



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

Facultad de  
**MEDICINA**

**INACTIVACIÓN DE PATÓGENOS EN EL  
HEMOCOMPONENTE PLASMA Y PLAQUETA**

**INACTIVATION OF PATHOGENS IN THE BLOOD  
COMPONENT PLASMA AND PLATELET**

**TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR POR EL TÍTULO  
DE SEGUNDA ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN  
HEMOTERAPIA Y BANCO DE SANGRE**

**AUTOR:**

**Carlos Ernesto Escala Soto**

**ASESOR:**

**Dra. Lupe Ysabel Vidal Valenzuela**

**LIMA - PERÚ**

**2022**



Fecha de Aprobación: 27 de octubre 2022

Calificación: Aprobado

## **ASESORES DE TRABAJO ACADÉMICO**

Doctora. Lupe Ysabel Vidal Valenzuela

Departamento Académico de Tecnología Médica

ORCID: 0000-0002-6624-314X

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo a mis padres por su apoyo incondicional, por la motivación continua para ser mejor profesional cada día, también quiero dedicarlo a mis colegas y a las instituciones donde me encuentro laborando, por considerarme parte de una familia, por el apoyo constante y comprensión para lograr este nuevo reto.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a todas las personas que me apoyaron con su aporte, ideas y sugerencias que fueron una gran herramienta para concluir con el presente trabajo.

## **FUENTE DE FINANCIAMIENTO**

Este trabajo es autofinanciado.

## RESUMEN DE TURNITIN

### INACTIVACIÓN DE PATÓGENOS EN EL HEMOCOMPONENTE PLASMA Y PLAQUETA

#### INFORME DE ORIGINALIDAD

<b>13%</b>	<b>12%</b>	<b>0%</b>	<b>2%</b>
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

#### FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>pt.scribd.com</b> Fuente de Internet	<b>4%</b>
<b>2</b>	<b>mafiadoc.com</b> Fuente de Internet	<b>2%</b>
<b>3</b>	<b>docplayer.es</b> Fuente de Internet	<b>2%</b>
<b>4</b>	<b>www.ashecova.org</b> Fuente de Internet	<b>2%</b>
<b>5</b>	<b>www.juntadeandalucia.es</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>6</b>	<b>idoc.pub</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>7</b>	<b>Submitted to Universidad de Salamanca</b> Trabajo del estudiante	<b>&lt;1%</b>
<b>8</b>	<b>www.mayoclinic.org</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>
<b>9</b>	<b>www.researchgate.net</b> Fuente de Internet	

		<1 %
10	<a href="http://pesquisa.bvsalud.org">pesquisa.bvsalud.org</a> Fuente de Internet	<1 %
11	<a href="http://utolima.ut.edu.co">utolima.ut.edu.co</a> Fuente de Internet	<1 %
12	<a href="http://doku.pub">doku.pub</a> Fuente de Internet	<1 %
13	<a href="http://encyclopedia.nm.org">encyclopedia.nm.org</a> Fuente de Internet	<1 %
14	<a href="http://viviendolasalud.com">viviendolasalud.com</a> Fuente de Internet	<1 %
15	<a href="http://idus.us.es">idus.us.es</a> Fuente de Internet	<1 %

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias

Apagado

Excluir bibliografía

Apagado

## TABLA DE CONTENIDOS

	<b>Pág.</b>
Carátula .....	
Asesores .....	
Dedicatoria y agradecimiento.....	
Declaración del autor .....	
Tabla de contenidos .....	
Resumen .....	
Introducción .....	1
Objetivos .....	4
1. CAPITULO I: INACTIVACIÓN DE PATÓGENOS .....	5
1.1. Definición enfermedades emergentes .....	5
2. CAPITULO II: MÉTODOS DE INACTIVACIÓN DE PATOGENOS EN PLASMA .....	10
2.1. Tratamiento con azul de metileno	
2.2. Tratamiento psoralenos	
2.3. Tratamiento con riboflavina	
2.3. Tratamiento con UV	
2.4. Tratamiento con FRALE	
2.5. Tratamiento con solventes detergente	
3. CAPITULO III: METODOS DE INACTIVACION DE PATOGENOS EN PLAQUETAS .....	14
3.1. Tratamiento fotoquímico con amotosaleno y luz UVA (INTERCEPT)	



3.2. Tratamiento con Vitamina B2 y luz UV (MIRASOL)	
3.3. Tratamiento con luz UVC (THERAFLEX UV – THERAFLEX MB)	
4. CAPITULO IV: EFECTOS ADVERSOS, HEMOVIGILANCIA Y CONTROL DE CALIDAD DE LA INACTIVACIÓN DE PATÓGENOS .	17
4.1 Relación costo-beneficio de los métodos de inactivación de patógenos.	
4.2 Ventajas de los métodos de inactivación de patógenos	
4.3 Control de calidad microbiológico	
Conclusión .....	21
Referencia bibliográfica .....	23
Anexos .....	28

## RESUMEN

La seguridad transfusional es considerada por la OMS como una parte integral en la política de todo país, sin embargo, alcanzar la máxima seguridad transfusional sigue siendo un reto para todos los bancos de sangre en el mundo. El riesgo transfusional se incrementa por la aparición de nuevos patógenos emergentes, por el periodo de ventana de estos patógenos y el movimiento migratorio de las personas; además las muertes por infecciones relacionadas con la transfusión aún siguen siendo comunicadas, así tenemos que, Serious Hazards of Transmission (SHOT), el estudio francés de hemovigilancia y la Food and Drug Administration (FDA) demostraron que la sepsis bacteriana es una amenaza mayor que las infecciones virales transmitidas por transfusión; por ello, actualmente se utiliza tecnologías encaminadas a la reducción de patógenos que actúan sobre el ADN o ARN presente en los patógenos, las cuales presentan distintos mecanismos de acción fotodinámico y fotoquímicos encaminadas a la reducción de patógenos presentes en plaquetas, plasmas y concentrados hemáticos, garantizando la seguridad transfusional; sin embargo, algunos métodos están bajo investigación debido a la toxicidad de sus compuestos o baja efectividad.

Estas estrategias aún no se han implementado en países en vías de desarrollo; por lo cual, se debe continuar con la investigación, reforzando así la necesidad de la implementación en los bancos de sangre para la reducción epidemiológica de agentes transmisibles.

