

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE MEDICINA



**“IMPACTO EN EL RENDIMIENTO DE LA CUENTA  
PLAQUETARIA COMPARANDO DOS VARIANTES DE  
FRACCIONAMIENTO A PARTIR DE CAPA  
LEUCOPLAQUETARIA.”**

POR:

DRA. MARIANA SILVA DIEZ

COMO REQUISITO PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE  
ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA CLÍNICA

**"IMPACTO EN EL RENDIMIENTO DE LA CUENTA PLAQUETARIA  
COMPARANDO DOS VARIANTES DE FRACCIONAMIENTO A PARTIR DE CAPA  
LEUCOPLAQUETARIA"**

Aprobación de la tesis:



Dr. Erik Alejandro Díaz Chuc  
Director de la tesis



Dr. Erik Alejandro Díaz Chuc  
Coordinador de Enseñanza en Posgrado del Departamento de Patología Clínica



Dr. Sergio Ayala de la Cruz  
Coordinador de Investigación del Departamento de Patología Clínica



Dr. Jorge Martín Llaca Díaz  
Jefe del Departamento de Patología Clínica



Dr. Med. Felipe Arturo Morales Martínez  
Subdirector de Estudios de Posgrado

## DEDICATORIA Y/O AGRADECIMIENTOS

*Dedico esta tesis a mis padres Antonio Silva e Irma Diez quienes han sido y son mis pilares más fuertes, han formado los cimientos de mi formación y me han proporcionado los elementos para lograr cada una de mis metas.*

*A mis compañeros de residencia Fabrizio Luna y Erik San Miguel quienes siempre compartieron su conocimiento y estuvieron siempre con la disponibilidad de enseñar.*

*A mis profesores Dr. Erik Diaz y Dr. Sergio Ayala, ya que me brindaron las herramientas y conocimientos para desarrollarme año con año como una mejor profesional.*

*Al equipo de trabajo en especial a la Químicas Judith Santos, Verónica Frías, Denisse Zamarripa, Laura Navarro, Estefany Lugo y Erika Leal, quienes me otorgaron de su tiempo, enseñanza, apoyo con el trabajo del día a día y amistad.*

*¡Gracias por todo!*

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>Capítulo I</b> .....	5
Resumen.....	6
<b>Capítulo II</b> .....	9
Introducción.....	10
<b>Capítulo III</b> .....	11
Antecedentes.....	12
Plaquetas.....	12
Transfusión plaquetaria.....	13
Métodos de fraccionamiento.....	14
Método de plasma rico en plaquetas.....	14
Método de capa leucoplaquetaria.....	15
<b>Capítulo IV</b> .....	17
Justificación.....	18
<b>Capítulo V</b> .....	19
Objetivos.....	20
<b>Capítulo VI</b> .....	21
Material y Métodos.....	22
Diseño del estudio.....	22
Población de Estudio.....	22
Criterios de inclusión.....	23
Criterios de exclusión.....	23
Descripción de los métodos.....	23
Método 1.....	23
Método 2.....	24
Control de Calidad de concentrados plaquetarios.....	24
<b>Capítulo VII</b> .....	29
Análisis estadístico.....	30
<b>Capítulo VIII</b> .....	31
Resultados.....	32
<b>Capítulo IX</b> .....	34
Discusión.....	35
<b>Capítulo X</b> .....	36
Conclusiones.....	37
<b>Referencias</b> .....	38

**CAPITULO I**  
**RESUMEN**

## RESUMEN

**Título del protocolo de investigación:** Impacto en el rendimiento de la cuenta plaquetaria comparando dos variantes de fraccionamiento a partir de capa leucoplaquetaria.

**Antecedentes:** Los concentrados plaquetarios (CP) se transfunden para tratar diversas situaciones clínicas, se pueden administrar como tratamiento, en caso de hemorragia por alteración cuantitativa o cualitativa de las plaquetas, o como profilaxis de hemorragia.

Los CP se obtienen extrayendo plaquetas (PLT) de donantes mediante aféresis o bien, mediante sangre total, sea usando la capa leucoplaquetaria (CL) o el método de plasma rico en plaquetas (PRP).

El uso de capas leuco plaquetarias como fuente de concentrados de plaquetas se desarrolló en la década de 1970, pero no fue hasta mediados de la década de 1980 que la CL se pudo usar de manera confiable en un banco de sangre grande para la producción rutinaria de concentrados de plaquetas.

Los CP se pueden transfundir con fines terapéuticos o de manera profiláctica a pacientes con recuentos de plaquetas bajos o que descienden rápidamente como consecuencia de trastornos de la médula ósea o quimioterapia.

Los CP disponibles para transfusión se preparan a partir de donaciones de sangre total o mediante procedimientos de aféresis de plaquetas. Se utilizan dos métodos para preparar CP a partir de sangre total.

El método de plasma rico en plaquetas fue el primer método utilizado para la preparación de concentrado de plaquetas y sigue siendo el único método autorizado en los Estados Unidos. Por el contrario, en Europa desde los años ochenta del siglo pasado, el método PRP ha sido reemplazado progresivamente por métodos basados en la eliminación de la capa de capa leucocitaria (CL).

Dicho método de CL se basa en el uso de plasma para la re suspensión de las plaquetas, el cual puede diferir dependiendo de las técnicas utilizadas en cada centro. En nuestro estudio se compararon 2 volúmenes plasmáticos diferentes, con el fin de comparar el rendimiento de la cuenta plaquetaria final por cada CP. Durante el reposo previo a homogenización y centrifugación se utilizará en el método 1 con 20ml de volumen plasmático, variante utilizada antes del 07 de diciembre del 2021 y 50 ml para el método 2.

**Objetivo General:** Evaluar el rendimiento de la cuenta plaquetaria en los CP al variar el volumen en el proceso de fraccionamiento.

**Objetivos Secundarios:** Determinar si las variables: género, grupo Rh y conteo plaquetario previo a la donación influyen en la cuenta plaquetaria de los CP.

