



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

**MÉTODOS DE INACTIVACIÓN DE PATÓGENOS PARA
REDUCIR EL POSIBLE RIESGO DE TRANSMISIÓN DE
SARS-CoV-2 PRE-TRANSFUSIÓN DE
HEMOCOMPONENTES**

**PATHOGEN INACTIVATION METHODS TO REDUCE
THE POSSIBLE RISK OF SARS-CoV-2 TRANSFUSION
PRE-TRANSFUSION OF HEMOCOMPONENTS**

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

AUTORA

Anita Del Carmen Leyva Carlos

ASESORES

Billy Joel Sánchez Jacinto

Raúl Edwin Correa Ñaña

LIMA - PERÚ

2022

Fecha de aprobación: 15 de Julio del 2022

Calificación: Aprobado

ASESORES DE TRABAJO ACADÉMICO

Licenciado Billy Joel Sánchez Jacinto

Departamento Académico de Tecnología Médica

ORCID: 0000-0001-7106-4114

Licenciado Raúl Edwin Correa Ñaña

Departamento Académico de Tecnología Médica

ORCID: 0000-0002-1565-626X

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres.

AGRADECIMIENTO

Me gustaría agradecer en estas líneas en primer lugar a Dios por ser mi guía y acompañarme en el transcurso de mi vida, brindándome paciencia y sabiduría para culminar con éxito mis metas propuestas.

Así mismo, agradecer a mis padres que me han ayudado y apoyado en todo mi producto, a mis tutores, Billy Sánchez Jacinto, Raúl Correa Ñaña y Jimmy Morales Del Pino, por haberme orientado en todos los momentos que necesité sus consejos.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

El presente estudio fue autofinanciado.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERES

Declaro que esta monografía es original y se ha reconocido el uso del trabajo de otros autores donde corresponda.

Se ha seguido los lineamientos respectivos para respetar la ética en investigación y este mismo será utilizado para obtener un Título de Segunda Especialidad en Hemoterapia y Banco de Sangre.

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	
ABSTRACT.....	
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO.....	4
CAPITULO I.....	5
1. SITUACIÓN ACTUAL DE LA PANDEMIA.....	5
2. SARS-CoV-2.....	5
2.1 Estructura.....	5
2.2 Mecanismo de infección.....	6
2.3 Vías de transmisión.....	6
3. MÉTODOS DE INACTIVACIÓN O REDUCCIÓN DE PATÓGENOS EN HEMOCOMPONENTES.....	7
3.1 Definición.....	7
3.2 Tipos.....	7
Ventajas.....	
Desventajas.....	
Procedimiento.....	
4. TECNOLOGÍAS DE INACTIVACIÓN O REDUCCIÓN DE PATÓGENOS EN HEMOCOMPONENTES.....	17
CONCLUSIONES.....	24
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
ANEXOS.....	32

RESUMEN

En diciembre del 2019 surgió en la ciudad de Wuhan en China una nueva enfermedad llamada Covid 19 que es causada por un nuevo coronavirus (SARS-CoV-2), el cual se propagó rápidamente; por ello la Organización Mundial de la Salud (OMS) lo declaró pandemia. Los coronavirus suelen infectar el tracto respiratorio, pero se ha visto presencia viral en plasma o suero por lo que existe un riesgo que pueda transmitirse por transfusión de hemocomponentes, para disminuir este riesgo se puede hacer uso de los métodos de inactivación o reducción de patógenos en hemocomponentes, estos métodos pueden darse mediante inactivación por calor, tratamiento con disolvente o detergentes, ultrafiltración y tratamiento fotoquímico. **Objetivo:** Analizar información con evidencia científica acerca de los métodos de inactivación o reducción de patógenos para disminuir el posible riesgo de transmisión de SARS-CoV-2 pre-transfusión de hemocomponentes. Se realizó una búsqueda bibliográfica utilizando base de datos como Cochrane, Pubmed y Google académico, el algoritmo usado fue “Métodos de inactivación o reducción de patógenos SARS-CoV-2”. **Conclusión:** La revisión bibliográfica demuestra que los métodos de inactivación o reducción disminuyen la necesidad de implementar pruebas de detección ya que permite la reducción de un amplio espectro de patógenos, estos métodos han demostrado disminuir el posible riesgo de transmisión de SARS-CoV-2 pre-transfusión de hemocomponentes.

Palabras claves: Inactivación de virus, patógenos, SARS- CoV- 2, Coronavirus, Transfusión sanguínea. (DeCS y MeSH)

ABSTRACT

In December 2019, a new disease called Covid 19 emerged in the city of Wuhan in China, which is caused by a new coronavirus (SARS-CoV-2), which spread rapidly; therefore, the World Health Organization (WHO) declared it a pandemic. Coronaviruses usually infect the respiratory tract, but viral presence has been seen in plasma or serum so there is a risk that it can be transmitted by transfusion of hemocomponents, to reduce this risk can be made use of methods of inactivation or reduction of pathogens in hemocomponents, these methods can occur by heat inactivation, treatment with solvents or detergents, ultrafiltration and photochemical treatment. **Objective:** To analyze information with scientific evidence about pathogen inactivation or reduction methods to reduce the possible risk of SARS-CoV-2 transmission pre-transfusion of hemocomponents. A bibliographic search was performed using databases such as Cochrane, Pubmed and Google Scholar, the algorithm used was "SARS-CoV-2 pathogen inactivation or reduction methods". **Conclusion:** The literature review demonstrates that inactivation or reduction methods decrease the need to implement screening tests as they allow the reduction of a broad spectrum of pathogens, and have been shown to decrease the potential risk of SARS-CoV-2 transmission pre-transfusion of blood components.

Keywords: Virus inactivation, pathogens, SARS- CoV- 2, Coronavirus, Blood transfusion. (DeCS and MeSH)

INTRODUCCIÓN

Durante diciembre de 2019 se notifica por vez primera el SARS-CoV-2 en China, su propagación fue rápida infectando a miles de personas y causando miles de muertes (1,2), y fue declarada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una emergencia de salud pública de preocupación internacional, el 30 de enero del 2020 y el 11 de marzo del 2020 se declara como pandemia (3). En el Perú el gobierno decreta cuarentena general el 16 de marzo del 2020 (4,5). Al 14 de enero del 2022 el Ministerio de Salud informa que en el Perú el número total de casos positivos de Covid-19 es de 2.512.789 y de fallecidos es de 203.302, viéndose el mayor número de casos fallecidos en los adultos mayores con 140.993 casos y en los varones con 129.387 casos (6).