El objetivo de esta monografía es presentar una revisión actual sobre los diferentes métodos de inactivación o reducción de patógenos en el hemocomponente plasma y plaqueta.

**PALABRAS CLAVES:** Inactivación de patógenos, transfusión sanguínea, plasma, bancos de sangre, plaquetas.

## **ABSTRACT**

Transfusion safety is considered by the WHO as an integral part of the policy of the entire country, however, achieving maximum transfusion safety remains a challenge for all blood banks in the world. The transfusion risk is increased by the appearance of new emerging pathogens, by the window period of these pathogens and the migratory movement of people; In addition, deaths from transfusion-related infections are still being reported, so we have that Serious Hazards of Transmission (SHOT), the French hemovigilance study, and the Food and Drug Administration (FDA) show that bacterial sepsis is a greater threat than transfusion-transmitted viral infections; For this reason, technologies aimed at the reduction of pathogens that act on the DNA or RNA present in the pathogens are currently used, which present different photodynamic and photochemical mechanisms of action aimed at the reduction of pathogens present in platelets, plasmas and blood concentrates, guaranteeing transfusion safety; however, some methods are under investigation due to the toxicity of their compounds or low efficacy.

These strategies have not yet been implemented in developing countries; Therefore, the investigation should continue, thus reinforcing the need for implementation in blood banks for the epidemiological reduction of communicable agents.

The objective of this monograph is to present a current review of the different methods of inactivation or reduction of pathogens in plasma and platelet blood components.

**KEYWORDS:** Inactivation of pathogens, blood transfusion, plasma, blood banks, platelets.

## INTRODUCCIÓN

La transfusión sanguínea y sus derivados, recursos vitales para el tratamiento, sobrevida y recuperación de pacientes pueden resultar en complicaciones tempranas o tardías. Se estima que aproximadamente entre un 2-3% de los pacientes transfundidos pueden experimentar algún tipo de efecto adverso (1).

Las transfusiones sanguíneas actualmente son realizadas cumpliendo todas las normativas establecidas como: el control de donantes y el control de calidad en los procesos asociados a la preparación de los hemocomponentes; así como incorporando los avances de la inmunohematología y la implementación moderna de pruebas serológicas de tamizaje; pero pese a todos los controles existentes, envuelve siempre un riesgo sanitario por los llamados patógenos emergentes, como por ejemplo: virus de occidente, virus síndrome respiratorio agudo (SARS), entre otros. Al ser patógenos emergentes existe una falta de tamizaje específico, convirtiéndose en una gran amenaza para las transfusiones sanguíneas (2).

Las bacterias fueron los primeros patógenos detectados como un problema, siendo considerada la primera causa de infección post transfusional (3). En estos últimos años, se ha incrementado barreras de seguridad transfusional, como: la implementación de tamizaje molecular, la obtención de hemocomponentes sanguíneos con leucorreducción y aféresis. Sin embargo, tienen limitaciones analíticas debido a la antigenemia o anticuerpos parciales, que podrían no detectarse, a ello tenemos que incluir la reducción más no eliminación del periodo de ventana (4).

Por otra parte, frente al riesgo de contaminación por patógenos emergentes se han introducido varias medidas como estrategias de selección de donantes más estrictas, aplicación de medidas exigentes al profesional y rutinarias en los métodos de laboratorio, en gran medida específicos, que permiten encontrar donaciones contaminadas, esto encaminará la reducción de número de patógenos potencialmente presentes como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), hepatitis B y C, sífilis y enfermedad de Chagas, en hemocomponentes (5).

Adicionalmente, este sistema es eficaz contra bacterias, espiroquetas y protozoos, a la vez tiene la capacidad para impedir la replicación de linfocitos, así prevenir la enfermedad del injerto contra el huésped; siendo una gran ventaja, evitando así el uso de la irradiación gamma (3).

El primer método de inactivación de patógenos, se basó en el uso de amotosalen y luz UVA, hasta la actualidad se han probado distintos agentes como la vitamina B2 (riboflavina) – luz UVA/UVB, el cual ha sido probado contra varios microorganismos (parásitos, virus, bacterias) (Figura 1), para los cuales hay evidencia de que el grado de eficacia varía entre las técnicas utilizadas (6). El principio de esta metodología es el uso de la foto exposición a la luz UV con una mezcla de sustancia química previa que logra la desnaturalización del patógeno, la cual inhibe la expansión clonal o la actividad replicativa del patógeno (6).

Estas técnicas se diferencian según el mecanismo de acción: fotodinámica y fotoquímica Los fotoquímicos son los métodos más prometedores como: el azul de metileno, sistema Intercept y Mirasol (7), estudios garantizan la seguridad extrema en términos de toxicidad, sólo implementado para plasma y plaquetas. Sin embargo, el uso de estas técnicas en glóbulos

rojos aún está en estudio, debido al riesgo de la aparición de anticuerpos anti- eritrocitarios en algunos pacientes (8).

Este trabajo pretende aportar una visión actualizada de las nuevas metodologías aplicadas a la inactivación de patógenos en el hemocomponente plasma y plaqueta, aportando elementos que colaboren en la toma de decisiones para la implementación de estas metodologías en el país, para una mayor seguridad transfusional.

## **OBJETIVO**

Describir los métodos de inactivación de patógenos en el hemocomponente plasma y plaqueta.

## CAPITULO I

### INACTIVACIÓN DE PATÓGENOS

#### 1.1. Definición

Los métodos de inactivación de patógeno, también llamados reducción de patógenos, implica la exposición de las células sanguíneas a la luz ultravioleta u otras metodologías con o sin la adición de un agente fotosensibilizante para bloquear los ácidos nucleicos e impedir así la replicación de los mismos (9).

El objetivo de estos métodos es inactivar virus, bacterias y protozoos, sin dañar los componentes sanguíneos, con la menor pérdida posible de la viabilidad de las células sanguíneas y sin efectos adversos en el paciente (9).

Los métodos empleados deben tener características esenciales como: ser efectivas para eliminación de patógenos, la implementación debe ser sencilla y rentable, mínimamente tóxico manteniendo la calidad de los productos sanguíneos y por último, seguridad para el paciente (10).