### **Hipótesis:**

Hipotesis Nula: La media de conteo plaquetario variante del método 2 es igual a la media de la cuenta plaquetaria en el método 1.

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

Hipotesis Alternativa: la media del conteo plaquetario de la variante del método 2 es desigual a la media de la cuenta plaquetaria en el método 1.

$$H_a: \mu_1 \neq \mu_2$$

**Material y Métodos:** El diseño del estudio es descriptivo, transversal y retrospectivo. Se analizarán los datos de diarios de registro del control de calidad de concentrados plaquetarios realizados en el servicio de Banco de Sangre del Hospital Universitario “Dr. José E. González”, en los periodos comprendidos del mes de julio a noviembre del 2021 para el método 1 y del mes de enero a abril del 2022 para el método 2.

Se elaborarán dos bases de datos en el programa Microsoft Excel, una base para el método 1 y una para el método dos que incluirán el registro de los

datos de cada concentrado plaquetario, incluyendo las variables sexo, grupo y Rh sanguíneo, plaquetas/ $\mu\text{l}$ , leucocitos/ $\mu\text{l}$  por unidad.

**Resultados:** De las variables numéricas incluidas para el análisis, solo la cuenta plaquetaria en CP tiene una distribución normal (Shapiro-Wilk con  $p=0.11$ ), por lo que para el resto de las variables se usan pruebas no paramétricas. Entre los donadores incluidos en ambos métodos no se encontró una diferencia de sexo (prueba Chi-cuadrada con  $p=0.49$ ). Tampoco se encuentra diferencia entre cuenta plaquetaria (prueba U de Mann-Whitney con  $p=0.19$ ) ni leucocitaria (prueba U de Mann-Whitney con  $p=0.84$ ) en citometría hemática.

Respecto al conteo plaquetario en CP, se encontró una diferencia de medias de  $1.16 \times 10^{10}$  plaquetas (método 2 con media de  $7.43 \times 10^{10}$  y método 1 con  $6.27 \times 10^{10}$ ) en la prueba t de Welch, la cual fue estadísticamente significativa ( $p=0.02$ , IC95%  $0.21 \times 10^{10}$ - $2.11 \times 10^{10}$ ).

**Conclusiones:** El método 2 mostró ser superior en el conteo plaquetario medio en bolsa sin alterar significativamente la varianza, por lo que puede ser un método más apropiado para su uso.



**CAPITULO II**  
**INTRODUCCIÓN**

## INTRODUCCIÓN

Los concentrados plaquetarios (CP) se transfunden para tratar diversas situaciones clínicas, se pueden administrar como tratamiento, en caso de hemorragia, por alteración cuantitativa o cualitativa de las plaquetas, o como profilaxis de hemorragia.

Existen diversas metodologías para la obtención de los CP a partir de sangre total, además de variabilidades en los volúmenes plasmáticos utilizados durante el proceso de fraccionamiento, por lo que es de importancia conocer la cifra más adecuada de este volumen para la resuspensión plaquetaria, obteniendo así un rendimiento adecuado en el número de plaquetas por cada CP, esto para cumplir con los estándares de control de calidad que nos marca la NOM 253 Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.

**CAPITULO III**  
**ANTECEDENTES**

## ANTECEDENTES

Los CP se obtienen extrayendo plaquetas (PLT) de donantes mediante sangre total, mediante aféresis, usando la capa leucoplaquetaria (CL) o el método de plasma rico en plaquetas (PRP) (1).

El uso de capas leucoplaquetarias como fuente de concentrados de plaquetas se desarrolló en la década de 1970, pero no fue hasta mediados de la década de 1980 que la CL se pudo usar de manera confiable en un banco de sangre grande para la producción rutinaria de concentrados de plaquetas (2).

En Europa, hay una división de aproximadamente 50%:50% entre el uso de CP derivados de CL y aféresis. Sin embargo, los CP de plasma rico en plaquetas han desaparecido en gran medida. Dinamarca, Finlandia y los Países Bajos preparan el 88 % o más de sus concentrados mediante el método de la capa leucoplaquetaria. Estos países han enfatizado la maximización de sangre total y demuestran que un suministro nacional de plaquetas puede derivarse casi en su totalidad de esta (3).

Mediante el uso del método por capa leucoplaquetaria se requiere de la utilización de plasma para la homogenización, centrifugación y resuspensión, determinadas guías pertenecientes a la ISBT (the international society of blood transfusion) solo se menciona como una pequeña cantidad de volumen plasmático utilizado para la resuspensión, sin otorgarnos una cifra exacta en ml. (4), otras bibliografías pertenecientes a estudios realizados en la india nos describen cantidades que van desde los 20-30ml (5), y algunos otros publicados en usa nos refieren una mayor cantidad, llegando hasta 50ml para la resuspensión (6).

### Plaquetas

Las plaquetas son células complejas, enucleadas de 1-2  $\mu\text{m}$  de tamaño, generadas en la médula ósea.

El intervalo fisiológico de las plaquetas es de  $150-400 \times 10^9/l$ . Un adulto sano produce cada día una media de alrededor de  $1 \times 10^{11}$ , con una expectativa de vida de 7 a 10 días.

En condiciones fisiológicas, las plaquetas circulan en forma no activa y expresan en su superficie un número relativamente pequeño de muchas de las moléculas que, en estado activado, van a facilitar su interacción con otras plaquetas y otras células de su entorno (7).

Las plaquetas contienen tres tipos distintos de gránulos:  $\alpha$  gránulos, densos o  $\delta$  gránulos y lisosomas. Los gránulos de  $\alpha$  contienen varias proteínas, quimiocinas, citoquinas y factores de crecimiento que son ensamblados en las plaquetas por megacariocitos y son necesarios para su funcionalidad normal. Los gránulos de  $\delta$  contienen moléculas pequeñas como ADP, serotonina, polifosfatos, glutamato, histamina y calcio que son necesarios para la hemostasia. Los lisosomas plaquetarios contienen enzimas como glicohidrolasas y enzimas que degradan glicoproteínas, glicolípidos y glicosaminoglicanos. Contienen proteínas preempaquetadas y varias formas de ARN de sus células precursoras. Las plaquetas, que se encuentran en toda la vasculatura, responden a las señales del endotelio, las células circulantes u otros componentes de la sangre (8). Manteniendo la hemostasia normal a través de sus elaboradas respuestas.