Los coronavirus son una amplia familia de virus que pueden causar enfermedades tanto en humanos como en animales (7). En los humanos pueden causar desde un resfriado común hasta enfermedades más graves, como el que causa el síndrome respiratorio severo agudo (SARS-CoV) y el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV), en la actualidad hay una nueva cepa de coronavirus que antes no se había encontrado en el ser humano, el cual se conoce como SARS-CoV-2, causante de la Covid-19, es un virus ARN monocatenario positivo con envoltura de bicapa lipídica derivada de la membrana celular del huésped y constituido por cuatro proteínas estructurales (S, M, E y N), además de una hemaglutinina-esterasa (8).

Un estudio notificó que el virus ha sido aislado en diferentes muestras como tracto respiratorio, sangre total, suero, orina, heces, saliva e incluso lágrimas (9). La vía de

transmisión del SARS-CoV-2 es a través de los aerosoles, sin embargo, se desconoce si puede transmitirse mediante transfusión de sangre (10).

El ARN del SARS-CoV-2 puede amplificarse a partir de sangre de ambos donantes enfermos y asintomáticos (11,12) lo que puede llevar a suponer que existe un riesgo durante la donación de sangre o hemocomponentes (13).

A pesar de estas notificaciones, la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) y los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) actualmente no recomiendan ninguna acción específica relacionada con el SARS-CoV-2 (14). Mientras tanto, el Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades (ECDC) sugiere un aplazamiento preventivo de la donación de sangre durante 21 días después de cualquier posible exposición a los pacientes confirmados (15), en el Perú el Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre (PRONAHEBAS), basado en el documento emitido por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) da un tiempo de diferimiento de un mes (16).

Actualmente en el área de Banco de Sangre existen técnicas para mitigar la presencia de patógenos en los hemocomponentes, mediante métodos de inactivación o reducción de patógenos, los cuales principalmente son: Tratamiento con disolventes o detergentes, inactivación por calor y ultrafiltración, pueden usarse solos o individualmente (13). Existen riesgos de dañar algunos hemoderivados con el uso de estos métodos, por ello no se recomienda el uso de un mismo método para todos los productos sanguíneos (9,17).

El método fotoinactivador está siendo ampliamente empleado para el tratamiento de inactivación o reducción de patógenos en sangre y hemoderivados (13,18), para ello se emplea el azul de metileno más la luz visible, luz ultravioleta A unido al amotosaleno, que inactivan eficazmente la familia de los coronavirus en concentrado de plaquetas y/o plasma (19), y riboflavina con luz ultravioleta que va a reducir el riesgo de la posible transmisión del virus SARS-CoV-2, en plasma y sangre entera, manteniendo la calidad de los productos sanguíneos (13).

Por tal motivo, ante la actual coyuntura debemos tener en consideración que al no existir estudios que confirmen con certeza que el SARS-CoV-2 no se transmite por transfusión de hemocomponentes y las recomendaciones de la AABB y el ECDC discrepan con respecto al tiempo de diferimiento de la donación de sangre en donantes con exposición al SARS-CoV-2; Sería recomendable hacer uso de métodos de inactivación o reducción de patógenos y de esta manera estar seguros de evitar la transmisión del virus a través de una transfusión sanguínea.

OBJETIVO

Analizar información con evidencia científica acerca de los métodos de inactivación o reducción de patógenos para disminuir el posible riesgo de transmisión de SARS-CoV-2 pre-transfusión de hemocomponentes.

CAPITULO I

1. SITUACIÓN ACTUAL DE LA PANDEMIA POR SARS-CoV-2

El SARS-CoV-2 es un coronavirus que surgió en la ciudad China de Wuhan en diciembre del 2019, al poco tiempo se extendió a diversos países vecinos entre ellos a Tailandia, Japón y Corea (8), la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró que el brote era una emergencia de salud pública e interés internacional (8). La OMS informa que, en el mundo hasta el 21 de enero del 2022, ha habido 340.543.962 casos confirmados de COVID-19, incluidas 5.570.163 muertes y en el Perú desde el 3 de enero del 2020 hasta 14 enero del 2022, se ha reportado 2.512.789 casos confirmados con 203.302 muertes (6,20).

2. SARS-CoV-2

2.1 ESTRUCTURA

El SARS-CoV-2 es un virus ARN monocatenario positivo, se clasifica dentro del género *Betacoronavirus*, subfamilia *Orthocoronavirinae* y familia *Coronaviridae*, posee forma esférica que presenta proteínas que se proyectan en forma de puntas desde su superficie. Está envuelta en una bicapa lipídica que se deriva de la membrana de la célula huésped y presenta cuatro proteínas estructurales las cuales son: la proteína espiga (S), membrana (M), envoltura (E) y nucleocápside (N), además de una hemaglutinina-esterasa (8).

2.2 MECANISMO DE INFECCIÓN

La entrada del SARS-CoV-2 a las células se da mediante la unión de la proteína S, la cual se encuentra en la superficie del virus, con el receptor ACE-2 (enzima convertidora de angiotensina 2) de las células huésped. La ACE-2 interviene regulando procesos como la inflamación o la presión sanguínea, su función es modular la actividad de la angiotensina 2 para contrarrestar sus efectos dañinos. La proteína S está formada por tres unidades idénticas que encajan con el receptor ACE-2 y median la fusión de la cubierta membranosa del virus con la membrana de la célula que está siendo infectada, esta unión marca el punto de destino del virus en el organismo, pero la activación de la proteína S abre las puertas de la célula al virus (21).

2.3 VÍAS DE TRANSMISIÓN DEL SARS-CoV-2

La transmisión se puede dar de forma vertical a través de la placenta, pero es poco frecuente (22), la principal vía de transmisión es a través de gotículas que son generadas cuando la persona infectada tose, estornuda o espira (9,22). El virus ha sido aislado en diferentes muestras como tracto respiratorio, sangre total, suero, orina, heces, saliva e incluso lágrimas (9). Sin embargo; hasta el momento se desconoce si puede transmitirse mediante transfusión de sangre (10). El ARN del SARS-CoV-2 puede amplificarse a partir de sangre de ambos donantes enfermos y asintomáticos (11,12) lo que puede llevar a suponer que existe un riesgo durante la donación de sangre o hemocomponentes (13). Sin embargo, en la actualidad existen procedimientos para disminuir el riesgo de

transmisión de patógenos a través de los hemocomponentes, los cuales se realizan mediante métodos de inactivación o reducción de patógenos.

