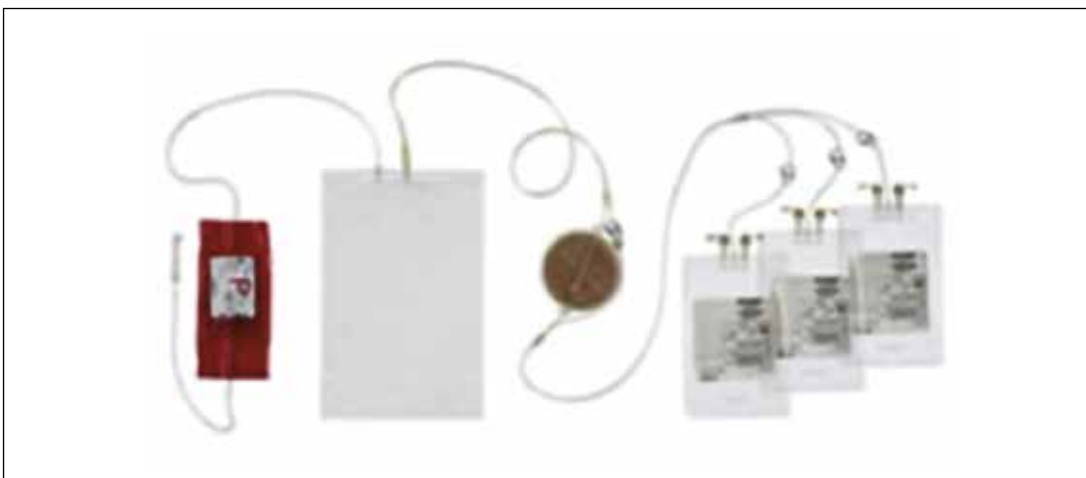
desfavorable el hecho de que dentro del plasma tratado con AM existen diversos tipos de plasma utilizado (procedente de aféresis y de ST) y distintos tipos de procedimiento de inactivación (Springe y otros) y no se hace ninguna diferenciación. Por otra parte, es curioso que haya estudios que indican que los niveles de ADAMTS-13 son normales en plasma tratado con AM.<sup>11</sup>

Las reacciones adversas asociadas con AM incluyen quemazón en la boca, náusea, vómitos, diarrea y gastritis. Grandes dosis pueden causar dolor abdominal y torácico, cefalea, sudación profusa, confusión mental, micción dolorosa y metahemoglobinemia.<sup>9</sup>

El AM disminuye la vida media de los hematíes ya que se une a las membranas de los glóbulos rojos, incrementa su permeabilidad a iones e inactiva la glutatión reductasa lo cual empeora la capacidad del hematíe de manejar la toxicidad por oxidación.<sup>9</sup> Si se analizan los distintos informes de los sistemas europeos de hemovigilancia, se encuentra que en el francés hay una incidencia más alta de episodios alérgicos cuando se compara con la cuarentena.<sup>11</sup> Recientemente, se han descrito dos reacciones anafilácticas durante la infusión de plasma tratado con AM tras cirugía cardíaca que obligó a tratamiento con adrenalina y asistencia circulatoria extracorpórea. Se atribuyó el efecto al AM por la cronología, ausencia de otros alérgenos, síntomas asociados y test de prick y/o reacciones intradérmicas con AM o azul patente. Se hicieron tests adicionales de activación de basófilos que confirmaron el papel del colorante en la reacción anafiláctica.<sup>34</sup> Sobre estos hechos se han realizado diversos

estudios. En Bélgica no se ha observado un aumento de la incidencia de efectos adversos (incluidas reacciones alérgicas), con el AM comparado con el SD y con una eficacia clínica similar.<sup>11</sup> En otros países como Reino Unido, Italia, los resultados son similares. En España, diversos grupos han comunicado la ausencia de efectos adversos graves no infecciosos relacionados con el AM.<sup>35</sup> Politis et al. comunicaron una menor incidencia de reacciones alérgicas y de reacciones febriles no hemolíticas, en pacientes tratados con plasma inactivado con azul de metileno lo cual fue atribuido a la eliminación de leucocitos y plaquetas.<sup>36</sup>

En el caso de los psoralenos, el plasma se mezcla con el amotosaleno; éste está preparado en forma líquida y viene protegido de la luz por una bolsa opaca para evitar su inactivación durante su almacenamiento previo. Tiene un volumen de 15 ml y contiene 203 mg de hidrocloreto de amotosaleno (6 mmol/l) y 924 mg de NaCl. Se mezcla un volumen de plasma entre 385-635 mL para conseguir una concentración final cercana a 50 µg/ml (150 µM), esta mezcla se somete a una iluminación controlada de 3 J/cm de luz UVA (320-400nm) por 7-9 minutos y durante la iluminación el plasma se somete a agitación.<sup>37</sup> Por último, el plasma iluminado pasa a través del CAD, durante unos 10 minutos (a diferencia de las plaquetas), de modo similar a una filtración convencional (Figura 6). El proceso entero puede producir hasta tres plasmas de más de 200 ml y puede ser llevado a cabo en veinte minutos. El iluminador UVA es capaz de iluminar dos unidades por ciclo.



**Figura 6.** Equipo necesario para plasma

Con el amotosaleno se mantienen niveles del 85-95% de FII, V, VII, IX, X, XI, XIII, proteína C y S, ATIII y  $\alpha$ 2 antiplasmina respecto al plasma inicial, es decir, la cantidad de factores anticoagulantes y procoagulantes descienden mínimamente.<sup>9</sup> En otros estudios se ha mostrado que los factores más afectados fueron el fibrinógeno, FVII y FVIII con una retención de actividad entre el 72% y el 78%. En conjunto, los resultados revelaron una disminución de todos los factores de la coagulación, pero con una cifra de actividad que se encontraba dentro de los límites de referencia del PFC no inactivado.<sup>37</sup>

También se han analizado las características de los crioprecipitados obtenidos de plasma inactivado con amotosaleno, se observa un alargamiento del TTPA y del TP, una disminución de proteína C, ATIII,  $\alpha$ 2 antiplasmina y de la actividad proteasa del vWF, aunque tras corregir por el factor de dilución los resultados son comparables.<sup>37</sup>

En su uso clínico se demuestra que funciona adecuadamente *in vivo*, en pacientes con coagulopatías adquiridas

y congénitas, PTT y aquellos que necesitan la reversión de la anticoagulación con anticumarínicos. Numerosos estudios clínicos demuestran que el PFC tratado con amotosaleno es al menos tan efectivo como el estándar PFC.<sup>9</sup>

En los distintos estudios clínicos se han comunicado efectos adversos moderados tales como cefaleas, reacciones alérgicas, molestias gastrointestinales y reacciones febriles aunque fueron similares a los encontrados en la transfusión de plasma no tratado, en trasplantados hepáticos se describieron dos trombosis de arteria hepática con plasma inactivado y cuatro en el grupo control, dicho efecto no se atribuyó al uso de plasma.<sup>37</sup>

En el proceso de RP con RF para plasma se mezclan 35 ml de RF con una concentración de 500  $\mu$ M con una unidad de plasma en una bolsa de iluminación, tras lo cual la unidad se emplaza en un iluminador de luz UV (313 nm) que libera 6,24 J/ml en unos seis minutos, con una agitación lineal de 120 cpm. Posteriormente, el contenido se transfiere a la bolsa de almacenamiento.<sup>38</sup> La RF no se ha de eliminar del producto final. La RF

se une inespecíficamente a las proteínas plasmáticas, las proteínas más sensibles a la inactivación son el fibrinógeno, FXI, FVIII, FV y FIX (33%, 32%, 30%, 18% y 18% de pérdida, respectivamente); los inhibidores de la coagulación, PS, anti-trombina III y PC muestran menos variación (2%), mientras que la retención de vWF y ADAMTS-13 es de 99% y 88%, respectivamente.<sup>38</sup> El plasma tratado con RF cumple las recomendaciones del Consejo de Europa (CE) con estudios de validación externos que muestran niveles medios de FVIII coagulante de  $0.8 \pm 0.2$  IU/ml postiluminación. El almacenamiento a  $-30^{\circ}\text{C}$  durante dos años no disminuye significativamente la calidad, incluso se ha validado la inactivación de plasma previamente congelado.

El crioprecipitado elaborado de plasma tratado con RF sobrepasa los requerimientos del CE pues contiene  $95 \pm 21$  IU/unidad de FVIII y  $272 \pm 50$  mg/unidad de fibrinógeno.

En cuanto a su uso clínico se han empezado tres estudios observacionales en países europeos que evalúan el producto en el uso rutinario. En Polonia se han inactivado más de 10000 unidades de plasma hasta 2010 sin que se hayan registrado efectos adversos relacionados con el procedimiento. En Serbia se evaluó la corrección del INR tras el tratamiento con plasma inactivado con RF y se consiguió una disminución del INR de 0,49 (0,33-0,80).<sup>18</sup>

En la fase inicial de desarrollo encontramos, aún, el procedimiento de RP del plasma por medio de irradiación con UVC, no habiéndose validado todavía. Las condiciones serían similares a las de las plaquetas (ver más abajo), los datos

in vitro sugieren que la dosis de UVC para plasma sería  $1 \text{ J/cm}^2$  (conseguiría una RP óptima, con una buena retención de las proteínas de la coagulación). La reducción de factores se sitúa alrededor del 10%-20% (el más sensible es el FXI con una pérdida del 23%); estas pérdidas son similares a la de otros métodos de RP ya en uso para el plasma.<sup>20</sup>

## Plaquetas

La contaminación bacteriana de los CS constituye la principal causa de infección postransfusional; los concentrados de plaquetas son los componentes de mayor riesgo. Las medidas que los centros de transfusión pueden adoptar para disminuir este riesgo incluyen: la selección de donantes, la asepsia durante la venopunción, la eliminación de los primeros mililitros de la sangría, la aplicación de técnicas de detección de bacterias en los CS y el empleo de sistemas de RP. Las plaquetas, por su almacenamiento a  $20-22^{\circ}\text{C}$ , constituyen un medio en el que un pequeño inóculo de bacterias puede proliferar y llegar a alcanzar grandes magnitudes. La contribución de los sistemas de detección de bacterias en los componentes es indudable, pero tiene muchas limitaciones como su poca sensibilidad (medición de glucosa, pH, Gram) o su falta de utilidad en el momento previo a la transfusión (cultivo automatizado). El riesgo residual de reacciones sépticas tras emplear métodos de detección bacteriana disminuye en un 50%.<sup>39</sup> En la actualidad no se dispone de ningún sistema de detección de bacterias 100% sensible y rápido para ser aplicado en el momento previo a la transfusión.<sup>3</sup>

Los sistemas de RP, por su gran capacidad para reducir los niveles de contaminación bacteriana, constituyen la mejor estrategia para el problema de la contaminación bacteriana de los CS. La utilización de estos sistemas puede tener ventajas añadidas como la disminución de las reacciones transfusionales, la eliminación de la irradiación gamma y la prolongación hasta siete días del periodo de almacenamiento.<sup>39</sup> Sin embargo, la RP de patógenos puede aumentar el riesgo de sangrado leve o moderado y además no puede proteger de todos los patógenos.<sup>40</sup> La pérdida inherente de plaquetas que conllevan los sistemas de RP no explican *per se* el exceso de sangrado, quizás haya una alteración funcional de las plaquetas (por el daño del ADN mitocondrial) y una pérdida de viabilidad de una parte de las plaquetas.<sup>40</sup>

Para la RP en los CP se han descrito diferentes técnicas con utilización de luz ultravioleta. Una de ellas emplea un psoraleno, el S-59, en combinación con luz UVA. En este proceso fotoquímico el S-59 se intercala y se une a las cadenas nucleicas y tras la irradiación con luz UVA (320-400nm) convierte esta unión en irreversible dejando las cadenas con entrecruzamientos dando lugar a la inactivación del patógeno. Otro método utiliza las propiedades de una vitamina, la RF, que interactúa con las bases del ADN o del ARN y tras la irradiación con luz UV de banda ancha (265-370 nm) oxida la guanina y daña irreversiblemente los agentes patógenos. Un tercer procedimiento consiste en dos pasos con un tratamiento fotodinámico con tionina y/o luz para inactivar virus libres seguido de un tratamiento con

luz UVB a bajas dosis para inactivar los leucocitos y bacterias. La tionina tiene una alta afinidad especialmente por las regiones ricas en G-C aunque también la formación de radicales de oxígeno es importante.<sup>19</sup>

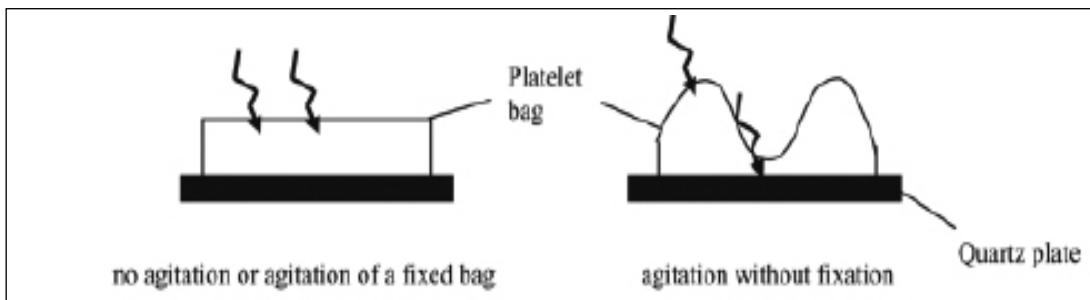
Una alternativa a estos métodos que necesitan un fotosensibilizador es la utilización de luz ultravioleta de onda corta (UVC) en combinación con una agitación fuerte (ver Figura 7) que conduce a la formación de áreas con finas capas dentro de la bolsa de irradiación de plaquetas para proporcionar la suficiente penetración de la luz UVC. Tras un tiempo desde su elaboración (30 min a 24 horas) las plaquetas se transfieren a una bolsa de irradiación de etil vinil acetato de 19x38 cm.<sup>20</sup> Posteriormente se agitan a 110 rpm y exponen a luz UVC (0,2J/cm<sup>2</sup>) durante menos de un minuto (generalmente 20-30 segundos) en un irradiador equipado con tres lámparas en la parte superior y tres en la parte inferior montadas bajo una placa de cuarzo (Figura 8). La longitud de onda es 254 nm y la frecuencia de agitación es 1,8 Hz. Tras la irradiación se trasvasa el contenido a la bolsa final (PVC plastificado con n butiril, tri n-hexil citrato).<sup>41</sup>

Los AN en los patógenos absorben la luz UVC formándose pirimidina ciclobutano y dímeros de pirimidina pirimidona que bloquean la replicación del AN.<sup>41</sup>

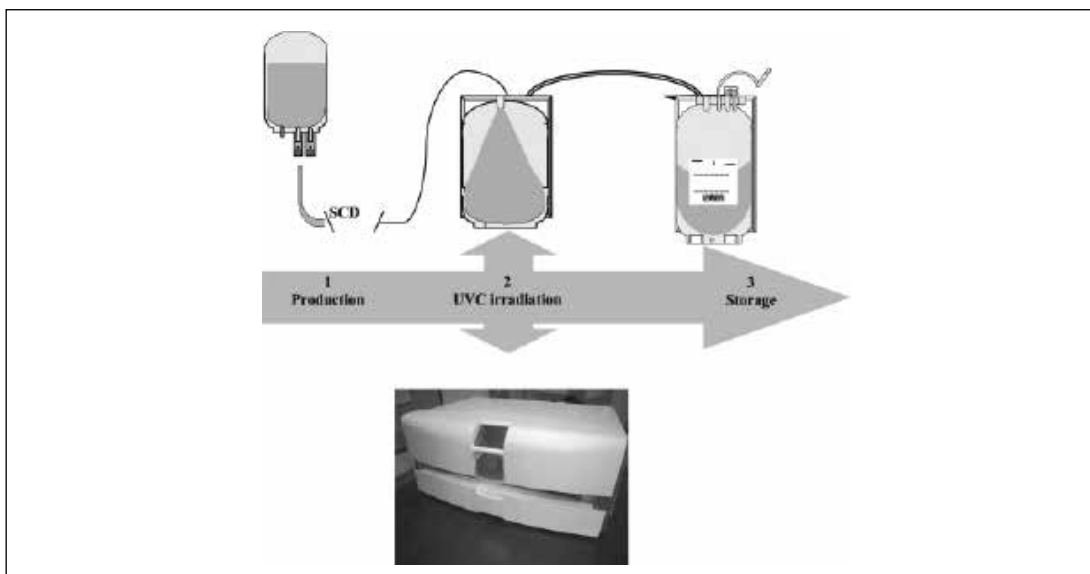
Los análisis *in vitro* de los CPs tratados exclusivamente con UVC no muestran diferencias en los recuentos de plaquetas o la LDH aunque sí revelan a los siete días cifras inferiores de glucosa y aumentadas de lactato y, a los cinco días cifras aumentadas de ATP y de CD62P.<sup>21,41</sup> Serán necesarios estudios

clínicos para determinar la funcionalidad y eficacia clínica de las plaquetas tratadas con UVC. Estudios preliminares de radiomarcaje en voluntarios sanos su-

gieren una reducción en la recuperación y supervivencia de estas plaquetas, en un rango similar al mostrado por otros sistemas (amotosaleno y RF).<sup>20</sup>



**Figura 7.** Efecto de la agitación sobre la penetración de la luz en la bolsa de plaquetas.<sup>20</sup>



**Figura 8.** Esquema del proceso de reducción de patógenos con UVC

Los únicos métodos aprobados en Europa actualmente para el tratamiento de RP para plaquetas son los sistemas de luz UV más amotosaleno o más RF.<sup>29</sup>

En el caso de los psoralenos, el CP por medio de una conexión estéril se hace pasar a través de la bolsa opaca de amotosaleno a una bolsa de iluminación. En las plaquetas la concentración propuesta de amotosaleno es de 150 mM/ml, con una fuente de UVA de 15-

20 mW/cm<sup>2</sup> durante 3-4 minutos que proporciona 3 J/cm<sup>2</sup>. El sistema actúa mejor con una concentración final de plasma de aproximadamente el 35% correspondiendo el resto del volumen a una solución aditiva (PAS III o PASIII<sub>m</sub>). Posteriormente se pasa a otra bolsa donde se incuba a temperatura ambiente durante varias horas con el CAD. Pasado este tiempo se traspara a la bolsa final de almacenamiento.<sup>4</sup>





**Figura 9.** Equipo necesario e iluminador para plaquetas y amotosaleno

Numerosos estudios *in vitro* han encontrado una disminución del número de plaquetas, en torno al 8-10%, tras el tratamiento con amotosaleno. Esto se debe tanto al repetido muestreo como al proceso de inactivación en sí, que obliga al trasvase del CP desde una bolsa inicial, a la bolsa de iluminación, a la bolsa del CAD y por último a la bolsa de almacenamiento (tres bolsas extras). También se ha descrito una caída del pH a niveles de 6,98 (aunque siempre cumpliendo especificaciones a lo largo de su almacenamiento), caídas de los niveles de glucosa, elevaciones de LDH y disminución de la respuesta al choque hipotónico. La P-selectina, la actividad de la caspasa 3 y la anexina V no ofrecen variaciones. Tras el almacenamiento algunos estudios muestran disminución para la agregación con colágeno y trombina pero no con ADP.<sup>9</sup>

En resumen, los estudios *in vitro* con psoralenos han mostrado en algunos parámetros diferencias significativas respecto al control. Sin embargo, esos parámetros se encontraban hasta el séptimo día de almacenamiento en valores aceptables que cumplían las especificaciones

establecidas. Los estudios pusieron de manifiesto una merma en las plaquetas en el CP tratado de alrededor del 10%.<sup>42</sup>

Los resultados de los estudios con radioisótopos mostraron que el tratamiento de CP con amotosaleno se asocia a una disminución en la recuperación y supervivencia de las plaquetas cuando se transfunden; sin embargo, el grado de reducción es lo suficientemente bajo como para que, *a priori*, se pudiera pensar que quizá no fuera clínicamente significativo.<sup>42</sup>

Dos estudios *in vivo* (euroSPRITE y SPRINT) mostraron incrementos de recuento corregidos (CCIs) inferiores en aquellos pacientes tratados con plaquetas con amotosaleno, sin embargo, este efecto es explicado y corregido por la menor dosis de plaquetas infundidas por unidad. Por la misma razón los pacientes que recibieron plaquetas tratadas requirieron más transfusiones. El sangrado y la refractariedad fueron los mismos para plaquetas tratadas y sin tratar.<sup>9</sup>

Los diferentes ensayos clínicos llevados a cabo han puesto de manifiesto que los CP sometidos a RP con amotosaleno son capaces de mantener la eficacia

hemostática similar a los controles a pesar de observarse, sobre todo cuando las dosis infundidas son inferiores al control, un incremento del recuento y un ICC significativamente menores. La RP se asocia a una reducción en la aparición de reacciones transfusionales agudas.<sup>42</sup> La RF con la luz (visible o del espectro UV) puede ser utilizada como RP en todos los productos sanguíneos, sin embargo, la mayoría de los estudios

hasta la fecha son de plaquetas. Tras la obtención del CP se transfiere a una bolsa de iluminación donde se mezcla con la RF y se ilumina con luz UV (313 nm) utilizando una energía equivalente a 6,2 J/ml con un volumen mínimo de producto iluminado de 150 mL para posteriormente añadirle 150 mL de solución PASIIM o dejar directamente un CP en plasma (Figura 10).<sup>43</sup>



**Figura 10.** Proceso de RP con RF

Los CP tratados con RF tienen una disminución de la concentración de las plaquetas por la dilución de la solución de RF 500µM, aunque con un recuento de plaquetas que permanece sin variaciones y es similar al de los controles durante el almacenamiento. Tras el tratamiento hay una disminución de la pO<sub>2</sub> (debido al mecanismo de acción de la RF), un leve incremento de la expresión de la P-selectina, una disminución de glucosa y del pH (manteniéndose por encima de 7) e incremento del lactato. El tratamiento con RF induce un incremento en la glicolisis plaquetar lo que se traduce en un aumento del consumo de glucosa y en una producción de lactato, aunque cumplen con niveles adecuados

de pH, P-selectina, ESC y respuesta al choque hipotónico.<sup>15</sup> La recuperación media de plaquetas in vivo es del 51,4% y la supervivencia media de la plaqueta es de 4,1 días.<sup>15</sup> La calidad y la función plaquetar están razonablemente conservadas en CP inactivados con RF en comparación con CP sin tratar, almacenados en plasma o en PAS. Los CP almacenados en PAS IIM en vez de en PAS III y tratados con RF, proporcionan una mejor conservación de las funciones cohesivas y adhesivas.<sup>43</sup> La calidad de las plaquetas tratadas con RF obtenidas desde distintos aparatos de aféresis o desde ST ha sido ampliamente evaluada. La capacidad del sistema permite tratar plaquetas en plasma o en PAS,

siendo la solución aditiva de plaquetas recomendada para el almacenamiento más prolongado la SSP+. La capacidad para tratar unidades de plaquetas hiperconcentradas (con poco volumen de plasma) que requieren de PAS tras el tratamiento, permite al usuario tratar productos dobles y triples y alicuotarlos para su almacenamiento. Las unidades tratadas pueden ser almacenadas hasta los cinco días.<sup>18</sup>

En cuanto a la experiencia clínica, en el RCT (MIRACLE trial) se evaluó la eficacia y seguridad de las plaquetas tratadas: el CCI en el grupo de tratamiento fue  $11725 \pm 1140$  y en el control  $16939 \pm 1149$ , demostrando no ser inferior estadísticamente. El CCI a las 24 horas fue  $6676 \pm 883$  para las plaquetas tratadas y  $9886 \pm 915$  para las no tratadas. Las transfusiones consideradas como efectivas (CCI a la hora  $>7499$  y a las 24 horas  $>4499$ ) fueron a la hora con las plaquetas inactivadas y con las plaquetas control el 71,3% y 84,1% respectivamente, a la hora y a las 24 horas postransfusión el 58,9 y el 68,1% respectivamente. No hubo diferencias entre los dos grupos para el número de días entre transfusiones, número de CP por pacientes o dosis de plaquetas transfundidas. No se detectaron efectos adversos graves relacionados con la RF.<sup>18</sup>

## Concentrados de hematíes

En comparación con el plasma y las plaquetas, la elevada viscosidad de los CH implica un mayor problema para los métodos fotosensibilizadores, ya que la hemoglobina absorbe la luz visible. Además, y debido a un mayor tiempo de almacenamiento que las plaquetas, el

daño celular es potencialmente mayor, los radicales libres pueden provocar hemólisis y liberación de potasio.<sup>8</sup>

Existen diversos sistemas de inactivación de patógenos en uso en Europa como procedimientos de rutina, sin embargo, actualmente no está disponible un sistema de RP para CH.<sup>44</sup>

Se desarrollan hoy diversos sistemas, uno de ellos basado en un compuesto denominado S-303.<sup>9</sup> El tratamiento con S-303 se lleva a cabo en un circuito cerrado de bolsas comunicadas. En las primeras fases de desarrollo, el sistema ideado sufrió diversas modificaciones. En este sistema inicial, primera generación modificado, tras transferir el CH leucorreducido en solución aditiva a la bolsa donde se producía la mezcla, se añadían los reactivos (GSH y S-303) previamente reconstituidos. La adición de ambos reactivos se efectuaba a través de sendos filtros de 0,2 mm, permaneciendo un período de 12 horas de incubación a  $20-25^{\circ}\text{C}$ <sup>22</sup>, tras la mezcla ésta se transfería a la bolsa del CAD, manteniéndose ocho horas en agitación a temperatura ambiente. La cantidad de glutatión es 184 mg a una concentración de 20 mM y se añadía al CH unos minutos antes que el S-303 (30 mg).<sup>4</sup> El tratamiento incluye glutatión para evitar la posible reacción con otras moléculas nucleófilas presentes en el CH (agua, fosfatos, proteínas) y así evitar que reaccione contra la superficie de los hematíes y con las proteínas del plasma.<sup>22</sup> En la fase actual de desarrollo, segunda generación, el sistema será implantado con utilización de dos sistemas desechables: uno para la reconstitución y mezcla del S-303 y GSH a la unidad de CH y un segundo para el procesamiento de los CHs.<sup>44</sup> El

set de procesamiento consiste en tres bolsas: una para la mezcla de los reactivos (CHs, GSH y S-303) junto con una solución diluyente (140 mL) que está en la bolsa previamente; una segunda bolsa para incubar los CHs y reactivos; y una tercera para el almacenamiento final del CH.<sup>44</sup> En la segunda bolsa ocurre la fase de incubación (a temperatura ambiente durante 18 horas) donde tiene lugar la inactivación (casi completa a los 30 minutos) y la descomposición del S-303 a productos no reactivos (entre 6 y 18 horas). Después se centrifuga el CH con los reactivos y sus metabolitos, eliminándose el sobrenadante, tras lo cual se resuspende el CH en su solución aditiva y se transfiere a la bolsa de almacenamiento donde permanece hasta 35 días. Al final del proceso, la unidad está inactivada para patógenos y leucocitos además de haberse eliminado el plasma residual.<sup>44</sup>

En la fase preclínica no se detectaron signos de toxicidad relevantes ni de otra índole. En la fase clínica I no se detectaron efectos adversos significativos, ni hubo evidencia de anticuerpos frente a los hematíes tratados. Durante un ensayo fase III se detectaron anticuerpos frente a los hematíes tratados en 2 de 17 pacientes a título bajo (contra la acridina y sin hemólisis). Por ello se suspendió la fase III. Posteriormente y para reducir el grado de unión del S-303 a la membrana del hematíe y eliminar la inmunorreactividad, se aumentó la concentración del glutatión y se mezcló previamente a la incorporación al S-303. De esta manera se disminuye la unión del S-303 a la superficie del glóbulo rojo en unas 50 veces y también la inmunorreactividad.<sup>4</sup>

La función de los hematíes tanto in vitro (% de hemólisis, potasio extrace-

lular, niveles de glucosa, ATP y 2,3 DPG, lactato) como in vivo (supervivencia y recuperación de hematíes marcados a las 24 horas) muestran resultados dentro de la normalidad.<sup>4, 22</sup>

El PEN 110 se utilizó en el proceso conocido como tratamiento con Inactina, el PEN 110 se añadía para una concentración de 0,1% y se incubaba a temperatura ambiente durante seis horas. Posteriormente se eliminaba el PEN 110 mediante un lavado con una solución salina no tamponada, a niveles por debajo del límite de detección.

La integridad de la membrana celular parece mantenerse en los hematíes tratados con Pen 110. La hemólisis fue inferior al 1% tras un almacenamiento de 42 días a 4°C. En sujetos sanos la recuperación de los hematíes tras la transfusión de unidades autólogas tratadas fue comparable al grupo control. No se detectó alteración de los antígenos de superficie del hematíe, como tampoco se identificó la formación de neoantígenos. Sin embargo, los ensayos de fase III fueron abandonados cuando se comunicó la formación de anticuerpos en los pacientes repetidamente transfundidos. Todos los demás estudios clínicos han sido suspendidos.<sup>45</sup>

En la búsqueda del fotosensibilizador que inactive patógenos sin inducir daños de hematíes se han investigado porfirinas cargadas positivamente, de ellas destaca la porfirina Tri-P(4). Es un fotosensibilizador anfófilico que combina una hemólisis baja con una eliminación eficiente de virus. Tras la iluminación en SAG-M y almacenamiento en AS-3 muestra parámetros conservados de calidad (in vitro e in vivo). Para una inactivación superior a 5 logaritmos de

distintos virus encapsulados y bacterias grampositivas y gramnegativas se requiere una dosis de luz  $360 \text{ kJ/m}^2$ , lo que implica cuatro veces más dosis que para el VSV, lo que incrementa el daño del hematíe. Es un método que tiene diversos inconvenientes como la escasa inactivación de virus encapsulados, la incapacidad de inactivar virus intracelulares y el aumento de la unión de IgG a la membrana del hematíe, lo que puede disminuir la recuperación in vivo y una menor supervivencia del glóbulo rojo tras la transfusión. Para mejorar este último inconveniente se podría añadir glutatión que impide la unión de la IgG y la formación de puentes entre los residuos de cisteína. Es improbable que esta porfirina se utilice para la RP en CH por las dudas de la calidad terapéutica del CH.<sup>45</sup>

## Costo efectividad

En un estudio realizado en España, para la evaluación del costo efectividad del plasma inactivado, se observó que este tipo de plasma prolongó la supervivencia ajustada a calidad en una hora y once minutos por paciente, con un ratio de  $2.156.398\$ \pm 257.587\$/\text{año}$  ganado de vida ajustado a calidad. El costo efectividad fue sensible a la media de edad del paciente, incremento de costo por unidad de plasma inactivada, frecuencia de transmisión de VIH y VHC y la mortalidad a corto término de los receptores del plasma debido a la enfermedad subyacente. Este estudio concluye que al comparar con los procedimientos médicos más comúnmente aceptados, este tipo de plasma produce poco beneficio en salud con un elevado

costo. Según los autores, esta pobre tasa costo-efectividad se debe al actual bajo riesgo infeccioso ligado a la transfusión y a la mayor edad y mal pronóstico a corto término de la mayor parte de los receptores de plasma.<sup>46</sup>

Custer et al. han desarrollado un modelo económico para evaluar el costo-efectividad del sistema de la RF, mitigar el riesgo de las infecciones asociadas a transfusión y otras amenazas no infecciosas. Para efectuarlo utilizaron el año de vida ajustado a calidad (QALY) como medida del costo de una intervención médica. El valor se basa en el número de años de vida que se ganan por una determinada intervención. El incremento tras la introducción de las plaquetas y plasma tratados con RF es  $1.423.000\$/\text{QALY}$  y de la ST  $1.276.000\$/\text{QALY}$ , incluso podría tener un costo inferior dado que no habría necesidad de efectuar el cultivo bacteriano o la gamma irradiación para las plaquetas. Si comparamos este costo con el de la introducción de las técnicas NAT para HIV y HCV ( $1,5\text{ millones}\$/\text{QALY}$ ) es inferior.<sup>47</sup>

Por último, Vamvakas plantea una comparación entre los distintos tipos de plaquetas según su elaboración y si han sido objeto de RP. Asegura que la RP de plaquetas incrementará el riesgo de complicaciones hemorrágicas moderadas y leves y que no protegerán de todos los patógenos. Comparadas con las plaquetas de pool, las de aféresis de donante único reducen, por lo menos, dos veces, el riesgo de todas las infecciones conocidas y emergentes asociadas a transfusión, así como la sepsis/bacteriemia asociada a transfusión sin aumentar el riesgo por otra vía. La menor exposición a donantes con las plaquetas de donante

único (incrementado si se combina con recogida de plasma y/o hematíes del mismo donante) para el mismo receptor a través del uso de aféresis de multi-componente podría también reducir el riesgo de TRALI. Para la elección entre plaquetas de donante único sometidas a RP o no, hay que cuantificar de manera precisa el riesgo aumentado de complicaciones infecciosas, así como de otros posibles efectos adversos secundarios a la RP y sopesarlos con los riesgos de las infecciones transmitidas por transfusión.<sup>40</sup>

## Referencias

- Solheim BG, Seghatchian J. Update on pathogen reiduction technology for therapeutic plasma: An overview. *Transfusion and Apheresis Science*. 2006;35:83-90.
- Bryant BJ, Klein HG. Pathogen inactivation. The definitive safeguard for the blood supply. *Arch Pathol Lab Me*. 2007; 131: 719-733.
- Palavecino EL, Yomtovian RA, Jacobs MR. Bacterial contamination of platelets. *Transfus Apher Sci*. 2010 Feb;42(1):71-82.
- Castrillo A. Mecanismo de acción y perfil de seguridad de la reducción de patógenos basada en amotosaleno y FRALE. Actualización en tecnología para la inactivación de patógenos basada en amotosaleno y FRALE. Lozano M, Cid J Eds. 2008. 35-58.
- Sandler SG. The case for pathogen inactivation of blood components. *Current opinion in Hematology* 2005; 12: 471-472.
- Allain JP, Bianco C, Blachman MA, Brecher ME, Busch M, Leiby D, Lin L, Stramer S. Protecting the blood supply from emerging pathogens: the role of pathogen inactivation. *Transfusion Medicine reviews*. 2005; 19:110-126.
- Solheim BG. Pathogen reduction of blood components. *Transfusion and Apheresis Science*. 2008; 39: 75-82.
- Rojo J, Picker SM, García JJ, GATHof BS. Inactivación de patógenos en productos sanguíneos. *Rev Med Hosp Gen Mex* 2006; 69: 99-107.
- Pelletier JP, Transue S, Snyder EL. Pathogen inactivation techniques. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2006;19(1):205-42.
- Prowse CV, Murphy WG. Reply and update: kills 99% of known germs. *Transfusion* 2011;51:447-8.
- Seghatchian J, Struff WG, Reichenberg S. Main Properties of the THERAFLEX MB-Plasma System for Pathogen Reduction. *Transfus Med Hemother*. 2011; 38(1): 55-64.
- Iudicone P, Andreoni M, Martorana M-C, Nicastrì E, Azzi A, Quintiliani L. Photodynamic Treatment of Fresh Frozen Plasma by Methylene Blue: Effect of HIV, HCV and Parvovirus B 19. *Infusion Therapy and Transfusion Medicine* 1999; 26:262-266.
- Gironés N, Bueno JL, Carrión J, Fresno M, Castro E. The efficacy of photochemical treatment with methylene blue and light for the reduction of *Trypanosoma cruzi* in infected plasma. *Vox Sang*. 2006;91 :285-91.
- McCullough J. Pathogen inactivation: a new paradigm for preventing transfusion-transmitted infections. *Am J Clin Pathol*. 2007 Dec;128:945-55.
- Goodrich RP, Edrich RA, Goodrich LL, Scott CA, Manica KJ, Hlavinka DJ, Hovenga NA, Hansen ET, Gampp D, Keil SD, Gilmour DI, Li J, Martin CB, Platz MS. The antiviral and antibacterial properties of riboflavin and light: applications to blood safety and transfusion medicine. En *Flavins: Photochemistry and photobiology*. Editors Eduardo Silva, Ana M Edwards. 2006: 83-113.
- Cardo LJ, Rentas FJ, Ketchum L, Salata J, Harman R, Melvin W, Weina PJ, Mendez J, Reddy H, Goodrich R. Pathogen inactivation of *Leishmania donovani infantum* in plasma and platelet concentrates using riboflavin and ultraviolet light. *Vox Sang*. 2006 ;90:85-91.
- Marschner S, Fast LD, Baldwin WM 3rd, Slichter SJ, Goodrich RP. White blood cell inactivation after treatment with riboflavin and ultraviolet light. *Transfusion*. 2010;50:2489-98.
- Marschner S, Goodrich R. Pathogen Reduction Technology Treatment of Platelets,

- Plasma and Whole Blood Using Riboflavin and UV Light. *Transfus Med Hemother*. 2011;38:8-18.
19. Terpstra FG, van 't Wout AB, Schuitemaker H, van Engelenburg FA, Dekkers DW, Verhaar R, de Korte D, Verhoeven AJ. Potential and limitation of UVC irradiation for the inactivation of pathogens in platelet concentrates. *Transfusion*. 2008 Feb; 48(2):304-13.
  20. Seltsam A., Müller TH. UVC Irradiation for Pathogen Reduction of Platelet Concentrates and Plasma. *Transfus Med Hemother*. 2011; 38: 43–54.
  21. Mohr H, Steil L, Gravemann U, Thiele T, Hammer E, Greinacher A, Müller TH, Völker U.A novel approach to pathogen reduction in platelet concentrates using short-wave ultraviolet light. *Transfusion*. 2009 Dec;49(12):2612-24.
  22. Arroyo JL, Barbolla L. FRALE y concentrados de hemáties. Actualización en tecnología para la inactivación de patógenos basada en amotosaleno y FRALE. Lozano M, Cid J Eds. 2008. 106-122.
  23. Lazo A, Tassello J, Jayarama V, Ohagen A, Gibaja V, Kramer E, Marmorato A, Billia-Shaveet D, Purmal A, Brown F, Chapman J. Broad-spectrum virus reduction in red cell concentrates using INACTINE PEN110 chemistry. *Vox Sang*. 2002; 83: 313-323.
  24. El-Ekiaby M, Sayed MA, Caron C, Burnouf S, El-Sharkawy S, Goubran H, Radosevich M, Goudemand M, Blum D, de Melo L, Soulié V, Adam, J Burnouf T Solvent-detergent filtered (S/D-F) fresh frozen plasma and cryoprecipitate minipools prepared in a newly designed integral disposable processing bag system. *Transfusion Medicine*. 2010; 20: 48–61.
  25. Castro E. Bases teóricas para la tecnología de reducción de patógenos. Actualización en tecnología para la inactivación de patógenos basada en amotosaleno y FRALE. Lozano M, Cid J Eds. 2008. 13-33.
  26. Bihl F, Castelli D, Marincola F, Dodd RY, Brander C. Transfusion-transmitted infections. *J Transl Med*. 2007 Jun 6;5:25.
  27. Pillonel J, Brouard C, Laperche S, Barin F, Bernillon P, de Valk H; Groupe de Travail Afssaps, EFS, INTS et InVS. Quantitative estimate of the risk of blood donation contamination by infectious agents. *Transfus Clin Biol*. 2009;16:138-45.
  28. Goodrich RP, Custer B, Keil S, Busch M. Defining “adequate” pathogen reduction performance for transfused blood components. *Transfusion* 2010;50:1827-1837.
  29. Cancelas JA, Rugg N, Fletcher D, Pratt PG, Worsham DN, Dunn SK, Marschner S, Reddy HL, Goodrich RP. In vivo viability of stored red blood cells derived from riboflavin plus ultraviolet light-treated whole blood. *Transfusion*. 2011; 51: 1460-1468.
  30. Mufti NA, Erickson AC, North AK, Hanson D, Sawyer L, Corash LM, Lin L. Treatment of whole blood (WB) and red blood cells (RBC) with S-303 inactivates pathogens and retains in vitro quality of stored RBC. *Biologicals*. 2010 Jan;38:14-9.
  31. Williamson LM, Cardigan R, Prowse CV. Methylene blue-treated fresh-frozen plasma what is its contribution to blood safety? *Transfusion*. 2003;43: 1322-1329.
  32. Klein HG. Pathogen inactivation technology: cleansing the blood supply. *Journal of internal Medicine*. 2005; 257: 224-237
  33. Wagner SJ. Virus inactivation in blood components by photoactive dyes. *Transfusion Medicine Reviews*. 2002;16:61-66.
  34. Nubret K, Delhoume M, Orsel I, Laudy JS, Sellami M, Nathan N. Anaphylactic shock to fresh-frozen plasma inactivated with methylene blue. *Transfusion*. 2011 Jan; 51: 125-8
  35. Larrea L, Calabuig M, Soler MA, Solves P, Mirabet V, Roig R. Our nine years experience in plasma inactivation. *Vox Sang*. 2007;93(suppl 1):167.
  36. Politis C, Kavallierou L, Hantziara S, Katsea P, Triantaphylou V, Richardson C, Tsoutsos D, An-agnostopoulos N, Gorgolidis G, Ziroyannis P. Quality and safety of fresh-frozen plasma inactivated and leucoreduced with the Theraflex methylene blue system including the Blueflex filter: 5 years' experience. *Vox Sang*. 2007;92:319–326.
  37. Cid J. Tratamiento fotoquímico con amotosaleno y luz ultravioleta aplicado a las unidades de plasma. Actualización en tecnología para la inactivación de patógenos basada en

- amotosaleno y FRALE. Lozano M, Cid J Eds. 2008. 89-106.
38. Larrea L, Calabuig M, Roldán V, Rivera J, Tsai HM, Vicente V, Roig R. The influence of riboflavin photochemistry on plasma coagulation factors. *Transfus Apher Sci.* 2009 Dec;41(3):199-204.
  39. Castro E. ¿Cuál es la realidad de La contaminación bacteriana en España? XX congreso de la SETS.
  40. Vamvakas EC. Risk-reduction strategies for platelet transfusion in the United States. *ScientificWorldJournal.* 2011;11:624-40..
  41. Sandgren P, Tolksdorf F, Struff WG, Gulliksson H. In vitro effects on platelets irradiated with short-wave ultraviolet light without any additional photoactive reagent using the THERAFLEX UV-Platelets method. *Vox Sang.* 2011 Jul;101(1):35-43.
  42. Lozano M.. Tratamiento fotoquímico con amotosaleno y luz ultravioleta aplicado a los concentrados de plaquetas. Actualización en tecnología para la inactivación de patógenos basada en amotosaleno y FRALE. Lozano M, Cid J Eds. 2008. 71-88.
  43. Galan AM, Lozano M, Molina P, Navalón F, Marschner S, Goodrich R, Escolar G. Impact of pathogen reduction technology and storage in platelet additive solutions on platelet function. *Transfusion.* 2011;51:808-15.
  44. Henschler R, Seifried E, Mufti N. Development of the S-303 Pathogen Inactivation Technology for Red Blood Cell Concentrates. *Transfus Med Hemother.* 2011; 38:33-42.
  45. Trannoy LL. Pathogen inactivation in cellular blood products by photodynamic treatment. ISBN: 978-90-9025274-2. Mayo 2010.
  46. Pereira A. Cost-effectiveness of transfusing virus-inactivated plasma instead of standard plasma. *Transfusion.* 1999;39:479-487.
  47. Custer B, Agapova M, Martinez RH. The cost-effectiveness of pathogen reduction technology as assessed using a multiple risk reduction model. *Transfusion.* 2010; 50:2461-2473.



# Reacciones hemolíticas transfusionales

VIRGINIA CALLAO MOLINA \*

ROBERTO ROIG OLTRA \*\*

## Introducción

Las reacciones hemolíticas relacionadas con la transfusión constituyen una de las causas más importantes de morbimortalidad asociada a la transfusión sanguínea.

Según el informe del programa británico Serious Hazards of Transfusion (SHOT)-2010,<sup>1</sup> de 1464 notificaciones de hemovigilancia recibidas, 58 (4%) casos se referían a reacciones hemolíticas (seis reacciones agudas que incluye un *exitus* y dos de ellas con morbilidad mayor asociada).

Los datos acumulativos de morbimortalidad asociada a la transfusión del programa SHOT, de 1996 hasta 2010,

\* *Médica Especialista en Hematología y Hemoterapia. Doctora en Medicina y Cirugía. Jefe de sección. Servicio de Inmunohematología. Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana. Valencia, España*

\*\* *Doctor en Medicina y Cirugía. Médico Especialista en Hematología y Hemoterapia. Máster Internacional de Alta Dirección Hospitalaria. Máster Universitario en Auditoría, Acreditación y Evaluación de las organizaciones y prácticas sanitarias. Director de la Cátedra Terumo de Medicina Transfusional y Terapia Celular de la Facultad de Medicina de la Universidad Católica de Valencia. Director del Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana. Valencia, España.*

ponen de manifiesto la existencia de 501 reacciones hemolíticas, de las cuales 50 resultaron en morbilidad mayor y 12 en muerte del paciente.

Según el Informe Español de Hemovigilancia 2010,<sup>2</sup> de 2486 notificaciones recibidas, 68 (4,3%) son reacciones hemolíticas (63 de tipo inmune). *De los cuatro casos con desenlace mortal, en los cuales la relación transfusión-reacción fue probable o segura, dos casos se deben a reacción hemolítica transfusional por incompatibilidad ABO.*

Los datos registrados en el Informe de Hemovigilancia de la Comunidad Valenciana 2010,<sup>3</sup> nos muestran la existencia de catorce reacciones hemolíticas de tipo inmune, todas ellas retardadas y con escasa repercusión para el paciente.

La incidencia de estas reacciones varía según autores (hemólisis aguda: 1-38.000 a 1-70.000 transfusiones, hemólisis retardada: 1-5.000 a 11.000 transfusiones).<sup>4</sup>

## Definición de reacción hemolítica post-transfusional (RHT)

Una reacción hemolítica transfusional se define como la reducción de la supervivencia de los hematíes después de una transfusión de sangre.<sup>2</sup>

Las manifestaciones de esta reacción pueden variar desde un escaso rendimiento postransfusional, hasta la aparición de un cuadro de hemólisis aguda grave con fracaso multiorgánico y muerte del paciente.<sup>5</sup>

Según el momento en que se produce la reacción, pueden diferenciarse

dos formas: **inmediata** (durante o inmediatamente después de la transfusión y hasta las 24 horas siguientes) y **retardada** (días o semanas postransfusional).

Según el mecanismo fisiopatológico que las produce, pueden ser **inmunológicas** o **no inmunológicas**, y según el tipo de hemólisis que se produce pueden ser **extravasculares** o **intravasculares**.