### Transfusión Plaquetaria

Alrededor de dos millones de componentes plaquetarios se transfunden en los Estados Unidos anualmente (9).

Los concentrados de plaquetas se pueden transfundir con fines terapéuticos o de manera profiláctica a pacientes con recuentos de plaquetas bajos o que descienden rápidamente como consecuencia de trastornos de la médula ósea o quimioterapia.

Indicados en el tratamiento de pacientes con sangrado debido a plaquetas severamente disminuidas o disfuncionales.

Las transfusiones de plaquetas no se recomiendan para pacientes con destrucción plaquetaria rápida (p. ej., púrpura trombocitopénica inmunitaria, trombocitopenia inducida por heparina, púrpura trombocitopénica trombótica, excepto en el contexto de hemorragia clínicamente significativa y/o potencialmente mortal (10).

### Métodos de fraccionamiento

El fraccionamiento de la sangre es el proceso mediante el cual se efectúa la separación de una unidad de sangre total fresca en sus componentes, aplicando para ello un método de separación que se basa en una sedimentación activa, cuyo fin es la separación de la sangre, en un intervalo breve de tiempo, en diferentes capas (masa eritrocitaria, plasma y capa leucoplaquetaria) (11).

Los CP disponibles para transfusión se preparan a partir de la sangre total o mediante procedimientos de aféresis de plaquetas. Se utilizan dos métodos para preparar CP a partir de sangre total.

El método de plasma rico en plaquetas fue el primer método utilizado para la preparación de concentrado de plaquetas y sigue siendo el único método autorizado en los Estados Unidos. Por el contrario, en Europa desde los años ochenta del siglo pasado, el método PRP ha sido reemplazado progresivamente por métodos basados en la eliminación de la capa de capa leucocitaria (CL).

- Método de plasma rico en plaquetas

La sangre entera se recoge en una solución conservante anticoagulante, CPD o CPDA-1, en un sistema de triple bolsa.

Se realiza una separación primaria en donde se han utilizado una variedad de condiciones de centrifugación para preparar PRP. En general, se pueden agrupar en tres grupos: 1000 g durante 6-9 min, 2000 g durante 5 min y 2600 g durante 3 min.

Al finalizar la primera centrifugación, los eritrocitos empaquetados se encuentran en la parte inferior de la bolsa con un sobrenadante transparente constituido por el PRP, que luego se transfiere a una de las bolsas vacías conectadas.

La velocidad de transferencia del PRP y el punto de detener la transferencia son puntos clave para la calidad del CP final. Para evitar el contenido excesivo de leucocitos en el producto final, la transferencia del PRP de toda la bolsa de sangre debe suspenderse a un nivel de 8-10 mm por encima de la superficie de la capa de glóbulos rojos.

En la separación secundaria el PRP se somete a un centrifugado intenso (5000 g durante 5 min o 3000 g durante 6–8 min) para sedimentar las plaquetas en el fondo. Posteriormente, el plasma pobre en plaquetas (PPP) sobrenadante se transfiere a la tercera bolsa integral dejando las plaquetas sedimentadas con aproximadamente 60 ml de plasma. Después de dejarlo en reposo durante 1 a 2 horas a temperatura ambiente, el sedimento se vuelve a suspender, agitando suavemente o utilizando agitadores de almacenamiento (12).

- Método de capa leucoplaquetaria.

Cuando las plaquetas se fabrican mediante el método de CL o Buffy Coat (BC), la sangre entera se centrifuga primero a gran fuerza (3000 g durante 7 a 10 minutos) para crear una capa leucocitaria donde residen las plaquetas y los leucocitos.

La centrifugación a alta velocidad separa las células de forma un tanto diferente a la centrifugación a baja velocidad.

Durante la centrifugación a alta velocidad, los glóbulos blancos sedimentan inicialmente con los glóbulos rojos y las plaquetas permanecen en el plasma sobrenadante. A continuación, los glóbulos rojos se empaquetan muy juntos y caen rápidamente al fondo de la bolsa. Este proceso fuerza el plasma y los glóbulos blancos hacia arriba hasta la interfaz del plasma.

Las plaquetas finalmente se acumulan en esta interfaz. El asentamiento de plaquetas en la interfase de glóbulos rojos puede explicar el menor grado de activación plaquetaria cuando las plaquetas se preparan con el método capa leucoplaquetaria en comparación con el método PRP. La CL resultante, que consiste en plaquetas y glóbulos blancos, se elimina junto con pequeñas porciones de la capa inferior de plasma y la capa superior de glóbulos rojos. Luego, la CL se centrifuga a una fuerza g baja para separar las plaquetas de los leucocitos y los glóbulos rojos.

Los sistemas de bolsa superior e inferior facilitan la separación al permitir que las plaquetas de la CL permanezcan relativamente intactas en la bolsa de separación primaria (con el plasma y los glóbulos rojos extraídos de los puertos superior e inferior, respectivamente) (13).



**CAPITULO IV**  
**JUSTIFICACIÓN**

## JUSTIFICACIÓN

Los procesos empleados para separar las plaquetas de las otras partes de la sangre han evolucionado durante las últimas décadas para optimizar el rendimiento, mientras se limita la cantidad de glóbulos rojos y blancos contaminantes.

La NOM 253 para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos menciona los requisitos de control de calidad que deben cumplir los concentrados plaquetarios, pero no otorga una pauta para el proceso de su obtención.

Existen algunas diferencias en las metodologías para la recolección de plaquetas por medio de capa leucoplaquetaria, estas con variaciones en el volumen plasmático utilizado para la re suspensión, por lo que es de interés determinar la cantidad de volumen plasmático idóneo para el mejor rendimiento de la cuenta plaquetaria total.