3. MÉTODOS DE INACTIVACIÓN O REDUCCIÓN DE PATÓGENOS EN HEMOCOMPONENTES

3.1 DEFINICIÓN

Los métodos de inactivación o reducción de patógenos para los hemocomponentes, permiten la reducción y eliminación de agentes patógenos que pueden ser transmitidos a través de la transfusión, son un tema de investigación permanente en la medicina transfusional (23). Dentro del contexto de la globalización y de los patógenos emergentes resultan ser una solución, brindando mayor seguridad a los pacientes (24,25). Estos métodos deben estar dirigidos a la eliminación de bacterias (Gram positivas y Gram negativas), como de virus (con y sin cápside), así como de parásitos (23).

3.2 TIPOS DE MÉTODOS DE INACTIVACIÓN O REDUCCIÓN

Los métodos de inactivación o reducción de hemocomponentes pueden ser:

3.2.1. Inactivación o reducción por calor: Es un método que a través del calor se desnaturaliza las estructuras secundarias de las proteínas de los virus, modificando su conformación; siendo éstas las que se encargan de unirse y replicarse dentro de una célula huésped (26).

Estudios han demostrado que a través de este método se han logrado inactivar o reducir al SARS-CoV y MERS-CoV del plasma (18,26,27).

El efecto potencial de la inactivación por calor ha sido probado experimentalmente para el SARS-CoV y el MERS-CoV (26,27). Resultaría de gran valor conocer su efecto en el SARS-CoV-2 con la finalidad de elaborar medidas de intervención de políticas públicas adecuadas en el momento actual.

Ventajas:

- Se emplea en productos fabricados derivados del plasma (18).

Desventajas:

- Se produce una desnaturalización de las proteínas de los componentes sanguíneos.

Procedimiento:

El estudio realizado por Darnell M et al. (26) Plantea que el procedimiento a seguir para la inactivación del SARS-CoV fue:

Incubar el suero humano enriquecido con virus a dos temperaturas, durante periodos de tiempo creciente:

- Calentando a 56 °C por 25 minutos el plasma.
- Calentando a 65 °C por 15- 30 minutos el plasma.

Habiendo demostrado que; la incubación a 56 °C luego de 20 minutos, inactivó al SARS-CoV y la incubación a 65°C, requirió 10 minutos para inactivar al SARS-CoV.

Así mismo, Ledclercq I et al. (27) En el estudio que realizaron, nos menciona que el procedimiento realizado para la inactivación del MERS-CoV, fue someter los sobrenadantes de cultivo de MERS-CoV, a tres

temperaturas a lo largo del tiempo, luego se analizó la infectividad mediante el método TCID 50 en células Vero E6.

Quedando demostrado que:

- A 56°C, fueron necesarios casi 25 minutos para reducir el título inicial en 4 log 10.
- A 65°C tuvo un fuerte efecto negativo sobre la infectividad viral ya que la virucida se redujo significativamente a 1 minuto.
- A 25°C, no se observó una disminución significativa del título después de 2 horas.

3.2.2. Inactivación o reducción mediante uso de detergentes o disolventes:

Este método estandarizado de inactivación o reducción de patógenos para productos sanguíneos humanos, fue el primero en ser usado para hemocomponentes (26,28). Actúa a nivel de la cubierta lipídica de los virus encapsulados provocando su ruptura, lo que causa que éstos pierdan su capacidad de infectar y replicarse (28).

Ventajas:

- Reduce el riesgo de sufrir de lesión pulmonar aguda producida por transfusión (TRALI) y reacciones alérgicas, al provocar la dilución y neutralización de los anticuerpos y/o sustancias bioactivas que causan esos efectos adversos (29).

Desventajas:

- Incapacidad de inactivar virus no encapsulados.
- Se desconoce su eficacia frente a bacterias, parásitos y priones.
- No aplicable a los componentes sanguíneos celulares, ya que destruye las membranas plasmáticas.
- Provoca pérdida moderada de factores de coagulación, y de otras proteínas plasmáticas (29).

Procedimiento:

Según el estudio realizado por Darnell M et al. (26) El procedimiento a seguir fue:

Diluir el virus SARS-CoV en las soluciones de proteínas BSA y PBS, tratar con disolventes o detergentes e incubar a temperatura ambiente, las lecturas se hicieron periódicamente durante 24 horas.

- Las muestras tratadas con TNBP/ Triton X-100, a las 2 horas mostraron inactivación del SARS-CoV, tanto en PBS como en BSA.
- Las muestras tratadas con TNBP/ Tween 80, a las 2 horas inactivaron por completo el SARS-CoV en PBS y a las 4 horas en las soluciones de proteínas BSA.
- Las muestras tratadas con TNBP/Colato de sodio, a las 2 horas inactivaron el SARS-CoV en PBS, y después de 24 horas aún fue detectable en BSA.

Estos resultados muestran que la inactivación o reducción con detergentes o disolventes para tratar el SARS-CoV va a depender del método utilizado, la duración del tratamiento y la concentración de proteínas de la solución.

3.2.3. Ultrafiltración: Se encuentra en fase de desarrollo, para asegurar la seguridad transfusional puede emplearse junto a la inactivación fotoquímica. Se realiza a través de filtros cuyo tamaño de poro varía entre 15-50 nm, retiene la mayoría de virus (20- 200 nm) (29), se utiliza en la fabricación del concentrado de factor IX de la coagulación (30).

Respecto a esta metodología la búsqueda exhaustiva de evidencia científica no nos brinda más información.

3.2.4. Métodos fotoinactivadores: Se basa en la fotoexposición a luz ultravioleta (UV) del hemocomponente, previamente mezclado con una sustancia química que permite desnaturalizar el material genético, inhibiendo así la actividad replicativa del patógeno como de la célula hospedera infectada (24).

Ventajas:

- Inactivación de linfocitos, evitando de esa manera la Enfermedad Injerto versus huésped y la aloinmunización, reemplazando así la necesidad de irradiar (Y) y leucorreducir los hemocomponentes, respectivamente (28).

