

@

\*



# LEUCORREDUCCION NUEVAS TECNOLOGIAS

TheI Irene Feuermann  
Especialista Clínica  
Pall Medical

\$

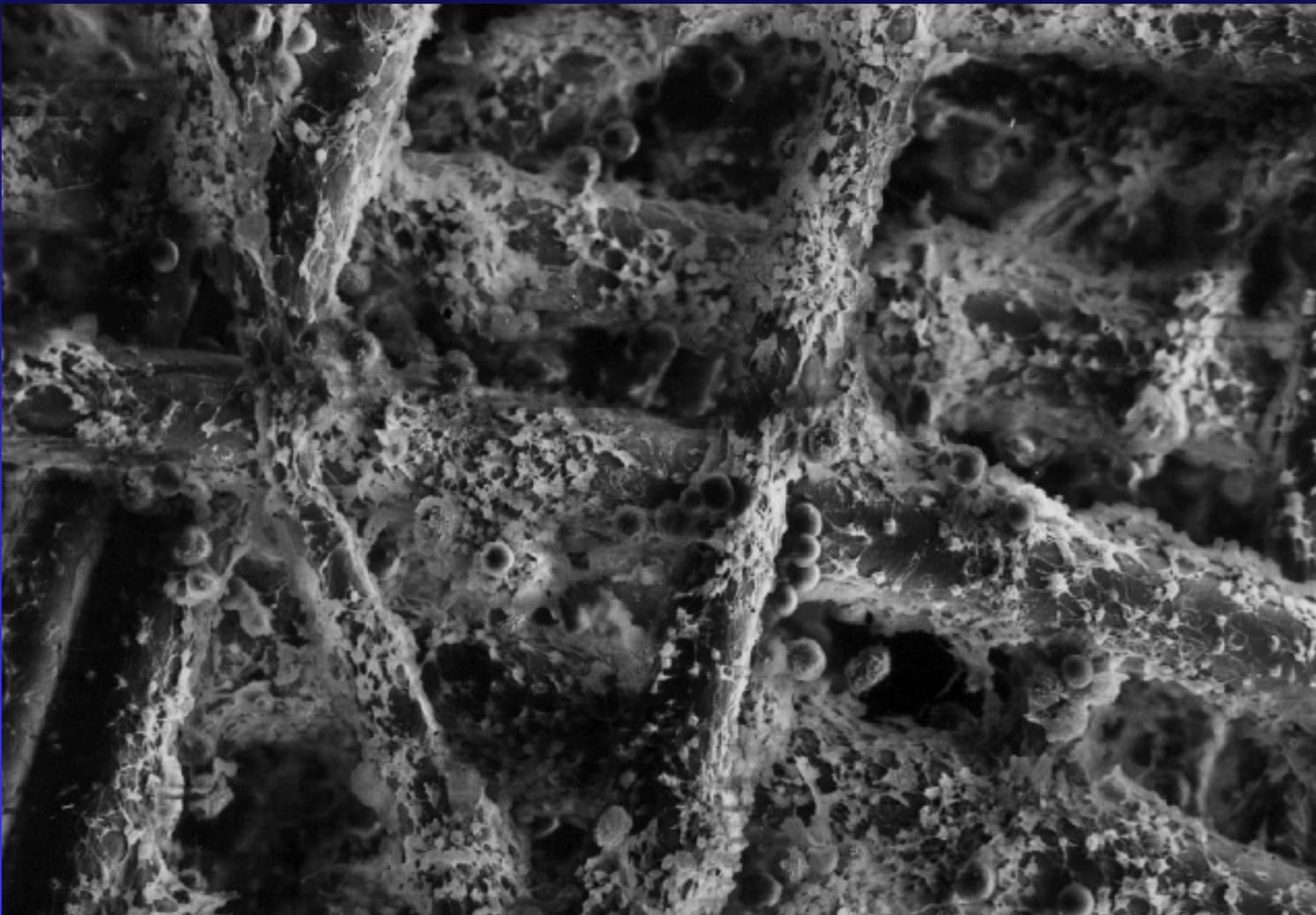
The screenshot shows the Pall Corporation website. At the top left is the Pall logo. To its right is the text 'Pall Corporation' and the tagline 'Filtration. Separation. Solution.'. Below the logo is a vertical menu titled 'See What Pall Does In...' with categories: Aerospace, Defense, Marine; Biopharmaceuticals; Food and Beverage; Fuels and Chemicals; Graphic Arts; Industrial Manufacturing; Laboratory; Medical; Microelectronics; OEM Products; Power Generation; Water Treatment. To the right of this menu are 'Investor Information' and 'Product Information' links, followed by an 'Advanced Search' link and a search box. The main content area features a blue background with a medical device (a dialyzer) and a circular filter. The text reads: 'Novel Technology That Reduces Infectious Prions' and 'Mad Cow Disease' from Blood Unveiled at International Transfusion Meeting'. Below this text are two buttons: 'Click here to Learn More' and 'Read the Press Release'. At the bottom of the page is a horizontal navigation bar with links: 'About Pall', 'Pallについて', '关于帕尔', 'A propos de Pall', 'Acerca de Pall', 'Über Pall', 'Informazioni su Pall', 'Contact Us', 'Pall Events', and 'Careers'.

**Pall Corporation se dedica exclusivamente a la filtración y las tecnologías que la complementan desde hace 60 años.**

**Sus productos se utilizan para filtrar, separar y purificar en las más variadas aplicaciones industriales, médicas y científicas.**

El filtro original diseñado por el Dr Pall consistía en una malla de acero inoxidable. La invención de este medio filtrante llamado PSS (Porous Stainless Steel) dio origen al desarrollo de las exclusivas tecnologías de filtración de Pall Corporation en los más diversos campos de aplicación.





# Un poco de historia...



1939

## Uso de filtros de $170\mu\text{m}$ en la práctica transfusional



Baxter Laboratories, Chicago, IL, presentó en 1939 el contenedor Transfuso-Vac, una botella al vacío estéril conteniendo citrato, la que podía utilizarse en conjunto con un equipo de administración que contenía un **filtro metálico**.

## 1940 Sin embargo...

“Un sistema práctico y barato en el Hospital es la filtración previa a través de un doble pliegue de **gasa** lavada y esterilizada, que se dispone sobre un embudo o en el mismo frasco, permitiendo entonces la transfusión ulterior en las mejores condiciones.”



## 1960 Uso de filtros con malla plástica



Se comenzaron a utilizar los filtros de malla plástica de  $170\mu\text{m}$  para macroagregados en forma rutinaria.

Esta práctica solía considerarse lo suficientemente segura como para evitar cualquier tipo de complicación con respecto a la infusión de agregados y detritos.



A fines de los 60, el neurólogo Russell Patterson dedujo que los trastornos neurológicos que se observaban con frecuencia luego de la circulación extracorpórea en las cirugías a corazón abierto, estaban relacionados con los **microémbolos reperfundidos**.

Contactó al Dr Pall quien diseñó un **filtro de poliéster de 40 $\mu$ m** que comenzó a utilizarse de inmediato en los equipos de perfusión.