Estas técnicas ya son utilizadas desde los años cuarenta y muy reciente en plaquetas, mientras en los paquetes globulares aún está en fase 3 de investigación usando amustalina S-303, la cual es una molécula reactiva que forma puentes irreversibles entrecruzando ADN y ARN evitando la replicación de patógenos infecciosos, además de usar glutatión (GSH), demostrando una inactivación in vitro efectiva de múltiples patógenos así como de glóbulos blancos residuales; además se encontraron anticuerpos



de bajo título contra glóbulos rojos que no causaron hemólisis clínica ni favorecieron la fagocitosis in vitro (11).

## **1.2. Enfermedades emergentes**

El concepto de Enfermedades Infecciosas Emergentes fue acuñado en 1992 por el Instituto de Medicina de los EEUU, para referirse a las enfermedades infecciosas descubiertas en los últimos años y a las ya conocidas consideradas controladas, en franco descenso o casi desaparecidas, que volvieron a emerger (12).

Una enfermedad infecciosa emergente o reemergente es provocada por un agente infeccioso recientemente identificado y anteriormente desconocida, siendo capaz de generar un problema en la salud pública. Los factores que influye en la aparición de nuevos patógenos son la migración, el comercio internacional, cambios demográficos y la mutación del agente infeccioso. Cuya incidencia de infección ha aumentado en estas últimas décadas (3).

La aparición de estas enfermedades ha hecho que en los bancos de sangre, sobre todo de países desarrollados y con casos de enfermedades emergentes, se actualice el tamizaje a la sangre colectada con pruebas para Virus del Nilo Occidental (WNV), virus Zika, Trypanosoma cruzi y Babesia (13).

### 1.2.1. Bacterias

La contaminación bacteriana sigue siendo la infección más frecuente transmitida por transfusión, causante principal de morbilidad y mortalidad en receptores.

La mayoría de hemocomponentes que han producido reacciones adversas han sido a causa de la transfusión de plaquetas. Debido a la temperatura de almacenamiento, esta oscila entre 20-22°C, dando un ambiente adecuado para la proliferación bacteriana (13).

Se estima que la contaminación bacteriana de las unidades de plaquetas ocurre en 1 de cada 1,000 unidades o 1 de cada 10,000 unidades, lo cual depende del país y método de producción de la unidad (9).

En estudios publicados del antes y después de la rutina del control de calidad de plaquetas, demuestran que los microorganismos más frecuentes son de la piel (9). Los organismos implicados en sepsis transfusional, identificados en las unidades de plaquetas incluyen *Staphylococcus spp.* (42%), *Salmonella spp.* (9%), *Bacillus spp.* (9%), *Escherichia coli* (9%), *Serratia spp.* (8%) y *Enterobacter spp.* (7%) y otros microorganismos (4%) (14), así mismo, se ha demostrado que 20 de 51,220 unidades de plaquetas fueron positivas con contaminación bacteriana, y de las 20 unidades el 25% resultó en una reacción transfusional séptica (13).

### 1.2.2. Parásitos

La malaria sigue constituyendo un motivo de precaución para los bancos de sangre de todo el mundo. América latina es considerada como zona endémica de malaria, particularmente en las zonas amazónicas cuya tasa de infección incrementa anualmente. El riesgo de transmisión de *Plasmodium* existe, debido a la falta de detección molecular en los bancos de sangre (14). Se estima que la incidencia de casos postransfusionales es de 50 casos por millón (3).

La Leishmaniosis, es una enfermedad producida por un parásito que es potencialmente transmisible por transfusión; en ese sentido se reportó que, de 615 muestras estudiadas en donantes, 8 tenían *Leishmania chagasi* en el plasma (15), poniendo en riesgo la seguridad transfusional.

La babesiosis, producida por *Babesia microti*, se transmite por la picadura de una garrapata. También transmitida por transfusión, en un estudio de seroprevalencia se demostró en 2,000 donantes estudiados; la prevalencia fue de 0.8% a 1,7% a lo largo de 5 años (3).

Otra enfermedad transmisible es de Chagas, es exclusiva en zonas endémicas a diferencia de las otras enfermedades, está dentro del protocolo de detección en los bancos de sangre.

### **1.2.3. Priones**

Estos agentes no contienen ácidos nucleicos dentro de su composición es por ellos que no son sensibles a los métodos de reducción de patógenos, que básicamente bloquea ácidos nucleicos (3).

### **1.2.4. Virus**

Estudios realizados en casi 15 millones de donaciones en Estados Unidos demostraron que la frecuencia de vigilancia positiva por cada 10 000 donaciones fue de 0.76 para Virus de Hepatitis B, 2.0 para Virus Hepatitis C, 0.28 para HIV y 0.34 para HTLV. Además, las estimaciones más recientes para el riesgo residual de infección post transfusión con Virus Hepatitis B, Hepatitis C y HIV es de 1 / 3'000,000, el cual es extremadamente bajo, pero no cero (13).

## **CAPITULO II**

### **MÉTODOS DE INACTIVACIÓN DE PATÓGENOS EN PLASMA**

Existen diferentes métodos para la inactivación de patógenos en plasma, de los cuales cuatro están bien establecidos y cuentan con licencia de comercialización europea.

#### **2. 1 Tratamiento con azul de metileno**

El azul de metileno llamada cloruro de metiltionina, es una molécula cargada positivamente, con una gran afinidad por los compuestos con carga negativa, con un elevado potencial redox. Junto con la luz visible, reacción fotodinámica, genera un oxígeno reactivo que afecta a las proteínas, lipoproteínas de las membranas y a los ácidos nucleicos (específicamente con la base nitrogenada: Guanina) inactivando así a los patógenos. Tiene efecto contra virus encapsulados y algunos sin cápside, debido a su fuerte hidrofilia, no penetra a las células, no inactiva a virus intracelulares (2).

Investigaciones demuestran que tiene poca actividad a bacterias Gram positivas frente a Gram negativas. Por la unión con las proteínas afectan radicalmente a los factores de coagulación plasmáticos como el factor VIII (9).

## **2. 2 Tratamiento con psoralenos**

Los psoralenos son furocumarinas, es decir, metabolitos secundarios de las plantas (apio, perejil), los cuales son fotosensibilizadores capaces de atravesar las membranas de las células y las cápsidas de virus, actuando sobre la región helicoidal del ADN o ARN, uniéndose de forma irreversible tras la exposición con la luz ultravioleta (UV) a una onda de 320-400 nm. Estos enlaces o uniones impiden la replicación del patógeno (16).