- Efectivo contra virus encapsulados, parásitos, leucocitos y algunos virus no encapsulados, reduciendo de esta manera los riesgos de una posible infección de patógenos que son tamizados en los bancos de sangre y también disminuyendo la incidencia de infección bacteriana en receptores de componentes sanguíneos (28).
- No afecta de manera relevante a las proteínas trombóticas (29).

Desventajas:

- No se ha demostrado que sea efectivo inhibiendo o reduciendo priones.
- Para componente hemático aún están en desarrollo (28).

Dentro de los métodos fotoinactivadores tenemos los siguientes:

A. Método fotoinactivador con luz ultravioleta A y B con amotosaleno:

Amotosaleno se encuentra en muchas sustancias alimenticias y presenta alta afinidad por los ácidos nucleicos, se intercalan entre estos, ya sean de cadena simple o de doble hélice, uniéndose reversiblemente, cuando se da la activación final del proceso con breve radiación con luz ultravioleta de onda larga, se forman uniones covalentes irreversibles, con las bases de pirimidina de los ácidos nucleicos; poseen un amplio espectro

de acción contra virus encapsulados y sin cápside, virus asociados o no asociados a células, bacterias y contra protozoarios (23).

Hindawi S et al. (31) Reportaron la eficacia del amotosaleno y la luz ultravioleta A para inactivar MERS-CoV en plasma fresco, para ello las unidades de plasma fresco congelado se enriquecieron con un aislado de MERS-CoV. Los títulos virales infecciosos y genómicos se determinaron en plasma antes y después de la inactivación con amotosaleno y luz ultravioleta A, se realizó el ensayo en placa y la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa cuantitativa en tiempo real (RT qPCR). Se obtuvo la inactivación completa de MERS-CoV en las unidades de plasma, no se mostró un efecto significativo en los títulos genómicos virales, por ello para excluir la posibilidad de cualquier replicación residual del MERS-CoV en los plasmas tratados, se inocularon las muestras recogidas en células Vero E6 y se evaluó la infectividad en tres pases sucesivos, no encontrándose replicación viral, incluso después de 7 días de incubación y los tres pases, por lo que los investigadores demostraron que el amotosaleno y la luz ultravioleta A son buenos inactivadores de patógenos en plasma fresco congelado.

B. Método fotoinactivador con luz ultravioleta A y B con riboflavina

La riboflavina es un fotosensibilizante que, en presencia de la excitación de luz ultravioleta, puede inducir cambios en el ADN y ARN mediante la transferencia de electrones y la reactivación, generando especies de oxígeno, estos cambios llevan a producir la incapacidad de los patógenos a replicarse (13).

Ragan I et al.(13) Evaluaron la eficacia de la riboflavina junto a la luz ultravioleta para reducir la transmisión de SARS-CoV-2 por transfusión de plasma y sangre total, se usaron plasmas preparados a partir de sangre total (n=9) y sangre total no leucorreducida (n=3), los plasmas se separaron en 3 grupos de 3 por tipo ABO, seguidamente se inocularon con SARS-CoV-2 y luego fueron sometidas a tratamiento con riboflavina y luz ultravioleta, para ello los productos de plasma de cada conjunto de 3 fueron tratados al 30%, 60% o 100% de la dosis total de luz ultravioleta recomendada, el tiempo medio de tratamiento para estos productos fue de 4 minutos, la sangre total no leucorreducida tuvo un tiempo de tratamiento de 52 minutos. Los títulos infecciosos del SARS-CoV-2 en las muestras antes y después del tratamiento con riboflavina y luz ultravioleta se determinaron por ensayo en placa en células Vero E6. Se obtuvo una reducción logarítmica media de los títulos virales, en plasma

y sangre total, demostrando que la riboflavina y la luz ultravioleta reducen efectivamente el título del SARS-CoV-2 en plasma humano y sangre total.

C. Método fotoinactivador con luz visible unido a azul de metileno:

El azul de metileno es un fotosensibilizante que tiene un pico de absorción máximo de 670 nm, en su superficie lleva carga positiva que puede incrustarse en el ADN o ARN, especialmente unirse a los pares de bases de G-C de los ácidos nucleicos virales, cargados negativamente. Bajo la luz visible el azul de metileno absorbe la energía de la luz, se activa a un estado de singlete y genera oxígeno singlete a través de la transferencia de electrones, lo que daña y rompe los ácidos nucleicos de esa manera reduce los virus (18).

Jin Ch et al. (18) Determinaron que, si es confiable el tratamiento fotoquímico con azul de metileno para inactivar el virus SARS-CoV-2 en plasma, para ello utilizaron el “Instrumento de tratamiento SIDA BX-1”, el cual utiliza luz LED de longitud de onda única combinada con azul de metileno. Se sembraron virus SARS-CoV-2 en una placa de 96 pocillos con monocapas de células Vero E6 y se añadió 1 uM, 2 uM y 4 uM de azul de metileno y se aplicó la luz durante 40 minutos, los grupos control fueron el grupo no iluminado y el grupo

iluminado sin azul de metileno. Todos los tratamientos se cultivaron y observaron para determinar efectos citopáticos, observándose que en 1 μM , 2 μM y 4 μM de azul de metileno pueden inactivarse completamente el virus y el virus inactivado no afecta el crecimiento celular. El grupo no iluminado y grupo iluminado sin azul de metileno no fueron capaces de inactivar el virus y las células infectadas mostraron necrosis de lesión significativa y exfoliación a gran escala, en el proceso de 3 pases de transmisión celular ciega, no aparecieron lesiones celulares en ninguna generación de células, lo que indica que el virus se inactivó por completo. El azul de metileno aplicado en el instrumento SIDA BX-1 elimina eficazmente el SARS-CoV-2 en plasma en sólo 2 minutos. El título del virus disminuyó a 4.5 \log_{10} TCID₅₀ (dosis infecciosa media de cultivo de tejidos) /mL.

Por lo que los estudios realizados por Eickmann M et al. (32) y Jin Ch et al. (18) Nos brindan evidencia científica de que el azul de metileno más la luz visible dan resultados en la reducción de la infectividad de los coronavirus en plasma.