Las RHT de tipo inmunológico se definen por una destrucción acelerada de los hematíes, tanto los de la unidad transfundida, como los del receptor, o más rara vez ambos. Esta destrucción se debe a la interacción de los anticuerpos del plasma del receptor con antígenos presentes en los hematíes del donante (incompatibilidad mayor), o anticuerpos del plasma del donante con antígenos del receptor (incompatibilidad menor), o en raros casos, de anticuerpos presentes en el plasma del donante con antígenos eritrocitarios de otro donante, transfundidos de forma “simultánea” (incompatibilidad inter-donante).<sup>6</sup>

El tipo e intensidad de la hemólisis está influido por diferentes aspectos:<sup>7</sup>

- Clase y subclase de inmunoglobulina implicada.
  - IgM, IgG3 e IgG1 son capaces de estimular el sistema del complemento
  - La mayoría de anticuerpos de clase IgM reaccionan mejor a una  $t^a < 37^{\circ}\text{C}$ , por tanto no suelen ser clínicamente significativos (con la excepción de los ABO).
- Especificidad del anticuerpo
- Título del anticuerpo implicado y cantidad de hematíes incompatibles infundida.

## Reacciones hemolíticas inmediatas inmunológicas

### Descripción

Es el efecto adverso más temido asociado a la transfusión, debido a dos motivos principales:

- la importante morbi-mortalidad
- la dificultad para erradicar la causa más frecuente: el error humano

Los hematíes transfundidos son destruidos de forma inmediata por anticuerpos (habitualmente de clase IgM), presentes en el plasma del receptor (se produce una incompatibilidad inmunológica entre donante y receptor).

La causa más usual y más grave es **la transfusión de hematíes ABO incompatibles**, que se produce debido a errores de identificación en cualquiera de las fases de la cadena transfusional. Es la causa más frecuente de muerte evitable asociada a la transfusión (1/100.000-1/500.000 unidades transfundidas).

En el informe SHOT 2010 se reportan cuatro casos de transfusión ABO (mortalidad=0),<sup>1</sup> y en el informe español de hemovigilancia 2010 se evidencian 16 casos (2 casos con resultado de muerte del receptor).<sup>2</sup>

La hemólisis que se produce suele ser de tipo **intravascular**, mediada por anticuerpos naturales de clase IgM, con participación activa del complemento, que no solamente interviene en la destrucción de los hematíes sino que también está implicado en un proceso inflamatorio agudo que puede conducir al desarrollo de un fracaso multiorgánico que justifica la sintomatología del proceso.

Con menos frecuencia, la RHT puede deberse a la existencia de anticuerpos en

el plasma del donante, contra antígenos ABO de los hematíes del receptor.

También se han descrito casos debidos a anticuerpos diferentes a los del sistema ABO (anticuerpos irregulares) (Kell, Duffy, Kidd, Rh).<sup>7</sup>

### Fisiopatología

Tras el reconocimiento del antígeno por parte del anticuerpo presente en el plasma del paciente, se produce una activación del complemento, que, en dependencia del tipo de anticuerpo implicado, puede producir una destrucción inmediata intravascular de los hematíes, o bien un aumento progresivo de su eliminación en el sistema reticulo-endotelial hepato-esplénico.

Al producirse una **hemólisis intravascular** se desencadena un cuadro de choque y coagulopatía de consumo, asociada a un fallo multiorgánico, con afectación fundamentalmente renal y respiratoria.

El conocimiento de las bases moleculares de la inflamación y la trombosis han permitido tener una visión más certera del proceso:

- La activación del complemento induce la formación de anafilotoxinas (C3a y C5a) que conducen a la liberación de aminas vasoactivas (histamina y serotonina) y producción de vasodilatación e hipotensión.
- La liberación a la circulación de complejos estroma eritrocitario-anticuerpo, genera mediadores de la inflamación que producen alteraciones vasomotoras y de la coagulación.
- Hay un efecto tóxico renal por parte de la hemoglobina libre.
- Está demostrada la participación de citoquinas en la puesta en marcha

del proceso inflamatorio y en la aparición de CID, choque y hemorragia pulmonar (TNF, interleucina 1b, interleucinas 8 y 6).

### Sintomatología

Los signos y síntomas de las reacciones hemolíticas agudas son variados, pues no sólo dependen de la patogenicidad del anticuerpo implicado, sino también de la susceptibilidad individual del paciente.

En los casos de **incompatibilidad ABO**, el cuadro puede iniciarse a los pocos mililitros de sangre infundida. Si el enfermo está consciente puede quejarse de opresión precordial, dolor lumbar y/o en el punto de venopunción, malestar, sudoración, náuseas y vómitos. Puede aparecer hipotensión arterial, fiebre, taquicardia, oliguria y hemoglobinuria. En los casos más graves puede producirse hemorragia pulmonar, choque y muerte.

Si el enfermo está inconsciente, los signos más importantes son la hipotensión y la hemorragia incoercible por CID.

### Diagnóstico

Ante la sospecha de un episodio hemolítico agudo, la transfusión debe ser **interrumpida inmediatamente**, mientras se mantiene una fluidoterapia endovenosa.

Se debe contactar con el servicio de transfusión y enviar la unidad implicada, junto con una muestra de sangre y otra de orina postransfusionales, así como todos los registros del acto transfusional.

En el servicio de transfusión se deben seguir **tres pasos** fundamentales, encaminados a conocer el diagnóstico:<sup>8</sup>

1. Valoración de errores administrativos  
Se debe comprobar la existencia de errores de identificación en la mues-

tra del paciente, o en las bolsas de sangre.

Se deben revisar todos los pasos del proceso transfusional

2. **Detectar la hemólisis en una muestra postransfusión**, de forma visual, comparándola con la muestra pretransfusional

Valorar también la existencia de hemoglobinuria

3. **Detectar la incompatibilidad ABO**

- Realización de prueba de la antiglobulina directa, en ambas muestras pre y postransfusión. Si es positiva, realizar estudio del eluido.

- Recomprobación de los grupos ABO del receptor (en muestras pre y postransfusión) y de la unidad implicada

La positividad de alguno de estos pasos nos ayuda en el diagnóstico de una reacción hemolítica aguda inmune postransfusión.

Cuando el diagnóstico no es tan evidente, hay otros datos que pueden orientarnos:<sup>7</sup>

- Detección de anticuerpos irregulares en ambas muestras (pre y postransfusión).

- Repetición de las pruebas de compatibilidad realizadas.

- Repetir las pruebas de laboratorio (prueba directa de antiglobulina, detección de anticuerpos irregulares, cifras de hemoglobina, marcadores bioquímicos de hemólisis) en intervalos sucesivos para valorar la evolución del proceso.

- Examen de la sangre de la bolsa implicada: descartar hemólisis.

### Tratamiento

El tratamiento a seguir dependerá de la severidad del cuadro clínico, que suele

estar relacionado con el volumen de producto incompatible infundido.

La primera medida debe ser la **fluidoterapia** intensa que prevenga o corrija la hipotensión y **evite el fracaso renal**, asociando diuréticos como la **furosemida** en caso necesario. La utilización de **dopamina** a dosis bajas, cuyo efecto vasodilatador mejora la perfusión renal, es controversial.

Se debe monitorizar la perfusión renal con el control continuo de la diuresis. Si en la primera hora, tras el inicio del cuadro, no hay respuesta, puede deberse al establecimiento de una necrosis tubular aguda que requiera **diálisis**.

En el caso del desarrollo de un **coagulopatía de consumo**, es posible que se requiera la transfusión de plasma y plaquetas así como la administración de heparina (aunque su uso es controvertido).

Estos pacientes suelen necesitar ingreso en la unidad de cuidados intensivos, dado que su manejo suele ser complicado y requieren intervenciones.

### Prevención

Dado que la causa más frecuente son los errores administrativos, la mejor prevención reside en evitar y/o detectar errores en cada una de las fases del proceso transfusional.

Deben existir sistemas diseñados para evitar errores en la identificación del paciente y el producto sanguíneo desde el momento de la flebotomía hasta la administración del producto, pasando por todos los procesos de laboratorio.

La comprobación del grupo ABO en la cabecera del receptor es una herramienta muy eficaz en la prevención de estos errores.

Asimismo es imprescindible asegurarse de que todo el personal responsable del paciente es capaz de reconocer una posible reacción hemolítica aguda y actuar en consecuencia de forma rápida y eficaz. Debe haber protocolos prácticos y al alcance de todo el personal y asegurarse que reciben una adecuada formación.<sup>8</sup>

## Reacciones hemolíticas inmediatas no inmunológicas

### Descripción

Existen diversas situaciones capaces de provocar la destrucción de los hematíes de la unidad transfundida o del receptor durante el momento de la transfusión, sin la participación del sistema inmune.<sup>8</sup>

- Hemólisis de los hematíes transfundidos por calentamiento excesivo o congelación.
- Contaminación bacteriana de la unidad de sangre.
- Infusión de soluciones hipotónicas o determinados fármacos, en la vía de la transfusión.
- Mecánicas, por presión excesiva: agujas de extracción de calibre muy pequeño, válvulas cardíacas mecánicas, circulación extracorpórea.

### Sintomatología

Suele tratarse de hemólisis de tipo **intravascular**, por lo que pueden aparecer la sintomatología y alteraciones analíticas ya descritas en el capítulo anterior.

### Tratamiento

Parar inmediatamente la transfusión e investigar la causa de la hemólisis.

Se debe realizar el diagnóstico diferencial con una reacción hemolítica aguda de origen inmune.

## Reacciones hemolíticas inmunológicas retardadas

### Descripción

Se definen como la destrucción de los hematíes transfundidos, debido a una respuesta inmune anamnésica o secundaria (reacción hemolítica retardada postransfusional).<sup>8</sup>

Son las reacciones hemolíticas más frecuentes (se estima que son cinco a diez veces más comunes que las reacciones hemolíticas inmediatas), aunque su frecuencia está relacionada directamente con el esfuerzo que se realice en detectarlas. Las reacciones clínicamente detectables se estiman en aproximadamente 0,05 a 0,07 % de receptores.

Informe SHOT 2010: 27 casos.<sup>1</sup>

Los casos en los que se detecta la presencia de aloanticuerpos postransfusión, pero sin evidencia clínico-analítica de hemólisis, se incluyen en el concepto de: reacción serológica retardada postransfusional. En el informe SHOT 2010 se describen 35 casos.<sup>1</sup>

### Fisiopatología

Se producen en pacientes que habían sido sensibilizados frente a un determinado antígeno, por una transfusión o una gestación previa, en los que la concentración del anticuerpo es tan baja que no se detecta en el momento de la realización de las pruebas pretransfusionales.<sup>9</sup>

Cuando se transfunden hematíes que contienen dicho antígeno, se desarrolla

una respuesta inmune secundaria. Al cabo de pocos días, el anticuerpo experimenta un aumento importante en su concentración y es capaz de destruir los hematíes transfundidos.

Se ha reportado que el 29% de los aloanticuerpos “desaparecen” (se hacen indetectables) tras una media de diez meses y el 41% luego de más de cinco años.<sup>7</sup>

La hemólisis que se produce suele ser de tipo **extravascular** y por tanto con sintomatología subaguda, que rara vez compromete la vida del paciente.

## Anticuerpos más frecuentemente implicados

Habitualmente se deben a la existencia de anticuerpos reactivos a 37°C (la incidencia de anticuerpos clínicamente significativos es de **1%-3,5%** de pacientes hospitalizados).

Excepcionalmente se relacionan con anticuerpos fríos.

Las especificidades más implicadas son los sistemas antigénicos Rh (sobre todo C, c y E) y Kidd (más frecuente anti Jk<sup>a</sup>). Estos últimos se caracterizan por ser difícilmente detectables en suero cuando se encuentran a bajas concentraciones y por ser demostrables de forma transitoria.

En el programa SHOT 2010,<sup>1</sup> se han notificado veintisiete reacciones hemolíticas retardadas, asociadas a la presencia de cuarenta y cuatro nuevos anticuerpos, en la mayor parte de los casos relacionados con anti-Jk<sup>a</sup> (diez casos) y anti-E (once casos). En el 43% de casos, se han detectado múltiples especificidades.

En cuanto a las reacciones serológicas retardadas, de treinta y cinco casos, en diez se trataba de anticuerpos frente a antígenos del sistema Kidd (7 Jk<sup>a</sup> y 3 Jk<sup>a</sup>), 7 anticuerpos frente a antígenos Rh y 3 anti-Kell.

En el Registro de Hemovigilancia de la Comunidad Valenciana 2010,<sup>3</sup> los anticuerpos con más frecuencia detectados se relacionan con los sistemas Kidd, Rh, Duffy y Kell.

### Sintomatología

Esta reacción puede ocurrir a las 24-48 horas postransfusión, pero lo habitual es que se detecte más tarde (entre 5-14 días después de la transfusión). En el informe SHOT 2010: 9 días de media (rango 2-41).<sup>1</sup>

En la mayoría de casos no hay síntomas evidentes, únicamente una falta de rendimiento transfusional.

Los datos clínicos más frecuentes son bastante inespecíficos: febrícula, malestar general y ligera ictericia. Excepcionalmente pueden aparecer síntomas de hemólisis intravascular como hemoglobinemia/hemoglobinuria, oliguria/anuria y choque, sobre todo en pacientes con enfermedades graves de base (suelen estar asociados a la presencia de anticuerpos de especificidad anti-C y anti-Ce).

### Diagnóstico

La sospecha diagnóstica se produce ante la evidencia de una caída inexplicable de la hemoglobina (o una falta del rendimiento postransfusional esperado), con la aparición de una prueba directa de antiglobulina positiva y un patrón bioquímico de hemólisis (aumento de

LDH y bilirrubina indirecta). El escrutinio de anticuerpos irregulares suele ser en ese momento positivo (a diferencia del escrutinio previo a la transfusión).

El eluído es una de las pruebas básicas para el diagnóstico: sirve para demostrar la existencia de aloanticuerpos adheridos a la membrana de los hematíes transfundidos (en ocasiones, es la única forma de demostrarlo).<sup>10</sup>

### Tratamiento y prevención

No precisan habitualmente otro tratamiento que el sintomático.

Lo fundamental, aunque difícil, es la **prevención**, se debe realizar una buena revisión de la historia transfusional y gestacional de los receptores y utilizar técnicas inmunohematológicas sensibles y específicas que nos permitan detectar la mayoría de los anticuerpos clínicamente significativos.

En posteriores transfusiones es imprescindible respetar la compatibilidad frente al antígeno responsable del cuadro.

### Síndrome hiperhemolítico

El síndrome hiperhemolítico (SH) es una complicación seria e infrecuente de la transfusión de hematíes, descrita en individuos con anemia falciforme (AF).<sup>11</sup>

También se han reportado casos en pacientes con mielofibrosis, talasemia y anemia por trastorno crónico.

Se caracteriza por un cuadro de hemólisis intravascular grave postransfusional (tanto de los hematíes propios como de los transfundidos), no justificable por otras causas de hemólisis (habitualmente no se detecta la presencia de aloanticuerpos). La forma aguda suele

presentarse en los siete días postransfusión. Puede cursar con fiebre, dolor articular, ictericia, hemoglobinuria y síndrome anémico grave. Típicamente la cifra de Hb postransfusional cae por debajo del nivel pre-transfusional. Aunque la patogénesis no está bien definida, los posibles mecanismos incluyen la destrucción de los hematíes por macrófagos activados y la supresión de la eritropoyesis.

La sospecha diagnóstica es fundamental ya que continuar con el soporte transfusional puede exacerbar el cuadro y llegar a ser mortal.

El tratamiento con metilprednisolona dosis altas y gammaglobulina ev consigue frenar el proceso hemolítico. Otros tratamientos propuestos son la eritropoyetina, y para las formas refractarias, mielosupresores y esplenectomía.

## Referencias

1. Annual report Serious Hazards of Transfusion (SHOT) 2010. <http://www.shotuk.org/wp-content/uploads/2011/07/SHOT-2010-Report.pdf>
2. Informe Español de Hemovigilancia 2010. [http://www.bancosangreearagon.es/doc/Hemovigilancia\\_2010.pdf](http://www.bancosangreearagon.es/doc/Hemovigilancia_2010.pdf)
3. Informe de Hemovigilancia de la Comunidad Valenciana, 2010
4. Petz L. Garraty G. Hemolytic transfusion reactions. en: Immune hemolytic anemias. Second edition. 2004. p 541-567
5. Guía sobre la transfusión de componentes sanguíneos y derivados plasmáticos. SETS. 4ª edición, 2010
6. Martín-Vega C. Clasificación de las reacciones transfusionales. Reacciones hemolíticas. Curso residencial sobre hemovigilancia. European School of Transfusion Medicine. Barcelona, 2004-
7. Strobel E. Hemolytic Transfusion Reactions. *Transfus Med Hemother* 2008; 35:346-353.
8. Mark E. Brecher, Noninfectious Complications of Blood Transfusion. Technical manual AABB. 15th ed.2005:633-665.
9. Hendrickson JE, Hillyer CD. Noninfectious Serious Hazards of Transfusion. *Anesth Analg* 2009; 108:759 -69.
10. Vamvakas EC, Blajchman MA. Transfusion-related mortality: the ongoing risks of allogeneic blood transfusion and the available strategies for their prevention. *Blood* 2009; 113(15): 3406-3417.
11. Win N, New H, Lee E, de la Fuente J. Hyperhemolysis syndrome in sickle cell disease: case report (recurrent episode) and literature review. *Transfusion* 2008; 48:1231-8.



# Importancia clínica de los sistemas HLA, HPA y HNA en las reacciones adversas a la transfusión

CRISTINA NAVARRETE\*

## Introducción

La mayoría de las células en la sangre y en los tejidos expresan moléculas polimórficas (aloantígenos) que cuando son trasfundidos o trasplantados de un individuo a otro son reconocidos como foráneos por el sistema inmune del receptor. Algunos de estos antígenos se expresan en un solo tipo celular en sangre periférica, como los antígenos plaquetarios (HPA) o los antígenos de neutrófilos humanos (HNA), mientras que otros están presentes en la mayoría de células y también en el plasma, por ejemplo ABO y HLA.

El reconocimiento de estos aloantígenos lleva al desarrollo de anticuerpos

\* *Directora Nacional de los Servicios de Histocompatibilidad e inmunogenética, National Health Service Blood and Transplant, England Reino Unido. Profesora Asociada en Inmunología, Department of Immunology and Molecular Pathology, University College London, Reino Unido.*

(aloanticuerpos) y células efectoras, responsables de algunas de las más severas reacciones inmunológicas adversas a la transfusión. Algunas de estas reacciones ocurren como resultado de aloanticuerpos ya presentes en el receptor y que reaccionan con células en el producto transfundido (inmunidad activa), mientras que otras están mediadas por células o anticuerpos presentes en el producto transfundido y que reaccionan con células del receptor (inmunidad pasiva). Entre las primeras están las reacciones febriles no hemolíticas (Febrile Non-Hemolytic Transfusion Reaction o FNHTR) y la refractariedad plaquetaria inmunológica (Immunological Platelet Refractoriness or IPR). Entre las reacciones debidas a la transferencia pasiva de anticuerpos o células efectoras (e.g. HLA) específicas, están el daño pulmonar agudo mediado por la transfusión (Transfusion Related Acute Lung Injury or TRALI) y la reacción injerto contra huésped asociada a la transfusión (Transfusion Associated Graft versus Host Disease or TA-GVHD).

Algunas de estas reacciones son debidas a la presencia de Acs HLA, HPA o HNA específicos, pero también pueden ser inducidas por una combinación de estos aloanticuerpos presentes, ya sea en el receptor o en el producto transfundido.

En este capítulo se describirán algunas de las reacciones inmunológicas postrasfusionales más frecuentes mediadas por aloanticuerpos de los sistemas HLA, HPA y HNA y también reseñará algunos aspectos sobre su diagnóstico y prevención.

## Reacciones trasfusionales febriles no hemolíticas (FNHTR)

Esta es una de las reacciones postrasfusionales más frecuentes y se caracteriza por fiebre, escalofríos y un aumento en la temperatura de más de 1 ó 2°C que ocurre durante los primeros 30 a 60 minutos de iniciada la trasfusión. Otros síntomas, tales como rigor, enrojecimiento, taquicardia, náuseas y vómitos también pueden estar presentes. El diagnóstico diferencial de esta reacción es con las reacciones febriles hemolíticas, la contaminación bacteriana de los productos transfundidos y TRALI. Aunque estas reacciones pueden ser desencadenadas por una variedad de factores, anticuerpos en contra de los antígenos de los sistemas HLA, HNA y, en menor medida anticuerpos de alto título en contra, los HPA, presentes en el receptor, son los principales responsables de estas reacciones. Los anticuerpos en contra de los glóbulos blancos (que expresan HLA y HNA) se encuentran en un 70% o más de los pacientes que sufren estas reacciones. En la mayoría de los casos, es probable que el complejo anticuerpo / antígeno pueda activar directamente las células, para producir citocinas pirogénicas que conducen a la reacción febril.<sup>1-3</sup>

Desde la introducción de la leucodepleción universal (Universal Leucodepletion, ULD) se ha reportado una menor incidencia de FNHTR. Se ha descrito una disminución del 47,1% después de transfusiones de glóbulos rojos (pre ULD 0,34%, después de ULD 0,18%) y un 93,1% de disminución luego de

la transfusión de plaquetas (pre-ULD 2,18%, post-ULD 0,15%).<sup>4</sup>

El reducido número de leucocitos presente después de la leucodepleción, no solo reduce las dianas de estos anticuerpos sino que también disminuye la probabilidad de sensibilización en pacientes no previamente sensibilizados. La reacción FNHTR también puede ocurrir después de la primera exposición a plaquetas incompatibles en pacientes no previamente inmunizados, lo que indica que en estos casos, es probable que la reacción no sea mediada por anticuerpos sino por mediadores solubles como por ejemplo IL-8. La edad y temperatura de almacenamiento del producto transfundido también parece tener importancia ya que se ha demostrado una correlación lineal entre los niveles de citoquinas, el contenido de leucocitos y la duración de almacenamiento con mayor acumulación de citoquinas en plaquetas mantenidas a 22°C en comparación con los glóbulos rojos mantenidos a 4°C.<sup>5</sup>

El uso de productos leucodepletados y frescos debería evitar la mayoría de estas reacciones, incluidas aquellas mediadas por la acumulación de citoquinas, ya que la eliminación de leucocitos por debajo de  $5 \times 10^6$  evita la acumulación de IL-8 y citoquinas inflamatorias como la IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF en los glóbulos rojos y plaquetas. La presencia de CD40L soluble también ha estado implicada en este tipo de reacciones.<sup>6,7</sup>

### **Refractariedad Plaquetaria Inmunológica (IPR)**

La terapia de transfusión de plaquetas juega un papel importante en el manejo clínico de pacientes con trastornos

hematológicos y oncológicos, con trombocitopenia de duración intermitente o a largo plazo. Sin embargo, aproximadamente el 30%-50% de estos pacientes se convierten en refractarios a las transfusiones plaquetarias, definida por el no aumento adecuado de plaquetas ( $<10 \times 10^9$ /L), una hora o hasta 24 horas después de la transfusión. La refractariedad plaquetaria puede ser por causas inmunológicas o no inmunológicas, aunque en la mayoría de los casos es difícil separar estas dos causales, debido a la naturaleza de los pacientes afectados.<sup>8</sup>

Los factores no inmunológicos incluyen plaquetas viejas o mal almacenadas, sepsis, coagulación intravascular diseminada en el paciente y ciertas drogas como la anfotericina B y la ciprofloxacina. En contraste, la refractariedad inmunológica es normalmente debida a la presencia de aloanticuerpos específicos HLA de clase I, aunque HPA y aloanticuerpos ABO de alto título también han sido implicados. La mayoría de casos reportados debido a Acs HPA lo han sido en pacientes que también tienen Acs HLA aunque hay reportes de IPR debido a la presencia exclusiva de Acs HPA.<sup>9-11</sup>

Sin embargo, la presencia de estos Acs no siempre resulta en IPR, estos Acs pueden ser de bajo título o en contra de antígenos HLA de baja frecuencia y no comúnmente expresados en las plaquetas transfundidas. Sin embargo, como la destrucción de plaquetas se produce a través de las células monocitos / macrófagos que expresan FcR que se une preferentemente a las IgG3 y IgG1, la presencia de estos anticuerpos podría ser más relevante. Modelos animales han demostrado que el alorreconoci-

miento indirecto de péptidos derivado de los HLA promueve el desarrollo de anticuerpos IgG1.<sup>12</sup>

Las investigaciones de laboratorio en aquellos pacientes en los cuales se sospecha IPR, debería comenzar después de no obtener incrementos con plaquetas frescas, ABO idénticas y colectadas por aféresis y de donantes individuales. Si estas fallan en inducir incrementos, se debería proceder a investigar la presencia de Acs HLA específicos. Si estos están presentes se tipifica al paciente para los antígenos HLA y luego se recomiendan transfusiones con plaquetas HLA compatibles. Aunque las plaquetas expresan HLA-A, B y antígenos C, la mayoría de los laboratorios sólo investigan los Acs HLA-B. La significación clínica de los Acs HLA-C en la refractariedad inmunológica está aún por establecerse.

Hoy en día se usan varias estrategias para proveer plaquetas compatibles a pacientes con IPR incluidas: a) el uso de plaquetas con pruebas cruzadas compatibles, en estos casos el suero del paciente se investiga con una muestra de todas las plaquetas disponibles, b) la provisión de plaquetas compatibles basadas en el perfil de los Acs HLA presentes en el paciente. Estos dos métodos pueden ser útiles si el paciente no está muy sensibilizado pero tiene la desventaja de que puede inmunizar al paciente contra antígenos incompatibles y no es recomendado para aquellos dependientes de las transfusiones plaquetarias y que requieren de estos productos en el largo plazo: c) la transfusión con plaquetas HLA compatibles seleccionadas en función de los antígenos HLA en el paciente y el donante (3). En nuestra institución, los criterios de compati-

bilidad son los siguientes: a) Grado A, en el cual los cuatro antígenos (HLA-A y HLA B) son compatibles: b) Grado B, en el cual el paciente y el donante son incompatibles para uno o más antígenos (B1-B4) (Ver Tabla 1).

**Tabla 1:** Selección de plaquetas HLA compatibles

**A match = No incompatibilidad**

Paciente: A\*01-A\*02 / B\*08-B\*44

Donante: A\*01-A\*02 / B\*08-B\*44

Donante\* A\*01-A\*01 / B\*08-B\*08

Donante\* A\*02-A\*02 / B\*44-B\*44

\*Donante homocigótico

**B match (B1-B4) = Incompatibles**

Paciente: A\*01-A\*68 / B\*08-B\*27

B1 Donante: A\*01-A\*02 / B\*08-B\*27

B2 Donante: A\*01-A\*02 / B\*08-B\*07

Una de las limitaciones de este método es que requiere un panel de donantes de aféresis previamente tipificado para el sistema HLA clase I. El Servicio Nacional de Sangre Inglés cuenta con un panel de más de 12.000 donantes de plaquetas por aféresis lo que facilita la posibilidad de ofrecer estos productos compatibles.

Además de lo anterior, se han descrito, y en algunos casos utilizado, otros métodos alternativos como por ejemplo las transfusiones masivas de plaquetas ABO idénticas, la inmunoglobulina intravenosa (IVIg) y el intercambio de plasma. Más recientemente, se ha descrito el uso de plaquetas tratadas con ácido que ha resultado en incrementos adecuados en un paciente aloinmunizado.<sup>13</sup> De estos diferentes enfoques, la transfusión de plaquetas masiva parece ser la más exitosa.

## Lesión pulmonar aguda asociada a la transfusión (TRALI)

Este tipo de reacción postransfusional es rara pero cuando ocurre puede ser fatal. TRALI se desarrolla más comúnmente dentro de las primeras dos a seis horas luego de la administración de componentes sanguíneos en general con alto contenido plasmático. Los síntomas suelen incluir fiebre, hipotensión, escalofríos, cianosis, tos no productiva, disnea e hipoxia a veces graves. La radiografía de tórax muestra severo edema pulmonar bilateral y perihiliar y la infiltración pulmonar, sin cardiomegalia o la afectación de los vasos.<sup>14</sup> El diagnóstico diferencial incluye la sobrecarga circulatoria asociada a la transfusión (TACO), la reacción anafiláctica para transfusión y la contaminación bacteriana.<sup>15</sup> Más del 80% de los casos confirmados TRALI se asocian con la presencia en el producto transfundido de Acs HLA de clase I o de clase II con especificidades correspondientes al antígeno HLA presente en el receptor. Las especificidades de Acs HLA más frecuentes en los casos confirmados de TRALI son HLA-A2, DR4 y DR52.<sup>16, 17, 18</sup> Todos estos antígenos son expresados con alta frecuencia en pacientes de origen étnico caucásico europeo, aunque la frecuencia de antígeno no parece ser el único factor que influye en el desarrollo de TRALI. La frecuencia del antígeno HLA-A2 es alrededor del 50% en el Reino Unido y Acs HLA-A2, concordantes solo se ha identificado en 14% de los casos reportados al sistema de Hemovigilancia en el Reino Unido (Serious Hazards of Transfusions, SHOT). Acs HNA específicos, como por ejemplo HNA1, HNA-2 y 3-HNA

también han sido identificados.<sup>17</sup> Estos Acs suele hallarse más comúnmente en las donaciones de mujeres multíparas. Algunos casos de TRALI han sido atribuidos a Acs presentes en los pacientes y reacciona con las células o posiblemente con antígenos solubles transfundidos.

La mayoría de casos de TRALI implican la transfusión de productos que contienen plasma tales como sangre entera, plaquetas y plasma fresco congelado (fresh frozen plasma o FFP) pero hay reportes de algunas reacciones debidas a la transfusión de glóbulos rojos resuspendidos en solución aditiva, lo que indica que pequeños volúmenes de plasma que contienen anticuerpos son todavía capaces para mediar TRALI.

Modelos animales han demostrado que las reacciones TRALI son iniciadas por la activación de granulocitos por Acs (HLA o HNA) transfundidos y esta activación induce la liberación de anafilotoxinas, citocinas y quimiocinas que promueven la quimiotaxis de neutrófilos y su agregación en los pulmones. La reacción resultante induce un daño endotelial, y el aumento de la permeabilidad vascular pulmonar y la pérdida de líquido en los alvéolos que causa edema pulmonar no cardiogénico.<sup>11, 19</sup> En los casos clínicamente diagnosticados de TRALI, pero en los cuales no se detectan Acs, la activación de granulocitos parece estar mediada por sustancias liposolubles que se acumulan durante el almacenamiento de los productos. Como resultado, se ha postulado la existencia de dos posibles mecanismos envueltos en el desarrollo de TRALI, uno mediado por Acs y otro mediado por sustancias solubles. Ambos mecanismos implican la activación de los granulocitos y el desencadenamiento

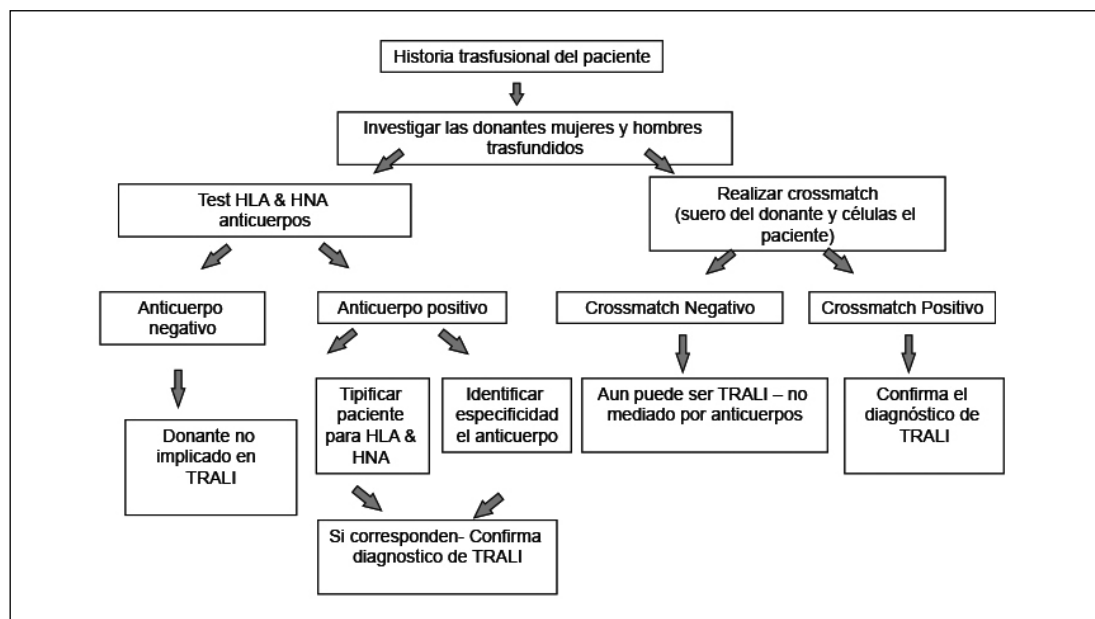
de un proceso inflamatorio que lleva a la captura de los neutrófilos en el pulmón y el resultante edema pulmonar.

Estudios retrospectivos demuestran que los productos de donantes implicados en las reacciones TRALI han transfundido en otros pacientes sin consecuencias clínicas graves, lo que sugiere que otros factores, tales como la condición predisponente clínica del paciente, como TTP o cirugía cardiovascular, pueden influir en el desarrollo de TRALI. Estas observaciones han llevado a la propuesta de la teoría de los “dos golpes” para explicar el desarrollo de TRALI, el primero involucra Acs o mediadores solubles y el segundo el estado clínico del paciente.<sup>19-21</sup>

Es probable que además de esto haya un número de otros factores que determinen la respuesta clínica de un paciente, como por ejemplo las características de los Acs, la naturaleza y la distribución del antígeno involucrado,

el grado de activación del complemento (en particular, la liberación de C5a), y el estado inmunológico del receptor.<sup>11</sup>

Nuestro protocolo para la investigación de los casos de TRALI requiere de una evaluación inicial de cada caso por un panel de expertos, incluidos un especialista en cuidados intensivos y uno en medicina transfusional. Una vez evaluados los casos se procede a las investigaciones de laboratorio que incluyen una prueba cruzada serológica entre el suero/plasma de los donantes y los granulocitos y/o linfocitos del paciente. Esta prueba, esencial para confirmar el diagnóstico, es en general logísticamente difícil de realizar y por lo tanto, en la mayoría de los casos, los donantes implicados son investigados para la presencia de Acs HLA y HNA y si estos son positivos se procede a tipificar al paciente para confirmar la especificidad de los Acs en su contra y así apoyar el diagnóstico de TRALI. (Ver Figura 1).



**Figura 1.** Estrategia para la investigación de casos de TRALI.

El tratamiento de TRALI incluye terapia respiratoria intensiva y apoyo circulatorio. En casi todos los casos es necesaria la suplementación con oxígeno, aunque la ventilación mecánica no siempre puede ser requerida. Algunos informes sugieren que la administración de corticosteroides puede ser beneficiosa, y que los antibióticos profilácticos también pueden ayudar. Sin embargo, a pesar de estas medidas, la mortalidad en estos pacientes sigue siendo del 6%.<sup>22</sup> La mayoría mejoran clínica y fisiológicamente dentro de dos o tres días con tratamiento de apoyo y sin daño residual.

En el 2003, el Servicio Nacional de Sangre Inglés llevó a cabo una evaluación de las posibles medidas que se podrían adoptar para reducir el riesgo de TRALI. Estas incluyeron:

a) La producción de PFC (FFP) de las donaciones recogidas de donantes masculinos.

b) El uso de plasma de un donante único hombre, para resuspender los pools de plaquetas.

c) La captación preferencial de los donantes hombres por aféresis, de tal manera que, a partir de 2008, el 80% del total de las plaquetas por aféresis se obtuvieron de donantes masculinos.

d) La investigación de Acs HLA y HNA en todas las donantes mujeres por aféresis.

Desde entonces, varios grupos han reportado los beneficios del uso de plasma de hombres para la transfusión. Eder et ál. revisaron 77 casos de probable TRALI y reportaron una disminución en los casos TRALI.<sup>23</sup> Otro grupo demostró que tras la introducción de PFC producido solo de donantes varones, hubo una reducción del 33% de los casos notificados.<sup>24</sup>

## Reacción injerto contra el huésped, asociada a la transfusión (Transfusion Associated Graft versus Host Disease or TA-GVHD)

Este tipo de reacciones es clínicamente parecida a la que se produce después de los trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas, pero en estos casos las reacciones ocurren luego de una transfusión que contiene productos celulares. La enfermedad injerto contra huésped asociada a la transfusión (EICH-AT) o TA-GVHD es provocada por la presencia de linfocitos viables en el producto transfundido, capaces de reconocer antígenos HLA en un receptor/paciente inmunocomprometido.<sup>25</sup>

También se han reportado casos de TA-GVHD en huéspedes no inmunocomprometidos,<sup>26,27</sup> particularmente en pacientes sometidos a cirugía cardiovascular, mujeres embarazadas, cirugía abdominal, pacientes con artritis reumatoide activa y casos de trauma. El síndrome clínico es de fiebre, diarrea, alteraciones de las pruebas de función hepática y una erupción cutánea característica, que afectan especialmente las palmas de las manos. Esos signos y síntomas aparecen normalmente luego de ocho a diez días después de la transfusión y son casi siempre mortales, pues la muerte ocurre dentro de un mes, en más del 90% de los casos.<sup>25</sup>

La incidencia es desconocida, pero se estima que la EICH-AT ocurre hasta en 1% de los pacientes con neoplasias hematológicas o enfermedades linfoproliferativas. Los casos de EICH parecen ser inferiores al número real esperado, debido a la falta de reconocimiento o a la ausencia de estudios de diagnóstico definitivo.

Los principales requisitos para el desarrollo de esta reacción son: a) la presencia de linfocitos viables en el producto transfundido, b) la presencia de haplotipos HLA compartidos entre el paciente y el donante, pero con otras diferencias que hacen que el donante reconozca al receptor como foráneo, c) la incapacidad del receptor para rechazar los linfocitos del donante. En un receptor normal, las células presentes en el producto son eliminadas por el sistema inmune del receptor.

Linfocitos CD4 + y CD8 + citotóxicos, así como clonas de células T CD4 + que son capaces de secretar el factor de necrosis tumoral (TNF- $\beta$ ) han sido aislados de la lesión de un paciente con EICH -AT. Otras citocinas como Il-2 y IFN  $\gamma$ , también han sido implicadas.<sup>28</sup>

El diagnóstico de TA-GVHD depende en gran medida de la presencia de células o ADN del donante en la sangre y/o tejidos afectados del receptor.

La detección de este quimerismo se puede realizar mediante análisis de ADN con marcadores, incluidos los genes HLA u otros marcadores genéticos.<sup>29</sup>

Idealmente, las muestras para la extracción de ADN se deben obtener del receptor (antes y después de la transfusión) y de los donantes implicados. La muestra posterior a la transfusión es difícil de conseguir debido al estado de pancitopenia del receptor. Tejidos alternativos para la extracción de ADN incluyen la piel (de las zonas afectadas y no afectadas), folículos pilosos o recortes de uñas. Si hay muestras posmórtem tales como médula ósea o bazo, también se pueden utilizar para extraer ADN.

No hay un tratamiento eficaz de la EICH y la tasa de mortalidad es extre-

madamente alta. Las terapias inmunosupresoras han sido utilizadas con poco éxito, incluidas la terapia con esteroides, la globulina antitimocítica, ciclosporina y ciclofosfamida y anticuerpos anti-T de células monoclonales. Estos tratamientos a veces son útiles en la EICH después del trasplante de células madres, pero no son efectivos en TA-GVHD. A la luz de la ausencia de cualquier tratamiento eficaz, la prevención de esta enfermedad es esencial.

El número crítico de células T que causan la EICH postrasplantes está entre  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^6$ /kg<sup>30</sup> pero el número preciso de linfocitos necesarios para iniciar la TA-GVHD no se conoce. La introducción de leucodepleción universal (ULD) ha resultado en una reducción significativa en el número de casos.<sup>31,18</sup> Sin embargo ULD no es un sustituto absoluto, ya que el número de linfocitos residuales todavía puede estar por encima de la dosis umbral. Esto ha conducido a la recomendación de que todos los productos sanguíneos celulares deben ser irradiados, con un mínimo de 25 Gy, antes de la transfusión a todos los pacientes en riesgo descritos<sup>32</sup> (ver Tabla 2).

En la actualidad, debido a la baja incidencia de TA-GVHD en pacientes inmunocompetentes que reciben donaciones de sangre de donantes no emparentados, la irradiación gamma no se aplica a todos los componentes celulares de la sangre para transfusión. Esta decisión se basa en el riesgo extremadamente bajo en tales receptores, y los costos y la logística de la irradiación universal, más el efecto sobre otros parámetros medibles en los componentes, tales como el contenido de potasio y la vida útil de los productos irradiados.



**Tabla 2.** TA-GVHD. Pacientes con riesgo**Alto riesgo**

- Desórdenes de inmunodeficiencia congénitos
- Enfermedad de Hodgkin's
- Neonatos con eritroblastosis fetal
- Neonatos prematuros
- Receptores de transfusiones intrauterinas
- Pacientes con trasplantes de células hematopoyéticas
- Pacientes que reciben donaciones de familiares de primero o segundo grado y que comparten antígenos HLA
- Pacientes que reciben transfusión de plaquetas HLA compatibles
- Infantes que reciben exanguinotrasfusiones

**Posible riesgo**

- Enfermedad non-Hodgkin
- Pacientes con tumores sólidos

**Potencial riesgo**

- Receptores de trasplante de órganos sólidos
- Pacientes con sida
- Pacientes tratados con antagonistas de la purina (fludarabina).
- Neonatos

## Púrpura trombocitopénica postransfusión (PTP)

La PTP se caracteriza por el desarrollo súbito de trombocitopenia de resolución espontánea que ocurre cinco a diez días después de una transfusión de sangre. Suele presentarse en pacientes con una historia de sensibilización, como el embarazo, y ocasionalmente en aquellos previamente transfundidos.<sup>33</sup> El diagnóstico se basa en la demostración de potentes aloanticuerpos plaquetarios en el paciente, por lo general Acs HPA-1a y ocasionalmente HPA-5.<sup>34</sup> PTP es una reacción que se observa más comúnmente en adultos y en mujeres con una proporción de 5:1 con respecto a los pacientes varones.

En la mayoría (más del 80%) de los casos, el recuento de plaquetas cae

alrededor de una semana después de la transfusión a menos de  $10 \times 10^9$  por litro. El uso de plaquetas negativas para los antígenos no es muy efectivo. Sin embargo se ha reportado que en caso de hemorragias agudas, el uso de plaquetas antígeno negativas (e.g. HPA1-a neg) puede ser de beneficio y debe ser considerado.

La hemorragia tiende a ocurrir en el tracto gastrointestinal y también es común la epistaxis. La hemorragia intracraneal es la causante de la mortalidad que se observa en estas reacciones y es de alrededor del 9%. El diagnóstico diferencial de PTP incluye la púrpura trombocitopénica autoinmune (PTI), sepsis y coagulación intravascular diseminada (CID), falla de médula ósea, trombocitopenia inducida por fármacos y la púrpura trombocitopénica trombótica (PTT).

La característica importante de la PTP es la destrucción de plaquetas autólogas por estos aloanticuerpos. Varias teorías se han propuesto para explicar la destrucción de las plaquetas autólogas antígeno negativos en PTP. La primera sugiere que complejos inmunes que se forman por la interacción de antígenos HPA (incluidos los antígenos solubles) en el producto trasfundido reaccionan con Acs en el paciente. Estos complejos se unen luego a las plaquetas autólogas a través de un receptor de alta afinidad Fc y median la destrucción de las plaquetas. Una segunda teoría sostiene que estos auto-anticuerpos se desarrollan luego de la exposición a un aloantígeno presente en las plaquetas incompatibles y que este anticuerpo reacciona luego no sólo con células HPA-1a positivas sino también con las HPA-1a negativas.

Una tercera sugerencia es que el antígeno HPA soluble, presente en el plasma de los donantes se adsorbe a las plaquetas de los receptores y estas son luego destruidas por los aloanticuerpos.

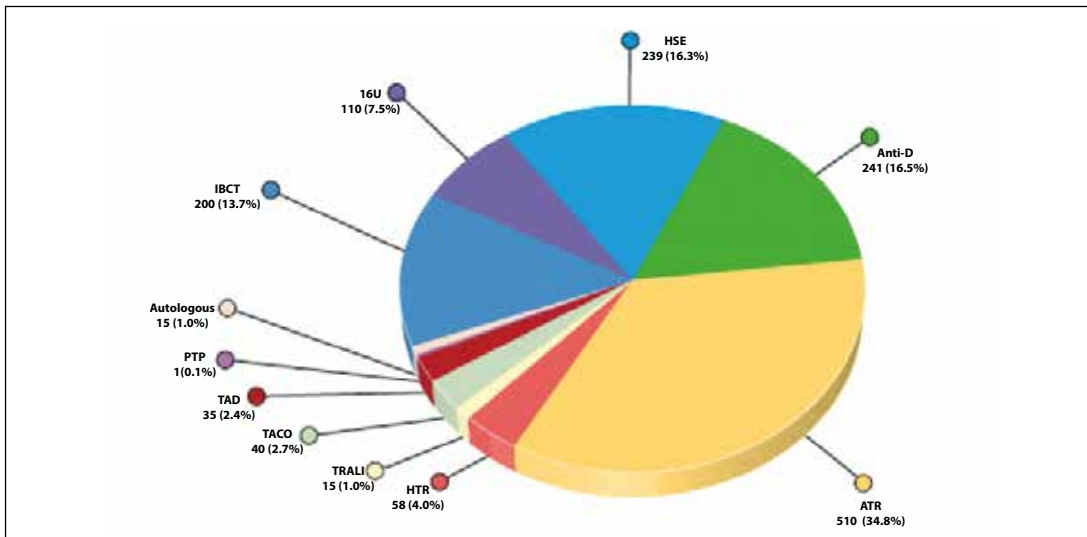
Los tratamientos para el PTP son difíciles de evaluar, debido a que estas reacciones son condiciones generalmente autolimitadas y los pacientes no tratados se recuperan en aproximadamente dos semanas. La mayoría de los pacientes con PTP son tratados con corticosteroides durante la fase aguda, en una dosis de 2 mg/kg de prednisolona, o una dosis equivalente de una preparación alternativa.<sup>3</sup> Hay poca evidencia de la eficacia de este tratamiento, aunque los esteroides pueden inhibir la función de las células retículo-endoteliales o,

alternativamente, puede resultar en una disminución de la producción de anticuerpos. La terapia más efectiva para la PTP es el intercambio de plasma con uso de plasma fresco congelado como reemplazo. Las infusiones de inmunoglobulina intravenosa (IgIV) se han convertido en la primera línea en la terapia de PTP, y una gran proporción de los pacientes responden bien.<sup>35</sup> Sólo a aquellos pacientes que no responden a la IVIG se les hace recambio de plasma. La recuperación de la PTP se produce 3-4 días después del inicio del tratamiento, con IgIV 0,5 g/kg durante dos días.