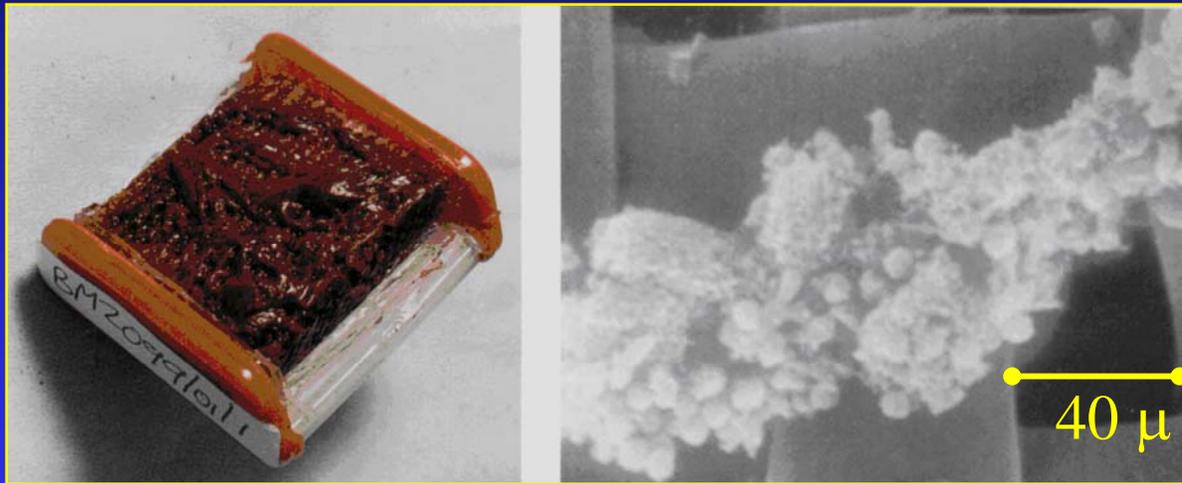
## 1974 Uso de filtros para microagregados

En los '70 especialmente durante las transfusiones masivas en el escenario de Vietnam, se observó la asociación entre los **microagregados** y el síndrome de distress respiratorio en el adulto y la disfunción cerebral.



Basándose en el diseño de los filtros para los equipos de circulación extracorpórea, Pall diseñó **filtros de 40 $\mu$ m para microagregados**, los que de inmediato complementaron y/o reemplazaron los filtros de 170 $\mu$ m.

# Uso de filtros para microagregados



Filtro Pall SQ40 después de la filtración de dos unidades de sangre en SAG-M 21 días.

Microfotografía de microagregados en la membrana de 40 micrones PALL

# 1980 Spin, cool & filter

Técnica muy popular que aceleraba la formación de agregados leucocitarios:

Sangre almacenada a 4°C

+

Centrifugación

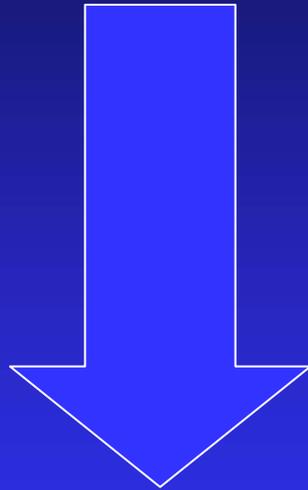
+

Reposo a 4°C

+

Filtración con malla de 40µm

Spin, cool & filter



**RFNH**

**Reacción Febril No Hemolítica**

# Reacción Febril No Hemolítica

## GRANULOCITOS



# 1983 Primer filtro para leucorreducir concentrados plaquetarios



El Dr David Pall se interesó en la leucorreducción de CP, ya que en el seno de su familia se presentaron dos casos de enfermedades hematológicas.

Este interés lo motivó a desarrollar el primer **filtro para leucorreducción de concentrados plaquetarios**.

# 1987 Uso de filtros para leucorreducir concentrados de hematíes



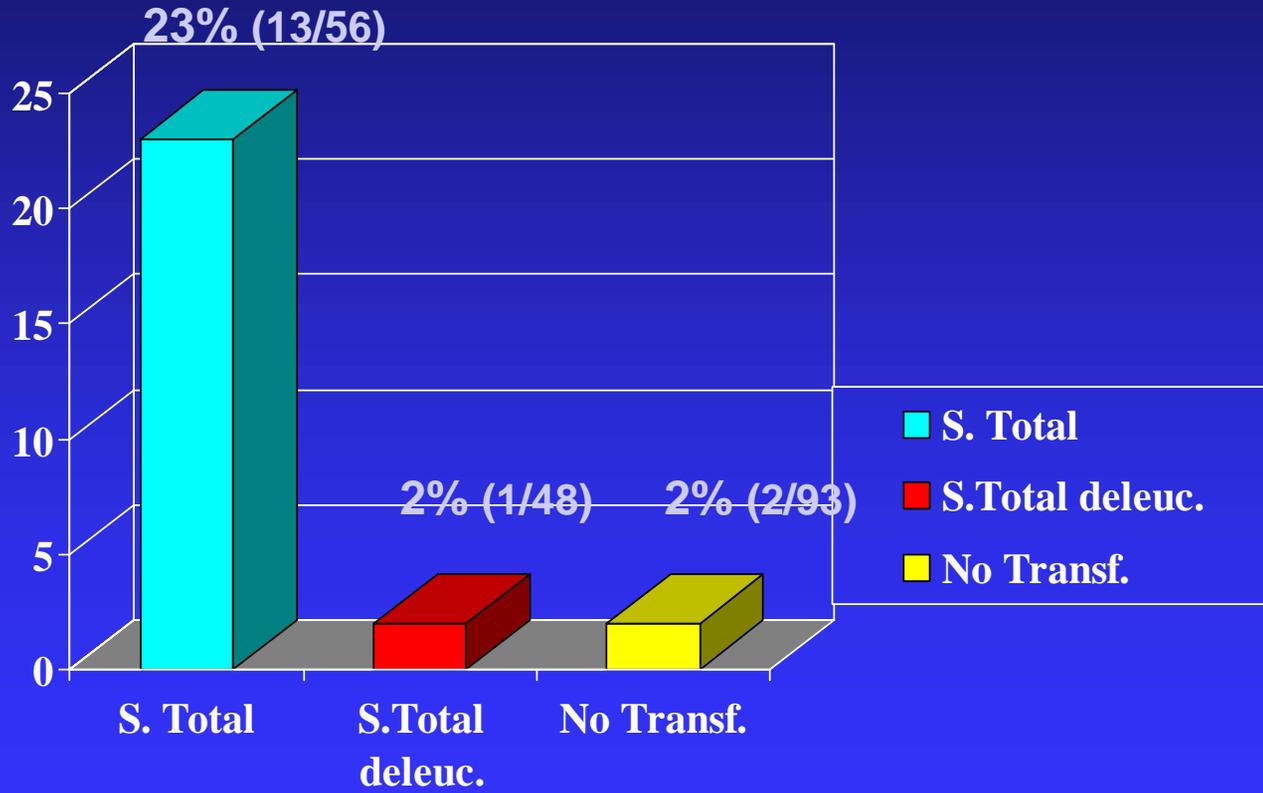
Motivados por la popularidad de la técnica “spin, cool & filter”, las corporaciones Asahi y Pall desarrollaron filtros especialmente diseñados para leucorreducir **3 o más  $\log_{10}$**  de glóbulos blancos a partir de los concentrados de glóbulos rojos o sangre total.

