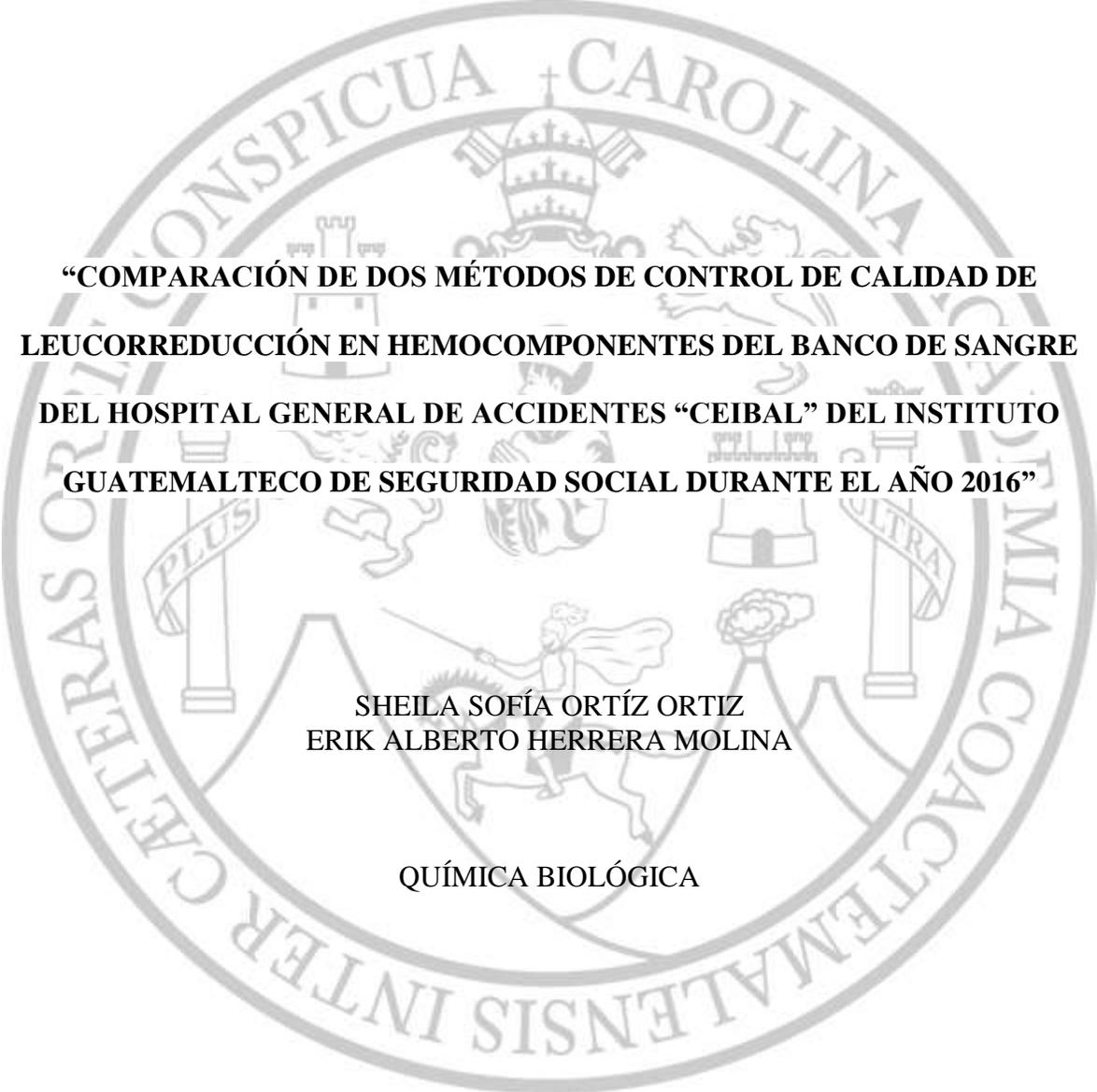


UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**“COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE CONTROL DE CALIDAD DE
LEUCORREDUCCIÓN EN HEMOCOMPONENTES DEL BANCO DE SANGRE
DEL HOSPITAL GENERAL DE ACCIDENTES “CEIBAL” DEL INSTITUTO
GUATEMALTECO DE SEGURIDAD SOCIAL DURANTE EL AÑO 2016”**

SHEILA SOFÍA ORTÍZ ORTIZ
ERIK ALBERTO HERRERA MOLINA

QUÍMICA BIOLÓGICA

GUATEMALA, NOVIEMBRE DEL 2,017

**UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**“COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE CONTROL DE CALIDAD DE
LEUCORREDUCCIÓN EN HEMOCOMPONENTES DEL BANCO DE SANGRE
DEL HOSPITAL GENERAL DE ACCIDENTES “CEIBAL” DEL INSTITUTO
GUATEMALTECO DE SEGURIDAD SOCIAL DURANTE EL AÑO 2016”**

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN

**PRESENTADO POR
SHEILA SOFÍA ORTÍZ ORTIZ
ERIK ALBERTO HERRERA MOLINA**

**PARA OPTAR AL TÍTULO DE
QUÍMICOS BIOLÓGOS**

GUATEMALA, NOVIEMBRE DEL 2,017

JUNTA DIRECTIVA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

Decano

Licda. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, M.A.

Secretaria

MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo

Vocal I

Dr. Juan Francisco Pérez Sabino

Vocal II

Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera

Vocal III

Br. Andreina Delia Irene López Hernández

Vocal IV

Br. Carol Andrea Betancourt Herrera

Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A DIOS por darnos la oportunidad de culminar nuestra carrera universitaria, por dirigirnos y guiarnos a lo largo de esta etapa y brindarnos siempre su fortaleza, sabiduría y amor.

A nuestros Padres por su esfuerzo, comprensión, paciencia, amor y consejos brindados en cada etapa de nuestras vidas e impulsarnos incansablemente en la búsqueda del éxito.

A nuestros cónyuges por su apoyo y amor incondicional.

A nuestros hijos por enseñarnos a entender lo hermosa que es la vida, por ser nuestro motor de motivación, pasión, esfuerzo y energía.

A nuestros hermanos y familia por su motivación y apoyo importante durante este proceso.

A nuestros amigos y compañeros por su amistad, confianza y haber hecho de nuestra etapa universitaria un trayecto de vivencias que nunca olvidaremos.

A nuestras asesoras, M.A. Keila Guerrero y MSc. Paula Castellanos, por su tiempo, por sus conocimientos transmitidos que nos ayudó a crecer profesionalmente, por su confianza depositada en nosotros y por todo el apoyo recibido para la realización de este estudio.

A nuestra revisora, MSc. María Eugenia Paredes, por su tiempo, su supervisión continua y sus conocimientos transmitidos.

Al banco de sangre del Hospital CEIBAL del IGSS y del Hospital General San Juan de Dios por apoyarnos y permitirnos realizar nuestra investigación en sus instalaciones. Y a ABBOTT Laboratorios por su apoyo y facilidades otorgadas por la empresa.

A la Universidad San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Escuela de Química Biológica, por abrirnos sus puertas y darnos el privilegio de ser egresadas de esta gloriosa casa de estudios.

I. ÍNDICE

II. RESUMEN	1
III. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN	2
IV. ANTECEDENTES	3
A. Medicina Transfusional	2
B. Transfusión Sanguínea	4
1. Hemocomponentes	5
a. Concentrado de glóbulos rojos	5
b. Concentrado de plaquetas	5
c. Concentrado de leucocitos	6
d. Plasma fresco congelado	6
e. Crioprecipitado	6
C. Leucorreducción	6
1. Métodos y estándar de leucorreducción	7
a. Centrifugación con separación de la capa leucoplaquetaria	7
b. Concentrado eritrocitario lavado eritrocitos	8
c. Leucorreducción al pie de la cama	8
d. Filtración prealmacenamiento	8
2. Reacciones adversas asociadas con la transfusión de leucocitos alogénicos	9
a. Reacciones febriles no hemolíticas	9
b. Aloinmunización a los antígenos HLA presentes en los mismos	9
c. TRALI (transfusion related acute lung injury, lesión pulmonar aguda producida por transfusión)	10
d. Enfermedad injerto contra huésped (EICH)	10
e. Transmisión de enfermedades infecciosas	10
D. Control de Calidad de Hemocomponentes Leucorreducidos	11
1. Métodos para recuento de leucocitos residuales en hemocomponentes	15
a. Determinación automatizada de recuentos celulares	16
b. Recuento manual en cámara de Neubauer	16

c.	Recuento manual en cámara de Nageotte	17
d.	Citometría de flujo	17
E.	Datos en Guatemala sobre leucorreducción de hemocomponentes	17
V.	JUSTIFICACIÓN	19
VI.	OBJETIVOS	21
A.	General	21
B.	Específicos	21
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS	22
A.	Universo	
1.	Muestra	22
B.	Recursos	
1.	Recursos Humanos	22
2.	Recursos Institucionales	22
C.	Físicos	22
1.	Materiales	22
2.	Equipos	23
3.	Reactivos	23
D.	Metodología	23
1.	Leucorreducción	24
2.	Control de calidad	24
a.	Método de Nageotte	24
b.	Método de separación por dispersión de luz polarizada multiangular	25
3.	Cumplimiento de parámetros	26
4.	Análisis de datos	27
a.	Diseño del estudio	27
b.	Tamaño de muestra	27
c.	Diseño estadístico	27

VIII. RESULTADOS	29
IX. DICUSIÓN DE RESULTADOS	31
X. CONCLUSIONES	36
XI. RECOMENDACIONES	37
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
XIII. ANEXOS	41

II. RESUMEN

La leucorreducción es el proceso de eliminación de la mayor parte de los leucocitos (recuento $< 5 \times 10^6$ /Unidad) del hemocomponente y es un paso necesario para contribuir a incrementar la seguridad de la transfusión sanguínea. Considerando los efectos adversos o reacciones secundarias que pueden provocar los leucocitos se ha promovido la utilización de filtros para la leucorreducción de los hemocomponentes en el Banco de Sangre del Hospital General de Accidentes “Ceibal” del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS). Sin embargo, el costo de los filtros es elevado y su eficacia depende de muchos otros factores. Además, es necesario ejecutar programas de evaluación y de control de calidad en los procesos de leucorreducción para verificar que se cumplen con los criterios de calidad necesarios. Cualquier técnica utilizada para monitorear la calidad de la leucorreducción en componentes sanguíneos, debe ser validada y documentada antes de su implementación. Con el fin de brindar hemocomponentes seguros en dicha Institución se evaluaron y compararon dos metodologías diferentes en el control de calidad del conteo residual de glóbulos blancos.

Se colectaron 115 concentrados eritrocitarios según protocolo establecido para donación de sangre en dicho hospital y seleccionados aleatoriamente durante los meses de junio y julio del 2016. Se determinó la concordancia de dos metodologías (Método de separación por dispersión de luz polarizada multiangular (MAPSS) y método estándar (Cámara de Nageotte) para el recuento de leucocitos residuales/unidad de acuerdo a dos observadores), por medio del análisis estadístico de coeficiente de correlación intraclase (Icc).

