

PREPARACIÓN DE CRIOPRECIPITADO A PARTIR DE SANGRE DE UN SOLO DONANTE

Edición revisada

Shân Lloyd

Servicio Nacional de Transfusión Sanguínea
Zimbabwe

Publicado por la Federación Mundial de Hemofilia, 1997; revisado 2004.

© World Federation of Hemophilia, 2004

La FMH alienta la redistribución de sus publicaciones por organizaciones de hemofilia sin fines de lucro con propósitos educativos. Para obtener la autorización de reimprimir, redistribuir o traducir esta publicación, por favor comuníquese con el Departamento de Comunicación a la dirección indicada abajo.

Esta publicación se encuentra disponible en la página Internet de la Federación Mundial de Hemofilia, **www.wfh.org**. También pueden solicitarse copias adicionales a:

Federación Mundial de Hemofilia
1425 René Lévesque Boulevard West, Suite 1010
Montréal, Québec H3G 1T7
CANADA
Tel.: (514) 875-7944
Fax : (514) 875-8916
Correo electrónico: wfh@wfh.org
Página Internet: www.wfh.org

El propósito de la serie *Hechos y cifras* es brindar información general sobre los productos sustitutos de factor y la administración de la atención para la hemofilia. La Federación Mundial de Hemofilia no se involucra en el ejercicio de la medicina y bajo ninguna circunstancia recomienda un tratamiento en particular para individuos específicos. Las dosis recomendadas y otros regímenes de tratamiento son revisados continuamente, conforme se reconocen nuevos efectos secundarios. La FMH no reconoce, de modo explícito o implícito alguno, que las dosis de medicamentos u otras recomendaciones de tratamiento en esta publicación sean las adecuadas. Debido a lo anterior, se recomienda enfáticamente al lector buscar la asesoría de un consejero médico y/o consultar las instrucciones impresas que proporciona la compañía farmacéutica, antes de administrar cualquiera de los medicamentos a los que se hace referencia en esta monografía.

Las afirmaciones y opiniones aquí expresadas no necesariamente representan las opiniones, políticas o recomendaciones de la Federación Mundial de Hemofilia, de su Comité Ejecutivo o de su personal.

Índice

Introducción	1
1. El donante	1
2. Seguridad de la sangre.....	2
3. Cuarentena y liberación.....	2
4. Extracción de sangre del donante (flebotomía)	2
5. La producción	3
6. Equipo mínimo necesario	3
7. Análisis de eficacia de costos	4
Apéndice: Cálculo de rangos de peso para la bolsa de la donación principal	4
Diagrama de flujo para la preparación de crioprecipitado.....	5

Preparación de crioprecipitado a partir de sangre de un solo donante

Shân Lloyd

Introducción

Es evidente que algunas naciones en desarrollo no pueden suministrar tratamiento con concentrados de factor a pacientes hemofílicos con deficiencia de factor VIII debido a muchas restricciones, incluyendo financieras. Este artículo está diseñado como guía en la preparación de crioprecipitado a partir de sangre de un solo donante, tomando en cuenta que existen requisitos mínimos y, por ende, costos mínimos para equipo y materiales.

Hoy en día, muchos países cuentan con algún sistema establecido para el reclutamiento de donantes y las políticas generales de reclutamiento, de pruebas a donantes de sangre y de retención de los mismos que se aplican a productos celulares, aplican igualmente a la producción de crioprecipitado. Los principios básicos, como se establecen en las declaraciones de consenso de la Organización Mundial de la Salud (OMS) OMS/LBS/93.2 y OMS/GPA/INF/93.1, son los mismos. En este artículo se incorporan algunas normas simples, así como normas para la extracción de sangre del donante, de manera que pueda haber una mayor recuperación de factor VIII.

Aunque la producción de crioprecipitado no es técnicamente difícil, es necesaria la capacitación del personal responsable de esta labor.

Las instrucciones son breves y se incluyen técnicas alternas cuando éstas son posibles y relevantes.