A partir de recomendaciones del proveedor en nuestro servicio de banco de sangre, se realizó una modificación en la cantidad de volumen plasmático utilizado para la resuspensión plaquetaria. Durante el reposo previo a homogenización y centrifugación se empleará en el método 1, 20ml de volumen plasmático, variante utilizada antes del 07 de diciembre del 2021 y posterior a esta fecha con 50 ml en el método 2. Esto con el fin de evaluar las diferencias en rendimiento de cada concentrado plaquetario, comparando 2 volúmenes plasmáticos diferentes, entre el método 1 previamente implementado y el nuevo método 2.

Por lo que es de relevancia que exista un volumen plasmático adecuado para mejorar el rendimiento de la cuenta plaquetaria, desarrollando un método de referencia para el fraccionamiento con el fin de cumplir con los criterios de calidad establecidos.

## **CAPITULO V**

### **OBJETIVOS**

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el rendimiento de la cuenta plaquetaria en los CP al variar el volumen en el proceso de fraccionamiento en las variantes, aquí referidas como método 1 (25ml para resuspensión) y método 2 (50ml para resuspensión).

### **Objetivos Secundarios**

- Determinar si existe diferencia entre la varianza del conteo plaquetario de los CP entre ambos métodos.
- Determinar la homogeneidad entre las muestras de ambos grupos: evaluar si hay diferencia en género, grupo Rh y conteo plaquetario entre muestra de método 1 y método 2.

### **Hipótesis**

Hipótesis Nula: La media de conteo plaquetario variante del método 2 es igual a la media de la cuenta plaquetaria en el método 1.

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

Hipótesis Alternativa: la media del conteo plaquetario de la variante del método 2 es desigual a la media de la cuenta plaquetaria en el método 1.

$$H_a: \mu_1 \neq \mu_2$$

**CAPITULO VI**  
**MATERIAL Y MÉTODOS**

## MATERIAL Y MÉTODOS

### **Diseño del Estudio**

Descriptivo, Transversal, Retrospectivo.

### **Población del Estudio**

Se analizarán los datos del diario de registro de control de calidad de concentrados plaquetarios realizados en el servicio de Banco de Sangre del Hospital Universitario “Dr. José E. González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en los periodos comprendidos del mes de julio a noviembre del 2021 para el método 1 y del mes de enero a abril del 2022 para el método 2.

### **Tamaño de la muestra**

Para el tamaño de la muestra se considera una desviación estándar del conteo plaquetario en CP de  $2.5 \times 10^{10}$ , basado en un estudio en este banco de sangre (14). Respecto a la media, diversos estudios han reportado la media del conteo plaquetario obtenido por método de capa leucoplaquetaria:  $6.12 \times 10^{10}$  (15),  $5.9 \times 10^{10}$  (16) y  $7.3 \times 10^{10}$  (5). Tomando en cuenta esta variabilidad en el conteo plaquetario por capa leucoplaquetaria, se considera el tamaño de muestra necesario para detectar una diferencia de  $1.5 \times 10^{10}$  con poder de 80% y alfa de 5%. Se utiliza la siguiente fórmula:

$$n = \frac{K(\sigma_1^2 + \sigma_2^2)}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Donde:

n= tamaño de muestra por grupo.

$\sigma$ = desviación estándar ( $1.5 \times 10^{10}$ ).

$\mu_1 - \mu_2$ = diferencia de media ( $1.5 \times 10^{10}$ )

K= 7.9 para poder de 80% y alfa 5%.

Sustituyendo en la fórmula se obtiene  $n = 43.89 \approx 44$  por grupo.

## **Criterios de inclusión.**

- Donadores de sangre total ambos géneros
- Edad >18 a <65
- Cumplir con los criterios para la selección de donador establecidos por el Centro Nacional de Transfusión Sanguínea
- Cumplir con los intervalos de referencia de parámetros de biometría hemática establecidos por el Centro Nacional de Transfusión Sanguínea
- Haber completado un volumen de 450 +/- 10% de sangre total
- Que se haya obtenido un volumen de  $\geq 40$ ml por cada concentrado plaquetario
- Que se haya realizado el control de calidad de los concentrados plaquetarios de manera aleatoria

