



**13° CONGRESO COLOMBIANO &
19° CONGRESO IBEROAMERICANO DE
BANCOS DE SANGRE, MEDICINA
TRANSFUSIONAL Y TERAPIA CELULAR**

— CONECTADOS CON EL PACIENTE —

Octubre 31 a Noviembre 3 del 2024
Bogotá Colombia, Hotel Sheraton

REDUCCIÓN DE PATÓGENOS DE COMPONENTES SANGUÍNEOS

Carlos Alberto Arbeláez García

Médico Especialista en Medicina de Laboratorio

Universidad CES de Medellín

Bogotá

01 de noviembre de 2024

Contenido

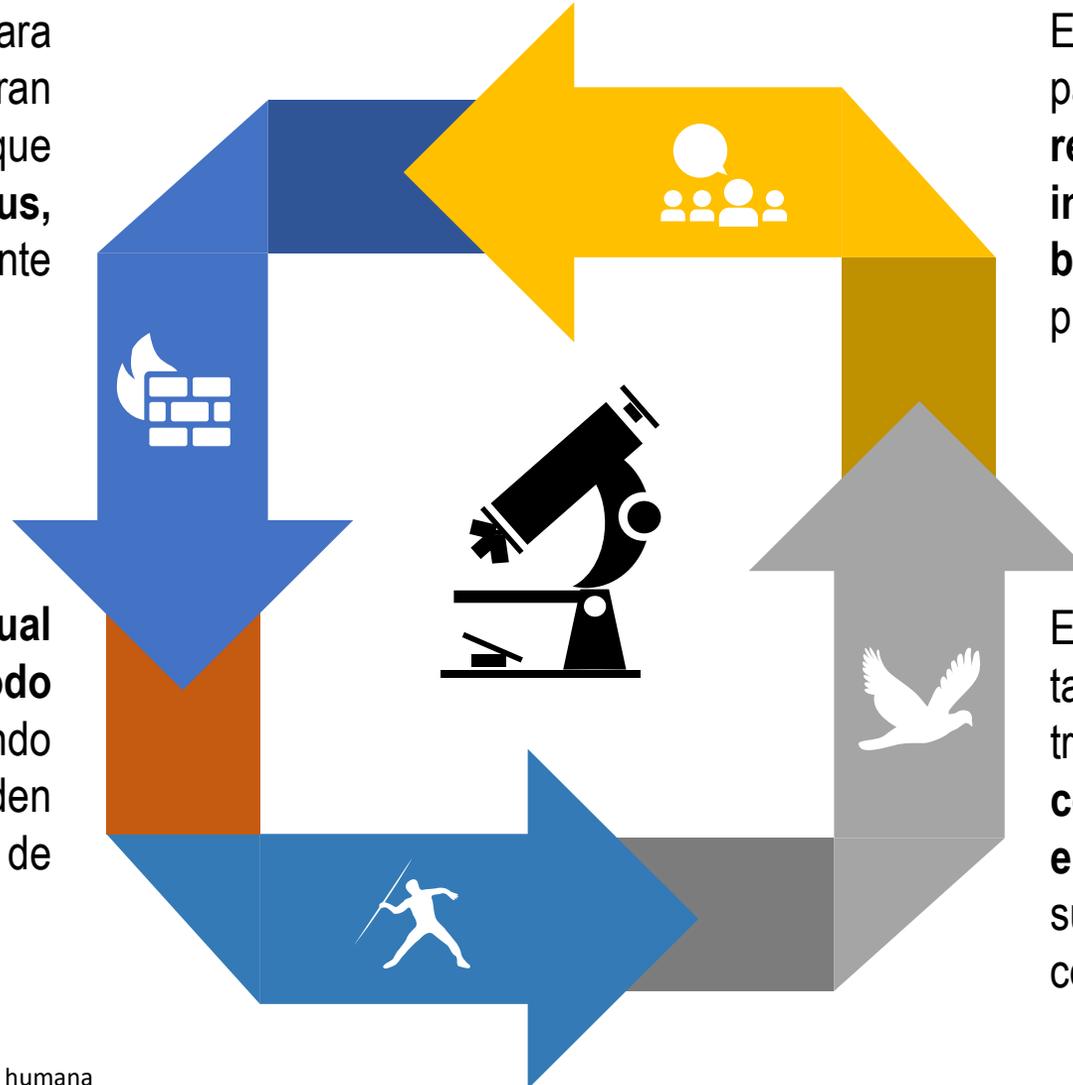
- Introducción
- Principios de la IP
- Tecnologías de la IP
- Tratamiento con solventes y detergentes
- Métodos que modifican los ácidos nucleicos
- Principios generales y ensayos clínicos
- Limitaciones
- Productos en desarrollo
- Tecnologías disponibles en Colombia

IP: inactivación de patógenos

Introducción

El uso de tecnologías IP para productos sanguíneos tiene un gran número de ventajas, debido a que **inactiva la mayoría de los virus, bacterias y parásitos** clínicamente importantes.

Ayuda a eliminar el riesgo residual de la infección durante el periodo de ventana inmunológica, cuando los patógenos (ej. VIH) no pueden ser detectados por las pruebas de tamizaje.



Esta amplia actividad contra los patógenos, también **ayuda a reducir el riesgo de agentes infecciosos reconocidos (ej. bacterias)**, los cuales no se pueden prevenir completamente.

En contraste a las pruebas de tamizaje para patógenos de transmisión sanguínea, la IP **protege contra agentes infecciosos emergentes** que ingresan al suministro de sangre en una comunidad dada.

Medidas para reducir la contaminación microbiológica



INFECCIONES TRANSMITIDAS A TRAVÉS DE LA SANGRE

Virus

Virus de la fiebre por garrapatas de Colorado

Citomegalovirus

Virus del dengue

Virus de Epstein-Barr

Virus de la hepatitis A

Virus de la hepatitis B

Virus de la hepatitis C

Virus de la hepatitis E

Virus del herpes humano 8

Virus de la inmunodeficiencia humana tipos 1 y 2

Virus linfotrópico T humano tipos 1 y 2

Parvovirus B19

Virus de la encefalitis transmitida por garrapatas

Virus del Nilo Occidental

Virus Zika

Virus Chikunguña

Bacterias

Anaplasma phagocytophilum

Género Brucella

Coxiella burnetii

Ehrlichia

Gérmenes grampositivos-a

Gérmenes gramnegativos-b

Rickettsia rickettsii

Treponema pallidum-c

Parásitos

Género Babesia

Género Leishmania

Trypanosoma cruzi

Género Plasmodium

Priones

Variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob vECJ

a-Riesgo más alto con las plaquetas (v. tabla siguiente); además, *Streptococcus gallolyticus* (bovis) destaca por asociarse a cáncer de colon en el donante.

b-Descrito en unidades de g. rojos asociado a gérmenes criófilos, incluidos *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia liquefaciens* y *Yersinia enterocolitica*.

c-No se considera un riesgo actual; la última transmisión asociada a una transfusión de la sífilis en EE.UU. se produjo en 1966.

Modificada de Perkins HA, Busch MP. Transfusion-associated infections: 50 years of relentless challenges and remarkable progress. *Transfusion*. 2010;50:2080-2099, y Stramer SL, Hollinger FB, Katz LM, et al. Emerging infectious disease agents and their potential threat to transfusion safety. *Transfusion*. 2009;49:1S-29S.

BACTERIEMIAS MORTALES TRANSMITIDAS POR TRANSFUSIONES SANGUÍNEAS



Microorganismos implicados en bacteriemias mortales transmitidas por transfusiones sanguíneas, incluida la asociación con endotoxinas (resultados del estudio BaCon)

Plaquetas

Estreptococos del grupo B

Escherichia coli

Providencia rettgeria

Serratia marcescens - a

Glóbulos rojos

Staphylococcus epidermidis

Serratia liquefaciens - a

a-Asociadas a 9.090-273.500 unidades formadoras de colonias por mililitro.

De Kuehnert MJ, Roth VR, Haley NR, et al. Transfusion-transmitted bacterial infection in the United States, 1998 through 2000. *Transfusion*. 2001;41:1493-1499.

PRUEBAS DE LABORATORIO REALIZADAS PARA PATÓGENOS O ENFERMEDADES, POR LOS BANCOS DE SANGRE DE LOS ESTADOS UNIDOS

Exigidas o recomendadas por la Food and Drug Administration estadounidense-FDA

Hepatitis B: antígeno de superficie HBsAg y anticuerpos Anticore total anti-HBcAb

Anticuerpo de la hepatitis C (anti-VHC)

Anticuerpos anti-VIH-1 y VIH-2 (anti-VIH-1 y anti-VIH-2)

Antígeno p24 del VIH

Anticuerpos anti-HTLV-1 y HTLV-2 (anti-HTLV-1 y anti-HTLV-2)

Pruebas serológicas para sífilis, treponémica y no treponémicas

PAAN para VIH-1, VHB y VHC

PAAN para el virus del Nilo Occidental

Pruebas serológicas para *Trypanosoma cruzi*

Pruebas de laboratorio exigidas adicionalmente por organizaciones acreditadas-a

Tamizaje de plaquetas para contaminación bacteriana-b

Realizadas voluntariamente

Prueba serológica para citomegalovirus (a demanda)

Realizadas en protocolos de investigación

PCR y prueba serológica para *Babesia microti*

PAAN para el virus Zika

a- Incluyendo AABB (conocido antiguamente como American Association of Blood Banks) y el College of American Pathologists.

b-En general, medio de cultivo líquido para unidades de aféresis e indicadores de pH/glucosa o pruebas de punto de uso de antígeno bacteriano, para unidades almacenadas de sangre total.

HTLV, virus linfotrópico T humano; PAAN, prueba de amplificación de ácidos nucleicos; PCR, reacción en cadena de la polimerasa; VHB, virus de la hepatitis B; VHC, virus de la hepatitis C; VIH, virus de la inmunodeficiencia humana.