Las metodologías para lograr la mayor recuperación posible de factor VIII han sido tema de muchos debates. No obstante, puede usarse un enfoque simple con un rendimiento adecuado para el tratamiento de pacientes con deficiencia de factor VIII y el producto resultante puede almacenarse a corto plazo para administrar terapia en el hogar a pacientes que tienen acceso a un congelador doméstico.

El siguiente método genera tres útiles componentes sanguíneos: paquetes de células con una vida de hasta 42 días (dependiendo de la solución aditiva usada, si la hay), un componente plasmático que puede usarse para una mayor recuperación de plasma, y una unidad de crioprecipitado.

Todos los aspectos de control de calidad aplican a la producción de crioprecipitado. Esto incluye desarrollo, instrumentación y uso de procedimientos de operación estándar para cada etapa del proceso. Además, es deseable realizar pruebas de factor VIII periódicamente a fin de garantizar que por lo menos 75% del crioprecipitado producido contenga un mínimo de 80 unidades internacionales (UI) de factor VIII.

1. El donante

- 1.1 Los donantes deberían ser voluntarios y no remunerados.
- 1.2 Cuando exista un programa de retención de donantes, en la elaboración del crioprecipitado debería darse preferencia a la sangre de donantes recurrentes por sobre la de nuevos donantes.
- 1.3 Deben realizarse rigurosas pruebas de detección de potenciales factores de riesgo transmisores de infecciones a través de transfusiones.
- 1.4 Para evitar reacciones adversas en el donante, durante la selección debe evaluarse su estado general de salud.
- 1.5 Para la producción de crioprecipitado, del conjunto general de donantes elija a donantes recurrentes que donan con frecuencia.

- 1.6 La selección de donantes de los grupos sanguíneos A ó AB también puede ser provechosa puesto que se sabe que estos dos grupos ABO rinden niveles más elevados de factor VIII.

2. Seguridad de la sangre

Como no existe un método simple y rutinario para la inactivación viral del crioprecipitado “fresco”, las pruebas de detección a donantes son de vital importancia para prevenir la transmisión de infecciones, en particular a donantes que se encuentran en el período ventana de la infección.

- 2.1 Todos los donantes deben ser interrogados cuidadosamente y preferiblemente uno por uno. Los marcadores de estilo de vida, como la relación con proveedores de servicios sexuales, y las manifestaciones clínicas (p. ej. linfadenopatías) deben investigarse rigurosamente. Cada región debe establecer su(s) propio(s) patrón(es) de comportamiento de alto riesgo que debe(n) usarse para diseñar un cuestionario.
- 2.2 Todas las unidades de sangre deben someterse a pruebas de detección de:
- Anticuerpos del VIH 1/2.
 - Antígeno de superficie de hepatitis B
 - Anticuerpos de hepatitis C.
 - VDRL/RPR o TPHA.

Las pruebas de marcadores virales no se limitan a las arriba indicadas y también dependen de las políticas de pruebas o datos epidemiológicos que existan en la región.

3. Cuarentena y liberación

- 3.1 Cuando se usa al conjunto rutinario de donantes, el crioprecipitado sólo puede liberarse para su uso después de que el donante vuelve para hacer una nueva donación y se comprueba que todavía tiene marcadores virales negativos. Aunque esto representa una ardua labor cuando no se cuenta con un sistema computarizado, pueden mantenerse registros exactos de la cantidad de

donaciones de sangre de los donantes y utilizarse en este procedimiento. Cuando no hay inactivación viral, este es el mejor método para asegurar el menor riesgo durante el período de ventana.

- 3.2 Si lo anterior no es posible, libere el crioprecipitado para su uso después de haber obtenido resultados negativos para las pruebas de marcadores virales.