# 1992 El uso de filtros para leucorreducción reduce la tasa de infecciones post quirúrgicas



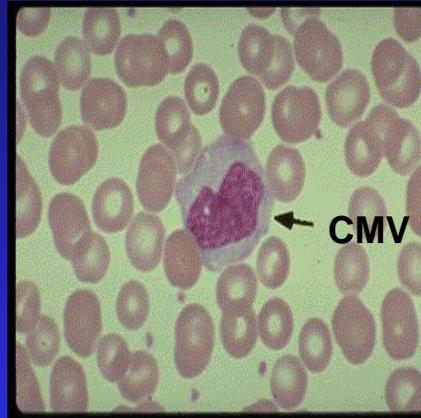
Entre 1992 y 1996 Jensen y cols publican una serie de estudios que demuestran que la leucorreducción reduce el efecto inmunosupresor de las transfusiones alogeneicas y como consecuencia disminuyen las infecciones post quirúrgicas en los pacientes sometidos a cirugía gastrointestinal.

# La leucorreducción de las transfusiones de sangre total disminuyen la frecuencia de infecciones bacterianas



*Jensen, 1996. Br. J. Surgery*

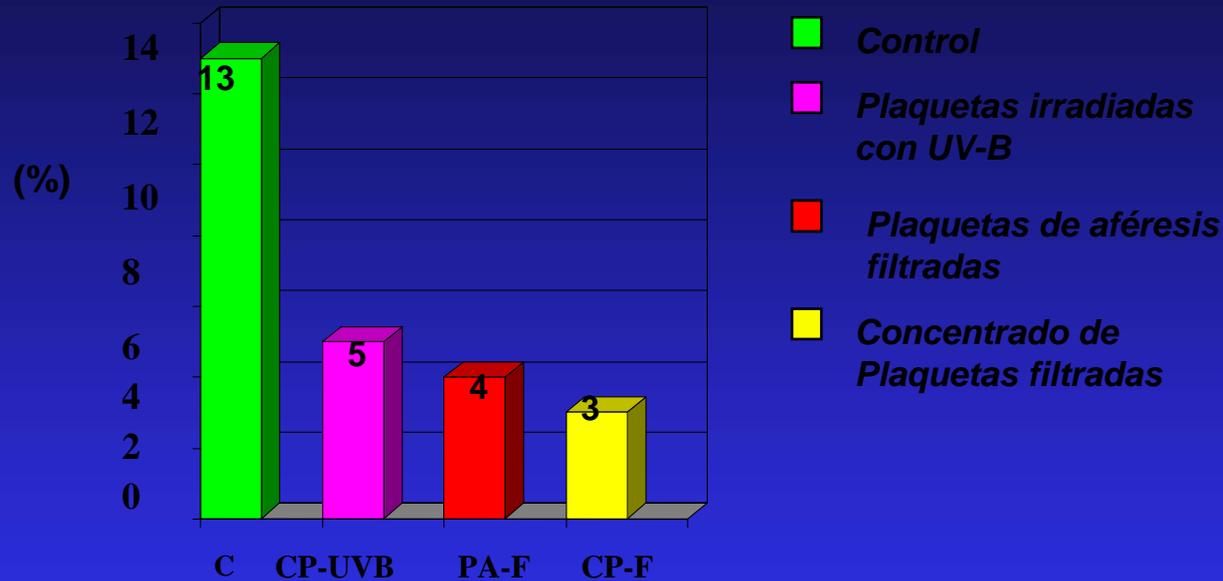
# 1995 El uso de filtros para leucorreducción disminuye la infección por CMV



A partir de un estudio publicado en la Revista *Blood*\*, se comienza a sustituir el tamizaje serológico para CMV por el uso de hemocomponentes leucorreducidos.