Al comparar el recuento de leucocitos por ambos métodos, se demostró un alto grado de la fuerza de concordancia con el coeficiente de correlación intraclase (Icc) de 0.9184 (IC 95% 0.8791-0.9574), el cual nos permitió evaluar y cuantificar la fiabilidad de las mediciones entre el método automatizado y el recuento manual. De acuerdo a este resultado, podemos determinar que el método automatizado del equipo Cell Dyn Ruby con tecnología MAPSS es adecuado para realizar el control de calidad. Los concentrados eritrocitarios filtrados cumplen con los parámetros internacionales de la AABB y FDA de $< 5 \times 10^6$ leucocitos por unidad de concentrado eritrocitario. El 98% de las unidades fraccionadas y filtradas cumplen con hematocrito y volumen dentro del rango establecido por las normas americanas, lo cual nos indica una buena eficiencia en la recuperación del volumen de concentrados eritrocitarios.

III. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

La transfusión sanguínea es una herramienta útil pero es un procedimiento de alto riesgo. Las reacciones adversas transfusionales se pueden asociar directamente con la calidad de los componentes sanguíneos, o bien, con factores idiosincrásicos de cada paciente. Por lo que el control de calidad de los hemocomponentes nos permite garantizar un producto adecuado en cada transfusión.

Para el presente estudio se ha otorgado la ayuda del Banco de Sangre del Hospital General de Accidentes “CEIBAL” del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS), de donde se obtuvieron las muestras. Además se recibió de ABBOTT® Laboratorios la donación de los reactivos y en el laboratorio del Banco de Sangre del Hospital General San Juan de Dios (HGSJDD) se llevó a cabo el procesamiento de las muestras.

Se llevó a cabo la comparación de dos métodos de control de calidad de leucorreducción en hemocomponentes. Con esto se evaluaron los principios y procedimientos que nos permitirán asegurar la calidad de los hemocomponentes, según lo recomendado y regulado por las normas internacionales de la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB).

IV. ANTECEDENTES

A. Medicina transfusional

Sobre la historia de la medicina transfusional, no existe aún un consenso podemos iniciar recordando que desde el siglo III de nuestra era hasta el siglo XVII y un poco más allá, era inconcebible la transfusión sanguínea. La sangre era uno de los cuatro humores del cuerpo humano (los otros humores eran la flema, la bilis amarilla y la bilis negra) y el cuerpo sangraba cuando debía sangrar e incluso se practicaban sangrías como terapias para enfermedades. Se registró que en 1492 el papa Inocencio VIII fue transfundido en estado de coma tras un accidente cerebrovascular aunque en realidad no fue una transfusión sanguínea porque se le administró la sangre por vía oral, pero no tuvo un buen resultado. Esto demuestra que antes de la transfusión de sangre hubo donación de sangre (Cortes, 2012).

En la mitad del siglo XVII se practicaban nuevos experimentos científicos en Inglaterra, esto llevo a fundar en 1660, La Royal Society (Real Sociedad de Ciencias de Londres) y varios de sus miembros intervinieron en la historia de las primeras transfusiones. En esta época se perfeccionaron cánulas y vejigas para introducir diversos líquidos en el torrente sanguíneo de animales y se realizó en 1665 las primeras transfusiones de sangre en animales (Ramírez, 2006). Posteriormente, Inglaterra fue afectada por la peste bubónica, por lo cual se detuvieron las transfusiones experimentales de sangre.

Debido a diferentes casos de transfusiones de pacientes mentales, La Royal Society en Inglaterra y el Vaticano, prohibieron las transfusiones de sangre en 1668 y 1669, respectivamente. La situación cambió a comienzos del siglo XIX, se probó que la sangría no era efectiva en ciertas condiciones inflamatorias por lo que la hemorragia dejó de verse como natural. Además, se llegó a la conclusión de que no se puede reemplazarla sangre de una especie animal por la de otra especie y se señaló la importancia de evitar la coagulación de la sangre transfundida. Estas dos observaciones, la incompatibilidad sanguínea y la necesidad de anticoagulación, fundamentarán la investigación y el desarrollo de la medicina transfusional hasta nuestros días (Ramírez, 2006).

La I Guerra Mundial (1914-1918), obligó a hacer transfusiones rápidas y, por tanto, se debía encontrar un anticoagulante que permitiera llevar y preservar la sangre en esos hospitales. Experimentos con citrato de sodio y dextrosa hicieron más fácil la transfusión de sangre y demuestra cómo las guerras han impulsado muchas veces el progreso de la ciencia médica. Después de la Gran Guerra, el primer servicio de donantes de sangre fue abierto en Londres en 1921 (Cortes, 2012).

La II Guerra Mundial estimuló otro adelanto en la medicina de transfusión: el fraccionamiento de la sangre y el uso de componentes de ella en diversas situaciones. En la década de los sesenta del siglo pasado se perfeccionaron diversos separadores automáticos de sangre. Con esto, se inició el gran desarrollo de la hemaféresis terapéutica y de colección en la medicina transfusional (Cortes, 2012).

En Guatemala se registra que la historia de los bancos de sangre comienza en septiembre del año 1939, con el primer banco de sangre en el Hospital General San Juan de Dios (HGSJDD). En el año 1940, fueron realizadas transfusiones sanguíneas con un sistema abierto. Dicho procedimiento era llevado a cabo en la Consulta Externa del HGSJDD, tenía una duración comprendida entre dos y cuatro horas, era considerada como un acto quirúrgico (Ramírez, 2006).

En el año 1944, cuando la Revolución estalló se desarrollaron e implementaron por definitiva los bancos de sangre en la sociedad guatemalteca. Hasta 1951 se habían utilizado tubos envueltos en papel celofán para realizar las transfusiones, pero se inició el uso de equipo CUTTER descartable y sueros hemoclasificadores; logrando aumentar confianza, seguridad y éxito en las transfusiones de sangre en Guatemala (Ramírez, 2006). La sangre para llevar a cabo las transfusiones era obtenida de donadores profesionales que eran pagados por el hospital o por donadores gratuitos que laboraban como agentes de las fuerzas de seguridad y por el ejército guatemalteco. Se llevaban a cabo aproximadamente de siete a ocho transfusiones cada veinticuatro horas aproximadamente. Después se inició con el uso de material y equipo descartable. Los sueros clasificadores se fabricaban en los Estados Unidos de Norteamérica, entonces la demanda fue aumentada a veinte transfusiones sanguíneas al día.

Se evaluó la necesidad de que existieran en el banco de sangre personas que donaran sangre gratuitamente, exigiendo a su vez que toda persona al hospitalizarse, tenía la obligación de llevar dos donares de sangre, lo cual es usado hasta el día de hoy para mantener abastecido de sangre los Bancos de Sangre existentes en el país. La organización del Banco de Sangre del Hospital Roosevelt se dio en el año 1955. En 1985, se inauguró el primer Banco de Sangre del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS). Posteriormente, el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social fundó diversos bancos de sangre departamentales (Ramírez, 2006).

Actualmente en Guatemala, el Reglamento de la Ley Servicios de Medicina Transfusional y Bancos De Sangre según Decreto Ley 87-97, Acuerdo Gubernativo No. 75-2003, del Congreso de la República de Guatemala regula los actos de la medicina transfusional, comprendiendo también la estructura, organización y funciones de los bancos de sangre, y todos los centros de consulta, orientación y educación en actos relacionados con la medicina transfusional.

B. Transfusión sanguínea

La terapia transfusional, uno de los mayores logros de la medicina moderna y que ha permitido disminuir la mortalidad, prolongando y mejorando la calidad de vida de muchas personas con diferentes trastornos (Beckman, 2001). Existe una serie de factores importantes que se deben de considerar en el momento de indicar una transfusión:

- **Terapéutica transitoria:** La transfusión de un hemocomponente puede ser usada como medida transitoria, sin embargo la deficiencia volverá a producirse a menos que la causa de la misma sea debidamente identificada y corregida (cuando sea posible).
- **Tratamiento personalizado:** para la transfusión se debe que tener presentes la edad del paciente, enfermedad de base, sintomatología. Se ha de tratar a los pacientes, no a los resultados del laboratorio.
- **Hemocomponente correcto:** para la transfusión se debe seleccionar el hemocomponente más eficaz y que conlleve menos riesgo para el paciente.

(Salazar, 2003).

En Guatemala, la Ley de Servicios de Medicina Transfusional y Bancos de Sangre declara que: “De las pruebas de Sangre, con excepción de los casos de urgencia que se establezcan con el reglamento respectivo, no podrán practicarse transfusiones sin haber efectuado previamente las pruebas de compatibilidad entre la sangre del donante y la del receptor. Por ningún motivo se dejarán de efectuar las pruebas siguientes: para detectar sífilis, virus de inmunodeficiencia (VIH), Chagas, hepatitis B (antígeno de superficie), hepatitis C y las determinadas por la Comisión Nacional de Medicina Transfusional y Bancos de Sangre” (Ley de servicios de medicina transfusional y bancos de sangre. Decreto 87-97).

Se ha demostrado que con el uso de guías en la práctica transfusional, se disminuye el número de unidades transfundidas, lo cual favorece a la transfusión del componente más apropiado y mejora el servicio al paciente (Beckman, 2001).

1. Hemocomponentes

Se le llaman hemocomponentes a los productos obtenidos a partir de la sangre total. Se obtienen por medios físicos, como la centrifugación y congelación. Se conoce por sangre total a aquella que no ha sido separada en sus diferentes componentes. Una unidad tiene un volumen de 450 - 500 mL y es recolectada en una solución con anticoagulante y conservante CPD (citrate-fosphate-dextrose), CPDA-1 (citrate-fosphate-dextrose-adenine) o SAG-Manitol (solución salina, adenina, glucosa y manitol), que permite la supervivencia de sus elementos (Beckman, 2001; Ferguson, 2006).

- a. Concentrados de glóbulos rojos (paquete globular): Son preparados a partir de una unidad de sangre total tras la extracción de unos 200 a 250 mL de plasma. También se pueden obtener por procedimientos de aféresis.
- b. Concentrado de plaquetas: Las plaquetas son elementos sanguíneos esenciales para la detención de las hemorragias. Se utiliza el concentrado de plaquetas obtenido a partir de donaciones de sangre total, dependiendo del tipo de fraccionamiento realizado puede encontrarse en forma individual que contiene una cantidad equivalente a 0.55×10^{11} plaquetas suspendidas en un volumen de plasma que varía entre 50 y 70 mL.

- c. Concentrado de leucocitos: es preparado por procedimientos de aféresis o centrifugación (buffy coat). Cada unidad contiene $\geq 1.0 \times 10^{10}$ granulocitos y cantidades variables de linfocitos, plaquetas y glóbulos rojos, suspendidos en 200 - 300 mL de plasma. Los granulocitos deben almacenarse a temperaturas de 20 - 24°C y transfundirse no más de 24 horas después de su recolección. Asimismo, deben ser irradiados para evitar reacciones post-transfusión.
- d. Plasma fresco congelado (PFC): Se obtiene a partir de una unidad de sangre total después de la separación de los glóbulos rojos. Se debe realizar la separación antes de un periodo máximo de 6 horas desde la obtención de la unidad. Una vez separado, debe congelarse a temperaturas $\leq -30^{\circ}\text{C}$ para garantizar la presencia de los factores lábiles de la coagulación.
- e. Crioprecipitado: es la fracción de las proteínas plasmáticas que son insolubles en frío. Se prepara mediante la descongelación de una unidad de PFC a 4°C, la cual se centrifuga para precipitar los factores de la coagulación. Luego de eliminar el sobrenadante, el sedimento con 15 - 20 mL de plasma se vuelve a congelar y se conserva a temperatura inferiores a -30°C como máximo durante 1 año.

(Ferguson, 2006).