## **Criterios de Exclusión**

- Volumen <40ml por cada concentrado plaquetario

## **Descripción de los métodos**

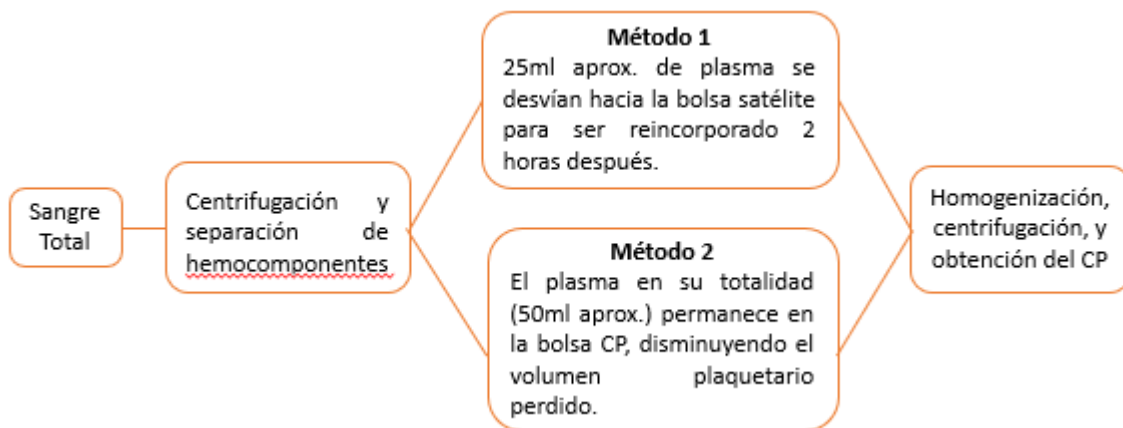
- Método 1

Posterior a la obtención de sangre total (equipo: sistema de bolsa Grifols CPD-450) se deja reposar 30 min para su centrifugación (equipo: centrifuga Presvac DP-2065-R plus) por 14 min a 3,500 revoluciones por minuto (rpm), en seguida se procede a su fraccionamiento (equipo: fraccionador Grifols) para la transferencia a las bolsas satélite y separación de hemocomponentes. En la bolsa primaria se mezclará la CL con el concentrado eritrocitario (CE) remanente y la mitad de la bolsa de plasma (25ml aprox.), lo cual permanecerá en reposo durante dos horas para posteriormente agregar los otros 25ml de plasma que se encuentra en una de las bolsas satélite esto con el fin de evitar contaminación con eritrocitos, favoreciendo que no permanezcan en la zona superior, finalmente se realiza una segunda centrifugación de la bolsa primaria a 950 rpm durante 6 min. y se fracciona para obtener la unidad de concentrado plaquetario.

- Método 2

En el método 2 posterior al reposo, centrifugación, separación y transferencia a las bolsas satélite, se mezclará y homogeneizará el remanente de CE, con la CL y un volumen plasmático de 50ml para la re suspensión, se procederá a dejar en reposo durante 2 horas para posteriormente centrifugar a 950 rpm durante 6 min para su fraccionamiento y obtención de la unidad de concentrado plaquetario final.

Difiriendo ambos métodos en la cantidad de plasma utilizado para la adecuada distribución de las plaquetas.



**Figura 1.** Diagrama de diferencia entre métodos

- Control de calidad de CP

La NOM 253 para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos menciona los requisitos que deben reunir el 100% de las unidades o mezclas de plaquetas recuperadas del plasma rico en plaquetas o de la capa leucoplaquetaria probadas.

Solo se fraccionarán plaquetas de unidades de sangre total cuando el tiempo de extracción de la sangre del donante no hubiese excedido de 12 minutos.

Las unidades de CP se deben presentar sin agregados plaquetarios a la inspección, ph de 6.4 a 7.4 para su conservación, un volumen >40 ml,



contenido de plaquetas  $>6.0 \times 10^{10}$ , leucocitos residuales en unidades recuperadas de la capa leucoplaquetaria  $< 0.05 \times 10^9$  por unidad (17).

El hospital universitario cuenta con un manual operativo de procedimientos de control de calidad de banco de sangre (MOP-647-07-RC-066) para evaluar dichos parámetros, los cuales se mencionan a continuación:

- Se seleccionarán 10 unidades de CP al azar durante un periodo de 1 mes.
- La esterilidad ha de confirmarse con examen microbiológico, observar cambios de coloración, aire, defectos en la bolsa, coágulos y hemólisis.
- Se deja el CP a temperatura ambiente, se mezcla suavemente durante 10 min, se purga el tubo conector con pinzas de rodillo un mínimo de 3 veces, se toman las muestras bajo condiciones de esterilidad.
- Volumen neto (VN) =  $\frac{\text{Peso total de CP} - \text{peso de la bolsa (28g)}}{\text{Densidad de CE (1.026)}}$
- Para obtener la determinación del leucocitos y plaquetas (equipo: CellDyn-Emerald, Abbott), se debe realizar una dilución 1:3 con 600  $\mu\text{l}$  del diluyente Emerald más 300  $\mu\text{l}$  del CP, debido a esta dilución se procederá a realizar los cálculos para obtener los valores de la unidad de CP total, utilizando las siguientes formulas:

<b>Leucocitos</b>
WBC = Leucocitos obtenidos por dilución x 3 (factor de dilución) x 1000=
WBC / unidad = WBC Obtenidos x VN x 1000 =

<b>Plaquetas</b>
PLT = Plaquetas obtenidas por dilución x 3 (factor de dilución) x 1000=
PLT / unidad = PLT obtenidas x VN x 1000 =

## Cuadro de Variables

<b>Variable</b>	<b>Tipo de Variable</b>	<b>Definición</b>	<b>Categoría</b>
Sexo	Cualitativa	Sexo biológico	Nominal
Grupo Sanguíneo	Cualitativa	Tipificación grupo ABO y RH	Nominal
Plaquetas previas a donación	Cuantitativa	Recuento plaquetario en sangre periférica previo al proceso de donación expresado en miles por microlitro	Razón
Leucocitos previos a donación	Cuantitativa	Recuento Leucocitario previo en sangre periférica al proceso de donación expresado en miles por microlitro	Razón
Volumen en bolsa	Cuantitativa	Volumen en ml en cada concentrado plaquetario expresado en mililitros	Razón
Plaquetas en bolsa	Cuantitativa	Recuento plaquetario en cada concentrado plaquetario	Razón

		posdonación, expresado en $10^{10}$ plaquetas por bolsa	
Leucocitos en bolsa	Cuantitativa	Recuento leucocitario en cada concentrado plaquetario, expresado en $10^6$ plaquetas por bolsa	Razón

### Consideraciones Éticas

De acuerdo con los principios establecidos la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial adaptada por 52ª Asamblea General, en Edimburgo, Escocia en el año 2000 en su Artículo 11, considerándose también el artículo 13, el 15 y las últimas enmiendas de la declaración; que señalan que la investigación debe basarse en un conocimiento cuidadoso del campo científico, se revisó cuidadosamente la literatura científica para desarrollar los antecedentes y la metodología del proyecto.

Esta investigación, de acuerdo con el "Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud" en su Título 2º, Capítulo 1º, Artículo 17, Fracción II, se considera como Investigación **SIN RIESGO**, dado que solamente se analizará información obtenida a partir de diarios de registro.

Este proyecto fue aprobado ante el comité de ética e investigación de la Facultad de Medicina Dr. José Eleuterio González UANL, en julio del 2023 con la clave de registro: PC23-00002.

