



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
NICARAGUA,
MANAGUA
UNAN-MANAGUA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA



UNAN-MANAGUA

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LA SALUD

"LUIS FELIPE MONCADA"

**Seminario de Graduación para optar al Título de:
Licenciatura en Bioanálisis Clínico**

Tema: Aplicaciones de la Práctica Transfusional.

Sub Tema: Transfusión de Componentes Sanguíneos Leucorreducidos.

Autores:

- ✚ Br. Keyla Teresita Gaitán Romero.
- ✚ Br. Auramassiel d' los Ángeles Pérez Ráudez.
- ✚ Br. Flavio César Ruiz Laguna.

Tutor:

- ✚ Lic. Rosa del Carmen Álvarez

Managua- Marzo 2019

Tema:

Aplicaciones de la Práctica Transfusional.

Sub tema:

Transfusión de Componentes Sanguíneos Leucorreducidos.

Índice

Dedicatoria.....	i
Dedicatoria.....	ii
Dedicatoria.....	iii
Agradecimiento	iv
Valoración del tutor	v
Abreviaturas.....	vi
Resumen	vii
1. Introducción	1
2. Antecedentes	3
3. Justificación.....	5
4. Objetivos	6
5. Diseño metodológico.....	7
6. Desarrollo del subtema.....	8
6.1 La sangre	8
6.1.1 Composición de la sangre.....	8
6.1.2 Antígenos HLA presentes en la membrana de las células.....	9
6.1.3 Avances en la transfusión	10
6.2 Historia de la leucorreducción.....	11
6.3 Leucorreducción de Hemocomponentes	14
6.4 Técnicas de preparación de sangre pobre en leucocitos.....	15
6.4.1 La sedimentación con macromoléculas tipo de extraño.....	16
6.4.2 Remoción del buffy-coat	16
6.4.3 Paquete Globular lavado.....	17
6.4.4 Glóbulos rojos filtrados	18

6.4.5	Leucorreducción al pie de cama	19
6.4.6	Congelamiento y desglicerolado	19
6.5	Diseño y funcionamiento de un filtro.....	19
6.5.1	Mecanismos de filtración.....	20
6.5.2	Parámetros biológicos (adhesión mediada)	22
6.5.3	Diseño.....	23
6.5.4	Momento de la filtración	25
6.6	Métodos para recuento de leucocitos	26
6.7	Eficacia del método.....	28
6.8	Paquete globular leucorreducido	28
6.9	Ventajas de transfundir paquetes leucorreducidos	29
6.9.1	Trasplante Hematopoyético.....	29
6.9.2	Trasplante de órganos sólidos.....	30
6.9.3	Prevención de refractariedad plaquetaria	31
6.9.4	Linfocitotoxicidad	33
6.10	Disminución de la incidencia de infecciones	34
6.10.1	Citomegalovirus	34
6.10.2	Virus de Epstein Barr	35
6.10.3	Virus linfotrópico de células T humanas.....	36
6.11	Reacciones adversas asociada a la transfusión.....	36
6.11.1	Reacción transfusional febril no hemolítica (RFNH).....	37
6.11.2	Reacción transfusional alérgica (Urticaria)	38
6.11.3	Reacción transfusional anafiláctica	38
7.	Conclusiones	39
8.	Recomendación	40

9. Bibliografía.....	41
10. Glosario	43
11. Anexos.....	46

Dedicatoria

A Dios nuestro padre celestial, dador de vida, fuente de amor, sabiduría y fortaleza en cada momento de mi vida.

A mis padres que más me han querido y apoyado en la vida, que a pesar de sus limitaciones siempre ha estado conmigo.

A mis compañeros Flavio Ruiz Laguna y Auramassiel Pérez Ráudez, que a pesar de las adversidades nos hemos ayudado a salir adelante y así culminamos juntos otra etapa de nuestra vida.

Además a todas aquellas personas que me brindaron su apoyo y estímulo para alcanzar la meta que me propuse durante este largo periodo.

A todos ellos, con amor y gratitud.

Br. Keyla Teresita Gaitán Romero

Dedicatoria

A Dios que nos da la vida, por permitirme culminar un peldaño más, por darme fortaleza, discernimiento para completar mi profesión.

A mis padres, pilar importante en mi desarrollo personal, espiritual y profesional, que han estado a mi lado apoyándome incondicionalmente en mi vida estudiantil.

A mis maestros, porque ellos son los que nos brindan todos los conocimientos que adquirimos hoy en día.

Estoy segura que las metas que he planteado en mi vida darán frutos en un futuro y es por eso que debo dar lo mejor, demostrar mi desempeño profesional y así poder servir a mis semejantes.

Br. Auramassiel d' los Ángeles Pérez Ráudez

Dedicatoria

A Dios infinitamente por el don de la vida, a mi madre por su amor y apoyo incondicional, a mi familia por el respaldo que han brindado pese a las dificultades.

Br. Flavio César Ruiz Laguna

Agradecimiento

Agradecemos a Dios por bendecirnos la vida, por guiarnos a lo largo de nuestra existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y debilidad.

Gracias a nuestros padres por ser los principales promotores de nuestros sueños, por confiar y creer en nuestras expectativas, por los consejos, valores y principios que nos han inculcado.

Agradecemos a la Lcda. Rosa del Carmen Álvarez tutora de nuestro trabajo, principal colaborador durante todo este proceso, quien ha guiado con paciencia y su rectitud como docente.

Queremos hacer mención a los licenciados del banco de sangre, por haber compartido sus conocimientos sobre el tema investigativo, de manera especial al Licenciado Ramón Medrano, quien con su experiencia, conocimiento y motivación nos orientó en la investigación, gracias por sus enseñanzas, apoyo y sobre todo la amistad brindada.

Valoración del tutor

La transfusión de componentes sanguíneos es indudablemente un pilar terapéutico fundamental en muchas áreas de la práctica médica. La situación beneficio/riesgo, debe ser tomada en cuenta por el profesional médico que indique una transfusión. La práctica de la transfusión sigue siendo un problema, ya que no existe un verdadero consenso acerca de sus indicaciones. Por ello es imperativo conocer los adelantos técnicos en la preparación y uso de la sangre y de los hemocomponentes.

La reducción del número de leucocitos obtenidos con filtros especiales es uno de esos avances que los autores del presente documento después de una exhaustiva revisión documental han querido presentar; incursionando en aspectos relevantes como son la prevención de riesgos en los receptores de los componentes sanguíneos.

Es mi consideración que el trabajo cumple con los requisitos necesarios para ser sometido a la correspondiente evaluación.

Lic. Rosa del Carmen Álvarez Bravo

Abreviaturas

AABB: Asociación Americana de Banco de Sangre.

LCT: Técnica de Linfocitotoxicidad.

TRALI: Lesión Pulmonar Aguda Transfusional.

Buffy-Coat: Capa de Glóbulos Blancos.

LRS: Leucorreducción Selectiva.

LRU: Leucorreducción Universal.

CP: Concentrado de Plaquetas.

CPH: Células Progenitoras Hematopoyéticas.

TMO: Trasplante de Medula Ósea.

CGR: Concentrado de Glóbulos Rojos.

RFNH: Reacción Febril no Hemolítica.

ADN: Ácido Desoxirribonucleico.

Ags: Antígenos.

Acs: Anticuerpos.

HLA: Antígeno Leucocitario Humano.

CMHC: Complejo Mayor de Histocompatibilidad.

CMV: Virus Citomegalovirus.

VEB: Virus Epstein Barr.

HTLV: Virus Linfotrópico de Células T Humanas.

Resumen

Esta investigación tuvo como objetivo principal describir la importancia de la transfusión de componentes sanguíneos leucorreducidos así mismo explicar los métodos de leucorreducción, especificar las indicaciones clínicas para la transfusión de hemocomponentes leucorreducidos y conocer la importancia de la transfusión de los componentes sanguíneos leucorreducidos para disminuir la incidencia de CMV y otros patógenos intracelulares.

El diseño de la investigación se basó en estudios documentales de tipo descriptivos, donde se abordaron los aspectos señalados en los objetivos propuestos. Para obtener la información que aboga este trabajo se utilizaron técnicas para la recolección de datos como fichas bibliográficas, análisis de literatura y documentos encontrados en revista científicas, libros e internet para lograr el propósito de la investigación. Para la elaboración y levantado de texto se utilizó el programa de Microsoft Word y Power Point 2007 para la presentación y defensa de trabajo.

Finalmente se concluye que la transfusión de componentes sanguíneos leucorreducidos debe ser una práctica para disminuir la incidencia de aloinmunización por HLA y la prevención de infecciones y reacciones post Transfusionales ha mediado o largo plazo.

1. Introducción

La transfusión sanguínea es un procedimiento médico terapéutico que tiene como objetivo corregir la deficiencia de un componente específico de la sangre, en lo que respecta a la capacidad de transporte de oxígeno (componente eritrocitario) o con relación a la función hemostática (plaquetas y/o factores de coagulación).

Los avances en medicina transfusional en las últimas décadas han permitido que la transfusión de hemocomponentes sea un acto cada vez más seguro, especialmente en relación a los riesgos de transmisión de agentes infecciosos y reacción transfusional severa. Sin embargo, no debe obviarse que en términos fisiopatológicos cuando se transfunde en una persona se le está exponiendo a un trasplante de tejido alogénico, de vida media corta, lo que conlleva los riesgos inherentes a un tejido trasplantado. Hoy comprendemos de mejor forma que existen una serie de fenómenos inmunológicos y no-inmunológicos gatillados por la transfusión que pueden afectar negativamente la evolución de los paciente según (Mark E.Brecher, 2007).

El uso de componentes celulares leucorreducidos en la medicina transfusional ha venido creciendo con el paso de los años, tras comprobarse que los leucocitos están comprometidos en la inmunización del paciente, en la mayoría de reacciones transfusionales alérgicas y febriles, en la relación injerto contra huésped y en el depósito de microagregados en los alvéolos pulmonares del receptor.

Por otro lado se ha comprobado que la leucorreducción de los componentes sanguíneos aparte de prevenir reacciones transfusionales, previene la transmisión de agentes infecciosos como el Citomegalovirus (CMV) y la Aloinmunización (HLA) según (Duenas, 2003)

Los glóbulos rojos pobres en leucocitos están indicados para pacientes que tienen reacciones febriles no hemolíticas (elevación de la temperatura en 1° C o más, asociado con transfusión y sin otra explicación) repetidas y/o severas asociadas con la transfusión de GR o plaquetas y como profilaxis contra la aloinmunización en pacientes seleccionados destinados a terapia de transfusión por mucho tiempo.

Existen varios métodos usados para preparar componentes pobres en leucocitos: filtros de adsorción de leucocitos para sangre total, concentrados de GR y de plaquetas; congelación y desglicerolización de GR, filtros de microagregados para GR; GR lavados; centrifugación para plaquetas; GR con eliminación de Buffy-Coat y aféresis para plaquetas.

Según (Paredes, 2008), El concentrado de plaquetas es el hemocomponente resultante de extraer de la unidad de sangre total la masa eritrocitaria, la mayor parte de plasma, así como de leucocitos; contiene 5.5×10^{10} plaquetas en un volumen de 30 a 50cc aprox. y es el único hemocomponente que se conserva a temperatura ambiente de 20 a 22 °C y en agitación constante, tiene una duración máxima de 5 días.

2. Antecedentes

Considerando la importancia de este tema de investigación en nuestro perfil profesional, se realizaron búsquedas con el fin de establecer criterios para la transfusión de componentes sanguíneos leucorreducidos.