C. Leucorreducción

Las guerras han impulsado muchas veces el progreso de la ciencia médica, las grandes guerras del siglo XX ayudaron al desarrollo técnico de la medicina transfusional, como ya lo hemos mencionado anteriormente. Sin embargo, causaron graves problemas asociados al uso de sangre y sus componentes. En el transcurso de los últimos 20 años, a partir del hallazgo del VIH, en 1981, se describieron los primeros casos de SIDA en los EEUU. Los esfuerzos de la medicina transfusional se han focalizado en la utilización razonada de los hemocomponentes, efectuándose un mayor número de pruebas e introduciendo mejoras tecnológicas que incrementen la seguridad transfusional. Los protocolos de colección, preparación y uso de sangre y sus componentes se hicieron más complejos, eficaces y costosos. Sin embargo, el riesgo de reacciones transfusionales y de sensibilización aún persisten. Una medida dirigida a minimizar estos riesgos es la leucorreducción de los hemocomponentes (Cortes, 2012).

La presencia de leucocitos y sus productos metabólicos, las citoquinas, en los componentes sanguíneos son responsables de algunas de las complicaciones asociadas a la transfusión sanguínea. Los pacientes que reciben hemocomponentes, también reciben una gran cantidad de leucocitos del donante, que no les ofrece ningún beneficio y cuya eliminación es necesaria para evitar muchas complicaciones. La leucorreducción es el proceso de eliminación de la mayor parte de los leucocitos (recuento $< 5 \times 10^6$ /Unidad) del hemocomponente, por lo tanto, es un paso necesario para contribuir a incrementar la seguridad de la transfusión sanguínea. La leucorreducción universal (LRU) consiste en realizar este procedimiento en todas las transfusiones a cualquier tipo de paciente receptor con independencia de su situación clínica. En la actualidad, no en todos los países se lleva a cabo la leucorreducción universal (Peñuela y Beltrán, 2011; Beckman, 2001).

En Guatemala, se evalúan determinadas situaciones clínicas en las que es necesario extremar las medidas de seguridad transfusional para evitar los efectos adversos relacionados con la presencia de leucocitos alogénicos (enfermos inmunocomprometidos, prematuros, pacientes politransfundidos, etc), debido a los costos aún no se realiza la leucorreducción de forma universal.

1. Métodos y estándar de leucorreducción

Las estrategias para realizar la reducción de leucocitos en los hemoderivados han sido múltiples a lo largo del tiempo. La evolución de la tecnología ha permitido mejorar la forma de eliminar los leucocitos de la sangre recolectada hasta en un 99.9% (Cortes, 2012).

Existen varios métodos para preparar productos pobres en leucocitos. Los utilizados con mayor frecuencia son:

- a. Centrifugación con separación de la capa leucoplaquetaria: emplea un sistema óptico para la eliminación de la capa leucoplaquetaria, con lo que se disminuye en un 70 u 80% la cantidad de leucocitos, pero se produce una pérdida del 20% de los eritrocitos aproximadamente (Ferguson, 2006).

- b. Concentrado eritrocitario lavado: permite eliminar entre un 70 y 95% de los leucocitos, además de eliminar plaquetas y plasma, pero se produce una pérdida aproximada del 15% de los eritrocitos (Ferguson, 2006).
- c. Leucorreducción al pie de cama: se realiza utilizando un filtro leucorreductor conectado al concentrado eritrocitario directamente antes de la transfusión, es muy utilizada por tener un costo económico más bajo pero el proceso no se encuentra estandarizado, además requiere adiestramiento del personal, no alcanzan una adecuada leucorreducción ya que hay mayor liberación de citocinas, debido a que generalmente se trata de concentrados eritrocitarios almacenados y no permite un buen control de calidad. Puede reducir los leucocitos de 99 a 99.9% y se pierden 10% o menos de los eritrocitos aproximadamente (Aguado, 2006).
- d. Filtración prealmacenamiento: es considerado 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. Una unidad de sangre total o una de concentrado eritrocitario tiene $1-5 \times 10^9$ leucocitos, lo cual es considerado como una carga crítica y que en \log_{10} corresponde a 9–9.7 que con la centrifugación y remoción manual o automatizada de la capa leucocitaria se logra una concentración final de 10^8 leucocitos, lo que equivale a una disminución de 1 \log_{10} . Mediante la utilización de filtros de adsorción selectiva de tercera y de cuarta generación se disminuye en 3 o 4 log la población leucocitaria; es decir, se obtiene una cantidad de $1-5 \times 10^6$ o de $1-5 \times 10^5$ leucocitos por unidad, que equivale a una reducción de 99.9 o de 99.99% (Ferguson, 2006).

La tecnología en la fabricación de los filtros en estos últimos años, ha ido logrando una mejor leucorreducción. Los primeros filtros estaban formados por mallas que impedían el paso de macroagregados de 170 - 230 μm ; eran filtros de superficie. Posteriormente se eliminaban microagregados de 20 - 40 μm y, más tarde, se inició la fabricación de filtros de profundidad, hechos de un material poroso de unos 2 μm aproximadamente. Inicialmente hechos de materiales como algodón o lana, los siguientes se fabricaron de dacrón, teflón, orlón y nylon. En la actualidad, los filtros constan de múltiples capas de fibras sintéticas (nylon o poliéster) o bien de materiales naturales (acetato de celulosa o algodón) y elaborados con un material poroso granular compactado y con una distribución de poros de distintos tamaños en toda la

matriz del filtro permitiendo la retención de partículas de cualquier tamaño que retienen las células blancas pero permiten fluir a los eritrocitos o a las plaquetas (Beckman, 2001).

Así, la filtración ocurre por medio de tres mecanismos: como una función de barrera, por adhesión de los leucocitos a las fibras del filtro que puede ser aumentada por tratamiento con carga eléctrica o por modificación de la cobertura con revestimiento con polímeros y por interacción de las células entre sí y con proteínas plasmáticas. Su eficacia depende de la compactación y características fisicoquímicas de las fibras, de las propiedades físicas de las células sanguíneas (deformación, expresión de receptores, temperatura de la solución líquida en que las células estén suspendidas) y del método de filtrado (temperatura, velocidad de flujo, duración del tiempo de contacto). Toda filtración supone una pérdida de componentes celulares (entre un 5–10%) del hemoderivado filtrado (Ferguson, 2006).

La filtración prealmacenamiento realizada en las primeras 24 horas de la recolección de sangre es la forma que se ha convertido en el estándar internacional (Aguado, 2006).

2. Reacciones adversas asociadas con la transfusión de leucocitos alogénicos

Gracias a los esfuerzos humanos y económicos aplicados en la leucorreducción, la transfusión de componentes sanguíneos presenta en la actualidad el mayor nivel de seguridad que haya tenido hasta ahora. Sin embargo, aún posee efectos adversos que obligan a considerar en cada indicación los riesgos/beneficios, dentro de éstos, se encuentran:

- a. Reacciones febriles no hemolíticas: resultado de la presencia, en el paciente de anticuerpos dirigidos contra antígenos leucocitarios del hemocomponente. La etiología de las reacciones febriles también se ha adjudicado a las citoquinas liberadas durante el almacenamiento en condiciones estándar de banco de sangre (Pérez, 2003).
- b. Aloinmunización a los antígenos HLA presentes en los mismos: La aloinmunización o presencia de anticuerpos anti HLA se presentan generalmente en personas que han recibido transfusiones o en las que han tenido un trasplante, por lo que han sido estimulados por los antígenos del complejo principal de histocompatibilidad del donante o en las mujeres que han estado embarazadas y que han sido aloinmunizadas por leucocitos fetales que han

pasado transplacentariamente a la madre. Estos anticuerpos son por ello de origen inmune del tipo IgG con propiedades citotóxicas y leucoaglutinantes. Los anticuerpos y antígenos del sistema HLA juegan un papel muy importante en una serie de eventos relacionados a la transfusión, que puede contribuir a ciertos casos de refractariedad plaquetaria. Estos anticuerpos producen la destrucción de las plaquetas que contengan el antígeno correspondiente (Peñuela, 2011).

- c. TRALI (transfusion related acute lung injury, lesión pulmonar aguda producida por transfusión): Síndrome clínico que se presenta como hipoxemia aguda y edema pulmonar no cardiogénico durante o después de una transfusión de productos hemáticos y se ha considerado que su etiología corresponde a un episodio mediado por anticuerpos debido a la transfusión de anticuerpos contra el antígeno leucocitario o anticuerpos antigranulocito a pacientes cuyos leucocitos presentan antígenos afines (Añon, 2010).
- d. Enfermedad injerto contra huésped (EICH): Principal complicación de los trasplantes de células hematopoyéticas y de órganos como así también en casos de transfusiones con sangre no irradiada, la cual es casi siempre fatal originada por la transfusión de linfocitos T viables a pacientes con una inmunodepresión intensa (receptores de progenitores hematopoyéticos, transfusión intrauterina, enfermedad de Hodgkin, etc.) o receptores inmunocompetentes que comparten algún haplotipo con el donante (familiares en primer o segundo grado, o pacientes transfundidos con productos HLA compatibles seleccionados). Los linfocitos se injertan y proliferan atacando diversos órganos y tejidos del receptor, generando efectos destructores en el receptor (Heiko, Gregor y Ulrich, 2009).
- e. Transmisión de enfermedades infecciosas: La leucorreducción de los hemocomponentes es una estrategia efectiva en la prevención de la transmisión de enfermedades infecciosas asociadas a la transfusión de sangre y que pueden causar serias reacciones adversas en receptores susceptibles, en especial las infecciones víricas. Las infecciones víricas que pueden transmitirse a través de los leucocitos son fundamentalmente las causadas por la familia de los Herpes virus: Citomegalovirus (CMV), Epstein Barr virus (EB), Herpes virus 8 (HV-8) y el virus linfotrópico de células humana T (HTLV I y II). La leucorreducción es de vital importancia para la transmisión de CMV, debido a su alta prevalencia. Los individuos infectados seropositivos por CMV y en estado de latencia puede oscilar entre el 40 y el 100% de la población dependiendo de la edad y localización geográfica. Por este

motivo, aproximadamente el 50% de los donantes son seropositivos y los productos sanguíneos pueden, a través de los elementos celulares transmitir el CMV y ser responsable de infecciones primarias, reinfecciones o reactivaciones (Aguado, 2006).

D. Control de calidad de hemocomponentes leucorreducidos

El control de calidad de hemocomponentes, se refiere a los procesos técnicos y actividades de carácter operativo llevadas a cabo para asegurar el cumplimiento de los requisitos establecidos en la producción de los hemocomponentes obtenidos en los bancos de sangre. El control de calidad evalúa desde el inicio todos los pasos de la obtención de los hemocomponentes incluyendo la aplicación de los estándares de recolección, procesamiento, funcionamiento de los equipos empleados, capacitación del personal involucrado, almacenamiento de los productos para garantizar la calidad y confiabilidad de los productos sanguíneos distribuidos (Instituto Nacional de Salud Colombia, 2011).

Todos los bancos de sangre deben adoptar y respetar un sistema de garantía total de la calidad. El requisito mínimo de este sistema es un manual de procedimientos operativos y controles internos de calidad para todas las pruebas con una política de mejoramiento permanente. Si se entiende la hemoterapia como un proceso industrial, se logra entender la importancia de un control de calidad diario y permanente sobre cada una de sus etapas las cuales se inician con la selección del donante y termina con su aplicación al receptor.

El control de calidad se debe aplicar desde el proceso de selección del donante hasta la obtención del hemocomponente final.