El proyecto es congruente con la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos, título quinto "Investigación para la salud", capítulo único, Artículo 100, dado que su realización no expondrá a ninguna persona a riesgos y daños innecesarios (Artículo 100, Fracción III) y se apega a los principios científicos y

éticos que justifican su realización, con la que se pretende producir nuevo conocimiento (Artículo 100, Fracción I y II).

Para la protección de confidencialidad este análisis implica la revisión de diarios de registro. Los investigadores recabaran los datos de cada concentrado plaquetario con número de registro de unidad, para así obtener las variables de cada uno de ellos, de tal forma que, en el análisis de los parámetros, no se observaran datos personales de los donadores. Las bases de datos se encontrarán almacenadas en las computadoras del servicio de Banco de Sangre del Hospital Universitario “Dr. José E. González”.

Ningún dato confidencial de los donadores será revelado en las publicaciones (artículos, carteles, conferencias) derivadas del desarrollo de este proyecto.

**CAPITULO VII**  
**ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizará un análisis descriptivo de frecuencias para variables categóricas y medidas de distribución de las variables cuantitativas, según corresponda. Para la evaluación de normalidad en distribución se utilizará la prueba de Shapiro-Wilk. Se considerará significancia estadística para rechazo de hipótesis nula el valor de  $p < 0.05$ .

Para la diferencia entre variables cuantitativas se utilizará la prueba t de Welch o prueba U de Mann-Whitney, según se asuma o rechace distribución normal. Para la independencia en variables categóricas se utilizará prueba Chi cuadrada de Pearson o prueba exacta de Fisher, según aplique.

Para evaluar la diferencia en varianza de plaquetas en bolsa se utilizará prueba de Bartlett o prueba de Fligner-Killeen, según se asuma o se rechace distribución normal. El análisis estadístico se realizará en RStudio 4.0.5.

**CAPITULO VIII**  
**RESULTADOS**

## RESULTADOS

De las variables numéricas incluidas para el análisis, solo la cuenta plaquetaria en CP tiene una distribución normal (Shapiro-Wilk con  $p=0.11$ ), por lo que para el resto de las variables se usan pruebas no paramétricas. Entre los donadores incluidos en ambos métodos no se encontró una diferencia de sexo (prueba Chi-cuadrada con  $p=0.49$ ). Tampoco se encuentra diferencia entre cuenta plaquetaria (prueba U de Mann-Whitney con  $p=0.19$ ) ni leucocitaria (prueba U de Mann-Whitney con  $p=0.84$ ) en citometría hemática.

Respecto a los parámetros de CC en el CP, no se encuentra una diferencia entre el volumen obtenido (prueba U de Mann-Whitney con  $p=0.58$ , mediana método 1 de 58.4ml y método 2 de 57.4ml), leucocitos en bolsa (prueba U de Mann-Whitney con  $p=0.50$ , mediana método 1 de  $34.8 \times 10^6$  y método 2 de  $34.5 \times 10^6$ ).

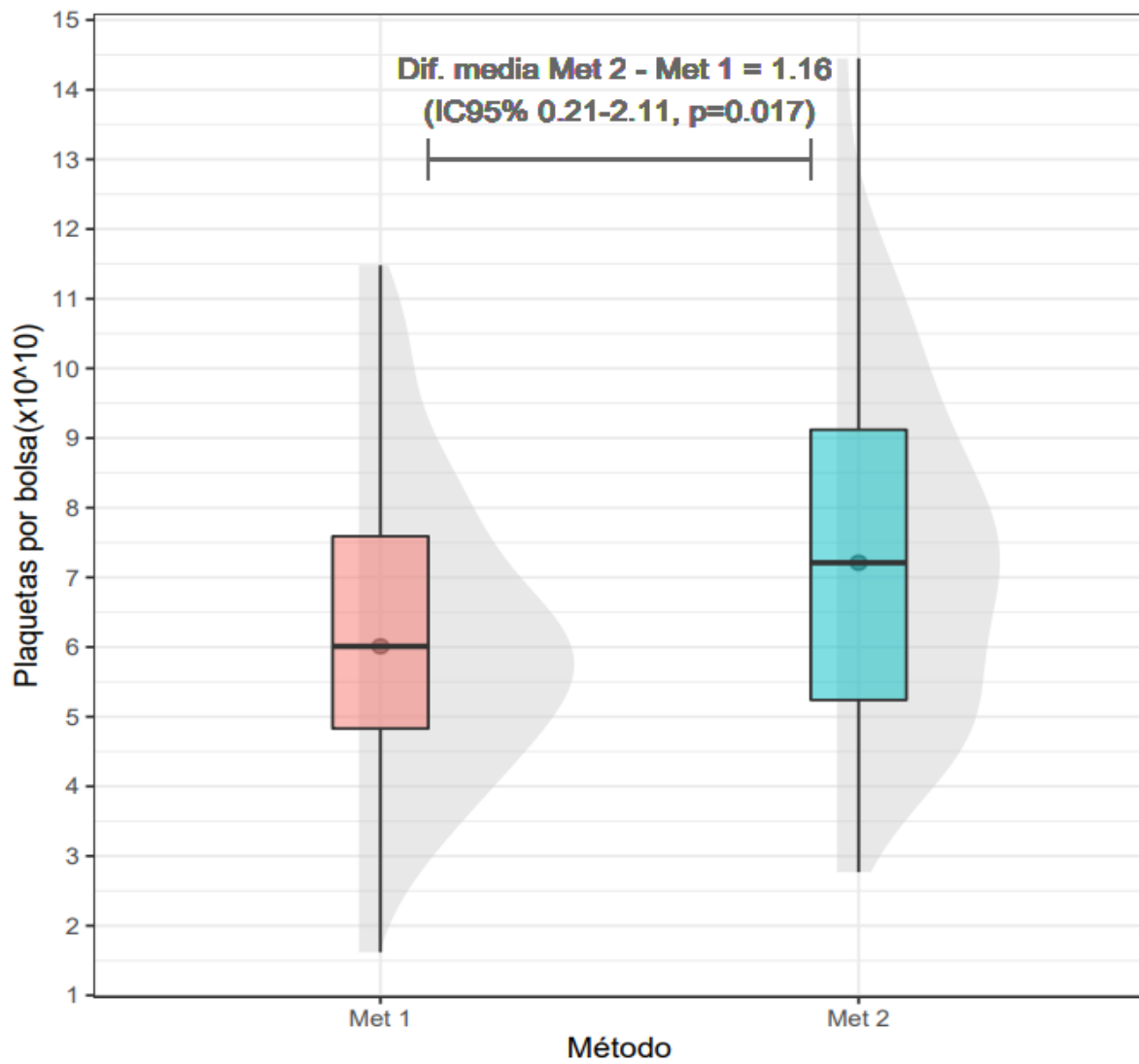
Respecto al conteo plaquetario en CP, se encontró una diferencia de medias de  $1.16 \times 10^{10}$  plaquetas (método 2 con media de  $7.43 \times 10^{10}$  y método 1 con  $6.27 \times 10^{10}$ ) en la prueba t de Welch, la cual fue estadísticamente significativa ( $p=0.02$ , IC95%  $0.21 \times 10^{10}$ - $2.11 \times 10^{10}$ ). Además, se realiza una prueba de Bartlett para hipótesis nula de homogeneidad de varianzas, siendo ésta no significativa ( $p=0.33$ ).