RIESGO DE INFECCIONES TRANSMITIDAS A TRAVÉS DE LA SANGRE

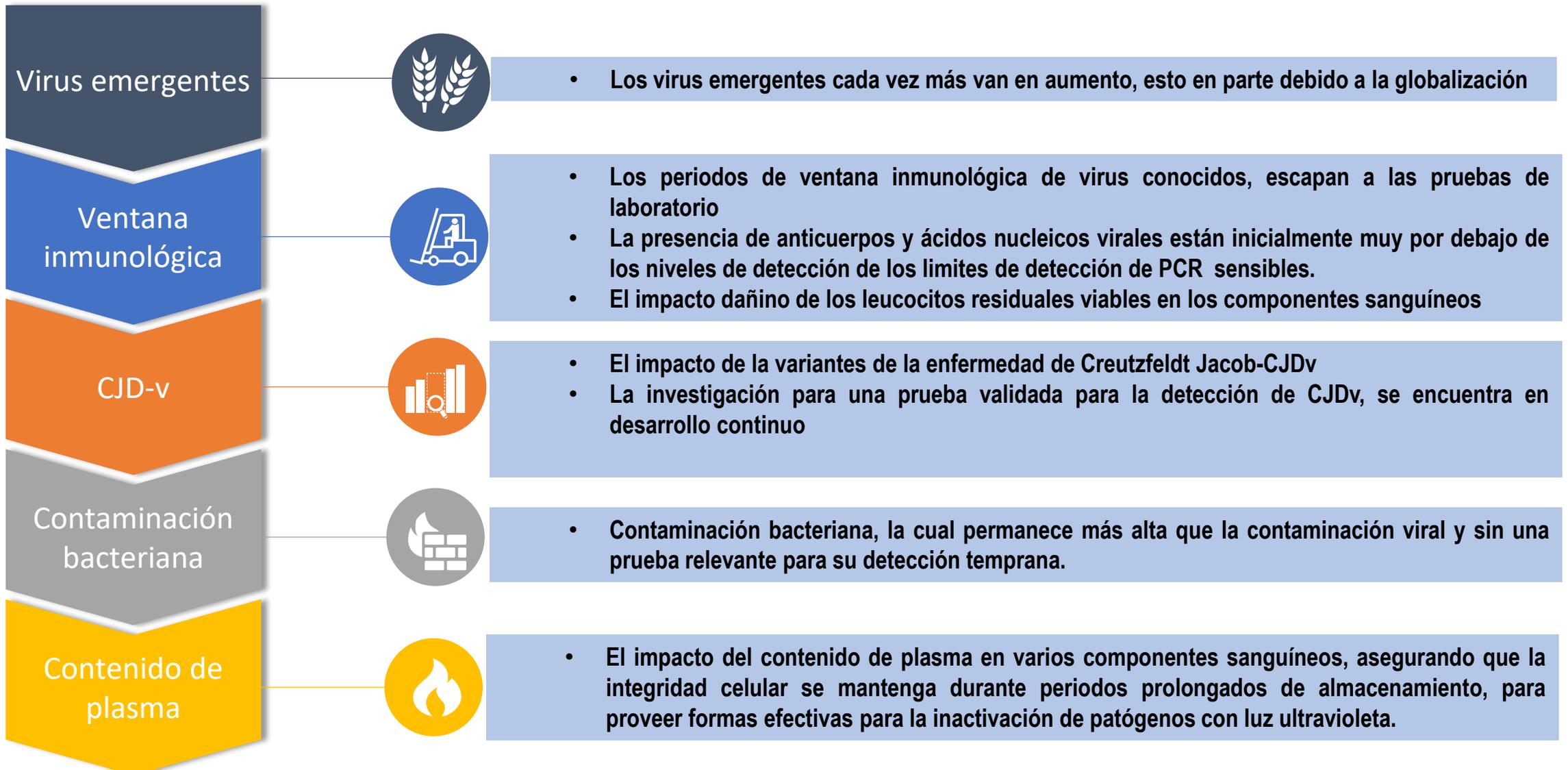
Periodo de intervalo y riesgo residual en enfermedades infecciosas

PERÍODO DE INTERVALO Y RIESGO RESIDUAL EN ENFERMEDADES INFECCIOSAS		
Prueba	Periodo de intervalo en días	Riesgo residual de la transfusión
MP PAN del VIH	9	1:1.800.000
EIA del VIH	21	
MP PAN DEL VHC	7	1:1.600.000
EIA del VHC	51-58	
HBsAg	30-38	1:300.000
PAN del VHB	15-34	1:1.500.000
HTLV	80	1:3.300.000
Sífilis		Un caso notificado en los EU en los últimos 50 años
Enfermedad de Chagas		7 casos notificados en los EU. Ninguno desde que se realizan pruebas
PAN del VNO		Último caso en 2012
Contaminación bacteriana		1:25.350 en plaquetas de sangre total. 1:2.570 en plaquetas por aféresis

EIA, inmunoanálisis enzimático; HBsAg, antígeno de superficie del virus de la hepatitis B; MP-PAN, mini-pool de pruebas de ácidos nucleicos; VHB, virus de la hepatitis B; VHC, virus de la hepatitis C; VIH, virus de la inmunodeficiencia humana; HTLV, virus linfotrópico de células T humanas; VNO, virus del Nilo occidental.

HILLYER, B. H. (2020). MEDICINA TRANSFUSIONAL. En L. G. Schafer, *Tratado de medicina interna* (pág. 2657). Barcelona: Elsevier

Problemas que afectan la seguridad transfusional



Principios generales

Terminología



Inactivación de patógenos

Prevención completa de la
infectividad por un patógeno.

Orientado al procesamiento
del componente



Reducción de patógenos

Disminución de la cantidad
de un patógeno infeccioso
por métodos físicos
(nanofiltración), o por
tecnología de inactivación,
que altera la envoltura
lipídica o los ácidos
nucleicos.

Orientado al producto que se
va a transfundir

**No hay un método que garantice la esterilidad completa del
componente**

METAS Y CRITERIOS DE ACEPTACIÓN DE LA INACTIVACIÓN DE PATÓGENOS

Para ser globalmente efectiva debe cumplir con los siguientes criterios de aceptación



- Ser eficaz para eliminar un espectro amplio de patógenos y prevención de la sepsis.



- El procesamiento de la sangre debe causar el mínimo daño de las células



- No comprometer la seguridad transfusional asegurada por pruebas *in vitro* e *in vivo* y ensayos clínicos



- Como tecnología costo efectiva y no complicada, la IP debe ser mínimamente toxica, mantener la integridad funcional de las células, para los propósitos transfusionales y pasar las pruebas de bio equivalencia y bio seguridad.



- IP debe satisfacer los criterios de disponibilidad: Ser accesible, económica, segura y demostrar el uso correcto de la tecnología

La meta es garantizar el suministro de sangre segura a través de la prevención de la transmisión de bacterias, virus y parásitos potencialmente dañinos

Principios generales Tecnologías



01

Métodos que alteran la cubierta lipídica de los agentes infecciosos, principalmente los virus.

- Tratamientos con solventes y detergentes



02

Métodos que alteran los ácidos nucleicos (ADN, ARN) para prevenir la replicación de agentes infecciosos.

- Adición de amotosalen o ribloflavina que se activan con la adición de luz ultravioleta
- Adición de azul de metileno que se activa con luz visible
- Adición de amustalina/glutati6n

Tratamiento con solventes y detergentes S/D



Producción de derivados plasmáticos

Plasma fresco congelado

Pool de unidades individuales antes de aplicar el tratamiento con S/D

Solventes orgánicos: tri-n-butyl-fosfato

Detergentes no iónicos triton X-100

Con pocas excepciones no afecta la estructura o función de las proteínas



Pasos

Filtración

Destrucción de la membrana con detergentes y solventes

Extracción

Filtración estéril

Susanne Marschner, L. y. (2018). Pathogen Reduction Technologies. En M. M. Jed B. Gorlin, *Transfusion Medicine and Hemostasis* (pág. 1050). Elsevier Science.

Seltsam, A. (2017). Pathogen inactivation of Cellular Blood Products An Additional Safety Layer in Transfusion Medicine. Springer: Journal frontiers in medicine.

Pathogen inactivation of blood products Author:Aaron Tobian, MD, PhD Section Editor:Steven Kleinman, MDDeputy Editor:Jennifer S Tirnauer, MD. All topics are updated as new evidence becomes available and our peer review process is complete. Literature review current through: Sep 2021. | This topic last updated: Dec 02, 2020.

Tratamiento con solventes y detergentes

Destrucción de los virus que tienen envoltura lipídica

❖ VIH – VHB – VHC – HTLV – VEB - CMV

- Bacterias y parásitos son eliminados a través de filtración
- En la historia de más de 2 millones de unidades de plasma S/D transfundidas en el mundo, no hay reporte de transmisión de VIH, VHB y VHC
- Se aplica a “pools” de plasma antes de la congelación, más que a unidades individuales
- **Pérdida del 30% de los factores de la coagulación: proteína S, alfa 2 anti plasmina, alfa 1 anti tripsina**
- Sin embargo, varios estudios no han demostrado diferencia en la eficacia entre la administración de PFC y PFC-SD
- Plasma SD (Octapharma, Lanchen, Suiza) fue licenciado en Europa en 1991 como Octaplas y en Estados Unidos en 1998 como PLAS + SD
- PLAS + SD se excluyó y contraindicó en trasplante hepático después de varios eventos trombóticos serios o sangrado excesivo.
- **Octaplas se licencio en el 2013 en los Estados Unidos, no tiene contraindicación y se usa en trasplante hepático**

Estos métodos no se dirigen a virus sin envoltura, como el virus de la hepatitis A (VHA), el virus de la hepatitis E (VHE) y el parvovirus B19.

Tratamiento con solventes y detergentes

Derivados plasmáticos

- ❖ Inmunoglobulinas
- ❖ Factores de la coagulación
- ❖ Fibrinógeno
- ❖ Albumina

Pool de 500-10.000 Lt de plasma (4 uds. de sangre total o 1.7 por aféresis de plasma)

Congelación y/o liofilización, son procedimientos altamente efectivos en inactivar VHA , 2 a 6 log.

Estos procesos contribuyen a la reducción de patógenos por daño de proteínas y membranas

El procedimiento de S/D es el que más ampliamente se ha usado en derivados plasmáticos

VHA: virus de la hepatitis A

Métodos que modifican los ácidos nucleicos



Los métodos que dañan los ácidos nucleicos ADN, ARN, se aceptan debido a que casi todos los patógenos con la excepción de los priones, requieren ácidos nucleicos para su reproducción y por lo tanto, causar una infección clínicamente significativa



El blanco de estos métodos son los ácidos nucleicos, sin importar la secuencia específica de los nucleótidos, por lo tanto inactivan

- Virus envueltos y algunos no envueltos
- Bacterias
- Parásitos

INTERCEPT (Amotosaleno/UVA)



El compuesto Amotosaleno HCl-S-59 se intercala en el ADN y el ARN y se activa mediante luz ultravioleta (UVA) de baja energía (320-400 nm).
Se forman entrecruzamientos entre los pares de bases (uniones covalentes entre las bases de pirimidina), bloqueando de forma irreversible, la replicación del ADN o ARN.