4. Extracción de sangre del donante (flebotomía)

- 4.1 Después de las pruebas de detección al donante, prepárelo para una flebotomía.
- 4.2 Use un sistema cerrado de bolsas de sangre (configuración triple).
- 4.3 Coloque la bolsa principal que contiene el anticoagulante en la pesa del donante. Es preferible colocar la bolsa de arriba hacia abajo, de modo que la sangre que penetre en la bolsa entre en contacto inmediato con el anticoagulante. Puede usarse una pesa electrónica sencilla en lugar de una pesa de donantes.
- 4.4 Mezcle el anticoagulante con la sangre conforme ésta se recolecta.
- Use un sistema automatizado que mezcle y pese la sangre simultáneamente, o
 - tan pronto como la sangre empiece a fluir en la bolsa, mézclela suavemente por inversión y repita al menos cada minuto durante el tiempo de la donación.
- 4.5 Cuando la pesa del donante detenga el flujo de sangre o cuando se alcance el peso deseado de la bolsa principal, más el anticoagulante, más la sangre, detenga el flujo de sangre del donante.
- Es esencial que no se exceda el porcentaje sangre/anticoagulante.
 - Si el tiempo de donación excede 10 minutos, no use la donación para producir crioprecipitado.
- 4.6 Etiquete de acuerdo con sus procedimientos de recolección de donaciones.

- 4.7 Permita que la bolsa de sangre donada se enfríe a temperatura ambiente y entréguela al departamento responsable dentro de las siguientes dos horas y hasta un máximo de seis horas, a fin de lograr un rendimiento máximo de factor VIII.
- 4.8 Pueden obtenerse rendimientos superiores de factor VIII a partir de sangre que no ha sido enfriada por debajo de 22° C, antes de ser procesada.

5. La producción

- 5.1 Usando una pesa electrónica sencilla, asegúrese de que la bolsa principal de sangre está dentro de los rangos aceptables de peso. Si no, no la use para preparar crioprecipitado (vea el apéndice de la p. 4).
- 5.2 Centrifugue la bolsa principal con las bolsas satélites sujetas en una centrífuga refrigerada durante 20 minutos, a 3 000 rpm, a $4^{\circ} \pm 2^{\circ}$ C.
- 5.3 Abra el puerto que conecta la bolsa principal a la bolsa satélite y desvíe el plasma por gravedad o usando un extractor de plasma.
- Separe el paquete de glóbulos rojos (esto se hace después de añadirle la solución aditiva, si la hay). Deje el plasma extraído y vacíe las bolsas satélite pegadas unas a otras.
- 5.4 Prepare la solución congelante de alcohol (etanol) y hielo seco en el baño aislante.
- Vierta el alcohol en el recipiente de acero inoxidable. Agregue el hielo seco, cortado en trozos pequeños, hasta que la temperatura alcance los -60°C (porcentaje aproximado de 2 Kg. de hielo seco por 10 litros de etanol).
- 5.5 Cuelgue suavemente la bolsa que contiene el plasma en la solución helada asegurándose que toda la bolsa esté inmersa y que la bolsa satélite anexa esté colocada en los paneles laterales del baño. Deje en la solución durante 10 minutos.
- 5.6 Retire el plasma congelado y comience inmediatamente su descongelación.
- Coloque la bolsa congelada en un baño de agua termostáticamente controlado a 3° C, hasta que la solución se vuelva "lodosa" (aproximadamente 20-30 minutos), o
 - coloque la bolsa en un refrigerador hasta que la solución se vuelva "lodosa".
- 5.7 Inmediatamente haga girar en una centrífuga refrigerada durante 10 minutos, a 2 000 rpm, a 2° - 8° C. La temperatura óptima es 3° C.
- 5.8 Retire el exceso de plasma en la bolsa satélite vacía, dejando aproximadamente 10 ml con el crioprecipitado depositado.
- Separe la bolsa con el exceso de plasma del crioprecipitado.
- 5.9 Etiquete los productos según su protocolo. Almacene el crioprecipitado como se describe a continuación:
- Si se almacena a -20°C, el período de caducidad es de 6 meses.
 - Si se almacena a -40°C, el período de caducidad es de 12 meses.
 - Almacene la fracción desprovista de proteínas (excedente de plasma) a -20°C.
- 5.10 Inmediatamente ponga el crioprecipitado en cuarentena, en espera de los resultados de marcadores virales y otras pruebas de detección de enfermedades infecciosas, así como de los procedimientos formales para su liberación.

