



Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional Programa Consulta al Experto El Programa de Sangre Placentaria... Más allá de un simple Banco de Cordón Umbilical

Coordinadora: Dra. León de González, Graciela*;
Profesora invitada: MASS Calderón
Garcidueñas, Eva Delia*

Introducción

Un banco de sangre de cordón umbilical (BSCU), es un centro dedicado a la recolección, procesamiento, estudio y criopreservación de sangre de cordón para ser utilizada en uso clínico, principalmente en trasplante para restaurar la médula ósea.

El trasplante de células de cordón umbilical, constituye una invaluable oportunidad para aquellos pacientes, principalmente niños, que sufren diversas enfermedades hematológicas y genéticas, incluyendo leucemias linfoides y mieloides, así como otros padecimientos como anemia de Fanconi, anemia aplásica, síndrome de Hunter, síndrome de Wiskott-Aldrich, betatalasemias, y neuroblastoma. El trasplante permite conservar la vida del sujeto con un nivel aceptable de salud, reincorporarlo a su ámbito productivo y disminuir los gastos que le generan los tratamientos sustitutivos.

El uso de células hematopoyéticas procedentes de cordón umbilical, es una alternativa eficaz para el tratamiento de los padecimientos ya descritos, ya que es un producto biológico fácil de obtener al momento del parto o de la cesárea, sin que se ponga en riesgo la salud de la madre o del recién nacido.⁴

Antecedentes

Desde que en 1983 Boyse, observó que las células madre procedentes de cordón umbilical, mantenían su viabilidad durante dos o tres días a temperatura ambiente y también que después de ser sometidas a un proceso de criopreservación continuaban con su capacidad para formar colonias, se pensó que la cantidad de dichos progenitores contenidos en una sola dona-

ción era suficiente para realizar con éxito un trasplante.

En 1988 se realizó en París a cargo de la Dra. Ellian Gluckman, el primer trasplante exitoso con sangre de cordón umbilical. Los resultados obtenidos con SCU de hermanos llevaron a considerar la posibilidad de utilizar la SCU de donadores voluntarios no emparentados, constituyéndose así en 1993, en el Centro de Sangre de Nueva Cork, el primer banco público de SCU.

A partir de ese momento, se crearon diversas instituciones en apoyo al trasplante de cordón umbilical: En 1995 se fundó el grupo Eurocord con sede en París, con la finalidad de crear un registro de trasplantes de sangre de cordón umbilical con un seguimiento de los pacientes y un foro para el desarrollo de estudios cooperativos. Paralelamente se creó el grupo NETCORD, constituido en 1998 y formalizado en 2000, que es una red internacional de bancos de cordón umbilical, capaces de buscar en todo el inventario mundial, la unidad de sangre de cordón que se requiera (virtual office) así como establecer normas de buena práctica y cooperación entre los bancos y los centros de trasplante.¹

Esta red internacional, ha desarrollado los estándares NETCORD/FACT (Foundation for the Accreditation of Hematopoietic Cell Therapy), que son actualmente los que dictan el funcionamiento de los BSCU en el mundo y están agrupados en el documento *International Standards for Cord Blood Collection, Processing, Testing, Banking, Selection and Release*, que han sido adoptados por diversas sociedades internacionales.

Ventajas de las células progenitoras hematopoyéticas de SCU respecto a otras fuentes

Entre las ventajas de los trasplantes de SCU figuran

*BSCU CordMX - Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea - México - evadel@servidor.unam.mx

Publicado por el Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional (GCIAMT), año 2008. www.gciamt.org

las siguientes: 1) suficiente cantidad y facilidad de obtención de los progenitores hematopoyéticos sin riesgo para el donador 2) posibilidad de obtención de las minorías étnicas 3) baja prevalencia de ciertas enfermedades transmisibles 4) disponibilidad casi inmediata de las unidades de SCU ya almacenadas, lo que permite la realización de trasplantes con la urgencia necesaria 5) menor aloreactividad lo que implica por un lado, menor capacidad de inducir enfermedad injerto contra huésped (EICH) y por otro, permite la posibilidad de utilizar unidades de SCU no idénticas en el sistema HLA 6) menor costo económico que las búsquedas de médula ósea y 7) elevado potencial hematopoyético de estos progenitores.⁴

La Figura del Banco de Sangre de Cordón Umbilical (BSCU).

El objetivo primordial de un BSCU es servir a los centros de trasplante, seleccionando la mejor unidad disponible de células progenitoras a través de su propio inventario, de los registros nacionales de cada país o bien a través de NETCORD. Es necesario suministrar unidades de calidad, mediante la aplicación de los estándares internacionales y la automatización y validación del proceso.