Antes de la transfusión de los componentes, se debe eliminar el amotosalen y sus fotoproductos, con el fin de evitar reacciones adversas o toxicidad en el receptor.



Este método se utiliza en el sistema INTERCEPT, disponible para plasma y plaquetas
Patentado por Cerus Corp. (Concord, CA, USA)



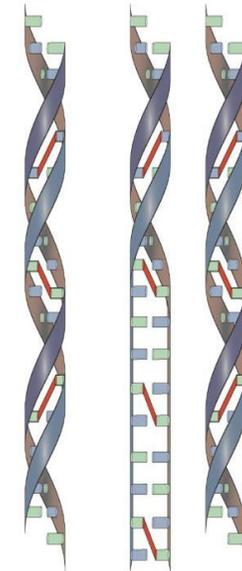
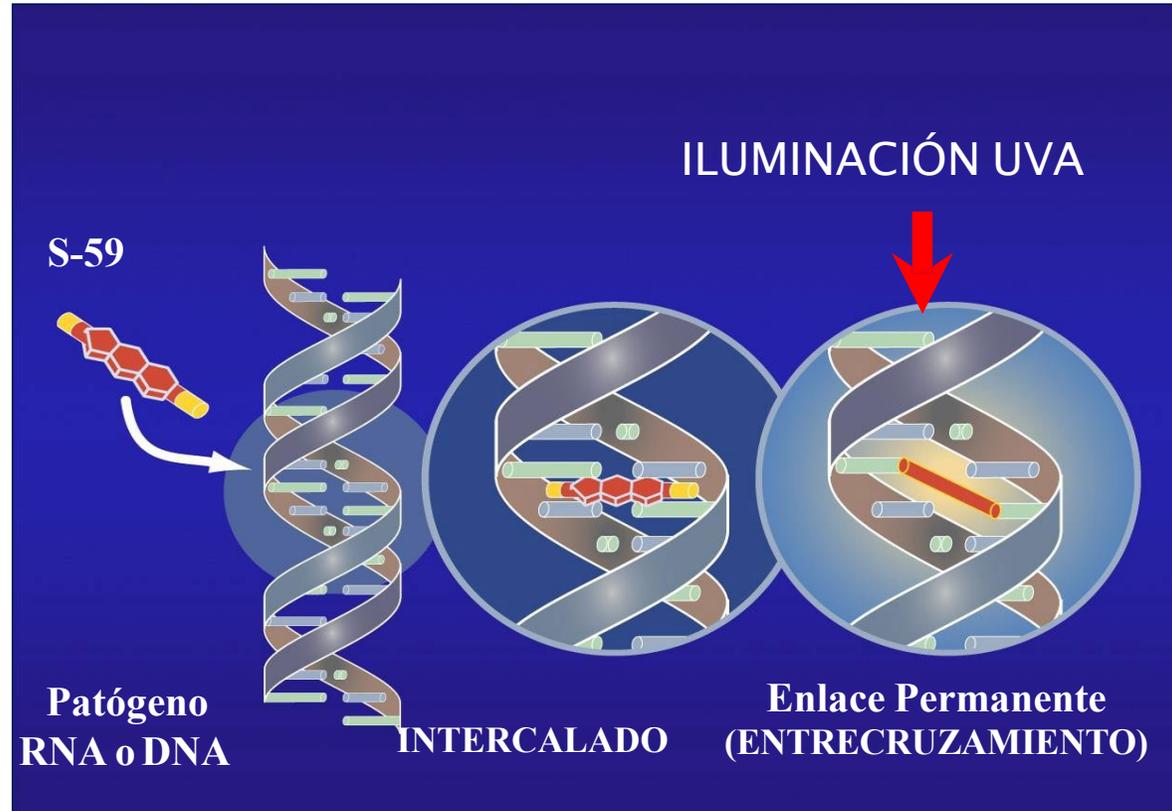
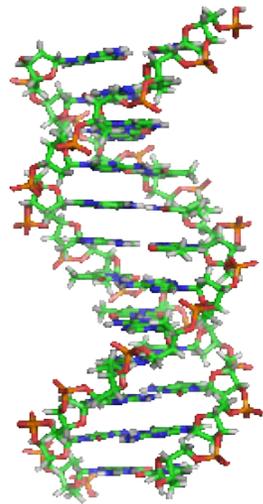
Debido a la absorción de la LUV-A por la hemoglobina, este sistema no está patentado para glóbulos rojos

Fuentes de Amotosaleno



- El 8-metoxipsoraleno (8-MOP) es una sustancia natural fotoactiva que se encuentra en el apio, limas y en las chirivías o zanahorias blancas.
- Estas plantas por cientos de años, se han reconocido como beneficiosas para ciertas enfermedades de la piel como el vitíligo.
- El 8-MOP se usa en el tratamiento del linfoma T cutáneo.
- La ingesta diaria está en el rango de 1-2mg/día.

Intercept[®] tecnología de la hélice



Los entrecruzamientos bloquean la separación y replicación de las cadenas.

PLASMA Y PLAQUETAS

INTERCEPT (Amotosaleno/UVA)



Imagen cortesía de Annar Dx

Mecanismo de acción del Amotosaleno

- Las plaquetas suspendidas en solución aditiva 65% + 35% plasma, son tratadas con amotosaleno (psoraleno de origen vegetal) y expuestas a luz ultravioleta por 5 minutos.
- Esto genera la unión irreversible a los ácidos nucleicos.
- El **amotosaleno** que no se une, y productos derivados son absorbidos posteriormente en un proceso que dura en promedio 4 – 6 horas, posterior a lo cual se transfieren las plaquetas a una bolsa final para su transfusión.

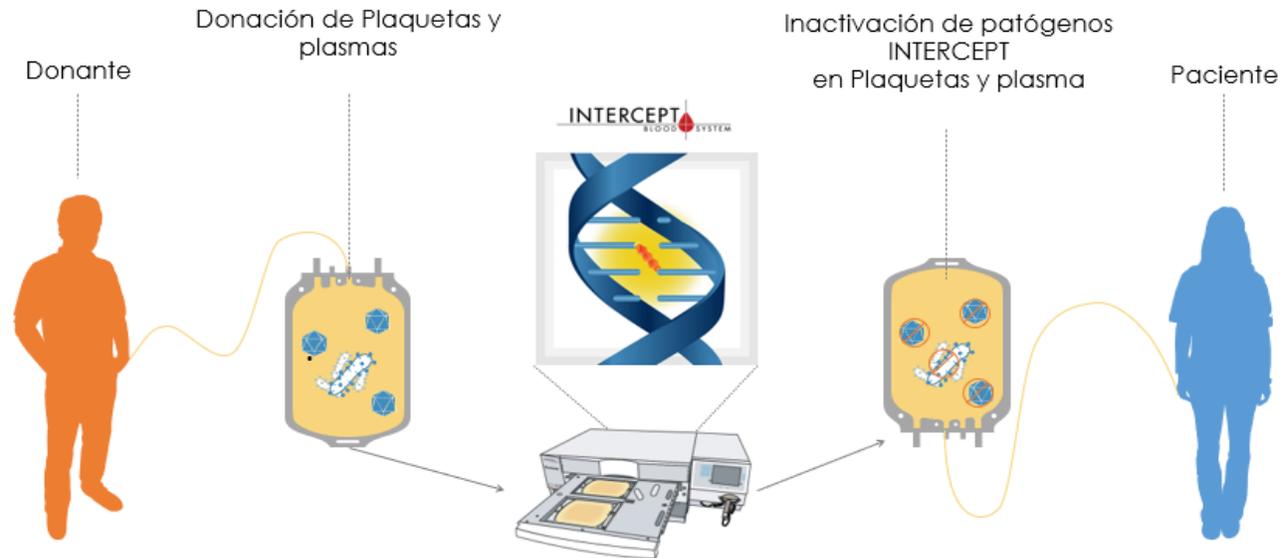


Sistema de inactivación Intercept

Intercept - CERUS

cerus 

INTERCEPT Sistema sanguíneo de inactivación



El plasma y las Plaquetas de los donantes pueden contener agentes nocivos como bacterias, virus, protozoos, y/o glóbulos blancos.

INTERCEPT inactiva los agentes patógenos que pueden estar presentes en el plasma o las plaquetas mediante enlaces cruzados en el ADN.

Los componentes inactivados puede ser transfundidos en todo tipo de pacientes.

INTERCEPT Blood System for Plaquetas - Dual Storage Set Package Insert, August 17, 2015.
INTERCEPT Blood System for Plasma Package Insert, August 17, 2015.

INTERCEPT (Amotosaleno/UVA)



- **Inactiva virus envueltos y no envueltos, bacterias, parásitos y glóbulos blancos.**
- **Plasma: Se procesa antes de la congelación**
- **No altera los niveles de factores pro coagulantes o anticoagulantes: Proteína S y C, factores V, VIII, IX, X, trombina, fibrinógeno, factor von Willebrand y proteína ADMAST 13**
- **Esta autorizado en países europeos, marca CE, desde el año 2006**
- **Aprobado por la FDA en el año 2014**
- **Evaluación en pacientes con trombocitopenia, coagulopatías adquiridas y crónicas = buenos resultados**
 - SPRITE**
 - SPRINT**
 - TESSI**
 - HOVON-82**
 - IPTAS**

INTERCEPT (Amotosaleno/UVA)



Numerosos estudios de hemovigilancia han documentado que no existe incremento en el número de eventos adversos asociados a la transfusión, en receptores de plaquetas tratados con amotosalen más LUV-A

Estudio realizado en Bélgica

- 795 pacientes recibieron INTERCEPT
- “ “ plaquetas estándar
- Periodo de tres años
- No se presentaron eventos adversos con inactivación de plaquetas
- No hubo diferencia con el número de plaquetas transfundidas

INTERCEPT (Amustalina/Glutación)



El sistema S-303 PI (INTERCEPT RBC system, Cerus Corporation, Concord, CA, USA) se desarrollo específicamente para glóbulos rojos.

También denominado FRALE (Frangible Anchor-Linker-Efactor)- Efactor de anclaje frangible.