Debe realizarse una supervisión directa, frecuente e integral sobre el proceso de la flebotomía, asesorando al personal en los aspectos que se salgan de las normas en la obtención de la unidad. En cuanto a la realización de las pruebas biológicas e inmunológicas se deben considerar aspectos básicos como incluir controles de calidad en cada corrida, seguir estrictamente las indicaciones del fabricante en todos los parámetros físicos y técnicos como: número de controles, tiempo de incubación, temperatura, calibración y mantenimiento de

equipos, etc., repetir la prueba cuando no se tenga un número mínimo de controles dentro de un margen aceptable, usar los reactivos y controles dentro de la fecha de vencimiento indicadas por el productor, nunca emplear muestras lipémicas, hemolizadas o contaminadas, pedir una muestra nueva si fuera necesario e indicar el resultado que no es válido, asegurarse que todos los tubos están correctamente identificados, vigilar estrictamente el proceso de congelación y descongelación de muestras, mezclar bien antes de usarlas y revisar nuevamente los resultados de las pruebas y de los controles antes de que se dé la transcripción.

Para realizar el Control de Calidad es necesario establecer especificaciones mínimas para cada hemocomponente y para los procedimientos utilizados teniendo en cuenta los requisitos normativos según la Asociación Americana de Bancos de Sangre (por sus siglas en inglés AABB), Normativas Españolas de Transfusión Sanguínea, especificaciones de los proveedores y normativas nacionales (Cuadro 1 y 2) (Instituto Nacional de Salud Colombia, 2011; American Association of Blood Banks, 2006). Según la Food and Drug Administration (FDA) y la AABB, los concentrados de eritrocitos reducidos en leucocitos contienen menos de 5×10^6 leucocitos/unidad (Galel, 2009) y, al menos, el 85% de los eritrocitos originales y según el Council of Europe $< 1 \times 10^6$ de leucocitos totales/unidad.

Cuadro 1. Especificaciones para el control de calidad de hemocomponentes

Componente Sanguíneo	Parámetro	Valores de referencia	Frecuencia y cantidad
Sangre Total	Volumen de sangre total recolectado	450 ml +/-10%	Mensual 1% o 4 unidades al mes (El valor mayor)
Glóbulos Rojos Estándar	Volumen	280 +/- 50 mL	Mensual 1% o 4 unidades al mes (El valor mayor)
	Hematocrito	65 – 80%	
	Cultivo microbiológico	Negativo	
Glóbulos Rojos sin capa leuco plaquetaria (Buffy Coat) o pobres en leucocitos, en solución aditiva	Volumen	mL*	Mensual 1% o 4 unidades al mes (El valor mayor)
	Hematocrito	50 – 70 %**	
	Recuento de leucocitos	< 1.2 x 10 ⁹ /Unidad	
	Cultivo microbiológico	Negativo	
Glóbulos Rojos Leucorreducidos con o sin solución aditiva	Volumen	mL*	Mensual 1% o 4 unidades al mes (El valor mayor)
	Hematocrito	50 – 70 %	
	Recuento de leucocitos	< 1.0 x 10 ⁶ / Unidad	
	Cultivo microbiológico	Negativo	
Glóbulos Rojos Leucorreducidos en solución aditiva obtenido de la filtración de sangre total	Volumen	350 +/- 50 mL	Mensual 1% o 4 unidades al mes (El valor mayor)
	Hematocrito	50 – 70 %	
	Recuento de leucocitos	< 1.0 x 10 ⁶ / Unidad	
	Cultivo microbiológico	Negativo	
Glóbulos Rojos Irradiados	Volumen	mL*	Mensual 1% o 4 unidades al mes (El valor mayor)
	Hematocrito	50 – 70 %	
	Recuento de leucocitos	< 1.0 x 10 ⁶ / Unidad	
	Cultivo microbiológico	Negativo	
Plasma Fresco congelado	Volumen	150 – 300 mL	Mensual 1% o 4 unidades al mes (el valor mayor)
	Inspección visual	Ausencia de coágulos, lipemia, ictericia o hemólisis	
	Células residuales (***)		
	Leucocitos	< 0,1 x 10 ⁹ /L	
	Plaquetas	< 50 x 10 ⁹ /L	
	Glóbulos rojos	< 6 x 10 ⁹ /L	

Fuente: Instituto Nacional de Salud Colombia, 2011.

Cuadro 2. Especificaciones para el control de calidad de hemocomponentes

Componente Sanguíneo	Parametro	Valores de referencia	Frecuencia y cantidad
Crioprecipitado	Volumen	15 – 30 mL	Cada que se prepare nuevo lote (mínimo cuatro unidades). Cumplimiento de los parámetros en el 75% de las unidades evaluadas
	Concentración de factor VIII	> 80 UI/ Unidad	
	Concentración de fibrinógeno	> 150 mg/ Unidad	
Concentrado de plaquetas unitario	Volumen	50 – 70 mL	Mensual 1% o 4 unidades al mes (El valor mayor)
	Recuento de plaquetas	$\geq 5.5 \times 10^{10}$ / Unidad	
	Ph	6.2 – 7.4	
	Recuento de leucocitos (plaquetas obtenidas a partir de plasma rico en plaquetas)	$< 0.2 \times 10^9$ / Unidad	
	Recuento de leucocitos (plaquetas obtenidas a partir de capa leucoplaquetaria Buffy Coat)	$< 0.5 \times 10^8$ / Unidad	
	Cultivo microbiológico	Negativo	
Concentrado de plaquetas unitario leucorreducido	Volumen	50 – 70 mL	Mensual 1% o 4 unidades al mes (El valor mayor)
	Recuento de plaquetas	$\geq 5.5 \times 10^{10}$ / Unidad	
	Ph	6.2 – 7.4	
	Recuento de leucocitos post - filtración	$< 1.6 \times 10^5$ / Unidad	
	Cultivo Microbiológico	Negativo	
Concentrado de plaquetas obtenido por aféresis	Recuento de plaquetas	$\geq 3.0 \times 10^{11}$ / Unidad	Mensual 1% o 4 unidades al mes (El valor mayor)
	Recuento de leucocitos con leucoreducción	$< 1.0 \times 10^6$ / Unidad	
	Ph	6.2 – 7.4	
	Cultivo microbiológico	Negativo	

Fuente: Instituto Nacional de Salud Colombia, 2011.

El control de calidad de la sangre total, concentrados de glóbulos rojos, concentrados plaquetarios y plasmas frescos congelados cuando el número de unidades producidas mensualmente supera las 400 unidades, se debe llevar a cabo en, por lo menos, el 1% de estas unidades. Si la producción es inferior a este valor, el control de calidad se realizará a 4 unidades mensuales, procesándose una unidad por semana. Cuando la muestra supere las cuatro unidades, éstas se deben distribuir de manera que sea posible evaluar cada vez un mínimo de cuatro unidades, hasta completar el número total de unidades a controlar (Instituto Nacional de Salud Colombia, 2011).

Los bancos de sangre deben poner a disposición los resultados del control de calidad de los componentes sanguíneos y sus distribuciones, de forma periódica a los servicios de transfusión (Comité de Acreditación en Transfusión, 2002).

Además se debe realizar control de calidad después de cada mantenimiento preventivo o correctivo de los equipos involucrados en la preparación de los componentes sanguíneos (centrífugas refrigeradas, equipos de fraccionamiento automatizados o semiautomatizados), lo cual permitirá verificar su funcionalidad periódicamente, ya que su inadecuado funcionamiento conlleva a alteraciones de los componentes sanguíneos (Ferguson, 2006).

La frecuencia del control de calidad está dada por la regularidad con la que los componentes sanguíneos son producidos y el grado de cumplimiento de los parámetros de calidad específicos, por lo que si los resultados del control de calidad evidencian incumplimiento de los requisitos establecidos, la frecuencia de dicho control debe aumentar de acuerdo a los procedimientos definidos, hasta que los parámetros hayan sido controlados.

Cada parámetro verificado para el control de calidad debe cumplir con un porcentaje de conformidad superior a 75%, a excepción del cultivo microbiológico que debe presentar conformidad del 100%. En el caso de incumplimiento de los parámetros establecidos, se debe investigar la causa (evaluación de los procedimientos de extracción, procesamiento y almacenamiento de los componentes sanguíneos y el manejo de los equipos, entre otros aspectos) y tomar las acciones correctivas encaminadas a subsanarlas. Además aplicar y realizar seguimiento de estos criterios y valores (Instituto Nacional de Salud Colombia, 2011).

1. Métodos para recuento de leucocitos residuales en hemocomponentes

Cualquier técnica utilizada para monitorear la calidad de los componentes sanguíneos, debe ser una técnica validada, documentada antes de su implementación en el banco de sangre y que nos brinde resultados del control de calidad que puedan ser sujetos a un análisis estadístico de manera que sea posible identificar tendencias de comportamiento, por lo que si los análisis de los resultados muestran tendencias hacia el incumplimiento de los parámetros establecidos, indicará la producción de componentes sanguíneos de calidad no aceptable y se debe investigar la causa tomando las acciones correctivas necesarias (Comité de Acreditación en Transfusión, 2002).

Con el fin de garantizar que los resultados obtenidos reflejan realmente el contenido del componente, se debe tener en cuenta que la selección de las muestras para el control de calidad debe ser aleatoria y las pruebas del control de calidad deben ser realizadas lo más rápido posible después de la recolección de las muestras, especialmente para recuento de leucocitos deben ser tomadas y evaluadas dentro de las 72 horas post donación. Para la recolección de las muestras es necesario homogenizar el contenido de la tubuladura y segmento con el de la unidad mínimo 3 veces y ser transferidas inmediatamente a los tubos de análisis (Instituto Nacional de Salud Colombia, 2011).

Para los componentes sanguíneos sometidos a procesos de filtración es necesario recoger una muestra antes del proceso de filtración y otra cuando finaliza el proceso, para comparar y la verificar de la eficacia del proceso (Comité de Acreditación en Transfusión, 2002).

Los métodos para recuento de leucocitos residuales en hemocomponentes son:

- a. Determinación automatizada de recuentos celulares: La determinación de recuentos de leucocitos presentes en los hemocomponentes puede ser realizada en equipos automatizados, de acuerdo al procedimiento operativo estandarizado y a las orientaciones del manual de operaciones de cada equipo. Se debe asegurar el cumplimiento del mantenimiento preventivo establecido para el equipo, el empleo de muestras de valores conocidos (controles alto, normal y bajo) para cada uno de los parámetros a evaluar y estos valores deben encontrarse dentro del rango de referencia establecido para cada uno y la verificación de los rangos de linealidad del contador celular automatizado establecidos por el proveedor, con el fin de definir la necesidad de diluir o concentrar las muestras.
- b. Recuento manual de leucocitos residuales en cámara de Neubauer: Este método permite determinar la cantidad de leucocitos presentes en concentrados de glóbulos rojos sin placa leucoplaquetaria o pobres en leucocitos, concentrado de plaquetas obtenido a partir de capa leucoplaquetaria (buffycoat), concentrado de plaquetas obtenido a partir de plasma rico en plaquetas (PRP) y plasma fresco congelado, pues su límite inferior de detección es de aproximadamente 5 leucocitos por μL .
- c. Recuento manual en cámara de Nageotte (componentes leucorreducidos): Este método de cuantificación describe tiene una sensibilidad de 1 leucocito por μL y debe ser usado, para

cuantificar los leucocitos residuales en componentes sanguíneos leucorreducidos, donde se espera obtener niveles inferiores a 5 leucocitos por μL , que corresponde al umbral de detección del contador de células, cámara de Neubauer, más cercano en sensibilidad.