El pronóstico de estas reacciones es en general bueno, con recuperación espontánea en la mayoría de los casos. Las tasas de mortalidad se relacionan con la incidencia de hemorragia intracranial. La incidencia de recurrencia de PTP con transfusiones posteriores es muy baja, aunque, debido a la potencial gravedad de la reacción, los pacientes con una historia documentada de PTP deben recibir productos negativos para los antígenos correspondientes, cuando sea posible.

El resumen de reacciones trasfusionales reportadas al SHOT en 2010 se describe en la Figura 2.

Además de las reacciones postrasfusionales descritas más arriba, aloanticuerpos HLA, HPA y HNA son también responsable de otras condiciones clínicas como el rechazo a los trasplantes sólidos y el injerto tardío postrasplante de células hematopoyéticas, y las citopenias aloinmunes del recién nacido (ver Tabla 3).



**Figura 2.** Reacciones post-transfusionales en 2010. n = 1464

**Tabla 3.** Reacciones inmunológicas inducidas por HLA, HPA y HNA aloinmunización

#### HLA

- FNHTR
- Refractoriedad plaquetaria inmunológica
- TRALI
- TA-GVHD
- Rechazo al trasplante
- Injerto tardío de neutrófilos
- GVHD

#### HPA

- FNHTR
- Refractoriedad plaquetaria inmunológica
- Púrpura trombocitopénica post-trasfusional
- Trombocitopenia aloinmne del recién nacido (NAIT)
- Injerto tardío de plaquetas

#### HNA

- FNHTR
- TRALI
- Neotropenia aloinmune del recién nacido
- Injerto tardío de neutrófilos

## Resumen

Los aloanticuerpos en contra de los antígenos de los sistemas HLA, HPA y HNA son responsables de algunas de las reacciones postrasfusionales más severas. En algunos casos las células efectoras

inducidas por estos antígenos también están envueltas, como es el caso de la EICH asociada a la transfusión. Medidas para reducir las infecciones transmitidas por transfusiones han resultado en una disminución en las tasas de inmunización inducida por estos antígenos. Así

mismo, el uso preferente de donantes varones para producir productos que contienen altos niveles de plasma ha contribuido también a la disminución en la incidencia de algunas de estas reacciones. Sin embargo éstas aún ocurren, principalmente en pacientes multitransfundidos o mujeres previamente sensibilizadas a través del embarazo. En estos casos, los niveles y clases de Acs producidos son generalmente IgG con relevancia clínica.

Una mejor comprensión de las bases genéticas de las respuestas aloinmunes podría contribuir a identificar aquellos pacientes de alto riesgo de sensibilización que se beneficiarían con transfusiones con productos compatibles. Lo anterior requiere la disponibilidad de donantes regulares previamente tipificados para estos sistemas y de técnicas de laboratorio que permitan una detección rigurosa del estado aloinmune de los pacientes. La implementación de estas estrategias requiere recursos importantes y tal vez deberían orientarse a apoyar selectivamente a grupos específicos de pacientes en riesgo.

## Referencias

1. Brubaker DB: Clinical significance of white cell antibodies in febrile nonhaemolytic transfusion reactions. *Transfusion*, 1990; 30:733-737.
2. Heddle NM: Febrile non-haemolytic transfusion reactions to platelets. *Curr Opin Hematol.*, 1995; 2:478-483.
3. Brown CJ & Navarrete CV: Clinical relevance of the HLA system. *Vox Sang*, 2011; 101:93-105.
4. Paglino JC, Pomper GJ, Fisch GS, Champion MH, Snyder EL: Reduction of febrile but not allergic reactions to RBCs and platelets after conversion to universal pre-storage leukoreduction. *Transfusion* 2004; 44:16-24.
5. Heddle NM: Pathophysiology of febrile non-hemolytic transfusion reactions. *Curr Opin Hematol* 1999; 6:420-426.
6. Chudziak D, Sireis W, Pfeiffer HU, Henschler R, Seifried E, Bönig H: Accumulation of soluble inflammatory mediators between blood donation and pre-storage leucocyte depletion. *Vox Sang* 2009; 96:163-166.
7. Blumberg N, Gettings KF, Turner C, Heal JM, Phipps RP: An association of soluble CD40 ligand (CD154) with adverse reactions to platelet transfusions. *Transfusion* 2006; 46:1813-1821.
8. Kiefel V, König C, Kroll H, Santoso S: Platelet alloantibodies in transfused patients. *Transfusion* 2001; 41:766-770.
9. Sanz C, Freire C, Alcorta I, Ordinas A, Pereira A: Platelet-specific antibodies in HLA-immunized patients receiving chronic platelet support. *Transfusion* 2001; 41:762-765.
10. McVey M, Cserti-Gazdewich CM: Platelet transfusion refractoriness responding preferentially to single donor apheresis platelets compatible for both ABO and HLA. *Transfus Med* 2010; 20:346-353.
11. Contreras M & Navarrete C (2009) Immunological complications of blood transfusion. In: Marcela Contreras (ed) *ABC of Transfusion*, 4<sup>th</sup> Edition. Wiley-Blackwell, pp 61-68.
12. Bang WA, Speck ER, Blanchette VS, Freedman J, Semple JW: Unique processing pathways within recipient antigen-presenting cells determine IgG immunity against donor platelet MHC antigens. *Blood* 2000; 95:1735-1742.
13. Vassallo Jr RR: New paradigms in the management of alloimmune refractoriness to platelet transfusions. *Curr Opin Hematol* 2007; 14:655-663
14. Bux J: Transfusion-related acute lung injury (TRALI): a serious adverse event of blood transfusion. *Vox Sang* 2005; 89:1-10.
15. Skeate RC, Eastlund T: Distinguishing between transfusion related acute lung injury and transfusion associated circulatory overload. *Curr Opin Hematol* 2007; 14:682-687.

16. Chapman CE, Stainsby D, Jones H, Love E, Massey E, Win N, et ál.: Serious Hazards of Transfusion Steering Group: Ten years of haemovigilance reports of the transfusion-related acute lung injury in the UK, and the impact of preferential use of male donor plasma. *Transfusion* 2009; 49:440-452.
17. Win N, Massey E, Lucas G, Sage D, Brown C, Green A, et ál.: Ninety-six suspected transfusion related acute lung injury cases: investigation findings and clinical outcome. *Hematology* 2007; 12:461-469
18. Serious Hazards of Transfusion (SHOT), Annual Report 2010
19. Silliman CC, Ambruso DR, Boshkov LK: Transfusion related acute lung injury. *Blood* 2005; 105:2266-2273.
20. Kelher MR, Masuno T, Moore E, Damle S, Meng X, Song Y, et ál.: Plasma from stored packed red blood cells and MHC class I antibodies causes acute lung injury in a 2-event in vivo rat model. *Blood* 2009; 113:2079-2087.
21. Silliman CC, Boshkov LK, Mehdizadehkashi Z, Elzi DJ, Dickey WO, Podlosky L, et ál.: Transfusion-related acute lung injury: epidemiology and a prospective analysis of etiologic factors. *Blood* 2003; 101:454-62
22. Ware LB, Matthay MA: The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2000; 342:1334-1349.
23. Eder AF, Herron Jr RM, Strupp A, Dy B, White J, Notari EP, et ál.: Effective reduction of transfusion-related acute lung injury risk with male-predominant plasma strategy in the American Red Cross (2006-2008). *Transfusion* 2010; 50:1732-1742.
24. Nakazawa H, Ohnishi H, Okazaki H, Hashimoto S, Hotta H, Watanabe T, et ál.: Impact of fresh-frozen plasma from male-only donors versus mixed-sex donors on postoperative respiratory function in surgical patients: a prospective case-controlled study. *Transfusion*. 2009; Nov; 49(11):2434-41.
25. Williamson LM & Navarrete CV (2005) Immunomodulation and graft-versus-host disease. In: Practical Transfusion Medicine, 2nd Edition. M Murphy & D Pamphilon (eds) Blackwell Publishing Ltd, Oxford, pp195-207.
26. Agbaht K, Altintas ND, Topeli A, Gokoz O, Ozcebe O: Transfusion-associated review of the literature. *Transfusion* 2007; 47:1405-1411.
27. Rososhansky S, Badonnel MCH, Hiestand LL, Popovsky MA, Szymanski IO: Transfusion-associated graft-versus-host disease in an immunocompetent patient following after cardiac surgery. *Vox Sang* 1999; 76:59-63.
28. Hill GR, Krenger W, Ferrara JL: The role of cytokines in acute graft-versus-host disease. *Cytokines Cell Mol Ther* 1997; 3:257-266
29. Sage D, Stanworth S, Turner D, Navarrete C: Diagnosis of transfusion-associated graft-vs.-host disease: the importance of short tandem repeat analysis. *Transfus Med* 2005; 15:481-485
30. Link H: T-cell depletion of allogeneic peripheral blood stem cells. In Gorin N-C (ed): *Baillière's Clinical Haematology*, 1999
31. Williamson LM, Stainsby D, Jones H, Love E, Chapman CE, Navarrete C, et ál.: The impact of universal leukodepletion of the blood supply on haemovigilance reports of post-transfusion purpura and transfusion-associated graft-versus-host disease. *Transfusion* 2007; 47:1455-1467.
32. Chapman J, Finney RD, Forman K, Kelsey P, Knowles SM, Napier JAF, et ál.: Guidelines on gamma irradiation of blood components for the prevention of transfusion-associated graft-versus-host disease. *Transfus Med* 1996; 6:261-271.
33. Taylor C, Navarrete C & Contreras M (2011) Immunological complications of transfusion. In: A Maniatis, P van der Linden & J-F Hardy, (eds) *Alternatives to Blood Transfusion in Transfusion Medicine*, 2<sup>nd</sup> Edition. Wiley, pp 31-46
34. Christie D, Pulkrabek S, Putnam J, Slatkoff ML, Pischel KD: Post transfusion purpura due to an allo-antibody reactive with glycoprotein Ia/11a (anti HPA-5b). *Blood* 1991; 77:2785-2789.
35. Becker T, Panzer S, Maas D, Kiefel V, Sprenger R, Kirschbaum M. et ál. et ál. High dose intravenous immunoglobulin for post transfusion purpura. *Br J Haem* 1985; 61:149-155.



# Reacciones transfusionales no inmunes, alérgica y febril

OSCAR WALTER TORRES\*

## Introducción

La terapia transfusional es actualmente un tratamiento muy seguro, debido a las medidas llevadas a cabo durante la selección de donantes, los métodos de procesamiento y a las indicaciones estrictas. De todos modos, por ser un producto de origen humano y existir la posibilidad de transmisión de agentes patógenos, no está exenta de riesgos. Algunos están asociados al tipo de hemocomponentes (concentrado de GR, concentrado plaquetario, crioprecipitado, etc.) y otros son específicos del estado del receptor (inmunosupresión, prematuridad del neonato, pacientes sensibilizados etc.).

\* *Jefe de Unidad de Hemoterapia. Hospital Materno Infantil Ramón Sardá. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina.*

Con objeto de cuantificar el número, tipo, gravedad e imputación de la transfusión sanguínea en las reacciones adversas, es muy importante disponer de protocolos que contemplen la comunicación al servicio de la Medicina Transfusional para su estudio, tratamiento y prevención adecuados.

Estos protocolos son una base muy importante de los programas de hemovigilancia.

## Definición

Las reacciones adversas, asociadas con la terapia transfusional, son complicaciones que pueden presentarse de manera inmediata o tardía. El término de reacción transfusional se refiere a la

respuesta anormal o a efectos adversos que un paciente presenta o desarrolla con la administración de los diferentes componentes sanguíneos. La reacción transfusional se considera inmediata cuando sucede dentro de las primeras 24 horas y tardía cuando ocurre después de este lapso.

## Clasificación de las reacciones transfusionales

Los efectos adversos tienen diversas etiologías y pueden aparecer durante el acto transfusional, inmediatamente después, o posteriormente. Por ello, independientemente de su etiología, se clasifican en inmediatas y tardías (Tabla 1).

**Tabla 1:** Clasificación de las reacciones transfusionales

<b>Reacciones inmediatas</b> (Durante el acto transfusional o dentro de las 24 horas)	
<b>Inmunológicas</b>	<b>No inmunológicas</b>
Hemolítica aguda	Hemolítica aguda (mecánica, térmica, osmótica)
Febril no hemolítica	Febril no hemolítica
Alérgica	Sobrecarga circulatoria
Anafiláctica	Alteraciones metabólicas y térmicas
Edema pulmonar no cardiogénico (TRALI, por sus siglas en inglés)	Hipotensión asociada a transfusión
	Contaminación bacteriana
<b>Reacciones tardías</b>	
<b>Inmunológicas</b>	<b>No inmunológicas</b>
<b>Hemolítica</b>	Transmisión de infecciones
Púrpura postransfusional	Hemosiderosis
Enfermedad injerto-vs-huésped asociada a transfusión	
Inmunización a antígenos eritrocitarios, plaquetarios o leucocitarios	
Inmunomodulación	



## Reacciones transfusionales no inmunológicas

### Hemólisis

Los eritrocitos presentes en un concentrado de hematíes pueden sufrir la rotura de sus membranas por causas mecánicas y, siempre que se sospeche de una reacción hemolítica de tipo inmune, corresponde hacer el diagnóstico diferencial en busca de causas no inmunológicas. Los hematíes pueden hemolizarse por las siguientes causas:<sup>1</sup>

- Congelación inadvertida por baja temperatura en el refrigerador (0°C).
- Sobrecalentamiento de la unidad a temperaturas superiores a 50°C
- Adición a la unidad de sustancias hipertónicas (solución salina hipertónica) o hipotónicas (agua destilada).
- Infusión simultánea de solución de dextrosa al 5% u otros medicamentos.
- Infusión del concentrado de hematíes por vías muy estrechas y con presión. (ej. bombas de infusión en neonatos).
- Infusión de unidades vencidas.
- Inadecuada desgllicerolización

Aunque éstas sean características de un manejo inadecuado de la transfusión, también ha habido episodios raros de hemólisis como resultado de la infusión de hematíes provenientes de donantes con anomalías eritrocitarias. (ej. donaciones de individuos con hemoglobinopatías no diagnosticadas, o con déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenada). En estos casos los eritrocitos transfundidos pueden tener una sobrevida acortada en el paciente.

En cualquiera de las circunstancias anteriores, la hemólisis eritrocitaria llevará a la aparición de hemoglobine-

mia y hemoglobinuria generalmente asintomática, con falta de rendimiento transfusional.<sup>2</sup>

### Prevención

La mejor forma de prevenir esta reacción es optimizar los procedimientos de extracción, conservación y entrega de las unidades. Los congeladores, heladeras y calentadores de sangre deben tener controles de temperaturas adecuados y periódicos. Los procedimientos de congelamiento, descongelamiento y lavado de eritrocitos deben realizarse de acuerdo con estándares de calidad. Además, se debe evitar la administración de líquidos diferentes a la solución salina normal mezclados con los eritrocitos en el mismo acceso venoso, así como la utilización de agujas de calibre muy pequeño<sup>3</sup>

### Sobrecarga circulatoria asociada a transfusión (SCAT)

Si para los textos de medicina o cirugía general la sobrecarga circulatoria es un indicador de la gravedad de un problema clínico, la SCAT es un problema que en general la literatura le presta poca atención como complicación de la hemoterapia.<sup>4</sup> Las razones para esto se deben a: (I) la falta de 'vinculación' que perciben los especialistas en medicina transfusional entre la terapia transfusional y el edema pulmonar y (II) la baja morbimortalidad que causa la sobrecarga circulatoria.

### Cuadro clínico

Para los pacientes con actividad cardíaca disminuida, la infusión rápida o de gran volumen es la causa desencade-

nante de esta complicación. Dentro de la primera a segunda hora de iniciada la transfusión, el paciente desarrolla cualquiera o todos los siguientes síntomas y signos: disnea, ortopnea, cianosis, ingurgitación yugular y edema pedio.<sup>5</sup> Con frecuencia se observan taquicardia, hipertensión y pulso amplio. La auscultación pulmonar revela la presencia de rales y la radiografía de tórax muestra una silueta cardíaca aumentada e infiltración bilateral del pulmón.

### *Incidencia*

En pacientes sometidos a artroplastía de rodilla o cadera la ocurrencia de SCAT es frecuente. En un análisis de los pacientes de Medicare que recibieron transfusiones de sangre perioperatoria en cinco hospitales, los investigadores encontraron que el 1% desarrolló SACT.<sup>6</sup> Los pacientes que presentan esta complicación tenían más edad que los que no la mostraron (87 vs 77 años). Sorprendentemente, tuvieron una leve pérdida de sangre intraoperatoria (promedio = 375 ml) y un requerimiento transfusional de sólo una a dos unidades. Lo más importante es que estos pacientes tenían un balance positivo de líquido de 2,5 litros antes de recibir las unidades que provocaron la reacción. El sistema de Hemovigilancia de Quebec informó una incidencia de SCAT de 1:5561 concentrados de hematíes, con una tasa de mortalidad de 1-3%.<sup>7</sup> En otro análisis de pacientes de cuidados intensivos que no necesitaron asistencia respiratoria en el momento de la transfusión, en 25 de los 49 pacientes (51%) con edema agudo de pulmón se encontró una incidencia de SCAT de 1/356 por unidad transfundida,<sup>8</sup> en comparación con 1/534 por unidad para TRALI. Esta incidencia es

diez veces superior a lo publicado en el informe de Hemovigilancia mencionado. En resumen, estos informes indican que la SCAT es frecuente y clínicamente importante.

### *Diagnóstico*

Aunque hay claras diferencias clínicas entre SCAT y TRALI, estas entidades se confunden frecuentemente. En la Clínica Mayo, un 80% de los informes iniciales de TRALI fueron diagnosticados posteriormente como SCAT.

Desde hace algunos años, el laboratorio de análisis clínico proporciona una herramienta para mejorar el diagnóstico de SCAT. El péptido natriurético cerebral (PNC) es una neurohormona sintetizada y secretada por el miocardio ventricular, en respuesta a la distensión de volumen y la presión ventricular.<sup>9</sup> En la insuficiencia cardíaca congestiva, se elevan los niveles de PNC y por este motivo fue tomado como elemento diagnóstico de esta complicación.

Según Zhou y col., una relación de 1,5 en valor de PNC postransfusional/pretransfusional tuvo una sensibilidad del 81% y una especificidad del 89% para la determinación de SCAT.<sup>10</sup> En este estudio, sólo la disnea aguda, la elevación de la presión sanguínea sistólica postransfusional en valores > 30 mmHg y PNC elevado fueron estadísticamente diferentes entre pacientes y controles. Tobiano y col. encontraron comparable sensibilidad y especificidad en un estudio de treinta pacientes<sup>11</sup> con utilización de una relación pos y pre transfusional de 1,5. A partir de los signos y síntomas clínicos, el diagnóstico se completa con el antecedente transfusional, radiografía de tórax y electrocardiograma.

### *Velocidad de infusión*

La literatura se refiere a la “rápida infusión” como un factor que contribuye a la sobrecarga circulatoria, pero hay pocos datos sobre el tema. El Manual Técnico de la AABB recomienda una velocidad de infusión de 2 a 4 ml/min para concentrados de hematíes y un flujo “rápido” para plasma y plaquetas.<sup>12</sup> La falta de recomendaciones se ve agravada por el mal control de la velocidad de infusión en muchos entornos clínicos, ocasionado por el uso indebido y la falta de control de calidad de las bombas de infusión y por la escasez de supervisión del proceso de la transfusión.

### *Tratamiento*

La clave para un buen manejo de esta complicación transfusional es el rápido reconocimiento y tratamiento. Apenas se sospecha de una SCAT, se debe detener inmediatamente la transfusión. El tratamiento a seguir estará en relación con la gravedad de los síntomas. La administración de oxígeno suplementario, diuréticos por vía intravenosa para reducir el volumen de plasma y colocar al paciente en una posición sentada son las primeras opciones terapéuticas.<sup>3</sup> Cuando los síntomas persisten, puede indicarse la administración repetida de los diuréticos y la sangría terapéutica de 250 ml.

### *Prevención*

En pacientes susceptibles (neonatos, ancianos, insuficientes cardíacos), las transfusiones deben administrarse tan lentamente como lo permita la situación clínica. El paciente debe controlarse periódicamente durante y luego de los treinta minutos después de una

transfusión para detectar los cambios en los signos vitales y síntomas de sobrecarga.<sup>3</sup> Además, debe prestarse atención cuidadosa al balance líquido del paciente antes de la transfusión. La indicación de transfusión de concentrados de hematíes debe basarse en el cuadro clínico del paciente y sólo cuando es estrictamente necesario. Inclusive, puede plantearse la transfusión de unidades fraccionadas en volúmenes más pequeños, a una velocidad cuyo tiempo de infusión no exceda las cuatro horas.

## **Alteraciones metabólicas y térmicas**

### **Intoxicación por citrato e hipocalcemia**

#### *Fisiopatología*

La función del citrato de sodio presente en la solución conservante de las bolsas de sangre es quelar al calcio, produciéndose un consumo de hidrógeno y generación de bicarbonato. Por lo general es el hígado de individuos normales el encargado de metabolizar rápidamente el citrato. Cuando se administran grandes volúmenes de sangre (transfusión masiva, exanguinotransfusión) o fundamentalmente componentes plasmáticos (PFC, plaquetas) se genera una alteración de los mecanismos homeostáticos, produciéndose una alcalosis metabólica y la reducción del calcio iónico. La intoxicación por citrato es posible que aparezca en pacientes con hipotensión severa, hipotermia o falla hepática. Y también en aféresis terapéuticas o de donantes prolongadas.<sup>13</sup>

### *Manifestaciones clínicas*

La hipocalcemia por reducción del calcio iónico se manifiesta por cefalea, parestesias peribucal, contracciones musculares, temblores, fasciculaciones, falla ventricular izquierda transitoria, disminución del rendimiento cardíaco y prolongación del intervalo Q-T y del segmento ST, y depresión de la onda T en el electrocardiograma. Los enfermos transfundidos masivamente, aún con niveles bajos de calcio iónico, por lo general mantienen una adecuada función cardíaca, pero debe tenerse en cuenta que ellos suelen entrar en hipotermia, la que exacerba los efectos adversos de la hipocalcemia sobre la función cardíaca.<sup>14</sup>

### *Tratamiento y prevención*

En el contexto de una transfusión masiva, sobre todo si el paciente tiene una hepatopatía grave, el tratamiento debe efectuarse en función del valor de calcio iónico. También la reposición de Ca puede ser apropiada en pacientes tratados con recambios plasmáticos rápidos. Con niveles de citrato de 60 mg/mL puede ocurrir fibrilación ventricular irreversible.

Salvo en situaciones especiales, cuando el paciente tiene alteraciones del metabolismo del citrato, la hipocalcemia puede corregirse, con administración de calcio por vía oral, con disminución de la velocidad del procedimiento de aféresis o suspendiéndolo. En situaciones extremas, podría ser necesario administrar gluconato de calcio por vía endovenosa, puesto que no deberá utilizarse la misma vía de acceso de la transfusión o agregarse a la unidad de sangre, porque induce la formación de coágulos.<sup>15</sup>

### *Hipo e hiperpotasemia*

La hiperpotasemia postransfusional es rara en ausencia de hemólisis. El escaso volumen del plasma presente en una unidad de glóbulos rojos y el restablecimiento de la bomba de Na/K ATPasa después de la transfusión, reduce el riesgo de elevación del K. La concentración de este ión en una unidad de glóbulos rojos desplasmatisados puede variar entre <0,5 mEq y 5-7 mEq, lo cual depende del tiempo de almacenamiento. Sin embargo, se han comunicado casos de hipercalemia cuando la velocidad de infusión era mayor a 120 mL/min.

La pérdida del ATP de los eritrocitos almacenados altera la función de la bomba Na/K; otra de las lesiones por almacenamiento es la lisis del GR, la liberación del K intracelular y el aumento de su concentración a nivel plasmático. El valor de K plasmático puede alcanzar los 28 mEq/l en la sangre almacenada en CPDA-1 por 21 días.

Es importante considerar que existen mecanismos compensadores para impedir algún efecto indeseable asociado con la elevación del K en pacientes. A saber:

1. Eliminación del excedente plasmático de K, si la función renal está conservada.
2. Restablecimiento de la función de la bomba Na/K eritrocitaria, inmediatamente después de la transfusión y recuperación del K libre en plasma.
3. Gracias al catabolismo del citrato y a la formación de bicarbonato, se produce una alcalosis que disminuye el nivel de K plasmático debido a su intercambio por moléculas de hidrógeno intracelular, lo que compensa en parte la alcalosis metabólica del paciente.

En la transfusión de grandes volúmenes, es frecuente la hiperpotasemia por la infusión de componentes de la sangre fríos y a alta velocidad. La conjunción de hiperpotasemia, hipotermia e hipocalcemia puede causar arritmia cardíaca y contribuir a falla renal y acidosis severa. Sin embargo, algunos pacientes pueden experimentar hipocalcemia paradójica como resultado del metabolismo del citrato a bicarbonato y el aumento de la excreción urinaria de potasio. La elevación del K plasmático puede producir alteraciones electrocardiográficas y fibrilación ventricular en el paciente cuando los valores llegan a 10 mEq/l.

La hipercalemia puede ser problemática en pacientes con insuficiencia renal, hepática, con hipercalemia preexistente y que persisten hipotensos, poco perfundidos y acidóticos y además reciben grandes volúmenes de sangre almacenada. Otra población de pacientes lábiles a la hipercalemia son los neonatos prematuros, masivamente transfundidos durante cirugías cardíacas o exanguinotransfusión.

La hipocalcemia, sin embargo, es más común, porque los eritrocitos de la unidad, pobres en potasio, cuando son transfundidos, incorporan el ion desde el espacio extracelular, por un mecanismo mediado por el metabolismo del citrato.<sup>16</sup>

La hipocalcemia paradójica es una secuela reconocida y más común de la transfusión masiva que la hipercalemia. Estos enfermos pueden necesitar la administración de potasio.

#### *Tratamiento y prevención*

La hiperpotasemia no requiere tratamiento ni acciones preventivas específicas. A

lo sumo, se podría preferir la administración de concentrados eritrocitarios con no más de 7-10 días de efectuada la flebotomía, en cuanto a transfusiones masivas o exanguinotransfusión se refiere, pero no hay un sustento científico que lo avale fuertemente. Tampoco corresponde administrar unidades lavadas. Si las transfusiones deben ser administradas en alícuotas, puede utilizarse las que estén con fecha de vencimiento cercana.

#### **Hipotermia**

La temperatura de almacenamiento de los concentrados de glóbulos rojos es de 2-6°C. En general la sangre no requiere de un calentamiento previo a las transfusiones. Sin embargo, la transfusión rápida y masiva puede provocar hipotermia clínicamente significativa (temperatura corporal <35°C), particularmente en pacientes pediátricos durante una exanguinotransfusión. Se desconoce cuál es la incidencia de la hipotermia inducida por transfusión masiva, pero sí cuáles son los efectos que esto produce en el paciente.

La disminución de temperatura corporal a los valores antes mencionados puede inhibir el metabolismo del citrato, disminuir la función plaquetaria e interferir con la hemostasia normal y aumentar la afinidad de la hemoglobina para el oxígeno. Además, hay publicaciones sobre la ocurrencia de arritmias cardíacas y cambios electrocardiográficos en pacientes anestesiados que recibieron transfusiones masivas a bajas temperaturas.<sup>17</sup>

#### *Tratamiento y prevención*

El tratamiento de la hipotermia deberá centrarse en el aumento de la tempera-

tura corporal del paciente. El resto de las complicaciones (metabólicas, cardíacas y hemostáticas) también deben ser abordadas. Hay una variedad de equipos para calentamiento de líquidos y sangre, con los cuales los médicos deben familiarizarse para evitar complicaciones por su uso inadecuado. Ante la eventualidad de una transfusión masiva, deberá utilizarse un calentador de sangre con estricto control de temperatura y alarma, para evitar el calentamiento excesivo más allá de 38°C, lo que puede causar la lisis de los glóbulos rojos. Cualquier equipo para calentamiento de sangre debe estar sujeto a controles periódicos de temperatura.

Aun en la hipotermia leve (<1°C), se aumenta significativamente la pérdida de sangre en aproximadamente un 16% (4-26%) y se aumenta el riesgo relativo de la terapia transfusional en aproximadamente un 22% (3-37%). El mantenimiento de la normotermia perioperatoria reduce la pérdida de sangre y la necesidad de transfusión en cantidades clínicamente importantes.<sup>18</sup>

## Reacción febril no hemolítica asociada a transfusión (RFNHT)

### Introducción

La reacción febril no hemolítica asociada a transfusión (RFNHT) es una de las complicaciones más comunes de la transfusión.

Se la define como tal cuando en el transcurso de una transfusión o dentro de las cuatro horas de su realización, y sin cualquier otra causa, el receptor presenta una o más de las siguientes:

- Fiebre  $\geq 38^{\circ}\text{C}$  o un aumento de  $\geq 1^{\circ}\text{C}$  del valor térmico pretransfusional
- Escalofríos o sensación de frío
- Temblor

Estos síntomas podrán estar acompañados de malestar general, cefalea y/o náuseas. Debe tenerse en cuenta que estos signos y síntomas también pueden ser observados en la reacción hemolítica aguda, contaminación bacteriana o secundaria a la patología de base del paciente, por lo que se impone el diagnóstico diferencial para eliminar estas graves complicaciones.<sup>19</sup>

Es importante mencionar que a menudo los pacientes son tratados con antipiréticos, y entonces la RFNHT puede no estar asociada con fiebre.

Otro concepto a tener en cuenta es que estas reacciones son más frecuentes en pacientes politransfundidos y/o múltiparas.

### Incidencia

La incidencia de la RFNHT varía con la población de pacientes y el tipo de componente, su método de preparación y tiempo de almacenamiento. Así, las tasas de incidencia notificadas varían según el nivel de vigilancia y los criterios de diagnóstico. Hay una diferencia marcada en la frecuencia de las reacciones secundaria a la transfusión de glóbulos rojos y plaquetas. La incidencia notificada de las RFNHT de glóbulos rojos es aproximadamente 1 % de la población de un hospital general y superior en pacientes con neoplasias hematológicas, talasemia o anemia drepanocítica. La incidencia de RFNHT secundaria a la transfusión de plaquetas leucorreducidas prealmacenamiento es de aproximadamente 6-8%.<sup>20,21</sup>

## *Etiología*

### **RFNHT mediada por anticuerpos**

Es el mecanismo propuesto para las reacciones secundarias a las transfusiones de glóbulos rojos.

En este caso es una reacción de antígeno-anticuerpo entre anticuerpos del receptor (anti-HLA, anti-HNA y menos frecuentemente anti-HPA) y antígenos leucocitarios del donante y la posterior liberación de citoquinas. Las citoquinas liberadas son la interleucina 1b (IL-1b), interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral (FNT). Otra teoría propone que la reacción de antígeno-anticuerpo activa el sistema complemento, y estimula así los macrófagos del receptor para producir y liberar citoquinas.

### **RFNHT mediada por acumulación de citoquinas durante el almacenamiento**

Es el mecanismo propuesto para las reacciones asociadas con la transfusión de plaquetas. La acción está mediada por las citoquinas IL-1b, IL-6, FNT y posiblemente otros mediadores de la respuesta inflamatoria, cuando son liberadas por los leucocitos y se van acumulando en el plasma sobrenadante de las plaquetas durante su conservación. De este modo, cuando las plaquetas son transfundidas, se desencadenan los síntomas típicos de estas reacciones. Sin embargo, la leucorreducción prealmacenamiento no disminuyó totalmente la incidencia de estas reacciones, como podría esperarse si las citoquinas fueran originadas exclusivamente en los leucocitos. Se propone que muchos otros modificadores de respuesta inflamatoria, incluidas las citoquinas derivadas de plaquetas, quimoquinas, fragmentos de comple-

mento, histamina y lípidos, también se acumulan en los trombocitos durante el almacenamiento, y es posible que estos puedan desempeñar un papel en las reacciones residuales.<sup>22-23</sup> También, durante el almacenamiento hay liberación de ligandina CD40, que estimula a las células endoteliales para que sinteticen prostaglandina E2, con actividad similar a citoquinas pirogénicas.

### **Investigación de las RFNHT**

Los servicios de transfusión deben tener políticas claras que indiquen cuáles son los pasos a seguir cuando se sospecha de una RFNHT y cuándo se puede o no reiniciar una transfusión. El riesgo de reacciones hemolíticas asociado con la transfusión de glóbulos rojos y la contaminación bacteriana de las plaquetas, (y especialmente desde la introducción de la leucorreducción universal (LU) prealmacenamiento y la disminución resultante de la frecuencia de RFNHT), extrema las medidas de precaución que deben utilizarse si se plantea el reinicio de la transfusión. En todos los casos, esta eventualidad debe ser excepcional, sólo con órdenes específicas del médico prescriptor y acompañada de estrecha vigilancia del paciente durante el resto de la transfusión.

Dado que la fiebre puede ocurrir en otras reacciones adversas a la transfusión (reacción hemolítica aguda, tardía y contaminación bacteriana de un componente), estas complicaciones deben ser excluidas. También debe ejercerse el criterio clínico en función de los síntomas del paciente, la enfermedad de base y los antecedentes de reacciones a la transfusión.

### **RFNHT secundaria a transfusión de glóbulos rojos desplasmatisados**

Como las RFNHT son diagnosticadas por exclusión, algunos proponen que se considere a estas complicaciones como secundarias a las transfusiones de glóbulos rojos cuando los síntomas son típicos de una RFNHT leve a moderada (fiebre, escalofríos, malestar, etc.) y siempre que no hubieran claras evidencias administrativas o de laboratorio de una reacción de tipo hemolítica. Sobre la base de la LU prealmacenamiento, otros prefieren que las unidades de glóbulos rojos implicadas en una presunta RFNHT sean cultivadas para descartar contaminación bacteriana.

### **RFNHT secundaria a la transfusión de concentrados plaquetarios**

Algunas instituciones tienen las mismas políticas que en el ítem anterior, pero con la premisa que si los síntomas son más severos, las plaquetas deberán ser devueltas al servicio de transfusión para efectuar tinción de Gram y el cultivo correspondiente. Como los concentrados plaquetarios se almacenan a  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  durante cinco días, tienen una mayor incidencia de reacciones postransfusionales de tipo séptico.<sup>24</sup>

### **Tratamiento**

El tratamiento de las RFNHT consiste en erradicar la fiebre con un antipirético como acetaminofeno o paracetamol. Algunos autores mencionan el uso de la meperidina en pequeñas dosis; también ha sido empleado para tratar los temblores severos que pueden ocurrir en la RFNHT. Otra estrategia utilizada por algunos médicos es premedicar con paracetamol a los pacientes con antece-

denes de dos presuntos episodios de RFNHT, aunque su eficacia no ha sido bien estudiada.

Si se tiene en cuenta la fisiopatología de esta complicación, queda muy claro que la administración de difenhidramina o corticoides (como tratamiento o prevención) no tiene asidero. En lo posible, evitar más transfusiones hasta tanto el servicio de transfusión haya completado la investigación sérica y determinado la causa de la reacción.

### **Prevención**

Algunos países han adoptado la LU prealmacenamiento, procedimiento que elimina los leucocitos de los componentes eritrocitarios y plaquetas como parte del proceso de la preparación de componentes. La LU a razón de  $\leq 5 \times 10^6$  leucocitos por componente puede disminuir la ocurrencia de la RFNHT de componentes globulares y plaquetas.<sup>25</sup>

Paglino y col. publicaron una disminución de la incidencia de la RFNHT del 47,1% en las transfusiones de glóbulos rojos (pre-leucorreducción: 0,34% y 0,18% post-leucorreducción) y de 93% en las transfusiones de plaquetas (pre-leucorreducción 2,18% a 0,15% post-leucorreducción).<sup>27</sup>

Considerando que la LU prealmacenamiento no puede prevenir la acumulación de otros mediadores químicos de la inflamación (IL-8, C3a y C4a) de los concentrados plaquetarios, se podrían prevenir las RFNHT con la disminución del volumen del plasma sobrenadante del producto, antes de iniciar la transfusión. Actualmente esta estrategia no es usada de rutina, aunque se ha demostrado su eficacia en la prevención de reacciones severas a las transfusiones de plaquetas.<sup>26</sup>



La transfusión de productos “frescos” leucorreducidos también ayuda a la prevención de la mayoría de las RFNHT debidas a acumulación de citoquinas durante el almacenamiento, ya que se evitaría la acumulación de citoquinas como IL 1 $\beta$ , IL-6, FNT y moléculas solubles de CD40L tanto en los concentrados plaquetarios como en los de glóbulos rojos.<sup>28</sup>

En los países en donde no es obligatoria la LU, el servicio de transfusión debería participar en el desarrollo de protocolos para este procedimiento, de manera que pacientes con determinadas patologías que demanden transfusiones, podrían presentar RFNHT y por lo tanto deberían recibir componentes celulares leucorreducidos por filtración, prealmacenamiento o por lo menos al pie de cama.<sup>29</sup>

## Reacciones alérgicas y anafilácticas

La designación de una reacción transfusional como alérgica, anafilactoidea ó anafiláctica requiere de la interacción entre un alergeno y un anticuerpo preformado del tipo IgE.

El alergeno es un antígeno exógeno, usualmente es una proteína que se encuentra en el plasma del hemocomponente, al cual el receptor fue previamente sensibilizado.

La reacción antígeno-anticuerpo ocurre en la superficie de estas células, activándolas e induciendo la liberación de mediadores del proceso anafiláctico responsables de los signos y síntomas de tipo cutáneo, respiratorio, cardiovascular y gastrointestinal. Las reacciones transfusionales que ocurren como con-

secuencia de este mecanismo fisiopatológico varían en severidad, desde una leve urticaria a una caída brusca de la tensión arterial, broncoespasmo ó edema laríngeo a una hipotensión intratable y choque. Las reacciones urticarianas moderadas se observan en el 1% al 3% de las transfusiones plasmáticas, mientras que el choque anafiláctico ocurre en una de cada 20.000 a 47.000 unidades de sangre o hemocomponentes transfundidos<sup>30</sup>

### Incidencia

La urticaria postransfusional es un evento relativamente común (1,1-3%).<sup>2</sup> Se dice que la frecuencia de reacciones anafilácticas severas es muy baja. En una serie, la incidencia fue de 1/20.000 unidades transfundidas<sup>25</sup> y en otra de 1/47.000 unidades.<sup>31</sup>

### Fisiopatología

Un anticuerpo anti IgE preexistente en el suero de un receptor de una transfusión es dirigido contra una proteína sérica, pudiendo reaccionar con la correspondiente proteína plasmática del hemocomponente administrado y causar una reacción de hipersensibilidad inmediata tipo I o anafilaxia. La fisiopatología de esta reacción, tal como se la describe en los tratados de inmunología<sup>32</sup> puede explicar completamente todos los signos y síntomas de las reacciones transfusionales anafilácticas y anafilactoideas.

Sucintamente, las IgE adheridas a la superficie de los mastocitos y basófilos por medio de receptores Fc de alta afinidad, están entrecruzadas por el antígeno. Las células son activadas por este mecanismo, liberando varios

mediadores primarios preformados de la anafilaxia, como también mediadores secundarios de síntesis reciente. La histamina, los leucotrienos  $C_4$  y  $D_4$ , la prostaglandina  $D_2$  y el factor de activación plaquetaria, determinan la contracción de los músculos lisos bronquiales e incrementa también la permeabilidad vascular y la secreción mucosa de las glándulas bronquiales y nasales. Las enzimas (proteasas e hidrolasas ácidas) al actuar sobre proteínas precursoras, generan quininas y componentes activados del complemento (C3a). Los eosinófilos y neutrófilos son atraídos a través de los respectivos factores quimiotácticos (leucotrieno  $B_4$  y factor de agregación plaquetaria.) y el FNT- $\alpha$  e IL-4. Algunos de los mecanismos probables de estas reacciones se describen a continuación.<sup>33</sup>

### Anticuerpos dirigidos hacia las IgA

Algunos individuos tienen niveles séricos y secretorios de IgA extremadamente bajos y parecen carecer de ambos determinantes isotípicos (cadenas pesadas  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$ ) de los anticuerpos IgA. Los anticuerpos específicos de clase están habitualmente asociados con reacciones anafilácticas severas. Los individuos con déficit congénito de IgA (<0,005 mg/dl) pueden sintetizar anti IgA específica de clase cuando se los expone a IgA (transfusiones o embarazos) y también a tener reacciones transfusionales anafilácticas o anafilactoideas, si poseen estos anticuerpos.

Desde la perspectiva de la práctica de la medicina transfusional, sólo los individuos con niveles de IgA sérica

<0,05 mg/dL pueden ser considerados como "IgA deficientes" y por lo tanto ser candidatos a donaciones de hemocomponentes con déficit de IgA.

Esta complicación postransfusional puede aparecer luego de la transfusión en cualquier hemocomponente y/o hemoderivado que contenga trazas de IgA.

Aproximadamente un tercio de los individuos deficitarios en IgA tienen anti IgA específica de clase (IgG o IgM) en su circulación.<sup>31</sup>

### Anticuerpos preexistentes dirigidos contra otras proteínas séricas

De manera similar a lo que ocurre en individuos deficitarios de IgA, un paciente puede carecer de alotipos específicos de otras proteínas séricas y podría formar anticuerpos IgG ó IgE contra dichos alotipos, con posterioridad a la exposición al plasma de otros individuos por transfusión ó después del embarazo.

Por lo que sería lógico pensar en que anticuerpos IgG e IgE presentes en el suero de un receptor podrían reaccionar con las proteínas del plasma (IgA e IgG, albúmina, haptoglobina, alfa<sub>1</sub> antitripsina, transferrina, C3, C4, etc.) provenientes de hemocomponentes transfundidos y causar una reacción anafiláctica.

### Transfusión de alergenos

Otra eventualidad sería que los hemocomponentes transfundidos pudieran contener alergenos a los que el paciente pudiera haber estado presensibilizado, tal como drogas (penicilina o aspirina), productos químicos utilizados en la producción o esterilización de las tubuladuras y bolsas plásticas de uso médico (formaldehído, óxido de etileno).<sup>34-35</sup>

## Transferencia pasiva de anticuerpos IgE

El plasma de donantes también puede contener anticuerpos IgE (ej: anticuerpos a la penicilina). Si este plasma fuera transfundido a un receptor que está recibiendo el alérgeno (penicilina), puede ocurrir una reacción anafiláctica o anafilactoidea. De todas maneras, es un hecho teóricamente posible y su incidencia debería ser extremadamente baja.

### *Cuadro clínico*

La aparición de alguna manifestación clínica dentro de los primeros minutos de la transfusión es característica de una reacción anafiláctica. En cambio, las reacciones alérgicas o las anafilactoideas pueden manifestarse hasta dos a tres horas del inicio de la transfusión. En el caso de la reacción anafiláctica, sólo unos pocos mililitros de sangre entera pueden provocar disnea y dolor subesternal, hipotensión, cianosis, edema de glotis y falla circulatoria.<sup>23</sup> La falta de fiebre y las manifestaciones cutáneas distinguen esta reacción de la hemólisis o sepsis.

Las manifestaciones cutáneas están presentes en la mayoría de las reacciones anafilácticas y anafilactoideas. Son mucho más frecuentes y ocurren solamente como una reacción alérgica a la transfusión. Es común observar lesiones maculopapulares, eritematosas y llamativamente pruriginosas. El prurito generalizado puede preceder a la erupción. También puede haber un eritema generalizado. La manifestación dermatológica más severa es el angioedema.

El compromiso respiratorio de la reacción anafiláctica o anafilactoidea puede manifestarse como una obstruc-

ción alta o baja de las vías aéreas o de ambas. El paciente presentará estridor por el edema laríngeo o sibilancias por el broncoespasmo, se lo observa disneico y cianótico. Puede haber síntomas gastrointestinales (cólicos, náuseas, vómitos, diarrea) desde el inicio de la reacción. Como en todo estado de choque está presente la hipotensión severa. Esta complicación es sin duda alguna una emergencia médica, porque puede desencadenar la muerte si no es rápidamente reconocida y tratada.

### *Diagnóstico*

La mayoría de estas complicaciones postransfusionales no tienen una causa detectable y su diagnóstico se efectúa con criterio clínico y exclusión de factores respiratorios o cardiovasculares. La aparición de manifestaciones cutáneas en el transcurso de una transfusión, acompañando las cardiovasculares, respiratorias o gastrointestinales enfatiza la posibilidad de una reacción anafiláctica o anafilactoidea transfusional. Cuando un paciente presenta por primera vez una reacción anafiláctica o anafilactoidea transfusional severa, en el suero pretransfusional debe buscarse anti IgA por ELISA y radioinmunoensayo.<sup>36</sup>

### *Tratamiento*

Una reacción alérgica postransfusional (prurito y exantema) rutinariamente se trata con un antihistamínico (difenhidramina 25 a 50 mg por vías oral, intramuscular (im) o endovenosa (ev). Cuando la reacción desaparece, la transfusión puede ser continuada lentamente. Esta quizá sea la única reacción transfusional que permite la administración del remanente del hemocomponente que pudiera haber provocado la reacción.

Las reacciones transfusionales anafilácticas se tratan de la misma forma que las reacciones anafilácticas producidas por otros alérgenos. Debido a que la muerte puede ocurrir en minutos u horas, luego de los primeros síntomas, es necesario reconocer precozmente la reacción. En forma inmediata, interrumpir la transfusión y mantener la venoclisis permeable con solución fisiológica, no debiéndose reiniciar la transfusión en ninguna circunstancia. Basándose en la manifestación clínica, en las reacciones menos severas (sin hipotensión marcada) pueden administrarse 0,3 a 0,5 mg de epinefrina 1:1000 por vía subcutánea, que pueden repetir hasta completar tres dosis con un intervalo de veinte a treinta minutos entre ellas. Para el broncoespasmo pueden administrarse 6mg/kg de aminofilina, como dosis de carga, seguida por una dosis de mantenimiento de 0,5 a 1 mg /kg /hora. Para el tratamiento de la urticaria ó angioedema puede emplearse la difenhidramina a una dosis de 50 a 80 mg im o ev. La expansión del paciente debe ser iniciada con ringer lactato para el tratamiento de la hipotensión y, en caso de dificultad respiratoria, debe administrarse oxígeno a todos los pacientes.

El mantenimiento de la vía aérea es esencial. El tratamiento del broncoespasmo severo requiere de la intubación traqueal y eventual asistencia respiratoria mecánica. En reacciones severas o prolongadas debe administrarse hidrocortisona a una dosis de 500 mg ev cada seis horas.

### *Prevención*

Las reacciones transfusionales alérgicas (prurito y eritema) pueden ser preveni-

das mediante la administración de un antihistamínico antes de la transfusión (difenhidramina, 25 a 50 mg) En pacientes con antecedentes de reacciones transfusionales anafilácticas repetidas o anafilactoides y si el laboratorio para IgA ha sido negativo, deberían administrarse eritrocitos y plaquetas lavadas.