En Nicaragua, Banco Nacional de sangre (BNS) no realiza procesos de leucorreducción por filtros de 3ra generación debido a sus costos elevados, sin embargo, en caso de que se amerite un componente leucorreducido se hace a través de centrifugación inversa para retirar la capa buffy-coat y así prevenir una aloinmunización.

Según el artículo titulado: **LEUCORREDUCCIÓN DE CONCENTRADOS ERITROCITARIOS FRACCIONADOS CONVENCIONALMENTE O CON SISTEMA ÓPTICO**, elaborado por Deidy Enid Ferguson-Guerra & Sergio A. Sánchez-Guerrero (2006), donde se muestran datos relacionados a los métodos más frecuentes para preparar productos pobres en leucocitos, fueron estudiadas un total de 96 unidades de concentrados eritrocitarios; 48 fraccionadas con el sistema óptico y seguidamente filtradas con cuatro tipos de filtros (12 unidades para cada marca de filtro). Se evaluó la leucorreducción obtenida mediante citometría de flujo, tiempo de filtración y volumen de concentrado eritrocitario recuperado. En otras 48 unidades, fraccionadas por el sistema convencional sin retirar la capa leucoplaquetaria, se estudiaron los mismos parámetros. Con los cuatro tipos de filtros en ambos sistemas se obtuvieron resultados que cumplen con las recomendaciones de la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB); la mediana del volumen de CE retenido en los filtros fue en el grupo A: 30 mL en los filtros Baxter y Terumo, 29 mL en los de Fresenius y 20.5 mL en los de Pall; sin embargo, al comparar el volumen retenido considera que la forma ideal para cuantificar adecuadamente los leucocitos residuales es con citómetro de flujo; se encontraron algunas diferencias entre los filtros entre sí y con el grupo con solución aditiva, pero no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

Se encontró la guía titulada: **RECOMENDACIONES PARA LA LEUCORREDUCCIÓN DE COMPONENTES CELULARES (2010)**; aborda ensayos, análisis de estudios observacionales sobre la leucorreducción, su efectividad en contrarrestar infecciones, aloinmunización HLA, refractariedad plaquetaria en pacientes poli transfundidos, demostrando que los pacientes tratados con CP leucorreducidos tienen una menor incidencia de presencia de anticuerpos linfocitotóxicos (18 versus 45%, $p < 0.001$) como de refractariedad plaquetaria (7 versus 16 %, $p = 0.03$); efectividad en la prevención de transmisión de Citomegalovirus en pacientes con enfermedades hematológicas por estrategias de selección de unidades provenientes de donantes seronegativos para CMV y por leucorreducción de componentes celulares, concluyendo en la importancia de la leucorreducción de los paquetes para prevenir y reducir el riesgo de infecciones por CMV. A su vez cortes retrospectivos cuyo objetivo era evaluar el impacto de la leucorreducción pre y post almacenamiento en relación a la frecuencia de aparición de RFNH en una población con enfermedades hematológicas y oncológicas, demostrando en los resultados una disminución en la frecuencia de RFNH luego de la implementación de la leucorreducción universal.

3. Justificación

La transfusión sanguínea es un procedimiento que salva vidas, permite reponer una pérdida de sangre o cualquiera de sus componentes específicos a un paciente compatible, de manera rápida y sencilla; para ello es necesario que se realicen análisis a la sangre del donante y del receptor para evitar la transmisión de enfermedades infecciosas que pongan en riesgo la vida del paciente, sin embargo, el riesgo a reacciones transfusionales y de sensibilización persisten.

Existen efectos adversos de que la presencia de leucocitos en la sangre a transfundir provoca la aloinmunización al complejo mayor de Histocompatibilidad (HLA), transmisión de citomegalovirus (CMV) entre otros; para ello se ha promovido en otros países la implementación de filtros para preparar productos pobres en leucocitos.

La transfusión de componentes leucorreducidos es un procedimiento que no se realiza en los Banco de Sangre a nivel de Nicaragua, por lo cual, el propósito del estudio es ampliar el conocimiento científico de la generación de Bioanálisis Clínico y personal médico sobre este tipo de transfusión, a la vez la investigación promueve el desarrollo de la ciencias y la calidad de trabajo con el objetivo de establecer criterios y protocolos a la hora de transfundir este tipo de componentes.

4. Objetivos

Objetivo general

- ✚ Determinar la importancia de la transfusión de componentes sanguíneos leucorreducidos.

Objetivos específicos

- ✚ Explicar los diferentes métodos de leucorreducción de componentes sanguíneos.
- ✚ Describir las indicaciones clínicas para la transfusión de hemocomponentes leucorreducidos.
- ✚ Conocer la importancia de la transfusión de los componentes sanguíneos leucorreducidos para disminuir la incidencia de CMV y otros patógenos intracelulares.

5. Diseño metodológico

a) Tipo de estudio

Tipo de investigación documental descriptiva, fundamentada en la consulta de (Libros, revistas, informes, medios electrónicos etc.)

b) Área de estudio

El área de estudio es el Banco de Sangre y Servicio Transfusional, siendo esta área la que se encarga de la leucorreducción y estudios inmunológicos para la transfusión de sangre y hemocomponentes, proporcionando una terapéutica transfusional efectiva con el mínimo riesgo posible para el paciente.

c) Técnicas e instrumentos de recolección de información.

La información fue recolectada de fuentes confiables, los investigadores utilizaron libros de Inmunohematología, revistas científicas, páginas de internet, artículos y publicaciones, donde se aborda la temática en estudio. Se consideraron dentro de este tema de investigación todos los datos bibliográficos útiles para cumplir con los objetivos planteados. La investigación fue realizada de forma ordenada con la finalidad de construir conocimientos. Una vez recopilado, analizado y revisado todo el material documentado, la información se ordenó y se elaboró el informe final.

d) Procesamiento de la información y análisis

El procesamiento y el análisis de la información recolectada fueron acorde a cada uno de los objetivos propuestos. Se utilizó el programa Microsoft Office 2007 para el levantado de texto y Microsoft Power Point 2007 para la presentación final del trabajo.

e) Consideraciones éticas

Para la realización de este estudio únicamente se utilizó información de documentos, guardando los principios éticos en investigación. Los datos fueron colectados de tal forma que sean procesados y divulgados en un informe final.

6. Desarrollo del subtema

6.1 La sangre

La sangre es un conjunto de células suspendidas en un líquido amarillento denominado plasma. Su color característico es debido a la presencia de pigmento hemoglobínico contenido en los eritrocitos.

Es un tipo de tejido especializado que está constituido por elementos formes como glóbulos rojos (eritrocitos), glóbulos blancos (leucocitos) y plaquetas (trombocitos); la sangre actúa como medio de transporte a diversas estructuras del organismo (RIVAS).

6.1.1 Composición de la sangre

Plasma

Es la porción líquida de la sangre que transporta las células y otros componentes al organismo como son: proteínas, factores de coagulación y sustancias químicas.

Eritrocitos

Tienen forma de disco bicóncavo, son muy pequeños con un diámetro de 7.2 micrones, carecen de núcleos y organelos por lo que son considerados estrictamente células. Existe alrededor de 5 millones de eritrocitos por milímetros cúbicos de sangre (5×10^{12}).

Se producen en la médula ósea y cuando maduran ingresan al torrente sanguíneo, en donde sobreviven 120 días. Estas células son muy especializadas y se distribuyen en todo el organismo, predominan en la médula ósea, hígado, bazo. Su función principal es transportar oxígeno. (RIVAS)

Leucocitos

Los leucocitos (glóbulos blancos) son las células sanguíneas nucleadas. La cantidad normal de leucocitos por mm^3 es de 4.500 a 11.000. Constituyen el 1% del volumen sanguíneo. Los leucocitos se dividen en: Granulocitos, Linfocitos, Monocitos. (Welsch, 2006)

Una gran parte de ellos madura en la médula ósea (granulocitos, monocitos y linfocitos B) y el resto en el timo (linfocitos T). El número de leucocitos circulantes es muy inferior al de eritrocitos y su supervivencia es mucho más corta que los glóbulos rojos.

Plaquetas

Los trombocitos (plaquetas) forman parte del complejo sistema hemostático. Consisten en fragmentos citoplasmáticos anucleados, ovales o discoides, de 1- 3 μm de diámetro con una estructura organizada, que se forman por estrangulación a partir de prolongaciones celulares de los megacariocitos de la médula ósea. Un tercio de los trombocitos se almacena (“secuestra”) en el bazo, mientras que los dos tercios restantes circulan en la sangre, donde su vida media alcanza los 7 a 10 días. (Welsch, 2006)

6.1.2 Antígenos HLA presentes en la membrana de las células

Los genes de los antígenos del sistema HLA están localizados en el complejo principal de Histocompatibilidad (MHC), en el brazo corto del cromosoma 6 que se hereda en bloque como un haplotipo, distribuidos en diferentes locus estrechamente ligados y denominados como clase I = A, B y C, y clase II = DR, DQ y DP. Estos genes contribuyen al reconocimiento de los antígenos propios y no propios ante la respuesta inmune a un estímulo antigénico, coordinando así la respuesta de inmunidad celular y humoral. Los productos del gen HLA son moléculas de glicoproteína que se encuentran expresadas con intensidades variables sobre la membrana de la mayoría de las células del cuerpo humano, incluyendo: linfocitos, granulocitos y monocitos, además de plaquetas. Los eritrocitos maduros pierden la expresión de antígenos HLA, aunque como normoblastos nucleados sí lo expresan (Alvarez, 2013).

En las plaquetas, además de los antígenos HLA de clase I, se encuentran antígenos específicos (HPA-1 a, HPA-1 b, HPA-2 a, HPA-2 b, HPA-3 a, HP-3b, HP-4 a, HP-4 b, HP-5 a, HP-5 b, HP-6(b), HP-7(b), HP-8(b) y HPA-10wb); su importancia radica en la selección de células que sean compatibles en pacientes con refractariedad a transfusión de concentrados (Moyado, 2004)

Después del sistema ABO, el sistema HLA es el más importante a tomar en cuenta a la hora de transfundir hemocomponentes, ya que está directamente relacionado con la presentación de reacciones adversas a la transfusión.

6.1.3 Avances en la transfusión

Los avances en la medicina transfusional en la última década han permitido que la transfusión de hemocomponentes sea un acto cada vez más seguro, especialmente en relación a los riesgos de transmisión de agentes infecciosos y reacciones transfusionales severas. La presencia de leucocitos es responsable de algunas de las complicaciones asociadas a la transfusión, pues los pacientes que reciben hemocomponentes también reciben una gran cantidad de leucocitos del donante los cuales no le ofrecen ningún beneficio en la mayoría de los casos, debido a la presencia de toxinas .

La presencia de leucocitos o sus productos metabólicos (citocinas) en los productos sanguíneos celulares (sangre total, concentrado eritrocitario y concentrado plaquetario del donador habitual y de aféresis), se ha asociado a efectos adversos en el receptor en lo que se señalan fenómenos de aloinmunización a los sistemas de Histocompatibilidad (HLA), antígenos eritrocitarios, refractariedad plaquetaria, reacciones febriles no hemolíticas (RFNH), enfermedad injerto contra huésped (EICH), transmisión de citomegalovirus (CMV), disfunción pulmonar severa (TRALI) y efecto de inmunomodulación. (Lindoro, 2002)

Los estudios existentes indican que el uso rutinario de glóbulos rojos con reducción del número de leucocitos, disminuye la posibilidad de aloinmunización primaria a los antígenos leucocitarios (MA, 1996). Los glóbulos rojos leucorreducidos han demostrado ser eficaces en las siguientes indicaciones: reducción de la aloinmunización HLA que pueda conducir a la aparición de refractariedad a la transfusión de plaquetas; profilaxis en pacientes inmunocomprometidos susceptibles a la infección por CMV; reducción de las reacciones febriles no hemolíticas por reducción de los leucocitos y de la liberación de citoquinas durante el almacenamiento y reducción del riesgo de contaminación de los eritrocitos por *Yersinia enterocolitica* (Universal, 2001).