\* Raleigh A. Bowden; *Blood*, vol.86, No 9, 1995: pp 3598-3603

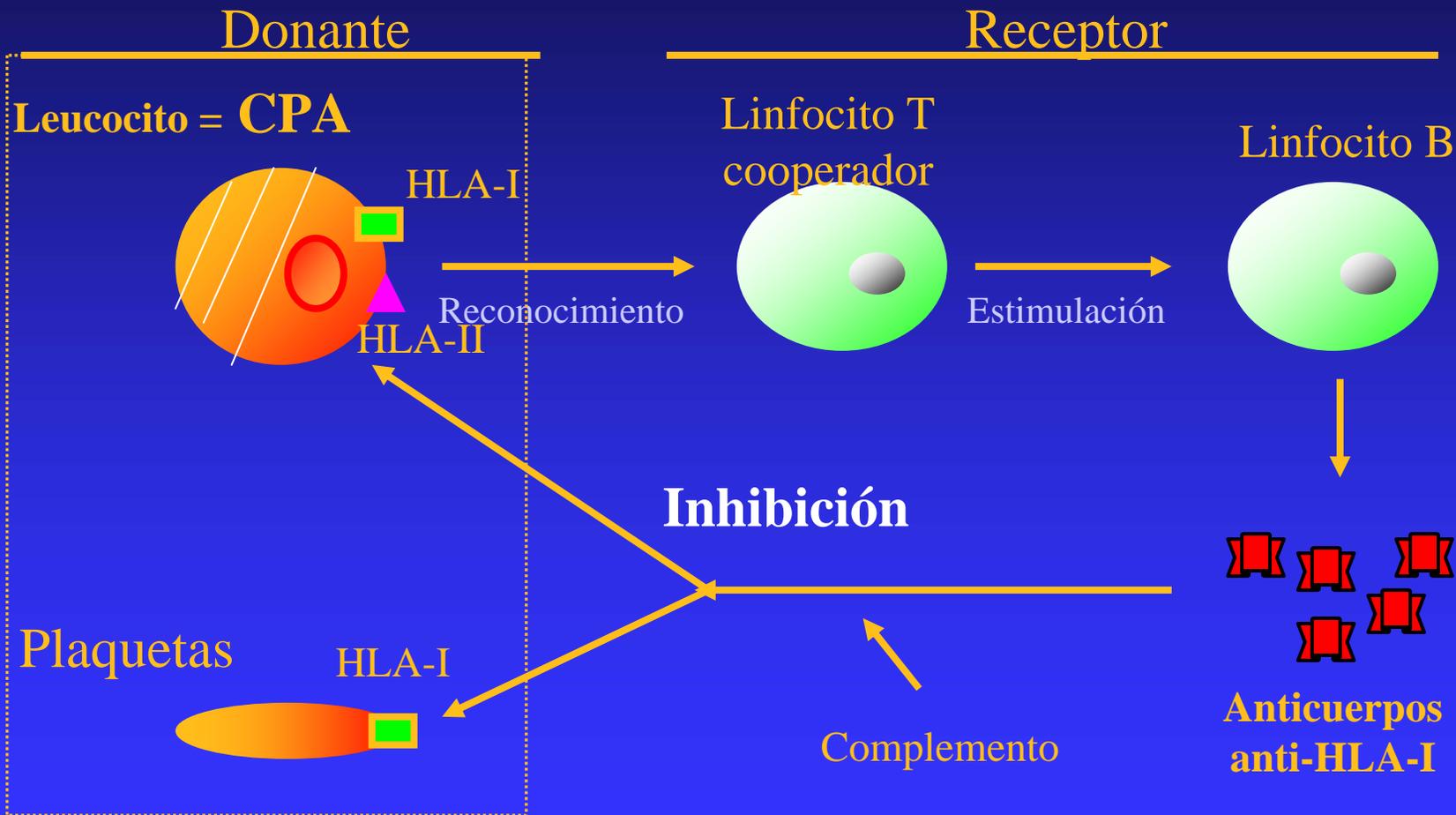
# 1997 Se publica el estudio TRAP



El “Estudio para reducir la aloinmunización plaquetaria”<sup>\*</sup> demuestra que la filtración reduce la refractariedad plaquetaria mediada por aloinmunización.

<sup>\*</sup> National Institute of Health, 1997

# Aloinmunización por transfusión



# 1998 Leucorreducción Universal (LRU)

Country	Comment	Date
Canada		1998
France		April 1998
Austria	Not mandated but adopted	January 1999
Eire (Southern Ireland)		January 1999
Wales		August 1999
Scotland		August 1999
Switzerland		September 1999
England	Mandate issued	October 1999
Northern Ireland	Mandate issued	October 1999
Malta		January 2001
Spain (Portugal)	Official order published April 1998	An internal order was issued through hospitals from the government in May 2001
Germany	Mandate issued in September 2000	October 2001
Qatar		January 2002
Holland		January 2002
Norway		January 2002
Finland		Scheduled for November 2002

# Evolución de la Implementación de la Leucorreducción



# Filtración en la cabecera del paciente

Experiencia  
clínica y  
capacitación  
técnica

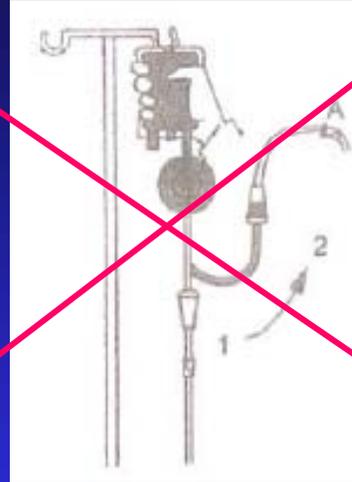
**Cabecera**  
**Bajo demanda**  
**Bed-side**



Tiempo

# Filtración en la cabecera del paciente

Purgado automático vertical



Self leveling drip chamber

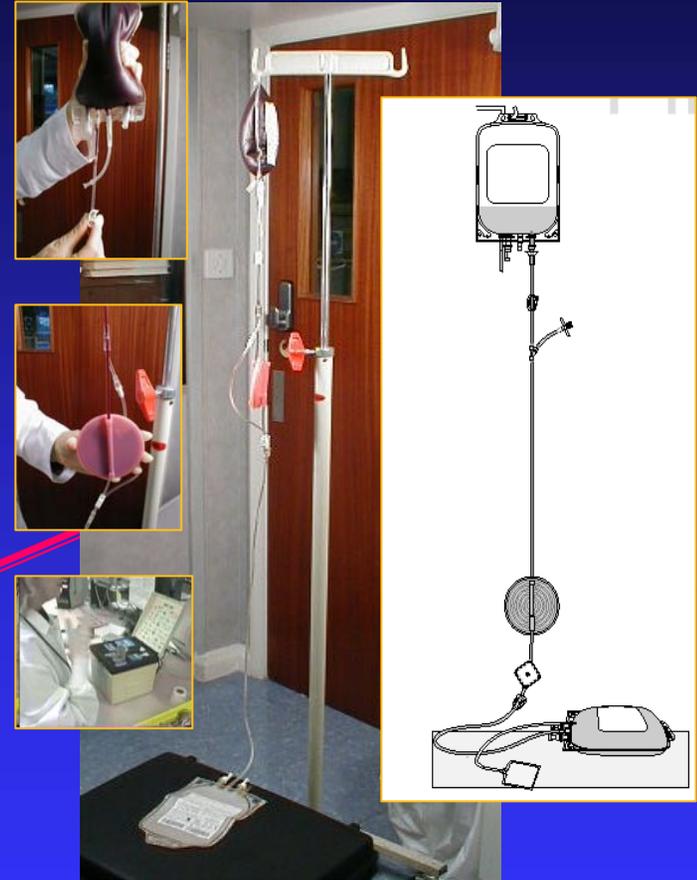


venteo

# Filtración en el Banco de Sangre

Experiencia  
clínica y  
capacitación  
técnica

**Banco de Sangre**  
**Bajo demanda**  
**Pre-storage**



Tiempo

# Filtración en el Banco de Sangre

## BPFBLA

- Compatible con SCD
- Sistema eliminador de aire
- Recuperación > 90%
- Bolsa para toma de muestras lacrada
- Rótulos e instrucciones en español



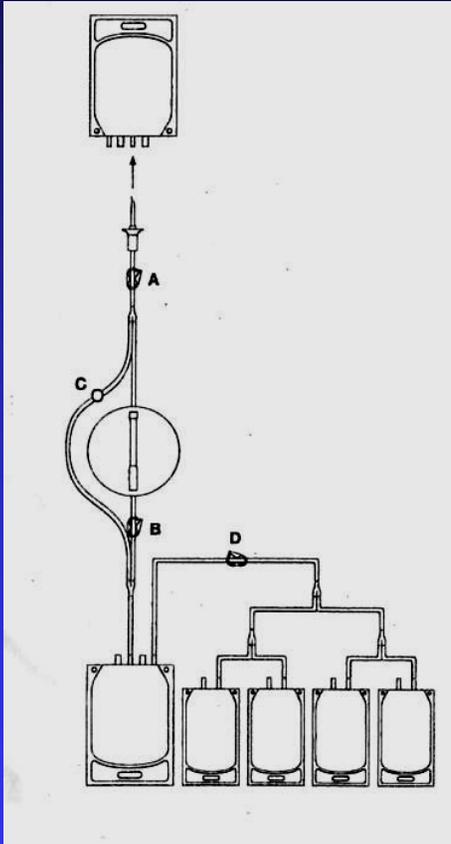
# Filtración en el Banco de Sangre



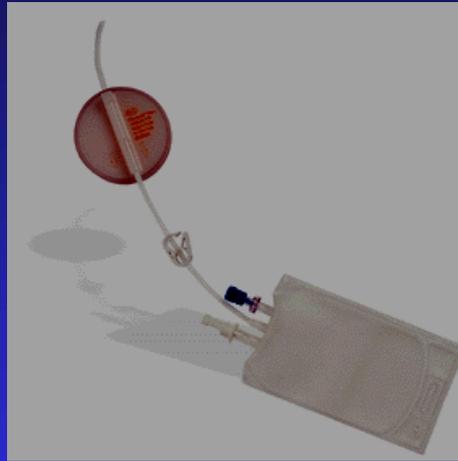
## LRF6BLA / LRF10BLA

- Compatible con SCD
- Sistema eliminador de aire
- Recuperación > 90%
- Bolsa para toma de muestras
- Rótulos e instrucciones en español
- LRF6 con bolsa de 600 ml
- LRF10 con bolsa de 1300 ml de CLX de almacenamiento prolongado