La transfusión deberá ser administrada lentamente con estricto control médico y condiciones controladas, como también contar con la posibilidad de efectuar maniobras de reanimación.

### *Premedicación*

Si el paciente requiere transfusiones de plasma, se puede disminuir la severidad (y aun prevenir) la recurrencia de reacciones anafilácticas o anafilactoides premedicando con 50 mg de prednisona 13, 7 y 1 hora antes de la transfusión, o la misma dosis de difenhidramina asociada con 25 mg de efedrina una hora antes de la transfusión.

## **Hipotensión aguda asociada a transfusión (HAAT)**

Aunque la hipotensión puede ser una de las manifestaciones de varios tipos de complicaciones postransfusionales, esas reacciones generalmente presentan otros síntomas y signos peculiares. Es característica la aparición temprana y abrupta de la hipotensión, que a menudo es grave, con una caída de la presión arterial sistólica por debajo de 60-70 mmHg, sin muchos otros signos o síntomas aparte de los mareos y la ansiedad atribuidos directamente a la disminución de la presión sanguínea sistólica. Otros síntomas asociados pueden ser fiebre moderada o leve, enrojecimiento, urticaria, dis-

nea y síntomas gastrointestinales. Sin embargo, la hipotensión siempre es el síntoma predominante y claramente eclipsa todos los demás. Otra característica típica de este tipo de reacción es el hecho de que una vez que se detiene la transfusión, la hipotensión se resuelve rápidamente sin tratamiento específico.

### Epidemiología

La leucorreducción de componentes celulares por filtración comenzó en la década de 1990, con el objetivo de disminuir la frecuencia de las reacciones febriles y la transmisión de infecciones vehiculizadas por los leucocitos. En 1993, la Asociación Americana de Bancos de Sangre denunció veinticinco casos de hipotensión aguda asociada a la infusión de plaquetas<sup>37</sup> y sugirió una probable interacción entre los medicamentos que los pacientes estaban tomando y el uso de filtros para leucorreducción.

Takahashi y col. demostraron mayores niveles de braquinina en pacientes que habían recibido concentrados de plaquetas leucorreducidos mediante filtros con cargas negativas.<sup>38</sup> Shiba y col. demostraron que los niveles de bradiquinina en sangre venosa aumentaban al transfundir plaquetas filtradas a través de filtros cargados negativamente a pacientes con baja actividad de la enzima convertidora de angiotensina (ECA).<sup>39</sup>

La aparición de hipotensión aguda asociada con el uso de inhibidores de la ECA en pacientes sometidos a procedimientos de aféresis ha sido bien documentada, y se aconseja suspender estas drogas al menos 24 horas antes del inicio del procedimiento.

### Manejo de los pacientes con HAAT y prevención

Comprender los factores implicados en la etiología de la HAAT y sus manifestaciones clínicas son claves para brindar atención a estos pacientes y para la prevención de esta reacción en el futuro. Una vez que se produce un episodio de HAAT, la medida más importante es detener inmediatamente la transfusión. Los síntomas suelen desaparecer rápidamente cuando se suspende la transfusión. El paciente no debe ser transfundido con ese mismo producto, ya que se espera que los síntomas vuelvan debido a la activación de sustancias que se supone están presentes en el producto. En la mayoría de los casos, ningún otro tratamiento es necesario, aunque cuando la hipotensión no se corrige inmediatamente con la interrupción de la transfusión, el uso de líquidos en bolo por vía ev puede ser útil. Rara vez se indican fármacos vasoactivos. Dado que los inhibidores de la ACE desempeñan un papel importante en estas reacciones, una vez que un paciente que está tomando este tipo de drogas desarrolla una HAAT, es importante cambiar a otra clase de medicación antihipertensiva.

También debe evitarse la leucorreducción con filtros cargados negativamente en la cabecera del paciente.<sup>40-42</sup>

### Mortalidad asociada a transfusión

La mortalidad asociada a transfusión (MAT) parece ser una complicación transfusional en la cual todavía no existen bien definidos los riesgos que llevan al aumento de la mortalidad

asociada específicamente con la terapia transfusional, que no puede atribuirse a cualquiera de los efectos secundarios conocidos ahora. En varios estudios, la transfusión de hematíes “viejos” (comparado con hematíes “frescos”) se ha asociado con aumento de la mortalidad, hospitalización prolongada, necesidad de internación en cuidados intensivos, ventilación mecánica; un mayor riesgo de neumonía posoperatoria, múltiples infecciones y la ocurrencia de falla multiorgánica. Se realizaron sólo unos pocos ensayos clínicos aleatorios, que en resumen, actualmente no admiten una asociación clara entre la edad del hematíe y cualquiera de los efectos secundarios mencionados. En un reciente metaanálisis, la transfusión de hematíes con fecha cercana de vencimiento fue incluso asociada con una significativa reducción de la mortalidad hospitalaria.<sup>43</sup>

Además, se realizaron un gran número de estudios observacionales en unidades de cuidados intensivos, cirugía cardíaca, trauma y en pacientes de cirugía colorrectal. El análisis de estos datos no revela ninguna tendencia clara hacia el aumento de la mortalidad, falla de órganos, infección, duración de la internación en el hospital o atención en terapia intensiva. Una razón importante para esto es que la significancia estadística de la mayoría de los estudios falla en ajustar los datos sobre el número de unidades transfundidas. Los pacientes del grupo de hematíes “viejos” a menudo han recibido más hematíes en promedio, en comparación con los receptores de unidades “frescas”. El número de hematíes transfundidos está en directa relación con enfermedades más graves,

comorbilidad y peor pronóstico. Tomados en conjunto, la sospecha de que la transfusión de unidades de hematíes “viejos” están asociadas con una mayor morbilidad actualmente no es compatible. Además del tiempo de almacenamiento de las unidades, la “carga” de glóbulos blancos se ha asociado con un aumento de la MAT como consecuencia de la inmunomodulación relacionada con la transfusión. La hipótesis de que la presencia de leucocitos en los hematíes transfundidos puede conducir a la inmunomodulación proviene originalmente de estudios observacionales en los que se revela una mejor supervivencia de riñones trasplantados cuando estos pacientes fueron previamente transfundidos, en comparación con otros que no habían recibido terapia transfusional.

Basándose en estas ideas, la progresión de cánceres y las dificultades en la inmunidad contra las infecciones fueron tomadas como sospechosas consecuencias de las transfusiones de sangre en muchas publicaciones. Sin embargo, en dos estudios aleatorios esa evolución del cáncer no estuvo influenciada por la transfusión de hematíes leucorreducidos vs no leucorreducidos. Además, a partir de un reciente metaanálisis no se sostiene la asociación entre transfusiones de unidades no leucorreducidas y la incidencia de infecciones postoperatorias.<sup>44</sup>

## Hemosiderosis por transfusión

### Definición-Fisiopatología

El término hemosiderosis transfusional (o sobrecarga de hierro) se utiliza para definir a la enfermedad, en la cual un exceso importante de hierro se acumula

de manera anómala en diferentes tejidos del organismo debido a la administración crónica de transfusiones. La sobrecarga de hierro es una complicación seria en anemias crónicas que requieren múltiples transfusiones durante largos períodos de la vida. Algunos de los efectos nocivos de la sobrecarga de hierro se manifiestan como daño hepático, cardíaco, del sistema endocrino, responsables de la disfunción de estos órganos y sistemas, que, eventualmente, comprometen la vida.<sup>45</sup> Los depósitos de hierro en un individuo normal alcanzan a 3-4 gr en todo el organismo; un exceso de hierro de 20 gr o más puede llevar a daño de órganos y sistemas. Cada unidad de glóbulos rojos transfundidos contiene, en promedio, 200-250 mg de hierro.<sup>46</sup> En la sobrecarga de hierro, las células hepáticas (hepatocitos) son el sitio de mayor acumulación de hierro.<sup>47</sup>

### Incidencia / Pacientes en riesgo

En general, cualquier enfermo con patologías en la cual se le transfundan más de veinte concentrados eritrocitarios, a saber:

- a) Insuficiencia medular (Anemia aplásica hereditaria y adquirida, aplasia pura de serie roja, hereditaria y adquirida, síndromes mielodisplásicos, hemoglobinuria paroxística nocturna, osteopetrosis, anemia dis-eritropoyética y otras anemias raras dependientes de transfusiones.)
- b) Anemias hemolíticas (anemia drepanocítica, talasemia, esferocitosis)

### Diagnóstico

a) Después de 10 a 20 unidades (o 100 ml/kg) transfundidas de concentrados eritrocitarios.

- b) Ferritina sérica >1000 µg/l.
- c) Concentración hepática de hierro >7 mgFe/kg de peso (biopsia hepática o resonancia magnética).

### Tratamiento

La eliminación de hierro en exceso es crucial para preservar la adecuada función de los órganos en pacientes en los que la acumulación de hierro es una posibilidad.

La flebotomía (extracciones periódicas de sangre) y el tratamiento quelante son los únicos medios de eliminar el exceso de hierro del organismo.

### Objetivos de la terapia de quelación

- a) Profiláctico  
Prevenir el daño a órganos claves causado por la acumulación excesiva de hierro.
- b) Terapéutico  
Remover el exceso de hierro acumulado en los órganos claves y tejidos  
Remover el hierro libre no ligado a transferrina.
- c) Mantenimiento  
Conservar los niveles óptimos de hierro.

### Terapias actuales de quelación

- a) Deferoxamina subcutánea  
Dosis de 30 a 60 mg/kg/día, por vía subcutánea o ev en infusión continua de 5 a 7 días a la semana.
- b) Deferasirox oral  
Dosis de 20 a 30 mg/kg/día  
Dosis de mantenimiento Se recomienda monitorear mensualmente la ferritina sérica y, si es necesario, reajustar cada 3 o 6 meses la dosis.

## Monitoreo

Se recomienda realizar los siguientes estudios al iniciar el tratamiento y periódicamente:

- » Ferritina sérica (mensualmente)
- » Creatinina sérica (mensualmente)
- » Pruebas de función hepática (mensualmente)
- » Pruebas auditivas y oftalmológicas (anualmente).<sup>48-49</sup>

## Conclusiones

Se ha dedicado un ingente esfuerzo en aumentar la seguridad y la eficacia de las transfusiones de componentes sanguíneos. Como resultado, se puede decir que en la actualidad la transfusión ha alcanzado los niveles de seguridad más altos que se ha logrado hasta ahora, aunque la percepción por parte de la población sea bien diferente. En la actualidad los riesgos más importantes asociados a la transfusión de componentes sanguíneos son los no infecciosos, aunque sean los infecciosos los que sigan llamando la atención de pacientes y muchos profesionales de la salud.

El conocimiento de las potenciales complicaciones de la transfusión por parte de todos los profesionales involucrados en el cuidado de los enfermos permite, por un lado, establecer y seguir las medidas de prevención necesarias para evitar su aparición y, por otro, mantener un grado de sospecha necesario para identificar la complicación de forma temprana e iniciar cuanto antes el tratamiento adecuado.

A pesar de que el uso ha transformado el acto transfusional en un procedimiento habitual y de que actualmente

sean escasos los riesgos asociados a la transfusión, como en la mayoría de los actos médicos, se debe valorar en cada caso el balance riesgo/beneficio de nuestra actuación. Y sólo ante la ausencia de alternativas y tras el profundo convencimiento de que los beneficios van a superar a los riesgos potenciales, procederemos a realizar la transfusión.

## Referencias

1. Beauregard P, Blajchman MA. Hemolytic and pseudo-hemolytic transfusion reaction: An overview of the hemolytic transfusion reactions and the clinical conditions that mimic them. *Transf Med Rev.* 1994;8:184-9
2. Armstrong B. Benefits and risk of transfusion. *ISBT Science Series* 2008 3, 216-230
3. Programa de Hemovigilancia. Protocolo para el reporte de reacciones adversas a la transfusión sanguínea (RAT), Red Distrital de Bancos de Sangre y Servicios de Transfusión Sanguínea. Bogotá D.C., Diciembre de 2007
4. Popovsky MA, Taswell HF: Circulatory overload: an underdiagnosed consequence of transfusion (Abstract). *Transfusion* 1985; 25:469
5. Popovsky MA: Circulatory overload; in Popovsky MA, ed.: *Transfusion Reactions*, 3 ed Bethesda, MD, AABB Press, 2007.p.331-340
6. Popovsky MA, Audet AM, Andrzejewski C: Transfusion-associated circulatory overload in orthopedic surgery patients: a multi-institutional study. *Immunohematology* 1996; 12:87-89
7. Robillard P, Hyson C, McCombie N: TRALI, possible TRALI, and respiratory complications of transfusion reported to the Canadian transfusion injuries surveillance system. *Transfusion* 2007; 47:5A-6A
8. Rana R, Fernández-Pérez E, Khan SA, Rana S, Winters JL, Lesnick TG, Moore SB, Gajic O: Transfusion-related acute lung injury and pulmonary edema in critically patients: a retrospective study. *Transfusion* 2006; 46:1478-1483



9. Elin R, Winter W. Laboratory and clinical aspects of B-type natriuretic peptides. *Arch Pathol Lab Med* 2004; 128:697-699
10. Zhou L, Giacherion D, Cooling L, Davenport RD: Use of B-natriuretic peptides as a diagnostic marker in the differential diagnosis of a transfusion-associated circulatory overload. *Transfusion* 1995; 45:1056-1063
11. Tobian AA, Sokoll LJ, Ness PM, Shan H: NT-proBNP is a useful diagnostic marker for transfusion-associated circulatory overload. *Transfusion* 2007; 47:7A
12. Sink BLS. Administration of Blood Components. Technical Manual, 17 ed. Bethesda, MD, AABB, 2011. p. 624
13. Dzik WH, Kirkley SA. Citrate toxicity during massive blood transfusion. *Transfus Med Rev* 1988;2:76-94
14. Olinger GN, Hottenrott C, Mulder DG, Maloney JV, Miller J., Patterson RW y col., clinical hypocalcemic myocardial depression during rapid blood transfusion and postoperative hemodialysis: A preventable complication. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1976;72:503-11
15. Milton Larrondo L., Gastón Figueroa M. *Rev. Hosp. Clín. Univ. Chile* 2007; 18; 208
16. Mazzei KA, Popovsky MA, Kopko PM. Noninfectious Complication of Blood Transfusion. Technical Manual, 17 ed. Bethesda, MD, AABB, 2011. p.749
17. Hardy J-F, De Moerloose P, Samama M.. Massive transfusion and coagulopathy: pathophysiology and implications for clinical management. *Can J Anesth* 2004; 51:4 ; 293-310.
18. Rajagopalan S, Mascha E, Na J, Sessler DI. The effects of mild perioperative hypothermia on blood loss and transfusion requirement. *Anesthesiology*. 2008 Jan;108(1):71-7.
19. Enright H, Davis K, Gernsheimer T, McCullough JJ, Woodson R, Slichter SJ. Factors influencing moderate to severe reactions to PLT transfusions: experience of the TRAP multicenter clinical trial. *Transfusion*. 2003 Nov; 43(11):1545-52.
20. Kleinman S, Chan P, Robillard P. Risks associated with transfusion of cellular blood components in Canada. *Transfus Med Rev* 2003; 17(2):120-162.
21. Heddle NM, Blajchman MA, Meyer RM, Lipton JH, Walker IR, Sher GD, et al. A randomized controlled trial comparing the frequency of acute reactions to plasma-removed platelets and prestorage WBC-reduced platelets. *Transfusion*. 2002;42(5):556-66.
22. Heddle NM, Kelton JG. Febrile nonhemolytic transfusion reactions. In: Popovsky M, editor. *Transfusion reactions*, 2 ed. Arlington, VA: AABB Press; 2001. p. 45-82.
23. Muñoz Díaz E. Curso Residencial de la ESTM sobre Hemovigilancia. 2004;21-25
24. Kelley DL, Mangini J, Lopez-Plaza I, Triulzi DJ. The utility of < or =3-day-old whole-blood platelets in reducing the incidence of febrile nonhemolytic transfusion reactions. *Transfusion* 2000 Apr.;40(4):439-42.
25. Yazer MH, Podlosky L, Clarke G, Nahirniak SM. The effect of prestorage WBC reduction on the rates of febrile nonhemolytic transfusion reactions to platelet concentrates and RBC. *Transfusion*. 2004; 44(1):10-5.
26. Vein to vein. Complication of Blood Transfusion. On line support. 2009-2012. Canadian Blood Services
27. Paglino JC, Pomper GJ, Fish GS, Champion MH, Snyder EL..Reduction of febrile but not allergic reactions to RBCs and platelets after conversion to universal pre-storage leukoreduction. *Transfusion*. 2004;44:16-24
28. Brown CJ, Navarrete CV. Clinical relevance of the HLA System in blood transfusion. *Vox Sang*. 2011; 101:93-105
29. Normas Técnicas y Administrativas de Hemoterapia. Ministerio de Salud y Ambiente de la República Argentina. Resolución 865/2006
30. Pineda AA, Taswell HF. Transfusion reactions associated with anti-IgA. Report of four cases and review of the literature. *Transfusion* 1975;15:10-15
31. Serious Hazards of Transfusion (SHOT). Annual Report 2010. Published July 2011
32. Vamvakas EC, Pineda AA. Allergic and anaphylactic reactions. In: Popovsky MA, ed. *Transfusion Reactions*. 2 ed. Bethesda, Md: AABB Press; 2001. p. 83-127.

33. Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology, 2 ed. London: Gower, 1989.
34. Sandler GS, Mallory D, Malamut D, Eckrich R. IgA anaphylactic transfusion reaction. *Transf Med Rev*, 1995; 1-8.
35. Sharon R, Kidroni G, Michel J. Presence of aspirin in blood units. *Vox Sang* 1980; 38: 284-87
36. Michel J, Sharon R. Non-hemolytic adverse reaction after transfusion of a blood unit containing penicillin. *Br Med J*. 1980; 1:152-3
37. Baldo BA, Fisher MM. Anaphylaxis to muscle relaxant drugs. Cross-reactivity and molecular basis of binding of IgE antibodies detected by radioimmunoassay. *Mol Immunol* 1893;20: 1393-400.
38. Hume HA, Popovsky MA, Benson K. Hypotensive reactions: a previously uncharacterized complication of platelet transfusion? *Transfusion*. 1996; 36:904-909.
39. Takahashi TA, Abe H, Hosoda M, Nakai K, Sekiguchi, S. Bradykinin generation during filtration of platelet concentrates with a white cell-reduction filter. *Transfusion*. 1995;35:967.
40. Shiba M, Tadokoro K, Sawanobori M, Nakajima K., Suzuki K., Juji, T. Activation of the contact system by filtration of platelet concentrates with a negatively charged white cell-removal filter and measurement of venous blood bradykinin level in patients who received filtered platelets. *Transfusion*. 1997;37:457-462.
41. Sweeney JD, Dupuis M, Mega AJ. Hypotensive reactions to red cells filtered at the bedside, but not to those filtered before storage, in patients taking ACE inhibitors. *Transfusion*. 1998;38:410-411.
42. Abe H, Ikebuchi K, Shimbo M, Sekiguchi S. Hypotensive reactions with a white cell-reduction filter: activation of kallikrein-kinin cascade in a patient. *Transfusion*. 1998; 38:411-412.
43. Belloni M, Alghisi A, Bettini C, Soli M, Zampieri L. Hypotensive reactions associated with white cell-reduced apheresis platelet concentrates in patients not receiving ACE inhibitors. *Transfusion*. 1998; 38:412-413.
44. Vamvakas E: Meta-analysis of clinical studies of the purported deleterious effects of "old" (versus "fresh") red blood cells: are we at equipoise? *Transfusion* 2010; 50:600-610
45. Sachs, UJH Side-effects of blood products. *ISBT Science Series* (2010) 5, 267-273
46. Porter, JB. Practical management of iron overload. *Br J Haematol* 2001,115:239-52.
47. Van Orden H, Hagemann T. Deferasirox-an oral agent for chronic iron overload. *The Annals of pharmacotherapy*, 2006 June, Vol 40.
48. Kushner JP, Porter JP, Oliveri NF. Secondary iron overload. *Hematology*. (Am Soc Hematol Educ Program) 2001:47-61.
49. Olivieri NF, Brittenham GM. Iron chelating therapy and the treatment of thalassemia. *Blood* 1997;89:739-61.

# Inmunomodulación relacionada con la transfusión

ARMANDO CORTÉS BUELVAS\*

## Introducción

La inmunomodulación relacionada con la transfusión (IMRT) se refiere a la depresión o activación transitoria del sistema inmune, después de la transfusión de componentes sanguíneos. Aunque la IMRT es generalmente reconocida como una entidad clínica de importancia biológica, su mecanismo e importancia clínica han sido objeto de controversia. Muchos estudios observacionales iniciales sugirieron efectos tanto benéficos como adversos en la evolución del paciente.

Los resultados de un estudio prospectivo y multicéntrico publicado en 1973, con posibles receptores de riñones procedentes de cadáver, los cuales fueron asignados aleatoriamente a recibir o no transfusiones, reveló que la tasa de

\* *Patólogo Clínico. Profesor Titular y Jefe del Departamento de Patología, Escuela de Medicina, Universidad del Valle, Cali. Director Hemocentro del Valle del Cauca, Cali. Director Servicio de Transfusión Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia.*

supervivencia al año de los riñones trasplantados fue de 90% en el grupo que recibió transfusiones y del 82% en los que no habían recibido ninguna transfusión alogénica (TA) ( $p = 0,02$ ). Esta mejoría en la tasa de supervivencia del injerto persistió a los cinco años de seguimiento, atribuyéndose tal efecto a la inducción de un estado inmunotolerante que se presentó incluso con la transfusión de una sola unidad de sangre.<sup>1</sup>

Los resultados, soportados por numerosos estudios observacionales, llevaron a la práctica generalizada de transfundir sangre de forma deliberada a los pacientes en lista de trasplante. Esta práctica, sin embargo, se detuvo con la aparición del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida) y la hepatitis C

Otros grupos que se benefician de la IMRT incluyen los pacientes con enfermedad de Crohn<sup>2,3</sup> y mujeres con antecedentes de múltiples abortos espontáneos.<sup>4</sup>

Se ha especulado sobre los posibles efectos adversos como consecuencia de la IMRT.<sup>5</sup> Estos incluyen un mayor riesgo de infección posoperatoria, neumonía nosocomial, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, disminución de la supervivencia después de la cirugía del cáncer, tendencia a la recurrencia temprana de algunos tipos de cáncer y la mortalidad a corto plazo.

No ha sido determinada la fisiopatología exacta de la IMRT, y es motivo de gran controversia en la medida en que compromete la seguridad de la transfusión.

El efecto IMRT ha sido investigado en más de cien estudios.<sup>6</sup> La mayoría de los estudios publicados son retrospectivos, observacionales, en lugar de ensayos clínicos controlados aleatorios

(ECCA) y están orientados a evaluar la recurrencia del cáncer, la infección posoperatoria, o la mortalidad.

En la mayoría se encuentra que les va peor a los pacientes transfundidos en relación con los no transfundidos. Este efecto parece estar relacionado con la dosis; cuanto mayor sea el número de unidades transfundidas, mayor es la probabilidad de resultados adversos. Estos resultados han sido tomados por algunos como prueba de un efecto demostrado de inmunosupresión causada por la transfusión.

Otros han argumentado que los estudios observacionales tienen un sesgo, porque los pacientes más enfermos y sometidos a cirugías complejas, son más propensos a ser transfundidos y que la transfusión es simplemente un marcador de la gravedad de la enfermedad subyacente, y no una causa importante de inmunosupresión.

## Posibles mecanismos de la IMRT

La transfusión alógena expone a los receptores a numerosos antígenos extraños, tanto solubles como asociados a células. Se ha sugerido que el efecto IMRT puede ser específico de antígenos de leucocitos humanos (HLA) dependientes y relacionados con la inmunidad adaptativa o no específica.

La mayoría de los estudios que han investigado los mecanismos de la IMRT han sido realizados en roedores; por tanto, sus resultados no reflejan necesariamente lo que ocurre en el humano.

Los efectos celulares identificados como asociados con la IMRT, independiente de la causa, incluyen: alteración en la relación de linfocitos T, deterioro

de la función de células asesinas naturales, defectos en la presentación de antígenos, supresión de la blastogénesis de linfocitos y disminución de la función fagocítica de macrófagos.

### Mecanismos asociados a células

Es probable que los leucocitos presentes en la transfusión alógena sean los responsables de la mayoría de los efectos observados o postulados en la IMRT. Los mecanismos asociados a células de la IMRT incluyen los antígenos HLA Clase II y las células dendríticas presentadoras de antígenos presentes en la sangre alogénica transfundida.

La disminución de la incidencia de rechazo de receptores de trasplante renal después de la transfusión, parece requerir la presencia de leucocitos viables en la sangre transfundida.

Los leucocitos alogénicos transfundidos afectan la inmunidad celular, identificándose en animales un cambio en la respuesta inmune de Th1 a Th2, reducción de la actividad de células asesinas naturales, disminución de la reactividad de linfocitos mixtos, y disminución de la relación CD4/CD8.<sup>7</sup>

### Microquimerismo

Un mecanismo postulado del efecto IMRT es el fenómeno de microquimerismo que ocurre cuando la compatibilidad HLA entre el donante y el receptor es tal que permite la persistencia de algunos linfocitos del donante y células presentadoras de antígeno en la circulación o los órganos del receptor de la transfusión.

Se ha descrito el fenómeno de microquimerismo, con supervivencia prolon-

gada de los leucocitos en los pacientes con trauma reanimados con transfusión<sup>8,9</sup> y también muchos años después del embarazo, en el trasplante de hígado y la exanguinotransfusión en neonatos.

Se considera que la presencia de células del donante en el receptor es el resultado de la regulación de la respuesta inmune del receptor. El microquimerismo puede llevar a la liberación de citoquinas como las interleuquinas 4 y 10, así como el factor de crecimiento transformante  $\beta$ , desde las células T ayudadoras tipo 2. Estos productos biológicos inhiben la producción de células T ayudadoras tipo 1 y el funcionamiento normal de otras células que intervienen en la inmunidad celular.

### Factores solubles bioactivos

Los leucocitos contaminantes de los productos sanguíneos liberan factores solubles bioactivos durante el almacenamiento. En el plasma sobrenadante de estos productos se encuentran citoquinas, histamina, mieloperoxidasas y el inhibidor del activador del plasminógeno 1. Las concentraciones de estos y otros factores biológicos aumentan dramáticamente con el tiempo de almacenamiento y se ha demostrado que inhiben la función de los neutrófilos. Esta carga de sustancias podría explicar los peores resultados relacionados con la transfusión de sangre que ha sido almacenada por largo tiempo.<sup>10</sup>

Además, la transfusión de sangre “envejecida” puede contribuir a la IMRT mediante la inducción de una respuesta pro-inflamatorias independiente, mediada por la liberación de modificadores de la respuesta biológica y de enzimas de leucocitos apoptóticos.<sup>11</sup>

También pueden jugar un papel importante en la IMRT los antígenos HLA solubles y otros modificadores de la respuesta biológica presentes o liberados en las plaquetas, plasma y glóbulos rojos.<sup>12-14</sup>

Se ha sugerido que lo anterior se debe a moléculas solubles HLA de Clase I y Fas ligando (CD95) biológicamente activas, liberadas y presentes en el sobrenadante de los componentes sanguíneos durante el almacenamiento.<sup>15</sup> Esta exposición no es exclusiva de la transfusión de glóbulos rojos alogénicos; las unidades de glóbulos rojos autólogos también contienen estas moléculas solubles y son capaces de contribuir a los efectos inmunodepresores.<sup>15</sup>

La inmunomodulación, mediante el aumento de algunas acciones y la disminución de otras, altera el funcionamiento del sistema inmunológico que puede hacer que el receptor sea más susceptible a infecciones virales y/o bacterianas.<sup>16</sup>

Los cambios bioquímicos, estructurales, inflamatorios y fisiológicos de los glóbulos rojos almacenados, se conocen como “lesión de almacenamiento”.

Sigue siendo controversial si estos cambios tienen relevancia clínica e impactan en los resultados clínicos en pacientes transfundidos.

La mayoría de los estudios que han evaluado los efectos de la “lesión por almacenamiento” en los pacientes no son aleatorios y corresponden a estudios observacionales con limitaciones metodológicas.<sup>17-20</sup>

Se estima que en pacientes críticamente enfermos, con mínima reserva fisiológica, las terapias de componentes sanguíneos para corregir la anemia o la

coagulopatía puede agravar, en lugar de resolver, esta condición, posiblemente debido a las consecuencias imprevistas del procesamiento y almacenamiento del producto.<sup>21-26</sup>

Por el contrario, los pacientes quirúrgicos no críticos y en procedimientos electivos que no están en un estado de desregulación tienen mayor reserva fisiológica. Los efectos adversos de los productos sanguíneos con función subóptima representan un riesgo menor.

Por otra parte, ciertas funciones de los glóbulos rojos pueden ser restauradas en vivo de 24 a 48 horas después de la transfusión,<sup>27</sup> y por lo tanto estos cambios transitorios pueden no afectar a pacientes hemodinámicamente estables con mínimas necesidades de transfusión.

Ha sido establecida la plausibilidad biológica de los resultados clínicos adversos en pacientes críticamente enfermos debido a la transfusión de glóbulos rojos “envejecida”.

Están en progreso estudios de evaluación sobre la edad de la sangre (ABLE) y el almacenamiento de glóbulos rojos (RECESS) para examinar cada una de estas variables.<sup>23</sup>

Lo estudios en animales indican que el riesgo de inflamación, daño oxidativo, hipercoagulabilidad, producción de micropartículas, alteración de la vasorregulación y la perfusión se correlaciona con la duración del almacenamiento de los glóbulos rojos.<sup>22,25,28-34</sup>

Los artículos de revisión y un meta-análisis reciente indican que hay muchos estudios que no reportan una asociación entre la edad de almacenamiento de glóbulos rojos y los resultados clínicos adversos.<sup>19,27,35</sup>

El impacto del tiempo de almacenamiento sobre la eficacia de la sangre y la seguridad del producto está actualmente bajo un intenso escrutinio.<sup>36</sup>

## Efectos clínicos adversos atribuibles a la IMRT

### Riesgo de infección bacteriana

En una revisión de 23 artículos, publicados entre 1986 y 2000, que incluyeron 13.152 pacientes con trauma<sup>37</sup> los autores analizan el impacto de la transfusión alogénica en las tasas de infección nosocomial. El odds ratio (OR) para la asociación de las transfusiones alogénicas con la incidencia de la infección bacteriana posoperatoria fue de 3,45 (rango = 1,43-15,15), en 17 de los 20 estudios, demostrándose un valor de  $p \leq 0,05$ . Estos hallazgos fueron interpretados por los autores como una “evidencia abrumadora” de que la TA se asocia con un riesgo significativamente mayor de infección bacteriana posoperatoria en el paciente con trauma.

Otros estudios también reportan un incremento de las tasas de infección nosocomial en una variedad de pacientes quirúrgicos transfundidos, en comparación con pacientes similares, no transfundidos.<sup>38-40</sup> En otro estudio de la tasa de infección en pacientes que recibieron al menos una transfusión fue significativamente mayor en 33,0% frente a 7,6% en los pacientes no transfundidos.<sup>38</sup>

La tasa de infección nosocomial no parece ser solo dependiente de la incidencia de la transfusión, sino también de la cantidad de eritrocitos transfundidos.<sup>39</sup>

En un estudio de cohorte con 533 pacientes de cirugía de revascularización coronaria, se demostró que las tasas ajustadas de infección bacteriana fueron del 4,8% si no recibieron glóbulos rojos, y aumenta al 15,2% al recibir 1 a 2 unidades, al 22,1% con 3 a 5 unidades, y al 29,0% con 6 o más unidades, (p para la tendencia  $<0,001$ ).<sup>40</sup>

La mayoría de los ECCA y observacionales han investigado la posible asociación entre la transfusión alogénica y la infección perioperatoria y posoperatoria en pacientes sometidos a distintos tipos de intervención quirúrgica, algunos comparan los receptores de las transfusiones de glóbulos rojos alogénicos no leucorreducidos y leucorreducidos (LR) y otros comparan la transfusión autóloga con la transfusión alogénica.

Sin embargo, estos presentan diferencias significativas en la forma en que fueron realizados, en relación con los pacientes usados como control, el producto leucorreducido empleado, el entorno quirúrgico y una variación considerable en la cantidad de sangre transfundida.

Un meta-análisis en 2005 no encontró una asociación significativa entre la transfusión alogénica y la infección posoperatoria; el autor advierte sobre la posibilidad de sesgos atribuibles a que el tamaño de la muestra de esos estudios era demasiado pequeña y ninguno era doble ciego. El riesgo de sesgos de observación puede ser especialmente relevante, en vista del diagnóstico a veces subjetivo de las infecciones nosocomiales.<sup>41</sup>

Más recientemente, en varios estudios se ha reportado un aumento en la incidencia de infecciones nosocomiales

y posoperatorias en pacientes quirúrgicos transfundidos, en comparación con los no transfundidos.<sup>42-45</sup>

### Recurrencia del cáncer

Desde 1981, se ha postulado que la transfusión también puede estar asociada con un mayor riesgo de recurrencia del cáncer, después de la resección. Se estima que el deterioro de la inmunidad en estos pacientes por efecto de la IMRT podría impedir los mecanismos normales de vigilancia dirigidos contra las células malignas.<sup>46</sup>

Los estudios con modelos experimentales en animales han demostrado claramente que la TA se asocia con la promoción del crecimiento tumoral y la presencia de leucocitos en los productos transfundidos.

En las últimas tres décadas, más de cien estudios han intentado dilucidar la relación entre la transfusión alogénica perioperatoria y la recurrencia del cáncer. La mayoría de estudios reportados han sido no aleatorios, observacionales y retrospectivos. Aproximadamente la mitad de estos sugieren que los pacientes que reciben TA tienen un resultado peor que los que no la reciben, en términos de recurrencia o incluso la muerte por la recurrencia.

Una advertencia importante en estos estudios es que el grupo de pacientes que recibieron TA a menudo difieren del grupo control en cuanto al pronóstico de su enfermedad original y las comorbilidades asociadas.

Por lo tanto, es difícil diferenciar hasta qué punto los resultados se relacionan con el efecto directo de las TA por sí o por los posibles efectos negati-

vos asociados con los factores de confusión. Es discutible, la medida en la cual estos factores de confusión son ajustados con el uso de análisis multivariados.<sup>7</sup>

También hay incertidumbre respecto a la asociación reportada entre la transfusión alógena y el acortamiento del intervalo libre de enfermedad, disminución de la supervivencia global y recurrencia temprana de cáncer, en pacientes que recibieron transfusión en el momento de la cirugía.

Se ha sugerido que la IMRT es el mecanismo responsable, y el efecto de la transfusión es independiente del tipo de cáncer, el estadio, y otras complicaciones.

Un meta-análisis para la Base de Datos Cochrane, de todos los documentos publicados hasta diciembre de 2004, evalúa el papel de las transfusiones de sangre perioperatorias en la recurrencia del cáncer colorrectal.<sup>47</sup> De los 36 estudios (n = 12.127 pacientes) encontrados, en 23 de ellos se demostró una asociación entre la TA y la recurrencia temprana del cáncer. Después de estratificar los pacientes por sitio y estadio de la enfermedad, el OR estimado para el efecto de transfusión es de 1.42 (IC 95% = 1,20 a 1,67) en los pacientes incluidos en 14 ECA. El efecto fue dependiente de la dosis, e independiente tanto del tiempo como del tipo de componente sanguíneo.

Otros estudios han informado que la transfusión perioperatorias de 4 o más unidades de glóbulos rojos es un indicador significativo de peor supervivencia en pacientes que fueron sometidos a esofagectomía subtotal.<sup>4,8</sup> De igual manera, esta asociación se ha revelado en cáncer pancreático, cáncer gástrico,



cáncer mamario, cáncer colorrectal y en resecciones hepáticas.<sup>47,49-54</sup>

Desafortunadamente muchos de los estudios se realizaron antes de ser conocidas las teorías actuales de la IMRT, por lo tanto no están direccionados adecuadamente para todas las causas del efecto IMRT; en general no tuvieron en cuenta los posibles efectos de la acumulación de mediadores solubles durante el almacenamiento, al emplear la leucorreducción posalmacenamiento o la transfusión autóloga para mejorar el efecto IMRT.

Finalmente, durante el tiempo en que se han llevado a cabo estos estudios, desde 1992, han mejorado las técnicas de reducción de leucocitos, y es posible que los nuevos métodos puedan haber disminuido los efectos observables en la IMRT.

Estudios recientes (no son ECCA) en el tratamiento del cáncer de próstata, no han encontrado relación entre la transfusión, ya sea autóloga o alogénica, y el aumento de las tasas de recurrencia<sup>55-57</sup>.

La observación del efecto de la IMRT en los estudios realizados también puede estar influenciada por factores de confusión como la pérdida de sangre y la edad de los glóbulos rojos transfundidos.

Un análisis retrospectivo<sup>58</sup> de los pacientes sometidos a resección curativa para el cáncer gástrico encontró que la pérdida excesiva de sangre intraoperatoria se asocia con mayores tasas de metástasis peritoneal, pero no a ganglios o a distancia, y que la transfusión de sangre no afecta la tasa de recurrencia.

La recurrencia y la pérdida excesiva de sangre también se han correlacionado en estudios de pacientes con carcinoma hepatocelular y cáncer de próstata.<sup>59,60</sup>

## Mortalidad a corto plazo

Varios de los ECCA llevados a cabo en el ámbito de la cirugía cardíaca, comparan los resultados en pacientes que recibieron transfusión alogénica con productos leucorreducidos pre-almacenamiento con los que se les dio transfusión alogénica no leucorreducida;<sup>5</sup> encontrándose en general una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) en el aumento de la mortalidad por todas las causas en el grupo que recibió TA no leucorreducida, en comparación con los receptores de la sangre leucorreducida. Sin embargo, debido a que no hay asociación entre la TA y una causa específica de muerte, se piensa que el efecto adverso clínico asociado a la IMRT, visto específicamente solo en la cirugía cardíaca, puede ser debido a la presencia de una respuesta inflamatoria como consecuencia de la circulación extracorpórea utilizada en la cirugía cardíaca, o a la cantidad de sangre alogénica utilizada durante y después de la cirugía cardíaca.

Otros han propuesto que la morbilidad y la mortalidad asociadas a la transfusión de sangre dependen de la interacción entre el volumen de eritrocitos transfundidos, la leucorreducción, y la edad de la sangre.

En un estudio con 1813 pacientes que recibieron sólo glóbulos rojos leucorreducidos (GR-LR) durante un período de siete años y medio, con un total de 1 a 2 ó 3 a 5 unidades en las primeras 24 horas. No encontraron ninguna asociación entre la cantidad y edad de la sangre transfundida y mortalidad.<sup>61</sup> Sin embargo, el grupo de pacientes que recibieron un total de 6 unidades, el uso

de 3 o más unidades de sangre “joven” se asoció con un aumento de 3.8 veces la probabilidad de muerte (IC=1,1-12,7), en comparación con una probabilidad de muerte 7.8 veces mayor (IC=2,3-26,3) asociada a la transfusión de tres o más unidades de más de catorce días de almacenamiento “envejecida” (p=0,0024). Llegando a la conclusión de que un mayor volumen de sangre, independientemente de la edad o la reducción de leucocitos, se asocia con un aumento de la mortalidad y que el almacenamiento de más de catorce días puede promover esta asociación.

Por otra parte, ha surgido una preocupación en relación con el empleo de los componentes sanguíneos almacenados durante un período prolongado en aquellos receptores de transfusiones críticamente enfermos con coagulopatía severa o estado de choque, lo cual puede haber influido negativamente en los resultados de los pacientes.<sup>21-26,62,63</sup>

La literatura reciente sugiere que las exigencias actuales para la concesión de licencias para las soluciones empleadas en el almacenamiento de los productos que contienen glóbulos rojos son insuficientes, la limitación de la hemólisis durante el almacenamiento limitado y la supervivencia postransfusional adecuada no garantizan necesariamente que la transfusión aumentará el suministro de oxígeno a un paciente en estado de choque. Además, la determinación de la calidad con base en estos parámetros no parece evitar los efectos adversos asociados con la “lesión por almacenamiento” que incluye la inmunomodulación, la inflamación, la hipercoagulabilidad, el deterioro de la vasoregulación y la perfusión.<sup>19,21-26, 28-33, 64,65</sup>

La aclaración definitiva del impacto clínico en los receptores de transfusiones de la duración del almacenamiento de glóbulos rojos requiere de estudios cuidadosamente diseñados y de gran tamaño, para considerar todos los sesgos posibles.<sup>20</sup>

Un reciente meta-análisis de estas publicaciones no garantiza que la transfusión de unidades almacenadas durante períodos más largos se asocie con mayor riesgo de morbilidad y de mortalidad.<sup>35</sup>

Sin embargo, sigue siendo controversial si la “lesión por almacenamiento” tiene relevancia clínica y afecta los resultados clínicos en pacientes transfundidos. Mientras se aclara la transfusión de glóbulos rojos y los cambios que se producen durante su almacenamiento han sido impugnados como la causa de numerosos efectos adversos clínicos, incluyendo un mayor riesgo de infección posoperatoria, trombosis venosa profunda, fallo multiorgánico, una mayor duración del soporte respiratorio, aumento de los días de estancia en la unidad de cuidados intensivos o en el hospital, y crecimiento de la mortalidad.

## Papel de la leucorreducción

La controversia en la literatura sobre la medida en que la IMRT causa efectos clínicos adversos está relacionada con la discusión en torno a la conveniencia de la LR universal. De demostrarse que los efectos descritos están mediados por la presencia de los leucocitos en la TA, se deduce que los efectos IMRT podrían reducirse con la introducción de la LR universal de los productos sanguíneos.

Aunque los hallazgos en varios ECCA son contradictorios, se ha argumentado que, dado que la leucorreducción es esencialmente libre de riesgo, aunque más costosa, debería ser aplicada universalmente. Este podría ser el caso, particularmente en el contexto de la cirugía cardíaca, en vista de la disminución de la mortalidad observada en los pacientes cardíacos que reciben productos leucorreducidos pre-almacenamiento.

De hecho, la práctica de la LR de rutina, por medio de filtración pre-almacenamiento, es cada vez más común, como una práctica habitual en varios países, entre ellos Reino Unido, Canadá y de Europa occidental.<sup>66</sup>

Si la causa principal de las infecciones relacionadas con IMRT son los mediadores de la respuesta biológica producidos por los leucocitos, es lógico pensar que la disminución de leucocitos debe reducir la incidencia de las infecciones nosocomiales. No obstante, algunos estudios no apoyan esta asociación.

El grado en que la IMRT afecta los resultados de los pacientes, y el grado en que la leucorreducción reduce la IMRT, no se ha resuelto y es motivo de investigación.

Se han realizado estudios de cohortes antes y después de la LR, con el fin de determinar si la leucorreducción universal aporta beneficios a los pacientes que necesitan transfusiones.

Con la aplicación de la LR universal pre-almacenamiento a nivel nacional en Canadá, se hizo un estudio de cohortes para observar el antes y el después de tres grupos de pacientes: 1) 14.786 pacientes quirúrgicos de alto riesgo de infección y muerte, definida como pacientes de cirugía cardíaca, 2)

pacientes que requieren una reparación de fractura de cadera, y 3) pacientes con traumatismos múltiples, que habían sido transfundidos. Los resultados muestran una disminución leve pero significativa de la mortalidad de 7,03% a 6,19% ( $p = 0,04$ ) después de la implementación de la LR universal, pero no hubo una reducción en las infecciones graves.<sup>67</sup>

Por otro lado, un estudio a gran escala ha sugerido un beneficio general con la LR universal. El Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients (SOAP) fue un estudio multicéntrico y observacional que, básicamente, repitió el estudio Anemia and Blood Transfusión in the critically Ill (ABC) publicado en 2002.<sup>68,69</sup> En ambos estudios, todos los pacientes adultos de la UCI fueron seguidos de forma prospectiva y fueron apareados por edad, género, gravedad de la enfermedad, hemoglobina a la admisión, historia reciente de anemia, y duración de la estancia hospitalaria, pero difirieron en que uno de los pares recibió transfusión mientras el otro no. El estudio anterior ABC mostró un incremento en la mortalidad global en los pacientes transfundidos, siendo reproducido en el análisis de pares. Por el contrario, en el estudio SOAP se encontró el mismo incremento de la mortalidad en el grupo de transfusión, la diferencia se hizo insignificante tras el análisis multivariado. Se halló una disminución significativa de la mortalidad en el grupo que recibió transfusión en el análisis de pares, un resultado en contradicción con las conclusiones del estudio ABC. Los autores especularon que la diferencia podría deberse a la aplicación de la LR universal en el intervalo entre los dos estudios.

Se presume que los métodos actuales de la LR pre-almacenamiento previenen el efecto causado por la IMRT, tanto por los leucocitos alogénicos intactos como por los mediadores solubles liberados por los leucocitos apoptóticos; mientras la LR post-almacenamiento y la transfusión autóloga previenen solo la parte del efecto IMRT inducido por los leucocitos alogénicos intactos.

Sin embargo, un estudio reciente determinó que los mediadores solubles no fueron una causa importante de IMRT. En este estudio los pacientes sometidos a reemplazo total de cadera y seleccionados para dar dos o tres unidades de sangre autóloga, fueron asignados aleatoriamente para recibir sangre completa autóloga leucorreducida pre-almacenamiento o sangre autóloga completa no leucorreducida. Se espera que este último componente tenga una alta concentración de modificadores de la respuesta biológica liberada por las células apoptóticas, y por lo tanto los pacientes que recibieron este componente deben tener tasas más altas de infección si la IMRT es causada por los mediadores solubles. En el estudio participaron 1.089 pacientes, y no reveló diferencias en la tasa de infecciones posoperatorias o en duración de la estancia entre los dos grupos. Los pacientes que no recibieron transfusión, tuvieron tasas significativamente inferiores de infección y menos días de hospitalización, lo cual se correlacionó con el tiempo de anestesia y cirugías menores menos complicadas para este grupo de pacientes.<sup>70</sup>

Un estudio similar, que determinó la acumulación de citoquinas en la sangre autóloga no leucorreducida, encontró resultados similares. Claramente, las

citoquinas no se acumulan en los componentes leucorreducidos, pero esto no se traduce en un beneficio discernible.<sup>71</sup>

La mayoría de los estudios son observacionales y muchos no mencionan si la sangre transfundida es leucorreducida; sin embargo, teniendo en cuenta la práctica actual, es muy probable que hayan recibido componentes leucorreducidos en la mayoría de ellos. Solo pocos estudios no encuentran un efecto deletéreo de la transfusión.<sup>72-75</sup>

Desafortunadamente, los estudios observacionales tienen muchas variables no controladas, que representan factores de confusión, para algunos el efecto observado en la IMRT puede tener más que ver con aspectos como la habilidad quirúrgica y/o factores subyacentes de los pacientes, que con efectos nocivos reales de la transfusión. La controversia continúa.