Las tendencias actuales con respecto a su uso son bastante controvertidas. La decisión debe basarse en factores como la prevención de reacciones febriles en pacientes aloinmunizados, profilaxis contra la inmunización, la experiencia del banco de sangre con las técnicas de preparación de los componentes y la respuesta del paciente a la administración previa de unidades de eritrocitos pobres en leucocitos. (BETHESDA, 2005)

6.2 Historia de la leucorreducción

En 1928, Fleming utilizó algodón a modo de filtro para la eliminación de los leucocitos de la sangre. 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.

En 1939 laboratorios Baxter de Chicago, introducen el sistema de recolección de sangre Transfuso-Vac que consistía en una botella de vidrio al vacío que contenía citrato y una interface con un filtro de metal para retener coágulos de fibrina. La filtración de la sangre para retener coágulos, restos de fibrina y agregados celulares constituyó el inicio para el desarrollo posterior de filtros para microagregados de 40 micras o para la leucorreducción (retención de leucocitos) de los hemocomponentes.

Al final de la década de 1960, el neurólogo Russell Patterson de New York, deduce que las alteraciones neurológicas que ocurrían luego de la circulación extracorpórea en cirugía cardíaca podrían deberse a la infusión de microémbolos. Se pone en contacto con Pall Corporation en New York para que desarrollen un filtro para retener microémbolos; ante la sugerencia de Patterson, Pall Corporation en 1974 crea el primer microfiltro con malla de polyester de 40 micras similar al que se utiliza actualmente.

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. Al examinar microscópicamente los filtros, constató que los poros estaban obstruidos por desechos, agregados de plaquetas y leucocitos. Posteriormente filtró la sangre almacenada mediante un filtro de lana cristalizado, tras de lo cual esta sangre podía atravesar sin dificultad el microfiltro de manera análoga a como lo hace la sangre fresca.

En 1962, Greenwalt y col. publicaron un método de filtración para utilizar en bancos de sangre. Más tarde, se observó que las fibras de nylon eran superiores a las de Orlón, Dacron o Teflón y que además atrapaban selectivamente a los granulocitos y no a los linfocitos.

Los filtros originales contenían algodón como agente filtrante y fueron diseñados por Diepenhorst, 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.

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, generaban vasoconstricción y aumento de la permeabilidad capilar; 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 CE.

En 1966, Perkins y colaboradores asociaron la presencia de leucocitos en sangre transfundida con las reacciones febriles no hemolíticas (RFNH) que se producían en los receptores. Posteriormente, Wenz y colaboradores en 1980 especulan que la remoción de los agregados de leucocitos mediante el uso de filtros de microagregados puede resultar en una disminución de las RFNH. Estos investigadores conducen un estudio en donde utilizan el filtro Pall Ultipor SQ40S previa centrifugación de las unidades de eritrocitos almacenados a 4 centígrados. Esta técnica, denominada luego *“spin and filter”* demostró que aproximadamente 1 log₁₀ de leucocitos, principalmente granulocitos, eran removidos del hemocomponente. Luego la técnica fue modificada a *“spin, cool and filter”* agregándose un período de reposo a 4 grados centígrados luego de la centrifugación, con el fin de estabilizar los microagregados leucocitarios previo a la filtración. Durante los siguientes cinco años numerosos trabajos demostraron que con la aplicación de esta técnica se reducían las RFNH. Dado la gran popularidad que había adquirido esta tecnología, dos compañías, Asahi y Pall, desarrollan a finales de la década de 1980 los primeros filtros de

leucorreducción para extraer más de 3 log₁₀ leucocitos de los hemocomponentes (eritrocitos y plaquetas).

En 1983 el Dr. David Pall se interesó en la leucorreducción de CP, ya que en el seno de su familia se presentaron dos casos de enfermedades hematológicas. Este interés lo motivó a desarrollar el primer filtro para leucorreducción de concentrados plaquetario.

En 1997, el estudio TRAP (Trial to Reduce Alloimmunization to Platelets) fue publicado en el New England Journal of Medicine. Se demostró que la leucorreducción de los hemocomponentes por filtración fue efectiva en prevenir la aloinmunización plaquetaria responsable de la refractariedad plaquetaria clínica sobre todo en pacientes multitransfundidos. Las plaquetas tienen en su membrana antigénica HLA clase I y antígenos específicos HPA (Human Platelet Antigens).

La epidemia de “las vacas locas” sufrida por el Reino Unido a finales de la década del noventa que afecta al hombre como variante de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (vCJD) llevó a las autoridades sanitarias de este país (ante el supuesto de que pudiera transmitirse por sangre) a realizar una política de precaución e implementaron la leucorreducción de todos los hemocomponentes denominada leucorreducción universal (LRU). Varios países como Austria, Francia, Canadá y Suiza adoptaron igual posición al Reino Unido en los dos últimos años del siglo XX. Luego, se sumaron Malta, Alemania, Holanda Noruega, Finlandia y España entre otros.

Dado que la leucorreducción solo remueve el 42% de la infectividad por vCJD, en el nuevo milenio, varias firmas comerciales (Pall, MacoPharma y Asahi-Baxter) han desarrollado filtros específicos para remover priones los cuales no retienen por tamaño sino por afinidad molecular. Por ejemplo, el P-Capt Prion Capture filter de MacoPharma es un filtro flexible diseñado para retener priones de concentrados de eritrocitos leucorreducidos previamente.

La leucorreducción se realiza principalmente para prevenir las RFNH, infecciones virales como el Citomegalovirus, las bacterianas como *Yersinia*, la aloinmunización plaquetaria y

leucocitaria en pacientes inmunodeprimidos, hematooncológicas o trasplantados. Además, toda la sangre para transfusión intrauterina o exsanguinotransfusión debe ser leucorreducido, así como todos los componentes celulares que reciben los neonatos.

La leucorreducción de los hemocomponentes comenzó realizándose con el uso de filtros inmediatamente antes de la transfusión luego del almacenamiento. Sin embargo, a pesar de que se reducía la incidencia de las RFNH postransfusionales éstas no desaparecían. Se pensó entonces que estas reacciones residuales se debían a la liberación de citoquinas durante el almacenamiento de los hemocomponentes. Las citoquinas son sustancias solubles que no son removidas del hemocomponentes por los filtros de leucorreducción. Por ello, se desarrollaron sistemas de leucorreducción pre-almacenamiento.

En la actualidad, está disponible una nueva generación de filtros que combina un flujo rápido con una excelente eliminación de leucocitos (eliminan el 99.995% de los leucocitos sanguíneos)

La presencia de los leucocitos en los componentes sanguíneos es responsable, como ya vimos, de algunas de las complicaciones asociadas a la transfusión. Los receptores reciben leucocitos del donante que en principio, no les causa ningún beneficio y cuya eliminación es necesaria para evitar dichas complicaciones (Dr. Jorge Decaro, 2010).

6.3 Leucorreducción de Hemocomponentes

La leucorreducción es la disminución de los leucocitos, en los componentes celulares de la sangre, a valores menores a 5×10^6 por unidad de GR o por una dosis terapéutica de plaquetas para un adulto (Revista argentina transfusion, 2007), la leucorreducción tiene como objetivo disminuir los concentrados de células presentadoras de antígenos minimizando reacciones transfusionales secundaria e interacción antígeno anticuerpo a la vez disminuir la incidencia de citomegalovirus entre otros patógenos intraleucocitarios.

Leucorreducción, leucofiltración o desleucotización son sinónimos para describir esta tecnología (Dr. Jorge Decaro, 2010). Está indicada realizarla en un período corto posterior a la extracción, debido a que los leucocitos son eliminados antes que liberen citoquinas

fragmentos de membrana celular y probablemente virus intracelulares que no se puede remover por el filtrado.

Las citoquinas han sido implicadas en la patogénesis de las reacciones febriles no hemolíticas (RFNH), particularmente luego de las transfusiones de plaquetas, debido a la presencia de anticuerpo anti plaquetario que actúan contra antígenos de las plaquetas y existe evidencia experimental de que los fragmentos de leucocitos juegan un rol en la aloinmunización primaria HLA (Revista argentina transfusion, 2007)

La vida media y el almacenamiento de una unidad filtrada o leucorreducido de sangre o hemocomponentes son idénticos a los de una unidad no filtrada, esto va en dependencia del anticoagulante que se utilice. El procedimiento se efectúa en circuito cerrado o mediante filtro colocado con un dispositivo de conexión estéril.

Existen dos tipos de leucorreducción entre ellos la leucorreducción Selectiva (LRS) donde se leucorreduce el componente seleccionado en indicaciones específicas según la patología del paciente que lo amerita y la leucorreducción Universal (LRU) se realiza previa al almacenamiento del componente.

6.4 Técnicas de preparación de sangre pobre en leucocitos

La evolución y los avances de la tecnología ha permitido mejorar la forma de eliminar los leucocitos de la sangre recolectada o donada hasta en un 99,9% y en la actualidad los filtros de tercera generación son los utilizados de forma generalizada, esto ha tenido gran aporte para el área de medicina transfusional permitiendo mejorar la calidad de vida de los pacientes evitando reacciones por agentes infecciosos intracelulares y reacciones adversas.

La cantidad de leucocitos en 500 ml de ST es, en promedio, de 2×10^9 y en los CH de 1.8×10^9 . Durante el proceso de 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.

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 5×10^6 , junto con una retención de al menos el 85% de los glóbulos rojos.

Existen muchas pruebas que demuestran que por debajo de 5×10^6 leucocitos por unidad la inmunización por HLA no ocurre u ocurre raramente. 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.

La LR se puede conseguir por diversas técnicas, incluidos la centrifugación, la filtración, la sedimentación, el lavado, la congelación-descongelación y la aféresis.

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 celular y una capa con leucocitos y plaquetas (buffy-coat). Los concentrados de hematíes no sometidos a filtración en laboratorios europeos en los que se elimina la capa leucoplaquetaria (BC), tienen menos de 1.2×10^9 leucocitos por unidad.

El lavado celular combina la centrifugación diferencial con diluciones continuas y soluciones isotónicas. Con máquinas automáticas se pueden conseguir 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 dado su precio, equipamiento, laboriosidad y generación de circuitos abiertos.

6.4.1 La sedimentación con macromoléculas tipo de extraño

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.

6.4.2 Remoción del buffy-coat

Centrifugación con separación de la capa leucoplaquetaria o retiro del buffy-coat, eliminan entre 70 y 80% de los leucocitos, además de plaquetas y plasma, con pérdida del 20% de los eritrocitos aproximadamente. Estos tienen que transfundirse antes de las 6 horas, si no se utilizan se descartan.