S-303 es un componente que previene la replicación de los ácidos nucleicos debido a que intercala entre ellos



Una vez se adiciona a la unidad de glóbulos rojos, este componente anfipático pasa a través de la célula y las membranas de envoltura viral y se intercala dentro de las regiones helicoidales de los ácidos nucleicos.



El bioproducto S-300 no reactivo de esta reacción, es removido por incubación y centrifugación, esto demora 20 hr.

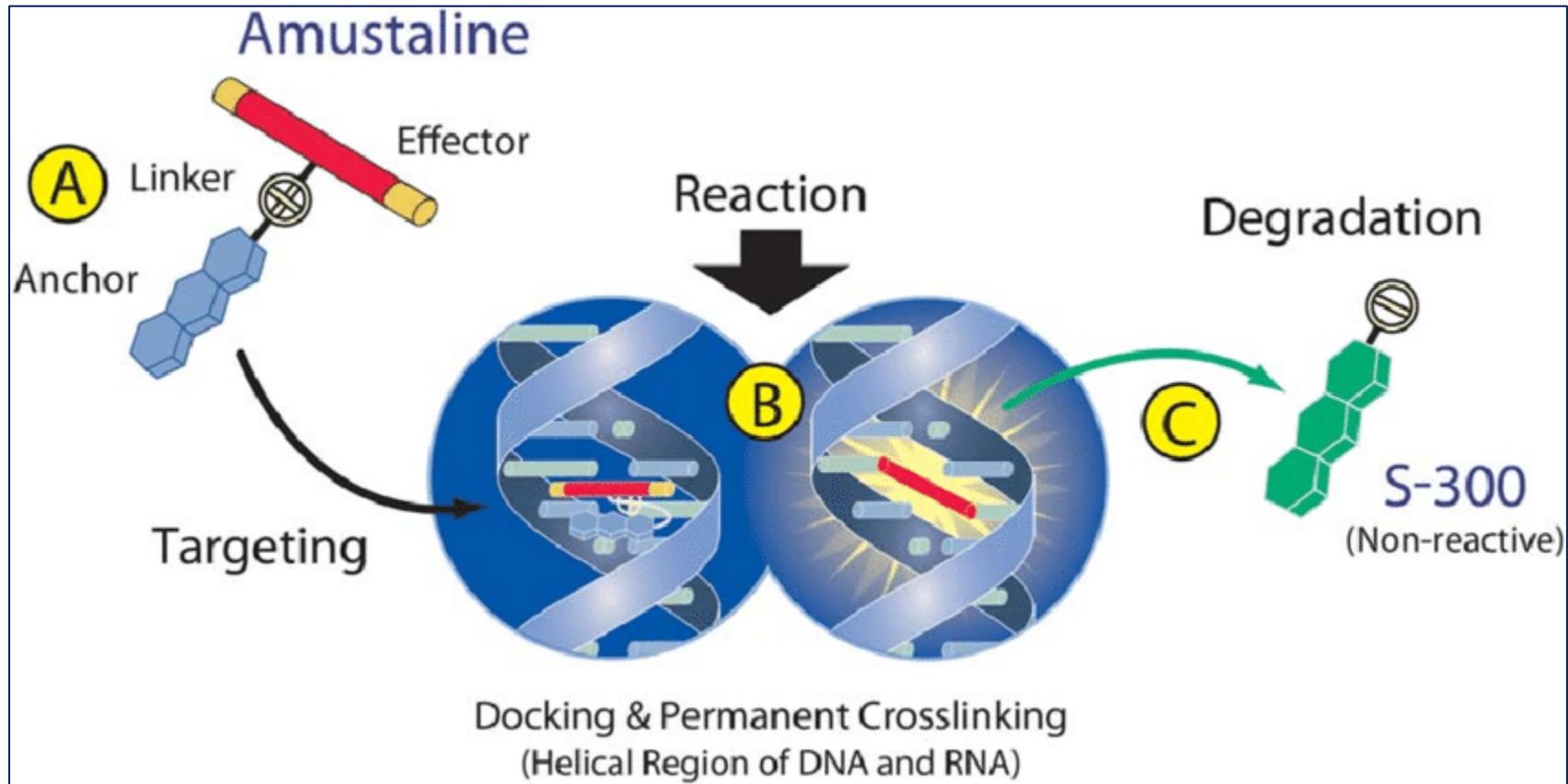
En contraste a otras tecnologías, S-303 no requiere LUV.



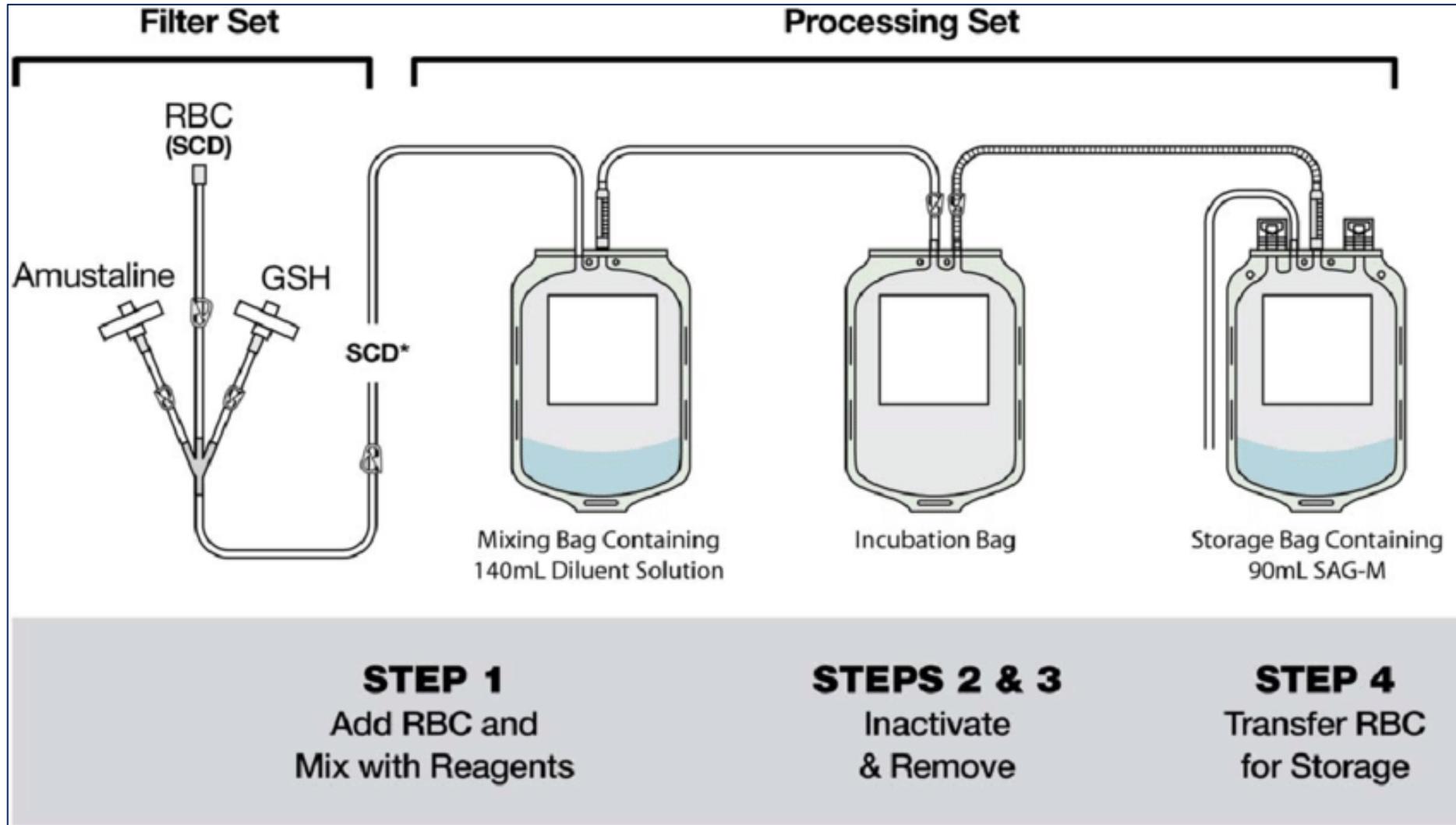
Sin embargo, se requiere glutación, un antioxidante de origen natural para prevenir reacciones no específicas entre S-303 y otros nucleófilos presentes en la unidad de glóbulos rojos.

Estas pueden ser moléculas pequeñas como fosfato y agua o macromoléculas como proteínas.

Mecanismo de acción de la Amustalina



Sistema Intercept RBC para inactivación de glóbulos rojos



INTERCEPT (Amustalina/Glutación)



- Los GR tratados con esta tecnología se han evaluado en pacientes sanos, demostrando *in vivo* su calidad y la suficiente recuperación pos transfusión de estos
- Dos ensayos clínicos están en desarrollo

SPARC, en pacientes con talasemia

RedeS, en regiones endémicas para ZIKV

- Un ensayo clínico aleatorizado en 80 pacientes con talasemia dependiente de transfusiones, comparo glóbulos rojos tratados con amustalina mas glutación *versus* el tratamiento convencional con glóbulos rojos

Encontró incrementos similares en la hemoglobina, sin diferencias en los eventos adversos.

THERAFLEX-Azul de Metileno



Las unidades de plasma son tratadas con un colorante fenotiazidico-azul de metileno
Este se une a los ácidos nucleicos
Exposición a luz visible
Reacción fotodinámica: modifica los ácidos nucleicos y previene la replicación



Destruye el DNA de los virus con envoltura lipídica
Antes de la adición de AM, se deben reducir los leucocitos
No es efectivo contra virus intracelulares
Posee algún efecto sobre virus no envueltos: VHA, parvovirus B 19



Reduce algunos factores de la coagulación: Fibrinógeno, factor V y VIII

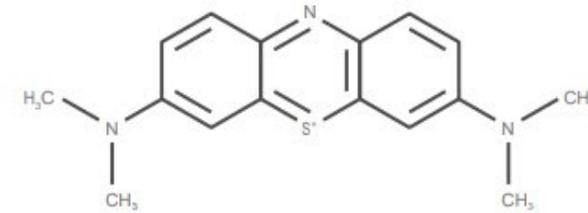
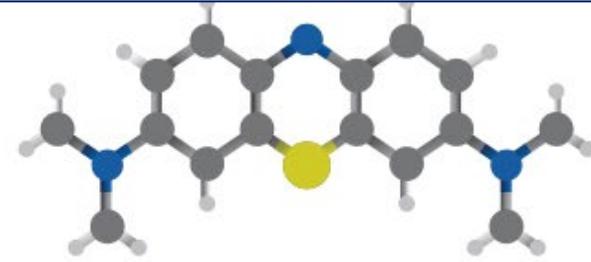


Patentado por Macopharma, Lille, Francia, Theraflex Methylene Blue (MB-Plasma)
Marca CE en el 2011
Se ha usado desde el 1992 (con y sin filtro para remover el AM)
No tiene licencia en Estados Unidos

Mecanismo de acción

El Azul de Metileno es un agente fotosensibilizante con afinidad por los pares de bases guanósina-citosina.