El amotosaleno o S59 es un psoraleno sintético, se emplea en la inactivación de plasmas o plaquetas. Es efectivo para bacterias, parásitos, virus encapsulados, leucocitos y algunos virus no encapsulados (9).

## **2. 3 Tratamiento con riboflavina:**

Riboflavina o vitamina B12 es un nucleósido formado por una base nitrogenada flavina y por la pentosa ribitol, formando parte del complejo B. como coenzima participa en la cadena respiratoria de la mitocondria, su carácter hidrosoluble le permite atravesar las membranas celulares intercalándose con las cadenas de ARN y ADN. Una vez activado con luz ultravioleta induce la unión cruzada de los ácidos nucleicos y ruptura de la misma, a través de la formación de radicales libres y transferencia de iones (reacción fotoquímica) (2).

El sistema MIRASOL, el cual actúa en base a la riboflavina para inactivación de patógenos, es recomendado para plasmas, concentrados hemáticos (luz visible) y concentrados plaquetarios. Los productos o sustancias finales de este proceso no se separan debido a la ausencia de efectos citotóxicos. Por otra parte, estudios demuestran la

inactivación directa de leucocitos en componentes hemáticos previniendo la aloinmunización y la enfermedad injerta contra huésped (4).

#### **2. 4 Tratamiento con luz ultravioleta.**

La Irradiación UVC para la reducción de patógenos en concentrados plaquetarios y plasma se realiza con la longitud de onda efectiva para dañar el ADN sin la necesidad de un compuesto foto activador, aproximadamente, de 254 nm (Figura 2). Ello, se combina con una agitación de los componentes para garantizar el tratamiento uniforme, la irradiación con UVC afecta al ácido nucleico del microorganismo y de los leucocitos, conserva a la vez la función de las plaquetas y de los factores de la coagulación (17).

Al no tener un fotoactivador se excluye de efectos adversos relacionados a los productos indeseados de la reacción; sin embargo, su eficacia disminuye en soluciones turbias o soluciones con proteínas (9).

#### **2. 5 Tratamiento con solvente detergente**

Los solventes detergentes actúan disolviendo la envoltura del microorganismo comprometiendo la integridad de la membrana y haciéndola no infecciosa, al interrumpir la replicación del patógeno. Los solventes más utilizados: Tri-(*n*-butilo) o éter etílico con Tween 80, colato de sodio y Triton X-100, los agentes de residuo deben eliminarse antes de transfundir (18,19).

El Tri-(*n*-butilo)- fosfato (TNBP) y 1% de plioxietileno-p-t-octifenol (triton X-100) es la combinación más usada, es sometida a 4 horas por 30°C. el TNBP degrada, en forma de

micelas, a los lípidos de la membrana del patógenos, mientras que el Triton X-100 es un detergente que estabiliza el TNBP y rompe la capa lipídica siendo más fácil la acción. La desventaja de este método es que no actúa en proteínas y no inactiva virus capsulados. Los residuos o reactivos al término de la reacción, son eliminados mediante separación y filtración (16,9).



## CAPITULO III

### MÉTODOS DE INACTIVACIÓN DE PATÓGENOS EN PLAQUETAS

#### 3. 1. Tratamiento fotoquímico con amotosaleno y luz UVA (INTERCEPT)

La metodología de Intercept usa el psoraleno sintético (cloruro de amotosaleno, S-59) que se intercala entre las hebras del ácido nucleico. En una segunda fase la exposición a la luz UVA que tiene una longitud de onda de 320-400 nm facilita que el S-59 se una a las bases pirimidínicas y forme un entrecruzamiento covalente irreversible de los ácidos nucleicos con el amotosaleno. La exposición a la luz continua provoca que se forme un doble puente, que provoca un entrecruzamiento estable entre hebras e impide así la replicación, de manera que el material genético quede completamente inutilizado y, por tanto, no funcional. El amotosaleno residual, así como sus metabolitos, son eliminados por un dispositivo de adsorción que actúa durante varias horas (9). (Figura 3)

El método está validado para plaquetas por aféresis, suspendidas en solución aditiva (SA) en una proporción de 32-47% de plasma y 53-68% de SA. Por su mecanismo de acción, el sistema produce una inhibición de la capacidad proliferativa de las células T, siendo una alternativa a la radiación gamma para prevenir la enfermedad injerto contra huésped asociada a la transfusión (20). Se ha constatado sensibilidad en espiroquetas como *treponema pallidum* y la *borrelia burgdorferi* y en el caso de protozoos como el *trypansomoma cruzi*, *plasmodium falciparum*, *leishmania* y *babesia microti* (21).

### **3. 2. Tratamiento con Vitamina B2 y luz UV (MIRASOL)**

La metodología de Mirasol, desarrollado por Terumo BCT en EEUU, utiliza como agente fotosensibilizante a la vitamina B12 (riboflavina) en combinación con luz UV de amplio espectro (280-360 nm), la vitamina B12 se intercala entre las bases del ADN y ARN; y tras la absorción de luz se producen reacciones con transferencia de electrones, formando radicales libres de oxígeno, lo cual causara daños irreversibles en las bases nucleicas guanídicas, evitando la replicación de potenciales patógenos y a la vez inactivando funcionalmente a los leucocitos (22,23).(Figura 4)

La inactivación de patógenos mediante el sistema MIRASOL causa un aumento en el volumen corpuscular medio de los glóbulos rojos, un aumento de los niveles de hemolisis, potasio y además de aproximadamente un 44% de disminución de la actividad de las proteínas de coagulación principalmente de fibrinógeno, por lo cual recomiendan aplicar simultáneamente concentrados purificados de fibrinógeno (24).

### **3. 3. Tratamiento con luz UVC (THERAFLEX UV – THERAFLEX MB)**

La metodología de Theraflex-UV realizada por Macopharma en Francia, la cual emplea luz UVC de onda corta (longitud de onda de 200-280 nm) induce un efecto microbicida que penetra los fluidos sanguíneos y las membranas celulares, causando daño covalente directo a los ácidos nucleicos para inducir dímeros de pirimidina y bloquear la replicación de ADN/ARN en los patógenos y glóbulos blancos. (25). Sin embargo, esta tecnología se tuvo que combinar con el azul de metileno, debido a que no es efectiva por sí sola, con el nombre de Theraflex MB.