# Pediatría / Neonatología



BPF4NEOL



NEO1



PL1B

- La solución adecuada para cada demanda transfusional
- Menor pérdida de hemocomponentes
- Alícuotas listas para enviar a Neonatología

# Acrodose PL System



Pool de CP leucorreducidos  
prealmacenamiento con control bacteriano

# Acrodose PLus

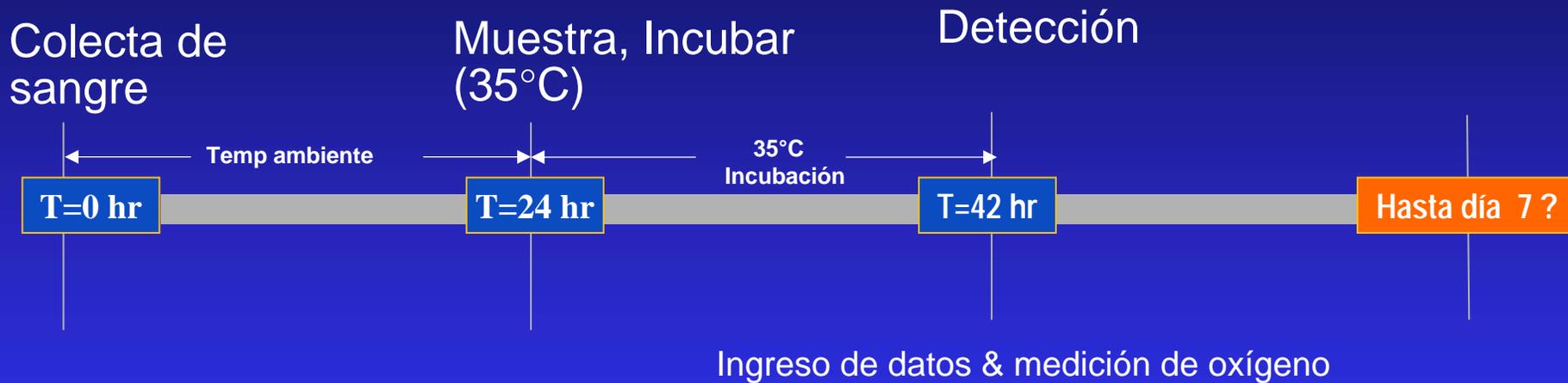
- Pool de plaquetas randómicas
- Conexión por sistema de conexión estéril
- Filtro para leucorreducción
- Bolsa de CLX de almacenamiento prolongado
- Bolsa para toma de muestra para control de bacterias



# Acrodose Plus



# Bacteria Detection System



eBDS



# Filtración en línea

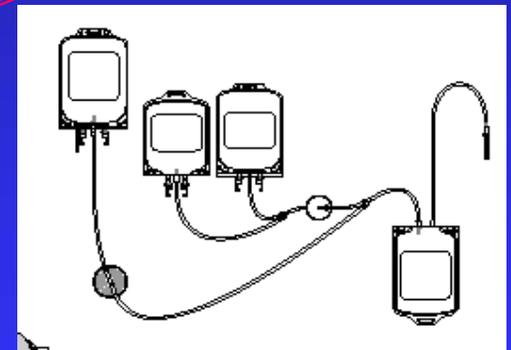
Experiencia  
clínica y  
capacitación  
técnica



**Durante fraccionamiento**

**Uso generalizado**

**In-line**



Tiempo

# Filtración en línea



# Filtración en línea



Filtración de sangre total, después de la donación y antes del procesamiento

PRE -  
Procesamiento



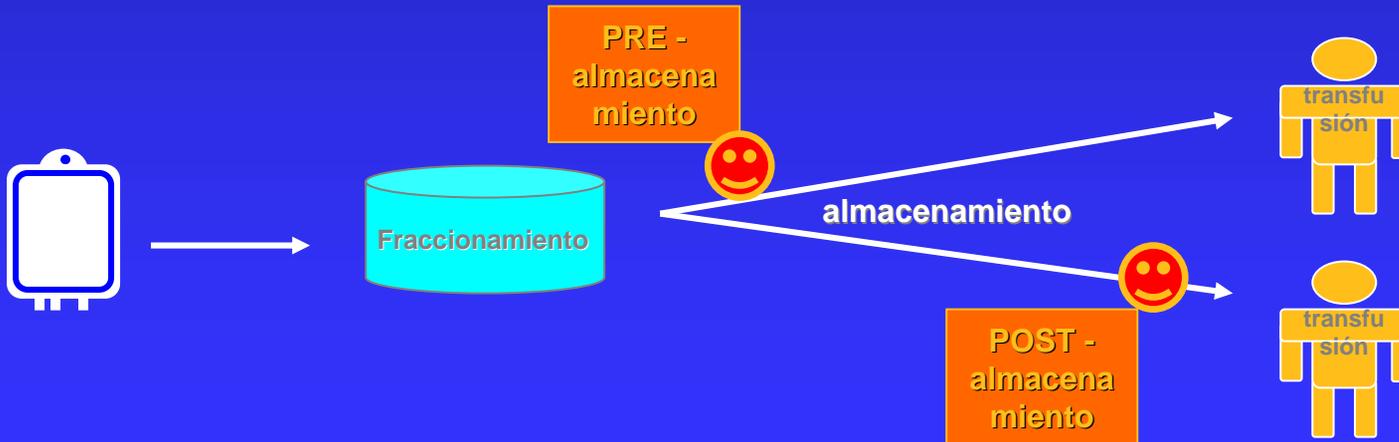
INTRA -  
Procesamiento

Filtración de eritrocitos, plaquetas o plasma durante el procesamiento



POST -  
Procesamiento

Filtración de eritrocitos, plaquetas o plasma después del procesamiento



# Calidad en Leucorreducción



Décadas de investigación y desarrollo  
e innovación permanente  
de los medios filtrantes y diseño de los filtros