4. TECNOLOGÍAS DE INACTIVACIÓN O REDUCCIÓN DE PATÓGENOS EN HEMOCOMPONENTES

Las tecnologías de inactivación o reducción de patógenos en hemocomponentes tienen su principio en la metodología de los fotoinactivadores. La tecnología ideal para la inactivación de patógenos debe ser la más económica, fácil de implementar y actuar para un amplio rango de patógenos (virus, bacterias, hongos y protozoos, excepto los priones). No deben causar efectos secundarios ni perjuicio en la calidad del producto. La implementación de tecnologías para la inactivación de patógenos en componentes sanguíneos lábiles está aumentando de forma lenta pero constante (28,29,33).

Tenemos disponibles varias tecnologías, entre las cuales están:

TECNOLOGÍAS DE INACTIVACIÓN PARA PLAQUETAS Y PLASMA

A. INTERCEPT Blood System

Este sistema es fabricado por Cerus Corporation, su mecanismo de acción está basado en las propiedades que tiene un psoraleno, el amotosaleno (compuesto fotoactivo) para penetrar en las membranas celulares y nucleares, uniéndose al ADN y ARN, cuando es activado con luz ultravioleta A. El amotosaleno provoca el entrecruzamiento y anclaje de los ácidos nucleicos, bloqueando irreversiblemente la replicación del ADN y ARN (Figura 1). Luego de la iluminación, el amotosaleno y sus fotoproductos deben ser eliminados mediante la incubación que dura aproximadamente 16 horas (28,33). Sin

embargo, no es adecuado para el paquete globular, ya que la hemoglobina tiene la capacidad de absorber la luz ultravioleta A (33).

Khanna N et al. (34) A través de un estudio de casos y controles emparejados. Para ello recolectaron plasma convaleciente por aféresis de pacientes con COVID-19 ambulatorios, que tuvieran PCR nasofaríngea negativo después de 2 pruebas de PCR o 28 días después de la resolución de los síntomas. La inactivación de los plasmas se realizó usando el INTERCEPT Blood System for Plasma. Los pacientes con plasma convaleciente (CP) se emparejaron con pacientes de control (CTRL) valorando la gravedad de la enfermedad al momento del diagnóstico, mediante una puntuación de riesgo clínico estandarizada. Los pacientes con CP recibieron un total de 400 ml de plasma convaleciente inactivado de 2 donantes durante 48 horas y terapia estándar. Los pacientes de CTRL recibieron terapia estándar de COVID-19 sin CP. El resultado primario fue la muerte hospitalaria hasta el día 28. Los resultados secundarios incluyeron: progresión a la intubación, ingreso a la UCI, tiempo hasta el alta, eventos adversos graves, eliminación viral NP, eliminación viral plasmática y respuestas inmunes humorales. Se incluyeron 15 pacientes con CP y 30 con CTRL. En el hospital, la mortalidad de los pacientes con COVID-19 fue menor en la cohorte plasma convaleciente inactivado, pero no estadísticamente significativa. El plasma convaleciente inactivado fue seguro y puede ser efectivo para el tratamiento temprano de pacientes hospitalizados con COVID-19.

Hashem A et al.(19) Evaluaron la eficacia del amotosaleno y la luz ultravioleta A del Sistema sanguíneo INTERCEP para reducir el riesgo de transmisión del coronavirus MERS-CoV en concentrado de plaquetas humanas, para lo cual inocularon 4 unidades de plaquetas obtenidas por aféresis de donantes que dieron negativo para anticuerpos neutralizantes, con un aislado clínico de MERS-CoV, luego las unidades fueron tratadas con amotosaleno y luz ultravioleta A empleando para ello el equipo de procesamiento de gran volumen INTERCEP y un iluminador INTERCEP, con el fin de inactivar el MERS-CoV. Los títulos virales infecciosos y genómicos, fueron cuantificados mediante el ensayo en placa y la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa cuantitativa en tiempo real (RT qPCR). La reducción logarítmica media fue de 4.48 ± 0.3 . Se obtuvo la inactivación completa de MERS-CoV en las unidades de plaquetas. No se mostró un efecto significativo en los títulos genómicos virales, por ello para excluir la posibilidad de cualquier replicación residual del MERS-CoV en las plaquetas tratadas, se inocularon las muestras recogidas en células Vero E6 y se evaluó la infectividad en tres pases sucesivos, no encontrándose replicación viral, incluso después de 9 días de incubación y tres pases. El tratamiento con amotosaleno y luz ultravioleta A en los concentrados de plaquetas inactivó eficazmente el MERS-CoV (>4 logs), lo que demuestra que reduce el riesgo de transmisión de MERS-CoV a través de la transfusión de plaquetas.

B. SISTEMA MIRASOL PRT

Este sistema fue fabricado por Terumo BCT, se basa en la exposición de la riboflavina a la luz ultravioleta A y B. Una vez expuesta la riboflavina a la radiación, se une a los ácidos nucleicos y media la transferencia de electrones independientes del oxígeno, causando que los ácidos nucleicos se dañen irreversiblemente (Figura 2). Además de utilizarse en plasma y plaquetas, actualmente, se está probando para sangre total (33).

Keil S et al.(35) Habiendo realizado un estudio en el 2016 donde demuestran la efectividad de este sistema, para la inactivación de MERS-CoV, inician la evaluación de la inactivación del SARS-CoV-2 en plasma y plaquetas utilizando el tratamiento fotoquímico basado en riboflavina y luz ultravioleta, para ello usaron plasma obtenido de sangre total (n=5) y plaquetas obtenidas por aféresis (n=3), los plasmas como las plaquetas fueron mezcladas con riboflavina, seguidamente se incocularon con el virus SARS-CoV-2 y luego fueron colocadas en el iluminador Mirasol, para el tratamiento UV. El título medido de SARS-CoV-2 luego del tratamiento, estuvo por debajo del límite de detección. Las reducciones logarítmicas medias en los títulos virales fueron ≥ 3.40 y ≥ 4.53 para las unidades de plasma y plaquetas, respectivamente. Por lo que dichos investigadores demuestran que el tratamiento con riboflavina y luz ultravioleta es eficaz para reducir el riesgo de transmisión por transfusión de SARS-CoV-2.