En la tecnología Theraflex MB, el azul de metileno y las fenotiazinas similares fotoreactivas tienen una alta afinidad por los ácidos nucleicos y la estructura superficial de los virus. Debido a algunos estudios del azul de metileno sobre sus efectos adversos mutagénicos y derivados, y dado que solo penetra parcialmente en las membranas celulares, se agregó una etapa final de filtración para eliminar el tinte residual en el producto final (25, 26). (Figura 5)

El tratamiento se ha testado sobre bacterias gram positivas y gram negativas, no detectándose crecimiento después de 6 días. En cuanto a su inactivación sobre los virus, parece demostrar una buena capacidad inactivadora para virus con y sin envoltura (27). Además, se ha demostrado que el paso de filtración antes de agregar azul de metileno e iluminación con luz visible era fundamental para lograr la eliminación completa y reproducible de *Trypanosoma cruzi* (25).

También se ha demostrado que este tipo de método de inactivación de patógenos reducen los títulos del virus del MERS y Ebola (25).

## **CAPITULO IV**

### **EFFECTOS ADVERSOS, HEMOVIGILANCIA Y CONTROL DE CALIDAD DE LA INACTIVACIÓN DE PATÓGENOS:**

Las principales inquietudes sobre la transfusión de hemocomponentes con algún método de inactivación de patógenos se centran en que si el tratamiento puede originar efectos tóxicos inesperados en los pacientes. Por lo tanto, se realizaron estudios de hemovigilancia después de realizar la transfusión de los hemocomponentes con alguna metodología de inactivación de patógenos (28).

Se realizó un estudio de hemovigilancia observacional, prospectivo y no controlado en el que se evaluaron 57,171 componentes de plasma procesados con el INTERCEP transfundidos a 9,669 pacientes, 32 sujetos (0,3%) experimentaron una RTA (Reacción Transfusional Aguda); se valoraron el número de transfusiones con al menos una reacción transfusional aguda. Los signos y síntomas más comunes de la reacción transfusional fueron urticaria, escalofríos, erupción y prurito (28).

En Suiza entre los años 2005 y 2011 se reportaron 158,502 plasmas concentrados y se notificaron 16 reacciones adversas a la transfusión, incluyendo 3 casos fatales; posteriormente con la implementación nacional de inactivación de patógenos en los hemocomponentes se transfundieron 205,704 plasmas concentrados preparados con inactivación de patógenos entre el 2011-2016 y no se reportaron infecciones bacterianas transfundidas por transfusión (29).

Finalmente, un estudio prospectivo de hemovigilancia realizado en Francia, España y Bélgica que incluyó 7,437 plasmas concentrados en pacientes hemato-oncológicos mostró una tasa de efectos adversos a la transfusión de 0.9% sin contaminación bacteriana. Estos informes confirman la seguridad y eficacia de los métodos de inactivación de patógenos en forma masiva (30).

La eficacia clínica de las plaquetas tratadas con métodos de inactivación de patógenos fueron estudiados en diez ensayos aleatorios controlados, donde nueve de los ensayos informan el sangrado como un punto de evaluación de la eficacia, se comparó el sangrado en dos grupos de pacientes que recibieron plaquetas reducidas en patógenos y plaquetas habituales suspendidas en solución aditiva de plaqueta (PAS) obteniendo como resultados que no se detectó diferencias estadísticamente significativas en las probabilidades de hemorragia en ambos grupos (31).

#### **4.1 Relación Costo- beneficio de la inactivación de patógenos:**

En la actualidad, varios países emplean los métodos de inactivación de patógenos en sus procedimientos estandarizados de plasma fresco congelado y plaquetas. Dicha limitación a dos de los tres componentes sanguíneos principales no hace viable la reducción de costos general de la seguridad de la sangre. En países desarrollados el costo actual de componente tratado oscila entre 60 y 110 dólares por unidad, lo cual no es viable en países en desarrollo (32).

La solución más factible para la implementación de los diferentes métodos de inactivación de patógenos en países en desarrollo podría darse en la medida que estos métodos sean aplicados a sangre entera, lo cual reduciría el costo a una sola intervención en el producto base (32).

#### **4.2. Ventajas de los métodos de inactivación de patógenos**

- Son métodos que tienen como finalidad proteger las plaquetas de virus y otros patógenos (31).
- Son métodos capaces de inactivar los leucocitos residuales del donante, protegiendo así a los receptores de desarrollar enfermedades de injerto contra huésped como consecuencia de la transfusión (31).
- El almacenamiento de plaquetas reducidas en patógenos se puede aumentar de 5 a 7 días (31).

#### **4.3. Control de calidad microbiológico (33)**

Las principales pruebas para detección de contaminación microbiológica en componentes plaquetarios son:

- El sistema de cultivo automatizado Bact/ALERT y BACTEC, los cuales se basan en la medición del CO<sub>2</sub> producido por el metabolismo de microorganismos. Este CO<sub>2</sub> es detectado por un sensor colorimétrico (en sistema Bact/ALERT) o por una señal fluorescente (Bactec).

- Sistema VersaTREK, que detecta el crecimiento bacteriano al medir cambios de presión en la botella de hemocultivo secundario al consumo o producción de gas.
- Sistema Pall eBDS, el cual monitorea la concentración de oxígeno en el espacio superior de una bolsa satélite que se incuba a 37°C.