6.4.3 Paquete Globular lavado

Es el concentrado de glóbulos rojos obtenido a partir de una unidad de sangre total tras la separación del plasma, donde este sistema cerrado se abre con la finalidad de ser lavado con solución salina al 0.9%, para que la mayor parte del plasma, leucocitos y plaquetas sean eliminados, quedando un volumen aproximado de 180 ml a un hematocrito del 70 a 80% con el objetivo de evitar una reacción transfusional provocada por la liberación de citoquinas proveniente de los leucocitos. Los CE lavados eliminan entre 70 y 95 % de leucocitos, con pérdida del 15 % de los eritrocitos aproximadamente.

Procedimiento general recomendado para la preparación del concentrado de hematíes lavados

- ✚ Colocar las bolsas de forma invertida en los vasos para centrifugar y pesar (calibrar)
- ✚ Procedemos a centrifugar a 3500 revoluciones por 15 minutos de 2° a 6°C.
- ✚ Pasado el tiempo colocar en un pié de cama con mucho cuidado para no mezclar.
- ✚ En bolsa transfer de 300 ml se transfieren los glóbulos rojos dejando en la bolsa madre 10ml de paquete globular en donde se encuentra la capa buffy-coat.
- ✚ Se procede al lavado sucesivo de hematíes para eliminar la mayoría del plasma, leucocitos y plaquetas que contenga el concentrado de hematíes.
- ✚ Este procedimiento implica apertura del sistema, lo cual deberá efectuarse bajo cámara de flujo laminar o gabinete de bioseguridad
- ✚ Se inyecta solución salina isotónica al concentrado de hematíes, que después deben ser sellados para centrifugar nuevamente a alta velocidad.
- ✚ Posteriormente a la centrifugación se coloca en la prensa manual para permitir que la solución y capa residual de leucocitos pasen a la bolsa satélite estos paso se deberán repetir al menos tres veces. (ministerio de salud y deporte, 2003)

Etiquetado

Se debe rotular como sistema abierto Hematíes Lavados –deben transfundirse dentro de las 24 horas, señalando la hora de comienzo de la apertura del sistema. (ministerio de salud y deporte, 2003)

Almacenamiento

Este componente deberá almacenarse a temperatura de 4°C +/- 2°C, el tiempo de conservación deberá ser de lo más breve posible y en ningún caso superior a las 24 horas siempre y cuando la preparación se realice a baja temperaturas. El almacenamiento no deberá durar más de 6 horas si la preparación se realizó a temperatura ambiente. (ministerio de salud y deporte, 2003)

El objetivo de este procedimiento es reducir las concentraciones de leucocitos y se elimina prácticamente el plasma, plaquetas, restos celulares. Este debe ser usado dentro de las 24 horas de su preparación, sino deberá eliminarse.

El PG Lavado está indicado en pacientes con antecedentes de reacciones alérgicas severas o recurrentes frente a las proteínas plasmáticas, hemoglobinuria paroxística nocturna, pacientes neonatos.

6.4.4 Glóbulos rojos filtrados

Se obtienen mediante filtros especiales para eliminar leucocitos de un paquete globular; son filtros con materiales sintéticos o naturales que retienen selectivamente todos o parte de las células blancas del paquete globular.

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. 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.

6.4.5 Leucorreducción al pié de cama

Utilización del filtro leucorreductor conectado al concentrado eritrocitario directamente antes de la transfusión): reduce los leucocitos de 99 a 99.9% y se pierden 10% o menos de los eritrocitos, pero requiere adiestramiento del personal y hay mayor liberación de citocinas, ya que generalmente se trata de concentrados eritrocitarios almacenados.

6.4.6 Congelamiento y desglicerolado

Se obtiene una leucorreducción de 95% con recuperación de cerca del 80% de los eritrocitos: concentrado de glóbulos rojos obtenidos a partir de una unidad de glóbulos rojos a la que se añade glicerol, que actúa como crioprotector, antes de proceder a su congelación a una temperatura de -65 a -200 °C, a la que se pueden almacenar durante períodos de hasta 10 años. En el momento de usarlos se descongelan, se elimina el glicerol por lavado y luego se reconstituyen con solución salina fisiológica hasta alcanzar un hematocrito del 70 a 80%; después de esto se pueden guardar a la temperatura de conservación de los glóbulos rojos (1 a 6 °C) durante no más de 24 h, teniendo en cuenta que el proceso se realiza en un sistema abierto. Después de la desglicerolización se debe recuperar al menos un 80% de los glóbulos rojos originales, cuya viabilidad debe ser del 70%, 24 h después de la transfusión.

Filtración pre almacenamiento, la cual podemos considerar como el procedimiento ideal hasta el momento, ya que elimina 99.9% de los leucocitos, que aún no se fragmentan, y se recupera 85% o más de los eritrocitos.

6.5 Diseño y funcionamiento de un filtro

La tecnología en la fabricación de los filtros en estos últimos años ha ido logrando la invención de filtro leucorreductores para la preparación de hemocomponentes pobres en leucocitos.

Los primeros filtros estaban formados por mallas que impedían el paso de macroagregados de 170 a 230 μm ; eran filtros de superficie. Posteriormente se eliminaban microagregados de 20 a 40 μm y más tarde se inició la fabricación de filtros de profundidad, hechos de un material poroso de unos 2 μm . Inicialmente hechos de materiales como algodón o lana, los siguientes se fabricaron de dacron, teflón, orlón y nylon. (Sánchez-Guerrero, 2008)

En la actualidad la tecnología ha avanzado, se han fabricado filtros que constan de múltiples capas de fibras sintéticas, que retienen las células blancas pero permiten fluir a los eritrocitos o a las plaquetas. La sangre pasa a través de un “pre filtro” diseñado para eliminar pequeños coágulos de fibrina y agregados celulares, sigue por un entramado irregular de fibras de poliéster o poliuretano, obteniéndose una leucorreducción de 99.9 a 99.99%.

6.5.1 Mecanismos de 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, en algunas ocasiones, se utiliza poliéster y poliuretano que promueven la adhesión de leucocitos a través del filtro. En los filtros de pantalla, este se elabora con capas de poliéster ordenado.

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.

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.

La eficacia de los filtros disminuye con el tiempo de filtración al saturarse con células y desechos. Existen diversos factores que influyen en la filtración, tales como la temperatura,

la velocidad del flujo a través del filtro y el recuento pre filtración de glóbulos blancos. 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.

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 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: bloqueo, puenteo, intercepción y adhesión, y es este último el más importante.

Una explicación alternativa de la filtración en profundidad es distinguir el atrapamiento mecánico (tamizado) del atrapamiento físico-químico (adhesión). El tamizado ocurre cuando las partículas son mayores de 30 μm y la adhesión cuando son menores de 1 μm , entre un tamaño de 1 μm y 30 μm (como ocurre durante la LR) ambos procesos ocurren simultáneamente.

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 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.

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.

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.

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 micro estructura de la superficie.

Morfología de la superficie: La porosidad, la curvatura, la textura y la rugosidad influyen en la adhesividad.

6.5.2 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 hidrológicos. A su vez, la adhesión de los leucocitos se ve influenciada por las proteínas plasmáticas: la albúmina inhibe la adhesión de los leucocitos, las inmunoglobulinas y fibronectinas favorecen la adhesión.

Adhesión de plaquetas: Un inconveniente importante de los filtros leucorreductores 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. Allen y col, demostraron una diferencia significativa en los recuentos de plaquetas extrayendo muestras pre y post filtración.

No obstante, una cierta cantidad de plaquetas depositadas en las fibras de poliéster del filtro ayudan a unir leucocitos debido a que las plaquetas tienen una mayor afinidad por el material de filtro que los leucocitos. 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. Un aspecto benéfico de la eliminación de las plaquetas es que aquellas activadas liberan diferentes sustancias vaso activas, por lo tanto la eliminación de las plaquetas podría reducir la liberación de tromboxano con el consecuente descenso de la vasoconstricción.

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, 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.

6.5.3 Diseño

- ✚ Medio filtrante: fibras de poliéster para la óptima adherencia de leucocitos, máxima densidad de fibras delgadas para minimizar la pérdida de plaquetas GR y plasma, múltiples capas de medios filtrantes lo cual mejora la velocidad de purgado, reduce la posibilidad de atrapar aire y ofrece flujo consistente.
- ✚ Carcasa: diseño circular sin esquinas lo cual aumenta la consistencia y eficacia de filtración, permite flujo de contracorriente y evita la canalización, ofrece protección contra fuerzas externas durante procesos como esterilización y centrifugación.

- ✚ Sellado entre el medio filtrante y la carcasa: Pall utiliza sellos de compresión en todos sus filtros lo cual constituye un proceso uniformemente controlado, la integridad del sello asegura un correcto desempeño.

El diseño del sistema asegura la mínima intervención del operador y la mínima manipulación del filtro y las tubuladuras, los sistemas para leucorreducción en cabecera del paciente incluye cámara de goteo autonivelante para facilitar el purgante y el flujo durante el filtrado.

Los filtros pueden ser utilizados en el Banco de Sangre o en el momento de la transfusión y tener sistemas cerrados o abiertos. Los filtros de sistema cerrado se destinan para uso de pre almacenamiento en el Banco de Sangre y los de sistema abierto, como los filtros de pie de cama, que han de utilizarse inmediatamente, pueden conectarse a una bolsa satélite en conector estéril y usarse.

La Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB por sus siglas en inglés) considera a un concentrado eritrocitario leucorreducido si tiene una cifra total de leucocitos de menos de 5×10^6 y en el que se ha logrado una recuperación de 85% o más de los eritrocitos. (Sánchez-Guerrero, 2008)

Según el consejo de Europa se realiza LRU a todas las unidades de componentes sanguíneos, como política de seguridad transfusional se considera una leucorreducción de menos de 1×10^6 .

Actualmente se utilizan tres tipos de filtros en la transfusión de CS: 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; 2) Los filtros de segunda generación, con un tamaño de poro de 20 a 50 micras, eliminan del 70% al 90% de los leucocitos; 3) los filtros de tercera generación 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. La mayoría de los

filtros de cabecera reducen el flujo de la transfusión (un CE/20–30 min), aunque existen filtros de alta eficacia diseñados para flujos altos (un CE/5 min). Los filtros sanguíneos estándar y los filtros de microagregados no son necesarios cuando se utilizan filtros de reducción de leucocitos.

6.5.4 Momento de la filtración

La filtración puede efectuarse en dos momentos diferentes y presentar ventajas y desventajas según el tiempo en que se realice.

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, difícil 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 adecuada, 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 pre almacenamiento realizada en las primeras 24 horas tras la recolección de la sangre es el estándar internacional.

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 pre almacenamiento) o tras el almacenamiento, pero antes de la transfusión (filtración post almacenamiento). La filtración pre almacenamiento tiene lugar habitualmente en las primeras 24 horas tras la extracción de la ST. Existen estudios en animales que sugieren que la filtración pre almacenamiento es más efectiva que la post almacenamiento en la prevención de la aloinmunización plaquetaria. La filtración pre almacenamiento minimiza la formación 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 hematíes y plaquetas. Se considera que la filtración pre almacenamiento 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.

Actualmente, la filtración pre almacenamiento se realiza tras el fraccionamiento de los CS y la filtración de los productos obtenidos (CE, 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. El desarrollo de filtros de ST que no eliminan plaquetas, ofrecen la posibilidad de utilizar la ST filtrada como fuente para la elaboración de plaquetas.

Las plaquetas pueden ser leucorreducidos durante la recolección del producto de aféresis con máquinas destinadas para tal fin o por filtración.