Es importante señalar que Keil S et al. (36) En el 2016 realizan un estudio previo para evaluar la inactivación del MERS-CoV en plasma mediante el

tratamiento fotoquímico basado en riboflavina y luz ultravioleta, para ello inocularon unidades de plasma con MERS-CoV y luego lo sometieron a tratamiento con riboflavina y luz ultravioleta. En dicho estudio utilizaron inicialmente plasma combinado (n=3), seguidamente se realizó un estudio de verificación en el que se usaron plasmas de donantes individuales (n=6). Después de inocular la mezcla de plasma y riboflavina con el virus, las muestras se colocaron en el iluminador Mirasol para el tratamiento UV. La riboflavina y la luz ultravioleta redujeron el título infeccioso de MERS-CoV por debajo del límite de detección. Las reducciones logarítmicas medias en los títulos virales fueron ≥ 4.07 y ≥ 4.42 para el plasma combinado y de donantes individuales, respectivamente. Los títulos infecciosos de MERS-CoV se determinaron mediante ensayo de placas en células Vero E6. Por lo que también el estudio realizado muestra que el tratamiento con riboflavina y luz ultravioleta reducen el riesgo de transmisión transfusional de MERS-CoV.

C. SISTEMA THERAFLEX

Producto conjunto elaborado entre Macopharma y el Sistema de Sangre de la Cruz Roja Alemana, donde se emplea la luz ultravioleta C (UV C) sin una sustancia fotoactiva. La luz ultravioleta C actúa directamente sobre los ácidos nucleicos formando dímeros de pirimidina que van a bloquear el proceso de transcripción de los ácidos nucleicos (33).

El tratamiento con luz ultravioleta C resulta simple y rápido (33), sin embargo, esta tecnología por sí sola no es efectiva, se tiene que combinar con azul de metileno (Figura 3), llevando a incrementar un paso más, que es la filtración adicional para eliminar el tinte residual (28). Puede usarse en plaquetas y plasma (33).

Las evidencias científicas revisadas aún no muestran estudios de inactivación con este sistema para SARS-CoV-2. Sin embargo, estudios realizados por Eickmann M et al.(32) Evaluaron la inactivación del coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo y otros virus en plaquetas y plasma, mediante los sistemas THERAFLEX UV-platelets y THERAFLEX MB-plasma respectivamente, para ello las plaquetas y los plasmas fueron inoculados con el virus SARS COV, luego sometidos a dosis crecientes de luz ultravioleta C para el caso del sistema THERAFLEX UV- platelets y con azul de metileno más dosis creciente de luz visible para el sistema THERAFLEX MB-plasma, tomaron muestras antes y después del tratamiento con cada dosis de iluminación y se comprobó la infectividad residual, el resultado obtenido fue que ambos sistemas reducen eficazmente la infectividad del SARS-CoV en concentrados plaquetarios y plasma respectivamente. El tratamiento con la mitad a las tres cuartas partes de la dosis total de luz ultravioleta C, redujo la infectividad del SARS-CoV (≥ 3.4 log) hasta el límite de detección en concentrados de plaquetas, y el tratamiento con azul de metileno y una cuarta parte de la dosis completa de

luz ultravioleta C, redujo el SARS-CoV (≥ 3.1 log) al límite de detección en plasma.

TECNOLOGÍAS DE INACTIVACIÓN PARA PAQUETE GLOBULAR

A. SISTEMA PI S-303 para paquete globular

El sistema S-303 fue desarrollado por Cerus Corporation, específicamente para paquete globular, el S-303 es un compuesto que previene la replicación del ARN y ADN, al ser agregado al paquete globular, atraviesa rápidamente la membrana de la envoltura viral y celular, uniéndose a los ácidos nucleicos (Figura 4). Este sistema no requiere luz ultravioleta, sin embargo, debe usar glutatión para prevenir reacciones inespecíficas entre el S-303 y otros nucleófilos presentes en la unidad (29,33).

Debemos manifestar que dicho sistema aún se encuentra en etapa de estudio, por lo que será interesante saber si dicho sistema puede contribuir en la inactivación o reducción de agentes patógenos con eficacia en paquete globular.

CONCLUSIONES

- Los métodos de inactivación o reducción de patógenos han demostrado disminuir el riesgo de transmisión de SARS-CoV-2 en hemocomponentes.
- El tratamiento fotoquímico con azul de metileno inactiva eficazmente el virus SARS-CoV-2 en plasma.
- La riboflavina y la luz UV A reducen eficazmente el título de SARS-CoV-2 en plasma humano y sangre total.
- El amotosaleno y la luz UV A, inactivan eficazmente el coronavirus MERS (MERS-CoV) en plasma como en plaquetas.
- La luz UV C, inactiva eficazmente el SARS-CoV en plaquetas.
- Un mismo método de inactivación o reducción de patógenos puede ser usado para más de un hemocomponente.
- Según la evidencia científica aún se desconoce si la transmisión se da a través de la transfusión de hemocomponentes, por tal razón se hace indispensable el uso de los métodos de inactivación o reducción de patógenos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Peeri N, Shrestha N, Rahman M, Zaki R, Tan Z, Bibi S et al. The SARS, MERS and novel coronavirus (COVID-19) epidemics, the newest and biggest global health threats: ¿what lessons have we learned? *Int J Epidemiol.* 2020;49(3): 717-726.
2. Bassetti M, Vena A, Giacobbe D. The novel Chinese coronavirus (2019-nCoV) infections: Challenges for fighting the storm. *Eur J Clin Invest.* 2020;50(3): e13209. doi: 10.1111/eci.13209.
3. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Enfermedad por el Coronavirus (COVID-19) [Internet]. 2020 [citado 5 abril 2021]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/enfermedad-por-coronavirus-covid-19>.
4. BBC NEWS MUNDO [Internet]. Coronavirus: Perú decreta cuarentena general en el país y el cierre de fronteras durante 15 días ante la pandemia de covid-19. 2020 [citado 5 mayo 2021]. Disponible en: <https://www.bbc.com/mundo/noticias-america-latina-51902989>.
5. Diario Oficial El Peruano. [Internet]. Decreto supremo N°044-2020-PCM/2020 de 15 de marzo, Decreto Supremo que declara Estado de Emergencia Nacional por las graves circunstancias que afectan la vida de la Nación a consecuencia del brote del COVID-19. [Citado el 20 de enero del 2022]. URL disponible en: <https://busquedas.elperuano.pe/normaslegales/decreto-supremo-que-declara-estado-de-emergencia-nacional-po-decreto-supremo-n-044-2020-pcm-1864948-2/>