Un meta-análisis de estudios de cohortes antes y después de la LR universal no detectó asociación entre la aplicación de la LR universal y una disminución de la mortalidad a corto plazo.<sup>76</sup>

Los ECCA que investigan la transfusión en relación con la infección y/o mortalidad muestran resultados menos definitivos. En nueve estudios de pacientes sometidos a cirugías gastrointestinales (la mayoría de colon), fueron asignados al azar para recibir sangre autóloga o leucorreducida en un grupo, y sangre alogénica no leucorreducida en el otro. Los resultados se dividen entre los estudios que revelan un beneficio de la leucorreducción y estudios que no lo hacen.<sup>77-85</sup>

Por otro lado, tres estudios en pacientes asignados al azar para recibir ya sea componentes sanguíneos leucorre-

ducidos pre-almacenamiento o no leucorreducidos, no revelaron diferencias significativas en la mortalidad en las siguientes cohortes: pacientes de trauma, admisiones hospitalarias generales, y pacientes infectados por el VIH.<sup>86-88</sup>

Dada la variabilidad en los resultados de los ensayos clínicos, varios investigadores han realizado meta-análisis para determinar si la IMRT en realidad aumenta la tasa de infección y la mortalidad. Sin embargo, aun así, los resultados difieren debido a los desacuerdos en cuanto a lo apropiado de los métodos estadísticos empleados, lo que hace difícil la interpretación.<sup>89-93</sup>

Un ECCA doble ciego en una institución, sobre el efecto de las complicaciones infecciosas de la transfusión de glóbulos rojos leucorreducidos (GR-LR) vs no-leucorreducidos (NLR) administradas dentro de las 24 horas en 268 pacientes heridos, reveló que las tasas de complicaciones infecciosas fueron similares a las transfusiones de productos LR y NLR- 30% versus 36%, riesgo relativo = 0,84 (0,55-1,3).<sup>88</sup>

En un ECCA multicéntrico, doble ciego, los 1.089 pacientes programados para artroplastia total de cadera y elegibles para la recolección de sangre autóloga preoperatoria, fueron asignados aleatoriamente para recibir ya sea sangre autóloga sin modificar o sangre autóloga LR. La tasa global de infección posoperatoria fue similar en ambos grupos (17,3% vs 17,6%,  $p = 0,59$ ).<sup>70</sup>

Un meta-análisis de doce ECCA demostró una asociación entre la infección y la transfusión posoperatoria de GR LR-posalmacenamiento (OR = 2,25, IC 95% = 1.12 a 4.25), pero no con GR LR prealmacenamiento (OR = 1.06, IC del

95 % IC = 0.91 a 1.24). También se ha demostrado una asociación de transfusión de glóbulos rojos con la mortalidad, pero sólo a través de estudios realizados en cirugía cardíaca (OR= 1,72, IC 95% = 1,05 a 2,81).<sup>93</sup>

El resto de los estudios han mostrado resultados dispares. Por ejemplo, dos estudios en pacientes con artroplastia revelan disminución significativa de las tasas de infección en pacientes que recibieron sangre LR.<sup>94,95</sup> En dos estudios sobre pacientes sometidos a transfusión de sangre alogénica vs sangre autóloga en cirugía aórtica infrarrenal, se encuentra una reducción significativa de la infección posoperatoria en uno,<sup>96</sup> y en el otro no.<sup>97</sup>

Un solo estudio en pacientes con quemaduras revela una disminución de las necesidades de sangre y disminución de la acumulación de sustancias bioactivas en los pacientes que recibieron sangre LR. pre-almacenamiento.<sup>98</sup>

Un estudio retrospectivo en la unidad de cuidados intensivos (UCI) muestra mayores tasas de infección en los pacientes transfundidos, pero no encontró una disminución significativa de las infecciones nosocomiales en los pacientes que recibieron los componentes de la sangre LR.<sup>99</sup>

Un estudio retrospectivo evaluó 2.432 pacientes para infección nosocomial; de los cuales 609 fueron transfundidos.<sup>100</sup> Se empleó sangre LR pre-almacenamiento para todas las transfusiones. Los pacientes transfundidos eran más propensos que los no transfundidos a adquirir una infección nosocomial.

Dos estudios recientes han revelado resultados dispares en pacientes con traumatismos, el primero de ellos

encuentra una reducción en las complicaciones infecciosas que fue más pronunciada cuando los pacientes recibieron más de seis unidades de glóbulos rojos,<sup>101</sup> mientras que en el otro, la LR de los productos no redujo la tasa de infección y mortalidad.<sup>102</sup>

Otro estudio reciente prospectivo y observacional comparó la tasa de infecciones del sitio quirúrgico en pacientes que reciben sangre LR prealmacenamiento vs los que no fueron transfundidos. El análisis de regresión logística, que incorpora doce variables, encontró una correlación significativa de la infección del sitio quirúrgico con la transfusión de sangre; sin embargo, después de añadir otra variable, el tiempo de la cirugía la relación desapareció. Los autores sugieren que la duración de la cirugía es un marcador sustituto de la complejidad quirúrgica y que la transfusión de sangre alogénica no debe ser evitada debido a preocupaciones acerca de IMRT.<sup>103</sup>

Dos meta-análisis apoyan la conclusión de que la transfusión de GR LR en lugar de los GR-NLR no tiene ningún efecto apreciable sobre la recurrencia del cáncer de colon.<sup>104,105</sup>

Dos estudios provenientes del mismo grupo de investigación, informan OR significativamente mayores que en otros estudios en favor de la leucorreducción.<sup>79,80</sup>

Los investigadores del estudio Transfusion-Associated Complications = Transfusion - Induced Complications (TACTIC) sobre el efecto de la leucorreducción en el pronóstico del cáncer, reportan que la supervivencia a cinco años y la recurrencia de cáncer entre 512 pacientes con cáncer gastrointestinal no

fueron influenciados por la leucorreducción.<sup>106</sup>

Tres estudios recientes (dos retrospectivos y un ECCA) investigaron específicamente si la sangre LR mejora sustancialmente los resultados en cáncer de esófago y gastrointestinal, incluido el cáncer colorrectal. Encontraron que a los pacientes que recibieron transfusiones les fue significativamente peor, y el suministro de sangre LR no disminuyó la recurrencia o mortalidad.<sup>106-108</sup>

Los ECCA en la cirugía cardíaca han producido resultados contradictorios. Cuatro estudios (dos de Europa y dos de América) con la participación de 1.352 pacientes no encontraron aumento de las tasas de infección y mortalidad en pacientes que reciben componentes de la sangre no LR vs LR.<sup>109-112</sup>

Un quinto estudio con 914 pacientes revela una mayor mortalidad e infección en pacientes que reciben los componentes no LR. En este estudio, los pacientes fueron asignados aleatoriamente para recibir GR-NLR con remoción de la capa leucocitaria, GR LR prealmacenamiento o LR posalmacenamiento. No hubo diferencias significativas entre los dos grupos que recibieron productos LR. Se identificó un aumento significativo en la mortalidad a sesenta días, sobre todo debido a disfunción multiorgánica, en pacientes que reciben no LR con remoción de la capa leucocitaria ( $p = 0,015$ ). Además, hubo aumento de la mortalidad y la tasa de infección en pacientes que recibieron cuatro o más unidades de sangre. Ni la infección ni la mortalidad fueron significativamente diferentes en los pacientes que recibieron tres o menos unidades de sangre. Las tasas de infección más bajas se encontraron

en pacientes que no recibieron transfusiones.<sup>5</sup>

Un estudio de seguimiento<sup>113</sup> asignó aleatoriamente a 496 pacientes de cirugía cardíaca para recibir GR LR pre-almacenamiento o GR-NLR con remoción del buffy-coat. La mortalidad a los noventa días no fue significativamente diferente, pero la mortalidad hospitalaria fue dos veces mayor en el grupo que recibió productos no LR ( $p = 0,05$ ). La principal causa de muerte fue la disfunción multiorgánica (SDMO), aunque la incidencia real de SDMO fue la misma entre los dos grupos. El análisis de subgrupos reveló que la mortalidad hospitalaria no fue diferente entre los dos grupos de pacientes que recibieron tres o menos unidades de sangre, y que la mayor parte del exceso de mortalidad se dio en pacientes que recibían cuatro o más unidades de la GR-NLR con remoción de la capa leucocitaria. Para estos pacientes, la reducción de leucocitos se asoció con un riesgo significativamente menor de muerte ( $p = 0,02$ ). Las tasas globales de infección post-operatoria fueron significativamente menores en el grupo LR ( $p = 0,02$ ), pero la mayoría de las infecciones en ambos grupos de estudio se presentaron en pacientes que recibieron cuatro o más unidades de sangre. Cuando aquellos que recibieron cuatro o más unidades de sangre fueron comparados, el grupo LR tuvo una reducción significativa de la tasa de infección ( $p=0,01$ ).

Posteriormente, se publicó un pequeño ECCA<sup>114</sup> en cirugía cardíaca, pero usando los filtros de LR en la cabecera del paciente para la transfusión durante la cirugía, sin encontrar diferencias en la mortalidad a treinta días, tiempo de

permanencia o duración de la ventilación mecánica, pero se percibió un aumento en las infecciones pulmonares en el grupo que recibió la sangre no LR ( $p = 0,048$ ).

Del mismo modo para la cirugía cardíaca, un estudio de cohortes antes y después de la LR universal no encontró ninguna reducción en la duración de la estancia o infecciones,<sup>115</sup> mientras otro sí observó reducción de la estancia en el grupo LR.<sup>116</sup>

Se ha observado en el trasplante hepático, una disminución de los episodios de rechazo agudo y de la estancia hospitalaria después de la adopción de la LR universal.<sup>117</sup>

En un estudio Viral Activation Transfusión Study (VATS) sobre los posibles efectos de la IMRT en una población de pacientes severamente inmunodeprimidos, se asignaron aleatoriamente 531 pacientes con enfermedad avanzada por VIH con seropositividad para CMV para recibir componentes LR pre-almacenamiento o componentes no LR. La sangre transfundida en ambos grupos fue <14 días para reducir el efecto IMRT debido a otras causas. El estudio no mostró diferencias en la mortalidad, carga viral del VIH, activación de CMV, o niveles de citoquinas entre los dos grupos, lo que demuestra que no hay un beneficio con el uso de la sangre LR en esta población de pacientes severamente inmunosuprimidos. Por el contrario, hubo un aumento no significativo paradójico de la mortalidad en el grupo que recibió productos LR.<sup>87</sup>

## Conclusión y recomendaciones

Después de la transfusión sanguínea, los receptores experimentan una altera-

ción de la función de las células asesinas naturales, disminución de la función fagocítica de los macrófagos, supresión de la producción de linfocitos y una ineficaz presentación de antígenos.

Aún existe mucha controversia con respecto a los posibles mecanismos de la IMRT y su significado clínico. Los mecanismos pueden ser dependientes de antígenos específicos de leucocitos, o relacionados con factores solubles bioactivos no específicos. Es probable que la transfusión de leucocitos alogénicos sea la responsable de la mayoría de los efectos de la IMRT. Es posible que la calidad, velocidad, volumen, lesión de almacenamiento y la edad de los glóbulos rojos transfundidos estén relacionados con los posibles efectos adversos clínicos de la IMRT, incluido un mayor riesgo de recurrencia del cáncer, infecciones posoperatorias y la mortalidad a corto plazo.

La mayoría de los estudios que investigan estos aspectos han sido observacionales y no aleatorizados, con importantes problemas metodológicos que hacen difícil la interpretación del significado clínico de los hallazgos. Por el momento son necesarios los ECCA con mejores diseños para determinar si estas relaciones son válidas. Los ECCA en la cirugía cardíaca han demostrado un aumento de la mortalidad a corto plazo, de causa no específica, en pacientes que reciben sangre no leucorreducida. Los resultados de los ECCA que evalúan la relación entre el riesgo de infección bacteriana y TA han sido contradictorios, aunque la mayoría de estudios recientes tienden a informar resultados negativos. Un meta-análisis de ECCA que investiga la asociación entre la TA

y la recurrencia del cáncer no mostró incremento del riesgo de recurrencia del cáncer en la cohorte de TA.

La práctica de la LR universal es cada vez más común, aunque su papel en la mitigación de IMRT sigue siendo controversial. Los estudios clínicos publicados que evalúan los efectos del almacenamiento de los glóbulos rojos aún no proporcionan evidencia suficiente para realizar una reingeniería del banco de sangre y en especial del sistema de gestión de inventarios.

La información actual al menos proporciona datos para apoyar la conducta ética de planear grandes estudios clínicos que aclaren de manera definitiva este concepto y evalúe su riesgo real

## Referencias

1. Opelz G, Sengar DP, Mickey MR, et al. Effect of blood transfusions on subsequent kidney transplants. *Transplant Proc* 1973; 5: 253-9.
2. Peters WR, Fry RD, Fleshman JW, et al. Multiple blood transfusions reduce the recurrence rate of Crohn's disease. *Dis Colon Rectum* 1989;32:749-53.
3. William JG, Hughes LE. Effect of perioperative blood transfusion on recurrence of Crohn's disease (letter). *Lancet* 1989;ii:1524.
4. Clark DA, Gunby J, Daya S. The use of allogeneic leukocytes or IV IgG for the treatment of patients with recurrent spontaneous abortions. *Transfus Med Rev* 1997;11:85-94
5. Van de Watering LMG, Hermans J, Hobijs JGA, et al. Beneficial effect of leucocyte depletion of transfused blood on post-operative complications in patients undergoing cardiac surgery: a randomized clinical trial. *Circulation* 1998; 97: 562-8.
6. Vamvakas EC, Bordin JO, Blajchman MA. Immunomodulatory and proinflammatory effects of allogeneic blood transfusion. In: Simon TL, Snyder EL, Solheim BG, et al, eds. *Rossi's principles of transfusion medi-*



- cine. 4th ed. Bethesda, MD: AABB Press, 2009:699-717.
7. Vamvakas EC, Blajchman MA. Transfusion related immunomodulation (TRIM): An update. *Blood Rev* 2007;21:327-48.
  8. Utter GH, Lee TH, Rivers RM, et al. Microchimerism decades after transfusion among combat-injured US veterans from the Vietnam, Korean and World War II conflicts. *Transfusion* 2008;48:1609-15.
  9. Utter GH, Nathens AB, Lee TH, et al. Leukoreduction of blood transfusions does not diminish transfusion-associated microchimerism in trauma patients. *Transfusion* 2006;46:1863-9.
  10. Adamson JW. New blood, old blood or no blood? *N Engl J Med* 2008; **12**: 1295
  11. Vamvakas EC. Possible mechanisms of allogeneic blood transfusion-associated postoperative infection. *Transfus Med Rev* 2002;16:144-60.
  12. Nielsen HJ, Reimert CM, Pedersen AN, et al. Time dependent, spontaneous release of white cell and platelet-derived bioactive substances from stored human blood. *Transfusion* 1996; 36:960-5.
  13. Silliman CC, Voelkel NF, Allard JD, et al. Plasma and lipids from stored packed red blood cells cause acute lung injury in an animal model. *J Clin Invest* 1998;101:1458-67.
  14. Silliman CC, Clay KL, Thurman GW, et al. Partial characterization of lipids that develop during the routine storage and prime the neutrophil NADPH oxidase. *J Lab Clin Med* 1994;124:684-94.
  15. Ghio M, Contini P, Ubezio G, et al. Immunomodulatory effects of blood transfusions: The synergic role of soluble HLA Class I free heavy-chain molecules detectable in blood components. *Transfusion* 2008;48:1591-7.
  16. Blumberg N, Heal J. Immunomodulation by transfusion. In: Spiess B, Shander A, eds. *Perioperative transfusion medicine*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2006: 152-67.
  17. Marik PE, Corwin HL. Efficacy of red blood cell transfusion in the critically ill: a systematic review of the literature. *Crit Care Med* 2008;36:2667-74.
  18. Lelubre C, Piagnerelli M, Vincent JL. Association between duration of storage of transfused red blood cells and morbidity and mortality in adult patients: myth or reality? *Transfusion* 2009;49: 1384-94.
  19. Zimrin AB, Hess JR. Current issues relating to the transfusion of stored red blood cells. *Vox Sang* 2009;96:93-103.
  20. van deWatering L; Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative. Pitfalls in the current published observational literature on the effects of red blood storage. *Transfusion* 2011;51:1847-54.
  21. Napolitano LM, Corwin HL. Efficacy of blood transfusion in the critically ill: does age of blood make a difference? *Crit Care Med* 2004;32:594-5.
  22. Silliman CC, Moore EE, Johnson JL, Gonzalez RJ, Biffi WL. Transfusion of the injured patient: proceed with caution. *Shock* 2004;21:291-9.
  23. Spinella PC, Sparrow RL, Hess JR, Norris PJ. Properties of stored red blood cells: understanding immune and vascular reactivity. *Transfusion* 2011;51:894-900.
  24. McIntyre LA, Hebert PC. Can we safely restrict transfusion in trauma patients? *Curr Opin Crit Care* 2006;12:575-83.
  25. Bennett-Guerrero E, Veldman TH, Doctor A, Telen MJ, Ortel TL, Reid TS, Mulherin MA, Zhu H, Buck RD, Califf RM, McMahon TJ. Evolution of adverse changes in stored RBCs. *PNAS* 2007;104:17063-8.
  26. Tinmouth A, Fergusson D, Yee IC, Hebert PC. Clinical consequences of red cell storage in the critically ill. *Transfusion* 2006;46:2014-27.
  27. van deWatering L. Red cell storage and prognosis. *Vox Sang* 2011;100:36-45.
  28. Biffi WL, Moore EE, Offner PJ, Ciesla DJ, Gonzalez RJ, Silliman CC. Plasma from aged stored red blood cells delays neutrophil apoptosis and primes for cytotoxicity: abrogation by poststorage washing but not prestorage leukoreduction. *J Trauma* 2001;50:426-32.

29. Cardo LJ, Hmel P, Wilder D. Stored packed red blood cells contain a procoagulant phospholipid reducible by leukodepletion filters and washing. *Transfus Apher Sci* 2008; 38:141-7.
30. Sweeney J, Kouttab N, Kurtis J. Stored red blood cell supernatant facilitates thrombin generation. *Transfusion* 2009; 49:1569-79.
31. Zallen G, Moore EE, Ciesla DJ, Brown M, Biffl WL, Silliman CC. Stored red blood cells selectively activate human neutrophils to release IL-8 and secretory PLA2. *Shock* 2000;13: 29-33.
32. Arslan E, Sierko E, Waters JH, Siemionow M. Microcirculatory hemodynamics after acute blood loss followed by fresh and banked blood transfusion. *Am J Surg* 2005;190: 456-62.
33. Raat NJ, Verhoeven AJ, Mik EG, Gouwerok CW, Verhaar R, Goedhart PT, de Korte D, Ince C. The effect of storage time of human red cells on intestinal microcirculatory oxygenation in a rat isovolemic exchange model. *Crit Care Med* 2005;33:39-45.
34. Simak J, Gelderman MP. Cell membrane microparticles in blood and blood products: potentially pathogenic agents and diagnostic markers. *Transfus Med Rev* 2006;20:1-26.
35. Vamvakas EC. Meta-analysis of clinical studies of the purported deleterious effects of "old" (versus "fresh") red blood cells: are we at equipoise? *Transfusion* 2010;50:600- 10.
36. Glynn SA. The red blood cell storage lesion: a method to the madness. *Transfusion* 2010;50:1164-9.
37. Hill GE, Frawley WH, Griffith KE, et al. Allogeneic blood transfusion increases the risk of postoperative bacterial infection: A meta-analysis. *J Trauma* 2003;54:908-14.
38. Claridge JA, Sawyer RG, Schulman AM, et al. Blood transfusions correlate with infections in trauma patients in a dose-dependent manner. *Am Surg* 2002;68:566-72
39. Taylor RW, Manganaro L, O'Brien J, et al. Impact of allogenic packed red blood cell transfusion on nosocomial infection rates in the critically ill patient. *Crit Care Med* 2002;30: 2249-54
40. Chelemer SB, Prato BS, Cox PM Jr., et al. Association of bacterial infection and red blood cell transfusion after coronary artery bypass surgery. *Ann Thorac Surg* 2002;73:138-42.
41. Blajchman MA. Transfusion immunomodulation or TRIM: what does it mean clinically? *Haematology* 2005; 10(Suppl. 1): 208-14.
42. Ploeg A, Lange C, Lardenoye JW, Breslau P. Nosocomial infections after peripheral arterial bypass surgery. *World J Surg* 2007;31:1687-92.
43. Gunst MA, Minei JP. Transfusion of blood products and nosocomial infection in surgical patients. *Curr Opin Crit Care* 2007;13:428-32.
44. Izuel Rami M, Garcia Erce JA, Gomez-Barrera M, et al. [Relationship between allogeneic blood transfusion, iron deficiency and nosocomial infection in patients with hip fracture]. *Med Clin (Barc)* 2008;131:647-52.
45. Rosmarakis ES, Prapas SN, Rellos K, et al. Nosocomial infections after off-pump coronary artery bypass surgery: Frequency, characteristics, and risk factors. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2007;6:759-67.
46. Gantt CL. Red blood cells for cancer patients. *Lancet* 1981; 2: 363.
47. Amato A, Pescatori M. Perioperative blood transfusions for the recurrence of colorectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2006: CD005033
48. Dresner SM, Lamb PJ, Shenfine J, et al. Prognostic significance of peri-operative blood transfusion following radical resection for oesophageal carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 2000;26:492-7.
49. Balachandran P, Sikora SS, Kapoor S, et al. Long-term survival and recurrence patterns in ampullary cancer. *Pancreas* 2006;32:390-5
50. Dhar DK, Kubota H, Tachibana M, et al. A tailored perioperative blood transfusion might avoid undue recurrences in gastric carcinoma patients. *Dig Dis Sci* 2000;45:1737-42.
51. Pysz M. Blood transfusions in breast cancer patients undergoing mastectomy: Possible importance of timing. *J Surg Oncol* 2000;75:258-63.
52. van de Watering LM, Brand A, Houbiers JG, et al. Perioperative blood transfusions, with or without allogeneic leucocytes, relate to

- survival, not to cancer recurrence. *Br J Surg* 2001;88:267-72.
53. Heiss MM, Mempel W, Delanoff C, et al. Blood transfusion-modulated tumor recurrence: First results of a randomized study of autologous versus allogeneic blood transfusion in colorectal cancer surgery. *J Clin Oncol* 1994;12:1859-67.
  54. Kaibori M, Saito T, Matsui Y, et al. A review of the prognostic factors in patients with recurrence after liver resection for hepatocellular carcinoma. *Am J Surg* 2007;193:431-7.
  55. Ford BS, Sharma S, Rezaishiraz H, et al. Effect of perioperative blood transfusion on prostate cancer recurrence. *Urol Oncol* 2008;26:364-7.
  56. Gallina A, Briganti A, Chun FK, et al. Effect of autologous blood transfusion on the rate of biochemical recurrence after radical prostatectomy. *BJU Int* 2007;100:1249-53.
  57. Paul R, Schmid R, Busch R, et al. Influence of blood transfusions during radical retropubic prostatectomy on disease outcome. *Urology* 2006;67:137-41.
  58. Kamei T, Kitayama J, Yamashita H, et al. Intra-operative blood loss is a critical risk factor for peritoneal recurrence after curative resection of advanced gastric cancer. *World J Surg* 2009;33:1240-6.
  59. Katz SC, Shia J, Liau KH, et al. Operative blood loss independently predicts recurrence and survival after resection of hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2009;249:617-23.
  60. Lloyd JC, Banez LL, Aronson WJ, et al. Estimated blood loss as a predictor of PSA recurrence after radical prostatectomy: Results from the SEARCH database. *BJU Int* 2010;105:347-51.
  61. Weinberg JA, McGwin G Jr., Griffin RL, et al. Age of transfused blood: An independent predictor of mortality despite universal leukoreduction. *J Trauma* 2008;65:279-82.
  62. Chin-Yee I, Arya N, d'Almeida MS. The red cell storage lesion and its implication for transfusion. *Transfus Sci* 1997;18:447-58.
  63. Spinella PC, Perkins JG, Grathwohl KW, Repine T, Beekley AC, Sebesta J, Jenkins D, Azarow K, Holcomb JB; 31<sup>st</sup> Combat Support Hospital Research Working Group. Risks associated with fresh whole blood and red blood cell transfusions in a combat support hospital. *Crit Care Med* 2007; 35:2576-81.
  64. Doctor A, Stamler JS. NO transport in blood: a third gas in the respiratory cycle. *Compr Physiol* 2011;1:541-68
  65. Hess JR. Red cell changes during storage. *Transfus Apher Sci* 2010;43:51-9
  66. Blajchman MA. Transfusion-associated immunomodulation and universal white cell reduction: are we putting the cart before the horse? *Transfusion* 1999; 39: 665-70.
  67. Hébert PC, Fergusson D, Blajchman MA, et al. Clinical outcomes following institution of the Canadian universal leukoreduction program for red blood cell transfusions. *JAMA* 2003;289:1941-9.
  68. Vincent JL, Sakr Y, Sprung C, et al. Are blood transfusions associated with greater mortality rates? Results of the sepsis occurrence in acutely ill patients study. *Anesthesiology* 2008;108:31-9.
  69. Vincent JL, Baron JF, Reinhart K, et al. Anemia and blood transfusion in critically ill patients. *JAMA* 2002;288:1499-507.
  70. Frietsch T, Karger R, Schöler, et al. Leukodepletion of autologous whole blood has no impact on perioperative infection rate and length of hospital stay. *Transfusion* 2008;48:2133-42.
  71. Tasaki T, Ohto H, Sasaki S, et al. Significance of pre-storage leukoreduction for autologous blood. *Vox Sang* 2009;96:226-33.
  72. Lobaziewicz W, Kolodziejcki L. The impact of homologous packed red blood cell transfusion on patients' survival after radical surgical treatment of colorectal cancer. *Acta Chir Belg* 2008;108:524-31.
  73. Basora M, Pereira A, Soriano A, et al. Allogeneic blood transfusion does not increase the risk of wound infection in total knee arthroplasty. *Vox Sang* 2010;98:124-9.
  74. Rinker BD, Bowling JT, Vasconez HC. Blood transfusion and risk of metastatic disease or recurrence in patients undergoing immediate TRAM flap breast reconstruction: A clinical

- study and meta-analysis. *Plast Reconstr Surg* 2007;119:2001-7.
75. Johnston P, Wynn-Jones H, Chakravarty D, et al. Is perioperative blood transfusion a risk factor for mortality or infection after hip fracture? *J Orthop Trauma* 2006;20:675-9.
  76. Vamvakas EC. White-blood-cell containing allogeneic blood transfusion, postoperative infection, and mortality: a meta-analysis of observational, 'before-and-after' studies. *Vox Sang* 2004; **86**: 111-9.
  77. Busch OR, Hop WC, Hoyneck van Papendrecht MA, et al. Blood transfusions and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med* 1993;328:1372-6.
  78. Houbiers JG, Brand A, van de Watering LM, et al. Randomised controlled trial comparing transfusion of leucocyte-depleted or buffy-coat-depleted blood in surgery for colorectal cancer. *Lancet* 1994;344:573-8.
  79. Jensen LS, Andersen AJ Christiansen PM, et al. Postoperative infection and natural killer cell function following blood transfusion in patients undergoing elective colorectal surgery. *Br J Surg* 1992;79:513-16.
  80. Jensen LS, Kissmeyer-Nielsen P, Wolff B, et al. Randomised comparison of leucocyte-depleted versus buffy-coat-poor blood transfusion and complications after colorectal surgery. *Lancet* 1996;348:841-5.
  81. Heiss MM, Mempel W, Jauch KW, et al. Beneficial effect of autologous blood transfusion on infectious complications after colorectal cancer surgery. *Lancet* 1992;342:1328-33.
  82. Houbiers JG, van de Velde Cj, Van de Watering LM, et al. Transfusion of red cells is associated with increased incidence of bacterial infection after colorectal surgery: A prospective study. *Transfusion* 1997;37:121-5.
  83. Tartter PI, Mohandas K, Azar P, et al. Randomized trial comparing packed red cell blood transfusion with and without leukocyte depletion for gastrointestinal surgery. *Am J Surg* 1998;176:462-6.
  84. Titlestad IL, Ebbesen LS, Ainsworth AP, et al. Leukocyte-depletion of blood components does not significantly reduce the risk of infectious complications. Results of a double-blinded, randomized study. *Int J Colorectal Dis* 2001;16:147-53.
  85. van Hilten JA, van de Watering LM, van Bockel JH, et al. Effects of transfusion with red cells filtered to remove leukocytes: Randomised controlled trial in patients undergoing major surgery. *Br Med J* 2004;328:1281-4.
  86. Dzik WH, Anderson JK, O'Neill EM, et al. A prospective, randomized clinical trial of universal WBC reduction. *Transfusion* 2002;42:1114-22.
  87. Collier AC, Kalish LA, Busch MP, et al. Leukocyte reduced red blood cell transfusions in patients with anemia and human immunodeficiency virus infection. The Viral Activation Transfusion Study: A randomized controlled trial. *JAMA* 2001;285:1592-601.
  88. Nathens AB, Nester TA, Rubenfeld GD, et al. The effects of leukoreduced blood transfusion on infection risk following injury: A randomized controlled trial. *Shock* 2006;26:342-7.
  89. Blumberg N, Zhao H, Wang H, et al. The intention-to-treat principle in clinical trials and meta-analyses of leukoreduced blood transfusions in surgical patients. *Transfusion* 2007;47:573-81.
  90. Vamvakas EC. Why have meta-analyses of randomized controlled trials of the association between non-white-blood-cell reduced allogeneic blood transfusion and postoperative infection produced discordant results? *Vox Sang* 2007;93:196-207.
  91. Fergusson D, Khanna MP, Tinmouth A, et al. Transfusion of leukoreduced red blood cells may decrease postoperative infections: Two meta-analyses of randomized controlled trials. *Can J Anesth* 2004;51:417-25.
  92. Vamvakas EC. Meta-analysis of randomized controlled trials investigating the risk of postoperative infection in association with white blood cell-containing allogeneic blood transfusion: The effects of transfused red blood cell product and surgical setting. *Transfus Med Rev* 2002;16:304-14.
  93. Vamvakas EC. White-blood-cell-containing allogeneic blood transfusion and postoperative infection or mortality: An updated meta-analysis. *Vox Sang* 2007;92:224-32.

94. Newman JH, Bowers M, Murphy J. The clinical advantages of autologous transfusion. A randomized controlled study after knee replacement. *J Bone Joint Surg Br* 1997;79:630-2.
95. Thomas D, Wareham K, Cohen D, et al. Autologous blood transfusion in total knee replacement surgery. *Br J Anaesth* 2001;86:669-73.
96. Farrer A, Spark JI, Scott DJ. Autologous blood transfusion: The benefits to the patient undergoing abdominal aortic aneurysm repair. *J Vasc Nurs* 1997;15:111-15.
97. Wong JC, Torella F, Haynes SL, et al. Autologous versus allogeneic transfusion in aortic surgery: A multicenter randomized clinical trial. *Ann Surg* 2002;235:145-51.
98. Nielsen HJ, Hammer JH, Krarup AL, et al. Prestorage leukocyte filtration may reduce leukocyte-derived bioactive substance accumulation in patients operated for burn trauma. *Burns* 1999;25:162-70.
99. Taylor RW, O'Brien J, Trottier S, et al. Red blood cell transfusions and nosocomial infections in critically ill patients. *Crit Care Med* 2006;34:2302-8
100. Rachoin JS, Daher R, Schorr C, et al. Microbiology, time-course and clinical characteristics of infection in critically ill patients receiving packed red blood cell transfusion *Vox Sang* 2009;97:294-302
101. Friese RS, Sperry JL, Phelan HA, et al. The use of leukoreduced red blood cell products is associated with fewer infectious complications in trauma patients. *Am J Surg* 2008;196:56-61.
102. Englehart MS, Cho SD, Morris MS, et al. Use of leukoreduced blood does not reduce infection, organ failure or mortality following trauma. *World J Surg* 2009;33:1626-32.
103. Weber WP, Zwahlen M, Reck S, et al. The association of preoperative anemia and perioperative allogeneic blood transfusion with risk of surgical site infection. *Transfusion* 2009;49: 1964-70
104. McAlister FA, Clark HD, Wells PS, et al. Perioperative allogeneic blood transfusion does not cause adverse sequelae in patients with cancer: A meta-analysis of unconfounded studies. *Br J Surg* 1998;85:171 8.
105. Vamvakas EC. Transfusion-associated cancer recurrence and postoperative infection: Meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. *Transfusion* 1996;36:175-86.
106. Lange MM, van Hilten JA, van de Watering LM, et al. Leucocyte depletion of perioperative blood transfusion does not affect long-term survival and recurrence in patients with gastrointestinal cancer. *Br J Surg* 2009;96:734-40.
107. Ling FC, Hoelscher AH, Vallbohmer D, et al. Leukocyte depletion in allogeneic blood transfusion does not change the negative influence on survival following transthoracic resection for esophageal cancer. *J Gastrointest Surg* 2009;13:581-6.
108. Skanberg J, Lundholm K, Haglind E. Effects of blood transfusion with leukocyte depletion on length of hospital stay, respiratory assistance and survival after curative surgery for colorectal cancer. *Acta Oncol* 2007;46:1123-30.
109. Perttila JT, Salo MS, Jalonon JR, et al. Blood transfusion with autologous and leukocyte-depleted or standard allogeneic red blood cells and the immune response to open heart surgery. *Anesth Analg* 1994;79:654-60.
110. Wallis JP, Chapman CE, Orr KE, et al. Effect of WBC reduction of transfused RBCs on postoperative infection rates in cardiac surgery. *Transfusion* 2002;42:1127-34.
111. Bracey AW, Radovancevic R, Nussmeier NA, et al. Leukocyte-reduced blood in open-heart surgery patients: Effects on outcome (abstract). *Transfusion* 2002;42(Suppl):5S.
112. Boshkov LK, Furnary A, Morris C, et al. Pre-storage leukoreduction of red cells in elective cardiac surgery: Results of a double-blind randomized controlled trial (abstract) *Blood* 2004;104(Suppl):112a.
113. Bilgin YM, van de Watering LM, Eijnsman L, et al. Double-blind, randomized controlled trial on the effect of leukocyte-depleted erythrocyte transfusions in cardiac valve surgery. *Circulation* 2004;109:2755-60.
114. Connery CP, Toumpoulis IK, Anagnostopoulos CE, et al. Does leukofiltration reduce pulmonary infections in CABG patients? A prospective, randomized study with early

- results and mid-term survival. *Acta Cardiol* 2005;60:285-93.
115. Capraro L, Kuitunen A, Vento AE, et al. Universal leukocyte reduction of transfused red cells does not provide benefit to patients undergoing cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2007;21:232-6.
116. Fung MK, Moore K, Ridenour M, et al. Clinical effects of reverting from leukoreduced to non-leukoreduced blood in cardiac surgery. *Transfusion* 2006;46:386-91.
117. Parker BM, Irefin SA, Sabharwal V, et al. Leukocyte reduction during orthotopic liver transplantation and postoperative outcome: A pilot study. *J Clin Anesth* 2004;16:18-24.

# Enfermedad injerto contra huésped asociada a la transfusión (EICH-AT)

BERNARDO CAMACHO RODRÍGUEZ\*

La enfermedad injerto contra huésped asociada a la transfusión (EICH-AT), es una infrecuente y fatal complicación aguda de la transfusión, que se presenta en pacientes susceptibles que reciben componentes sanguíneos celulares no irradiados. También ha sido descrita una forma aguda y crónica postrasplante de médula ósea, o de células progenitoras hematopoyéticas y en pacientes trasplantados con órganos que contienen células linfoides.<sup>1,2</sup>

Las tres últimas décadas han permitido conocer con suficiente evidencia los mecanismos fisiopatológicos involucrados en la EICH, así como los grupos y factores de riesgo asociados.

El incremento del número de trasplantes realizados en los últimos años, así como el uso de quimioterapias e inmunosupresión intensiva y más

\* *Director Hemocentro Distrital, Bogotá, Colombia.*

mieloablative, hacen necesario identificar los pacientes en riesgo para tomar las medidas tendientes a prevenir su ocurrencia, irradiar los componentes sanguíneos a transfundir y estar alerta para sospechar cuando se presenten los signos característicos, dado el hecho de que la EICH-AT tiene peor evolución que la EICH postrasplante de progenitores hematopoyéticos, que en su forma casi siempre aguda la mortalidad es mayor del 90% y prácticamente los tratamientos y el manejo propuesto son ineficaces. Esta evolución se explicaría por dos razones fundamentales: el contexto clínico en que se desarrolla: pacientes susceptibles y/o portadores de enfermedades de pronóstico reservado y el mayor compromiso de la médula ósea que en más de un 70% evoluciona hacia aplasia severa y pancitopenia progresiva lo que determina una mayor susceptibilidad a sobreinfecciones graves y muerte secundaria.<sup>3-6</sup>

La incidencia general de esta complicación se puede presentar entre el 0.005% y el 0.002% de las transfusiones realizadas<sup>3,4,7-10</sup> Si bien esta complicación fue inicialmente descrita en pacientes inmunosuprimidos, también fue reportada en pacientes inmunocompetentes<sup>11</sup> y su incidencia no es homogénea en las distintas regiones del mundo, debido a la variabilidad genética de la población y a ciertas prácticas transfusionales; así por ejemplo el riesgo estimado en los EE.UU. para los blancos se sitúa entre 1 de 17.000 a 1 de 39.000 transfusiones, mientras que en Japón es mucho más frecuente 1 de 600 a 1 de 7.900 transfusiones, lo que provoca que unos diez pacientes fallezcan en dicho país por EICH-AT,<sup>12,13</sup> pero su

incidencia se incrementa en pacientes susceptibles, como por ejemplo aquellos que reciben trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, caso en el cual se incrementa entre 0.1% al 1% y en razas genéticamente homogéneas o con alta frecuencia de haplotipos HLA (Human Leucocyte Antigens) idénticos, como ocurre en la población japonesa,<sup>12</sup> cuya incidencia aumentaría a 1/700 en adultos inmunocompetentes sometidos a bypass cardiopulmonar, al ser transfundidos con sangre fresca no irradiada. En el Reino Unido, en el informe de Hemovigilancia (SHOT) durante el periodo 1996-2006, de 3.770 casos de reacciones adversas notificadas y revisadas, 13 (0.3%) de ellas fueron casos de EICH-AT. Todas ellas provocaron el fallecimiento del receptor.<sup>13-15</sup>

La enfermedad fue reportada en humanos en 1966, después de un trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas (CPH)<sup>16</sup>. Inicialmente descrita como un cuadro de eritrodermia, acompañada de rápida y fatal pancitopenia en pacientes con inmunodeficiencia, este síndrome fue posteriormente caracterizado como una forma de EICH secundario a transfusión presentando un cuadro clínico que normalmente inicia con fiebre, seguido de rash cutáneo, disfunción hepática, diarrea, pancitopenia, sepsis y muerte del paciente; solo fue hasta la década de los ochenta que se estableció la enfermedad injerto contra huésped asociado a la transfusión (EICH-AT), en pacientes inmunocomprometidos y, posteriormente, en individuos inmunocompetentes<sup>11</sup>.

Al menos dos factores han contribuido a su diagnóstico: la presentación de su cuadro clínico característico en



pacientes susceptibles o con factores de riesgo, transfundidos con productos sanguíneos no irradiados y el incremento de los trasplantes especialmente de células progenitoras hematopoyéticas. Su diagnóstico no es fácil debido a que otras condiciones de los pacientes pueden enmascarar su cuadro clínico, como ocurre en los casos de infección viral y reacciones a algunos medicamentos. Para hacer su diagnóstico se debe tener un alto índice de sospecha, respecto a si los pacientes hacen parte de las condiciones o grupos de riesgo<sup>17-18</sup>.

## Fisiopatología

Generalmente el HLA del donante y el del receptor son incompatibles, cuando el receptor es transfundido con componentes sanguíneos celulares: glóbulos rojos, plaquetas, granulocitos o plasma fresco no congelado que contienen linfocitos viables, el receptor rechaza los linfocitos extraños.<sup>19,20</sup> En los pacientes severamente inmunosuprimidos por distintas causas, estos linfocitos transfundidos no son rechazados y proliferan libremente, desencadenan la EICH-AT. En los pacientes inmunocompetentes que comparten haplotipos del sistema HLA, por ejemplo en los casos de transfusiones dirigidas entre familiares en primero y segundo grado de consanguinidad, o cuando se transfunden componentes plaquetarios HLA compatibles,<sup>15</sup> los linfocitos del donante son reconocidos como propios por el receptor, proliferan y después estos linfocitos del donante montan una respuesta inmune celular contra células del receptor, lo que ocasiona un proceso de inflamación y grave daño tisular,

lo que desencadena una EICH-AT aguda, que ocurre dentro de los cinco a treinta días postransfusión, con una mortalidad mayor al 90%.<sup>6</sup> En la reacción postrasplante de células progenitoras hematopoyéticas, la respuesta es más tardía desencadenándose entre los 30 y 100 días postrasplante y presenta una mortalidad entre el 10% al 20%. Esto indica que la EICH-AT, es más grave.

En modelos animales se ha demostrado que la población de linfocitos T CD4 y CD8 juega un papel en la patogénesis de la EICH-AT. Billingham definió en 1966 los requisitos para desarrollar una EICH: 1) el injerto debe poseer células (linfocitos viables) inmunológicamente competentes; 2) el injerto debe reconocer al huésped como extraño para producir una respuesta inmune contra él y 3) el huésped debe ser incapaz de reaccionar adecuadamente contra el injerto<sup>21</sup>. Es preciso partir del hecho de la no histocompatibilidad HLA, entre el receptor de la transfusión y los productos sanguíneos celulares que contienen linfocitos maduros que son los responsables de montar la respuesta inmune. Normalmente cuando un receptor es transfundido con productos sanguíneos celulares que incluyen linfocitos T viables, estos son reconocidos como extraños por el receptor y rechazados, en un individuo inmunocompetente;<sup>22-24</sup> en un paciente inmunosuprimido o inmunocomprometido, éste no tiene la capacidad de reconocer como extraños estos linfocitos T y en cambio, estos sí reconocen como extraños a los linfocitos T del receptor, pues proliferan y montan una respuesta de rechazo dirigida además, contra algunas células blanco del

receptor.<sup>25</sup> Estos linfocitos T CD4 por la vía de una respuesta Th1 secretan IL2, FNT alfa, como sustancias aloestimuladoras; así mismo secretan IL3 y factor estimulante de colonias granulocito-macrófago, estas sustancias son proinflamatorias e inducen una respuesta inmune mediada por células citotóxicas y células NK.<sup>26-28</sup> Los macrófagos, estimulados a su vez, producen la liberación de radical libre de óxido nítrico, que produce mayor lesión en los tejidos del receptor; de otra parte los lipopolisacáridos estimulan a los macrófagos y linfocitos del sistema gastrointestinal, y a los queratinocitos y fibroblastos epidérmicos, lo que explica algunas de las manifestaciones clínicas del receptor como: fiebre, rash cutáneo tipo erupción maculopapular eritematosa que puede progresar a eritrodermia generalizada hacia la formación de bullas, lesión de la mucosa gastrointestinal, vómito, diarrea acuosa/sanguinolenta, lesión hepática con hiperbilirrubinemia, linfadenopatía, pancitopenia por aplasia, sepsis y muerte del paciente.<sup>16</sup> Si el receptor está inmunocomprometido, debido a una enfermedad congénita, o presenta una inmunodeficiencia secundaria a una enfermedad de base y se encuentra en quimioterapia o radioterapia, este receptor es incapaz de rechazar los linfocitos T transfundidos, los cuales van a proliferar y a reconocer como extraños los linfocitos T del receptor y a montar una respuesta de rechazo que afecta otras células y genera una EICH.

En los receptores inmunocompetentes que son transfundidos con componentes sanguíneos celulares o plasma fresco (no congelado) que contienen linfocitos del donante en los casos en que

donante y receptor comparten o tienen idénticos haplotipos en el sistema HLA, como ocurre en las donaciones dirigidas entre padre e hijos, estos linfocitos del donante no son reconocidos como extraños y el receptor no los rechaza, precisamente por compartir este haplotipo; estos linfocitos T viables del donante, proliferan y luego son capaces de iniciar una respuesta de rechazo, al reconocer el segundo haplotipo no idéntico como extraño y por lo tanto se desencadena un cuadro clínico de EICH.<sup>7</sup> En este proceso se activan las citoquinas proinflamatorias ya mencionadas y se generan además células NK y células citolíticas que atacan tejidos y producen muerte celular y destrucción de tejidos del receptor, con gran implicación clínica, sepsis, falla multisistémica y muerte del receptor.<sup>22</sup> En la literatura científica son suficientes las evidencias de este tipo de respuesta, especialmente entre la población japonesa, que comparten haplotipos de relativa alta frecuencia como ocurre con el haplotipo A24 y B52 implicado en más del 50% de los casos de EICH-AT.<sup>29,30</sup> Es preciso señalar que eran relativamente frecuentes las donaciones y transfusiones entre padres e hijos HLA homocigotos, cuyos componentes sanguíneos celulares no eran irradiados para inactivar los linfocitos T. La mayoría de casos, investigaciones y publicaciones de EICH-AT se presentaron en la población japonesa.