6.6 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. 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. Los analizadores automáticos (contadores celulares) se utilizan de rutina para la sangre y componentes sin filtrar, con niveles inferiores a 500 células/ μl (en ST equivale a 250×10^6 células/ unidad de 500 ml o acerca de 30×10^6 células/unidad de 60 ml de plaqueta unitaria). Estos contadores no son fiables y como alternativa se tienen la cámara de Nageotte y la citometría de flujo. La sensibilidad de la cámara de Nageotte se sitúa en cerca de 0,1 leucocitos/ μl (equivalente a 50×10^3 células/unidad en 500 ml o cerca de 6×10^3 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. 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. Aun 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. 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/ μl , 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, e igualmente se ha reportado con filtración predepósito. 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 predepósito 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, hay una pérdida de hematíes que varía entre el 4%-19%. 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). 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. 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 drepanocítica, 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.

6.7 Eficacia del método

Para la prevención de la reacción transfusional no hemolítica se recomienda una leucorreducción de 5×10^8 esto equivale a 1 log donde representa el 90% de la leucorreducción y de 5×10^7 es de 2 log que representa una leucorreducción del 99 %. Para prevenir una aloinmunización por CMV requiere una leucorreducción de 5×10^6 esto es 3 log de reducción que representa un 99.9% de leucocitos reducidos. Para la prevención de una inmunomodulación que requiere de una reducción del 5×10^5 que equivale a 4 log de reducción o pérdida de leucocitos del 99.9% que ayudan a combatir infecciones u otras enfermedades.

6.8 Paquete globular leucorreducido

Paquete globular o concentrado de eritrocitos leucorreducidos obtenido por procedimientos físicos de filtración selectiva que retiene los leucocitos en las unidades de sangre total y hemocomponentes celulares, concentrados eritrocitarios y plaquetario mediante métodos (centrifugación y retiro del buffy-coat, lavado, filtros especiales, entre otros), permiten reducir la cantidad de leucocitos contaminantes a un nivel mínimo para que no generen reacciones indeseables en el receptor, a fin de evitar la sensibilización contra antígenos leucocitarios (HLA o no HLA además disminuir la infecciones post operatoria).

La leucorreducción debe ser considerada para pacientes con antecedente de reacción febril no hemolítica y en aquellos en los que se deba evitar la aloinmunización HLA receptores politransfundidos, pacientes que puedan requerir un eventual trasplante y neonatos.

El Paquete Globular Leucorreducido está indicado cuando se quiere evitar una:

- ✚ Aparición de reacciones febriles no hemolíticas, causadas por alosensibilización a antígenos leucocitarios no-HLA y citoquinas liberadas durante el almacenamiento de la unidad.
- ✚ Problemas de sensibilización (aloinmunización HLA).
- ✚ Refratariedad plaquetaria.
- ✚ Algunas infecciones como Citomegalovirus (CMV), especialmente en neonatos, así como en pacientes politransfundidos, inmunocomprometidos y oncológicos, que también está asociado al riesgo de virus de Epstein Barr (VEB) y virus linfotrópico de células T humanas HTLV-I/II.

Se ha demostrado que la causa de reacción febril no hemolítica (RFNH) luego de transfusión de concentrado de plaquetas (CP) se debe a citoquinas pirogénicas liberadas de los leucocitos durante los 5 días de almacenamiento plaquetario. La observación de que la mayoría de las (RFNH) luego de transfusiones de Concentrados de Plaquetas es mediada por el plasma, confirma el rol etiológico en relación a estas citoquinas o a otros mediadores.

Hay un único ensayo aleatorio controlado que muestra que la leucorreducción de los Concentrados de Plaqueta previo al almacenamiento es más efectivo en la prevención de reacciones febriles no hemolítica RFNH que con la leucorreducción realizada previa a la administración de la transfusión (Revista argentina transfusion, 2007)

6.9 Ventajas de transfundir paquetes leucorreducidos

6.9.1 Trasplante Hematopoyético.

Reducción del rechazo de injerto en trasplante hematopoyético en pacientes con anemia aplásica severa y hemoglobinopatías.

Se ha visto que las transfusiones previas producen un incremento en el riesgo de rechazo del injerto en pacientes con anemia aplásica severa. Esto había llevado a la práctica de

evitar las transfusiones pre-trasplante de células progenitoras hematopoyética (CPH) alogénico, particularmente del donante de médula ósea y consanguíneos. La leucorreducción de transfusiones previas a trasplante de células progenitoras hematopoyética (CPH) disminuye significativamente la incidencia de rechazo de injerto. Se recomiendan la administración de componentes leucorreducidos en esta población de pacientes.

No ocurre lo mismo en pacientes con neoplasias hematológicas que van a recibir trasplante de células progenitoras hematopoyética (CPH). No existe evidencia de que la prevención de sensibilización para antígenos del trasplante sea importante en pacientes con leucemias agudas.

Los pacientes con beta-talasemia mayor y anemia drepanocítica que requieren soporte transfusional a largo plazo deben recibir componentes leucorreducidos para prevenir la RFNH, como se mencionó anteriormente. Además ha sido documentado que se produjeron 4/22 rechazos de injerto en trasplante de CPH en pacientes con drepanocitosis, que podría ser debido a aloinmunización HLA potencialmente prevenido con la leucorreducción de componentes celulares pre-trasplante (walter MC, Patrice M, Leisenring W, Eckman JR, 2015)

6.9.2 Trasplante de órganos sólidos

El objetivo de leucorreducir componentes celulares en las transfusiones a potenciales receptores de trasplante de órganos sólidos es disminuir la incidencia de aloinmunización HLA. La reacción adversa más prevalente mediada por los leucocitos es la aloinmunización. Los leucocitos de los productos sanguíneos alteran la regulación de las células T con la consiguiente formación de anticuerpos en el receptor dirigidos contra antígenos leucocitarios expresado en la superficie de los leucocitos, glóbulos rojos y plaquetas del donante a los que destruyen.

La presencia de leucocitos con antígeno clase I y II en el componente transfundido causa aloinmunización. La probabilidad de aloinmunización puede disminuir administrando componentes sanguíneos pobres en leucocitos o tratando con luz ultravioleta, esto último

altera las moléculas co-estimuladora o deteriora la actividad presentadora antigénica celular.

El umbral leucocitario necesario para desencadenar una respuesta aloinmune HLA es incierto y podría variar con el receptor. Algunos expertos sugieren que 5×10^6 leucocitos por transfusión podría representar una dosis inmunizante (Mark E. Brecher, 2007). En los pacientes sensibilizados por embarazo o por transfusión, la exposición a cifras aún más baja de células alogénicas podría provocar una respuesta inmune.

6.9.3 Prevención de refractariedad plaquetaria

La refractariedad es la ausencia del incremento del recuento plaquetario del receptor después de la transfusión de plaquetas apropiadamente preparadas y conservadas. (Mark E. Brecher, 2007)

Las causas de refractariedad de origen inmune han disminuido en los últimos años (40-50% a 10-20%) con el uso de filtros que reducen los leucocitos del producto por transfundir, disminuyendo la cantidad de células presentadoras de antígeno y por ello la formación posterior de anticuerpos (Zeron, 2014). Refractariedad de causa inmune debe sospecharse la presencia de anticuerpos anti plaquetario, HLA o PLA en casos de refractariedad sin causa clínica que la justifique. Es más frecuente en pacientes politransfundidos, su demostración se hará mediante el estudio de anticuerpos anti plaquetario.

Refractariedad de causa no inmunológica: Falta de rendimiento numérico en ausencia de anticuerpos anti plaquetario. Factores clínicos como la presencia de alteraciones de la hemostasia, agregados la edad avanzada, el uso de anfotericina B, vancomicina y ciprofloxacina; la esplenomegalia; la CID (Coagulación Intravascular Diseminada) concomitante y la infección o la fiebre pueden impedir el ascenso de las plaquetas a los niveles postransfusionales pretendidos. Estas constituyen causa no inmunes frecuentes, y responsables del 20-30% de los casos de refractariedad a las transfusiones de plaquetas; en el 90% de los casos de no elevación plaquetaria de causa no inmune existe la combinación de fiebre, infección y antibióticos (Zeron, 2014)

El sistema HLA está formado por un complejo conjunto de genes y sus productos proteicos. Los antígenos HLA constituyen al reconocimiento de lo propio y lo ajeno, con las repuestas inmunológicas a los estímulos antigénicos y con la coordinación de la inmunidad celular y humoral. (Mark E. Brecher, 2007, pág. 397)

Los antígenos HLA clase I y II son glicoproteínas de superficie celular, producto de la expresión de los genes ligados, localizados en la banda P21.3 del brazo corto del cromosoma 6. Esta región del ADN se denomina complejo mayor de Histocompatibilidad (MHC). Los genes HLA-A, HLA-B y HLA-C codifican los antígenos A-B-C de clase I y el grupo génico HLA-DR, HLA-DQ y HLA-DP codifica la síntesis de antígenos del mismo nombre, de clase II.

Entre los genes clase I y II existe un grupo de genes no CMH que codifican moléculas que incluyen a las del mismo complemento C2, BF, C4A y CAB una enzima esteroide, 21 hidrolasas y una citoquina.

El mecanismo preciso de aloinmunización HLA no es muy conocido. Se postula que la aloinmunización HLA es iniciada por células intactas que expresan tanto antígenos de HLA clase I y II. Estas células son los linfocitos y las células presentadoras de antígenos. Las plaquetas expresan sólo antígenos HLA de clase I (A-B-C) siendo ésta la fundamentación para utilizar componentes leucorreducidos para prevenir la aloinmunización HLA y la consiguiente refractariedad plaquetaria. (Blood Transfusion task, 1998)

La aloinmunización por antígenos plaquetario específicos (HPA) es mucho menos frecuente. Los aloanticuerpo plaquetario más frecuentemente involucrados son los anti-HPA 5b, 1b, 5a, 2b y 1a.38 la aloinmunización en pacientes politransfundidos es de 3.9% para anti-HLA (con técnica de linfocitotoxicidad (LCT) y 0.15% para los hemocomponentes utilizados que provenían de leucorreducción selectiva derivados de “*Buffy-Coat*” o “capa de glóbulos blancos disminuían la aloinmunización anti HLA y no HLA (Sanz C, 2001)

6.9.4 Linfocitotoxicidad

Los polimorfismos de HLA se describieron por primera vez mediante ensayos de aglutinación empleando sueros de mujeres multíparas o de pacientes que hubiesen recibido múltiples transfusiones.

Sin embargo, la aglutinación se sustituyó rápidamente por la técnica clásica de citotoxicidad dependiente de complemento, la cual se ha empleado de forma rutinaria en los laboratorios de Histocompatibilidad y hoy en día aún se emplea”. En el test de linfocitotoxicidad, los linfocitos del paciente a estudiar se enfrentan a sueros que pueden contener o no anticuerpos anti-HLA. Si el suero contiene un anticuerpo específico frente a un antígeno HLA (de clase I o II) presente en los linfocitos del paciente, el anticuerpo se unirá a ese antígeno HLA. A continuación, se añade el complemento (normalmente de conejo), el cual se une solo a las células positivas; es decir que se han unido al anticuerpo y, de este modo, se rompe la membrana celular. Las células dañadas no se lisan totalmente pero sufren el suficiente daño como para captar tinciones vitales, como la eosina, y aparecer al microscopio con mayor tamaño y color oscuro. Por el contrario, las células vivas no captan la tinción y son pequeñas y claras. La reacción al microscopio se cuantifica según una escala estándar.