Se intercala en el ácido nucléico vírico y tras el ciclo de iluminación genera puentes de oxígeno, produciendo la oxidación de la guanósina y la destrucción del ácido nucléico, de esta manera impide la replicación viral.^{3,4}



MOLÉCULA DE AZUL DE METILENO



RESEÑA DEL MECANISMO:

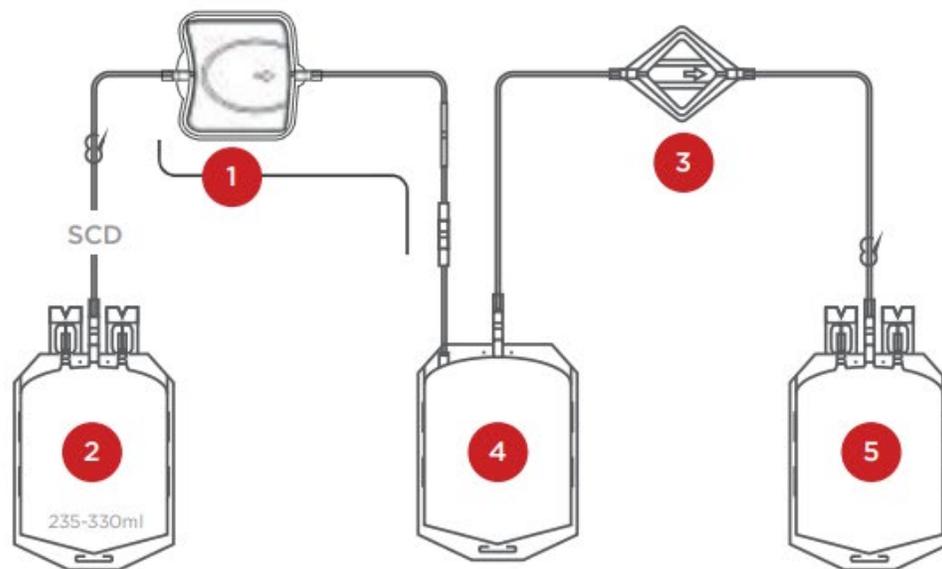
1. Intercalado de Azul de Metileno en el Ácido Nucléico.
2. Luz Visible.
3. Formación de singletes de oxígeno.
4. Destrucción del Ácido Nucléico viral.



PASTILLA DE AZUL DE METILENO DE MACOPHARMA (85µg / UNID DE PLASMA)

Centrados en el AZUL DE METILENO

- Monográfico sobre el Azul de Metileno en la farmacopea europea (7a edición, 2010) y en la farmacopea de EEUU (USP 35-NF 30, 2011).
- El Azul de Metileno es utilizado clínicamente en la tinción de órganos, como desinfectante y para revertir estados de Metahemoglobinemia en altas dosis (concentraciones entre 1.000 a 10.000 veces superiores a las utilizadas en el Sistema THERAFLEX MB-Plasma).



PLASMA ACELULAR

El filtro plasma Flex retira los leucocitos residuales, hematias y agregados de plaquetas que el plasma pueda presentar.

COMPONENTES DEL SISTEMA:

1. Filtración de plasma y adición de Azul de Metileno.
2. Plasma de Aféresis o Donación de sangre total.
3. Filtro BlueFlex: Retirada de Azul de Metileno.
4. Bolsa de Iluminación.
5. Bolsa para almacenamiento de Plasma.

EL SISTEMA THERAFLEX MB-PLASMA:

- ✓ Fácil de usar y efectivo en la reducción de patógenos de unidades individuales de plasma.
- ✓ Eficaz contra virus encapsulados y no encapsulados.
- ✓ Proceso simple y rápido. (3 pasos).

MacoTronic B2: La nueva generación de iluminadores THERAFLEX MB-Plasma

RÁPIDO: Ciclo corto de iluminación (~ 15 min.) gracias a una óptima longitud de onda (630nm) emitida por una fuente de luces LED (light-emitting diodes)

PEQUEÑO: Equipo de pequeñas dimensiones para utilizar sobre encimera. 2 bolsas/ciclo. Controlado a través de pantalla táctil.

SEGURO: Posibilidad de conexión al Sistema informático local a través del Macotracc (sistema de gestión de datos). Proceso completo según normas GMP. Trazabilidad completa de ciclo de iluminación.



THERAFLEX-Azul de Metileno



- Durante el desarrollo inicial con AM, el plasma presento un leve tinte azul, por lo tanto la transfusión de múltiples unidades podría causar coloración temporal de la piel y las membranas mucosas
- Por lo tanto, se modifico la tecnología incluyendo un filtro para remover el AM antes de la transfusión
- Se obtienen concentraciones reducidas de fibrinógeno, factor V, y factor VIII
- Disponible para su uso en plasma



THERAFLEX LUV-C



LUV C interactúa directamente con los ácidos nucleicos para formar dímeros de pirimidina que bloquean la elongación de la transcripción

No requiere fotosensibilizador



La irradiación con LUV-C afecta principalmente los ácidos nucleicos de los patógenos y los leucocitos y, no impide la calidad del plasma ni de las plaquetas.

Inactiva virus, bacterias y parásitos



Como no se requieren sustancias fotoactivas, el procedimiento es simple y más rápido (menos de un minuto) que la gamma irradiación y, se puede integrar fácilmente a los procedimientos de manufactura del banco de sangre.



Originalmente este método se diseñó para plaquetas, también estará disponible para glóbulos rojos y plasma. Ref Frontiers in Medicine

Susanne Marschner, L. y. (2018). Pathogen Reduction Technologies. En M. M. Jed B. Gorlin, *Transfusion Medicine and Hemostasis* (pág. 1050). Elsevier Science.

Seltsam, A. (2017). Pathogen inactivation of Cellular Blood Products An Additional Safety Layer in Transfusion Medicine. Springe: Journal frontiers in medicine.

Pathogen inactivation of blood products Author:Aaron Tobian, MD, PhD Section Editor:Steven Kleinman, MDDeputy Editor:Jennifer S Tirnauer, MD. All topics are updated as new evidence becomes available and our peer review process is complete. Literature review current through: Sep 2021. | This topic last updated: Dec 02, 2020.

Inactivación con el sistema THERAFLEX LUV-C

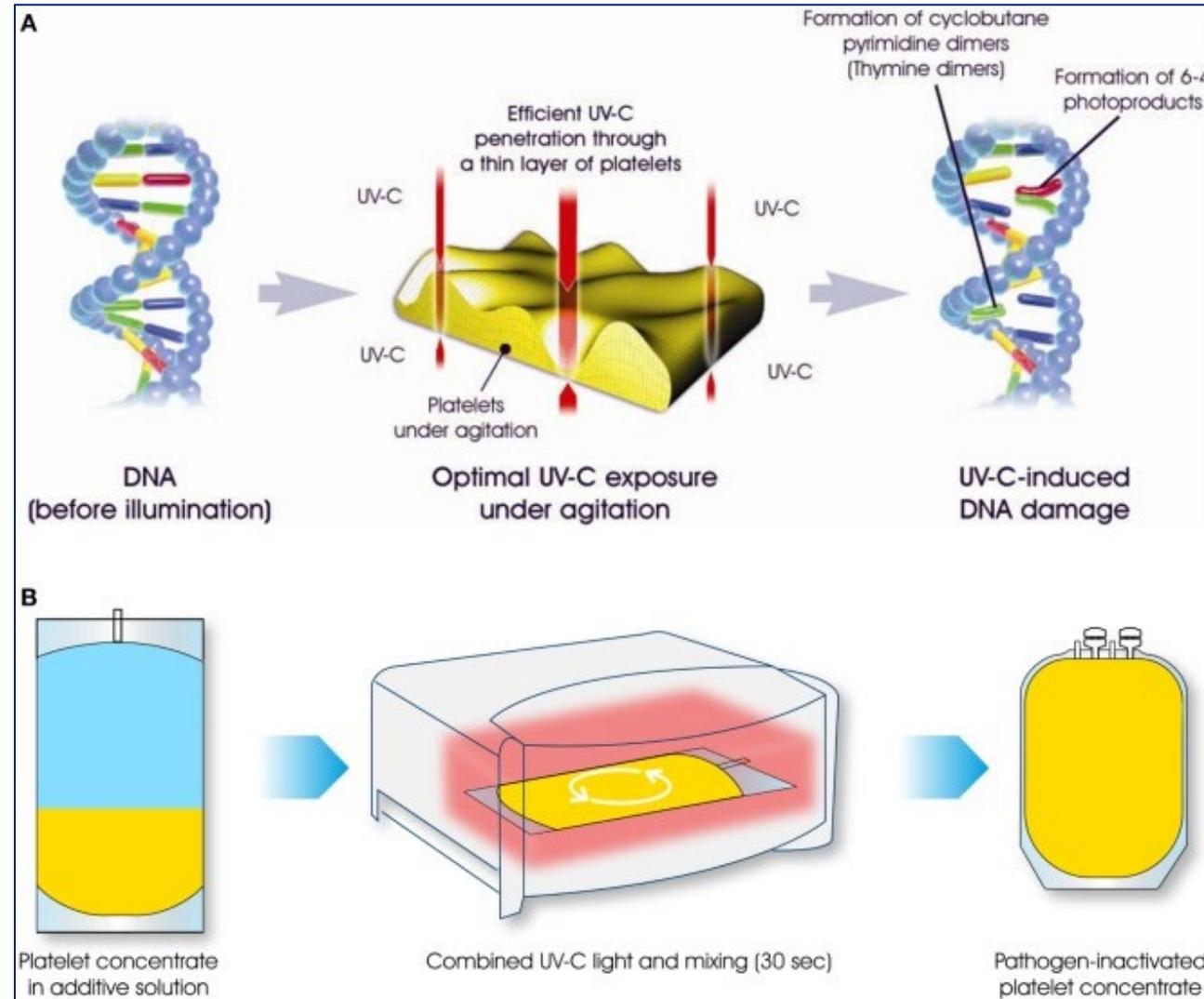


FIG e 1 | The THERAFLEX ultraviolet (UV)-Platelets pathogen inactivation system uses UVC light to induce irreversible damage to the nucleic acids of viruses, bacteria, fungi, protozoa, and leukocytes. Intense agitation of the platelet bag during UVC illumination results in pathogen inactivation, ensuring the uniform treatment of all blood compartments (A). For the illumination step of this simple and rapid procedure, platelet units are placed in the irradiation device for a period of less than 1 min (B). Afterward, the pathogen-reduced platelet concentrate can be used for transfusion.