6. Ministerio de Salud del Perú. Covid 19 en el Perú. [Internet]. 2021 [citado 25 diciembre 2021]. Disponible en: https://covid19.minsa.gob.pe/sala_situacional.
7. Franchini M, Farrugia A, Velati C, Zanetti A, Romano L, Giuliano Grazzini. et al. The impact of the SARS-CoV-2 outbreak on the safety and availability of blood transfusions in Italy. *Vox Sanguinis*. 2020;115(8):603-605.
8. Accinelli R, Zhang C, Ju J-D, Yachachin-Chávez J, Cáceres-Pizarro J, Tafur-Bances K et al. COVID-19: La pandemia por el nuevo virus SARS-CoV-2. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2020;37(2):302-311.
9. Hashemieh M. Blood safety in SARS-CoV-2 infection. *Archives of Pediatric Infectious Diseases*. 2020;8(3):e104525. doi: 10.5812/pedinfect.104525.
10. Jeong H, Wan J, Ki S, Kyung Y, JSoo J et al. COVID-19 transmission and blood transfusion: A case report. *J Infect Public Health*. 2020;13(11):1678-1679.
11. Chang L, Zhao L, Gong H, Wang L. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 RNA detected in blood donations. *Emerg Infect Dis*. 2020;26(7):1631-1633.
12. Kwon SY, Kim EJ, Jung Y, Jang J, Cho NS. Post-donation COVID-19 identification in blood donors. *Vox Sanguinis*. 2020;115(8):601-602.
13. Ragan I, Hartson L, Pidcoke H, Bowen R, Goodrich R. Pathogen reduction of SARS-CoV-2 virus in plasma and whole blood using riboflavin and UV light. *PLoS One*. 2020;15(5):e 0233947. doi: 10.1371/journal.pone.0233947.

14. Asociación Americana de Bancos de Sangre. Actualización: impacto del nuevo coronavirus de 2019 y seguridad sanguínea. [Internet]. 2020. [citado el 31 de marzo 2020] Disponible en: <http://www.aabb.org/advocacy/regulatorygovernment/Documents/Impact-of-2019-Novel-Coronavirus-on-Blood-Donation.pdf>
15. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Brote de síndrome respiratorio agudo asociado con un nuevo coronavirus, Wuhan, China- primera actualización. Enero 2020 [Internet]. [citado el 31 de marzo 2020]. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Risk-assessment-pneumonia-Wuhan-China-22-Jan-2020.pdf>
16. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Recomendaciones preliminares para los servicios de sangre frente al potencial impacto de la diseminación de la infección de Coronavirus (COVID-19,) en la disponibilidad y seguridad de la sangre y componentes sanguíneos. Febrero 2020 [Internet]. [citado 01 julio 2022]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/recomendaciones-preliminares-para-servicios-sangre-frente-al-potencial-impacto>
17. Katz L. Is SARS-CoV-2 transfusion transmitted? The journal of AABB Transfusion. 2020;60(6):111-1114.
18. Jin Ch, Yu B, Zhang J, Wu H, Zhou X, Yao H et al. Methylene blue photochemical treatment as a reliable SARS-CoV-2 plasma virus inactivation method for blood safety and convalescent plasma therapy for the COVID-19

- outbreak. BMC Infectious Diseases. 2021;21(357):1-8. doi:10.1186/s12879-021-05993-0.
19. Hashem A, Hassan A, Tolah A, Alsaadi M, Abunada Q, Damanhour G, El-Kafrawy S et al. Amotosalen and ultraviolet A light efficiently inactivate MERS-coronavirus in human platelet concentrates. Transfusion Medicine. 2019;29(6):434-441. doi: 10.1111/tme.12638.
 20. Organización Mundial de la Salud (OMS). WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard [Internet] [consultado el 04 de julio del 2021] Disponible en: <https://covid19.who.int/>
 21. Tolosa A. Coronavirus SARS-CoV-2: estructura, mecanismo de infección. [Internet]. Genética Medica News. 2020 [citado 21 mayo 2020]. Disponible en: https://genotipia.com › genetica_medica_news › corona
 22. Centro de Coordinación de Alertas y Emergencia Sanitarias. COVID-19 en distintos entornos y grupos de personas [Internet]. España: Ministerio de Sanidad; 2021 [Citado el 15 de enero del 2022]. URL disponible en: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/20210429_GRUPOSPERSONAS.pdf.
 23. Rojo J, Picker S, Garcia J, Gathof B. Inactivación de patógenos en productos sanguíneos. Rev Med Hosp Gen Mex. 2006;69(2):99-107.
 24. Pérez, José. Tecnologías de reducción de patógenos: una alternativa en la seguridad transfusional. Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional. Comité De Educación Continuada, 2020. URL disponible en:

<https://gciamt.org/wp-content/uploads/2020/05/PRT-GCIAMT->

[Jose%CC%81-Arnulfo-Pe%CC%81rez-Feb-2020-1.pdf](#)

25. 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.* 2014;28(6):235– 41.
26. Darnell M, Taylor D. Evaluación de métodos de inactivación para el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo en hemoderivados no celulares. *Transfusion.* 2006;46(10):1770-1777. doi: 10.1111/j.1537-2995.2006.00976.x
27. Leclercq I, Batejat C, Burguiere A, Manuguerra J. Heat inactivation of the Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Influenza and other respiratory viruses.* Epub. 2014; 8(5):585-586. doi: 10.1111/irv.12261
28. Prowse C, Stassinopoulos A. Inactivación de patógenos en hemocomponentes: Revisión crítica. *Revista Argentina de Transfusión.* 2014.43(4):233-254.
29. Rivera J, Lozano M y Vicente V. Inactivación de plasma. Simposio 9. XXI Congreso Nacional de la SETS. 2010. p. 126-128. URL disponible en: <http://www.sets.es/index.php/cursos/biblioteca-virtual/congresos-1/congreso-2010/210-ponencias-12-de-junio/file>
30. Bernal C, Jódar R, Montoro B. Hemoderivados. Actualización. 2002; 84-6.
31. Hindawi S, Hashem A, Damanhoury G, El-Kafrawy S, Tolah A, Hassan A. et al. Inactivation of Middle East respiratory syndrome-coronavirus in human plasma using amotosalen and ultraviolet A light. *Transfusion.* 2018;58 (1):52-59.