Variable	Método 1	Método 2	Valor de p
Plaquetas (K/uL) en CH	238 (212-267)*	247 (223-267) *	0.19 <sup>a</sup>
Leucocitos (K/uL) en CH	7.1 (6.3-8.2)*	7.1 (6.3-8.1) *	0.84 <sup>a</sup>
Sexo Femenino	30.6 %	22.4%	0.49 <sup>b</sup>
Media plaquetas en bolsa ( $10^{10}$ )	6.27	7.43	0.02 <sup>c</sup>
DE plaquetas en bolsa ( $10^{10}$ )	2.19	2.52	0.33 <sup>d</sup>

CH: Citometría hemática. DE: desviación estándar. <sup>a</sup> Prueba U de Mann-Whitney. <sup>b</sup>Prueba chi cuadrada. <sup>c</sup> Prueba t de Welch. <sup>d</sup> Prueba de Barlett. \*Mediana (cuartil 1- cuartil 3).

**Tabla 1:** Variables evaluadas en ambos métodos.





**Figura 2:** Diagrama de cajas. Diferencia de plaquetas en bolsa

**CAPITULO IX**  
**DISCUSIÓN**

## DISCUSIÓN

En nuestro banco de sangre se realiza la obtención de plaquetas mediante el método de capa leucoplaquetaria, por lo que es de suma importancia conocer el volumen adecuado de plasma para la re suspensión de estas y así poder obtener un conteo plaquetario por unidad de C.P. adecuado según nos marca la NOM 253.

Diversos factores pueden influir en el rendimiento de la cuenta plaquetaria de los CP dentro de estos el conteo plaquetario del donador, sexo y grupo ABO, tiempo de reposo y tipo de fraccionamiento, ya sea plasma rico en plaquetas o a partir de capa leucoplaquetaria.

En este estudio se compararon los datos del control de calidad de los concentrados plaquetarios comparando 2 volúmenes de plasma para la re suspensión. Los CP con mayor volumen plasmático mostraron recuentos plaquetarios más altos a diferencia de los conteos en los CP con menor volumen. Lo que sugiere un mejor rendimiento de la cuenta plaquetaria con mayores volúmenes plasmáticos.

Dentro del análisis de las variables de sexo, grupo sanguíneo y conteo plaquetario de donadores en ambos métodos no se encontró una diferencia estadísticamente significativa, comparado con otro estudio realizado dentro de nuestro hospital (14), en donde se obtuvieron resultados similares sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre estas variables. Tampoco se encontró diferencia significativa en los parámetros del control de calidad.

Se encontró una diferencia de las medias de  $1.16$  (IC 95%  $0.21-2.11$ )  $\times 10^{10}$ . Para el tamaño del efecto se consideró medio con una  $d$  de Cohen de  $0.50$ .

Demostrando así que la utilización del método 2 en la variación de volumen respecto al conteo plaquetario, se encontró una diferencia de medias de  $1.16 \times 10^{10}$  plaquetas (método 2 con media de  $7.43 \times 10^{10}$  y método 1 con  $6.27 \times 10^{10}$ ) en la prueba  $t$  de Welch, la cual fue estadísticamente significativa ( $p=0.02$ , IC95%  $0.21 \times 10^{10}-2.11 \times 10^{10}$ ).

En el estudio de P. Singh et al (5) se evaluaron 62 concentrados plaquetarios obtenidos por capa leucoplaquetaria de los cuales se encontró un volumen medio de  $68,81 \pm 22,95$  ml, un recuento medio de plaquetas de  $7,3 \pm 2,98 \times 10^{10}$ /unidad, recuento medio de leucocitos en unidades de  $2,08 \pm 0,39 \times 10^7$ /unidad, encontrando resultados muy similares a los de nuestro estudio.

Murphy et al (18) indicó que las PC almacenadas en un volumen reducido de 30 ml durante 5 días tenían un porcentaje de recuperación postransfusión reducido en comparación con aquellas PC almacenadas en un volumen de 50 ml o más, demostrando un mayor beneficio con el uso de mayor volumen plasmático para la re suspensión, lo que concuerda con nuestro análisis.

Como beneficios de la implementación del método 2 podemos obtener mejoras en las cifras de plaquetas en pacientes con necesidades transfusionales, desde el tratamiento para la trombocitopenia, pacientes oncohematológicos, hasta el apoyo y prevención en pacientes con trastornos crónicos y sometidos a quimioterapia.