## CONCLUSIONES

- La inactivación de patógenos son métodos que contribuyen a aumentar la seguridad transfusional, contribuyen en la inactivación de gérmenes de importancia clínica como el virus de hepatitis A y el parvovirus B19; contra virus asociados a células como citomegalovirus (CMV) y las formas pro virales del VIH; contra la contaminación bacteriana en concentrados plaquetarios y finalmente la reducción de la inmunomodulación dependiente de los leucocitos con la eventual eliminación de los rayos gamma.
- La inactivación de patógenos en las unidades de plasma y plaquetas se ha demostrado que es eficaz contra virus, bacterias (excepto las esporas) y protozoos; por lo tanto, se demuestra el aumento de la seguridad de la sangre al eliminar el riesgo de transmisión de patógenos de enfermedades emergentes y reemergentes.
- La eliminación de agentes infecciosos mediante los distintos métodos de inactivación de patógenos en plasma y plaquetas, es importante cuando el tamizaje resulta no reactivo por el periodo de ventana del virus.
- Las enfermedades emergentes y re-emergentes que no tienen pruebas de laboratorio estandarizadas para su detección en la seguridad transfusional como chikungunya, zika, fiebre amarilla, *Leishmania*, *Plamosdium* en países de alto índice endémico; han demostrado disminución de reacciones transfusionales agudas aplicando los métodos de inactivación de patógenos.
- La aplicación de la inactivación de patógenos nos otorga la posibilidad de dar mayor seguridad a tratamientos en enfermedades, tal como la hipofibrinogenemia usando



crioprecipitados, los cuales son tan seguros como los concentrados industriales de fibrinógeno; además de eliminar la radiación gamma a los concentrados de plaquetas para prevenir la enfermedad injerto contra huésped.

- El sistema THERAFLEX con luz UVC tiene un alto efecto contra bacterias y la mayoría de virus transfusionales, pero una moderada efectividad contra el VIH. Sin embargo, cuando se realizan pruebas de detección de VIH altamente sensibles, THERAFLEX basado en UVC podría reducir aún más el riesgo de transmisión del virus durante el "período de ventana" en el que la prueba de ácido pre-nucleico puede ser negativa en pacientes con infecciones ocultas.
- La inactivación de patógenos es particularmente útil frente a agentes infecciosos con un largo periodo de incubación, por lo cual se previene que donantes asintomáticos portadores de infecciones expandan la enfermedad. Un objetivo ideal a futuro es disponer de un tratamiento eficaz aplicable a la sangre total con acción simultánea sobre todo los componentes sanguíneos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvarez M; Gonzales R; Hernández J. Residual risk of transfusion-transmitted viral infections in Spain, 1997-2002, and impact of nucleic acid testing. *Euro Surveill*. [Internet] 2005 [citado 21 setiembre 2021]; 10(2). Disponible en: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/esm.10.02.00521-en>
2. Rojo J, Picker S, García J, Gathof B. Inactivacion de Patógenos en productos sanguíneos. *Rev. Med. Hosp Gen Mex*. [Internet] 2006 [citado 21 setiembre 2021]; 69(2): 99 – 107. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=9211>
3. Lozano Molero M, Cid Vidal J. Actualizacion de tecnología de la inactivación de patógenos basado en amotosaleno y FRALE. Segunda ed. Soler H, editor. Barcelona: ICG Marge; 2008.
4. Maschner S, Goodrich R. Pathogen reduction technology treatment of platelets, plasma and whole blood using riboflavin and UV light. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. [Internet] 2011 [citado 21 setiembre 2021]; 38(8-18). Disponible en: <https://www.karger.com/Article/Abstract/324160>
5. Luis C. Inactivacion de patogenos en componentes sanguíneos. In XXI Congreso Nacional de la SETS; 2010; España. p. 125.
6. Leon de Gonzales G. Tecnologías de reducción de patógenos: Una alternativa en la seguridad transfusional. *Rev Arg Transfusion*. Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional. [Internet] 2020 [citado 21 setiembre 2021]. Disponible en: <https://aahitc.org.ar/rat/202005/files/basic-html/page55.html>
7. Seghatchian J, De Sousa G. Pathogen-reduction systems for blood components: The current position and future trends. *Transfusion and Apheresis Science*. [Internet] 2006 [citado

21 setiembre 2021]; 35(3): 189-96. Disponible en: [https://www.trasci.com/article/S1473-0502\(06\)00136-4/fulltext](https://www.trasci.com/article/S1473-0502(06)00136-4/fulltext)

8. Prowse C, Stassinopoulos A. Inactivacion de patógenos en hemocomponentes: Revisión Crítica. Rev. Argentina de transfusión. [Internet] 2014 [citado 21 setiembre 2021]; XLIII(4): 233-54. Disponible en: [www. https://www.aahtc.org.ar/](http://www.aahtc.org.ar/)

9. Waters L, Cameron M, Padula P, Marks D, Johnson L. efrigeration, cryopreservation and pathogen inactivation: an updated perspective on platelet storage conditions. Vox Sanguinis [Internet] 2018 [citado 10 enero 2022]; 113(4), 317-28. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/vox.12640>

10. Seghatchian J, Hervig T. Effect of pathogen inactivation on the storage lesion in red cells and platelet concentrates. Transfus Apher Sci.[Internet] 2011 [citado 01 noviembre 2021];1(45). Disponible en: [https://www.trasci.com/article/S1473-0502\(11\)00093-0/fulltext](https://www.trasci.com/article/S1473-0502(11)00093-0/fulltext)

11. Brixner V, Kiessling A, Madlener K, Muller M, Leibacher J, Dombos S et al. Red blood cells treated with the amustaline (S-303) pathogen reduction system: a transfusion study in cardiac surgery. Transfusion [Internet] 2018 [citado 01 noviembre 2021];58(4),905-16. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/trf.14528>

12. Godbey E, Thibodeaux S. Ensuring safety of the blood supply in the United States: Donor screening, testing, emerging pathogens, and pathogen inactivation. Elsevier [Internet] 2019 [citado 01 noviembre 2021]; 56: 229-35. Disponible en: <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2019.11.004>

13. Wagner S. Transfusion-transmitted bacterial infection: risks, sources and interventions. VoxSanguinis. [Internet] 2004 [citado 01 noviembre 2021]; 86(3): 157-163. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.0042-9007.2004.00410.x>