# Calidad

1- Medio filtrante

2- Carcasa

3- Sellado entre el medio filtrante y la carcasa

4- Diseño del sistema

5- Consistencia

# 1- Medio filtrante

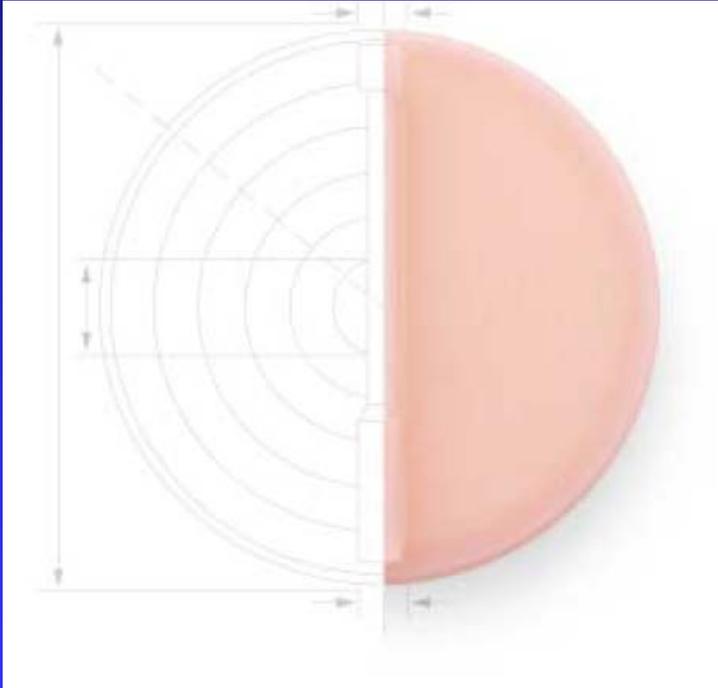


- Fibras de poliéster con una superficie máxima para la óptima adherencia de leucocitos
- Máxima densidad de fibras delgadas para minimizar la pérdida de plaquetas, GR y plasma
- Múltiples capas de medio filtrante lo cual mejora notablemente la velocidad de purgado, reduce la posibilidad de atrapar aire y ofrece un flujo consistente

# Filtración inteligente

- Fragmentos de complemento biológicamente activos como el C3a y C3a desArg
- Priones
- Citoquinas (IL-8, RANTES)

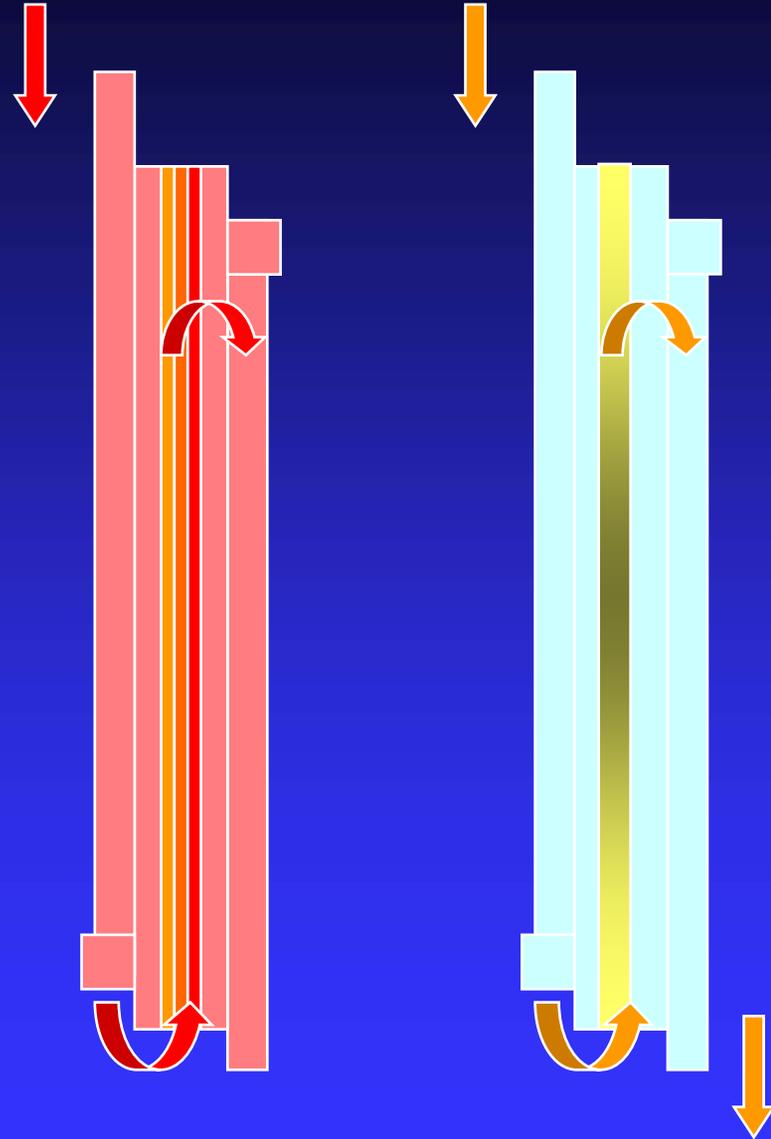
## 2- Carcasa



- Diseño circular que aumenta la consistencia y eficacia de filtración, sin esquinas, las cuales constituyen áreas de mínimo flujo
- Permite el flujo contra corriente y evita la canalización
- Ofrece protección contra fuerzas externas durante procesos tales como esterilización y centrifugación

**Diseño de la carcasa  
que evita  
la canalización**

**Características de  
flujo óptimas**



## 3- Sellado



- Pall utiliza sellos de compresión en todos sus filtros de leucorreducción de componentes sanguíneos, lo cual constituye un proceso uniformemente controlado
- La integridad del sello asegura el correcto desempeño del filtro leucorreductor

## 4- Diseño



- El diseño exclusivo de los sistemas de leucorreducción asegura la mínima intervención del operador y la mínima manipulación del filtro y las tubuladuras
- Los sistemas para leucorreducción en cabecera del paciente incluyen cámara de goteo autonivelante para facilitar el purgado y el flujo durante el filtrado
- Los sistemas para leucorreducción en el banco de sangre incluyen bolsas para toma de muestras para control de calidad y dispositivos de venteo para recuperar una mayor cantidad de producto

## 5- Consistencia



- Pall reconoce que la sangre es un agente biológico que puede ser filtrado en diferentes etapas de procesamiento, por lo que los filtros son diseñados para cada aplicación específica
- La tecnología de filtración proporciona los más bajos niveles de leucocitos residuales en los componentes sanguíneos filtrados con márgenes de seguridad por debajo de las normas establecidas

# Hemocomponente leucorreducido

$< 5 \times 10^6$  leucocitos

# Contenido aproximado de leucocitos (por unidad)

Sangre entera	$10^9$
GR	$10^8$
GR lavados	$10^7$
GR desglicerolizados	$10^6-10^7$
Plaquetas, aféresis	$10^6-10^8$
Plaquetas	$10^7$