- d. Citometría de Flujo: Es una técnica adecuada para el recuento de leucocitos residuales en hemocomponentes leucorreducidos, tiene como límite inferior de detección, un valor aproximado a 0.1 leucocitos por μL . Este método se basa en el conteo celular a partir de las características de dispersión de luz y fluorescencia que muestran las células, una vez se hacen pasar a través de un rayo de luz (Instituto Nacional de Salud Colombia, 2011).

En la actualidad, el avance tecnológico de los métodos automatizados ha permitido la introducción de nuevos principios para el análisis celular así como mejoras en los softwares que utilizan dando como resultado un incremento en la eficiencia analítica. La tecnología de Separación por Dispersión de Luz Polarizada Multiangular (Multi-Angle Polarized Scatter Separation, MAPSS) permite la separación mediante esparcimiento lumínico polarizado en múltiples ángulos, las células son clasificadas con base en la dispersión de la luz en 4 ángulos diferentes causados por la estructura y características ópticas de refracción de luz laser. La tecnología MAPSS proporciona lecturas ópticas precisas de las células blancas sanguíneas con 5 partes diferenciales y puede detectar la posible interferencia de los eritrocitos resistentes a la hemólisis, células anormales y sustancias interferentes. Debido a estas características, aumenta la sensibilidad y la linealidad de los recuentos celulares (Abbott, 2012).

E. Datos en Guatemala sobre la leucorreducción en hemocomponentes

Son escasas las investigaciones realizadas acerca de leucorreducción de hemocomponentes debido a que el proceso de leucorreducción no se realiza de forma universal en Guatemala. Se encontró la investigación elaborada por Hernández Cordero en el 2016, de la Universidad San Carlos de Guatemala, realizada en el Banco de Sangre del hospital San Juan de Dios; determinando la calidad del proceso de leucorreducción por sistema óptico en un total de 100 concentrados eritrocitarios con conteos de leucocitos y eritrocitos antes y después de fraccionamiento en equipos hematológicos convencionales. Se comprobó que este sistema óptico fue eficiente en un valor promedio de 76.85% en la

eliminación de leucocitos en el paquete eritrocitario y a su vez el paquete eritrocitario cumplió con el promedio de recuperación eritrocitario según los rangos establecidos para la transfusión de paquete eritrocitario, recuperando así más del 50% de eritrocitos (Hernández, 2016). En los Bancos de Sangre de Guatemala se leucorreducen los paquetes eritrocitarios eliminando la capa leucoplaquetaria, sin embargo la eliminación de los leucocitos por filtración se limita solamente a cierto tipo de pacientes. Por ser un número mínimo de paquetes eritrocitarios leucorreducidos en algunos bancos de sangre no se han implementado programas de control de calidad mensual sobre estos productos. El control de calidad de hemocomponentes leucorreducidos nos permite evaluar desde el inicio todos los pasos de la obtención de los hemocomponentes incluyendo la aplicación de los estándares de recolección, procesamiento, funcionamiento de los equipos empleados, capacitación del personal involucrado y actividades de carácter operativo llevadas a cabo en la producción de los hemocomponentes obtenidos en los Bancos de Sangre y garantiza la calidad y confiabilidad de los productos sanguíneos distribuidos, además de evitar complicaciones transfusionales (Instituto Nacional de Salud Colombia, 2011).

V. JUSTIFICACIÓN

Guatemala, por ser un país en vías de desarrollo, presenta algunas limitaciones económicas; dichas limitaciones tienen como consecuencia la deficiencia de inversión capital en áreas como educación, salud, infraestructura y seguridad. En los últimos años, se ha registrado en el país un aumento en actos delictivos, tales como asaltos con armas blancas o armas de fuego. Además, la condición precaria de algunas carreteras principales del país, produce un aumento en el número de accidentes viales. Lo anterior y el aumento de pacientes con alteraciones hematológicas en el país, incrementan la demanda de unidades de sangre como medida terapéutica. Cada unidad de sangre debe ser un producto seguro pero involucra un alto costo económico.

Considerando los efectos adversos que pueden provocar los leucocitos en lo concerniente a la aloinmunización al complejo mayor de histocompatibilidad (HLA), reacciones transfusionales febriles no hemolíticas y la transmisión del citomegalovirus (CMV) y otros virus, se ha promovido la utilización de filtros para la leucorreducción de los hemocomponentes en el Banco de Sangre del Hospital General de Accidentes “Ceibal” del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS). Sin embargo, el costo de los filtros es elevado y su eficacia depende de muchos otros factores (propiedades físicas de las células sanguíneas como deformabilidad, expresión de receptores, temperatura de la solución líquida en que las células estén suspendidas y del método de filtrado afectado por la temperatura, velocidad de flujo, duración del tiempo de contacto). Este Hospital aún no cuenta con un programa de detección, reporte y evaluación de las reacciones adversas asociadas a las transfusiones que nos permita verificar el beneficio de hemocomponentes leucorreducidos.

Debido a estos factores, en dicho Banco de Sangre la leucorreducción se realiza a un porcentaje bajo de hemocomponentes utilizados para seleccionado tipo de pacientes. Esto ha contribuido a que no se ejecuten programas de evaluación y de control de calidad en los procesos de leucorreducción que permitan verificar que se cumplen con los criterios de calidad necesarios. Las estrategias para realizar la medición de la leucorreducción en los hemocomponentes han sido múltiples desde recuento en cámara de Nageotte hasta citometría

de flujo. Cualquier técnica utilizada para monitorear la calidad de la leucorreducción en componentes sanguíneos, debe ser validada y documentada antes de su implementación en el banco de sangre para garantizar la calidad y confiabilidad de los productos sanguíneos distribuidos (Instituto Nacional de Salud Colombia, 2011).

Conociendo pues la utilidad de obtener hemocomponentes leucorreducidos y la importancia de aplicar la tecnología actual para lograr la calidad de los mismos, realizamos el presente trabajo con el fin de evaluar y comparar dos metodologías diferentes en el control de calidad del conteo residual de glóbulos blancos y brindar hemocomponentes seguros en el Banco de Sangre del Hospital General de Accidentes “Ceibal” del IGGS.

VI. OBJETIVOS

A. General

Comparación de dos métodos para el control de calidad de leucorreducción en hemocomponentes del Banco de Sangre del Hospital General de Accidentes “Ceibal” del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social.

B. Específicos

1. Determinar la concordancia entre el método automatizado de separación por dispersión de la luz polarizada multiangular (MAPSS) con el método de referencia (Cámara de Nageotte) del conteo de leucocitos residuales en concentrados eritrocitarios.
2. Establecer si los concentrados eritrocitarios leucorreducidos cumplen con los parámetros internacionales establecidos para definir una unidad de componentes sanguíneos como leucorreducida.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo

Hemocomponentes del Banco de Sangre del Hospital General de Accidentes “CEIBAL” del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS).

1. Muestra

Cientoquince (115) concentrados eritrocitarios del Banco de Sangre del Hospital General de Accidentes “CEIBAL” del IGSS seleccionados aleatoriamente dentro de 24 horas post donación.

B. Recursos

1. Humanos

- Investigadores: Br. Sheila Sofía Ortiz Ortiz y Br. Erik Alberto Herrera Molina
- Asesora: MA. Keila Mariana Guerrero Gutiérrez
- Co-asesora: MSc. Paula Castellanos Fernández

2. Institucionales

- Laboratorio de Banco de Sangre del Hospital General de Accidentes “CEIBAL” del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS)
- Laboratorio de Banco de Sangre del Hospital General San Juan de Dios

C. Físicos

1. Materiales

- Bolsas cuádruples con CPD-OPTISOL de TERUMO®
- Cajas de Petri
- Filtros Leucorreductores IMUGARD III – RC DE TERUMO®

- Láminas cubrecámara
- Puntas amarillas (10 - 100 μL)
- Puntas azules (100 - 1000 μL)
- Tubos de ensayo (vidrio o plástico de 12 x 75 mm)

2. Equipo

- Balanza analítica
- Cámara de recuento Nageotte
- Centrífuga Sigma®
- Computadora con procesador de datos
- Equipo de Fraccionamiento de TERUMO® T-ACE II®
- Impresora
- Microscopio equipado con objetivos de 10X y 40X
- Pipeta automática (10 – 100 μL)
- Pipeta automática (100 – 1000 μL)
- Sistema Automatizado Cell Dyn Ruby ABBOTT®
- Timer o cronómetro

3. Reactivos

- Diluyente DILUENT/SHEATH Cell Dyn Ruby SYSTEM ABBOTT®
- Lisante WBC LYSE Cell Dyn Ruby ABBOTT®
- Lisante HGB/NOC LYSE Cell Dyn Ruby ABBOTT®
- Solución de Turk al 1%

D. Metodología

La selección de muestras se realizó de forma aleatoria simple, con una probabilidad igual de selección y se obtuvo al final una muestra significativa de 115 unidades.

1. Leucorreducción

- Para la leucorreducción se utilizó el sistema de bolsas cuádruples con CPD-OPTISOL de TERUMO®, compuesto por una bolsa para recibir la sangre del donante y tres bolsas satélites para recibir el plasma, concentrado plaquetario y concentrado de eritrocitos (CE).
- Se centrifugaron las unidades de sangre dentro de las 4 horas post donación a 3,600 rpm durante 10 minutos a 22°C en centrífuga Sigma®.
- Mediante el equipo de fraccionamiento de TERUMO® T-ACE II, se separaron los hemoderivados.
- Se seleccionaron al azar los hemocomponentes fraccionados, se homogenizó la tubuladura y el segmento con la unidad completa por lo menos tres veces y se tomó muestra antes del proceso de filtración.
- Se unieron mediante conexión estéril los hemocomponentes seleccionados al azar con el filtro leucorreductor IMUGARD III – RC de TERUMO® y se realizó la leucorreducción de la unidad.
- Se tomó muestra después del proceso de filtración, se recolectó del segmento de las bolsas homogenizado y se transfirió la cantidad de muestra necesaria al tubo de análisis.

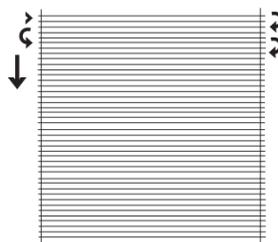
2. Control de Calidad

a. Método de Nageotte

- Se rotularon todos los tubos con el número de muestra a utilizar.
- Se agregaron a cada tubo 900 µL de Solución de Turk y se hizo una dilución 1:10 de cada muestra, se agregaron 100 µL de muestra de hemocomponentes leucorreducidos en el tubo correspondiente y se enjuagó la punta de la micropipeta varias veces para asegurar que la muestra fuera transferida al diluyente.
- Se mezcló bien la muestra diluida con ligeros movimientos del tubo y dejó en reposo por diez minutos para lizar los eritrocitos.
- Se realizó el llenado de cámara, por una orilla del cubre objeto en el centro de la cámara, por un solo lado para evitar la formación de burbujas y tener el llenado completo de la cámara.

- Se dejó la cámara en reposo durante 15 minutos dentro de una caja de Petri, para favorecer la sedimentación de los leucocitos.
- Se contó la muestra en un tiempo no mayor a 30 minutos, contando los leucocitos "barriendo" la superficie delineada de un lado a otro (cuadrante), como se muestra en la Figura 1, incluyendo los leucocitos que se encontraron dentro del área y los que tocaban las líneas de borde. Se contaron los 40 rectángulos de uno de los cuadrantes. Este fue el primer conteo.
- Se contó el segundo cuadrante, este fue el conteo por duplicado (Instituto Nacional de Salud Colombia, 2011).