El BSCU debe mantenerse operativo, esto se logra con la petición y suministro de unidades a los centros de trasplante y tratando de alcanzar el equilibrio Costo / Beneficio. La dimensión que alcance un BSCU puede condicionar en gran medida su supervivencia.

Un Banco de Sangre de Cordón Umbilical esta conformado por la unidad materna, la unidad de procesamiento y criopreservación, la unidad de búsqueda y gestión de datos y el banco paralelo.

La unidad materna es la única área que se encuentra fuera de las instalaciones de un BSCU, su función es recolectar la sangre de cordón umbilical, siguiendo las pautas establecidas por el banco de cordón.

La unidad de procesamiento y criopreservación se encarga de recibir las muestras, procesarlas y criopreservarlas bajo estrictos controles de calidad tanto hematopoyéticos como de seguridad transfusional.

La unidad de búsqueda y gestión tiene como función gestionar las peticiones de unidades para ser trasplantadas y coordinar la comunicación administrativa entre el banco de cordón y los centros de trasplante.

El banco paralelo se encarga de realizar todos los estudios que marca el protocolo, a las células obtenidas de sangre de cordón umbilical, garantizando su funcionalidad.^{1,6}

Los procesos en el BSCU

Para la utilización terapéutica de la sangre de cordón es necesario definir y controlar el proceso, que

lleve el producto controlado desde el territorio vascular placentario hasta el sistema circulatorio del receptor. El proceso consta de 3 fases: una de donación del producto, una segunda de manipulación que lleva el producto desde el BSCU al centro de trasplante, y una tercera de trasplante y seguimiento clínico. Durante este trayecto se deben realizar actuaciones que mantengan las propiedades funcionales del producto original, con garantías de seguridad para el donador y el receptor. De forma complementaria, se deben desarrollar controles que verifiquen la calidad funcional del producto (calidad hematopoyética), y la seguridad del receptor (calidad transfusional).

El proceso así definido puede dividirse en diferentes técnicas de manipulación del producto, sobre el cual se aplican pruebas analíticas de caracterización y controles de calidad.^{1,7}

Proceso de donación

La donación de sangre de cordón umbilical deberá siempre reunir y garantizar los siguientes aspectos.

La confidencialidad. Se debe garantizar que toda la información relativa a los donadores y receptores será obtenida, tratada y custodiada en la más estricta confidencialidad. En ningún caso podrán facilitarse ni divulgarse informaciones que permitan la identificación del donador ni del receptor.

La promoción y publicidad de la donación de cordón se realizará siempre con carácter general y señalando su carácter voluntario, altruista y desinteresado.

La gratuidad. No se podrá percibir ninguna compensación económica ni de ningún otro tipo por la donación, ni se exigirá precio alguno al receptor por el cordón. Las actividades desarrolladas por los Bancos de Cordón serán sin ánimo de lucro, debiendo existir exclusivamente la compensación de gastos derivados de su actividad.

La finalidad será exclusivamente terapéutica, con el propósito de favorecer la salud o las condiciones de vida del receptor, sin perjuicio de las investigaciones que puedan realizarse adicionalmente. En todo caso, la utilización de cordones en función de un proyecto docente o de investigación deberá respetar los derechos fundamentales de la persona y los postulados éticos de la investigación biomédica.

La obtención previa de la firma de un consentimiento informado. La obtención de los progenitores hematopoyéticos procedentes de sangre de cordón umbilical de forma expresa, libre, consciente y desinteresada. No podrá obtenerse de personas que por deficiencias psíquicas, enfermedad mental o cualquier otra causa no puedan otorgar su consentimiento en la forma indicada.

El consentimiento deberá formalizarse por escrito y ser firmado por el donador y el médico, en presencia de dos testigos. En ningún caso podrá efectuarse la obtención sin la firma previa de este documento.⁹

Selección de las donadoras y consentimiento informado

1. Obtención de un Consentimiento Informado previo

Se deberá, informar a la madre antes del parto de la recolección de la muestra y obtener su consentimiento por escrito. Para ello se efectuará una entrevista en la que se explican las razones de la extracción y se deberá recabar la firma del consentimiento, autorizando la donación.

2. Criterios de inclusión

Se incluirán los partos que:

- tras valoración de la historia obstétrica, en el momento de la llegada a la unidad materna, ésta se considere normal y sin antecedentes de riesgo.
- No existan antecedentes médicos maternos o paternos que supongan un riesgo de transmisión de enfermedad congénita o infecciosa grave a través de la SCU.
- Se desarrollen de forma compatible con la realización de la recolección.