14. Amorin L. Importancia de la inactivación de patógenos en el mantenimiento de la seguridad de la sangre en américa latina. Rev.Cubana de hematología. [Internet] 2017 [citado 8 noviembre 2021]; 1(36). Disponible en: <http://revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/836>
15. Rivera J, Lozano M. Inactivación de plasma. In XXI Congreso Nacional de la SETS; 2010; Barcelona. p. 126-128.
16. Seltsam A, Muller T. UVC Irradiation for Pathogen Reduction of Platelet Concentrates and Plasma. Transfus Med Hemother. [Internet] 2011 [citado 8 noviembre 2021];38(1):43-54. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/Abstract/323845>
17. Pelletier J, Transue S. Pathogen inactivation techniques. BestPract Res Clin Haematol. [Internet] 2006 [citado 10 noviembre 2021]; 10(1): 205-242. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7106341/>
18. López Tricas J. Info-farmacia. [Internet].; 2014 [citado 6 noviembre 2021]. Disponible en: <http://www.info-farmacia.com/medico-farmaceuticos/informes-tecnicos/trasfusiones-de-sangre-mas-seguras>
19. Osselaer JC, Messe N, Hervig T, et al. A prospective observational cohort safety study of 5106 platelet transfusions with components prepared with photochemical pathogen inactivation treatment. Transfusion [Internet] 2008 [citado 01 diciembre 2021]; 48: 1061-71. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1537-2995.2008.01643.x>
20. Lin L, Dikeman R, Molini B, et al. Photochemical treatment of platelet concentrates with amotosalen and long-wave-length ultraviolet light inactivates a broad spectrum of pathogenic bacteria. Transfusion [Internet] 2004 [citado 01 diciembre 2021]; 44: 1496-504. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1537-2995.2004.04125.x?sid=nlm%3Apubmed>

21. Fast LD, Dileone G, Li J, Goodrich R. Functional inactivation of white cells by Mirasol treatment. *Transfusion* [Internet] 2006 [citado 01 diciembre 2021]; 46: 642-8. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1537-2995.2006.00777.x>
22. Perez-Pujol S, Tonda R, Lozano M, et al. Effects of a new pathogen reduction technology (Mirasol PRT) on functional aspects of platelet concentrates. *Transfusion* [Internet] 2005 [citado 10 diciembre 2021]; 45:911-9. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1537-2995.2005.04350.x>
23. Arbaeen A, Schubert P, Sheffield W, Devine D. Pathogen reduction of whole blood: Supplementing fibrinogen partly corrects clot formation in a massive transfusion model. *Transfusion* 2021 [citado 14 enero 2022]; 1–10. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/trf.16382>
24. Eickmann M, Gravemann U, Handke W, Tolksdorf F, Reichenberg S, Muller T, Seltsam A. Inactivation of Ebola virus and Middle East respiratory syndrome coronavirus in platelet concentrates and plasma by ultraviolet C light and methylene blue plus visible light, respectively. *Transfusion* [Internet] 2018 [citado 10 diciembre 2021];58(9):2202-207. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/trf.14652>
25. Mohr H, Steil L, Gravemann U, et al. A novel approach to pathogen reduction in platelet concentrates using short-wave ultraviolet light. *Transfusion* 2009 [citado 15 diciembre 2021];49:2612-24. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1537-2995.2009.02334.x>
26. Terpstra FG, Van't Wout AB, Schuitemaker H, et al. Potential and limitation of UVC irradiation for the inactivation of pathogens in platelet concentrates. *Transfusion* [Internet] 2008 [citado 21 diciembre 2021]; 48: 304-13. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1537-2995.2007.01524.x>

27. Cerus Corporation. Intercept Blood System, Plasma methodologies. Ficha tecnica. 2019 [citado 21 diciembre 2021]. Recuperado a partir de: <https://annardx.com>
28. Jutzi M, Mansouri Taleghani B, Rueesch M, Amsler L, Buser A. Nationwide Implementation of Pathogen Inactivation for All Platelet Concentrates in Switzerland. *Transfus Med Hemother* [Internet] 2018 [citado 28 enero 2022];45:151–6. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/489900>
29. Kaiser-Guignard J, Canellini G, Lion N, Abonnenc M, Osselaer JC, Tissot JD. The clinical and biological impact of new pathogen inactivation technologies on platelet concentrates. *Blood Rev* [Internet]. 2014 [citado 28 enero 2022];28(6):235–41. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268960X14000575?via%3Dihub>
30. Cid J, Lozano M. Pathogen inactivation of platelets for transfusion. *Platelets* [Internet]. 2021; [citado 28 enero 2022];33(1):23-6. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09537104.2021.1935838>
31. Allain JP, Goodrich R. Pathogen reduction of whole blood: utility and feasibility. *Transfus Med.* [Internet] 2017 [citado 30 enero 2022];27(5):320–6. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tme.12456>
32. Seghatchian J, de Sousa G. Pathogen-reduction systems for blood components: The current position and future trends. *Transfus Apher Sci.* [Internet] 2006 [citado 15 diciembre 2021];35(3):189–96. Disponible en: [https://www.trasci.com/article/S1473-0502\(06\)00136-4/fulltext](https://www.trasci.com/article/S1473-0502(06)00136-4/fulltext)
33. Arroyo J, Ramirez S, Miranda J. Guía de control de calidad microbiológico de componentes plaquetarios para incrementar la seguridad en su uso clínico en México. Secretaria de Salud México [Internet] 2020 [citado 22 octubre 2022]. Disponible en: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/577062/Gu\\_a\\_plaquetas\\_2020\\_formato.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/577062/Gu_a_plaquetas_2020_formato.pdf)

## ANEXOS

**Figura 1.**

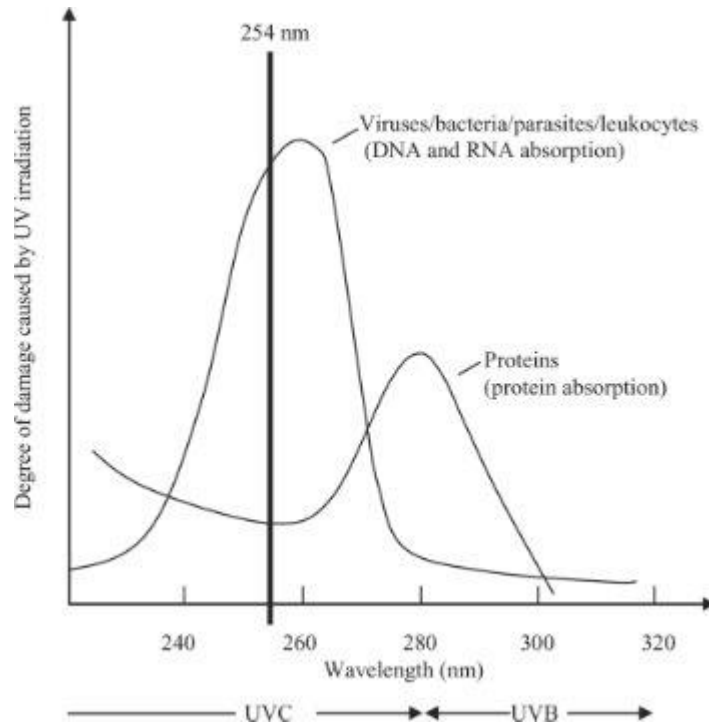
Listado de arbovirus y su disminución de logaritmos por inactivación de patógenos (6)