32. Eickmann M, Gravemann U, Handke W, Tolksdorf F, Reichenberg S, Muller T et al. Inactivation of three emerging viruses – severe acute respiratory syndrome coronavirus, Crimean–Congo haemorrhagic fever virus and Nipah virus – in platelet concentrates by ultraviolet C light and in plasma by methylene blue plus visible light. *Vox Sanguinis*.2020;115(3):146-151.
33. Seltsam A. Pathogen Inactivation of Cellular Blood Products—An Additional Safety Layer in Transfusion Medicine. *Front. Med.* 2017;4(219). doi: 10.3389/fmed.2017.00219.
34. Khanna N, Weisser M, Hedstueck A, Tschudin S, Roesch S, Battegay M et al. Efficacy of COVID-19 Pathogen Inactivated Convalescent Plasma for Patients with Moderate to Severe Acute COVID-19: A Case Matched Control Study. *Blood*. 2020;136(1):29-30. Doi:10.1182/blood-2020-136180.
35. Keil S, Ragan I, Yonemura S, Harton L, Dardo N, Bowen R. Inactivation of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in plasma and platelet products using a riboflavin and ultraviolet light-based photochemical treatment. *Vox Sanguinis*. 2020;115(6):495-501. doi: 10.1111/vox.12937.
36. Keil S, Bowen R, Marschner S. Inactivation of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) in plasma products using a riboflavin-based and ultraviolet light-based photochemical treatment. *Transfusion*. 2016; 56(12):2948-2952. doi: 10.1111/trf.13860.
37. Cerus. INTERCEP Blood System. [Internet] [consultado el 01 de julio del 2022] Disponible en: <https://annardx.com/wp-content/uploads/BROCHURE-INTERCEPT-ANNAR.pdf>.

38. Terumo BCT. EL SISTEMA MIRASOL CON TECNOLOGIA DE REDUCCION DE AGENTES PATOGENOS (TRP) [Internet] [consultado el 01 de julio del 2022] Disponible en: <https://docplayer.es/85359951-El-sistema-mirasol-con-tecnologia-de-reduccion-de-agentes-patogenos-trp.html>.
39. Macopharma. THERAFLEX MB-Plasma- Laboratorios DAI [Internet] [consultado el 01 de julio del 2022] Disponible en: http://www.labdai.com/mexico/wp-content/uploads/2018/04/dai_swelab_theraflex_diptico-compressed-ilovepdf-compressed.pdf.
40. Mendrone A. Inactivación de patógenos en componentes sanguíneos [Internet] [consultado el 01 de julio del 2022] Disponible en: <https://docplayer.com.br/10053032-Inativacao-de-patogenos-em-componentes-sanguineos.html>.

ANEXOS

Mecanismo de acción del sistema sanguíneo INTERCEPT



Figura 1. INTERCEPT Blood System. Mecanismo de acción del amotosaleno (37).



Figura 2. SISTEMA MIRASOL. Mecanismo de acción de la riboflavina. Las moléculas de riboflavina se unen a los ácidos nucleicos, la luz UV del iluminador mirasol activa la molécula de riboflavina, la riboflavina fotoactivada induce una alteración química de los ácidos nucleicos provocando que los agentes patógenos no puedan multiplicarse (38).

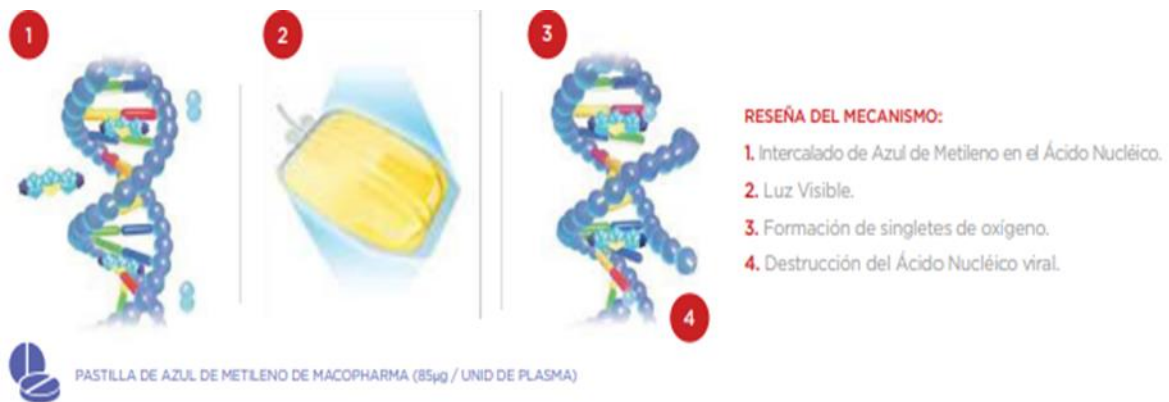


Figura 3. SISTEMA THERAFLEX. Mecanismo de acción. El azul de metileno se intercala en el ácido nucleico del virus y tras ciclos de iluminación genera puentes de oxígeno, provocando la oxidación de la guanosina y así la destrucción del ácido nucleico, impidiendo la replicación viral (39).

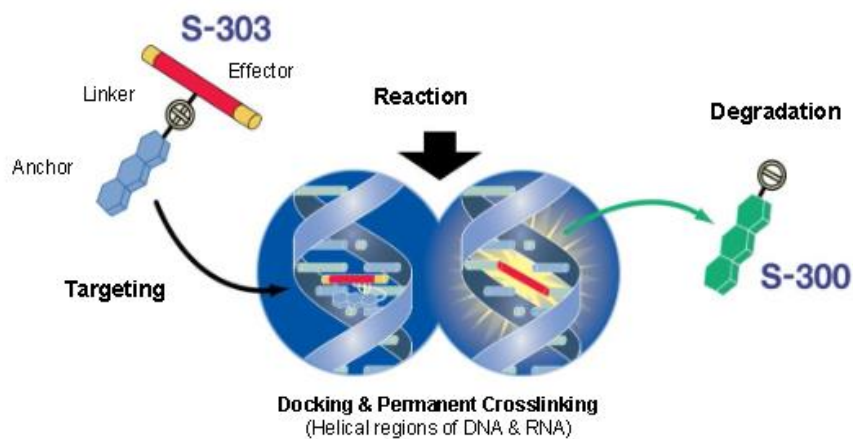


Figura 4. SISTEMA PI S-303 para paquete globular. Mecanismo de acción del S-303 (40).