Se consideran excluidos de la obtención de la SCU aquellos partos en que:

- 1) la duración de la gestación sea inferior a 34 semanas,
- 2) exista una ruptura prematura de membranas de 12 o más horas antes del parto
- 3) se evidencie fiebre materna superior a 38°C,
- 4) exista inmunización feto-materna,
- 5) exista anemia materna severa,
- 6) se detecte sufrimiento fetal
- 7) exista evidencia de enfermedad infecciosa transmisible.¹⁰

Técnica de obtención de la sangre de cordón umbilical

Bolsas de obtención de SCU: Se utilizarán bolsas de hemodonación que contengan anticoagulante apropiado (25 ml de CPD para 150 ml de sangre de cordón) y sistema cerrado de recolección para minimizar el riesgo de contaminación bacteriana.

El equipo de recolección para la obtención de sangre de cordón contiene en forma general: bolsa de recolección, tubos para serología materna, tubo para fragmento de cordón y documentos.

Los equipos de recolección son proporcionados siempre por el Banco de Cordón y se conservan almacenados en la unidad materna, en un lugar limpio, preservado de la luz y del calor.

Técnica de recolección: Tras el parto, el cordón umbilical se pinza precozmente (menos de 35 segundos) a 5 cm del ombligo con dos pinzas y a continuación se corta el vínculo materno-fetal, iniciándose la recolección de la sangre cuando la placenta está aún

dentro del útero, previa asepsia del cordón umbilical con yodo. La técnica se lleva a cabo mediante punción de la vena umbilical, con la bolsa de recolección y drenaje por gravedad.

Se debe tener precaución de agitar la bolsa durante los dos o tres minutos que dura la recolección, para evitar la formación de coágulos.

Almacenamiento de las bolsas llenas: Las bolsas llenas se podrán mantener hasta 24 horas a temperatura ambiente o bien en una hielera a 4°C acondicionada para tal fin, hasta que sean enviadas al centro de procesamiento. El transporte de la bolsa hasta el centro de procesamiento puede ser realizado a temperatura ambiente. La criopreservación deberá realizarse preferentemente antes de las primeras 24 horas desde la recolección, o máximo antes de las 40 horas.^{1,10}

En la experiencia recabada por los Bancos de Cordón se ha observado un aumento de la muerte celular después de las 24 horas de extracción de la sangre, por lo que es más recomendable su procesamiento en las primeras 24 horas.

Controles a realizar en el momento del parto: Se deben obtener dos muestras de sangre para el control de la serología materna: AgsHb, VHC, HIV-1+ 2, Sífilis y Chagas, así como una muestra tisular de cordón umbilical, que se empleará como fuente de DNA para los estudios correspondientes previos al trasplante de la unidad.

Proceso de manipulación del producto, incluyendo reducción de volumen, criopreservación y almacenamiento en frío y controles de calidad

La fase de manipulación comprende todo el proceso desde la recolección de la sangre de cordón hasta la entrega al centro de trasplante. Se deben establecer en todo momento, medidas dirigidas a controlar la calidad:

- Caracterización del producto: definiendo el contenido celular, el contenido de progenitores hematopoyéticos y sus características transfusionales como el grupo sanguíneo y el HLA.
- Estudios de esterilidad después de la realización de manipulaciones
- Seguimiento de las células diana durante el proceso
- Registro del almacenamiento
- Registro del transporte desde la maternidad al banco y desde el banco al centro de trasplante

Procesamiento de la muestra

Protocolo de fraccionamiento. La SCU se congela tras someterla a procedimientos de fraccionamiento. Es recomendable utilizar procesadores celulares automatizados, que garanticen un proceso siempre uniforme, reproducible y sobre todo que ofrezcan una recu-

peración celular máxima, con capacidad de reconstitución hematopoyética.^{1,11,12}

Controles biológicos pre o post-fraccionamiento. Es indispensable realizar los siguientes estudios: determinación del sistema ABO y Rho, células nucleadas iniciales y totales, volumen de la muestra, determinación de progenitores mediante citometría de flujo, así como cultivos clonogénicos de las muestras, antes de la congelación o facultativamente de las muestras descongeladas preferentemente.^{1, 7,13,14}

Protocolo de congelación: Se realizarán aquellos protocolos de congelación que garanticen la viabilidad del material criopreservado.^{1,15}

Soluciones para criopreservación. Se recomienda utilizar soluciones de criopreservación que permitan alcanzar una concentración final de 10% de DMSO, 1% de Dextran 40 y 0.8% de Hidroxiethylalmidón y que sean de grado clínico. La adición de estas soluciones criopreservantes debe efectuarse en un período de 15 minutos, y con temperatura controlada entre los 2 y 4 °C.