Virus <sup>a</sup>	Component	Method	Logs of inactivation <sup>b</sup>
DEN-1	PAS	Amot	>5.0 <sup>c</sup>
DEN-1	Plasma	Amot	>5.61
DEN-2	AP in PAS	Amot	>5.0
DEN-2	AP	Amot	>3.01
DEN-2	AP	Ribo	0.76–1.58
DEN-3	PAS	Amot	>4.5
DEN-4	PAS	Amot	>5.2
DEN 1–4	BC <sup>d</sup> platelets	Ribo	1.28–1.81
CHIK	AP in PAS	Amot	>6.4
CHIK	Plasma	Amot	>7.6
CHIK	AP in PAS	Ribo	2.2
CHIK	Plasma	Ribo	2.1
CHIK	AP	Amot	>3.75
CHIK	AP	Ribo	>3.73
Zika	Plasma	Amot	>6.57
RRV <sup>f</sup>	BC platelets	Ribo	2.33
BFV <sup>f</sup>	BC platelets	Ribo	1.97
MVEV <sup>f</sup>	BC platelets	Ribo	1.83

Abreviaturas: Amot, amotosalen / UVA; AP, aféresis plaquetaria; BC, buffy coat; BFV, virus del bosque de Barmah; CHIK, V Chikunguña; DEN, V dengue; MVEV, virus de encefalitis de Murray Valley; PAS, solución aditiva de plaquetas (contiene 35% de plasma); Ribo, riboflavina / UV; RRV, virus del río Ross

**Figura 2.**

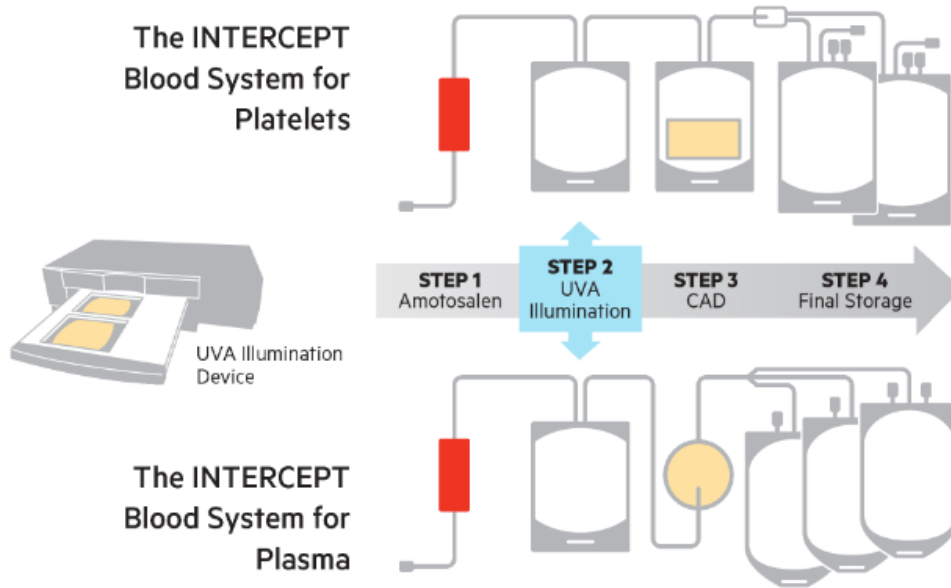
Dibujo esquemático del daño al ADN de patógenos, leucocitos y proteínas con UV (UVB y UVC) a diferentes longitudes de onda.



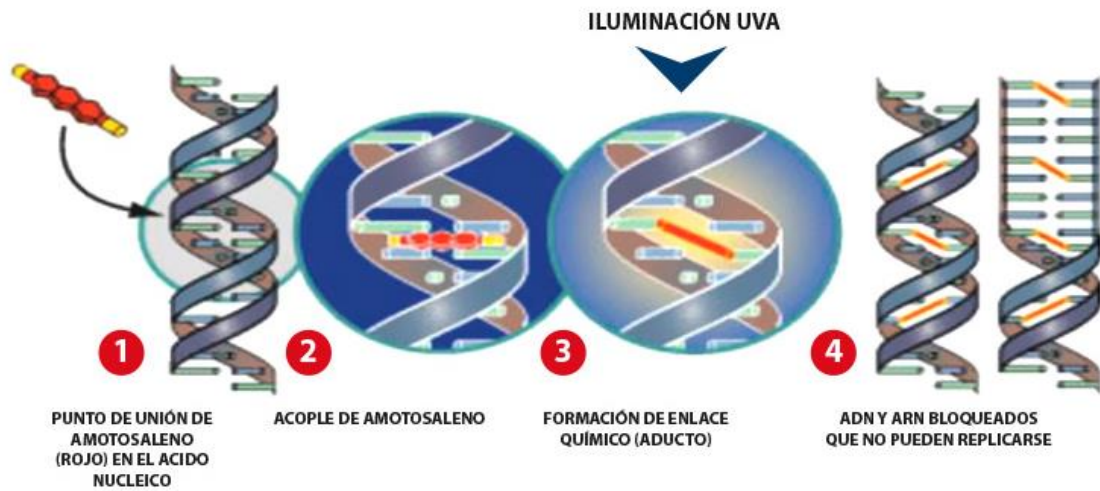


**Figura 3**

Tratamiento fotoquímico con amotosaleno y luz UVA (INTERCEPT)



**BLOQUEO DE LA REPRODUCCIÓN  
POR INACTIVACIÓN DEL DNA Y RNA**



## Figura 4

Tratamiento con Vitamina B2 y luz UV (MIRASOL)



**Figura 5**

Tratamiento con luz UVC (THERAFLEX UV – THERAFLEX MB)