# Eficacia de leucorreducción

## Parámetro

## Población leucocitaria residual

- |                            |  |            |
|----------------------------|--|------------|
| ■ Paq. globular            | $2,5 \times 10^9$                      |            |
| ■ Centrifugación           | $2,5 \times 10^8$                      | ↪ $\log 1$ |
| ■ Sistema automático       | $2,5 \times 10^7$                      | ↪ $\log 2$ |
| ■ <u>Normas de la AABB</u> | <u><math>&lt; 5 \times 10^6</math></u> | ↪ $\log 3$ |
| ■ Filtro alta eficacia     | $< 2,5 \times 10^5$                    | ↪ $\log 4$ |

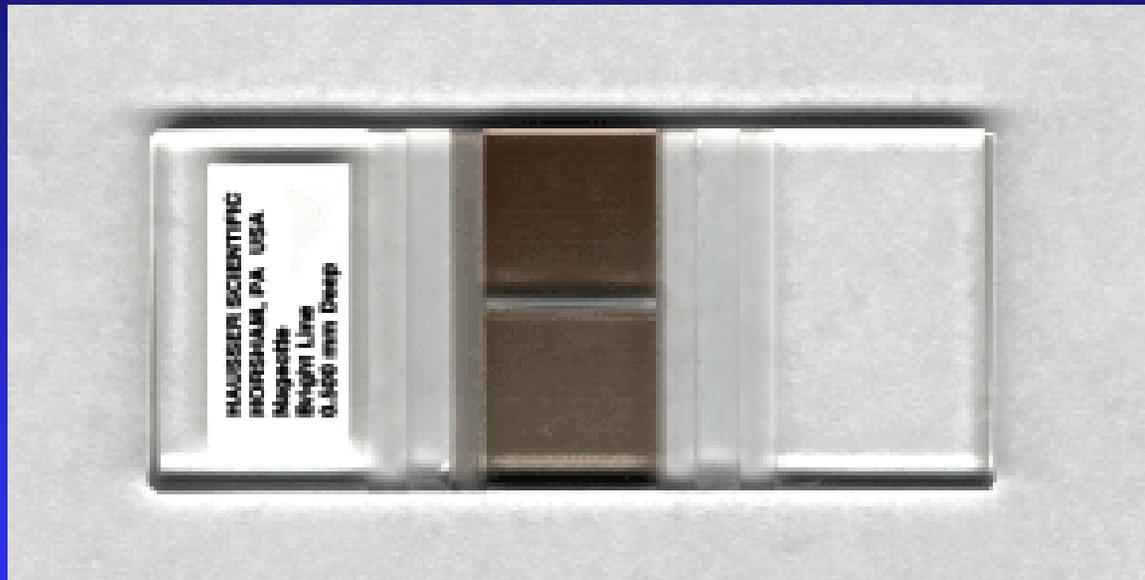
# Hemocomponente leucorreducido

$< 5 \times 10^6$  leucocitos

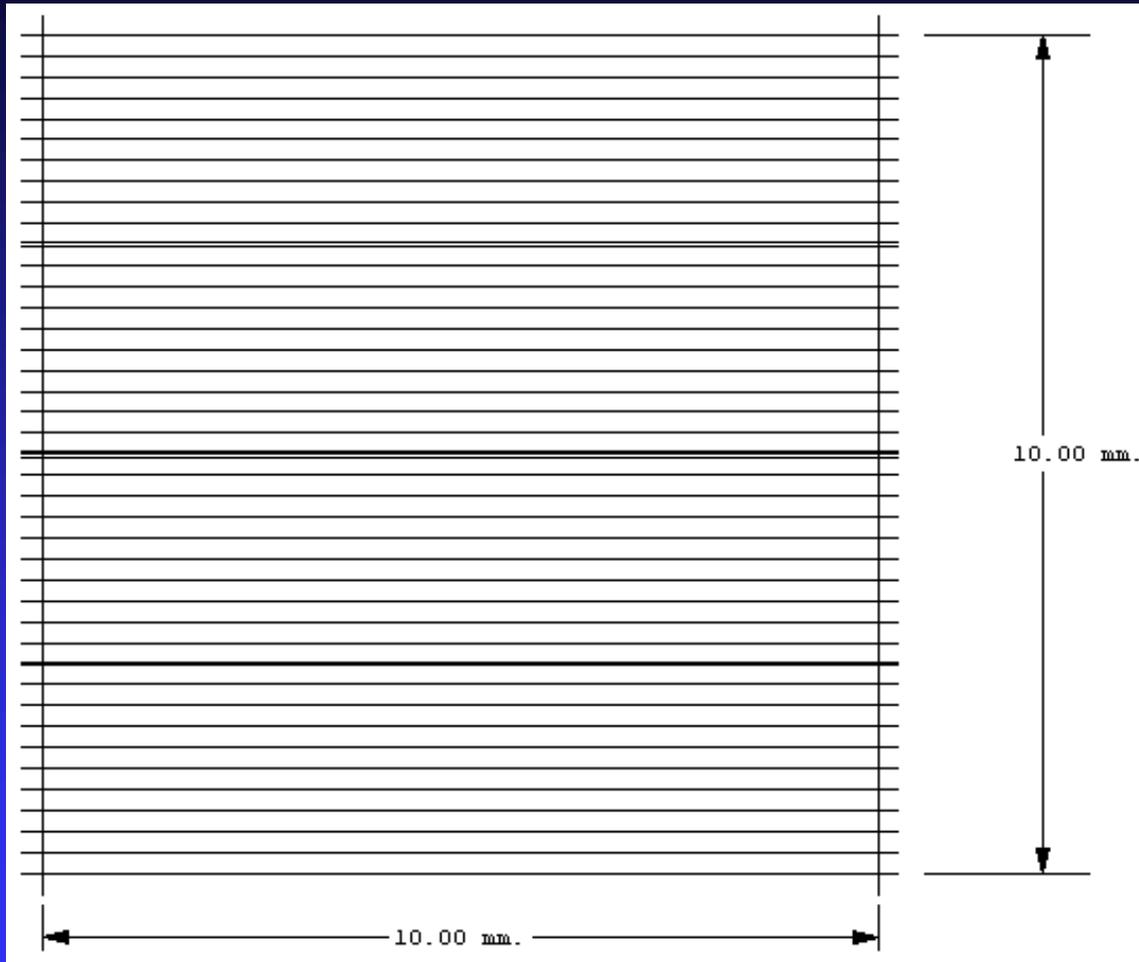
# Método de Recuento de Leucocitos Residuales

# Cámara de Nageotte

# Cámara de Nageotte



Sensibilidad del método: 0,1 leucocitos /microlitro



Cada rectángulo mide 10 mm x 0,25 mm x 0,5 mm de profundidad.

$$\text{Volumen} = 1,25 \text{ mm}^3$$

$$40 \text{ rectángulos} = 50 \text{ mm}^3 = 50 \mu\text{l}$$

# Recuento de leucocitos residuales por citometría de flujo



Límite de detección = 0,05 leucocitos/microlitro

# Citómetro de Flujo

- Autoanalizador de células en suspensión que, alineadas y de a una por vez, pasan por un haz de láser focalizado
- Cada célula, a la vez que dispersa la luz, emite luz fluorescente por la excitación láser