### Pacientes en riesgo

- Pacientes con síndromes de inmunodeficiencia congénita tienen alto riesgo de desarrollar EICH-AT porque ellos pueden ser transfundidos

antes de que el diagnóstico de inmunodeficiencia sea hecho: Síndrome de inmunodeficiencia congénita severa, síndrome de Wiskott-Aldrich, síndrome por deficiencia de purina nucleósido fosforilasa.<sup>31-33</sup>

- Pacientes con enfermedades hematológicas malignas: La mayoría de casos de EICH-AT, han sido reportados en pacientes con enfermedades hematológicas malignas tales como Enfermedad o Linfoma de Hodgkin debido a que condiciona un estado subyacente de inmunosupresión; pacientes con diagnóstico de leucemias mieloides y linfoblásticas agudas y leucemia linfocítica crónica, que se encuentran en quimioterapia intensiva; así como pacientes con diagnóstico de Linfoma no Hodgkin en que han sido descritos casos de EICH-AT; pacientes con diagnóstico de mieloma.<sup>34-37</sup>
  - Pacientes con diagnóstico de enfermedad hematológica maligna inmunosuprimidos, que reciben transfusión de concentrados de plaquetas HLA compatibles no irradiadas.
  - Pacientes con enfermedad hematológica maligna que reciben tratamiento con inmunosupresores análogos de la purina, debido al cuadro severo de inmunosupresión que ocasionan.<sup>38</sup>
  - Pacientes con anemia aplásica adquirida son sometidos a terapia inmunosupresora severa, por lo que deben ser transfundidos con componentes sanguíneos irradiados, por el riesgo de EICH-AT.
  - Pacientes sometidos a trasplante de células progenitoras hematopo-
- yéticas-CPH: El riesgo de presentar EICH-AT es muy alto especialmente en pacientes sometidos a trasplante alogénico de CPH, si son transfundidos con componentes sanguíneos no irradiados, tanto por la inmunosupresión derivada de la enfermedad de base, como por la quimioterapia intensiva a que son sometidos estos pacientes. Es requisito imperativo en pacientes sometidos a trasplante de CPH, recibir transfusiones con componentes sanguíneos irradiados. Se recomienda también irradiar las transfusiones en pacientes sometidos a trasplante autólogo de CPH.<sup>4,39</sup>
- Pacientes con tumores sólidos: La quimioterapia para pacientes con algunos tumores sólidos, es más intensa si se emplean fármacos con mayor poder de inmunosupresión y por lo tanto más mieloablativa; estos pacientes pueden requerir más transfusiones y esto crea un riesgo de EICH-AT, sobre todo si los componentes sanguíneos no son irradiados. Se ha reportado EICH-AT en pacientes con neuroblastoma, rhabdomiosarcomas y cáncer pulmonar de células pequeñas.<sup>40,41</sup>
  - Pacientes sometidos a trasplante de órgano sólido: El riesgo se deriva al menos de tres situaciones: 1) de los linfocitos viables presentes en el órgano trasplantado, tales como corazón e hígado; 2) de la inmunosupresión a que son sometidos como parte de los protocolos de acondicionamiento; y 3) de las transfusiones recibidas con componentes sanguíneos no irradiados.<sup>42,43</sup>
  - Transfusión intrauterina: Tanto la transfusión intrauterina como la

ex-sanguino transfusión en casos de EHRN, para realizar recambio sanguíneo, representan un alto riesgo de desarrollar EICH-AT si son transfundidos con productos sanguíneos no irradiados, especialmente como suele ocurrir si se utiliza sangre fresca, donada por sus familiares.<sup>44</sup>

- Fetos y recién nacidos: Los recién nacidos prematuros tienen un sistema inmunológico más inmaduro, algunos factores como transfusiones, cirugía, y estado nutricional comprometen aún más su respuesta inmune. Muchos de estos pacientes reciben transfusiones de sus familiares en las llamadas transfusiones dirigidas que representan un alto riesgo de desencadenar una EICH-AT.<sup>31,46,47</sup>

De manera general, el riesgo de enfermedad de injerto contra huésped (EICH-AT) en pacientes transfundidos, con cáncer, se estima entre el 0.1 y el 1%. Posiblemente el riesgo es mayor en pacientes tratados con análogos de las purinas, por la intensa inmunosupresión que ocasionan y en pacientes con enfermedad de Hodgkin manejados con radio y/o quimioterapia y existe un riesgo transitorio en pacientes manejados con quimioterapia intensiva. La irradiación de componentes sanguíneos se considera conveniente en pacientes receptores de trasplante de médula ósea (progenitores hematopoyéticos) y en individuos con enfermedad de Hodgkin, y una posible indicación en los pacientes sometidos a manejo de quimioterapia intensiva.<sup>4</sup>

Los componentes sanguíneos involucrados corresponden a componentes

celulares: concentrado de eritrocitos, concentrado de plaquetas, tanto de estándar como de donante único, con mayor riesgo si son HLA compatibles, concentrado de granulocitos que poco uso e indicación tienen actualmente, y plasma fresco no congelado. Todos estos componentes sanguíneos contienen linfocitos T viables y todos han sido implicados en casos de EICH-AT.<sup>48</sup>

Además de considerar los anteriores grupos de pacientes de riesgo, es necesario observar otras condiciones o factores, que pueden ser determinantes para que se presente el riesgo de EICH-AT, como son:

- Identidad de haplotipos HLA, especialmente en casos de homocigocidad.<sup>12</sup>
- Donación y transfusión dirigidas entre familiares (padres-hijos).<sup>49</sup>
- Uso de sangre y componentes sanguíneos frescos de menos de 72 horas.
- Transfusión de granulocitos dentro de las 24 horas de colectados.

Los anteriores factores de riesgo están presentes cuando se transfunden sangre y componentes sanguíneos no irradiados, en pacientes susceptibles. Está demostrado que en la sangre o eritrocitos almacenados, los linfocitos experimentan apoptosis y disminuyen su capacidad de responder a estímulos en pruebas hechas en cultivo mixto linfocitario (CML), para determinar su viabilidad celular. En comparación con los donantes no familiares, el riesgo de que la familia del donante tenga suficiente compatibilidad HLA para causar EICH-AT es 7 a 17 veces más alta con los padres del donante, 4 a 9 veces más alta con un hermano y 1.5 a 5 veces más alto con un familiar en segundo grado.

## Presentación clínica EICH-AT

Los signos clínicos clásicos, establecidos desde que se hicieron los primeros reportes de la EICH-AT, corresponden a: fiebre, rash, eritema cutáneo o bullas ampollosas, disfunción hepática, vómito y diarrea acuosa/sanguinolenta, que puede llegar a ser muy profusa, pancitopenia debido a aplasia, sepsis y muerte del receptor.<sup>50-53</sup>

El cuadro se inicia con fiebre, superior a los 38°C, puede ser el primer signo y presentarse tan temprano como a las 72 horas postransfusión, con una media de una semana, seguido por compromiso cutáneo que se manifiesta por prurito o sensación de dolor, seguido de rash o eritema maculopapular cutáneo, que se inicia generalmente en el tronco, continúa hacia las extremidades y compromete las palmas de las manos y las plantas de los pies, su gravedad es variable: desde una forma leve y generalizada hasta una presentación severa con necrólisis epidérmica que se manifiesta por formación de bullas ampollosas; el compromiso gastrointestinal afecta la porción distal del intestino delgado y colon. Se manifiesta por náuseas, vómito, diarrea que puede ser muy aguda por grave lesión de la mucosa intestinal, en algunos casos, con evacuaciones abundantes, ocasionando grave desequilibrio hidroelectrolítico, sangrado, dolor, íleo, dolor abdominal y mala absorción, el compromiso hepático se manifiesta por hepatomegalia, ictericia colestásica, con elevación de las enzimas hepáticas y de la fosfatasa alcalina; el cuadro clínico progresa hacia una leucopenia grave y pancitopenia, lo que ocasiona un cuadro infeccioso grave y la muerte del pacien-

te, con una mortalidad mayor del 90% en su forma aguda, que sobreviene tres semanas después de iniciados los primeros síntomas.<sup>4,7-10,53,54</sup>

En neonatos, la EICH está ligada a la transfusión de componentes sanguíneos frescos, especialmente de donación dirigida o donantes al azar de componentes sanguíneos no irradiados. Su diagnóstico se sospecha con más dificultad por diferentes situaciones clínicas que rodean la atención del neonato y a la necesidad del uso de incubadoras, estado clínico al momento del nacimiento, desnutrición, que pueden encubrir su oportuno diagnóstico y al hecho de que las manifestaciones y signos clínicos aunque sean muy similares a las anteriormente descritas en el adulto, tienen una presentación más tardía que se puede prolongar hasta cuatro semanas después de haber efectuado la transfusión. Inicia con fiebre, seguido de rash o eritema cutáneo generalizado, continúa con pancitopenia y posteriormente desenlace fatal del neonato, secundario a grave infección de tipo bacteriana, viral o por hongos (Figura 1).<sup>22</sup>



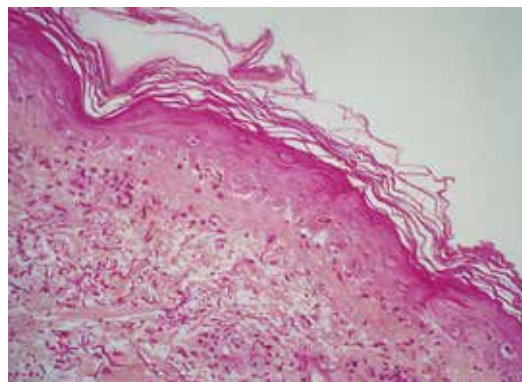
**Figura 1.** Rash cutáneo. Tomado de: Léger CS, Nevill TJ. Hematopoietic stem cell transplantation: a primer for the primary care physician. CMAJ. 2004 170(10):1513.

## Pruebas de confirmación diagnóstica

Como ya ha sido mencionado, algunas pruebas de laboratorio y de patología, contribuyen a confirmar el diagnóstico de EICH-AT, a partir de la sospecha clínica basada en la presentación de los signos y manifestaciones clínicas descritas, en los pacientes o receptores susceptibles o que hacen parte de los grupos o de los factores de riesgo ya mencionados. El cuadro hemático revelará leucopenia y en general pancitopenia. Las enzimas hepáticas mostrarán pruebas anormales. Otras pruebas confirmatorias deberán incluir biopsia de piel y hepática, así como aspirado de médula ósea y de ser necesario, tipificación HLA. El análisis DNA microsatelital y el cultivo mixto linfocitario hacen parte de herramientas más con propósitos de estudio e investigación de la EICH-AT.<sup>53,54</sup>

La biopsia de piel revela vacuolización basal de la epidermis, gran infiltración de células mononucleares en la epidermis, así como degeneración basal de la epidermis y en casos más severos formación de bullas; la biopsia hepática muestra degeneración de los pequeños conductos biliares con infiltrados biliares mononucleares periportales asociados con colestasis hepatocelular y colangiolar. El aspirado de médula ósea muestra hipocelularidad o aplasia aguda con gran infiltración linfocitaria e histiocítica (Figura 2).

La tipificación HLA por serología o por análisis de DNA, es determinante para confirmar el diagnóstico de EICH-AT. La presencia de linfocitos o DNA del donador, en el receptor confirma



**Figura 2.** Biopsia de piel que muestra características típicas de EICH con infiltración de linfocitos y vacuolización de queratinocitos. (Tomado de Avactingis. Cutaneous graft-versus-host disease *Archives of Dermatology* 1998; 134 (5): 602-612)

el diagnóstico de EICH-AT. La muestra puede ser tomada de sangre del receptor o de las infiltrados celulares de las biopsias. Otro método para determinar la presencia de células extrañas al donante es la comparación de polimorfismo de fragmentos largos de restricción y análisis de marcadores microsatelitales, así como el quimerismo celular: la presencia de linfocitos del donante y del receptor.

El estudio de la procedencia de los linfocitos como parte de la confirmación del diagnóstico de EICH así como a las fuentes de los mismos se realiza por el análisis del polimorfismo del DNA microsatelital y por tipificación del HLA.

Es importante resaltar el hecho de que el factor determinante del diagnóstico de EICH-AT lo constituye la presencia del cuadro clínico: fiebre, rash o eritema maculopapular generalizado, presencia de bullas en la piel, diarrea profusa, ictericia secundaria a compromiso hepático, cuadro clínico secundario a transfusión en individuos que hagan parte de los

grupos de riesgo ya mencionados y que las pruebas de laboratorio o patología confirman dicho diagnóstico. La presencia de linfocitos o trazas de DNA del donante por sí solo no establece el diagnóstico de EICH-AT.<sup>53-55,57</sup>

Los tratamientos para el manejo de la EICH no han sido efectivos, aunque se han descrito casos de resolución espontánea de la enfermedad; se ha probado con relativo éxito una combinación de terapia inmunosupresora con ciclosporina, esteroides, anticuerpo monoclonal anti-CD3, OKT3, globulina antitimocítica.<sup>56-58</sup>

## Prevención de la EICH-AT irradiación

Dado el hecho de la no efectividad en el tratamiento de la EICH-AT y la alta letalidad (>90%) en la presentación aguda, se hace imperativo identificar los pacientes susceptibles o los factores de riesgo asociados, con el propósito de que las transfusiones indicadas se realicen con componentes sanguíneos irradiados, es decir, la mejor manera de evitar la EICH-AT debe ser la prevención (evidencia grado III). La dosis de linfocitos T necesarios para iniciar la reacción es desconocida, en modelos animales se ha encontrado que  $10^7$ /Kg de peso de linfocitos en el receptor, pueden iniciar la reacción; en humanos, dosis menores a  $8 \times 10^4$  linfocitos, han causado EICH-AT letal. Se considera que  $10^4$ - $10^5$  linfocitos T en un individuo, son suficientes para causar EICH-AT.<sup>54,59</sup> Aunque se han descrito casos de pacientes que han presentado EICH-AT que fueron transfundidos con componentes sanguíneos irradiados, hoy se considera la

irradiación con rayos gamma o rayos X como un método altamente eficaz para inhibir la viabilidad y proliferación de linfocitos T y por la tanto la ocurrencia de EICH-AT.<sup>9,54,60</sup> La glicerolización de los eritrocitos para congelarlos a  $-70^\circ\text{C}$  y su posterior lavado y desglicerolización, así como el almacenamiento prolongado a  $4^\circ\text{C}$ , pueden reducir en  $1-2 \log^{10}$  el contenido de los linfocitos, pero no eliminan su actividad mitótica. La leucorreducción con filtros reduce  $3-4 \log^{10}$  el recuento de leucocitos pero no los elimina completamente. Se han descrito casos de EICH-AT con componentes sanguíneos leucorreducidos con filtros. La EICH-AT ha ocurrido en pacientes inmunocomprometidos que reciben plasma fresco con  $10 \log^4$  linfocitos por kg. El número de linfocitos en casi todos los componentes celulares excede ese nivel y es suficiente para causar EICH en un receptor.<sup>54,61</sup>

Las excepciones son el PFC, CRIO, concentrados de factores de la coagulación y otros componentes sanguíneos acelulares. No hay casos de EICH-AT con glóbulos rojos congelados desglicerolizados, pero no se ha evaluado el verdadero riesgo de este componente.

La radiación gamma con Cobalto 60 o Cesio 137, son las fuentes comúnmente utilizadas, también se han empleado en los últimos años los aceleradores lineales que emiten rayos X. La fuente de Cesio 137 tiene una vida media de treinta años mientras que el Cobalto 60 tiene una vida media de cinco años.<sup>62</sup> Estos equipos generan una partícula cargada que atraviesa el medio celular y su campo magnético, quitando electrones a las moléculas que constituyen la membrana celular, el citoplasma y el núcleo,

proceso denominado ionización; es decir, las moléculas que eran eléctricamente neutras se transforman en iones (partículas cargadas), que lesionan de esta manera la membrana nuclear y el ADN, con lo cual se inactiva la actividad mitótica del linfocito y por tanto su capacidad de proliferación. Es necesario mencionar que se deben emplear equipos especialmente diseñados para irradiar la sangre y los componentes sanguíneos, que permiten una irradiación uniforme, controlada y evidenciable, con un indicador de película radiocrómica, para asegurar que se ha efectuado la irradiación. El operador debe tener control con dosimetría de irradiación<sup>63</sup> (Figura 3).



**Figura 3.** Irradiador de rayos gamma. Fuente: *Cesio 137 BIO-BEAM Hemocentro Distrital, Bogotá D.C.*

Diversos estudios y test han demostrado que una radiación entre 2.500 cGy-3.000 cGy, al centro del compo-

nente de la unidad y de 1.500 cGy en la periferia de la bolsa, es eficaz para inhibir la proliferación de linfocitos T, que son las células más radiosensibles del organismo. Como media de una dosis de irradiación se ha establecido 2.500 cGy o 25 Gy, así lo han verificado organismos de vigilancia y control como la FDA en los Estados Unidos.<sup>64-66</sup> Esta dosis de irradiación no afecta la estructura ni la función biológica de las demás células sanguíneas, así lo han mostrado diversos estudios publicados, que evaluaron la viabilidad de cada uno de los elementos sanguíneos celulares para eritrocitos, plaquetas y granulocitos.<sup>67,68</sup> Es decir, los componentes sanguíneos irradiados transfundidos, no afectan al receptor y por lo tanto es seguro para el paciente pediátrico o adulto transfundir componentes sanguíneos irradiados, en las cantidades que sean indicadas y requeridas. No necesitan ser irradiados los productos no celulares, como el PFC, CRIO y concentrados de factores de la coagulación. La irradiación a la dosis mencionada es ineficaz para inactivar virus y bacterias presentes en la sangre o los componentes sanguíneos.<sup>69</sup> Cada institución debe crear su propia guía o protocolo, tanto para irradiar los componentes sanguíneos como para identificar los pacientes susceptibles o los factores de riesgo que deben ser tenidos en cuenta, para que estos receptores sean transfundidos con componentes sanguíneos irradiados, considerando la naturaleza de la entidad hospitalaria. Es claro que en un establecimiento dedicado al manejo del cáncer, un alto porcentaje de los componentes transfundidos tendrán indicación de irradiación. Algunas organizaciones, como la AABB



han establecido en sus estándares, los criterios e indicaciones para transfundir componentes sanguíneos irradiados.

Varios estudios de los efectos de la irradiación de 3.000 cGy, sobre la membrana de los glóbulos rojos, han demostrado la pérdida de K<sup>+</sup> intracelular y un aumento de la hemoglobina plasmática luego de treinta y cinco días de irradiado dicho componente sanguíneo, lo cual ha llevado a la recomendación de no utilizar GRE después de 28 días de haber sido irradiados. Los eritrocitos pueden ser irradiados en cualquier momento de su tiempo de almacenamiento y no deberán utilizarse más allá de los 28 días de su irradiación o de su tiempo de original expiración desde la colecta, según los aditivos empleados, lo primero que se cumpla. Para los pacientes pediátricos en especial, transfusión intrauterina y neonatal, pero de manera general, la recomendación es irradiar el componente sanguíneo a utilizar previo a la transfusión o dentro de las 24 horas de su utilización. En relación con los concentrados de plaquetas, los estudios concluyen que tanto la recuperación en el recuento plaquetario postransfusión como las funciones plaquetarias, se mantienen dentro de rangos normales (Cuadro 1).

Los procedimientos de leucorreducción universal o leucorreducción previo a la transfusión no son eficaces para prevenir la EICH-AT. Diversas publicaciones han demostrado el desarrollo de EICH-AT después de transfusión de componentes sanguíneos leucorreducidos. Todo componente sanguíneo leucorreducido con indicación de transfusión para un paciente a riesgo de desarrollar EICH-AT debe ser irradiado. Solo la irradiación de los componentes

sanguíneos ha demostrado ser eficaz en la prevención de la EICH-AT.

## Métodos de inactivación fotoquímicos

En las dos últimas décadas, se han propuesto diferentes tecnologías y sustancias para inactivar patógenos presentes en la sangre, tales como bacterias, protozoos y aún virus, con capacidad de inactivación de leucocitos. Se busca, entre otros propósitos, reemplazar la radiación gamma y de rayos X que son las técnicas estandarizadas para inactivar linfocitos-T. Algunas de estas tecnologías emplean métodos fotoquímicos, por ejemplo 8-metoxipsoralen (8-MOP) que se combina con el ADN y luz ultravioleta (UVA) como elemento activador; una sustancia más reciente emplea un nuevo psoralen denominado amotosalen HCL conocida como S-59 y luz ultravioleta. Estas sustancias con carga positiva se introducen en el ácido nucleico de cada célula y tienen la capacidad de ubicarse dentro de la hélice helicoidal del DNA, la activación con luz UVA, crea enlaces covalentes estables que impiden a esa célula o microorganismo abrir su hélice de DNA, lo que impide, por lo tanto, su replicación y proliferación. Los diversos ensayos han medido la relación dosis-respuesta y la viabilidad celular, empleando técnicas como la denominada LDA (limiting dilute analysis), que mide la viabilidad celular residual a las diferentes dosis de la sustancia empleada; algunos de estos ensayos se han realizado en plaquetas y han demostrado ser altamente eficaces; otros se han realizado empleando S-303 otro psoralen que in-

**Cuadro 1.** Guías de irradiación, métodos e indicaciones en algunos países.

	Reino Unido <sup>1</sup>	USA <sup>2</sup>	Japon <sup>3</sup>
Técnicas	Irradiación	Irradiación	Irradiación
Dosis	Mínimo -2500 cGy No >5000 cGy	2500 cGy hacia el centro del producto Mínimo 1500 cGy hacia cualquier punto	Entre 1500 cGy y 5000 cGy
Tipo de producto	Todos los productos celulares: Sangre total GRE Plaquetas Granulocitos	Todos los productos celulares: Sangre total GRE Plaquetas Granulocitos	Todos los productos celulares: Sangre total GRE Plaquetas Granulocitos Plasma fresco
Edad del producto	GRE < 14 días después de colectado Plaquetas – cualquier momento durante 5 días del almacenamiento Para exanguíneo o intrauterino de transfusión: < 24 h	GRE – en cualquier tiempo Plaquetas Granulocitos	GRE: <= 3 d – independiente del receptor <= 14 d – si está indicado si el paciente inmunocomprometido.
Expiración	GRE almacenados 14 días después de irradiados	GRE almacenados hasta 28 días después de la irradiación o fecha de vencimiento o lo que ocurra primero.	GRE irradiados – hasta 3 semanas después de la colecta
General	Toda la sangre de familiares Todos los productos HLA compatibles Todos los granulocitos	Toda la sangre de familiares Todos los productos HLA compatibles	Toda la sangre de familiares Todos los productos HLA compatibles
Neonatos	Transfusión Intrauterina Exanguíneo transfusión	Transfusiones Intrauterina	Transfusión Intrauterina Exanguíneo transfusión
'Top-up' transfusión	Transfusiones Intrauterina	*	RN pre-término
Síndrome de inmunodeficiencia	Todos	Todos	Todos
Trasplante médula ósea - Alogénico	Todos – al menos 6 meses post trasplante; mayor en pacientes seleccionados.	Todos	Todos
Autólogo	Todos – al menos 3 meses post trasplante		
Leucemia	No	*	Para ser considerado
Enfermedad de Hodgkin	Todos los estados	*	Para ser considerado
Análogos de la purina	Todos	*	No discutido
Linfómano Hodgkin's	No necesariamente – bajo revisión	*	Para ser considerado
Tumores sólidos	No	*	Para ser considerado
Trasplante de órgano sólido	No	*	Para ser considerado
Edad >65 años	No discutido	No	Si
Pérdida masiva de sangre	No discutido	No	Si
Cirugía cardiovascular	No	No	Si
SIDA	No	No	No

\* De acuerdo con las políticas y procedimientos desarrollados por el banco de sangre o servicio de transfusión.

1. BCSH Blood Transfusion Task Force (1996). 2. Menitove (1999). 3. Asai et al (2000).

Tomado y adaptado de 2002 Blackwell Science Ltd, British Journal of Haematology 117: 275–287

activa agentes infecciosos patógenos y leucocitos en concentrados de eritrocitos; también son utilizados los cultivos mixtos linfocitarios (MLC) al igual que otros métodos para medir la inactivación de leucocitos como la medición de síntesis de citocinas como IL-8.<sup>70-75</sup>

Aunque un estudio europeo reveló que el método de tratamiento fotoquímico con amotosalen HCL-psoralen ha demostrado ser eficaz en la inactivación de linfocitos T en concentrado de plaquetas obtenidos de buffy coat o aféresis, para prevenir la EICH-AT en pacientes en riesgo, los métodos de inactivación fotoquímica están dirigidos, por ahora, a inactivar agentes infecciosos patógenos presentes en las unidades de componentes sanguíneos que a sustituir el método universal estandarizado de la inactivación con linfocitos T con radiación gamma o rayos X para prevenir de manera eficaz la EICH-AT. La radiación gamma de los componentes sanguíneos no sirve para evitar la formación de aloanticuerpos, ni para prevenir reacciones transfusionales febriles no hemolíticas

### Indicación de irradiación aceptadas

- Receptores de trasplante de órganos o trasplante de médula ósea inmunocomprometidos.
- Pacientes con alteraciones hematológicas en quienes el trasplante de médula ósea alogénico es inminente.
- Neonatos que reciben transfusiones intrauterinas o exanguinotransfusiones seguidas de transfusión intrauterina.
- Exanguinotransfusión neonatal, o uso de oxigenación por membrana extracorpórea.
- Pacientes con enfermedad de Hodgkin.
- Pacientes con inmunodeficiencia congénita mediada por células.
- Receptores de donaciones de donantes HLA cruzados.
- Receptores que son heterocigotos a locus HLA, para el cual el donante es homocigótico y comparte un alelo.
- Semanas previas, y durante la recogida de progenitores hematopoyéticos.
- Pacientes tratados con análogos de las purinas: fludarabina, cladribina y pentostatina por la severa inmunosupresión que ocasionan.
- Anemia aplásica severa.
- Linfoma no Hodgkin.
- Trasplante alogénico y autólogo de progenitores hematopoyéticos desde el acondicionamiento hasta al menos dos años después.
- Pacientes con inmunodeficiencia severa.

### Posible indicación de irradiación

- Individuos sometidos a terapia inmunosupresora, especialmente cuando son susceptibles a infecciones oportunistas.
- Pacientes con tumores sólidos que se hallan inmunosuprimidos debido a quimioterapia e irradiación.
- Neonatos de bajo peso al nacer (menos de 1.200 g).
- Pacientes con sida que tienen además infección oportunista.
- Pacientes con malignidad hematológica diferente a la enfermedad de Hodgkin.
- Transfusiones de granulocitos (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Factores de riesgo para desarrollar EICH-AT

Riesgo elevado	Riesgo leve	Reportados
Síndromes de inmunodeficiencia congénita ID combinada severa Sd. Di George Sd. Wiskott Aldrich Trasplante de médula ósea Alogénico (más frecuente) Autólogo Transfusiones de donantes relacionados Transfusiones intrauterinas Transfusiones plaquetarias matched-HLA Enfermedad de Hodgkin Pacientes tratados con drogas análogos de purinas	Leucemia aguda Linfoma No Hodgkin Tumores sólidos tratados con quimioterapia intensiva o radioterapia Exsanguinotransfusiones Prematuros Receptores de órganos sólidos trasplantados Corazón Hígado	Recién nacidos sanos Pacientes con SIDA

Adaptado de: Schroeder. Brit J Haem 2002; tomado de Wegner A Adriana et al Graft versus Host Disease associated to Transfusion. Rev Chil Pediatr 2007; 78(5):500-510.

## Referencias

- Anderson KC. Clinical indications for blood component irradiation. En: Baldwin ML, Jefferies LC, editors Irradiation of blood components. Bethesda: American Association Of Blood Banks, 1992 p 31-49.
- Cortés B.A. Práctica contemporánea de la Transfusión Sanguínea. Capítulo 1: Componentes sanguíneos, preparación, preservación, indicaciones y dosificación: Sangre y componentes irradiados. Cali-Colombia, 2008 P 55-57.
- Kuriyan M, Carson J. Blood transfusion risks in the intensive care unit. Crit Care Clin 2004; 20: 237-53.
- Schroeder ML. Transfusion-associated graft-versus host disease. Br J Haematol 2002; 117: 275-87.
- Fast LD, Valeri CR, Crowley JP. Immune responses to major histocompatibility complex homozygous lymphoid cells in murine F-1 hybrid recipients: implications for transfusion-associated graft-versus-host disease. Blood 1995; 86:3090-6.
- Hull RJ, Bray RA, Hillyer C, Swerlick RA. Transfusion associated chronic cutaneous graft-versus-host disease. J Am Acad Dermatol 1995; 3: 327-32.
- Aoun E, Shamseddine A, Chehal A, Obeid M, Taher A. Transfusion-associated GVHD: 10 years' experience at the American University of Beirut-Medical Center. Transfusion 2003; 43: 1672-6.
- Oto OA, Paydas S, Baslamisli F, et al. Transfusion associated graft-versus-host disease. Eur J Int Med 2006; 17:151-6.
- Inderpreet S, Sunitha J. Transfusion associated GVHD. Ind J Ped 2005; 72: 533-5
- Gupta A, Bansal B, Dass R, Das A. Transfusion Associated Graft versus Host disease. Ind Ped 2004; 41: 1260-4.
- Brubaker DB. Pathogenesis and diagnosis of posttransfusion graft-vs-host disease. En: Baldwin ML, Jefferies LC, editors. Irradiation of blood components. Bethesda: American Association of Blood Banks, 1992; p.1-30.
- Wagner FF, Flegel WA. Transfusion-associated graft-versus-host disease: risk due to

- homozygous HLA haplotypes. *Transfusion* 1995; 35:284-91.
13. Asai T, Inaba S, Ohto H, Osada K, Suzuki G, Takahashi K, et al. Guidelines for irradiation of blood and blood components to prevent post-transfusion graft-vs.-host disease in Japan. *Transfusion Med* 2000; 10:315-20.
  14. Stainsby D, Jones H, Asher D, Atterbury C, Boncinelli A, Brant L, et al., On behalf of the SHOT Steering Group. Serious Hazards of Transfusion: A Decade of Hemovigilance in the UK. *Transfus Med Rev* 2006; 20: 272-82.
  15. Benson K, Marks AR, Marshall MJ. Fatal graft-versus-host disease associated with transfusions of HLA-matched, HLA homozygous platelets from unrelated donors. *Transfusion* 1994; 34: 432-437.
  16. Jeter EK, Spivey MA. Noninfectious complications of blood transfusion. *Hematol Oncol Clin N Amer* 1995; 9:187-204.
  17. Anderson KC, Weinstein HJ. Transfusion-associated graft-versus-host disease. *N Eng J Med* 1990; 323: 315-321.
  18. Anderson KM. Broadening the spectrum of patient groups at risk for transfusion-associated GVHD: implications for universal irradiation of cellular blood components. *Transfusion* 2003;43:1652-4.
  19. Petz LD, Calhoun L, Yam P, et al. Transfusion associated graft-versus-host disease in immunocompetent patients: report of a fatal case associated with transfusion of blood from a second-degree relative, and a survey of predisposing factors. *Transfusion* 1993; 33: 742-50.
  20. Triulzi D, Duquesnoy R, Nichols L, et al. Fatal transfusion-associated graft-versus-host disease in an immunocompetent recipient of a volunteer unit of red cells. *Transfusion* 2006; 46: 885-8.
  21. Billingham RE. *The Biology of Graft-versus-Host Reactions*, Academic Press, New York 1966: 21-78.
  22. Ohto H, Anderson KC: Survey of transfusion-associated graft-versus-host disease in immunocompetent recipients. *Transf Med Rev* 1996; 10: 31-43.
  23. Klein HG, Weiskopf RB: Immunomodulatory Aspects of Transfusion. A Once and Future Risk?. *Anesthesiol* 1999; 91: 861-5.
  24. Raghavan M, Marik P. Anemia, Allogenic Blood Transfusion, and Immunomodulation in the Critically Ill. *Chest* 2005; 127: 295-307.
  25. Fast LD, Valeri CR, Crowley JP. Immune responses to major histocompatibility complex homozygous lymphoid cells in murine F-1 hybrid recipients: implications for transfusion-associated graft-versus-host disease. *Blood* 1995;86:3090-6.
  26. Kuechle MK: Graft versus Host Disease. E-medicine. <http://www.emedicine.com/derm/topic478.htm>. Last Updated: January 4, 2005.
  27. Zeng D, Fengshuo L, Hoffmann P, Strober S: Suppression of Graft-versus-Host-Disease by naturally occurring regulatory T cells. *Transplantation* 2004; 77: 9-11.
  28. Lee, T.H., Donegan, E., Slichter, S. & Busch, M.P. Transient increase in circulating donor leukocytes after allogeneic transfusions in immunocompetent recipients compatible with donor cell proliferation. *Blood* 1995; 85: 1207-1214.
  29. Gorman T.E., Julius C.J., Barth RF, Ng A, Kennedy M.S., Prior T.W., Allen J, Lasky L.C. Transfusion-associated graft-vs-host disease. A fatal case caused by blood from an unrelated HLA homozygous donor. *Am J Clin Pathol.* 2000 May; 113(5): 732-7.
  30. Wagner, F.F. & Flegel, W.A. Transfusion-associated graft versus-host disease: risk due to homozygous HLA haplotypes. *Transfusion* 1995; 35: 284-291.
  31. Strauss, R.G. Data-driven blood banking practices for neonatal RBC transfusions. *Transfusion* 2000; 40: 1528-1540.
  32. Strobel, S., Morgan, G., Simmonds, A.H. & Levinsky, R.J. Fatal graft versus host disease after platelet transfusions in a child with purine nucleoside phosphorylase deficiency. *European Journal of Pediatrics* 1989; 148: 312-314.
  33. Ocejo-Vinyals JG, Lozano MJ, Sánchez-Velasco P: Escribano de Diego J, Paz-Miguel JE, Leyva-Cobián F. An unusual concurrence

- of graft versus host disease caused by engraftment of maternal lymphocytes with Di George anomaly. *Arch Dis Child* 2000; 83: 1659.
34. Kessinger, A., Armitage, J.O., Klassen, L.W., Landmark, J.D., Hayes, J.M., Larsen, A.E. & Purtilo, D.T. Graft versus host disease following transfusion of normal blood products to patients with malignancies. *Journal of Surgery Oncology* 1987; 36:206–209.
  35. Decoste, S.D., Boudreaux, C. & Dover, J.S. Transfusion associated graft-vs-host disease in patients with malignancies. Report of two cases and review of the literature. *Archives of Dermatology*, 1990; 126: 1324–1329.
  36. Spitzer, T.R., Cahill, R., Cottler, F.M., Treat, J., Sacher, R. & Deeg, H.J. Transfusion-induced graft-versus-host disease in patients with malignant lymphoma. A case report and review of the literature. *Cancer* 1990; 66: 2346–2349.
  37. Gelly, K.J., Kerr, R., Rawlinson, S., Norris, A. & Bowen, D.T. Transfusion-associated graft vs. host disease in a patient with high grade B-cell lymphoma. Should cellular products for patients with non-Hodgkin's lymphoma be irradiated? *British Journal of Haematology* 2000; 110: 228–229.
  38. Williamson, L.M., Wimperis, J.Z., Wood, M.E. & Woodcock, B. Fludarabine treatment and transfusion-associated graft-versus-host disease. *Lancet* 1996; 348: 472–473.
  39. Postmus, P.E., Mulder, N.H. & Elema, J.D. Graft versus host disease after transfusions of non-irradiated blood cells in patients having received autologous bone marrow. A report of 4 cases following ablative chemotherapy for solid tumors. *European Journal of Cancer Clinical Oncology* 1988; 24: 889–894.
  40. Kennedy, J.S. & Ricketts, R.R. Fatal graft v host disease in a child with neuroblastoma following a blood transfusion. *Journal of Pediatrics Surgery* 1986; 21: 1108–1109
  41. Spector, D. Transfusion-associated graft-versus-host disease: an overview and two case reports. *Oncological Nursing Forum* 1995; 22: 97–101.
  42. Triulzi, D.J. & Nalesnik, M.A. Microchimerism, GVHD, and tolerance in solid organ transplantation. *Transfusion* 2001; 41: 419–426.
  43. Sola, M.A., Espana, A., Redondo, P., Idoate, M.A., Fernandez, A.L., Llorens, R. & Quintanilla, E. Transfusion-associated acute graft-versus-host disease in a heart transplant recipient. *British Journal of Dermatology* 1995; 132: 626–630.
  44. Parkman, R., Mosier, D., Umansky, I., Cochran, W., Carpenter, C. & Rosen, F.R. Graft-versus-host disease after intrauterine and exchange transfusions for hemolytic disease off the newborn. *New England Journal of Medicine* 1974; 290: 359–363.
  45. Hentschel, R., Broecker, E.B. & Kolde, G. Intact survival with transfusion-associated graft-versus-host disease proved by human leukocyte antigen typing of lymphocytes in skin biopsy specimens. *Journal of Pediatrics* 1995; 126: 61–64.
  46. Anderson, K.C. & Weinstein, H.J. Transfusion-associated graft-versus-host disease. *New England Journal of Medicine* 1990; 323: 315–321.
  47. Levine, J. E. and Ferrara J.M.L *Transfusion-Associated Graft-vs-Host Disease in Rossis's Principles of Transfusion Medicine, Fourth Edition*, (eds T.L. Simon, E.L Snyder, B. G. Soldheim, C.P. Stowell, R. G. Strauss and M. Petrides), Wiley-Blackwell, Oxford, U.K. 2009
  48. Von Fliedner V, Higby DJ, Kim U. Graft versus host reaction following blood product transfusion. *Am J Med* 1982;79:951-961.
  49. Ohto, H., Yasuda, H., Noguchi, M. & Abe, R. Risk of transfusion-associated graft-versus-host disease as a result of directed donations from relatives. *Transfusion* 1992; 32: 691–693.
  50. Lee TH, Donegan E, Slichter S, Busch MP: Transient increase in circulating donor leukocytes after allogeneic transfusions in immunocompetent recipients compatible with donor cell proliferation. *Blood* 1995; 85:1207-14.
  51. Klein HG, Weiskopf RB: Immunomodulatory Aspects of Transfusion. A Once and Future Risk?. *Anesthesiol* 1999; 91: 861-5.
  52. Raghavan M, Marik P: Anemia, Allogenic Blood Transfusion, and Immunomodulation in the Critically Ill. *Chest* 2005; 127: 295-307.

53. Williamson LM. Transfusion associated graft versus host disease and its prevention. *Heart* 1998; 80: 211-2.
54. Lozano MM Complicaciones no infecciosas graves de la transfusion *Med Clin (Barc)* 2002; 119 (14): 550-4.
55. Sakurai M, Moizumi Y, Uchida S, Imai Y, Tabayashi K. Transfusion-associated graft-versus-host disease in immunocompetent patient: early diagnosis and therapy. *Am J Hematol* 1998;58:84-6.
56. Perrotta PL, Snyder EL. Non-infectious complications of transfusion therapy. *Blood Rev* 2001;15:69-83.
57. Wegner A et al Enfermedad injerto contra huésped asociada a la transfusion. *Rev Chil pediatr* 2007, 78 (5): 500-510.
58. Przepiorka D, Kernan NA, Ippoliti C, et al: Daclizumab, a humized anti-interleukin-2 receptor alpha chain antibody, for treatment of acute graft-versus-host disease. *Blood* 2000; 95: 83-9.
59. CBER F. Gamma Irradiation of Blood and Blood Components: A Pilot Program for Licensing. Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research (CBER): Rockville, 2000 p1-12.
60. Parshuram C, Doyle J, Lau W, Shemie SD: Transfusion-associated graft versus host disease. *PCCM* 2002; 3: 57-62.
61. Corash L, and Lin L. Mini Review. Novel processes for inactivation of leukocytes to prevent transfusion-associated graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplantation* 2004;33: 1-7.
62. Moroff G, Leitman SF, Luban NLC. Principles of blood irradiation, dose validation, and quality control. *Transfusion* 1997;37:1084-1092.
63. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 7th ed. Strasbourg: Council of Europe Publishing, 2001.
64. Food and Drug Administration. Guidance for industry: Gamma irradiation of blood components: A pilot program for licensing. (March 15, 2000) Rockville, MD: CBER Office of Communication, Training, and Manufactures Assistance, 2000.
65. Seghatchian MJ, Stivala JFA. Effect of 25 Gy gamma irradiation on storage stability of three types of platelet concentrates: a comparative analysis with paired controls and random preparation. *Transfusion Sci* 1995; 16: 121-129.
66. Sprent, J., Anderson, R.E. & Miller, J.F.A.P. Radiosensitivity of T and B lymphocytes. II. Effect of irradiation on response of T cells to alloantigens. *European Journal of Immunology* 1974; 4: 204-210.
67. Pelszynski, M.M., Moroff, G., Luban, N.L., Taylor, B.J. & Quinones, R.R. Effect of gamma irradiation of red blood cell units on T-cell inactivation as assessed by limiting dilution analysis: implications for preventing transfusion-associated graft-versus-host disease. *Blood* 1994; 83: 1683-1689.
68. Rosen NR, Wiedner JG, Boldt HD et ál., Prevention of transfusion-associated graft-versus-host disease: selection of an adequate dose of gamma irradiation. *Transfusion* 1993; 33: 125.
69. Asai, T., Inaba, S., Ohto, H., Osada, K., Suzuki, G., Takahashi, K., Tadokoro, K. & Minami, M. Guidelines for irradiation of blood and blood components to prevent post-transfusion graft-vshost disease in Japan. *Transfusion Medicine* 2000; 10: 312-320.
70. Council of Europe Expert Committee in Blood Transfusion Study Group on Pathogen Inactivation of Labile Blood Components (Pathogen inactivation of labile blood products. *Transfusion Medicine* 2001; 11:149-175.
71. Lin L, Cook DN, Wieseahn GP et ál. Photochemical inactivation of viruses and bacteria in platelet concentrates by use of a novel psoralen and long-wavelength ultraviolet light. *Transfusion* 1997; 37: 423-435.
72. Lin L, Londe H, Hanson CV et ál. Photochemical inactivation of cell-associated human immunodeficiency virus in platelet concentrates. *Blood* 1993; 82: 292-297.
73. Lin L, Wieseahn GP, Morel PA et ál. Use of 8-methoxypsoralen and long wavelength ultraviolet radiation for decontamination of platelet concentrates. *Blood* 1989; 74: 517-525.

74. Grass JA, Wafa T, Reames A et ál. Prevention of transfusion-associated graft-versus-host disease by photochemical treatment. *Blood* 1999; 93: 3140–3147.
75. Hambleton J, Wabes D, Radu-Radulescu et ál. Pharmacokinetic study of FFC photochemically treated with amostalen (S-59) and UV light compared with to FFP in healthy volunteers anticoagulated with warfarin. *Transfusion* 2002 42:1302-1307.



# Sobrecarga de hierro y quelación

DINORA VIRGINIA AGUILAR ESCOBAR\*  
AMALIA GUADALUPE BRAVO LINDORO\*\*

## Introducción

Desafortunadamente los pacientes con altos requerimientos transfusionales son sometidos a mayor riesgo de efectos adversos asociados a la transfusión, a corto y a largo plazo. Las consecuencias a largo plazo debido a transfusiones, son numerosas y van desde aloinmunización, transmisión de enfermedades infecciosas, inmunomodulación y sobrecarga de hierro.<sup>1,2</sup> La sobrecarga de hierro llega a ser fatal, comúnmente por complicaciones cardíacas, si no se hace un adecuado tratamiento quelante en los pacientes que reciben múltiples transfusiones.<sup>3</sup> El hierro acumulado en exceso en el organismo desencadena reacciones inflamatorias que pueden lesionar los tejidos por medio de la liberación de radicales libres y lle-

\* *Hematóloga Pediatra. Jefe de Departamento de Banco de Sangre. Instituto Nacional de Pediatría. México DF.*

\*\* *Hematóloga-Pediatra. Subdirectora de Servicios Auxiliares de Diagnóstico y Tratamiento del Instituto Nacional de Pediatría. México DF.*

gar a ocasionar fibrosis hepática, daño al miocardio, insuficiencia endocrina y con evolución a falla orgánica múltiple.<sup>4</sup>

## Metabolismo del hierro

### Distribución

Alrededor del 60%-70% del hierro corporal está presente en la hemoglobina de los eritrocitos circulantes. La mioglobina, los citocromos y otras enzimas contienen un 10 % y el resto, 20%-30%, es almacenado como ferritina y hemosiderina. Normalmente, cerca del 80% de este hierro es nuevamente transportado a la médula ósea para el desarrollo de precursores eritroides.<sup>5</sup>

### Absorción

La cantidad de hierro que se extrae de la dieta es pequeña y la regulación de la absorción intestinal es crítica, ya que los seres humanos no disponemos de una vía fisiológica que favorezca la excreción de este. El hierro obtenido de los alimentos, no está ligado a transferrina y no tiene una adecuada absorción dentro del lumen intestinal. Sin embargo, el bajo pH gástrico ayuda a disolver el hierro ingerido, esto facilita la reducción enzimática del hierro férrico a la forma ferrosa por una ferrirreductasa del borde de cepillo intestinal.<sup>5</sup> El transportador de metal divalente 1 (DMT1), es una proteína que transporta el hierro a través de la membrana y dentro de la célula, donde los enterocitos se resisten a adquirir hierro adicional. La DMT1 no es específica para el hierro y puede transportar una amplia variedad de io-

nes de metales divalentes que incluye, cobre, magnesio, zinc y cobalto.

Los mecanismos reguladores de la absorción del hierro a nivel intestinal son:

- *Bloqueo de mucosas*: Regulado por el consumo reciente de hierro de la dieta.
- *Intercambio de hierro almacenado por el hierro absorbido*, que responde a la saturación de transferrina plasmática.
- *El regulador eritropoyético*, que modula la absorción de hierro en respuesta a la eritropoyesis.<sup>6</sup>

### Transporte

Una vez absorbido, el hierro que entra a través de las células mucosas puede combinarse con apoferritina, para formar ferritina, o ingresa al plasma para ser transportado por la transferrina., este complejo hierro-transferrina se une a los receptores de transferrina de los órganos blanco. La transferrina se sintetiza en el hígado y tiene una vida media de 8-12 días, es una proteína de alto peso molecular (79.6 Kd); monomérica, con dos dominios homólogos y cada uno de ellos con un sitio de unión al hierro. La transferrina en plasma es saturada con hierro, con un valor de alrededor del 30 %. Cada gramo de transferrina llega a unir 1.25 µg de hierro, llegando a combinar hasta 253 -435 µg de hierro/dl de plasma que corresponden a la capacidad total de fijación del hierro. La concentración de hierro sérico es aproximadamente 70 a 201 µg /dl. La concentración de la transferrina plasmática es alrededor de 50 microgramos/litro. La transferrina libera el hierro transportado en sitios receptores específicos conocidos como

receptores de transferrina, que corresponden a homodímeros glucoproteicos transmembrana con ligando disulfúrico, con peso molecular de 80 kd y cada sub-unidad une una molécula de transferrina. Contiene pequeños dominios citoplasmáticos N-terminales de carácter hidrofílico, con un peso molecular de 5 Kd, que frecuentemente contiene un grupo fosfato. El hierro entra a la célula a través de un proceso dependiente de energía y temperatura llamado rofeocitosis. Después de la combinación de la transferrina al receptor, este complejo es invaginado dentro de la célula y posteriormente el hierro es liberado de la transferrina y es utilizado para las funciones celulares.