En cuanto a las limitaciones del estudio tenemos diversos factores que influyen en el rendimiento plaquetario como la temperatura de almacenamiento, capacidad de intercambio de gases, contenedores de almacenamiento, duración de almacenamiento, metabolitos como glucosa y lactato, las cuales son variables que no fueron comparadas y podrían influir en el rendimiento plaquetario final. En el futuro se podría realizar un estudio de comparación y evaluación incluyendo alguno de estos factores, aumentar la población, o incluir variables como las soluciones aditivas utilizadas y la implementación de procesos de inactivación de patógenos los cuales no se tomaron en cuenta para esta investigación.

**CAPITULO X**  
**CONCLUSIONES**

## CONCLUSIONES

El método 2 mostró ser superior en el conteo plaquetario medio en bolsa sin alterar significativamente la varianza, por lo que puede ser un método más apropiado para su uso.

Este método 2 representa un mayor beneficio para los pacientes con necesidades transfusionales plaquetarias, por lo que es de importancia mantener un volumen plasmático idóneo y estandarizado para la preparación de los concentrados plaquetarios y así obtener un adecuado rendimiento final por unidad.

Al implementar el mejoramiento de las técnicas en la obtención y preparación de los concentrados plaquetarios con el fin de perfeccionar los estándares de calidad actuales de nuestra práctica podríamos tener un impacto importante en el desarrollo de las prácticas transfusionales plaquetarias, por lo que este estudio podría ser tomado como una base en bancos de sangre en donde no se tenga establecido el volumen plasmático adecuado para la resuspensión.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Paglia G, Sigurjónsson ÓE, Rolfsson Ó, Hansen MB, Brynjólfsson S, Gudmundsson S, Palsson BO. Metabolomic analysis of platelets during storage: a comparison between apheresis- and buffy coat-derived platelet concentrates. *Transfusion*. 2015 Feb;55(2):301-13. doi: 10.1111/trf.12834.
2. Van Der Meer PF, Reesink HW, de Korte D, Loos JA, Klei TRL. The history of buffy coat platelet concentrates: The Dutch story. *Vox Sang*. 2022 Jul;117(7):913-919. doi: 10.1111/vox.13280.
3. Vassallo RR, Murphy S. A critical comparison of platelet preparation methods. *Current Opinion in Hematology*. 2006 Sep;13(5):323-30. doi: 10.1097/01.moh.0000239703.40297.a5.
4. Hardwick J. Blood processing. *ISBT Special Issue: Introduction to Blood Transfusion Technology*. 2008. doi.org/10.1111/j.17512824.
5. Singh RP, Marwaha N, Malhotra P, Dash S. Quality assessment of platelet concentrates prepared by platelet rich plasma-platelet concentrate, buffy coat poor-platelet concentrate (BC-PC) and apheresis-PC methods. *Asian J Transfus Sci*. 2009 Jul;3(2):86-94. doi: 10.4103/0973-6247.53882.
6. Capraru A, Jalowiec KA, Medri C, Daskalakis M, Zeerleder SS, Mansouri Taleghani B. Platelet Transfusion-Insights from Current Practice to Future Development. *J Clin Med*. 2021 May 6;10(9):1990. doi: 10.3390/jcm10091990.
7. López A, Macaya C. Plaqueta: fisiología de la activación y la inhibición. *Revista Española de Cardiología*. 2013. doi: 10.1016/S1131-3587(13)70073-6.

8. Koupenova M, Clancy L, Corkrey HA, Freedman JE. Circulating Platelets as Mediators of Immunity, Inflammation, and Thrombosis. *Circ Res*. 2018 Jan 19;122(2):337-351. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.310795.
9. Solves Alcaina P. Platelet Transfusion: And Update on Challenges and Outcomes. *J Blood Med*. 2020 Jan 24;11:19-26. doi: 10.2147/JBM.S234374.
10. Akash Gupta, MD, FRCPC; Mark Bigham, MD, MHSc, FRCPC. Blood Components Chapter 2. Canadian Blood Services. 2023.
11. Vite-Casanova MJ, Novelo-Garza B, Camacho MJL. Fraccionamiento de la sangre y su control de calidad con base a la NORMA NOM-253-SSA1-2012. *Rev Mex Med Transfus*. 2014;7(1):12-15.
12. Lozano M, Cid J. Recent advances in platelet processing and storage. *ISBT Sci Ser*. 2016. doi.org/10.1111/voxs.12202.
13. Siddon AJ, Tormey CA, Snyder EL. Platelet transfusion medicine. 4th ed. Platelets. Elsevier Inc.; 2019. 1137–1159 p.
14. Llaca-Díaz JM, Robles-Espino DG, Díaz-Chuc EA, De la Rosa-López A, Ayala-De la Cruz S. Probability of a successful platelet dose according to the number of platelet concentrates. *Revista Medicina Universitaria*. 2022. doi: 10.24875/RMU.22000038.
15. Hirosue A, Yamamoto K, Shiraki H, Kiyokawa H, Maeda Y, Yoshinari M. Preparation of white-cell-poor blood components using a quadruple bag system. *Transfusion*. 1988 May-Jun;28(3):261-4. doi: 10.1046/j.1537-2995.1988.28388219156.x.
16. Fijnheer R, Pietersz RN, de Korte D, Gouwerok CW, Dekker WJ, Reesink HW, Roos D. Platelet activation during preparation of platelet concentrates: a comparison of the platelet-rich plasma and the buffy



coat methods. *Transfusion*. 1990 Sep;30(7):634-8. doi: 10.1046/j.1537-2995.1990.30790385523.x.

17. Secretaria de Salud. Nom-253-Ssa1-2012. Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. Diario Oficial de la Federación. 2014.
18. Murphy S, Kahn RA, Holme S, Phillips GL, Sherwood W, Davisson W, Buchholz DH. Improved storage of platelets for transfusion in a new container. *Blood*. 1982 Jul;60(1):194-200.
19. Manual de Operación MOP-HU-647-IN-007. Instructivo de trabajo para el fraccionamiento de unidades. Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González. Versión 2023.