Criopreservación. Las bolsas deben ser etiquetadas con un código de barras propio de congelación, que garantice su trazabilidad. Se recomienda el uso de sistemas de criopreservación que permitan controlar la velocidad de congelación, el almacenamiento en un mismo tanque y la inmersión total en N₂ líquido. Este tipo de sistemas permiten además conservar las muestras en cuarentena, o cuando se encuentran pendientes de validación, sin poner en riesgo el inventario de las unidades validadas.^{16,17}

Protocolo de descongelación: En caso de utilizar unidades para ser trasplantadas, se procederá a descongelar con un protocolo de probada eficacia. El uso de procesadores celulares automatizados permiten eliminar el DMSO de forma total, conservando una recuperación celular de hasta el 95 %.

Caracterización biológica

Cuantificación celular. La inclusión de una unidad en un banco de sangre de cordón umbilical para uso no emparentado deberá contener un mínimo de 9×10^8 células nucleadas totales después de retirar todas las necesarias para los controles.

Análisis de los progenitores hematopoyéticos. Se determinarán mediante citometría de flujo y cultivos clonogénicos en metilcelulosa. Facultativamente podrán realizarse de las muestras en fresco o descongeladas.

Control de esterilidad. Es indispensable realizar estudios microbiológicos del producto, antes de la congelación, para microorganismos aerobios, anaerobios y opcionalmente, hongos.

Causas de exclusión de unidades ya criopreservadas. Se desechará aquellos cordones ya congelados en que resulte la serología materna y/o del cordón positiva: HIV, VHB, VHC, Sífilis, Chagas, CMV (IgM o PCR viral positiva) y también aquellas unidades con microbiología positiva (según germen).

Determinación de antígenos de histocompatibilidad.

Las unidades de SCU deberán ser estudiadas para antígenos HLA A y B por serología o por genética molecular (DNA), así como C, DRB1 y DQ por métodos de genética molecular. Se recomienda que el laboratorio que realice los estudios de HLA este acreditado por un sistema de acreditación externa internacional. (EFI).

Criterios de elección de una unidad de SCU para trasplante.

Durante el proceso de búsqueda de unidad, el donador será elegido por orden decreciente de preferencia 6/6, 5/6 y mínimo 4/6 identidades, si no hay otras variables que aconsejen otro orden de prioridad respecto al HLA; como puede ser el número de células. El número de células nucleadas totales de la SCU que recomienda Eurocord para una recuperación hematopoyética más rápida y mejor supervivencia, es de 3.7×10^7 /Kg de peso del receptor (mínimo 2×10^7 CN/kg peso para óptimos resultados) y el total de células CD34+ de 2×10^5 /kg de peso (mínimo 1.7×10^5 CD34+ /kg peso).²⁰

En el caso de haber varias unidades de SCU disponibles, el médico responsable en el centro de trasplante, será quien decida cual debe ser elegido en función de la patología de base del paciente, peso, celularidad de la muestra y compatibilidad HLA de acuerdo a los conocimientos médicos y científicos de ese momento.³

Bancos de muestras de control

Los BSCU deberán disponer de bancos paralelos con muestras de control para la realización de análisis posteriores, si son requeridos, al menos durante 5 años contados a partir de la infusión de la sangre de cordón. Se debe considerar el almacenamiento de DNA fetal, así como una seroteca materna y fetal.

Seguimiento y control pos-parto de la madre y del recién nacido.

Es aconsejable, mas no imprescindible, la realización de un control pos-parto de la madre y del niño, a los seis meses de nacimiento, por la posibilidad de existencia de enfermedades congénitas o infecciosas que no hubiesen sido detectadas en el momento de la recolección de la SCU.

Esta valoración puede consistir en una valoración general del estado clínico de la madre y del niño y/o en la repetición de la serología materna.

En el caso de disponer de estos datos, deberán ser añadidos al registro de información de la unidad. La no disponibilidad de los mismos no debe ser motivo de exclusión de la unidad del Banco.^{1,7.}

Proceso de envío y transporte

Transporte de las unidades de cordón.