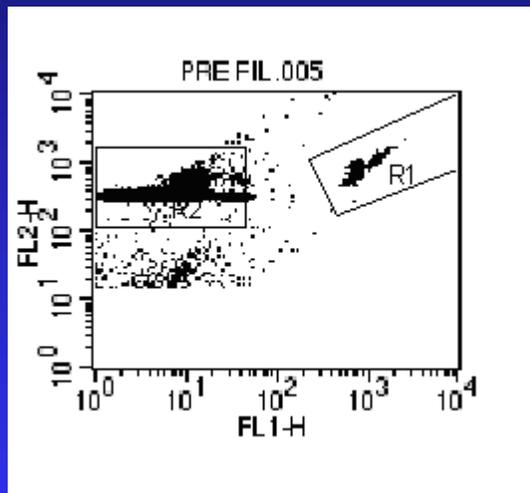
## Reactivos para recuento de leucocitos residuales incluyen:

- Detergente para permeabilizar las células
- Yoduro de propidio para teñir el ADN
- ARNasa para eliminar el ARN celular residual que pudiera interferir en la tinción
- Microesferas que se utilizan como estándar interno para el recuento absoluto

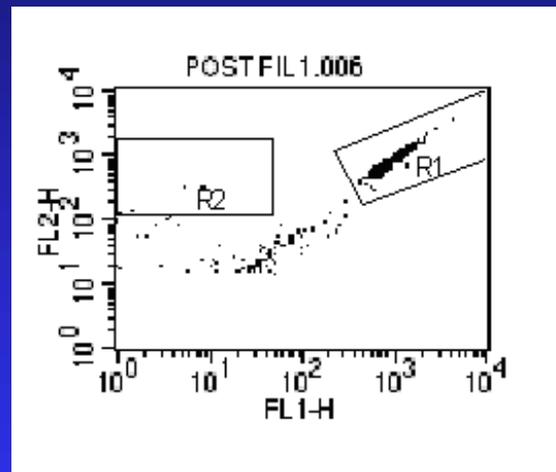
**Sensibilidad del método: 0.05 L/uL**

# Lectura por citometría de flujo

## Muestra pre filtración



## Muestra post filtración



$$N^{\circ} \text{ GBr/uL} = \frac{\text{Eventos GB(R2)} \times \text{Rto. beads por tubo}^*}{\text{Eventos de beads(R1)} \times \text{Vol de la muestra(uL)}}$$

\*El recuento de beads por tubo es constante en un mismo lote

# Detección de bacterias - *Pall eBDS* en concentrados plaquetarios



## Contaminación bacteriana en hemocomponentes

- Primer riesgo infeccioso en ser reconocido como tal en la transfusión sanguínea (1939)  
*Novak M. Preservation of stored blood with sulfanilamide. JAMA 1939;113:2227-9.*
- Reducido en su mayor parte en los '60 por el uso de sistemas cerrados y estériles
- Los recientes avances en las técnicas de tamizaje viral serológico han reducido notablemente los riesgos de infección viral
- En la actualidad, la **sepsis bacteriana** es el evento infeccioso **más frecuente** luego de la transfusión.

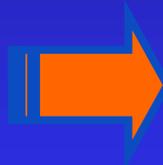
# Contaminación bacteriana en hemocomponentes

- Segunda causa de fatalidades asociadas a la transfusión reportadas a la FDA entre 1976-1998.
- Concentrados plaquetarios se vieron implicados en más del doble de las fatalidades asociadas con glóbulos rojos o sangre total.



# Contaminación bacteriana en hemocomponentes

**Cuadro de  
situación  
actual**



- Reconocimiento de la frecuencia y significación clínica de la contaminación bacteriana de hemocomponentes
- Desarrollo de estrategias tendientes a disminuir la sepsis bacteriana y la morbilidad y mortalidad asociadas

# AABB

## ASSOCIATION BULLETIN #03-12

**Date:** October 1, 2003

**To:** AABB Members

The most common transfusion-associated infectious risk in the United States today is bacterial contamination of platelet components. This document includes a discussion of the many issues associated with bacterial contamination of platelet components and describes currently available strategies to limit the entry of bacteria into the platelet unit and detect proliferation of bacteria in the stored unit before transfusion.

Specific Recommendations: To limit or prevent bacterial contamination of all transfused platelets, each transfusion service should work with its blood collection facilities to ensure 1) the use of methods to limit entry of bacteria into the unit at the time of collection, and 2) the application of a detection strategy to identify potentially contaminated units. It is anticipated that the combination approach will greatly reduce the potential for bacterial contamination of platelet components.

# Normativa AABB

- 5.1.5.1** The blood bank or transfusion service shall have methods to limit and detect bacterial contamination in all platelet components.
- 5.1.5.1.1 Standard 5.1.5.1 shall be implemented by March 1, 2004.

# *Pall eBDS* - Generalidades

Set para muestreo



Pall Data  
Software

Incubador/Agitador

Analizador de oxígeno con lector de código de barra

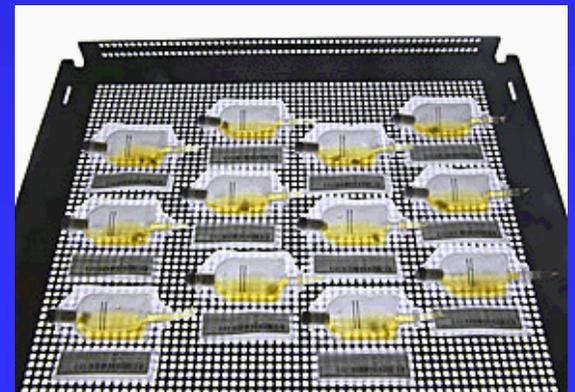
# Técnica



- ***Pall eBDS*** utiliza oxígeno como marcador para determinar la presencia de bacterias
- Etapa 1: Las bacterias consumen el oxígeno del plasma
- Etapa 2: Equilibrio de la concentración de oxígeno entre el aire y el plasma
- Etapa 3: El Analizador de Oxígeno ***Pall eBDS*** mide el oxígeno del espacio superior y lo compara con un valor límite predeterminado

# Técnica

- Se estimula el crecimiento bacteriano en el interior de la bolsa
  - TSB (agar soja tripticasa)
  - SPS (sulfonato polianetol sódico)
- Incubación de la muestra a 35°C en agitación
  - Mejora el crecimiento bacteriano
  - Mejora el equilibrio entre el espacio libre en la bolsa y el plasma



## Analizador eBDS – Simplicidad y Seguridad

- 30 segundos por prueba
- Hasta 40.000 pruebas por año
- Opciones flexibles para el ingreso de datos
- Alta compatibilidad entre el analizador y el software





**Detección de bacterias en concentrados plaquetarios**

# Calidad en Leucorreducción



**Décadas de investigación y desarrollo  
e innovación permanente  
de los medios filtrantes y diseño de los filtros**

# Muchas gracias!!!!