### Almacenamiento

Los depósitos más grandes de hierro se encuentran en forma de ferritina y hemosiderina. Su almacenamiento a nivel hepático depende de la cantidad de hierro en el plasma. La hepcidina es un pequeño péptido de 20 a 25 aminoácidos, producido en el hígado, actúa a través del plasma y es excretado en el riñón. Su estructura es similar a un péptido antimicrobiano desarrollado durante la inmunidad innata, por lo que puede mostrar algunas propiedades antimicrobianas. La expresión de hepcidina se incrementa en la sobrecarga de hierro y se ve disminuida en los casos de anemia por deficiencia de hierro, hipoxia o inflamación.<sup>7</sup>

**La ferritina** es una proteína cuya función se adjudica al secuestro y almacenamiento del hierro; con capacidad hasta de 4.500 átomos de este. Su peso molecular es de 460 Kd, con 24 sub-unidades relacionadas simétricamente como una unidad ligera (sub-unidad L) de 19 Kd y

sub-unidad pesada (sub-unidad H) de 21 Kd. El hierro es almacenado en estado férrico como fosfato férrico-oxihidróxido.<sup>8</sup> La ferritina es una proteína intracelular, sin embargo ingresa a la sangre en pequeñas cantidades debido a secreción activa o lisis celular. La cantidad de ferritina circulante es paralela a la concentración del depósito de hierro en el organismo, por lo que la medición de ferritina en sangre es un índice confiable de los depósitos de hierro; 1 ng/ml de ferritina sérica indica aproximadamente 8 mg. de hierro almacenado. En general, los niveles de ferritina <12 µg/L indican disminución de los depósitos de hierro, mientras que valores >1000 µg/L revelan sobrecarga de hierro. La ferritina se considera un reactante de fase aguda, ya que suele incrementarse en casos de neoplasias, infecciones crónicas, padecimientos hepáticos y trastornos inflamatorios crónicos.

### Sobrecarga de hierro

La sobrecarga de hierro es el resultado de muchos procesos que causan la acumulación de hierro en los tejidos. El hierro es almacenado como ferritina, y en las células con sobrecarga de hierro se deposita como hemosiderina, producto de la degradación de la ferritina. La toxicidad por sobrecarga de hierro resulta por ruptura lisosomal y consecuente daño tisular debido a la incapacidad de la célula para continuar almacenando hierro. La molécula de hierro no unido a transferrina en sus formas de alto y bajo peso molecular, inician reacciones por radicales libres. Estos causan daño a lípidos celulares, ácidos nucleicos y proteínas. La peroxidación

lipídica se asocia con deterioro de mitocondrias, lisosomas, microsomas y función membranal. El daño de membranas lisosomales es seguido por la liberación dentro del citoplasma de enzimas hidrolíticas que ocasionan necrosis celular.<sup>9</sup> Varios agentes reductores como las flavinas reductoras, cisteína, glutatión o ácido ascórbico, facilitan la liberación de hierro de la ferritina *in vitro*, pero una reducción significativa se logra sólo con los agentes quelantes.

### Etiología

La sobrecarga de hierro se produce cuando aumenta el ingreso de hierro durante un periodo sostenido por transfusión de glóbulos rojos, como es el caso de los pacientes con anemia hemolítica hereditaria que presentan anemia por hemólisis crónica de los glóbulos rojos, o por una mayor absorción de hierro por el tracto digestivo a pesar de una dieta normal, como el caso de la **hemocromatosis hereditaria**, enfermedad hereditaria autosómica recesiva relacionada con el gen HFE y la mutación C282Y.<sup>10</sup> Frecuente en la población caucásica debida a un incremento excesivo de la absorción intestinal del hierro, secundaria a un defecto genético fuertemente ligado al complejo mayor de histocompatibilidad humana (HLA I). La proteína afectada se asocia con la membrana plasmática de las células epiteliales del tracto gastrointestinal superior e inferior e inducen una hiperabsorción de hierro por la mucosa gastrointestinal en la cual hay una eritropoyesis normal, pero el exceso de hierro contenido en el plasma excede la capacidad de unión del hierro con la transferrina y ocasionan un cuadro

clínico de sobrecarga de hierro.<sup>11</sup> Por otro lado, la sobrecarga de hierro dependiente de transfusiones de glóbulos rojos, favorece el incremento del catabolismo de los eritrocitos. El hierro se acumula inicialmente en los macrófagos del sistema reticuloendotelial y posteriormente el exceso es almacenado en el parénquima celular. Las manifestaciones tóxicas de la sobrecarga de hierro, dependen no solo del exceso de hierro, sino también de otros factores como los niveles de acumulación, la duración de la exposición, extensión o redistribución interna del hierro dentro del macrófago o células parenquimatosas, consumo de alcohol o padecimiento de hepatitis viral.

### Fisiopatología

El balance de hierro normal se caracteriza por una alta eficiencia en el proceso de movilización del hierro derivado del catabolismo de las células rojas senescentes y su reutilización para la producción de nuevos eritrocitos. Los pacientes con talasemia, síndromes diseritropoyéticos y anemia sideroblástica presentan eritropoyesis inefectiva, lo que implica un aumento drástico en el recambio plasmático del hierro, con el equivalente a 10-15 veces más que el individuo normal.<sup>12</sup> Si la capacidad de la **transferrina sérica** para transportar el hierro es excedida y la fracción de hierro no ligada a transferrina aumenta, el hierro se almacena como ferritina con la generación de radicales libres y la propagación del daño tisular relacionado con el oxígeno. La hemosiderina formada por complejos insolubles también causa toxicidad terminal de órganos.

Alrededor de 1.16 mg de hierro son contenidas en la hemoglobina de 1ml de eritrocitos, esto puede variar según el hematocrito de la sangre transfundida. Para calcular la sobrecarga de hierro por transfusión, debe estimarse el volumen y el hematocrito de la sangre a transfundir. En el caso de los pacientes con talasemia mayor con altos requerimientos transfusionales, se calcula que ameritan aproximadamente 100-200 ml de glóbulos rojos por kg de peso/año, lo que es igual a decir 116-232 mg de hierro por kg de peso/año.

### Epidemiología

Los pacientes sometidos a transfusión crónica en anemia de células falciformes (ACF), la talasemia mayor, la anemia de Diamond-Blackfan, los síndromes mielodisplásicos, la mielofibrosis, la anemia aplásica y otros, revelan un riesgo alto de tener sobrecarga de hierro. En Estados Unidos se reportan de 10.000 a 20.000 pacientes con ACF con transfusiones crónicas y se estima de 4.000 a 5.000 pacientes con síndromes mielodisplásicos y otras anemias refractarias. En el mundo, los pacientes transfundidos por talasemia se acercan a casi 100.000. El costo anual de paciente por complicaciones en sobrecarga de hierro se estima entre 15.000 a 20.000 dólares.<sup>13</sup>

Los estudios de quelación de hierro están basados en los pacientes con anemias hemolíticas hereditarias, especialmente anemia de células falciformes y talasemia.<sup>14,15</sup>

La terapéutica transfusional en pacientes con anemias de células falciformes, se conoce desde 1940, y es utilizada para el tratamiento de la crisis

hemolítica, síndrome torácico agudo, crisis vasooclusivas y crisis de secuestro esplénico. Los regímenes de hipertransfusión, desarrollados entre 1979 y 1981, incrementaron la frecuencia de sobrecarga de hierro y sus complicaciones, en la actualidad se recomiendan los regímenes de transfusión crónica para prevenir las complicaciones, graves, como la crisis vasooclusiva cerebral (stroke), como lo describe el estudio STOP<sup>16</sup> (Optimising Primary Stroke Prevention in Sickle Cell Anemia).

### Manifestaciones clínicas de la sobrecarga de hierro

Los síntomas de la sobrecarga de hierro inicialmente son leves y progresan hasta poner en riesgo la vida del paciente.

**Cambios en la piel:** Los depósitos excesivos de melanina y hemosiderina en la epidermis causan la aparición de pecas y manchas café con leche, pueden presentar además melanoderma difusa (piel gris o café).

**Debilidad general, artropatías:** A pesar de la corrección de la anemia, los pacientes con hemosiderosis pueden cursar con astenia, fatiga crónica, sinusitis, artralgia y artropatía.

**Complicaciones hepáticas:** Los pacientes con hemosiderosis pueden presentar hepatopatía secundaria a la toxicidad por hierro, asociada a fibrosis reactiva que produce fibrosis portal, hipertensión portal, várices esofágicas y evoluciona a cirrosis hepática.

**Desórdenes endocrinos:** Existen anomalías endocrinas como hipogonadismo, deficiencia de hormona del crecimiento y diabetes mellitus, debido principalmente a la sobrecarga de hierro a nivel pancreático, así como resistencia

a la insulina a nivel hepático y músculo esquelético.<sup>17,18</sup>

**Desarrollo sexual:** Muestra una fuerte correlación con la edad ósea, más que con la edad cronológica. La demora en el desarrollo sexual se atribuye a la hemosiderosis, pero la menstruación y la espermatogénesis parecen normales.

**Cardiotoxicidad:** La acumulación de hierro en las fibras celulares cardíacas, genera hipertrofia ventricular izquierda y alteraciones de la conducción, arritmias e insuficiencia cardíaca refractaria, dado que estos pacientes cursan con dilatación cardíaca y/o hipertrofia relacionadas con la severidad de la anemia. Los cardiomiocitos son sensibles a las reacciones de óxido-reducción del hierro y la consecuente elaboración de radicales libres, además del estrés oxidativo de la peroxidación lipídica, el daño mitocondrial, ruptura de la membrana y la disfunción de la contractilidad llevan la muerte celular. En pacientes con sobrecarga de hierro avanzada, sometidos a autopsias, se ha reportado el hallazgo de coloración café-rojizo en el tejido cardíaco, invariablemente hipertrofia cardíaca, dilatación de cámaras, derrame pericárdico, degeneración miocárdica focal.<sup>19</sup> Son múltiples los factores que afectan y deterioran la función cardíaca, lo que incluye la sobrecarga circulatoria, la activación neurohumoral, la hipertrofia de ventrículo izquierdo excéntrica. Disnea y fatiga se presentan frecuentemente en estos pacientes, así como una disminución a la tolerancia del ejercicio. La fibrilación atrial paroxística es común y está asociada a disfunción miocárdica; **la cardiomiopatía dilatada biventricular** es la anormalidad más común, subyacente en pacientes con

$\beta$ -talasemia mayor, la disfunción contractil se acompaña de gasto cardíaco y variaciones a largo tiempo, esto debido al grado del depósito cardíaco de hierro o la respuesta miocárdica a la terapia de quelación intensificada. **La cardiomiopatía restrictiva izquierda** se caracteriza por restricciones hemodinámicas, ventrículos no dilatados y al inicio de contractilidad normal o casi normal. Algunos pacientes talasémicos con falla cardíaca congestiva, demuestran un tipo restrictivo de cardiomiopatía ventricular izquierda. La hipertensión arterial pulmonar, no se ha demostrado, sólo en casos excepcionales, en pacientes de mayor edad.

## Métodos de diagnóstico

Un medio cuantitativo de medición de la carga corporal de hierro debe ser exacto, seguro, no invasor y fácilmente disponible. Hay una variedad de técnicas para evaluar la sobrecarga de hierro.

### Métodos indirectos o semicuantitativos

#### Parámetros de laboratorio

**Ferritina sérica o plasmática:** Es el índice indirecto más comúnmente utilizado para estimar los depósitos corporales de hierro. La ferritina plasmática parece tener una relación logarítmica con la acumulación de hierro corporal, sin embargo la correlación entre la ferritina sérica y los depósitos de hierro corporal no es suficientemente precisa, pero puede considerarse con un fuerte valor pronóstico. La ferritina puede alterarse a niveles anormales cuando

existen datos de un **proceso inflamatorio** o cuando un daño a los tejidos está presente por lo que deben considerarse otros parámetros indirectos como reactantes de fase aguda para descartar un falso positivo en la elevación de los niveles de ferritina sérica; deben tomarse en cuenta condiciones como la deficiencia de ácido ascórbico, fiebre, infección aguda, estados inflamatorios crónicos, daño hepático agudo y crónico, hemólisis y eritropoyesis inefectiva.<sup>20</sup>

**Saturación de la transferrina del plasma:** El aumento del porcentaje de saturación de transferrina del plasma mayor del 50% sugiere sobrecarga parenquimatosa de hierro, pero no se utiliza como un reflejo cuantitativo de los depósitos de hierro corporal.<sup>21</sup>

#### *Estudios de gabinete*

**Resonancia magnética:** El estudio de RM es ampliamente utilizado como una medición del hierro en el hígado y en otros tejidos. Los cambios en el comportamiento de la resonancia de protones, provocados por el agua tisular en presencia de hierro, ha producido muchos intentos de cuantificar el hierro en los tejidos, pero no ha sido aceptado como método diagnóstico para aplicación clínica, ya que existen una variedad de situaciones que pueden alterar sus resultados por presencia de artefactos a una corta secuencia de imágenes.

#### *Métodos directos de medición*

**La concentración hepática de hierro:** Se obtiene por biopsia hepática, es considerada un buen método de referencia y comparación con otras técnicas, por su alto grado de reproducibilidad; el al-

macenaje hepático de concentración de hierro debe mantener aproximadamente 18 a 38 micromoles de hierro x gramo de hígado, esto en peso húmedo, que es el equivalente de 3.2 a 7 mg de hierro x g de hígado peso seco.<sup>22</sup> Pacientes que tienen más de 80 micromoles de peso húmedo o 15 mg de peso seco, se consideran con riesgo aumentado de fibrosis hepática, diabetes y otras complicaciones de la sobrecarga de hierro y está indicada una terapia quelante de mayor intensidad. Pacientes con niveles mayores son propensos a enfermedad cardíaca y muerte temprana. La molestia, la falta de aceptación del paciente y el riesgo quirúrgico la motivado la búsqueda de métodos no invasivos de determinación de hierro.

#### **Superconducción cuántica (SQUID):**

La medición de susceptibilidad magnética hepática provee el único medio directo y no invasivo validado y utilizado en estudios con pacientes con sobrecarga de hierro. Utiliza sólo el compartimiento hepático de hierro, detectando incrementos en los niveles parenquimatosos de almacenaje de hierro. El método se basa en la respuesta paramagnética del hierro de la ferritina y hemosiderina, la que es detectada por un dispositivo de interferencia cuántica superconductor.<sup>23</sup> Hay una disponibilidad limitada de cuatro equipos en todo el mundo.

#### **Tamizaje para detectar enfermedad cardíaca y estratificación de riesgo de falla cardíaca**

La disfunción miocárdica que puede estar encubierta por las alteraciones de volumen cardíaco en la anemia, repre-

senta un equivalente preclínico de alto riesgo cardíaco y si se detecta, justifica una terapia de quelación intensificada. Sin embargo, las técnicas más investigadas son débiles en su valor pronóstico. Se deben tomar en cuenta los datos hematológicos como la edad de inicio de transfusiones y su frecuencia, los niveles de ferritina, la calidad de la terapia quelante y el grado de complicaciones inducidas por la sobrecarga de hierro. La determinación del estado cardíaco se realiza con exploración de la historia de falla cardíaca, clase funcional, rapidez de evolución de la enfermedad y severidad de la disfunción miocárdica.

**La ecocardiografía** o la ventriculografía con radionucleótidos ventricular izquierda en reposo/estrés deben ser usadas para la detección temprana de la disfunción miocárdica.

**La resonancia magnética cardiovascular nuclear** llamada T2\*, parece medir exactamente la sobrecarga cardíaca de hierro, correlacionándolo inversamente con la fracción de inyección ventricular izquierda, pero no con niveles de ferritina o hierro hepático. La sobrecarga cardíaca de hierro severa a pesar de la sobrecarga moderada en el hígado en algunos pacientes, pone a prueba el concepto de que la sobrecarga cardíaca de hierro es inevitablemente un fenómeno tardío.

## Tratamiento de la sobrecarga de hierro

La terapia de quelación del hierro se ha investigado desde 1970, principalmente en pacientes con anemia de células falciformes y talasemias. El tratamiento de quelación debe ser iniciado cuando

los niveles de ferritina estén cerca de 1000 µg/l, lo cual generalmente ocurre después de 10- 20 transfusiones. La meta principal del tratamiento quelante de hierro es llevar al paciente a niveles seguros de hierro corporal, pero esto se consigue lentamente ya que solo una pequeña proporción de hierro está disponible para la quelación, llegando a necesitar meses o años para lograr un adecuado efecto quelante. Se ha demostrado que la probabilidad de sobrevivir libre de enfermedad cardíaca se aumenta en un 91%, si las dos terceras partes del valor de ferritina disminuyen o se mantienen menos de 2500 microgramos (Olivieri y cols, 1994) y el hierro hepático menor de 15 mg/g (peso seco) (Olivieri, 1999).<sup>24,25</sup>

**Quelante ideal:** Debe ser específico, con alta afinidad por el hierro en relación con la hemosiderina, la ferritina y la transferrina, pero con baja afinidad por el hierro de la hemoglobina y citocromos que participan en importantes vías metabólicas y de perfusión tisular. Preferentemente adecuado para ser administrado por vía oral, absorbible por el intestino y transportado a una concentración efectiva en el torrente sanguíneo, unirse rápidamente en competencia con ferritina; estable a la degradación hidrolítica y enzimática previa y después de la absorción. Y presentar mínimos efectos colaterales agudos y acumulativos.<sup>26</sup>

### Quelantes parenterales

**La deferoxamina B:** Es un derivado de la ferrioxamina B, metabolito férrico producido por el Actinomyces (*Streptomyces pilosus*).<sup>27,28</sup> Es altamente selectiva, por lo que sigue siendo el



parámetro de comparación ideal para la efectividad de los nuevos quelantes. Una molécula de deferoxamina une un átomo de hierro y forman un complejo de hierro altamente estable a pH fisiológico y por lo tanto un gramo puede unir casi 93mg de hierro. La deferoxamina es rápidamente retirada del plasma con una vida media de 5 – 10 min, y una vida media total de tres horas, por lo que necesita largas infusiones subcutáneas.<sup>28</sup>

**Excreción de hierro:** La excreción urinaria de hierro es de 1-10% de la cantidad movilizada después de la infusión subcutánea; pero la eliminación urinaria de hierro de 0.5 mg/kg/ día es indicativa de un balance negativo de hierro.

**Efectos adversos:** Los efectos colaterales de la deferoxamina son raros, comúnmente son locales, dolor, eritema, edema e inflamación principalmente en el sitio de aplicación. Existen reportes ocasionales de toxicidad ocular y/u ótica casi exclusivamente a dosis mayores de 50 mg/kg/día o en pacientes con niveles bajos de ferritina o con enfermedad renal. En cuanto a la toxicidad ocular, se describe una disminución de la agudeza visual, ceguera nocturna, alteración de la visión de los colores, neuropatía óptica. La ototoxicidad cursa con tinitus, alteración en el audiograma y, a veces, sordera, normalmente reversible, pero es recomendable realizar exámenes visuales y auditivos periódicos.<sup>29</sup> El costo elevado, la falta de apego y los inconvenientes derivados del tratamiento quelante han motivado también la búsqueda de quelantes orales, los cuales ya están en el mercado.<sup>30,31</sup> Y queda en desuso la infusión de deferoxamina.

## Quelantes orales

**Deferasirox (ICL 670A):** Es un potente y selectivo quelante de hierro, tiene la habilidad de movilizar el hierro almacenado en los tejidos y promueve su excreción, estudios preclínicos demostraron la habilidad del deferasirox para introducirse en la célula y remover el hierro. Su sal es un hidroxifeniltriazol, un ligando tridentado para el hierro en su forma férrica (Fe 3 +), en una relación 2:1.<sup>32</sup>

**Metabolismo:** Es administrado por vía oral, tiene una vida media de 8-16 horas, lo que permite su administración una vez al día. La absorción es mayor cuando se toma con un desayuno rico en grasas. **Distribución:** Se fija hasta en un 99% a las proteínas del plasma, casi exclusivamente a la albúmina. **Biotransformación:** Su metabolismo y eliminación es principalmente por glucoronidación seguida por excreción hepato-biliar y luego eliminación fecal (84% de la dosis). Se produce una desconjugación de los glucoronidatos en el intestino y luego una reabsorción (reciclado entero-hepático).

**Dosis:** Se recomienda una dosis de 20- 30 mg x kg x día, en pacientes adultos y pediátricos mayores de dos años, por vía oral y una vez al día.

**Efectos adversos:** Se reportan principalmente las reacciones gastrointestinales en alrededor de un 26% de los pacientes estudiados. Síntomas principales: náuseas, vómitos, diarrea o dolor abdominal. Ocasionalmente manifestaciones dérmicas como exantema cutáneo. No se recomienda en pacientes con insuficiencia renal o hepática y se debe monitorizar las transaminasas y la creatinina sérica. Ocasionalmente

se ha reportado trastornos auditivos y oculares (opacidad del cristalino). Se recomienda un examen oftalmológico previo al inicio del tratamiento, y luego una vez al año.

**Deferiprone:** Es un quelante activo que se administra por vía oral, ya aprobado en Europa. Su uso es principalmente en los pacientes con contraindicaciones para el uso de Deferoxamina o reacciones alérgicas a esta. Su estructura química 1,2 dimetil-3 hidroxipirimidina, llamado también L1.<sup>32,33</sup>

**Efectos adversos:** Se ha asociado con incremento en el riesgo de fibrosis hepática,

Además se relaciona con la presencia de náuseas, elevación de transaminasas y leucocitopenia.

## Pronóstico de los pacientes con hemosiderosis

La transfusión crónica predispone a la toxicidad del hierro acumulado como ferritina y hemosiderina en los tejidos, lo que implica complicaciones mortales a largo plazo, por acumulación de hierro en órganos vitales como músculo cardíaco, pulmón, hígado y riñón; esto ocasiona deterioro en la función de dichos sistemas, acorta la esperanza de vida del paciente,<sup>34</sup> por lo que el clínico está en la obligación de brindar un manejo integral, no sólo para corregir la anemia, sino también para prevenir la sobrecarga de hierro y todas las complicaciones que ésta implica.

Actualmente con la introducción de los nuevos quelantes de hierro orales se espera ofrecer una mejor calidad de vida al paciente y aumentar la sobrevida. El

elevado costo de dichos medicamentos sigue siendo un obstáculo para su utilización.

## Referencias

- 1 Vázquez J, Vassello E. Reacciones Postransfusionales. RFM 2002; 25:154-162.
- 2 Bruce I. Transfusión therapy in congenital hemolytic anemias. En: Clinical Principles and Practice. Ed. Bethesda, MD: AABB Press, 2005; pag.75-78.
- 3 Ballester H, Martín G, García G. Quelantes de hierro situación actual y perspectivas terapéuticas. Farm Hosp 1995; 19; 6: 323-329.
- 4 Roberts DJ, Rees D, Howard J, Hyde C, Alderson P, Brunskill S. Desferrioxamine mesylate for managing transfusional iron overload in people with transfusion-dependent thalassaemia. Cochrane Database Syst Rev 2005; 19: 4.
- 5 Borna C, Galanello R. Thalassemia and Related Disorders: Quantitative Disorders of Hemoglobin Synthesis. En: Greer J, Forrester J. Wintrobe's clinical Hematology. 11th Edition, Lippincott, Williams & Wilkins ed; 2004. p. 1319-1325.
- 6 Pinggera W, Lehman P. Diagnosis of anemias, En: Pinggera W, Lehman P Physiological principles in ferritin iron metabolism. 2th Edition, Springer- Verlag Wien ed; New York 1994: P.1-13.
- 7 Andrews. N Iron deficiency and related disorders, En: Wintrobe's Clinical Hematology .11 TH Ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2004, Philadelphia, USA. p. 980-1008.
- 8 Wormwood M. Hemocromatosis. Clin Lab Haem 1998; 20: 65-75.
- 9 Fiench C. Regulators of iron balance in humans. Blood 1994; 84: 1697- 1702
- 10 McKenzie S. Anemias causadas por anomalías en la biosíntesis de la Globina. En: McKenzie S. Hematología clínica. 2ª edición Ed. El Manual Moderno. 2000. p. 180-190
- 11 Kushner J, Porter J, Olivieri N. Secondary Iron Overload. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2001: 47-61.

- 12 Pigga G. Results of long – term iron chelating therapy. *Act Haem* 1996; 95: 26-36.
- 13 Brittenham G. Iron chelation therapy for transfusional iron overload. *NEJM* 2011;146-156
- 14 Marshall A. Lichtman, Ernest Beutler. *Manual de Hematología Willians: Marban Libros, sl. Madrid, España: 2005. P. 91-98.*
- 15 Ponka P, Richardson D. Function and regulation of transferrin and ferritin. *Semin Hematol* 1988: 35- 54.
- 16 N Qureshi, B Lubin. The prevention and management of stroke in sickle cell anaemia. *Expert opin. Biol Ther.*, 2006. 6(11):1087-1098
- 17 Pignatti C, Stefano P. Growth and sexual maturation in thalassemia major. *J Pediatr* 1985; 106: 150-155.
- 18 Weintrob N. Olivieri N. Effect of age at the Start of iron chelation therapy on Gonadal function in  $\beta$ - thalasemia major. *N Engl J Med* 1990; 323: 713-719.
- 19 Hahalis G, Alexopoulos D. Heart failure in  $\beta$ -thalasemia syndromes: A decade of progress. *Am J Med* 2005; 118: 957-967
- 20 Guyton AC, *Tratado de fisiología médica 7a ed. Interamericana Mc Gram Hill, Madrid. 1988. p. 46-50*
- 21 Porter J. Practical management of iron overload. *Br J Haematol* 2001; 115: 239-252.
- 22 Olivieri N. Progression of Iron Overload in Sickle Cell Disease. *Semin Hematol* 2001; 38: 57-62.
- 23 Brittenham G, Sheth S. Noninvasive Methods for Quantitative Assessment of Transfusional Iron Overload in Sickle Cell Disease. *Semin Hematol* 2001;38: 37-56.
- 24 Pennell D. Iron Overload and the heart. *Am Soc Hematol* 2004: 20-25
- 25 Brittenham G, Olivieri N. *Iron Chelating Therapy and the treatment of thalassemia. Blood* 1997; 89 739-761.
- 26 Laboratorio Novartis. *Monografía el producto, Deferoxamina, Suiza, División, Oncología. 2003*
- 27 Richardson D, Ponka P. Development of iron chelators to treat iron overload disease and their use as experimental tools to probe intracellular iron metabolism. *Am J Hematol* 1998; 58: 299-305.
- 28 Bollinger D, Fong P. *AHFS Drug information.35o Edition. En: American Society of hospital Pharmacists Inc Bethesda, 1995. p. 2080 -01.*
- 29 Porter J, Jaswon M. Desferrioxamine ototoxicity: evaluation of risk factors in thalassemia patients and guidelines for safe dosage. *Br J Haematol* 1989; 73: 403-409.
- 30 Cappellini M, Cohen A, Piga A. A phase 3 study of deferasirox (ICL670), a once- daily oral iron chelator, in patients with  $\beta$ - thalasemia. *Blood* 2006;107: 3455- 3462.
- 31 Olivieri N, Koren G. Comparison of oral iron chelator L1 and Desferrioxamine in iron-loaded patients. *Lancet* 1990; 336:1275-1279.
- 32 Laboratorios Novartis. *Monografía del producto. Deferasirox, ICL70.México, 2006.*
- 33 Maggio A, D'amico G. Deferiprone versus Deferoxamine in Patients with Thalassemia Major: a randomized clinical trial. *Blood cells, Molecul Dis* 2002; 28:196-198.
- 34 Taher A. Iron Overload in Thalassemia and Sickle Cell Disease. *Semin Hematol* 2005; 42:1-5.



# Lesión pulmonar relacionada con la transfusión (TRALI)

INA PÉREZ\*

## Definición

La TRALI ha recibido varios nombres desde su descripción inicial que incluyen reacción por hipersensibilidad, edema pulmonar no cardiogénico, edema pulmonar alérgico, incompatibilidad de naturaleza indeterminada y reacciones anafilactoides postransfusionales.<sup>1</sup>

El término de lesión pulmonar aguda relacionada con la transfusión es conocido en la literatura por sus siglas en inglés TRALI, calificado como el inicio de un tipo de lesión pulmonar aguda durante las seis horas postransfusión de un hemocomponente que contenga plasma o de un hemoderivado que contenga productos derivados del plasma.

El diagnóstico de la TRALI es clínico, infrecuentemente sospechado y, por lo tanto, poco reconocido.<sup>2</sup>

\* *Patóloga Clínica. Facultativa del Servicio de Banco de Sangre y Medicina Transfusional del Hospital Edgardo Rebagliati Martins, Seguro Social Peruano. Lima, Perú.*

Usualmente revierte en tres a siete días con soporte ventilatorio adecuado sin dejar secuelas permanentes, aunque puede ser fatal (5%-10% de casos). El diagnóstico se sospecha en presencia de edema pulmonar no cardiogénico en un paciente que ha sido sometido a procedimientos invasivos y posteriormente trasfundido.

En el año 2003, el Grupo de Trabajo del Instituto Nacional del Corazón, el Pulmón y la Sangre sobre TRALI, de EE.UU, estableció los criterios para su definición<sup>3</sup> (Tabla1).

La lesión pulmonar aguda (LPA) se definió de acuerdo con los criterios de la conferencia de consenso norteamericano-europea de Lesión Pulmonar Aguda/Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo (LPA/SDRA) de 1994, pero además se incluyó alguna modificación. En aquellos pacientes en los que no se pueda obtener una muestra de gasometría arterial, si la SaO<sub>2</sub> es menor o igual al 90% respirando a aire ambiente, la PaO<sub>2</sub> correspondiente será menor o igual de 60 mmHg, con lo

que la relación PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> será menor de 300 y cumplirá, por tanto, con los criterios de LPA. Para incluir los casos menos graves no se contempla la necesidad de ventilación mecánica.<sup>3, 4</sup>

Algunos aspectos de la definición merecen comentarse:

1. Tiene una clara relación temporal.
2. En los pacientes sin factores de riesgo, el diagnóstico de TRALI se realiza si aparece una nueva LPA durante la transfusión de un hemocomponente dentro de las primeras seis horas.
3. Se excluyen los pacientes con LPA preexistente; en estos casos los criterios para definir el empeoramiento de LPA podrían ser difíciles de establecer. Sin embargo, no se excluyen los pacientes con enfermedad pulmonar previa antes de la transfusión, puesto que el mismo mecanismo que produce TRALI en pulmones normales podría generarlos en pulmones con enfermedad preexistente.

**Tabla 1.** Criterios para la definición de la lesión pulmonar aguda producida por transfusión

Criterios de LPA	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Comienzo agudo</li> <li>2. Presión de oclusión de la arteria pulmonar &lt; 18 mmHg o sin evidencia de aumento de presión en la aurícula izquierda</li> <li>3. Radiología de tórax: infiltrados bilaterales</li> <li>4. PO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> &lt; 300 mmHg independientemente del nivel de PEEP aplicado o de S<sub>a</sub>O<sub>2</sub> &lt; 90% respirando aire ambiente</li> </ol>
(North American European Consensus Conference, definition of ALI. 1994) <sup>5</sup>	
Criterios adicionales para la TRALI	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Comienzo en las primeras 6h de la transfusión de hemoderivados</li> <li>2. No existencia de LPA previa a la transfusión</li> <li>3. La TRALI es posible aunque exista otro factor de riesgo de LPA</li> <li>4. La transfusión masiva no debe excluir la posibilidad de TRALI</li> </ol>

LPA: lesión pulmonar aguda; Rx: radiografía; TRALI: *transfusion related acute lung injury* "lesión pulmonar aguda producida por transfusión".

Añadido por el grupo de trabajo para reconocer la TRALI en situaciones en las que no se ha obtenido gasometría arterial. Adaptado de Toy et al<sup>8</sup> y Añón et al.<sup>3</sup>

4. Puede aparecer TRALI con la transfusión de sólo una unidad. Así, la LPA tras politransfusión puede únicamente representar un mayor riesgo de infusión de anticuerpos antileucocitarios, sustancias biológicamente activas o ambos.
5. En los pacientes con factores de riesgo diferentes a la transfusión, la aparición de LPA puede ser o no TRALI. En tales pacientes la nueva LPA se puede deber a la transfusión, pero alternativamente puede relacionarse con otro factor de riesgo y ser sólo coincidente con la transfusión. La valoración del curso clínico del paciente es necesaria para determinar si la nueva LPA es por transfusión o no. En tales casos se puede valorar la probabilidad de TRALI al deter-

minar otros aspectos tales como: a) si el paciente estaba estable antes de la transfusión; b) si la nueva LPA se desarrolló claramente con la transfusión, y c) la incidencia de LPA con el factor de riesgo.<sup>3, 4</sup>

En 2004 la conferencia de consenso organizada por el Canadian Blood Service and Hema-Quebec (Canadá) estableció los criterios de la definición canadiense (Tabla 2) que, aunque muy similares a los de la conferencia de consenso de EE.UU., introdujo la diferencia entre TRALI y posible TRALI, en función de si existe o no una relación temporal con algún otro factor de riesgo alternativo de producción de LPA.

Ambas propuestas presentan algunas limitaciones:

**Tabla 2.** Criterios para la definición de la lesión pulmonar aguda producida por transfusión (Canadian Blood Service and Hema-Quebec).

Criterios de TRALI	LPA:
	a. Comienzo agudo
	b. Hipoxemia: $PO_2/FiO_2 < 300$ mmHg o $SaO_2 < 90\%$ respirando aire ambiente
	c. Rx de tórax: infiltrados bilaterales
	d. No hay evidencia de aumento de presión en la aurícula izquierda.
	No existencia de LPA previa a la transfusión
	Aparición durante las primeras 6h de la transfusión
	<i>Sin relación temporal con otros factores de riesgo para la LPA</i>
Possible TRALI	LPA
	No existencia de LPA previa a la transfusión
	Aparición durante las 6 primeras horas de la transfusión
	<i>Relación temporal clara con otras causas de LPA</i>

LPA: lesión pulmonar aguda; Rx: radiografía; TRALI: transfusion related acute lung injury “lesión pulmonar aguda producida por transfusión”.

Adaptado de Añón et ál.<sup>3</sup>

1. Sólo identifican casos nuevos y graves de hipoxemia. Las formas leves de TRALI podrían pasar desapercibidas.
2. El diagnóstico de TRALI en pacientes con otros factores de riesgo de LPA requiere una experta valoración y aun así existen casos indeterminados.
3. La definición no incluye pruebas de laboratorio.
4. El límite de seis horas puede no detectar casos que se desarrollen más tarde.<sup>5</sup>

Recientemente, se propuso una ampliación de la definición de TRALI en función del período de comienzo del cuadro clínico: TRALI clásica, que comienza durante las primeras seis horas de la transfusión y que coincidiría con

el modelo de TRALI inmune, y TRALI diferida o tardía, que comienza entre las 6 y las 72 h de la transfusión y cuyo mecanismo de producción sería por mediadores (Tabla 3).<sup>5, 6</sup>

### Incidencia

La incidencia de TRALI en Norteamérica (incluido Canadá) ha oscilado de 1/10.000–1/100.000 transfusiones (depende del producto hemático transfundido) siendo de 1/1.323 a 5.000 solo en EE. UU. En Europa ha sido más infrecuentemente comunicado, con incidencias que oscilan entre 1,3/1.000.000–1/7.900. Sin embargo, la verdadera incidencia de TRALI no es del todo conocida y una causa fundamental ha sido la falta de una

**Tabla 3.** Ampliación de la definición de la lesión pulmonar aguda producida por transfusión.

	TRALI “clásico”	TRALI “diferido”
Inicio	Entre 2–6 h	Entre 6–72 h
Ritmo de desarrollo	Rápido	En horas
Factores de riesgo	No	Sepsis, trauma, quemados, etc.
Escenario	Fuera de la UCI	Pacientes de la UCI
Fisiopatología	Anticuerpos antineutrófilo	Mediadores biológicos
N.º de unidades	Usualmente una	Múltiples
Incidencia	Infrecuente	Frecuente
	1/5.000 transfusiones de concentrados de hematíes	5–25% pacientes de la UCI 40–57% con transfusiones masivas
Fiebre	Frecuente	Infrecuente
Curso	Se resuelve en 48–96 h	Se resuelve lentamente
Resolución	Completa	Puede progresar a un SDRA fibroproliferativo
Mortalidad (%)	5–10	35–45

SDRA: síndrome de distrés respiratorio agudo; TRALI: *transfusion related acute lung injury* 'lesión pulmonar aguda producida por transfusión'; UCI: unidad de cuidados intensivos. Adaptado de Añón.<sup>3</sup>



definición de consenso a la que sólo se ha llegado hace pocos años.

La fatal incidencia de TRALI para el plasma es 1:200.000-300 000, para plaquetas, 1:300.000-400.000, glóbulos rojos, 1: 200.000-500 000 y en el 80% de los casos se ha implicado a los anticuerpos antileucocitarios como responsables.<sup>3, 7</sup>

El significado clínico de TRALI se hizo evidente en 1990, cuando la oficina de Administración de Drogas y Alimentos (FDA) publicó una evaluación de 355 muertes asociadas a transfusión, durante el período de 1976 a 1985, 15% de las muertes se debieron a una lesión pulmonar aguda, constituyéndose en la segunda causa más común de muerte después de las transfusiones ABO incompatibles. El programa británico SHOT de hemovigilancia tuvo la iniciativa de efectuar un seguimiento y demostró de forma consistente, en sus informes anuales desde 1996, que el TRALI es una de las causas más comunes de morbilidad y mortalidad postransfusional. Las tasas de mortalidad reportados de TRALI varían entre el 6% y 9% (Tabla 4).<sup>8, 9</sup>

En el 2000, el TRALI se encontró vinculado en un 13% con la mortalidad

transfusional de los EE.UU. y fue la tercera causa principal de mortalidad relacionada con la transfusión, reportada en el 2001; lo cual motivó a que la FDA publicara una carta para alertar a los médicos sobre este problema. En EE.UU. durante el período 2005-2009, el 48% de las muertes relacionadas con transfusión fueron secundarias a TRALI según informó la FDA.<sup>9</sup>

En la Tabla 4 se puede observar la heterogeneidad mostrada por diversos estudios en cuanto a su incidencia, así como la diferente probabilidad de desarrollar TRALI en función del producto hemático transfundido. En el caso de las plaquetas, la incidencia depende de su forma de obtención, se ha estimado en un caso por cada 432 unidades cuando las plaquetas se obtienen de sangre total, y en un caso por cada 1.224 unidades cuando sucede mediante aféresis.<sup>10, 11</sup>

Los datos conocidos permiten la comparación de la incidencia de TRALI entre países con diferentes prácticas, así como los cambios en la incidencia de secundaria a la política de modificaciones. (Ver la Tabla 5).

**Tabla 4.** Riesgo de la lesión pulmonar aguda producida por transfusión por componente sanguíneo transfundido.

Autor/país	Período de estudio	Ámbito de estudio	PFC	PQ ST	PQ AF	CH	Todos
Popovsky (EE. UU.)	Mediados de la década de 1980	Hospital					1:5,000
Silliman (EE. UU.)	Principios de la década de 1990	Hospital					1:2,000
Silliman (Canadá)	1991-1995	Hospital	1:19,441	1:432	1:1,224	1:4.410	1:1,120
Wallis (Reino Unido)	1991-2002	Hospital	1:7,896				

CH: concentrado de hematíes; PFC: plasma fresco congelado; Plaquetas AF: plaquetas obtenidas por aféresis; Plaquetas ST: plaquetas obtenidas de sangre total. Adaptado de Añón.<sup>3</sup>

**Tabla 5.** Casos de lesión pulmonar aguda producida por transfusión publicados por redes de Hemo-vigilancia

	Reino Unido	Alemania	Dinamarca	Francia	Canadá (Québec)	Noruega	Finlandia	Suecia
Período	1996–2003	1995–2002	1999–2003	1994–1998	2000–2003	2004–2005	2004–2005	2004
Casos de TRALI	139	101	9	34	21	2	10	11
Porcentaje de todos los efectos adversos	7	3	7	0,15	0,5	ND	ND	ND
Mortalidad (%)	9 (24 *)	ND	ND	20	9,5	ND	ND	ND

ND: No disponible; TRALI: *transfusion related acute lung injury* 'lesión pulmonar aguda producida por transfusión'.

\*Incluye muertes atribuidas a probable TRALI.

Adaptado de Añón.<sup>3</sup>

Todos los componentes sanguíneos se han implicado, y con más frecuencia aquellos que contienen plasma. Los concentrados de plaquetas obtenidos de sangre total han causado el mayor número de reacciones, seguido de plasma fresco congelado, concentrado de hematíes, sangre total, concentrados de plaquetas obtenidos por aféresis, granulocitos, crioprecipitado y gammaglobulina intravenosa.<sup>11, 12</sup>

## Fisiopatología

### Modelo inicial de TRALI

Los fundamentos de las teorías modernas sobre TRALI fueron establecidos por trabajos experimentales en la década de 1970. Los investigadores utilizaron simios babuinos y perros para investigar la relación entre el almacenamiento de la sangre y la lesión pulmonar entre las víctimas de grave lesión traumática, referido como "pulmón de choque".<sup>13</sup>

Se observó que la perfusión de sangre almacenada durante veintidós días, produjo:

- Un aumento en la diferencial de la relación peso seco – peso húmedo pulmonar
- Aumento de la presión inspiratoria final bronquial
- Disminución de la presión diferencial arteriovenosa p a-v O<sub>2</sub> en modelos animales, y un aumento aun mayor cuando se compara con la sangre almacenada durante 24 horas.

Los autores observaron que los agregados de leucocitos y plaquetas tenían un máximo de 200 micrómetros de tamaño y plantearon la hipótesis que la sangre después de 2-10 días podría ser el agente responsable de oclusión.<sup>14</sup>

La evaluación posterior del hecho con uso de filtros de dacrón (armados experimentalmente en cánulas), permitió inferir que la filtración reduce los efectos en la resistencia vascular de la lesión, y proporciona pruebas de que los microagregados leucocitarios desempeñan un papel en la lesión pulmonar. Sin embargo cuando evaluaron en otros ensayos, la combinación de plasma almacenado (21 días) con células sanguíneas almacenadas (24 horas) dio como resultado

una lesión pulmonar leve; se concluyó que hay una contribución de ambas y se llamó a este efecto “factor humoral desconocido”. En este trabajo se construyó la base para el estudio de la evaluación de las lesiones inducidas por el efecto de la sangre almacenada y las causales de daño en la respuesta biológica, así como se identificó la relación con los leucocitos y plaquetas en TRALI. También se proporcionó evidencia de que el TRALI se puede producir en ausencia de anticuerpos antileucocitarios derivados del donante.<sup>14</sup>

### *Hipótesis de la primera y segunda lesiones*

(“TRALI no inmune”)

En 1992, Silliman et al propusieron el modelo de TRALI no inmunitario o de dos eventos. Según este modelo, el primer evento es una agresión que activa el endotelio pulmonar y favorece el reclutamiento y la adherencia de los neutrófilos al endotelio capilar. El segundo genera activación de los neutrófilos y causa liberación de factores citotóxicos y daño endotelial con lesión capilar. Se ha propuesto que el primer paso puede incluir un número de afecciones tales como sepsis, trauma, cirugía, etc. El segundo evento comprendería la exposición a agentes biológicamente activos, o con capacidad de modificar la respuesta biológica, presentes en la sangre transfundida y producidos por las células sanguíneas durante el almacenamiento. El concepto de este segundo evento surge a raíz de la observación de que los productos sanguíneos almacenados se correlacionan con una mayor probabilidad de desarrollar reacciones transfusionales y que estos agentes, po-

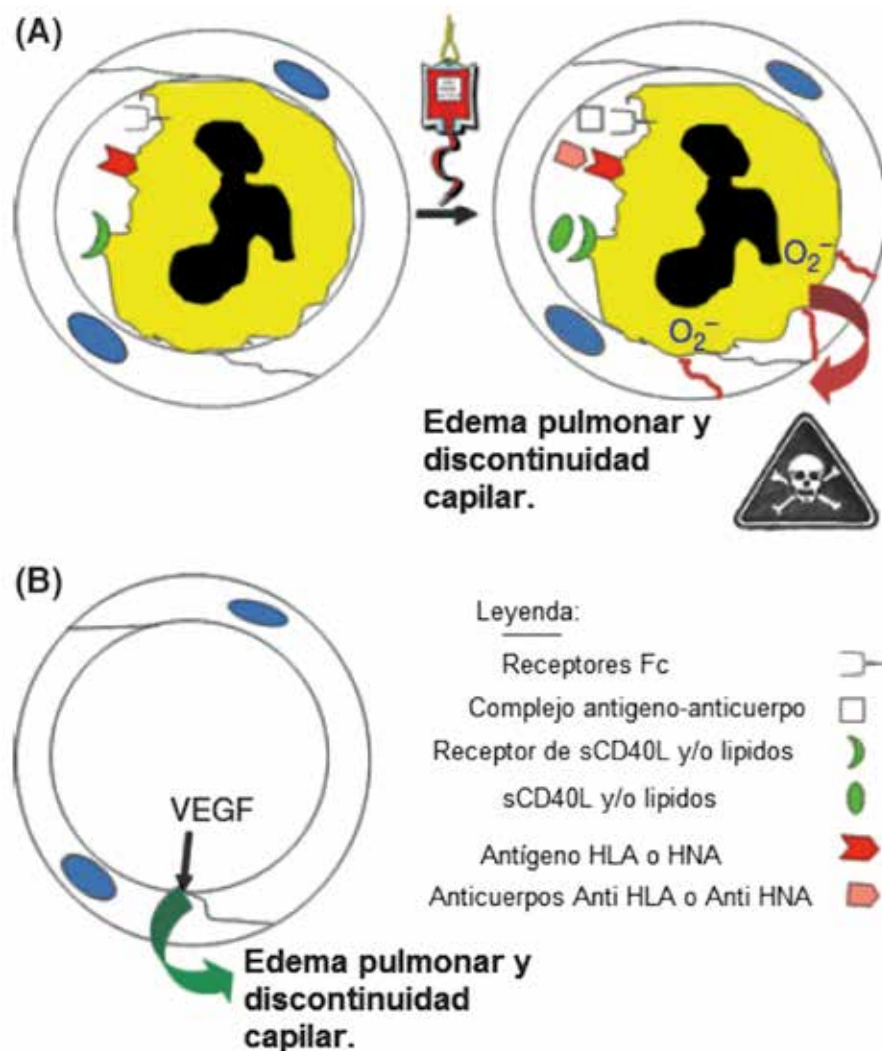
tencialmente activos en los productos sanguíneos, aumentan su concentración con el tiempo de almacenamiento.<sup>15</sup>

Se ha identificado una variedad de factores con capacidad de modificar la respuesta biológica generados en sangre almacenada y que se han implicado como factores etiológicos de TRALI, entre los que cabe destacar las lisofosfatidilcolinas y las citoquinas inflamatorias, tales como interleucina IL-6 e IL-8<sup>16</sup> (Figuras 1 y 2)

Las primeras descripciones de “choque pulmonar” revelan que una lesión traumática grave es el mayor factor de riesgo de lesión pulmonar en estos pacientes. Por el contrario, el término TRALI implica que el determinante principal de la lesión pulmonar después de una transfusión es la transfusión en sí misma.<sup>17</sup>

Este modelo multicausal de TRALI involucra el sustrato inmunológico del paciente y la introducción de un agente inductor de TRALI, tales como anticuerpos anti-leucocitarios o un derivado biológico, constituyéndose en el gatillo modificador de la respuesta y relacionado con el almacenamiento prolongado. En efecto, la mayoría de las investigaciones realizadas durante los últimos veinte años se ha centrado en la comprensión del segundo agente: los anticuerpos y/o componentes bioquímicos. La lisofosfatidilcolina (liso-PC), los niveles de anticuerpos Anti HLA de clase I / II, y anticuerpos antigranulocitos en las unidades de cada uno de los donantes se han vinculado al TRALI.<sup>18</sup>

Sin embargo, la identificación de las poblaciones de riesgo y el desarrollo de estrategias de prevención puede tener

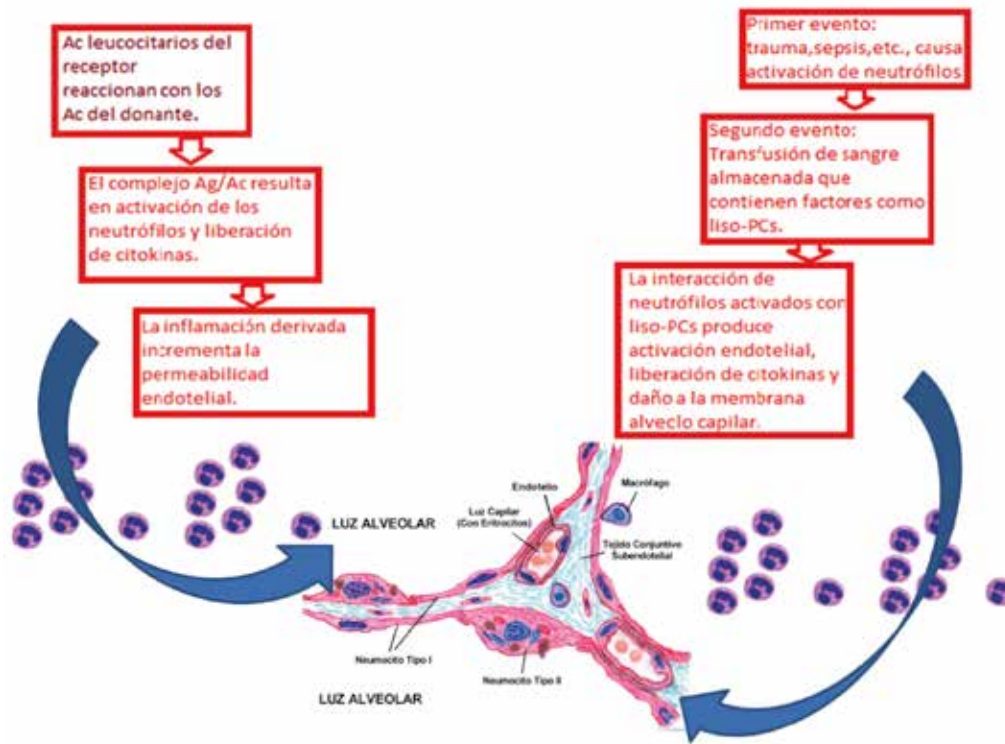


**Figura 1.** La fisiopatología relacionada con la lesión pulmonar aguda por transfusión (TRALI).

**(A) Respuesta de neutrófilos mediada por TRALI.** Polimorfonucleares, reclutados por citocinas proinflamatorias liberadas por el endotelio pulmonar, pueden ser a su vez activados por la liberación de anticuerpos, que reconocen antígenos de su superficie, expresados sobre los neutrófilos, o lípidos biológicamente activos y/o sCD40L activando distintos receptores de neutrófilos. Los anticuerpos, los lípidos, sCD40L activan el arsenal microbicida de los neutrófilos secuestrados produciéndose anión superóxido ( $O_2^-$  singlet) que causa daño endotelial, fuga transcapilar y daño pulmonar agudo en puntos de adhesión firme.