THERAFLEX LUV-C



- Estudio CAPTURE: ensayo clínico fase III doble ciego aleatorizado
Seguridad y eficacia clínica en pacientes trombocitopénicos
Plaquetas tratadas con UV-C y plaquetas control
- Theraflex UV-C esta patentado por la unión entre las empresas Macopharma (Mouvau, Francia) y el Servicio de Sangre de la Cruz Roja en Springe, Alemania)

MIRASOL (Riboflavina más LUV)



Este sistema utiliza riboflavina (vitamina B2) y luz ultravioleta de amplio espectro (principalmente LUV-A y LUV-B en el rango de 285-365 nm).



Cuando se expone la riboflavina a LUV-A y LUV-B, esta se une a los ácidos nucleicos y transfiere electrones independientes de oxígeno, causando un daño irreversible de los ácidos nucleicos, impidiendo la replicación de virus no envueltos, bacterias, parásitos y glóbulos blancos



Debido a que la vitamina B2 se produce de forma natural, y los productos de fotodegradación no son tóxicos, y no mutagénicos, no necesita ser removida antes de la transfusión

Las proteínas del plasma y los factores de la coagulación no se afectan con este tratamiento



No se han reportado efectos adversos significativos

Este sistema está patentado por TerumoBCT (Lakewood, CO, USA). Posee marca CE desde el 2008

Además de su uso en plasma y plaquetas, también se puede utilizar para inactivación de sangre total.

Características Operativas del Sistema Mirasol

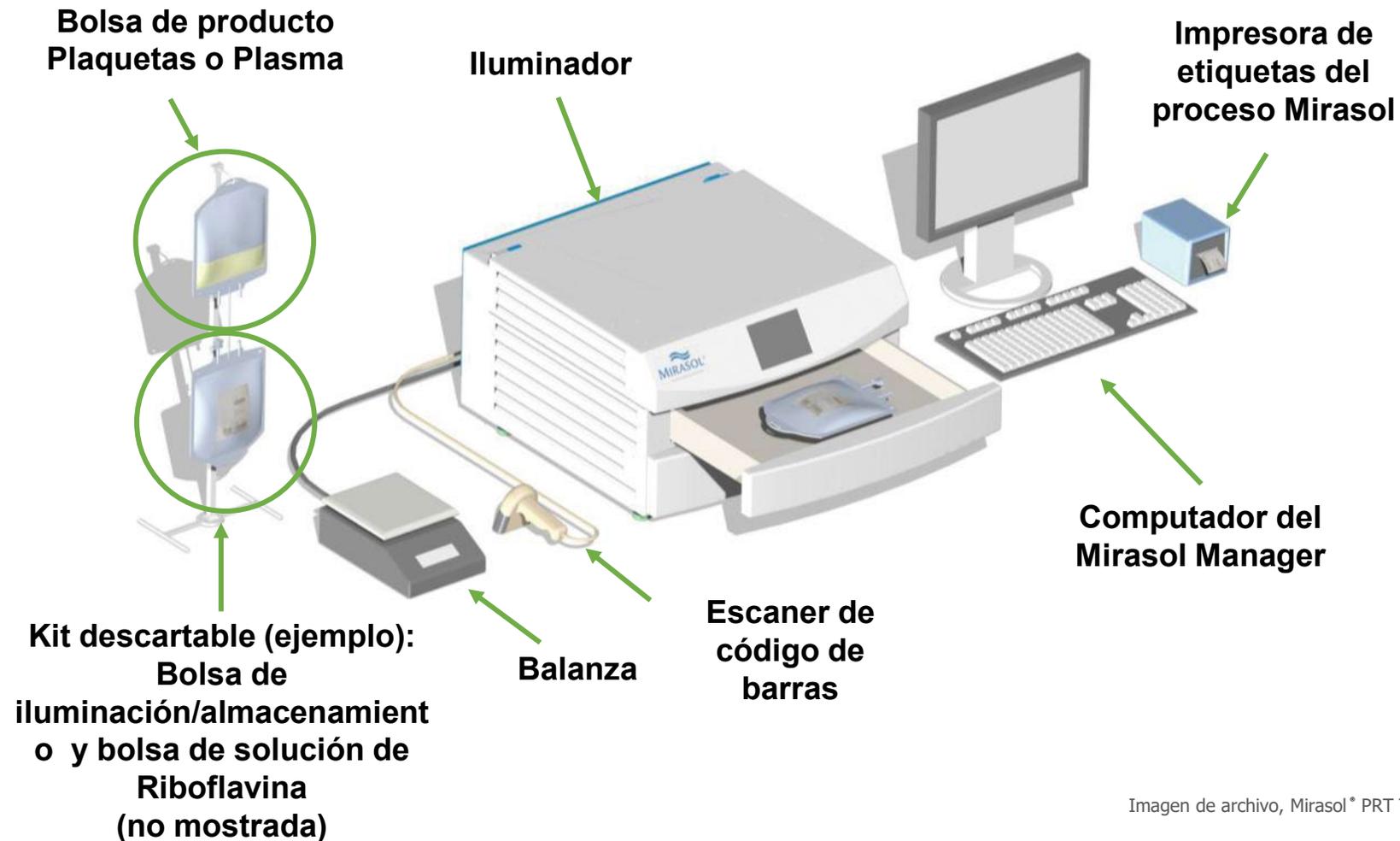


Imagen de archivo, Mirasol® PRT Terumo BCT Inc*

Imagen cortesía de Terumo BCT

1. Internal information Terumo Blood and Cell Technologies. Mirasol Technical file 2020
2. Mirasol training protocol, Denver 2016.
3. Mirasol IFU. Denver 2020

Riboflavina más LUV: Modo de acción

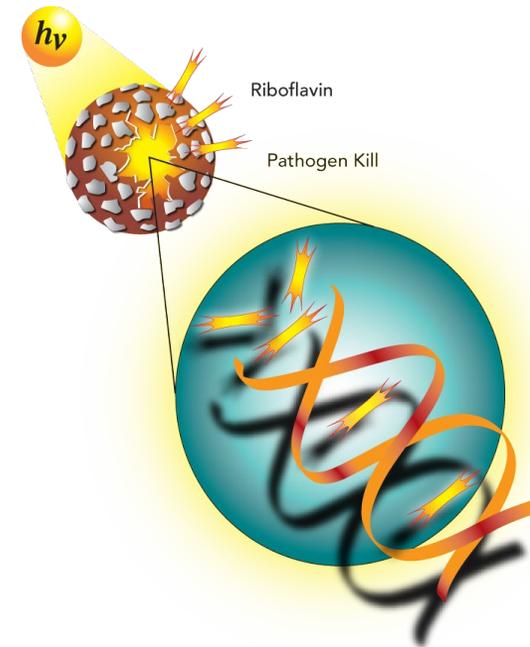
El sistema Riboflavina + LUV inactiva los agentes causantes de enfermedad mediante la alteración de sus ácidos nucleicos¹

1. Luz UV sola: inactivación reversible

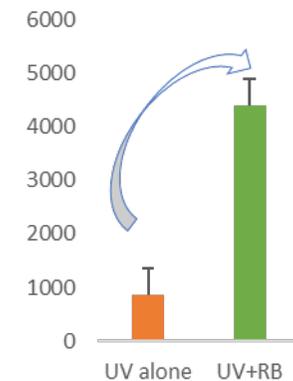
- La luz UV por si sola rompe los enlaces químicos de los ácidos nucleicos de los agentes patógenos

2. Luz UV + riboflavina: inactivación irreversible^{2,3}

- Las moléculas de riboflavina forman complejos con ácidos nucleicos.
- La luz UV del iluminador activa la molécula de riboflavina en el complejo.
- La riboflavina foto activada induce una alteración química en los grupos funcionales (como bases de guanina) de los ácidos nucleicos haciendo que los patógenos no sean capaces de replicarse, ni de la neoformación proteica.



Número de lesiones en el DNA por millón de bases



Incremento 5 veces debido a la presencia de riboflavina³.