El transporte de las unidades de sangre de cordón se realizará desde el Banco de Cordón de origen, hasta el Centro de Trasplante. El envío será realizado empleando los medios de transporte que sean precisos en cada caso. El transporte se realizará en un sistema con capacidad para mantener las características adecuadas del cordón, recomendándose el uso de tanques para transporte seco de nitrógeno líquido, que permiten mantener la temperatura de congelación de la unidad a -196°C , mismo que debe acompañarse de :

1.- Etiquetado exterior en el que conste:

Tipo de tejido de que se trata, procedencia y destino, día y hora de salida, e instrucciones de transporte.

2.- Documentación destinada al centro receptor en la que conste:

La descripción del tejido y solución de preservación, relación de las pruebas efectuadas, instrucciones para la descongelación y utilización, así como código de la unidad de SCU, que permita su seguimiento y que se deberá archivar en la historia clínica del receptor.^{1,7,18}

La infusión de la unidad depende del centro de trasplante y es responsabilidad del equipo médico que atiende al enfermo receptor. Es fundamental que el banco de cordón se cerciore de que el centro de destino de su unidad, sea un centro autorizado por las autoridades sanitarias del país para la realización de este tipo de procedimiento terapéutico. Además, el banco debe seguir el resultado de la infusión y del trasplante para detectar posibles anomalías:

- Incidencias en la recepción del producto
- Resultado de la descongelación: caracterización celular y viabilidad

Seguimiento clínico: del prendimiento (pruebas de quimerismo), de la enfermedad injerto contra huésped, de la supervivencia, así como determinación de enfermedad mínima residual.

Referencias

1. NETCORD-FAHCT. International Standards for Cord Blood Collection, Processing, Testing, Banking, Selection and Release. 2002
2. García J, Querol S. Los bancos de sangre de cordón umbilical: Una nueva contribución al tratamiento de las enfermedades hematológicas. *Acta Científica y Tecnológica* 2001; 3: 10-13.
3. Querol S. Indicadores de calidad en el Banco de Cordón. *Gac Med Mex* 2003; 139 (suppl) N3: 98-100
4. Bonnett. Haematopoietic stem cells. *J Pathol* 2002; 197: 430-440.
5. [Http://www.netcord.org](http://www.netcord.org)
6. Calderón E. Los bancos de sangre de cordón umbilical, la normativa internacional y su situación actual en la República Mexicana. *Gac Med Mex* 2003; 139 (suppl) N3:101-103.
7. JACIE (Joint Accreditation Committee of ISHAGE Europe and EBMT). Manual de Acreditación para la extracción, procesado y trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. 1999
8. García J; *News NETCORD letter* 2003; 1: 1-4
9. The European Group on Ethics in Science and New Technologies to the European Commission. Opinion on the ethical aspects of umbilical cord blood banking. Opinion No. 19. 16 March 2004.
10. Amat LI, Querol S. La Sangre de cordón umbilical una nueva fuente de progenitores hemopoyéticos para trasplante. Análisis de nuestra experiencia en la recolección y procesamiento. *Prog Obst Gin* 1996; 39: 571-579.
11. SEPAX. Sistema de procesamiento celular. Manual de operación. 2004
12. [Http://www.biosafe.ch/cms/includes/pbsct.pdf](http://www.biosafe.ch/cms/includes/pbsct.pdf)
13. Larry C, Lasky. Marrow and stem cell processing for transplantation. Bethesda Maryland. American Association of Blood Banks. 1995. 51-64.
14. Ryuji N, Tsutomu W. Analysis of maternal and neonatal factors that influence the nucleated and CD34+ cell yield for cord blood banking. *Transfusión* 2004; 44: 262-267.
15. Brockbank K., Covault J., Taylor M., *Cryopreservation Manual. A guide to cryopreservation techniques.* 2002
16. Thermogenesis. Bioarchive system operator's manual. 2002
17. Zingsem J. Cord Blood processing with an automated and functionally closed system. *Transfusión* 2003; 43: 806-813.
18. Randal K. Cord blood units collected at a remote site: collaborative endeavor to collect umbilical cord blood through the Hawaii Cord blood bank and store the units at the Puget Sound Blood Center. *Transfusión* 2004; 44: 111-118.
19. Orkin S. Diversification of haematopoietic stem cells to specific lineages *Nature Reviews* 2000; 1: 57-64.
20. Benito A.I., Díaz M.A., González-Vincent et al. Hematopoietic stem cell transplantation using umbilical cord blood progenitors: review of current clinical results. *Bone Marrow Transplantation* 2004; 33:675-690.