Otra causas de TRALI puede presentar los complejos de antígeno- anticuerpo en la superficie del endotelio y que son captados por los receptores Fc de neutrófilos lo que provoca su activación y potencia el daño de la célula endotelial y la lesión pulmonar aguda.

**(B) TRALI en ausencia de los neutrófilos.** Agentes, como el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), podrían activar el endotelio pulmonar que resulta en una disminución en el tamaño de las células endoteliales de los capilares pulmonares que presentan fugas que resultan en un edema pulmonar no cardiogénico y daño pulmonar agudo.<sup>19</sup>



**Figura 2.** Esquema de la fisiopatología del modelo de lesión pulmonar aguda producida por transfusión (TRALI) inmune y del modelo de TRALI no inmune.<sup>13</sup>

un mayor impacto en elucidar los factores asociados al paciente.

### Mecanismos descritos

#### *El "iniciador" o el factor primario.*

El "iniciado" o cebado inmune se puede definir como la inducción de un estado de hiperreactividad con activación de otros agentes, y puede desatarse en una cascada continua de activación y lesiones. Muchos agentes biológicos de las principales células del sistema inmune del paciente pueden conducir a la activación de la respuesta inicial en dosis más altas.<sup>18</sup>

Los datos epidemiológicos primero subrayan la necesidad de un cebado inmune en TRALI. Ensayos de casos y controles, que incluyen diez pacientes

que hicieron TRALI han demostrado que el tener factores de riesgo de morbilidad clínica (sepsis, cáncer, cirugía reciente, transfusión masiva) incide en el desarrollo de TRALI en todos los pacientes. Por el contrario, sólo 2/10 pacientes en el grupo control tuvo TRALI y baja morbilidad identificable. Un pequeño estudio de casos y controles identificó que la cirugía de columna vertebral era otro factor de riesgo potencial para TRALI. Asimismo se dieron reportes de 46 y 74 pacientes, respectivamente, en los cuales identificaron enfermedad hematológica durante la fase de inducción de la quimioterapia, y falla cardíaca que requiere cirugía, sepsis, y el abuso crónico de alcohol como factores de

riesgo importante para el desarrollo de TRALI.<sup>18,19</sup>

Los modelos animales han validado las hipótesis sobre el cebado generadas sobre la base de los datos epidemiológicos: se ha demostrado la inducción de lesión pulmonar aguda ex-vivo en pulmones de ratas perfundidas y ventilados utilizando una variedad de agentes experimentales como: purificado de lisofosfatidilcolina, fracción de plasma antiguo, plaquetas almacenadas, concentrados de hematíes (CH), y anticuerpos Anti- HLA de clase I.<sup>18,19</sup>

En otras pruebas efectuados para medir el efecto del cebado los investigadores agregaron N-formilmethionil leucil fenilalanina (fMLP) (un cebador de neutrófilo, considerado un agente de activación), durante la perfusión ex vivo de los pulmones de ratas junto con anti-HNA-2a y añadieron neutrófilos diversos, con alta y baja expresión del mencionado antígeno. La exhibición de la molécula fMLP induce una lesión pulmonar acelerada contra un antígeno de alta expresión en los neutrófilos, descubriéndose efectos antes no observados con la baja expresión de este antígeno celular HNA-2a.<sup>19</sup>

En el 2006, se informó el primer modelo de ratón de TRALI sobre la base de anticuerpos MHC de clase I en ratones BALB/c.<sup>1,4</sup> Sin embargo, sorprendió posteriormente que cuando cambian sus condiciones de vida el daño pulmonar en el modelo es significativamente menor. También se observó una desensibilización cuando los ratones fueron pre-tratados (intraperitonealmente/intratraquealmente) con dosis bajas de LPS y se reveló una disminución considerable de la expresión del daño pulmonar.<sup>19</sup>

Curiosamente, los ratones tenían significativamente más bajos recuentos de neutrófilos en la sangre periférica, en comparación con los controles animales. El cebado con LPS aumentó el recuento de neutrófilos circulantes y el aumento de secuestro de neutrófilos en la microcirculación pulmonar.<sup>20</sup>

A partir de estos experimentos, se llegó a la conclusión de que las condiciones del medio ambiente podrían influir significativamente en la susceptibilidad para desarrollar TRALI, a través de la modulación de la respuesta de los neutrófilos en la sangre periférica y la microcirculación pulmonar.<sup>20</sup>

Los modelos in vitro también han arrojado luz sobre el mecanismo de cebado y su relación con lesión pulmonar. En respuesta a las citoquinas inflamatorias, neutrófilos y pulmonares, el endotelio se debe someter a cambios adaptativos que dan como resultado el secuestro de los neutrófilos en la microvasculatura pulmonar. En condiciones fisiológicas normales, los neutrófilos se deforman y alargan hasta pasar a través de los muchos segmentos, de los estrechos capilares pulmonares. Sin embargo, después del estímulo desatado por el fMLP, la IL-8, o el activado por plasma o LPS (lipopolisacáridos de membrana bacteriana), los neutrófilos son secuestrados en el tejido pulmonar a través de mecanismos mecánicos y adhesivos. Se expresa entonces una reorganización de los puentes de actina celulares, tornando un cambio y generando rigidez de las membranas celulares lo cual involucra la microvasculatura pulmonar<sup>6</sup>. Sin embargo, la reorganización del citoesqueleto es temporal en el endotelio y queda conservada la capacidad futura

de poder expresar moléculas de adhesión para neutrófilos.<sup>20,21</sup>

#### *El desenlace común: el daño a la membrana alveolocapilar*

Tanto en la forma inmune como en la no inmune, se ha postulado al neutrófilo como la célula protagonista.

Para conocer la patogenia de la TRALI debemos considerar el tránsito de los neutrófilos a través del lecho vascular pulmonar en condiciones fisiológicas. A diferencia de las células rojas que pueden cambiar fácilmente su forma y atravesar el pulmón en unos segundos, los neutrófilos circulan irregularmente. Debido a que su tamaño medio es similar o mayor que el diámetro capilar, a menudo se deben detener y cambiar la morfología antes de iniciar el paso a través de éstos. El tiempo invertido en esta deformación probablemente sea el más largo de todo el periodo de tránsito, que puede oscilar entre dos segundos y veinte minutos.<sup>21,22</sup>

Los aglutinados de los granulocitos inducidos por los anticuerpos en los componentes sanguíneos transfundidos, quedan atrapados en la primera microvasculatura encontrada tras la transfusión. Se sabe que la mayoría de los anticuerpos leucocitarios de la clase IgG producen aglutinación activa y no pasiva de los neutrófilos. Los neutrófilos estimulados por anticuerpos leucocitarios o por lípidos biológicamente activos liberan radicales de oxígeno y otros elementos que dañan las células endoteliales de los capilares pulmonares, aumentan la permeabilidad vascular y el paso de líquido y proteínas al alvéolo. Hay evidencias clínicas y experimentales que ponen de manifiesto que la inducción de TRALI no siempre parte

de la primoactivación de los neutrófilos, sino que también puede desencadenarla un endotelio pulmonar activado por la enfermedad subyacente.<sup>22</sup>

#### *TRALI en presencia de neutropenia*

Tanto las reacciones antígeno/anticuerpo leucocitarios como las derivadas de la actividad de los lípidos con capacidad de modificación de la respuesta biológica sobre los leucocitos primoactivados requieren la presencia de neutrófilos en el receptor. Sin embargo, existen casos raros de TRALI en pacientes neutrópenicos. En estos casos se ha considerado que el TRALI se puede deber a la transfusión de sustancias biológicamente activas, como el factor de crecimiento del endotelio vascular (un eficaz factor de permeabilidad) y el CD40 ligandina (que estimula la síntesis y liberación de Interleukina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), prostaglandina E2 (PGE2) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) de los macrófagos pulmonares, células endoteliales y fibroblastos, e intensifica la permeabilidad vascular y la inflamación). Además, se han encontrado HLA tipo II en el endotelio vascular, por lo que la infusión de anticuerpos anti-HLA tipo II con la transfusión serían capaces de producir lesión endotelial.<sup>22</sup>

Sin embargo, la transfusión de solo estas sustancias no suele resultar en TRALI, porque es necesario que un paciente susceptible tenga granulocitos y/o endotelio pulmonar activado.<sup>5</sup>

#### *Los anticuerpos antileucocitarios y el TRALI.*

Se reconoce que de todas las respuestas inmunes que condicionan el desarrollo de TRALI, la inducida por anticuerpos

contra el HNA /HLA I-II abarca el 80% de las reacciones. Numerosos reportes identifican a la vía oxidativa que genera la activación de NADPH<sup>o</sup> (Nicotinadeninadifosfato) y radicales reactivos de oxígeno (ROS<sup>o</sup>) como responsables del daño colateral de los tejidos.<sup>22</sup>

Se han descrito anticuerpos antigranulocitos, como los anti HNA-3<sup>a</sup> que leucoaglutinan vía complemento y que se enlazan a una glicoproteína estructural transmembrana, asimismo los anti HNA-2<sup>a</sup> (CD177) que no leucoaglutinan y se enlazan a una molécula de glicosil fosfatidilinositol(GPI). Ambas inducen una explosión de daño oxidativo endotelial, que confluye en la vía del N-fMLP (N-formilmetionil leucil fenilalanina) activado y causa el daño endotelial en presencia de polimorfonucleares.<sup>22, 23</sup>

Se conoce que los anticuerpos anti HLA-I, actúan mediados por el receptor Fc y que el linfocito T regulador participa al inhibir la acción inflamatoria, mientras la presencia de plaquetas es potenciadora. Hay otros mecanismos que aún se están dilucidando, como por ejemplo el papel de los anticuerpos anti-HLA II. El HLA II es una molécula estructural en los monocitos que generan la expresión de LTB4 (Leucotrieno B4), GRO $\alpha$  (oncogén de crecimiento  $\alpha$ ), IL-8, TNF- $\alpha$ , moléculas de adhesión que inducen daño endotelial.<sup>23</sup>

Las moléculas que inducen respuesta inflamatoria no dependiente de anticuerpos (20% de los otros casos de TRALI) son: lisofosfatidilcolinas, ligando CD40L y del resto como lípidos neutrales, citoquinas, y otras micropartículas cuya naturaleza aún es estudiada. Hay evidencia que la lesión oxidativa que inducen los derivados lipídicos se puede disminuir

con el uso de filtros leucorreductores para procesamiento. Un factor protector que está por dilucidarse, es el papel que cumple el glóbulo rojo como un reclutador de citoquinas inflamatorias a través del grupo sanguíneo Duffy.<sup>24</sup>

Los anticuerpos del donante son los que causan la mayoría de los casos de TRALI; sin embargo, en el 6% de los casos del estudio de Popovsky y Moore se produjo una TRALI por anticuerpos en la sangre del receptor, hecho que también han documentado otros autores.<sup>18</sup> En estos casos, fundamentalmente, la transfusión de sangre total o de células rojas no leucorreducidas puede producir la TRALI.<sup>24,25</sup>

Un argumento contra el modelo inmune es que algunos pacientes transfundidos no desarrollaron TRALI, a pesar de la presencia de antígenos leucocitarios. Pero se han ofrecido varios argumentos para explicar esto: 1) la heterocigosidad del antígeno del receptor reconocido por el anticuerpo; 2) el cuadro clínico del paciente transfundido puede predisponer a una mayor o menor manifestación de la reacción pulmonar por transfusión, y 3) la falta de detección por parte de los clínicos y la falta de diagnóstico de las formas leves.<sup>24, 25</sup>

### Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial de un paciente que desarrolla bruscamente un cuadro de insuficiencia respiratoria tras una transfusión de productos hemáticos debe incluir sobrecarga hemodinámica, reacción anafiláctica, contaminación bacteriana de los productos hemáticos transfundidos y reacción hemolítica transfusional. En la Tabla 6 se muestran estas entidades, con las que se debe llevar a cabo el diagnósti-



**Tabla 6.** Diagnóstico diferencial de la lesión pulmonar aguda producida por transfusión

Diagnóstico diferencial	Tiempo desde el comienzo de los síntomas en relación con el inicio de la transfusión	Signos y síntomas mayores	Características de diferenciación
TRALI	Minutos-horas (generalmente dentro de la primera hora)	Disnea, hipoxemia, edema pulmonar, taquicardia, hipotensión ocasional	Edema pulmonar no cardiogénico (criterios de definición de LPA/SDRA) Fiebre frecuente
Sobrecarga circulatoria por transfusión	Variable (de minutos a horas)	Disnea, hipoxemia, edema pulmonar o taquicardia	El enfermo tiene enfermedad cardíaca asociada o sobrecarga de volumen cuando se inicia la transfusión Edema pulmonar cardiogénico (presión venosa yugular elevada, S3 galope, elevada presión capilar pulmonar de enclavamiento, cardiomegalia en la Rx de tórax) Fiebre no frecuente
Reacción anafiláctica	Minutos	Broncoespasmo, dificultad respiratoria, hipotensión, cianosis, eritema generalizado	Rash, urticaria y edema Hipotensión Broncoespasmo debido a edema bronquial
Contaminación bacteriana de productos sanguíneos	Minutos	Fiebre, hipotensión, colapso vascular	Fiebre y deterioro hemodinámico No se ve con el plasma (se almacena congelado y se descongela antes de usarlo), es raro con los concentrados de hematíes. Es más frecuente con las plaquetas
Reacción hemolítica transfusional	Minutos	Fiebre, hipotensión, hemoglobinuria, plasma rosa-rojo-marrón, coagulación intravascular diseminada	Generalmente con concentrados de hematíes Hemólisis asociada a hipotensión

LPA/SDRA: lesión pulmonar aguda/síndrome de distrés respiratorio agudo; Rx: radiografía. Adaptado de Añón<sup>3</sup>.

co diferencial de TRALI y se destacan algunos hallazgos que pueden ser de ayuda para su diferenciación. Pero, además del diagnóstico diferencial con estas entidades, se debe tener en cuenta aquellos conocidos factores de riesgo de LPA/SDRA, como *choque* séptico, síndrome de aspiración de contenido gástrico, contusión pulmonar, neumonía, sobredosis de fármacos, fracturas de huesos largos con

desarrollo de embolia pulmonar, etc., en aquellas situaciones en las que la transfusión de productos hemáticos es coincidente.<sup>25</sup>

### Prevención del TRALI

#### Edad de la sangre y el riesgo de TRALI

El almacenamiento de glóbulos rojos provoca una serie de cambios morfoló-

gicos y alteraciones bioquímicas, conocida como la lesión de almacenamiento. Durante el almacenamiento de rutina de los componentes celulares se acumulan una mezcla de sustancias de cebado de neutrófilos, tales como la lisofosfatidilcolinas. Estas sustancias se pueden secretar y activar desde los neutrófilos, causan la activación de las células endoteliales y alteran la permeabilidad de la membrana capilar alveolar.<sup>25</sup>

El uso de hemocomponentes a partir de sangre fresca, está indicado para disminuir el efecto deletéreo de un almacenamiento prolongado en los pacientes de alto riesgo. Por ejemplo, el uso de glóbulos rojos menores de catorce días de edad y concentrados de plaquetas de menos de dos días de edad puede prevenir la captación de neutrófilos activados.<sup>26</sup>

Varios estudios epidemiológicos han mostrado una asociación entre el aumento de la edad de las células rojas de la sangre y el aumento de la mortalidad en el trauma, y los pacientes en la UCI médica y quirúrgica<sup>1</sup>. Al mismo tiempo la edad de la sangre ha demostrado ser un factor independiente de riesgo para la mortalidad en el trauma, que podría acortarse con la leucorreducción universal.<sup>26</sup>

En pacientes críticos y postquirúrgicos, la duración de almacenamiento también se ha asociado con un mayor riesgo de infección nosocomial.<sup>26</sup>

### Multiparidad y el riesgo de TRALI

Gran parte de los casos de TRALI son secundarios a la transfusión de productos hemáticos obtenidos de muje-

res multíparas. La formación de anticuerpos en multíparas es resultado de la exposición, durante el embarazo, a antígenos leucocitarios paternos. La probabilidad de desarrollar anticuerpos anti-HLA aumenta con el número de embarazos. La exclusión de todas las donantes mujeres podría reducir el *pool* de donantes potenciales en un 50% y la exclusión de las multíparas en un 30%.<sup>27</sup>

La mayoría de los casos graves TRALI se asocian con aloanticuerpos a los leucocitos.<sup>37</sup> Debido a la creciente incidencia de anticuerpos en el plasma del donante, es factible que 1 de cada 25 unidades de donantes femeninas podría causar una reacción antígeno-anticuerpo al azar.<sup>28</sup>

La probabilidad obviamente, va a depender en función de la paridad de la donante. La frecuencia de anticuerpos en el plasma aumenta en donantes multíparas como resultado de múltiples exposiciones a antígenos paternos del feto durante el embarazo. Un gran estudio prospectivo en 8.171 donantes en los Estados Unidos reveló una prevalencia de 17.3% en anticuerpos HLA en donantes de sexo femenino. La prevalencia aumentó con el número de embarazos: 1.7% (cero); 11.2% (uno), 22.5% (dos), 27.5% (tres) y 32.2% (cuatro o más).<sup>28</sup>

En un estudio separado, 39.7% de las mujeres que informaban tres o más embarazos tenían anticuerpos contra HLA de clase I, HLA de clase II o granulocitos<sup>36</sup>. Por lo tanto, la multiparidad se asocia con un aumento en la frecuencia de los anticuerpos en los productos de la sangre donada. Varios estudios han examinado la importancia clínica de la multiparidad sobre el riesgo de

desarrollar TRALI. Los británicos en el programa SHOT informaron en los años 1999-2005, 49 casos en los que el PFC o plaquetas de donantes mujeres eran implicados en TRALI, lo que enfatiza la importancia de procesar a partir de hombres solamente. En una revisión de las muertes reportadas por TRALI en la Cruz Roja americana, los donantes de sexo femenino con anticuerpos leucocitarios fueron identificados en el 75% de los casos fatales que involucran TRALI secundario a la administración de plasma fresco congelado. Un estudio holandés mostró una significativa disminución de la TRALI un año después de que se tomara la medida de aceptar sólo donantes hombres para el procesamiento de plasma.<sup>28, 29</sup>

Aunque hay evidencia de plausibilidad y soporte epidemiológico importante para eliminar a las mujeres multíparas del grupo de donantes de plasma (o de decidir no fraccionar plasma de sus donaciones), aún no ha habido un ensayo controlado aleatorio con las variables prospectivas apropiadas (para TRALI, la mortalidad) para apoyar esta práctica. La leucorreducción promete, pero no reduce la incidencia de TRALI en los ensayos clínicos. Además, la eliminación de donantes multíparas del grupo de donantes de plasma que contienen productos de la sangre (PFC y plaquetas) daría como resultado una pérdida de aproximadamente 30% de los donantes con una reducción mayor de los donantes de plaquetas<sup>(29,30)</sup>

No está claro cómo equilibrar los datos que implican a las donantes multíparas en TRALI con la posible escasez de plasma, situación creada por la eliminación de donantes multíparas o mujeres de los grupos de donantes.

Aunque muchos países y bancos de sangre han eliminado a las mujeres del grupo de donantes de plasma y se observan diferencias que se muestran en el antes y el después de los informes de incidencia de TRALI, se requiere que al menos un estudio prospectivo, aleatorizado y controlado, justifique esta acción antes de que sea universal.

Algunos autores consideran desproporcionada la medida y creen más razonable una estrategia dirigida a la realización de un *tamizaje* de las donantes. Sin embargo, la pregunta para plantearse ante esta estrategia es ¿qué se debería medir? Aunque se ha indicado la exclusión de los anticuerpos dirigidos contra HNA-1<sup>a</sup>, HNA-2<sup>a</sup>, HNA-3<sup>a</sup> y HLA-A2, eliminaría los más relevantes, habría otros que pasarían desapercibidos, como los anticuerpos anti-HLA-B, también causantes de TRALI. Se debe tener en cuenta, además, que estas técnicas de *tamizaje* son costosas y no están disponibles en muchos bancos de sangre. Aunque el tiempo nos mostrará la efectividad de este tipo de medidas, para algunos la elección del producto hemático en función del sexo parece actualmente una adecuada estrategia para mejorar la seguridad de las transfusiones de productos hematínicos.<sup>31</sup>

Los donantes en cuya sangre se detectan anticuerpos contra antígenos HLA clase I y/o clase II, y/o antígenos HNA, que son dirigidos contra un antígeno-blanco (s) presente en el paciente, son diferidos en forma permanente en casi todos los países que poseen estas técnicas, aunque en la mitad de los hemocentros en los EE.UU, no se practica esta medida.<sup>32, 33</sup>

A los donantes en el Reino Unido se les propone servir como donantes para la preparación de reactivos y en Japón también se toman muestras de su sangre, con el consentimiento informado del donante, y se puede utilizar con fines de investigación. Si el donante tiene anticuerpos, cuyo correspondiente antígeno blanco no está presente en el paciente, la situación es más complicada. En varios países estos donantes se consideran permanentemente diferidos.<sup>33</sup>

En Polonia, depende de la especificidad de los anticuerpos: los donantes con anticuerpos anti-HLA-A2 o HNA 3a son aplazados debido a que estos anticuerpos se consideran peligrosos. En España, el donante no se difiere cuando el suero sólo contiene anticuerpos anti HLA de clase 1. En Nueva Zelanda, el donante se aplaza cuando el suero contiene anticuerpos anti-HLA (Clase I y/o Clase II) que reaccionan con más del 6% de las celdas en el panel. En los EE.UU. se difiere el donante en un 39% de los donantes centros donde no hay compatibilidad antígeno afín y en el 78% de los centros de donantes si el paciente no ha sido HLA o HNA tipado, pero sólo en algunos de los centros de sangre en los hospitales. En Noruega, el donante se aplaza si es el único donante implicado cuya sangre fue transfundida. Si hubiera más donantes involucrados, y los anticuerpos son débiles, el donante no es aplazable, a menos que él o ella estuviera implicado(a) en un anterior caso de TRALI. Por último, en los Países Bajos y Dinamarca, el donante será diferido cuando él o ella sea implicado en un caso de TRALI por segunda vez.<sup>33,34,35</sup>

Finalmente, cuando un donante está implicado en un caso de TRALI, pero

no se detectan anticuerpos en el suero del donante (y no se detectan posibles antígenos blanco en el paciente,) no se difiere en la mayoría de los países participantes. Sin embargo, en Finlandia el donante se difiere, si era el único donante implicado y si el caso de TRALI es típico; de igual manera en Noruega y gran parte de los centros de donación de la AABB.<sup>35</sup>

En casi todos los países europeos, el plasma fresco congelado es preparado a partir de los donantes no transfundidos y sólo con varones, también se ha empleado la estrategia de usar solvente detergente de plasma (SD), que no tiene capacidad de inducir TRALI. En general, no se han tomado medidas con respecto a la posibilidad de que el TRALI pueda ser causado por sustancias leucocitarias biológicamente activas que se acumulan durante el almacenamiento en los concentrados de glóbulos rojos y plaquetas, excepto en Polonia. En general, se considera que la evidencia de que el TRALI pueda ser causado por tales sustancias aún no está clara.<sup>35,36</sup>

En Polonia se encontró que el 56,4% de los pacientes con TRALI había recibido una transfusión de glóbulos rojos que tenía más de catorce días de almacenamiento, y por lo tanto, se aconseja enfáticamente no transfundir a los pacientes en riesgo (es decir, aquellos en grave condición clínica) con los glóbulos rojos almacenados por más de catorce días o con plaquetas almacenadas por más de dos días.<sup>39,40</sup>

En varios países se ha observado un aumento de los casos de TRALI, presumiblemente debido a una mayor conciencia de la existencia de la entidad y por tanto una mejora en el reporte

de los casos. No obstante, se considera que la incidencia de TRALI es todavía inferior al real. Por lo tanto, es creciente la conciencia para adoptar medidas de prevención.<sup>40</sup>

Los nuevos donantes con antecedentes de embarazo y/o transfusión de sangre no son examinados de rutina para anticuerpos antileucocitarios, pero el plasma fresco congelado generalmente sólo se prepara a partir de sangre de varones no transfundidos. Además, la TRALI en pacientes con anticuerpos antileucocitarios es impedida por la leucorreducción universal de los glóbulos rojos y de concentrados de plaquetas.<sup>40</sup>

### Evitar las transfusiones innecesarias

Los intensivistas pueden contribuir a reducir el riesgo de TRALI en la práctica clínica diaria. Si los dos puntos anteriormente expuestos dependen de políticas de selección de donantes y almacenamiento de productos hemáticos que quedan fuera del control del intensivista, una adecuada política transfusional en las UCI contribuirá a reducir el riesgo de aparición, fundamentalmente de la forma de TRALI no inmune, asociada habitualmente al enfermo crítico.<sup>41</sup>

### Manejo

Cuando se diagnóstica TRALI, el manejo es similar al de la lesión pulmonar de otras causas. Esto incluye la optimización del uso del ventilador mecánico y de los parámetros para evitar que se vuelva a lesionar el pulmón mientras se asegura que el paciente no se sobrecargue de fluidos intravasculares. Algunas estrategias pueden mejorar los resultados como: despertares diarios

desde la sedación, evaluar la tolerancia a la extubación y optimización de los tiempos en ventilación mecánica. Al mismo tiempo sugerimos mantener una estrategia de transfusión restrictiva; así como el empleo de concentrados de hematíes lavados y uso de productos de plasma sólo de donantes varones en el afán de eliminar todos los mediadores biológicos potenciales y la presencia de anticuerpos que pueden prevenir el empeoramiento de la lesión pulmonar en estos pacientes vulnerables.<sup>41</sup>

### Referencias

1. Kleinman S, Caulfield T, Chan P, et ál. Toward an understanding of transfusion-related acute lung injury: statement of a consensus panel. *Transfusion*. 2004;44(12):1774-1789.
2. Silliman CC, Fung YL, Ball JB, Khan SY, et ál. Transfusion-related acute lung injury (TRALI): current concepts and misconceptions. *Blood Rev*. 2009 Nov;23(6):245-55.
3. Añón JM, García de Lorenzo A, Quintana, M, González E, Bruscas MJ. Publicado en *Med Intensiva* 2010; 34(02):139-49
4. Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, et ál. Report of the American-European Consensus conference on acute respiratory distress syndrome: definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. Consensus Committee. *J Crit Care*. 1994;9:72-81
5. Triulzi. Transfusion-related acute lung injury: current concepts for the clinician. *DJ. Anesth Analg*. 2009 Mar;108 (3):770-6.
6. Triulzi D. Transfusion-related acute lung injury: an update. *J Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2006:497-501.
7. Cherry T, Steciuk M, Reddy VV, Marques MB. Transfusion-related acute lung injury: past, present, and future. *Am J Clin Pathol*. 2008 Feb; 129(2):287-97.
8. Toy P, Popovsky MA, Abraham E, et ál. Transfusion-related acute lung injury: definition and review. *Crit Care Med*. 2005;33:721-726.

9. US Food and Drug Administration. Fatalities reported to FDA following blood collection and transfusion: annual summary for fiscal years 2000- 2010. Rockville, MD: United States Department of Health and Human Services,2010.
10. Bux J. Transfusion-related acute lung injury (TRALI): a serious adverse event of blood transfusion. *Vox Sanguinis* (2005); 89, 1–10.
11. Popovsky MA. Transfusion-Related Acute Lung Injury: Incidence, pathogenesis and the role of multicomponent apheresis in Its prevention *Transfus Med Hemother* 2008; 35:76–79.
12. Vlaar A.P, Schultz M.J, Juffermans N.P. Transfusion-related acute lung injury: a change of perspective. *Neth J Med.* 2009 Nov;67(10):320-6.
13. Gilliss BM, Looney MR. Experimental models of transfusion-related acute lung injury. *Transfus Med Rev.* 2011 Jan; 25(1):1-11.
14. Shaz BH, Stowell SR, Hillyer CD. Transfusion-related acute lung injury: from bedside to bench and back. *Blood.* 2011; 117 (5):1463-1471.
15. Silliman CC, Curtis BR, Kopko PM, et ál. Transfusion-related acute lung injury. *Blood.* 2005 Mar 15;105(6):2266-73. Epub 2004 Nov 30.
16. Sachs UJ. Pathophysiology of TRALI: current concepts. *Intensive Care Med.* 2007; 33(suppl1):S3-S11.
17. Fung YL, Silliman CC. The role of neutrophils in the pathogenesis of transfusion-related acute lung injury. *Transfus Med Rev.* 2009 Oct;23(4):266-83. Review.
18. J. P. Tung, R. M. Minchinton, J. F. Fraser & Y. L. Fung et al : Evidence behind the pathophysiology of TRALI. *ISBT Science Series* (2011); 6, 416–421.
19. Bux J, Sachs UJ. The pathogenesis of transfusion related acute lung injury (TRALI). *Br J Haematol.* 2007;136(6):788-799.
20. Popovsky MA, Moore SB. Diagnostic and pathogenetic considerations in transfusion-related acute lung injury. *Transfusion.* 1985;25(6):573-577.
21. Moritz E, Norcia AM, Cardone JD, Kuwano ST, Chiba AK, Yamamoto M, Bordin JO: Human neutrophil alloantigens systems. *An Acad Bras Cienc;* 2009 Sep;81(3):559-69
22. Reil A. Stanislawsky K, Gunay S, et ál. Specificities of leucocyte alloantibodies in transfusion related acute lung injury and results of leucocyte antibody screening of blood donors. *Vox Sang.* 2008; 95(4):313-317.
23. Middelburg RA, van Stein D, Briët E, et ál. The role of donor antibodies in the pathogenesis of transfusion-related acute lung injury: a systematic review. *Transfusion.* 2008;48(10):2167-2176.
24. Grove GH, Petraszko TR, Bigham M. The approach taken to reducing the risk of transfusion related acute lung injury in Canada. *Asian J Transfus Sci.* 2008 July;2(2):84-6.
25. Vamvakas EC, Blajchman MA. Transfusion-related mortality: the ongoing risks of allogeneic blood transfusion and the available strategies for their prevention. *Blood.* 2009 Apr 9;113(15):3406-17.
26. Engelfriet CP, Reesink HW. Transfusion-related acute lung injury (TRALI) International Forum. *Vox Sanguinis* (2001); 81( 4): 269–270.
27. Vlaar AP, Binnekade JM, Prins D, et ál. Risk factors and outcome of transfusion-related acute lung injury in the critically ill: a nested case-control study. *Crit Care Med.*2010;38(3):771-778.
28. Eder AF, Herron RM Jr, Strupp A. Effective reduction of transfusion-related acute lung injury risk with male-predominant plasma strategy in the American Red Cross (2006-2008). *Transfusion.* 2010;50(8):1732-1742.
29. Triulzi DJ, Kleinman S, Kakaiya RM, et ál. The effect of previous pregnancy and transfusion on HLA alloimmunization in blood donors: implications for a transfusionrelated acute lung injury risk reduction strategy. *Transfusion.* 2009;49(9):1825-1835.
30. Gajic O, Rana R, Winters JL, et ál. Transfusion-related acute lung injury in the critically ill: prospective nested case-control study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;176(9): 886-891.

31. Keller-Stanislawski, B., Reil, A., Günay, S. and Funk, MB. Frequency and severity of transfusion-related. Acute lung injury - German haemovigilance data (2006-2007). *Vox Sang.* 2010;98(1):70-77.
32. Vlaar AP, Hofstra JJ, Determann RM, et ál. The incidence, risk factors, and outcome of transfusion-related acute lung injury in a cohort of cardiac surgery patients: a prospective nested case control study. *Blood.* 2011;117(16): 4218-4225.
33. Eder AF, Herron R, Strupp A, et ál. Transfusion-related acute lung injury surveillance (2003-2005) and the potential impact of the selective use of plasma from male donors in the American Red Cross. *Transfusion.* 2007;47:599-60
34. Flesland O. A comparison of complication rates based on published haemovigilance data. *Intensive Care Med.* 2007;33 (suppl 1):S17-21.4.4
35. Engelfriet CP, Reesink HW, Wendel S, et ál. Measures to prevent TRALI, *Vox Sanguinis*, 2007; 92 (3): 258-277
36. Blood Products Advisory Committee. Topic II: Transfusion Related Acute Lung Injury (TRALI). Washington, DC: 2007.
37. Funk, M. B, Guenay, S., Lohmann, A, et ál. Benefit of transfusion-related acute lung injury risk-minimization measures – German haemovigilance data (2006-2010). *Vox Sanguinis* 2012;102 (4): 317-323.
38. Centers for Disease Control and Prevention. The national healthcare safety network (NHSN) manual: biovigilance component: protocol hemovigilance. Module. Atlanta, GA: Division of Healthcare. Quality Promotion, National Center for Preparedness, Detection, and Control of Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, 2009
39. Benson, AB, Moss, M. and Silliman, CC. Transfusion-related acute lung injury (TRALI): a clinical review with emphasis on the critically ill. *British Journal of Haematology*, (2009)147, 431-443.
40. Goldman M, Décary F, Freedman J. International Forum: Transfusion-related acute lung injury (TRALI), *Vox Sanguinis*; 2001; 81(4): 277
41. Reesink HW, Lee J, Keller A, Dennington P, et ál. Forum: Measures to prevent transfusion-related acute lung injury (TRALI) *Vox Sanguinis* (2012);102 (3),1-29.
42. Imagen <http://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Neutrophil2.jpg>.





# Púrpura postransfusión (PPT)

TEODORO HERNÁNDEZ C. \*

## Introducción

Se define la púrpura postransfusión (PPT) como una rara reacción adversa a la transfusión caracterizada por una súbita y severa trombocitopenia, la cual ocurre en un lapso de cinco a diez días después de la administración de productos sanguíneos,<sup>1</sup> aunque la literatura señala casos que ocurrieron a los 24 días de la transfusión.<sup>2</sup> El cuadro está asociado a un anticuerpo dirigido contra un antígeno específico de las plaquetas (usualmente anti HPA-1<sup>a</sup>) que se desarrolla en individuos negativos para este antígeno. Es más frecuente en las mujeres que en los varones, en una relación de 5:1, y esto se debe probablemente a que el requisito fundamental para que el cuadro se presente es la pre-exposición a antígenos específicos

\* Jefe del Servicio de Inmunohematología del Banco Metropolitano de Sangre de Caracas. Coordinador docente del postgrado de Hematología de la Universidad Central de Venezuela. Profesor de Hemoterapia e Inmunohematología. Caracas, Venezuela.

de plaquetas, bien sea por embarazo o postransfusión.<sup>2</sup>

Los productos sanguíneos usualmente asociados a este cuadro son los concentrados de glóbulos rojos y la sangre total, pero hay informes, después de la administración de plaquetas, plasma, e incluso glóbulos rojos congelados y desgllicerolizados.<sup>1</sup>

El 68% de los casos reportados ocurren en personas que carecen del antígeno HPA-1<sup>a</sup> en sus plaquetas (menos del 2% de la población), pero la inmunización a otros antígenos específicos de plaquetas se presenta en un 10% de los casos, principalmente a HPA-1<sup>b</sup>; aunque hay informes de anticuerpos contra HPA-3<sup>a</sup>, HPA-3<sup>b</sup>, HPA-4<sup>a</sup>, HPA-5<sup>a</sup>, HPA-5<sup>b</sup> y HPA-15.<sup>3,4</sup>

Por lo general, la púrpura postransfusión es un cuadro autolimitado, con resolución en un lapso de dos a tres semanas. En pacientes no tratados tiene una mortalidad del 10% al 15%, usualmente por sangramiento intracraneal.<sup>3</sup>

## Patogénesis

La razón por la cual un aparente aloanticuerpo puede destruir plaquetas autólogas aún no está muy clara. En muchos casos de anti HPA-1<sup>a</sup> asociado a PPT, los anticuerpos no estaban restringidos solo a los epítopes HPA-1<sup>a</sup>, algunos de ellos inhibían también la adhesión del fibrinógeno, tanto en las plaquetas portadoras del HPA-1<sup>a</sup> como en las plaquetas portadoras del HPA-1<sup>b</sup>, y en algunos casos los sueros de pacientes obtenidos en fase aguda contenían un anticuerpo adicional contra la proteína GP120 expresada en las plaquetas de pacientes con Tromboastenia de Glanzmann pero

no contra plaquetas de pacientes con Bernard-Soulier.<sup>1</sup>

Se ha demostrado que durante la fase aguda de la trombocitopenia, además de los anticuerpos anti HPA, hay formación de anticuerpos panespecíficos dirigidos contra plaquetas que expresan GPIIb/IIIa, GPIb-IX y GPIa/IIa. Estos anticuerpos panreactivos son probablemente responsables de la destrucción autóloga de plaquetas en la PPT.<sup>2,5,6</sup>

Otro aspecto interesante es la asociación de la subclase IgG3 como el anticuerpo responsable en la destrucción de plaquetas autólogas.<sup>2</sup>

Hay tres mecanismos que han sido propuestos para explicar la destrucción de las plaquetas autólogas:<sup>1</sup>

1. Formación de complejos inmunes entre el anticuerpo del receptor y los antígenos solubles del donante. Estos complejos inmunes se unirían a los receptores Fc de las plaquetas del receptor, para mediar de esta forma su destrucción.
2. Adherencia de antígenos solubles del componente transfundido a las plaquetas autólogas (negativas para dicho antígeno), lo cual conlleva que dichas plaquetas sean blanco del aloanticuerpo y producen de esta forma su destrucción.
3. Reactividad cruzada entre el aloanticuerpo y las plaquetas autólogas.

## Diagnóstico diferencial

La PPT no debe ser confundida con la trombocitopenia por transferencia pasiva de anticuerpos anti HPA, la cual ocurre cuando se transfunde plasma que contenga dichos anticuerpos. En estos casos hay una moderada trombo-

citopenia que sucede en las primeras 48 horas de haber sido transfundido el producto plasmático portador de anticuerpos. En la PPT la trombocitopenia es severa y ocurre por lo menos a la semana de la transfusión.<sup>1</sup> Otro diagnóstico diferencial es la trombocitopenia inducida por la heparina en pacientes transfundidos y que reciben este tipo de tratamiento anticoagulante.

Otros cuadros que se deben descartar incluyen la púrpura trombocitopénica inmune (PTI), la púrpura trombótica trombocitopénica (PTT), la sepsis bacteriana, la coagulación intravascular diseminada (CDI) y la hipoplasia medular.

### Diagnóstico definitivo

El diagnóstico de PPT es confirmado por la demostración en el suero fresco del paciente de aloanticuerpos IgG dirigidos contra antígenos específicos de las plaquetas (HPA), mediante técnicas de inmunoensayo (ELISA). Los genotipos HPA-1, 2, 3, 5 y 15 en el paciente son realizados por técnicas de Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR).<sup>7</sup>

Es importante aclarar que los anticuerpos dirigidos contra el sistema mayor de histocompatibilidad (HLA) no son responsables de la PPT, pero pueden estar presentes en el suero del paciente.<sup>7</sup>

### Manifestaciones clínicas

Los signos y síntomas del cuadro incluyen:<sup>1</sup>

- Severa trombocitopenia (Menos de 10.000 plaquetas por mm<sup>3</sup> en el 80% de los casos)
- Sangramiento por membranas mucosas.

- Epistaxis
- Hemorragias gastrointestinales
- Sangramiento del tracto urinario
- Hemorragia intracraneal
- Ocasionalmente hay fiebre, escalofríos y broncoespasmo.

### Tratamiento

El tratamiento debe ser iniciado tan pronto como el diagnóstico clínico sea hecho, sin esperar los resultados del laboratorio especializado.

El tratamiento de primera línea consiste en la administración de inmunoglobulina intravenosa a altas dosis (2 g/kg de peso, administrada durante los dos a cinco días subsiguientes). Este tratamiento debe ser iniciado inmediatamente, aun cuando el paciente esté sangrando y requiera transfusión de plaquetas. Aproximadamente el 85% de los pacientes responden a este tratamiento.<sup>4</sup>

La transfusión de plaquetas generalmente no es efectiva, y la administración de las mismas, aun siendo negativas para el fenotipo HPA correspondiente al anticuerpo implicado, tampoco es efectiva durante la fase aguda del proceso.<sup>2</sup>

La plasmaféresis y los esteroides han sido usados en el pasado, pero su respuesta comparados con la administración de inmunoglobulina, es mucho menor.

La plasmaféresis sería el tratamiento de segunda línea en aquellos pacientes que no respondan a las inmunoglobulinas.<sup>5</sup>

Durante la fase de recuperación de la severa trombocitopenia, el conteo plaquetario del paciente debe tener un seguimiento riguroso hasta que los niveles normales de plaquetas sean alcanzados,

debido a la posibilidad de un rebote de la trombocitopenia.

Durante la fase aguda y con severo sangramiento algunos autores recomiendan la administración de plaquetas ABO y Rh compatibles; pero la dosis de las mismas debe ser mucho más alta que las usuales.<sup>1</sup>

No hay evidencia que la administración de plaquetas de donantes HPA compatibles pueda reducir el tiempo de trombocitopenia en la fase aguda del proceso.<sup>3,7</sup>

Ahora bien, para futuras transfusiones de sangre y plaquetas, lo ideal sería obtenerlas de donantes negativos para el antígeno HPA implicado. Lo mismo aplica para aquellas madres que requieran transfusión y que hayan tenido un niño con trombocitopenia neonatal aloinmune.<sup>3</sup>

## Prevención

La experiencia de la Gran Bretaña, en cuanto a la efectividad de la leucorreducción universal de productos sanguíneos como medida preventiva para la PPT es notable.

La leucorreducción universal fue introducida en ese país en 1998. Desde entonces, han tenido un considerable descenso de casos de PPT reportados, y en la actualidad hay una incidencia de menos de 1 por cada 700.000 transfusiones administradas.<sup>8</sup>

La leucorreducción de la sangre total reduce notablemente el número de plaquetas contaminantes, y en los glóbulos rojos filtrados y depletados de buffy-coat las plaquetas son prácticamente indetectables.<sup>8</sup>

## Referencias

1. Wankert TE, Smith JW. The alloimmune thrombocytopenic Syndromes. *Transfusion Medicine Reviews* 1997; 11(4): 296-307
2. Shtalrid M, Shvidel L, Vorst E, Weinmann EE, Berreri A, Singler E. Posttransfusion purpura: a challenging diagnosis. *IMA/2006;8:672-4.*
3. Rozmal P. Platelets antigens. The role of human platelet alloantigens (HPA) in blood transfusion and transplantation. *Transpl Immunol.* 2002 Aug;10(2-3):165-81.
4. Kiefel V, Schonberner-Richter I, Schilf K. Anti-HPA-1<sub>a</sub> in a case of posttransfusion purpura: binding to antigen-negative platelets detected by adsorption/elution. *Transfus Med* 2005;15: 243-7
5. Loren AW, Abrams CS. Efficacy of HPA-1<sub>a</sub> negative platelets in a patient with posttransfusion purpura. *Am J Hematol.* 2004 Jul; 73(3); 258-62.
6. Taaning E, Tonnensen F. Pan-reactive platelet antibodies in post-transfusion purpura. *Vox Sang* 1999; 76 (120-123)
7. Salama A. Alloimmune thrombocytopenias. *J Pediatr Haematol Oncol* 2003; 25: S39-41
8. Williamson LM, Stainsby D, Jones H et ál. The impact of universal leucodepletion Of the blood supply on hemovigilance reports of post transfusion purpura and transfusion-associated graft-versus-host disease. *Transfusion* 2007; 47:1455-1467