6. Equipo mínimo necesario

Desafortunadamente, no puede producirse crioprecipitado sin cierto gasto de capital para equipo y materiales. Parte del equipo puede fabricarse en casa y a continuación ofrecemos algunas directrices.

- 6.1 Equipo
- Centrífuga refrigerada.
 - Pesa electrónica sencilla.
 - Pesa para donantes de sangre o pesa electrónica.

- Extractor de plasma. Puede obtenerse uno sencillo, producido comercialmente o los hechos en casa también son bastante sencillos.
- Baño aislado de acero inoxidable para la solución congelante. Puede ser hecho en casa.
- Termómetro de alcohol con capacidad de lectura de hasta -80°C .
- Refrigerador de banco de sangre (esta pieza de equipo debería ya existir y no representa un desembolso adicional de capital).
- Unidad de congelación (hemos descubierto que la mayoría de los congeladores pueden lograr temperaturas de -20°C).
- Guantes bien acolchados para manejar el hielo seco y las unidades congeladas.
- Baño de agua termostáticamente controlado (no es esencial; véase la sección cinco, más arriba).

6.2 Materiales

- Bolsas para donación de sangre.
- Hielo seco.
 - En la mayoría de los países puede obtenerse hielo seco comercialmente. Para minimizar costos, puede llegarse a un acuerdo contractual con los proveedores.
 - Aunque el hielo seco puede elaborarse en casa, se necesitarían gastos de capital y, en nuestra experiencia, el hielo seco obtenido es algo friable y no llega a alcanzar la temperatura de congelación de -60°C .
- Alcohol (etanol).

7. Análisis de eficacia de costos

Sin la importación de factor VIII liofilizado, la mayoría de los pacientes con hemofilia se quedaría sin tratamiento o, en el mejor de los casos, recibirían tratamiento con plasma fresco congelado. Al producir crioprecipitado a partir de sangre de un solo donante, el tratamiento con un volumen mucho menor, pero con un producto más concentrado, se convierte en realidad. El costo de los materiales para la producción del

crioprecipitado puede ser tan bajo como 20 centavos de dólar estadounidense por UI de factor VIII. Este costo de producción también comprende otros dos valiosos productos sanguíneos: paquetes de células y plasma desprovisto de proteínas. En comparación, los concentrados liofilizados cuestan por lo menos 24 centavos de dólar estadounidense por UI. Esto podría no parecer una gran diferencia, pero debemos recordar que el costo de la producción de crioprecipitado incluye otros dos componentes sanguíneos.

Además, si se usa crioprecipitado en lugar de plasma fresco congelado, el costo de producción aumenta en sólo 4%. Los beneficios clínicos de tratar a un paciente con una bolsa de crioprecipitado a diferencia de cuatro bolsas de plasma fresco congelado tienen una inmensa importancia.

Apéndice

Cálculo de rangos de peso para la bolsa de la donación principal

Fórmula:

Peso de la bolsa principal con anticoagulante + volumen de sangre a ser donada $\times 1.032$.

La fórmula anterior proporciona el peso exacto que la unidad de sangre donada debería pesar. El rango aceptable es $\pm 8\%$ de ese peso.

Ejemplo:

1. Peso de la bolsa principal con anticoagulante = 85 gramos
2. Volumen de sangre a ser donado = 450 ml
3. Multiplique por 1.032 para obtener el peso de la sangre en gramos
4. El peso de la sangre a ser donada es igual a $450 \times 1.032 = 464$ gramos
5. Por lo tanto, el peso deseado de la bolsa + sangre donada = $85 + 464$ gramos = 549 gramos
6. 8% de este peso ($8\% \text{ } 549$) = 44 gramos
7. Rango de peso deseado = 505–593 gramos

Diagrama de flujo para la preparación de crioprecipitado