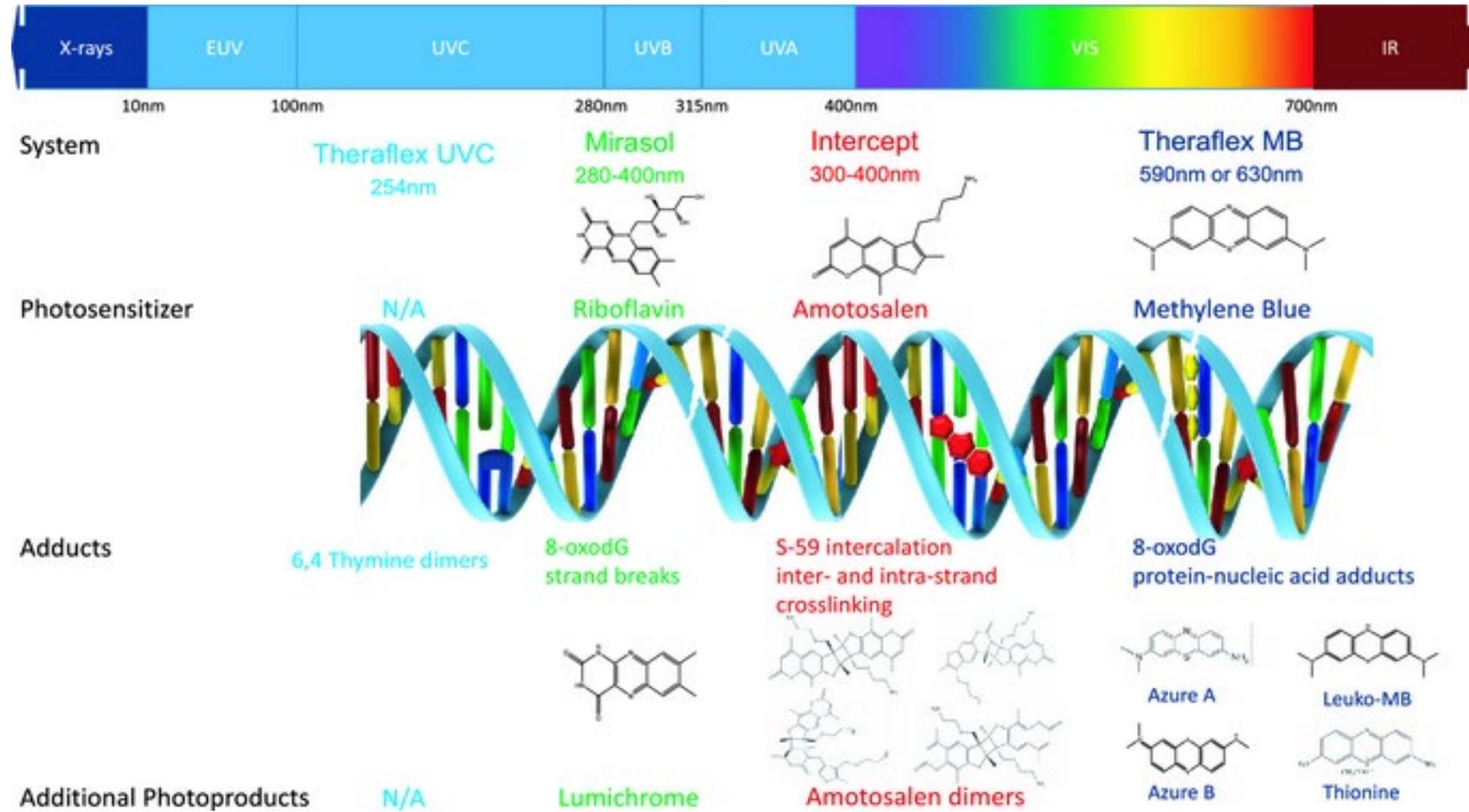
Imagen cortesía de Terumo BCT

1. Kumar, et al. *Photochem Photobiol.* 2004; 80(1):15-21.
2. Goodrich RP, et al. *Photochemi and Photobiol.* 2006; 6: 145-181.
3. Marschner, et al. Marschner S, Goodrich R. *Transfus Med Haematol.* 2011;38(1):8-18

Fundamentos Operacionales¹⁻⁴

Sistema Mirasol PRT Version 6

- Reacción de óxido-reducción, riboflavina (RB) se reduce, cede electrones.
- La guanina recibe electrones, se oxida y la destruye
- Riboflavina (vitamina B2)² actúa principalmente sobre guanina 80% y 20% sobre timina.
- Lumichrome de riboflavina
- LUV (270–320 nm),
- 624 j/ml
- No requiere post-filtración
- Plaquetas hasta 7 días: sí³
- Plasma (2 años a $\leq -30^\circ\text{C}$).⁴
- Sangre total: 14 días⁵
- Replicación de patógenos: no
- Neoformación protéica: no.
- Neoantigenicidad: no



1. Goodrich RP, et al. Doi 10111/php.12311. 2014.
2. Goodrich RP, et al. *Vox Sang.* 2006;90:279-85.
3. De Wilde-Cherrier S, et al. [abstract]. *Transfusion* 2012;52(Suppl 3):179A.

4. Piotrowski, D, et al. 2013 ISBT abstract (in press).
5. Allain J-P, et al. AIMS randomised controlled trial. *Lancet.* 2016;387:1753-1761

La riboflavina está clasificada como GRAS*

- Es una sustancia o compuesto que generalmente es reconocido como seguro
- La riboflavina es un nutriente esencial, presente en la mayoría de los alimentos
- Es esencial para procesos enzimáticos oxidativos del metabolismo corporal
- La LD 50 en animales excede grandemente los requerimientos dietarios o de tratamiento médico
- No hay reportes de carcinogenicidad, mutagenicidad o efectos teratogénicos.
- No se han reportado efectos tóxicos

Select Committee on GRAS Substances (SCOGS) Opinion: Riboflavin, Riboflavin-5'-phosphate

The [GRAS Substances \(SCOGS\) Database](#) ([//Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/SCOGS/ucm2006852.htm](#)) allows access to opinions and conclusions from 115 SCOGS reports published between 1972-1980 on the safety of over 370 Generally Recognized As Safe (GRAS) food substances. The GRAS ingredient reviews were conducted by the Select Committee in response to a 1969 White House directive by President Richard M. Nixon.

Riboflavin and Riboflavin-5'-phosphate

SCOGS Report Number: 114
NTIS Accession Number: PB301406*
Year of Report: 1979

GRAS Substance	ID Code	21 CFR Section
Riboflavin	83-88-5	184.1695
Riboflavin-5'-phosphate	146-17-8	184.1697

SCOGS Opinion:

Riboflavin, an essential nutrient, is a constituent of two coenzymes: riboflavin-5'-phosphate [flavin mononucleotide (FMN)] and flavin adenine dinucleotide (FAD), which are essential components of a number of oxidative enzyme systems. Various foods such as bakery, cereal and pasta products are commonly enriched by the addition of 2 to 5 mg per kg products. Also, many commonly used vitamin supplements contain riboflavin. The amount of riboflavin-5'-phosphate added to food is minuscule.

The Recommended Dietary Allowance of riboflavin is 0.6 mg per 1000 kcal for persons of all ages with an additional 0.3 mg daily for pregnant and 0.5 mg for lactating women. A recent U.S. survey of over 20,000 persons, 1 to 74 years of age, revealed a mean average intake of 1.92 and a median of 1.69 mg per day.

The acute toxicity in animals of riboflavin or FMN given orally is extremely low, with LD50 values several orders of magnitude greater than the dietary requirements or the estimated addition to food. The relative insolubility of riboflavin limits the absorption when large amounts are ingested. No reports have come to the attention of the Select

*: GRAS: Generally Recognized As Safe

MIRASOL (Riboflavina más LUV)



- **Se han transfundido más de 700.000 unidades de plasma y plaquetas**
- **Estudio de investigación MIRACLE, demostró eficacia**
Pacientes con trombocitopenia
Coagulopatías adquiridas y crónicas
- **IPTAS**
Plaquetas tratadas con Mirasol e INTERCEPT, comparación con plaquetas control
La incidencia de sangrado fue similar en ambos brazos
- **Estudio AIMS**
Demostró reducción de malaria transmitida por transfusión
Pacientes recibieron sangre total tratada con Mirasol versus sangre total
- **Dos estudios están evaluando los glóbulos rojos obtenidos de sangre total tratada con Mirasol**
IMPROVE, IMPROVE II
- **Estudio PRAISE en desarrollo, pacientes con talasemia, pendiente aprobación por FDA**

Componentes sanguíneos inactivados



Fabricante	Mecanismo de acción	Reducción de patógenos	Plasma	Plaquetas	Sangre total	Glóbulos rojos
INTERCEPT (Cerus)	Amotosalen mas LUV-A	Virus envueltos Virus no envueltos Bacterias Parásitos	Marca CE Aprobación FDA	Marca CE Aprobación FDA		
INTERCEPT (Cerus)	S-303	Virus envueltos Virus no envueltos Bacterias Parásitos				Ensayos clínicos fase 3 (US, EU)
Mirasol (Terumo BCT)	Rivoflavina mas LUV-A,B	Virus envueltos Virus no envueltos Bacterias Parásitos	Marca CE	Marca CE Ensayos clínicos (US)	Marca CE	Ensayos clínicos (US)
THERAFLEX (Macopharma)	LUV-C mas agitación	Virus envueltos Virus no envueltos Bacterias Parásitos		Marca CE		
THERAFLEX (Macopharma)	Azul de metileno mas luz visible mas filtración	Virus envueltos Virus no envueltos Bacterias Parásitos	Marca CE			
Octaplas (Octapharma)	Solvente/detergente	Virus envueltos Bacterias Parásitos Priones (Octaplas LG)	Marca CE Aprobación FDA			

Muchas gracias

Carlos Alberto Arbeláez García
arbelaez_carlos@hotmail.com
(57) 312-269-7482

Bonus track!

Has llegado al limite de tu tiempo?



Principios generales-ensayos clínicos



Malaria y otros parásitos

- El beneficio de la IP para reducir la transmisión de malaria por transfusión, se demostró en un estudio realizado en Ghana, donde la malaria es endémica y no hay pruebas disponibles de rutina para malaria.
- 226 pacientes fueron aleatorizados para recibir sangre total tratada con riboflavina más LUV o sangre total sin tratamiento con LUV.
- La tasa de malaria transmitida por transfusión, fue significativamente menor en las unidades tratadas con riboflavina más LUV, (1 de 28 versus 8 de 37), 4 versus 22% respectivamente.

Estudios in vitro y modelos animales han demostrado que la riboflavina más LUV puede inactivar en sangre total

- *Trypanosoma cruzi*
- *Babesia microti*
- *Babesia divergens*
- *Leishmania donovani*
- Estos estudios revelaron una reducción de 3.3 a 7.0 log en la carga de parásitos
- El método de amotosalen más LUV-A también ha demostrado inactivación de parásitos en plaquetas y plasma

Principios generales-ensayos clínicos



Virus

- **El uso de IP para reducir la infección por transfusión por el virus Sika, se ha probado en estudios in vitro en los cuales se adiciono el virus a plaquetas/plasma que fueron tratados con amotosalen más LUV-A**
 - Se realizaron pruebas de titulación con PCR-reacción en cadena de la polimerasa
 - Pruebas de infectividad con cultivos virales
 - Estas pruebas demostraron que no hubo infectividad ni replicación viral luego de IP, de las plaquetas y plasma.

De forma similar se ha reportado inactivación para otros virus

- **Virus del Nilo occidental**
- **Virus chikungunya**
- **Virus del dengue**

El virus de la encefalitis japonesa (flavivirus, transmitido por mosquitos), fue inactivado de forma efectiva a través de azul de metileno más luz visible en componentes plasmáticos, y por LUV-C en concentrado de plaquetas.