Figura 1. Cuadrante cámara de Nageotte



Fuente: Guía de Control de Calidad de Componentes Sanguíneos, Instituto Nacional de Salud Colombia 2011.

- Se calcularon los leucocitos por μL usando la siguiente fórmula:

$$\text{Leucocitos} / \mu\text{L} = \frac{\text{Células contadas} \times \text{dilución}}{\text{Volumen del conteo} (\mu\text{L})}$$

Dado que se hizo el conteo por duplicado el volumen fue de $100 \mu\text{L}$.

- Para los leucocitos residuales en la unidad de componente sanguíneo se multiplicó los leucocitos $/\mu\text{L} \times 1,000$ obteniendo así leucocitos/mL. Este número se multiplicó por el volumen (mL) del componente, lo que equivale al total de leucocitos residuales en la unidad de componente sanguíneo.
- Cuando no se visualizaron células en cualquiera de las cámaras de conteo, los leucocitos residuales se estimaron por la multiplicación del umbral de sensibilidad del método ($1 \text{ leucocito}/\mu\text{L}$) por $1,000$. Esto representó los leucocitos residuales en la unidad de componente sanguíneo (Instituto Nacional de Salud Colombia, 2011).

b. Método de separación por dispersión de luz polarizada multiangular (MAPSS)

- Se transportaron las muestras en cadena de frío al banco de sangre del Hospital General San Juan de Dios y se procesaron en el momento.
- Se rotularon todos los tubos con el número de la muestra.
- Se verificó que el software se encuentre en sistema abierto.
- Se introdujo al software de Cell Dyn Ruby el Id de la muestra.
- Se homogenizó bien la muestra con ligeros movimientos del tubo.
- Se verificó luz verde en Ready para iniciar el proceso.
- Se aspiró la muestra.
- Aproximadamente después de 1 minuto, se visualizaron automáticamente en la pantalla del equipo los resultados y se imprimieron.

Para calcular el recuento total de leucocitos, glóbulos rojos o plaquetas en los componentes sanguíneos, a partir del recuento arrojado por el contador de células se utilizó la siguiente fórmula: Leucocitos / Unidad: Número de células (plaquetas, glóbulos rojos o leucocitos) /mm³ o µL (arrojado por el equipo) x 1000 x volumen del componente en mL.

$$\text{Número de leucocitos en sangre total} = N * 1000 * V$$

3. Cumplimiento de parámetros

Se verificó si se cumplían con los parámetros internacionales establecidos que definen una unidad de componentes sanguíneos como leucorreducida analizando los siguientes aspectos: Peso/Volumen, hematocrito, y recuento de glóbulos blancos de la unidad sanguínea después de fraccionada y después de filtrada, según recomendaciones de la AABB y la FDA en donde los concentrados de eritrocitos reducidos en leucocitos contienen menos de 5×10^6 leucocitos/unidad. Para el recuento de glóbulos blancos de la unidad sanguínea se calculó los siguientes parámetros:

$$\text{Número de leucocitos en sangre total} = N * 1000 * V$$

Dónde: N = Recuento de leucocitos en el producto; V = volumen del producto

$$\% \text{ de leucorreducción} = 100 - X \quad X = \frac{\# \text{ de leucocitos en concentrado eritrocitario}}{\# \text{ de leucocitos en unidad de sangre total}} * 100$$

4. Análisis de datos

a. Diseño del estudio

Se realizó un estudio observacional descriptivo. Según la acción del investigador de tipo observacional y según el diseño de estudio descriptivo.

b. Análisis estadístico

La concordancia de las dos metodologías (Método de separación por dispersión de luz polarizada multiangular (MAPSS) y método estándar (Cámara de Nageotte) se midió en escala numérica el recuento de leucocitos residuales/unidad de acuerdo a dos observadores, por lo que se utilizó análisis estadístico por medio del coeficiente de correlación intraclase (Icc), ver Cuadro 3. El Icc nos permitió determinar el grado de concordancia reflejando la conformidad del método MAPSS con el método estándar. Se evaluó el Icc considerando que los valores del Icc por debajo del 0.4 representan baja fiabilidad, valores entre 0.4 y 0.75 representan una fiabilidad entre regular y buena, y valores por encima de 0.75 representan una fiabilidad excelente (Argimón y Jimenez, 2012).

Cuadro 3. Análisis Estadístico

Acción	Análisis	Conclusión
Concordancia	Coeficiente de correlación intraclase (Icc) sigue la ecuación: $\rho = \frac{\sigma_u^2}{\sigma_u^2 + \sigma_e^2}$	Son intercambiables

Fuente: Argimón y Jimenez, 2012.

VIII. RESULTADOS

La población de estudio estuvo conformada por 115 concentrados eritrocitarios, colectados en el banco de Sangre del Hospital General de Accidentes “CEIBAL” del Instituto de Seguridad Social durante los meses de junio y julio del 2016. Se tomaron como criterios de inclusión que la muestra fuera seleccionada aleatoriamente y tomada según protocolo establecido para la donación de sangre en dicho hospital.

Se determinaron los leucocitos residuales en cada unidad de células empacadas leucorreducidas por filtración utilizando dos metodologías diferentes. La Tabla 1 nos muestra que el recuento de glóbulos blancos por el método estándar de Cámara de Nageotte donde se obtuvo una media de 4.56×10^6 leucocitos residuales por unidad de células empacadas. En el recuento automatizado con el equipo Cell Dyn Ruby que utiliza el método de separación por dispersión de luz polarizada multiangular se obtuvo una media de 2.98×10^6 leucocitos residuales por unidad de células empacadas.

Tabla No.1 Estadísticas descriptivas de los métodos analizados

Método	\bar{x} (leucocitos residuales/ unidad de células empacadas)	IC 95%
Cámara de Nageotte (estándar de oro)	4.56×10^6	$(4.33 \times 10^6 - 4.79 \times 10^6)$
Separación por dispersión de luz polarizada multiangular (MAPSS) (Cell Dyn Ruby)	2.98×10^6	$(1.47 \times 10^6 - 4.49 \times 10^6)$

Icc (IC del 95%) = 0.9184 (0.8791 – 0.9574)
--

Fuente: Datos obtenidos experimentalmente en Laboratorio de Banco de Sangre de IGSS “CEIBAL”; \bar{x} = media; DE = $1 \pm$ desviación estándar; Icc = coeficiente de correlación intraclase; IC = intervalo de confianza)

Se calculó la media y el intervalo de ± 1 de la desviación estándar de los parámetros Peso/Volumen, hematocrito y recuento de glóbulos blancos de las unidades sanguíneas después de fraccionadas y después de filtradas para así determinar si los concentrados

eritrocitarios cumplen con los parámetros internacionales establecidos para definir una unidad de componentes sanguíneos como leucorreducida mostrado en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros para definir una unidad de componentes sanguíneos como leucorreducida

Unidad Sanguínea	Peso/Volumen		Hematocrito		Recuento de glóbulos blancos	
	(mL)	IC 95%	(%)	IC 95%	(leucocitos residuales/ unidad sanguínea)	IC 95%
Unidad Fraccionada	391	(338 – 389)	61.74	(58.57 – 64.91)	2.09×10^9	(1.62×10^9 – 2.57×10^9)
Unidad Filtrada	323	(301 – 345)	63.47	(60.80 -65.96)	3.24×10^6	(1.80×10^6 - 4.68×10^6)
Parámetros de referencia de unidad leucorreducida	350*	(300 – 400)*	60*	(50 – 70)*	< 5×10^6*	

Fuente: Datos obtenidos experimentalmente en Laboratorio de Banco de Sangre de IGSS “CEIBAL”,

*Parámetros según Normas Americanas FDA y AABB, 2015; mL = mililitros; %= porcentaje; DE = $1 \pm$ desviación estándar; 95 %IC intervalos de confianza al 95 %.

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La presencia de leucocitos en los componentes sanguíneos es responsable de muchas complicaciones asociadas a la transfusión sanguínea, ya que los pacientes que reciben hemoderivados también reciben una gran cantidad de leucocitos del donante y sus productos metabólicos, las citoquinas, que no les ofrecen ningún beneficio y cuya eliminación es necesaria para evitar complicaciones (Aguado, 2006).

Sin embargo, la eficacia del proceso de leucorreducción depende de la compactación y características fisicoquímicas de las fibras del filtro que se usa, de las propiedades físicas de las células sanguíneas (deformabilidad, expresión de receptores, temperatura de la solución líquida en que las células estén suspendidas) y del método de filtrado (temperatura, velocidad de flujo, duración del tiempo de contacto). Por todo lo anterior, el control de calidad de la leucorreducción debe implementarse para garantizar los productos de transfusión. En Guatemala, no disponemos de Normas Oficiales para Banco de Sangre que especifiquen cifras de leucorreducción, por lo que se siguen las normas internacionales. Se considera una unidad como leucorreducida cuando se obtienen cifras de leucocitos menores a 5×10^6 , y para efectos del control de calidad, más del 90% de las unidades deben estar leucorreducidas (Ferguson, 2006).

A pesar de las diferentes metodologías para la detección del recuento de leucocitos en hemocomponentes reducidos, se optó por el método automatizado Cell Dyn Ruby para compararlo con el método estándar de cámara de Nageotte. La exactitud del recuento manual en cámara de Nageotte, se debe a que la cámara de Nageotte tiene un volumen 56 veces mayor que las cámaras estándar lo que hace posible examinar un volumen mayor de la muestra mínimamente diluida dándole una sensibilidad de 1 leucocito/ uL, lo que mejora en comparación con otras técnicas de recuento estándar (como cámara de Neubauer) (Instituto Nacional de Salud Colombia, 2011). Debido a estas propiedades el recuento en cámara de Nageotte es considerado el método estándar de oro en conteo de leucocitos residuales, obteniéndose en este estudio un conteo de 4.56×10^6 (4.33×10^6 - 4.79×10^6) leucocitos residuales / unidad sanguínea utilizando esta metodología.

El equipo automatizado Cell Dyn Ruby cuenta con tecnología de separación de la Dispersión Polarizada Multiangular (MAPSS), con un conjunto óptico para ejecutar un análisis célula por célula de la muestra proporcionada, a fin de enumerar glóbulos blancos con 5 partes diferenciales utilizando 4 ángulos de dispersión de luz en hasta 10 mil eventos por ciclo con enfoque hidrodinámico, por lo se considera un equipo casi igual de exacto y sensible que la citometría de flujo (Abbott, 2012). En este método se obtuvo un conteo de 2.98×10^6 leucocitos residuales/unidad sanguínea (1.47×10^6 - 4.49×10^6).

Al comparar el recuento de leucocitos por ambos métodos, se demostró un alto grado de la fuerza de concordancia de 0.9184 (IC 95% 0.8791-0.9574) con el coeficiente de correlación intraclase (Icc), el cual nos permitió evaluar y cuantificar la fiabilidad de las mediciones entre el método automatizado y el recuento manual. De acuerdo a este resultado, podemos determinar que el método automatizado del equipo Cell Dyn Ruby con tecnología MAPSS es adecuado para realizar el control de calidad del recuento de leucocitos residuales en unidades sanguíneas y es un método accesible para los bancos de sangre de nuestro país.

Es importante mencionar que para garantizar que los resultados obtenidos reflejen realmente el contenido del hemocomponente se debe tener en cuenta que: la selección de las muestras para el control de calidad debe ser aleatoria, las pruebas del control de calidad deben ser realizadas lo más rápido posible después de la recolección de las muestras, especialmente para recuento de leucocitos deben ser tomadas y evaluadas dentro de las 72 horas post donación, para la recolección de las muestras es necesario homogenizar el contenido de la tubuladura y segmento con el de la unidad un mínimo de 3 veces y ser transferidas inmediatamente a los tubos de análisis y para los componentes sanguíneos sometidos a procesos de filtración, es necesario recoger una muestra antes del proceso de filtración y otra cuando finaliza el proceso para comparar y verificar la eficacia del proceso (Comité de Acreditación en Transfusión, 2002).