Esta técnica se ha empleado clásicamente para tipar los antígenos HLA-I y HLA-II. Sin embargo, tiene dos grandes limitaciones. La primera es la falta de antisueros capaces de distinguir la gran variedad de especificidades de antígenos HLA descritas, así como la limitación de la fuente, dado que los sueros se obtienen de mujeres multíparas o de pacientes que han recibido numerosas transfusiones. La segunda viene derivada del carácter policlonal de los antisueros empleados en la técnica, por lo que poseen anticuerpos que reconocen múltiples especificidades de HLA con el riesgo de reacciones cruzadas. Para evitar estas limitaciones, se desarrollaron anticuerpos monoclonales específicos de las distintas especificidades de HLA. Evidentemente, los anticuerpos monoclonales han supuesto una fuente infinita de recursos y, además, han permitido definir exactamente los epítomos reconocidos en cada molécula HLA.

A pesar de la ventaja que ha supuesto el empleo de estos anticuerpos monoclonales, existen aún diversos polimorfismos de HLA que no se pueden detectar por este método serológico.

Por ejemplo, el HLA-A muestra alrededor de 250 polimorfismos, aunque por serología es posible detectar 24 antígenos HLA-A. Por ello, la mayoría de los laboratorios han sustituido la serología por la biología molecular como metodología para el tipaje HLA.(Mattox, 2009)

6.10 Disminución de la incidencia de infecciones

6.10.1 Citomegalovirus

De los virus conocidos que se transmiten casi exclusivamente por los leucocitos (Virus Linfotrópico de células T Humanas HTLV-I/II, EBV42, y CMV), solamente el CMV tiene significación clínica importante en determinados grupos de pacientes que requieren transfusiones. Se incluyen en este grupo a pacientes oncológicos inmunocomprometidos, a los individuos sometidos a trasplante hematopoyético o de órganos sólidos, y a los recién nacidos de bajo peso, CMV seronegativos al nacimiento.

El Citomegalovirus, miembro de la familia del herpes humano, es un virus ADN ubicuo que causa infecciones diseminadas; se trasmite a través de secreciones infectantes, incluyendo la orina, las secreciones orofaríngeas, la leche materna, el semen y las secreciones cervicales. Alrededor del 1% de los recién nacidos se infecta por vía transplacentaria, exposiciones a las secreciones cervicales en el momento del parto o durante la lactancia.

En las personas inmunocompetentes la infección por CMV puede permanecer latente en los tejidos y leucocitos durante muchos años. La infección primaria a la reactivación de una infección latente, puede asociarse a un síndrome de tipo mononucleosis, linfocitosis, fiebre, viremia, viruria y hepatitis. La infección intrauterina puede causar ictericia, trombocitopenia, calcificaciones cerebrales y alteraciones motoras; el síndrome de infección congénita provoca retardo mental, sordera y puede ser fatal. (Mark E.Brecher, 2007, págs. 704-705)

La sangre de los donantes con anticuerpos anti CMV negativos, tienen muy bajo riesgo de transmitir el CMV pero la disponibilidad de sangre seronegativa es limitada (JD, 2002). Es posible extraer los leucocitos de la sangre donada, porque los leucocitos son el reservorio

más importante del CMV, aunque no se ha definido con exactitud la población leucocitaria que alberga el virus, la reducción de las células con filtro de alta eficiencia a 5×10^6 leucocitos o menos por componente, puede disminuir mucho o prevenir la infección por CMV pos transfusional en los recién nacidos y receptores de trasplante de alto riesgo.

Las dos estrategias principales para la prevención de la transmisión de Citomegalovirus (CMV) por la transfusión son:

1. La selección de unidades provenientes de donantes seronegativos para CMV.
2. La leucorreducción de los componentes de la sangre realizada dentro de las 24 horas de extraída la unidad reduce el número de linfocitos transfundidos y disminuye la probabilidad de reactivar la infección por CMV la leucorreducción previa a la administración de la transfusión podría ser efectiva para la prevención de la transmisión de CMV.

6.10.2 Virus de Epstein Barr

El virus de Epstein Barr (EBV) es responsable de la mayoría de los casos de mononucleosis infecciosa; la infección por EBV suele ser asintomática pero puede ser una causa excepcional del síndrome que sigue a las transfusiones masivas de sangre fresca durante cirugías cardíacas y de la hepatitis post transfusional (McMonigal K, Horwitz CA, Henle W., 1983)

El EBV interviene en el desarrollo del carcinoma nasofaríngeo y linfoma de Burkitt y puede inmortalizar los linfocitos B in vitro. Contribuye a la aparición de enfermedades linfoproliferativas en los paciente inmunosuprimidos que reciben trasplante de órgano sólido y hematopoyético.

La tasa de seropositividad entre los donantes de sangre es del 90% y en los receptores inmunocompetentes el riesgo de enfermedad clínica es casi nulo, se considera que el tamizaje serológico no es útil. Como en el caso de CMV, la reducción de los leucocitos de los componentes celulares podría prevenir la infección por EBV en los pacientes seronegativos inmunosuprimidos, con riesgo potencial de enfermedad clínica.

6.10.3 Virus linfotrópico de células T humanas

El virus linfotrópico de células T Humanas fue el primer retrovirus humano aislado y relacionado con una neoplasia humana, el linfoma – leucemia T del adulto, el HTLV-1 también se vincula con un cuadro neurológico, la mielopatía asociada al HTLV las dos patologías afecta a una pequeña minoría (no más del 2 al 4%) de las personas que albergan el virus.

La infección durante la infancia es importante, y podría ser necesaria para el desarrollo de la leucemia T del adulto (ATL).

El virus linfotrópico de células T humanas de tipo II se describió varios años después del HTLV-1. La similitud de las secuencias genéticas es de por lo menos el 60%. Los datos epidemiológicos sugieren que los donantes infectados con HTLV-I y HTLV- II existen una alta incidencia de síndrome infeccioso por ejemplo, bronquitis, infecciones urinarias y neumonías.

6.11 Reacciones adversas asociada a la transfusión

Se denomina reacción adversa a la presencia de signos y síntomas no deseados durante la administración de la transfusión o posterior a la misma que puede ser de origen inmunológico o no inmunológico. Se considera reacción adversa asociada a la transfusión inmediata a aquella ocurrida dentro de las primeras 24 horas de administrada la misma. La reacción adversa asociada a la transfusión tardía es la que se presenta después de 24 horas de administrada la transfusión.

Reacción transfusional de origen no inmunológico: hemólisis no inmune, Sepsis, sobre carga de hierro, infecciones transmisibles por transfusión (virales, bacteriana, parasitarias), toxicidad por citrato, hipo-hiperklemia, embolia gaseosa.

Reacciones transfusionales de origen inmunológico: se encuentra la reacción hemolítica aguda, reacción febril no hemolítica, reacciones alérgicas, anafilácticas, lesión pulmonar aguda asociada a la transfusión, reacción hemolítica tardía, inmunización por aloanticuerpo, enfermedad de injerto contra huésped, refractariedad plaquetaria.

La fiebre está asociada con muchas de las complicaciones que se pueden presentar en el curso de la transfusión sanguínea o tras la administración de cualquier hemocomponentes, de forma que las reacciones febriles se pueden considerar como las más frecuentes complicaciones relacionadas con la transfusión de hemocomponentes. Por término medio, alrededor del 1% de las transfusiones de hematíes se asocian a una reacción febril no hemolítica, pero entre el 20 y el 30% de las transfusiones de plaquetas pueden llegar a asociarse con ella.

La reacción febril no hemolítica es una reacción mediada inmunológicamente en la que están implicados anticuerpos anti leucocitarios en el plasma del paciente (estimulados y desarrollados por las transfusiones anteriores o por un embarazo previo) y antígenos de los leucocitos del donante, que provocan una reacción en la que hay liberación de pirógenos endógenos por parte de los mismos leucocitos (Torrez, 2001). Se previene con la administración de la transfusión utilizando filtros de leucorreducción. (Sociedad Argentina de Hematología, 2017).

6.11.1 Reacción transfusional febril no hemolítica (RFNH)

La reacción resulta de la interacción entre anticuerpos leucocitarios en el receptor contra antígenos de leucocitos, estroma y plaquetas del producto transfundido. La infusión de sustancias bioactivas incluyendo citoquinas y modificadores de la respuesta biológica producidas durante la etapa de almacenamiento de las unidades, también juega un papel en este tipo de reacción. Cuando se sospecha de una RFNH los signos y síntomas que se presentan son:

- ✚ Ascenso de la temperatura corporal ($> 1^{\circ}\text{C}$), sin otra causa que justifique la hipertermia.
- ✚ Escalofríos y/o temblores
- ✚ Disnea
- ✚ Taquicardia
- ✚ Hipertensión (excepcional)

El momento de aparición de los síntomas es variable: pueden aparecer desde el comienzo de la transfusión hasta varias horas posteriores a finalizada la misma.

El diagnóstico se confirma una vez que han sido excluidas las otras causas potenciales de fiebre en el paciente transfundido condiciones de comorbilidad, contaminación bacteriana del componente, la reacción hemolítica aguda y la lesión pulmonar aguda relacionada con la transfusión. La transfusión de componentes leucorreducidos en pacientes con alto requerimiento transfusional reduce la incidencia de RFNH (Revista argentina transfusion, 2007)

6.11.2 Reacción transfusional alérgica (Urticaria)

La reacción resulta por la hipersensibilidad del receptor al plasma o proteínas del donante. Todos los hemocomponentes contienen plasma en mayor o menor proporción, excepto los concentrados de glóbulos rojos lavados. Los signos y síntomas que presenta generalmente se presentan como una reacción urticaria leve o moderada caracterizada por eritema, edema y prurito.

6.11.3 Reacción transfusional anafiláctica

Es ocasionada por anticuerpos contra las proteínas plasmáticas del donante. Los mecanismos fisiopatológicos pueden ser diversos así como la pre existencia de un anticuerpo anti IgA en pacientes con deficiencia hereditaria de IgA, los cuales sintetizan un anticuerpo de tipo IgG anti IgA, en respuesta a sustancias similares de origen ambiental, que son las que reaccionan con la inmunoglobulina presente en el plasma del donante. Anticuerpos pre existentes contra otras proteínas séricas, drogas y otras sustancias a las cuales el paciente ha estado expuesto previo a la transfusión. La activación de mastocitos por niveles aumentados de anafilotoxinas del sistema complemento en la sangre transfundida, pasaje pasivo de anticuerpos anti IgE en pacientes transfundidos, transfusión de componentes con altos niveles de histamina.

Las manifestaciones clínicas iniciales son generalmente leves así como náuseas, vómitos, diarrea, tos, broncoespasmos, pudiendo progresar a la pérdida de conocimiento, shock y en casos excepcionales, la muerte.

7. Conclusiones

La implementación de una terapia transfusional de componentes leucorreducidos es de gran importancia, debido a que permitiría reducir el riesgo de reacciones adversas post transfusionales y la transmisión de infecciones por Citomegalovirus entre otros virus patógenos.

1. Se pueden obtener hemocomponentes pobres en leucocitos mediante la implementación de diversos métodos de leucorreducción como: sedimentación con macromoléculas tipo extraño, centrifugación con retiro de la capa buffy-coat, congelación y desglicerolado, glóbulos rojos lavados y por medio de filtros especiales, siendo este último el más efectivo debido a que se obtienen reducciones de al menos el 99,99% del total de leucocitos en una unidad de sangre, permite trabajar en un sistema cerrado reduciendo el riesgo de contaminación.
2. Los concentrados eritrocitarios leucorreducidos están indicados para reducir la incidencia de rechazos posteriores a la transfusión de plaquetas y paquete globular a causa de una aloinmunización HLA en pacientes que necesiten transfusiones de la misma por un largo período de tiempo y posibles candidatos a trasplante, a la vez, permitirá prevenir una segunda reacción transfusional febril no hemolítica (RFNH) en pacientes que ya la han sufrido.
3. La leucorreducción es de gran importancia clínica, ya que a través de esta se puede prevenir una infección por Citomegalovirus, una leucorreducción realizada dentro de las 24 horas de extraída la unidad reduce el número de linfocitos transfundidos disminuyendo la probabilidad de reactivar la infección por CMV, además, permite prevenir la infección por el virus de Epstein Barr y HTLV, en grupos de pacientes oncológicos inmunocomprometidos, posibles receptores a trasplante hematopoyético y órganos sólidos y recién nacidos con bajo peso que requieren transfusión.

8. Recomendación

Es importante incluir en las pruebas serológicas que realiza Banco Nacional de Sangre a las bolsas provenientes de donantes la prueba de Citomegalovirus, para prevenir la infección por transfusión sanguínea.

9. Bibliografía

- Álvarez, J. C. (2013). Anticuerpos, antígenos leucocitarios humanos y biomoduladores en los efectos adversos agudos de las transfusiones. *Gaceta médica de México*, 83.
- Bethesda, M. (2005). *Transfusión Therapy: Clinical*. 2005(2 edición). MD. AABB.
- Blood Transfusion task. (1998). *Transfusion medicine*, 59-71.
- Dueñas, V. H. (2003). *El banco de sangre, Teorías, principios y procedimientos*. Cali, Colombia: Universidad del Valle.
- Ferguson, D & Sánchez, S. (2006). Leucorreducción de concentrados eritrocitarios fraccionados convencionalmente o con sistema óptico.
- Jorge Decaro, F. L. (2010). *Historia de la Medicina Transfusional*. Montevideo: medilibros.com.
- JD, R. (2002). CMV and blood transfusions. *Med Virol*, 12 212.
- Lindoro, D. A. (2002). Leucorreducción. *Innovaciones de la medicina transfusional*, pp.7.
- M, S. (1966). *Cytomegalovirus and other herpesviruses*. New York.
- MA, P. (1996). Implications for transfusion practice. *Quality of blood components*.
- Mark E. Brecher (2007). *Manual técnico de la AABB (15 edición)*. Buenos Aires, Argentina.
- Mattox, K. L. (2009). *Tratado de cirugía. Fundamentos Biológicos de la práctica quirúrgica moderna*. España: Elsevier.
- McMonigal K, Horwitz CA, Henle W. (1983). Postperfusion Syndrome due to Epstein Barr Virus. report of two cases and review of the literature *Transfusion*, 353.
- Ministerio de salud y deporte. (2003). *Estándares de trabajo para servicio de sangre*. Bolivia.

- Moyado, H. R. (2004). El banco de sangre y la medicina transfusional. Buenos Aires: Medica Panamericana.
- Paredes, D. M. (2008). Hemoterapia.
- Revista Argentina transfusión. (2007). Asociación Argentina de hemoterapia e inmunología, 277.
- Rivas, A. D. (s.f.). Medicina transfusional. Managua, Nicaragua.
- Sánchez-Guerrero, S. A. (2008). Leucorreducción de concentrados eritrocitarios fraccionados. Revista médica del hospital de México, 187.
- Sanz C, A. I. (2001). Specific antibodies in HLA immunized. Transfusión , 41 -762.
- Sociedad Argentina de Hematología.(2017). Guía de diagnóstico y tratamiento. Argentina .
- Torrez, L. M. (2001). Tratado de Anestesia y Reanimación . España : ARAN, ediciones S,A.
- Universal, N. S. (2001). Transfusión . En transfusión (págs. 13006-1309).
- Universidad de Harvard. (2001). Manual de Medicina de Transfusion.Boston: Prensa Académica.
- Walter MC, Patrice M,Leisenring W, Eckman JR. (2015).Transplantation for sickle cell disease. 335-369.
- Welsch, U. (2006). Histología. Buenos aires: Médica panamericana.
- Zerón, D. M. (2014). Atención multidisciplinaria en terapia intensiva obstétrica. México: 1era edición.

10. Glosario

Aféresis: Es el procedimiento por medio del cual, en forma manual o mecánica, se extrae selectivamente in vivo un componente sanguíneo de los demás componentes de la sangre.

Aféresis terapéutica: Es el procedimiento por el cual se extrae selectivamente, in vivo un componente sanguíneo con características patológicas, con fines terapéuticos.

Antígeno: sustancia capaz de estimular una respuesta inmune con la formación de anticuerpos.

Aloinmunización: Es la generación de aloanticuerpo irregulares o isoanticuerpos contra antígenos, generalmente de las células sanguíneas, como consecuencia de transfusión o embarazo anterior.

Aloanticuerpo: inmunoglobulina resultante de una respuesta inmune a un antígeno ajeno al individuo.

Auditoria de la transfusión: es la fiscalización del uso adecuado y racional de los hemocomponentes y hemoderivados dentro de una institución sujeto a directivas previamente establecida.

Auto anticuerpos: Son anticuerpos generados por un individuo dirigidos contra antígenos de los tejidos del propio individuo.

Banco de sangre: Es la institución que se encarga de la promoción de donación de sangre, la selección de donantes, la extracción de sangre entera o hemocomponentes de aféresis, procesamiento, calificación Inmunohematología, calificación serológica, crio preservación, conservación, distribución y control de calidad.

Bioseguridad: Es el riesgo biológico aplicado al entorno de la Unidad de Medicina Transfusional. Se aplica al personal, donantes y pacientes.

Capa leucocitaria: fracción sanguínea que contiene principalmente leucocitos, separada por centrifugación de una unidad de sangre total.

Capa leucoplaquetaria: fracción sanguínea que contiene principalmente leucocitos y plaquetas, separada por centrifugación de una unidad de sangre total.

Concentrado Plaquetario: Es el hemocomponente que contiene la fracción de la sangre entera rica en plaquetas, suspendidas en aproximadamente 50 ml de plasma, promediante contiene $5,5 \times 10$ plaquetas por unidad.

Concentrado plaquetario de donante único: Es el hemocomponente obtenido por aféresis a un solo donante, que contiene promediante $3,0 \times 10$ plaquetas en unos 300 ml de plasma.

Crioprecipitado: Es el hemocomponente que contiene el gel resultante de la congelación y posterior descongelación a 4 grados C que resulta rico en factor VII de la coagulación.

Hemocomponentes: Son los productos preparados por el banco de sangre a partir de la unidad de sangre entera por medio de métodos de preparación física: sangres desplasmatazadas, Plasma fresco, concentrado plaquetario, Crio precipitado y plasma conservado.

Hemocomponente irradiado: Es el hemocomponente sometido a irradiación gamma en un irradiador de Banco de sangre.

Hiperkalemia: exceso de potasio en sangre.

Inmunoglobulina: proteína presente en el plasma, de mayor peso molecular que la albúmina, que actúa como anticuerpo.

Medicina Transfusional: Es la rama de la medicina que atiende todos los aspectos relacionado con la producción de sangre, hemoderivados y hemocomponentes, procesamiento in vivo e in vitro, así como la evaluación clínica de los pacientes y su tratamiento por medio de la transfusión. y/o aféresis.

Prión: agente infeccioso constituido exclusivamente por proteínas, que produce alteraciones neurodegenerativas contagiosas en el ser humano y en diversas especies animales.

Reacción adversa: Es todo fenómeno negativo presentado en el transcurso o con posterioridad a la transfusión de un hemocomponentes.

Seguridad transfusional: Es el conjunto de medidas tomadas para garantizar la calidad y reducir los riesgos de efectos adversos consecuencia de la transfusión de sangre, hemocomponentes y hemoderivados.

Transfusión: Consiste en la inyección parenteral, generalmente endovenosa, de un hemocomponente.

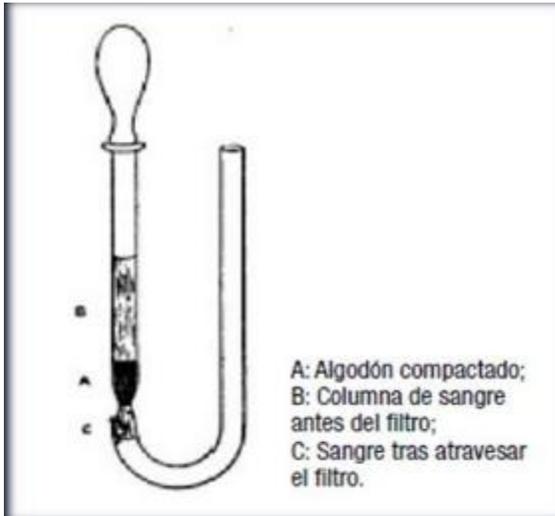
Trombocito aféresis: Es la aféresis aplicada a la obtención invasiva de plaquetas en pacientes con síndromes mieloproliferativo acompañadas de Trombocitosis con riesgo de trombosis

Unidad de Medicina Transfusional: Es toda institución o parte de una institución donde se lleva a cabo cualquier actividad de la Medicina Transfusional.

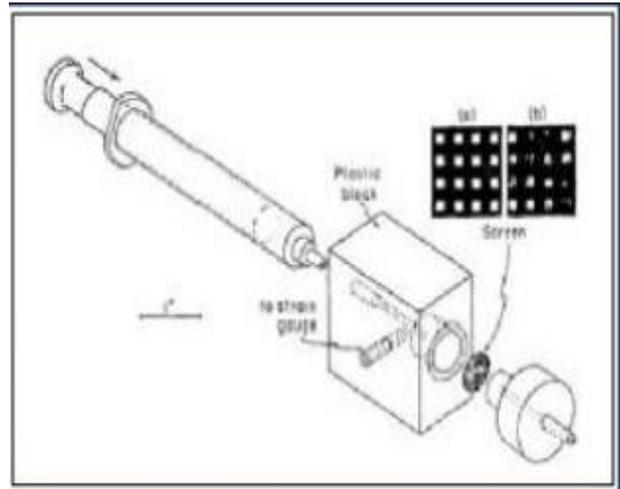
11. Anexos

Anexo 1.

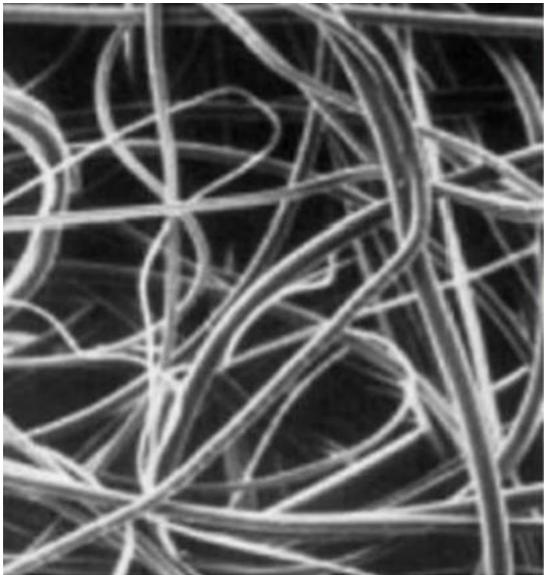
Filtro de leucodepleción como el utilizado utilizado por Fleming en 1928



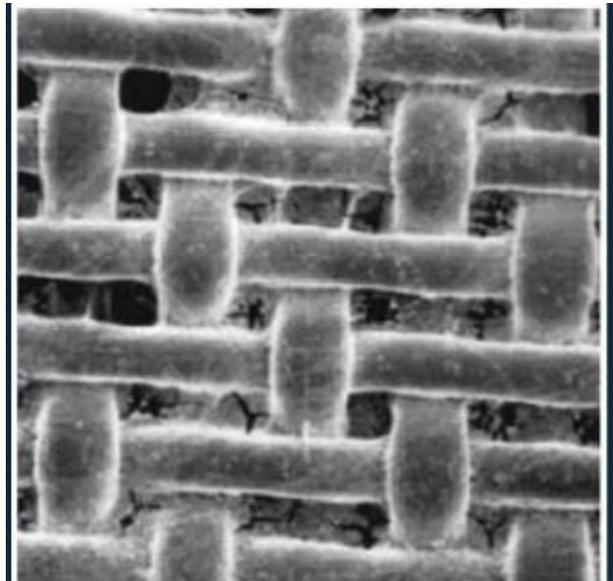
Micro filtro como el utilizado por Swank en 1961.



Microscopía electrónica. Sección de un filtro de profundidad. Obsérvese el orden aleatorio de las fibras. (Aumento: x100).

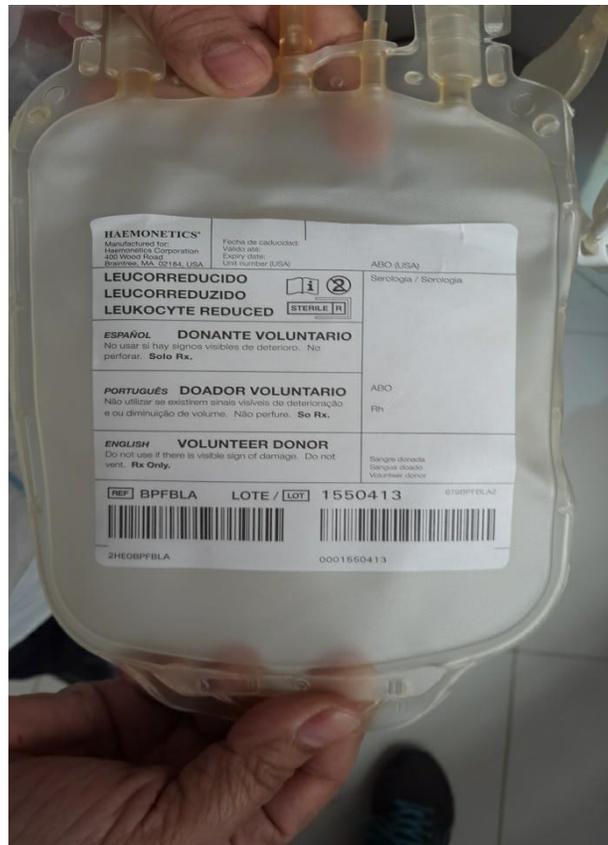
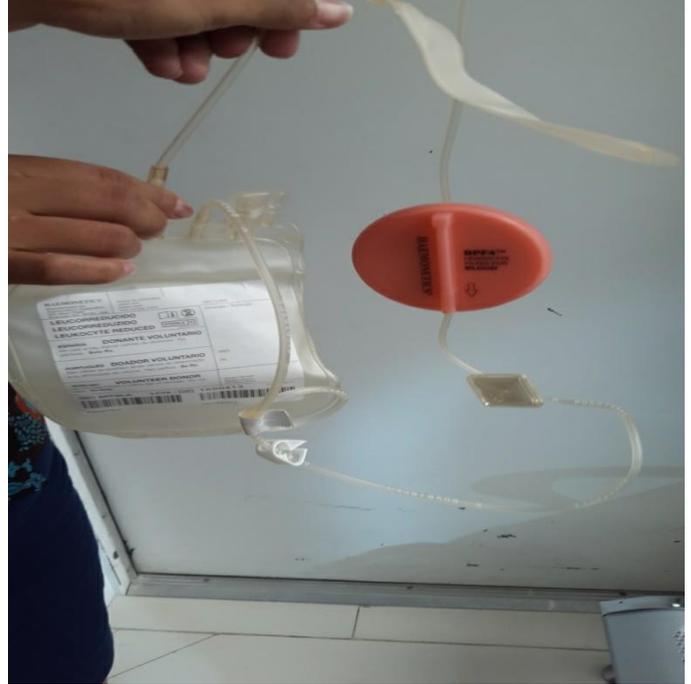


Microscopía electrónica. Sección de un filtro de pantalla. Obsérvese la estructura ordenada de las fibras. (Aumento: x150)



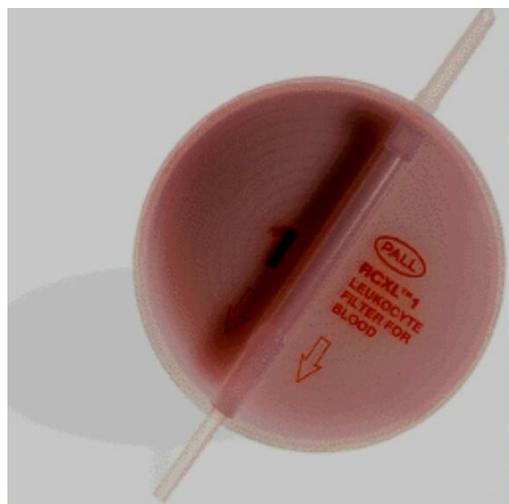
Anexo 2.

Leucorreductor de laboratorio para paquete globular



Anexo 3.

Leucorreductor para glóbulos rojos (1987)



Fuente: [https://s2466b93f0b9d8174.jimcontent.com/download/version/1313617893/module/5428841169/name/nuevas tecnologías pall ahseco.pdf](https://s2466b93f0b9d8174.jimcontent.com/download/version/1313617893/module/5428841169/name/nuevas%20tecnolog%C3%ADAs%20pall%20ahseco.pdf)

Leucorreductor de plaquetas (1983)

Fuente: [https://s2466b93f0b9d8174.jimcontent.com/download/version/1313617893/module/5428841169/name/nuevas tecnologías pall ahseco.pdf](https://s2466b93f0b9d8174.jimcontent.com/download/version/1313617893/module/5428841169/name/nuevas%20tecnolog%C3%ADAs%20pall%20ahseco.pdf)



Anexo 4.

Filtro de 170 um para el uso de la práctica de medicina transfusional (1939)



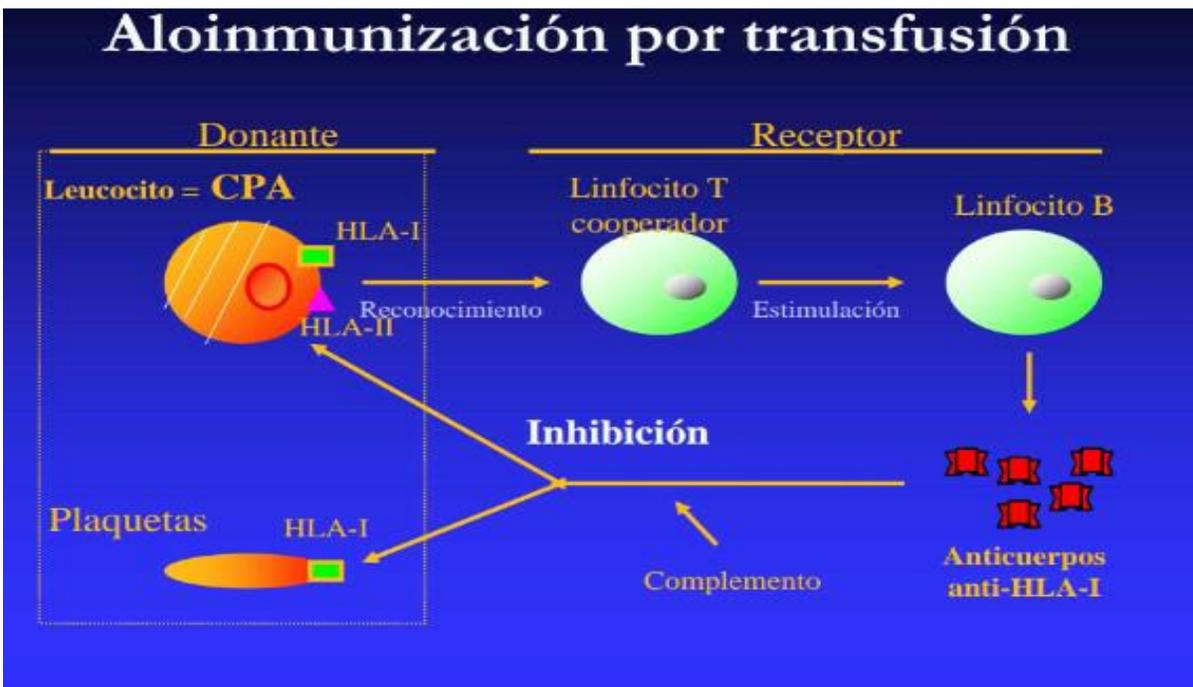
Fuente:<https://s2466b93f0b9d8174.jimcontent.com/download/version/1313617893/module/5428841169/name/NUEVAS TECNOLOGIAS PALL AHSECO.pdf>

Filtro con maya plástica se usó en 1960



Fuente:<https://s2466b93f0b9d8174.jimcontent.com/download/version/1313617893/module/5428841169/name/nuevas tecnologías pall ahseco.pdf>

Anexo 5.



Cámara de Flujo Laminar o Gabinete de Bioseguridad



Cámara de Flujo Laminar o Gabinete de Bioseguridad



Anexo 6.

Antígenos leucocitarios (sistema HLA) identificados y su ubicación.

Sistema	Antígeno	Ubicación
HLA Clase I	Locus (y No de antígenos)	Plaquetas, células nucleadas, excepto: neuronas, epitelio córneo, trofoblasto y células germinales.
	HLA-A (25)* (83)**	
	HLA-B (60)* (199)**	
	HLA-C (11)* (42)**	
HLA Clase II	HLA-DR B1(17)* (84)**	Linfocitos B, monocitos, macrófagos, células dendríticas, epitelio intestinal, células hematopoyéticas tempranas y células T activadas.
	HLA-DQ (9)* (18 A, 31 B)**	
	HLA-DP (6)* (10 A, 77 B)**	

*Identificados serológicamente.

**Identificados en ADN mediante PCR

Fuente: Mattox, K. L. (2009). Tratado de cirugía. Fundamentos Biológicos de la práctica quirúrgica moderna. España: Elsevier.

Anexo 7.

Test de Linfocitotoxicidad

Escala de valoración de las reacciones de microlinfocitotoxicidad (Asociación Americana de Histocompatibilidad e Inmunogenética)	
Valoración	Grado de reacción al microscopio
0	Lectura no posible o ausencia de células o suero en el pocillo
1	Negativo (0-10%)
2	Negativo (11-20%)
4	Positivo (21-50%)
6	Positivo (51-80%)
8	Positivo (81-100%)

Se asigna una especificidad HLA cuando los dos pocillos con un antisuero mono específico puntúan 6 u 8. Cuando hay tres o más antisueros multiespecíficos, más del 50% de ellos debe puntuar 6 u 8 para asignar un antígeno HLA.

Fuente: Mattox, K. L. (2009). Tratado de cirugía. Fundamentos Biológicos de la práctica quirúrgica moderna. España: Elsevier