Principios generales-ensayos clínicos



Otros beneficios potenciales

- **Extensión de la vida media de las plaquetas a 7 días**
- El almacenamiento se limita a 5 cinco días, debido a la necesidad de almacenamiento a temperatura ambiente y el riesgo asociado a contaminación bacteriana.
- Debido a que la IP es efectiva contra citomegalovirus-CMV, esta **elimina la necesidad de mantener inventarios CMV negativos.**

Además de las infecciones emergentes, **tanto** la riboflavina más LUV (**Mirasol**), **como** el amotosalen más LUV-A (**INTERCEPT**), **han demostrado la inactivación de patógenos de virus transmitidos por transfusión, ya establecidos como**

- **VIH**
- **VHB**
- **VHC**
- **Parvovirus**

La IP ha demostrado ser efectiva contra SARS-CoV-2. Sin embargo no se ha demostrado la transmisión de SARS-CoV-2 a través de la sangre.

Principios generales-ensayos clínicos



Bacterias

La contaminación bacteriana de productos sanguíneos, es la causa más común de contaminación de componentes sanguíneos en países en vía de desarrollo.

Incidencia de contaminación

- Plaquetas 1 en 2.000
- Glóbulos rojos 1 en 30.000

Las plaquetas son más susceptibles debido a que se almacenan a temperatura ambiente 22 +/- 2°C

En los Estados Unidos, la FDA estableció a partir de septiembre de 2019, incluir en los servicios de transfusión, medidas adicionales para el control de la contaminación bacteriana de las plaquetas.

La IP, es una de las medidas permitidas por esta regulación.

Riboflavina más LUV y Amotosalen más LUV-A, han demostrado IP de contaminación bacteriana primaria entre 4 y 5 log.

Principios generales

Prevención de la enfermedad injerto contra huésped asociada a transfusión-EICH-AT

- El daño causado en el ADN a través de IP, ha llevado a no requerirse la irradiación de componentes sanguíneos para la prevención de la EICH-AT.
- La EICH-AT es una complicación seria, en la cual los leucocitos del donante atacan la médula ósea y otros tejidos del receptor de la transfusión de sangre.
- El daño del ADN de los leucocitos del donante los hace incapaces de montar respuesta inmune contra el receptor.
- **Si se realizara IP de forma universal a todos los componentes sanguíneos celulares, esto podría eliminar la necesidad de irradiación para EICH-AT.**
- Estos métodos no eliminan la necesidad de leucorreducción, debido a que los leucocitos inactivados pueden continuar produciendo citoquinas, que causan reacción transfusional febril no hemolítica-RTFNH.

Principios generales - limitaciones



Limitaciones potenciales

Inactivación incompleta

- Aún con una inactivación robusta, **existe la posibilidad de que algunos patógenos puedan evadir la inactivación, o que la carga sea tan alta para una completa inactivación.**
- Las tecnologías de inactivación han demostrado reducir hasta 6 log (0.0001 % de la concentración inicial), la cantidad de virus, sin embargo algunos patógenos pueden estar presentes aún a concentraciones mayores.

Reporte de caso de transmisión de VIH en España

Sangre total negativa para VIH, por serología

Negativa por “minipool” para RNA por pruebas NAT (debido a carga viral baja en la donación)

La unidad se fracciono para obtener glóbulos rojos, plaquetas a partir de buffy coat y plasma

El plasma fue tratado con azul de metileno-AM más luz visible

Los receptores de las plaquetas y plasma se infectaron con una cepa de VIH que fue emparejada con la del donante de sangre, a través de secuenciamiento del RNA y análisis filogenético

Debido a la carga viral baja de la donación, **no es claro porque falló el tratamiento con AM para prevenir la transmisión de la infección por VIH, por transfusión de plasma y plaquetas.**

Principios generales-limitaciones

- Incapacidad para inactivar priones
 - Incapacidad para inactivar virus de la hepatitis A y parvovirus B 19
 - Incapacidad potencial para inactivar nuevos agentes patógenos
 - Incapacidad para prevenir las RTFNH
- Daño potencial o reducción de proteínas del plasma o componentes celulares
 - Disminución de la proteína ADAMTS 13
 - La evidencia disponible demuestra que el plasma inactivado y el plasma estándar tiene igual efectividad en PTT
 - La alteración potencial de los métodos de IP para afectar la función de las plaquetas se abordó en una revisión de Cochrane en 2017, que identificaron 5 ensayos aleatorizados que compararon plaquetas reducidas en patógenos, con plaquetas no tratadas, así como un ensayo aleatorizado en 2018:

No hubo diferencias estadísticamente significativas en las tasas de sangrado, mortalidad, complicaciones, u otros pronósticos de sangrado.

Principios generales-otros

Toxicidades potenciales

- Consideraciones teóricas
 - Formación de neoantígenos sobre los glóbulos rojos
 - Daño de las células del receptor
 - Efectos a largo plazo del amotosalen

En los países desarrollados, el costo actual por componente tratado (PC o PFC) oscila entre USD\$ 60 y USD\$ 110 por unidad. En Latinoamérica 50-60 USD\$. África 20-30 USD\$ sangre totalqqq

No existe evidencia de eventos adversos significativos, a pesar del amplio uso de algunos de estos productos.

Costos

- Los componentes sometidos a IP son más costos que los no inactivados
- La rentabilidad es una preocupación debido al número de unidades transfundidas
- Es difícil demostrar los beneficios clínicos y los ahorros de costos relacionados de los procedimientos de IP en países ricos en recursos, en los que otros procedimientos de detección de donantes y pruebas de laboratorio, han dado como resultado una probabilidad extremadamente baja (en el caso de patógenos insignificantes) de transmisión de patógenos.

Componentes sanguíneos inactivados

Glóbulos rojos

- Dos ensayos clínicos están en desarrollo

Mirasol, vía sangre total

Intercept

- IP puede afectar la lesión por almacenamiento, llevando a disminución de la vida media
 - 21 días para GR tratados con Mirasol
 - 35 días para GR tratados con Intercept
- Sin embargo, cumplen con los criterios para hemólisis y recuperación *in vivo* de la FDA
- Estudios de glóbulos rojos radio marcados en humanos, han demostrado que el sistema de inactivación de riboflavina más LUV, llevan a una aceptable calidad y recuperación celular.

- Además la eficacia hemostática, mediada por factores de la coagulación, agregación plaquetaria, y tromboelastografía, no se afectan por el tratamiento con IP.
- **Un estudio de 70 pacientes pediátricos en Rusia**, asignados para recibir glóbulos rojos estándar o glóbulos rojos derivados de sangre total reducida para patógenos, encontró incrementos similares de la hemoglobina y no se presentaron diferencias en los eventos adversos entre los dos grupos.
- **Otro estudio de hemovigilancia desarrollado en Ghana con mas de 200 transfusiones de sangre total**, demostró que hubo pocas reacciones adversas asociadas a la transfusión entre personas que recibieron sangre total reducida en patógenos, comparados con los que recibieron sangre total convencional.
- Como se menciona anteriormente, **este tratamiento fue efectivo para la reducción de malaria transmitida por transfusión**

Componentes sanguíneos inactivados



Glóbulos rojos y sangre total

La IP para glóbulos rojos ofrece mayores retos que para las plaquetas y el plasma debido a

- ❖ La LUV no penetra bien a las células
- ❖ Existe preocupación acerca del daño celular debido a que estos componentes se almacenan por más tiempo

Históricamente, estas tecnologías han generado preocupación por la adhesión de antígenos adicionales a los glóbulos rojos después del tratamiento

Riboflavina más LUV

La única tecnología aprobada para IP de sangre total es riboflavina más LUV-Sistema Mirasol y se encuentra disponible en Europa (marca CE en el 2015), Medio Oriente y África.

No tiene autorización por parte de la FDA

Sangre total: Vida media de 14 a 21 días dependiendo de las condiciones de almacenamiento, debido a los efectos sobre factores de la coagulación, eficacia de las plaquetas y hemólisis. Ref. Transf. Med. And Hemostasis.

Tecnologías disponibles en Colombia



Intercept Blood System

Laboratorios Dai

- Resolución No. 2015047068 De 23 De Noviembre De 2015. Por La Cual Se Concede Un Registro Sanitario
- Fabricante(s): Cerus Europe B.V. Con Domicilio En Holanda; Cerus Corporation Con Domicilio En Estados Unidos De América
- Importador(es): Laboratorios Dai De Colombia S.A. Con Domicilio En Bogota -D.C.

Annar Dx

- Resolución No. 2019036097 De 20 De Agosto. Por La Cual Se Modifica Una Resolución
- Artículo Primero: Modificar La Resolución 2015047068 De 23 De Noviembre De 2015 Que Concedió Registro Sanitario No. Invima 2015dm-0014001 A Favor De Cerus Corporation Con Domicilio En Estados Unidos De América Para El Producto Intercept Blood System / Set De Procesamiento De Plaquetas Y/O Plasma En La Modalidad Importar Y Vender, En El Sentido De Aprobar:

Adición De Importador:

- Annar Diagnostica Import S.A.S Con Domicilio En Calle 15 No 68d-25 Bogotá Colombia
- Annar Diagnostica Import S.A.S Con Domicilio En La Calle 49 No. 13-60 Bogotá Colombia
- [PRESENTACIÓN VALLEDUPAR\ANNAR DX\REGISTRO INVIMA CERUS KITS INVIMA 2015DM-0014001.pdf](#)
- [PRESENTACIÓN VALLEDUPAR\ANNAR DX\RS MODIFICA CERUS.PDF](#)

Tecnologías disponibles en Colombia

Mirasol

- Cuenta con registro INVIMA no. 2016ebc-0014241
- Actualmente cuenta con CUPS aprobado como parte de la partida 91.1.1: subpartida 91.1.1.20 del Ministerio de Salud para reducción de patógenos en plaquetas por pool, aféresis de plaquetas en plasma o PAS, plasma y sangre total.
- Aparecen en el manual tarifario del SOAT dentro de la subpartida 91.1.1. Decreto 2423 de 2006. Actualizado en 2019. Art. 32 numeral 1: “procesamiento de sangre y derivados”.

Hoy en día se encuentran incluidos y aprobados los CUPS desde dic. 2019 así:

- Inactivación de leucocitos en sangre y componentes procesados en banco de sangre como parte del cups 91.1.1.13 irradiación de componentes sanguíneos e inactivación de leucocitos en componentes o sangre total.
- Reducción de patógenos en sangre total, plaquetas en pool y aféresis en plasma o pas y plasma. 91.1.1.20

Actualmente se encuentra en estudio (INVIMA – INS – Red Nacional de Bancos de Sangre) como parte del proceso para aprobación de plaquetas con almacenamiento hasta 7 días.