En todos los casos se logró una leucorreducción de menos de 5×10^6 leucocitos por unidad de concentrado eritrocitario, como lo recomiendan las Normas Americanas FDA y AABB. En esta investigación fueron utilizados Filtros IMUGARD III – RC de TERUMO® y se comprobó que los filtros remueven entre 3 y 5 \log^{10} (99.9% - 99.999%) de los

leucocitos presentes en los hemocomponentes, reduciendo su número por debajo del umbral para muchas reacciones adversas transfusionales que es de menos de 5×10^6 /unidad (Ferguson, 2006).

La leucorreducción universal (LRU) consiste en leucorreducir los hemocomponentes en todas las transfusiones a cualquier tipo de paciente receptor con independencia de su situación clínica. El fraccionamiento de las unidades de sangre es el proceso mediante el cual se efectúa la separación de los componentes de una unidad de sangre fresca a través de una centrifugación diferencial, en el cual, los diferentes componentes sanguíneos al poseer distintas densidades o gravedades específicas, son separados en diferentes capas por centrifugación y que además permite obtener concentrados eritrocitarios leucodepletados (Aguado, 2006). Al término de la obtención de los componentes sanguíneos, éstos deben cumplir con ser componentes de calidad para su transfusión al receptor específico por lo que se evaluaron las unidades de componentes sanguíneos fraccionadas y posteriormente filtradas para establecer su calidad.

En este caso se obtuvieron hemocomponentes con hematocrito y volumen dentro de los parámetros establecidos con una distribución normal en unidades fraccionadas de hematocrito de 61.74% (58.57 - 64.91 %) y volumen de 391 mL (338 - 389 mL) y en unidades filtradas hematocrito de 63.47% (60.80 - 65.96 %) y volumen de 323 mL (301 - 345 mL). El 98% de las unidades fraccionadas y filtradas cumplen con estos parámetros dentro del rango establecido por las normas americanas, lo cual nos indica una buena eficiencia en la recuperación del volumen de concentrados eritrocitarios que permitirá la correcta capacidad de administración y liberación de oxígeno a diferentes órganos vitales. (Hernández, 2016). En el 2% de las unidades fraccionadas y filtradas que no cumplen con estos parámetros dentro del rango establecido por las normas americanas, el volumen inicial de la unidad sanguínea era inferior o sobrepasaba el peso establecido para unidades sanguíneas, lo cual afectó en la eficiencia de recuperación del volumen de concentrados eritrocitarios.

Para las unidades filtradas, en el 100% de los casos se logró una leucorreducción de menos de 5×10^6 leucocitos por unidad de concentrado eritrocitario, como ya se mencionó

anteriormente, con lo podemos garantizar y definir las unidades filtradas de componentes sanguíneos como leucorreducidas.

Es notorio que en la mayoría los concentrados eritrocitarios fraccionados se rebasan levemente los estándares de la AABB y FDA en cuanto a leucocitos residuales se refieren. Con el fraccionamiento se espera que el recuento leucocitario disminuya en por lo menos $1 \log^{10}$ ya que este no es un proceso de leucorreducción pero permite obtener unidades leucodepletadas (Instituto Nacional de Salud Colombia, 2011). Al evaluar los concentrados eritrocitarios fraccionados en la mayoría no se obtuvo la leucodeplección deseada con un recuento medio de 2.09×10^9 leucocitos residuales/unidad sanguínea (IC 95 % = 1.62×10^9 - 2.57×10^9), por lo que se deben implementar medidas correctivas como verificación de calibración de centrífuga, mantenimiento preventivo del fraccionador, técnicas de fraccionamiento, estandarización de procesos y capacitación del personal técnico (Ferguson, 2006).

Un estudio realizado en el Banco de Sangre del Hospital San Juan de Dios de Guatemala en el año 2007 (Díaz Maldonado, 2007), mostró que el 60% de las unidades transfundidas de concentrados eritrocitarios presentaron reacciones febriles no hemolíticas, por lo que recomendó la disminución del recuento de leucocitos de las unidades en por lo menos $1 \log^{10}$ para prevenir estas reacciones, la implementación de un protocolo de vigilancia transfusional, controles de calidad dentro del Banco de Sangre y la correcta utilización de componentes a transfundir por el personal técnico. Otro estudio realizado en dicha institución durante el año 2016 (Hernández, 2016), mostró que el proceso de leucorreducción por sistema óptico (fraccionamiento) eliminó en $1 \log^{10}$ los leucocitos residuales en el 94% de los paquetes eritrocitarios obteniendo una media de leucocitos residuales de 6.11×10^8 leucocitos/unidad sanguínea. Los valores establecidos para la transfusión de paquetes eritrocitarios sin capa leucoplaquetaria según la AABB y FDA deben permanecer entre 5×10^8 - 1.2×10^9 . Sin embargo, para que una unidad sanguínea sea considerada como leucorreducida se debe reducir el número de leucocitos residuales por debajo del umbral para muchas reacciones adversas transfusionales que es de menos de 5×10^6 /unidad. Para el 5% de unidades que no cumplió con los requisitos mínimos para la

transfusión de paquetes eritrocitarios leucorreducidos se recomendó verificar si se está realizando el procedimiento adecuado y tomar medidas correctivas como capacitaciones sobre el uso del equipo, calibración del sistema y verificación de la velocidad de centrifugación (Hernández, 2016).

La calidad de los hemocomponentes va en función a una disminución de los leucocitos de las fracciones sanguíneas y una estandarización del proceso de fraccionamiento, ya que los leucocitos se desintegran rápidamente al almacenarse y estos fragmentos son capaces de provocar una respuesta inmune. Sin filtración, a los siete días de almacenamiento se ha fragmentado más del 20% de los leucocitos y a los 42 días, más del 75%. Por esta razón, si durante el fraccionamiento no se da la correcta leucodepleción, se corren riesgos inherentes como la transmisión de enfermedades infecciosas y otros efectos adversos, en aquellos componentes que no sean sometidos directamente a un filtrado (Galel, 2009). Debido a esto, el uso de la leucorreducción universal (LRU) de todos los componentes sanguíneos es una práctica cada vez más frecuente y recomendada en todo el mundo. Aunque los beneficios son claros, en Guatemala aún no se realiza la LRU sino que depende del estado clínico del paciente (enfermos inmunocomprometidos, prematuros, pacientes politransfundidos, etc.), debido al costo que implica la leucorreducción por filtración para nuestro sistema de salud.

X. CONCLUSIONES

1. El método automatizado del equipo Cell Dyn Ruby con tecnología MAPSS y el método manual en Cámara de Nageotte demostraron un alto grado de concordancia con un coeficiente de correlación intraclase de 0.9184 (IC 95% 0.8791-0.9574) asegurando la fiabilidad de las mediciones de conteo de leucocitos residuales en unidades sanguíneas.
2. El método automatizado del equipo Cell Dyn Ruby con tecnología MAPSS es adecuado para realizar el control de calidad del recuento de leucocitos residuales en unidades sanguíneas y es un método accesible para los bancos de sangre de nuestro país.
3. Los concentrados eritrocitarios filtrados cumplen con los parámetros internacionales de la AABB y FDA de $< 5 \times 10^6$ leucocitos por unidad de concentrado eritrocitario, por lo que podemos definir las unidades filtradas de componentes sanguíneos como leucorreducidas. El 98% de las unidades fraccionadas y filtradas cumplen con estos parámetros dentro del rango establecido por las normas americanas, lo cual nos indica una buena eficiencia en la recuperación del volumen de concentrados eritrocitarios.
4. Los concentrados eritrocitarios fraccionados no cumplen con los parámetros internacionales para considerarse como leucodepletados ni leucorreducidos.

XI. RECOMENDACIONES

- Aplicar un programa de control de calidad del proceso de fraccionamiento, así como realizar calibraciones trimestrales de los diferentes equipos con el fin de obtener hemocomponentes leucodepletados dentro de los parámetros establecidos.
- Aplicar un programa de vigilancia de reacciones transfusionales de unidades sanguíneas fraccionadas y unidades leucorreducidas que permita evaluar costo-beneficio de administrar hemocomponentes leucorreducidos y así prevenir complicaciones transfusionales y reducir gastos post transfusionales.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

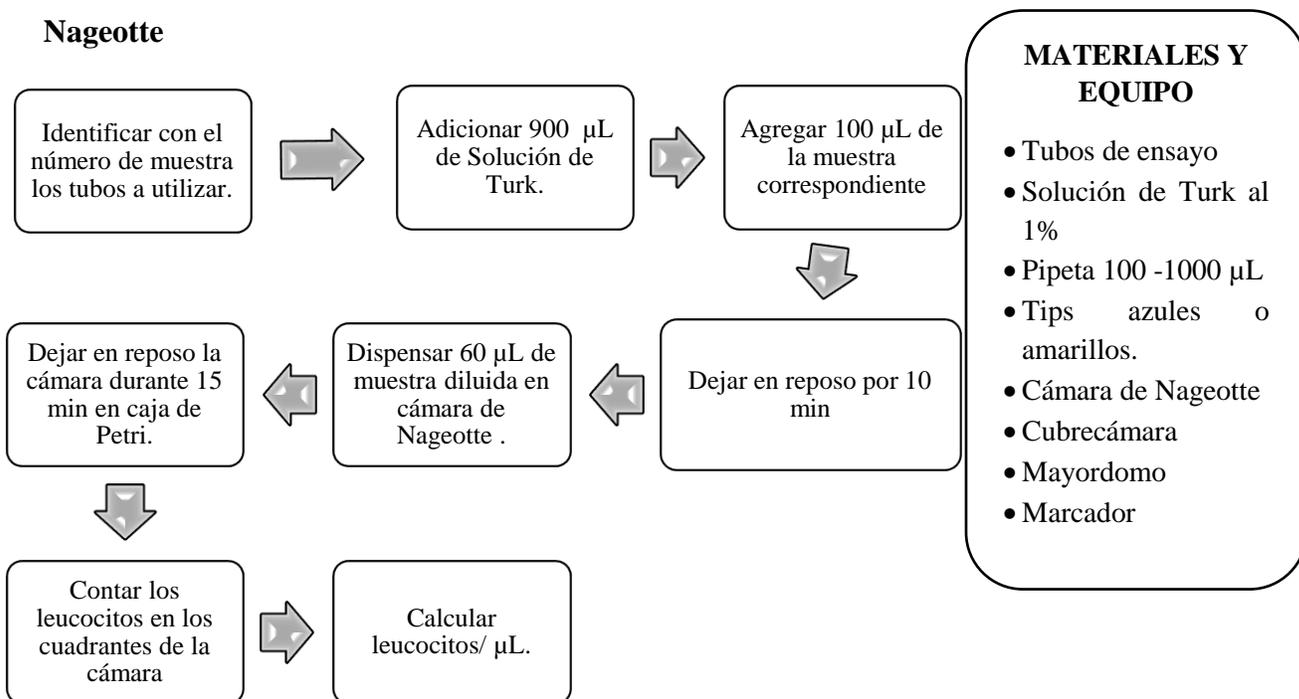
- Abbott GmbH & Co. KG., et. al. (2012) CELL-DYN, CELL-DYN Ruby, hematología de alta eficiencia un ejemplo brillante de tecnología avanzada. Wiesbaden, Alemania: Abbott hematology.
- Aguado, M.J., et. al. (2006) Leucorreducción Universal, Revisión sistemática de la literatura e informe económico. Sevilla, España: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía, Instituto de Salud Carlos III, organismo autónomo del Ministerio de Sanidad y Consumo, y la Fundación Progreso y Salud de Andalucía.
- American Association of Blood Banks (2006). Standards of Blood Banks and Transfusion Medicine Services (24th Edition) EEUU: American Association of Blood Banks Press.
- Añon, J., et.al. (2010) Lesión pulmonar producida por transfusión. Medicina Intensiva 2 (Vol. 34), pp. 139 -149. Madrid, España: Elsevier.
- Argimón, J.; Jiménez, J. (2012) Métodos de investigación clínica y epidemiológica. (4ª edición) pp. 11. España: Elsevier, S.A.
- Beckman, N., et.al. (2001). Review of the quality monitoring methods user by countries using or implementing universal leukoreduction. Transfusional Medicine. (Vol.18) Inglaterra: Elsevier.
- British Committee for Standards in Haematology - Blood Transfusion (2004). Guidelines for compatibility procedures in blood transfusion laboratories. Transfusional Medicine. 20 (Vol 14). Inglaterra: Elsevier.
- British Committee for Standards in Haematology - Blood Transfusion (2004). Transfusion Guidelines for neonates and older children. Br Journal Haematology (Vol. 124) Inglaterra: British Committee for Standards in Haematology.
- Comité de Acreditación en Transfusión, CAT. (2002). Estándares de acreditación, Asociación Española de Hematología y Hemoterapia. Sociedad Española de Transfusión Sanguínea. (2ª.ed). Madrid: Ind. Graf. El Tastabador.
- Council of Europe (2005). Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components (11th ed). Estrasburgo: Council of Europe Publishing.
- Cortes, A., et.al. (2012) Aplicaciones y Práctica de la Medicina Transfusional Tomo I (1ra edición). Santiago Cali, Colombia.

- Diaz Maldonado, C.P. (2007) Monitoreo y registro de reacciones postransfusionales inmediatas, en pacientes adultos transfundidos en el hospital General San Juan de Dios Guatemala. Tesis de pregrado. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Ferguson-Guerra, D.E.; Sánchez-Guerrero, S.A. (2006) Leucorreducción de concentrados eritrocitarios fraccionados convencionalmente o con sistema óptico. *Revista médica del Hospital General de México* 4 (Vol. 69). México.
- Galel, S.; Nguyen, D.; Fontaine, M.; Goodnough, L., Viele, M. (2009) *Transfusion Medicine, Wintrobe's Clinical Hematology (12th Ed.)* (Vol. 1). Philadelphia, PA: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, pp 672–721.
- Heiko, R.; Gregor, B.; Ulrich, J.H. (2009) Transfusion-Associated Graft-Versus-Host Disease. *Transfusion Medicine Reviews*, 1 (Vol 23).
- Hernández, K. (2016) Determinación de la calidad del proceso de leucorreducción en concentrados eritrocitarios fraccionados por sistema óptico. Tesis de pregrado. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Instituto Nacional de Salud Colombia (2011) *Guía de Control de Calidad de Componentes Sanguíneos*. Documento técnico ISBN: 978-958-13-0157-7. Bogotá, Colombia: Ministerio de Protección Social, Subdirección Red Nacional de Laboratorios, Coordinación Red Bancos de Sangre y Servicios de Transfusión.
- Murphy, M., et.al. (2001). Guidelines for the clinical use of red cell transfusions. *Journal Haematology* (Vol 113) pp 24-31.
- Ley de servicios de medicina transfusional y bancos de sangre. Decreto 87-97 del Congreso de la República de Guatemala.
- Organización Panamericana de la Salud, OPS (2012). *Estándares de trabajo para servicios de Banco de Sangre (3ra. edición)* Washington, D.C: OPS
- Peñuela, O.; Beltrán, M. (2011) *Leucorreducción de componentes sanguíneos*. Bogotá, D.C., Colombia: Red Nacional de Bancos de Sangre y Transfusiones Sanguíneas, Instituto Nacional de Salud.
- Peñuela, O., et.al (2011) *Manual de Hemovigilancia*. Instituto Nacional de Salud, Subdirección Red Nacional de Laboratorios, Coordinación Red Nacional de Bancos de Sangre y Servicios Transfusionales. Imprenta Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

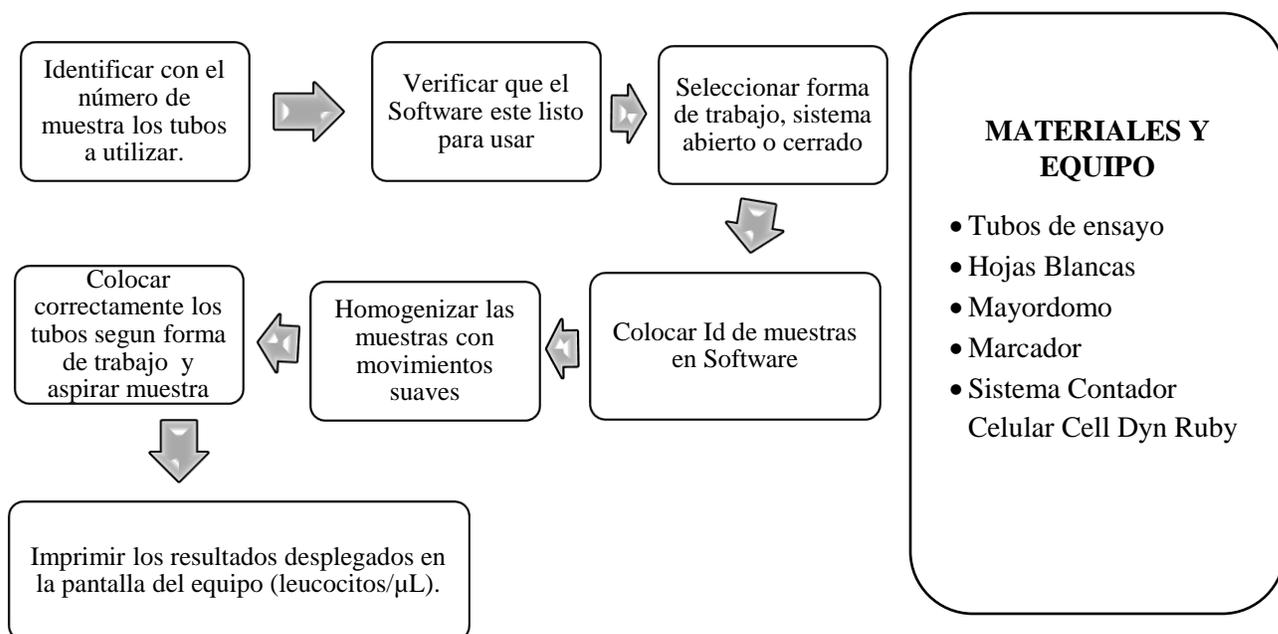
- Perez Ceballos, E. (2003) Nuevas Estrategias en la preparación y almacenamiento de los concentrados de plaquetas. Centro Regional de Hemodonación. Universidad de Murcia, España.
- Ramírez, I. (2006). Importancia de la ley de Servicios de Medicina transfusional y Bancos de sangre del Decreto 87-97 del Congreso de la República de Guatemala para garantizar la no transmisión del VIH. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Jurídicas y Sociales.
- Salazar, M. (2003) Guías para la transfusión de sangre y sus componentes Mauricio Salazar (1ra revisión). Panamá: Salud Pública/Panamericana Journal Public Health.
- Simancas, D.; Osorio, D.; Martí-Carvajal, AJ, Arevalo, R. (2015). Review of Leukoreduction for the prevention of adverse reactions from allogeneic blood transfusion. Cochrane Database of Systematic Review, Issue 12. John Wiley & Sons, Ltd.
- Simon, T.; Dzik, W.; Snyder, E. (2002) Principles of transfusion medicine (3ra. Ed). New York, Churchill Livingstone: Editorial Baltimore: Williams and Wilkins. pp. 792-802.

XIII. ANEXOS

ANEXO 1. Diagramas de flujo de la Medición de Leucorreducción en Cámara de Nageotte



ANEXO 2. Diagramas de flujo de Medición de Leucorreducción en Método de Separación por Dispersión de Luz Polarizada Multiangular (MAPSS)



ANEXO 3. Cell Dyn Ruby

Intended Use:

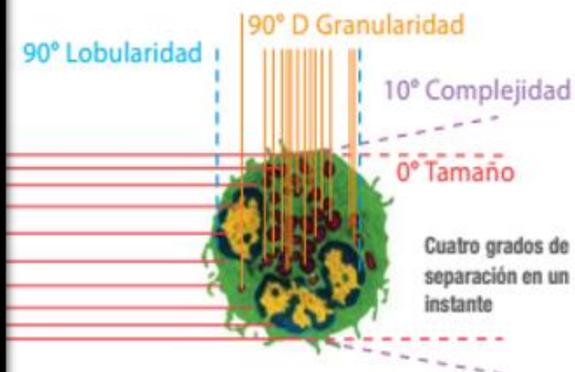
The CELL-DYN Ruby is a multi-parameter automated Hematology analyzer designed for *in vitro* use in clinical laboratories. See Operator's Manual for warnings, precautions and limitations for proper use of the instrument.

CELL-DYN Ruby



ANEXO 4. Sistema MAPSS laser

Separación secuencial altamente diferenciadora con tecnología MAPSS.



Tecnología MAPSS láser.

Un mayor nivel de análisis.

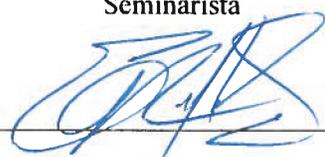
- Análisis de hasta 10,000 células de una sola dilución, usando un solo reactivo
- Captura hasta 40,000 puntos de datos

Los resultados MAPSS se presentan en múltiples diagramas de dispersión, elegantes y codificadas por color.

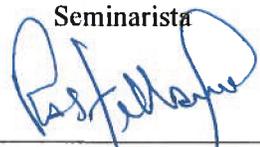
- Distingue entre neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos y linfocitos
- Identifica y clasifica células inmaduras y sustancias interferentes



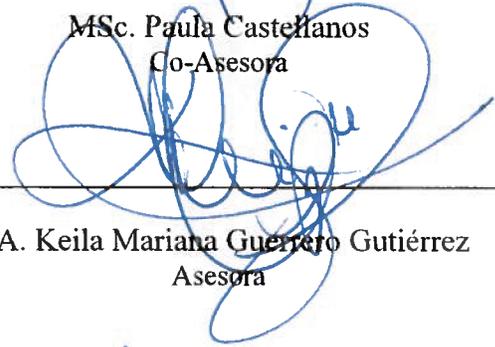
Sheila Sofia Ortiz Ortiz
Seminarista



Erik Alberto Herrera Molina
Seminarista



MSc. Paula Castellanos
Co-Asesora



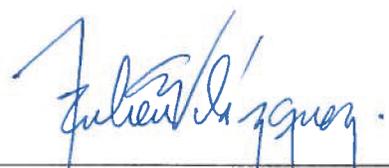
MA. Keila Mariana Guerrero Gutiérrez
Asesora



MSc. María Eugenia Parcdes
Revisora



MSc. Alba Marina Valdés de García
Directora
Escuela de Química Biológica



Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda
Decano
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia