



Concentrados de plaquetas obtenidos a partir de sangre entera vs por aféresis

Cortés Buelvas, Armando; M.D.*

RESUMEN

En la actualidad disponemos de tres tipos de concentrados de plaquetas (CP): CP procesados por el método de plasma rico en plaquetas (CP-PRP) o por el método de capa leucocitaria "buffycoat" (CP-BC) a partir de unidades de sangre entera donadas al azar (CPR) y CP obtenido por aféresis (CP-aféresis).

La calidad y características de las plaquetas durante el almacenamiento se afectan por una serie de factores, tales como el anticoagulante, la centrifugación y procesamiento después de la colecta, y el agrupamiento antes o después del almacenamiento. Por último, el uso de cada uno de estos componentes ya sean originales, o leucorreducidos, o suspendidos en solución de almacenamiento, o procesados con una técnica de inactivación de patógenos agrega nuevos factores de complejidad para compararlos. Aunque está claro que el CP-BC retiene mucho más funciones *in vitro* que el CP-PRP, lo que indica que no se debería utilizar más este último, es mucho más difícil encontrar diferencias con los CP-aféresis.

Otro factor que puede afectar la decisión política es la aparición de reacciones adversas en los receptores. Si se consideran solamente los datos comparables, por ejemplo CPR leucorreducida en comparación con CP-aféresis leucorreducida, hay pruebas de que este último está más asociado con reacciones adversas en los receptores.

Muy pocos estudios se han publicado comparando la eficacia clínica de los CPR frente a CP-aféresis, considerando como resultado final principalmente el incremento del recuento corregido de plaquetas (IRC). De manera similar a los estudios *in vitro*, aunque el CP-PRP muestra IRC más bajos, no existe una diferencia clara entre CP-BC y CP-aféresis.

Otros aspectos que pueden afectar la decisión es el hecho de que el uso de CP-aféresis en lugar de CPR reduce la exposición total de los pacientes a los donantes, lo cual se considera crítico en algunos países para reducir el riesgo de transmisión de infecciones transmisibles por la sangre. Mientras no parece haber diferencias significativas entre las tasas de cultivos bacteriológicos positivos en CP-aféresis y el *pool* de CP-BC

Aunque la activación de plaquetas *in vitro* puede diferir entre CP obtenidos con diversos equipos de aféresis, y también entre el CP-PRP y CP-BC, no hay claridad sobre el impacto clínico de estos hallazgos.

En conclusión, los productos finales de CPR-LR u obtenidas por aféresis pueden ser comparables, siempre que los pasos críticos del método de procesamiento sean identificados y tenidos en cuenta y el proceso esté bajo control. Por último, se debe considerar el coste de los componentes, siendo mucho más alto para los CP-aféresis. Todos estos factores deben ser considerados y evaluados al seleccionar un método de colección de plaquetas en un banco de sangre. Esta presentación tiene como objetivo analizar los factores que pueden afectar esta decisión.

INTRODUCCIÓN

Las plaquetas son fragmentos de megacariocitos y circulan en la sangre con una morfología similar a un disco. En circulación pueden sobrevivir durante aproximadamente 10 días. Después de la activación por diversos estímulos se suceden rápidos cambios en la forma pasando de discos a esferas con dendritas espinosas, con expresión de marcadores de activación en

*Especialista en Anatomía Patología y Patología Clínica
Profesor Titular y Jefe del Departamento de Patología de la Universidad del Valle
Director del Servicio Ayudas Diagnósticas y Terapéuticas del Hospital Universitario del Valle
Director del Hemocentro del Valle del Cauca, Cali Colombia
acortes59@gmail.com

la superficie y sustancias bioquímicas que inducen la formación de coágulos al ser liberadas.

Para obtener las plaquetas destinadas para transfusión, se almacenan en bolsas de plástico por 5 o más días, pero la activación puede ser inducida en los diversos pasos de la colecta de sangre por superficies artificiales (tubo, bolsa de sangre, arnés de aféresis, material de filtro), bajo flujo en la colecta de sangre, inadecuada mezcla con el anticoagulante, temperatura menor de 18 °C y otras condiciones de almacenamiento. Dependiendo de la intensidad de la activación ésta puede ser reversible o no. Pero en general, las plaquetas activadas tienen una recuperación reducida¹. Por tanto, en todas las etapas durante la extracción, procesamiento, almacenamiento y su transfusión se debe prevenir la activación de las plaquetas.

Las mejoras generales de la técnica para separar las plaquetas de la sangre total y la disponibilidad de bolsas de plástico revolucionó el campo de la terapia de componentes. Hoy día, los concentrados de plaquetas se preparan habitualmente de la sangre total por centrifugación diferencial (CP-BC) o plaquetoféresis².

El principio básico de la preparación de componentes a partir de la sangre entera consiste en que cada componente tiene su propia gravedad específica y se pueden separar mediante la centrifugación. El primer intento con éxito para obtener concentrados de plaquetas a partir de la donación de sangre total fue utilizando el plasma rico en plaquetas (PRP)³. Esto tuvo algunos desarrollos conduciendo a la técnica de PRP como aun se produce en algunos países⁴.

Unos 10 años más tarde, aparecen las técnicas de aféresis, inicialmente desarrolladas para la recolección de granulocitos⁵ y se extendió su uso a las plaquetas⁶. El siguiente hito principal en el procesamiento de plaquetas para el uso clínico se produjo otros 10 años más tarde, cuando los concentrados de plaquetas se obtuvieron a partir de sangre entera usando la técnica de capa leucocitaria⁷.

En el procedimiento de preparación del CP-PRP, la sangre total se centrifuga suavemente para recoger PRP, que a su vez se hace girar con fuerza para sedimentar y aislar las plaquetas. Para el método de CP-BC, la sangre total se centrifuga fuertemente, logrando la formación de una capa de BC en la parte superior de los concentrados de glóbulos rojos, que consiste en leucocitos y plaquetas. La capa de BC se separa, y se hacen grupos de 4 o 5 BC. Después de una centrifugación suave, se cosecha el sobrenadante rico en plaquetas.

Tanto CP-PRP y CP-BC contienen una cantidad relativamente pequeña de plaquetas, que van desde 0,5 hasta $0,8 \times 10^{11}$ plaquetas. Por tanto se deben usar de cuatro a ocho unidades de diferentes donantes para un solo episodio de transfusión en un paciente adulto, más frecuentemente como "pool"⁸. En la medida que estos CP no han sido seleccionados en una base de compatibilidad para el receptor, y han sido preparados mediante el "pool" de los componentes de donantes al azar (a excepción del grupo ABO) se han denominado CP de

donantes "al azar". En el presente texto, cuando hagamos referencia a plaquetas obtenidas de donantes al azar se refiere a los CP-PRP y CP-BC

La esencia de la plaquetaféresis es obtener únicamente las plaquetas para transfusión, mientras que el resto de las células de la sangre se devuelven al donante. Para este propósito, se han desarrollado dispositivos que extraen, centrifugan y devuelven la sangre al donante, integrada en un solo proceso, y los donantes se pueden seleccionar con varios criterios de compatibilidad, por ejemplo HLA o CMV negativo, de acuerdo con las características del paciente. A pesar de que se pueden observar algunas diferencias de acuerdo con el separador de células utilizado, esta técnica se hará referencia en este texto como CP-aféresis. Con el procedimiento de aféresis, se puede obtener de un solo donante la dosis completa de plaquetas para un paciente adulto.

Para optimizar el rendimiento, la calidad y la seguridad de los *pool*es de las unidades individuales se pueden emplear conexiones estériles y procesos de leucorreducción (LR) prealmacenamiento. La leucorreducción también es posible en la programación de los equipos de aféresis, utilizando un lecho de partículas fluidizado o un filtro de leucorreducción.

Las mejoras de la calidad de los tres métodos permiten hoy en día la preparación de CP-LR con seguridad, rendimientos y calidad muy similar.

Hoy en día, el uso respectivo de CPR y CP-aféresis es muy heterogéneo, va de 10 a 98% de los CPR en los diferentes países. Por otra parte, cuando se considera cada país, se puede observar que algunos han cambiado su política, de CP-aféresis para CPR o viceversa. Por ejemplo, en Francia, el uso de CPR disminuyó hasta 2002, pero desde entonces aumenta su producción progresivamente. En 1970 y 1985, el uso de CP-BC superaba ampliamente a la de CP-aféresis⁹.

Sin embargo, la selección de los CP-BC o CP-aféresis para la transfusión es todavía un tema de debate. Esta revisión tiene como objetivo analizar los factores que pueden ayudar a decidir qué tipo de componente de plaquetas puede ser utilizado como tratamiento de primera línea, teniendo en cuenta la evolución observada de la medicina transfusional en los últimos años.

Preparación del CP de sangre entera

Se obtiene sangre completa en sistemas de múltiples bolsas de plástico conectadas integralmente (incluyendo preferiblemente una bolsa de desviación) con un anticoagulante basado en citrato. Para evitar la activación de las plaquetas y de factores de coagulación se requiere una mezcla apropiada con el anticoagulante, siendo también crítico mantener un flujo constante de la sangre y un tiempo de flebotomía limitada (arbitrariamente a 12 min. para una unidad de 450-500 ml). El uso de agitadores electrónicos para la colecta, que verifican el flujo de sangre, el tiempo de extracción, el

volumen de sangre y garantizan la mezcla con intervalos regulares contribuye a la normalización del procedimiento. Tras la extracción de la sangre se debe asegurar que las plaquetas se mantengan desactivadas y con un metabolismo reducido. Es necesario tener procedimientos uniformes para que todas las unidades pasen de una manera estandarizada desde la temperatura del cuerpo a la temperatura de almacenamiento prevista¹⁰. Para el almacenamiento de la preparación esta definida una temperatura entre 20-24 °C.

En los preparados a partir de sangre entera pueden ocurrir varios cambios: los factores de coagulación V y VIII comienzan a disminuir, se forman microagregados por la desintegración de las plaquetas y los leucocitos, el pH cae debido al metabolismo de las células de la sangre y si se almacenan a 4 °C puede formar crioprecipitado. Para la preparación de CP a partir de sangre entera la separación se hace dentro de las 24 h de la recolección; en general se acepta ya sea hasta 8 o 24 horas^{11,12}.

Método de PRP

Existen dos métodos de preparación de CP a partir de la sangre entera. Los pasos críticos del método de procesamiento se deben definir, evaluar y aplicar mejoras cuando sean necesarias. Con la mejora continua de la calidad se puede aumentar la producción promedio de plaquetas obtenidas a partir del PRP no-LR de 55 a 97 por unidad donada¹³.

El método de PRP requiere una centrifugación suave (1000 g) de la sangre entera que se separa en una capa de plasma que contiene la mayoría de las plaquetas y parte de los leucocitos (PRP) y una capa de glóbulos rojos y leucocitos, mezclados con algunas plaquetas. La separación de estas capas en bolsas separadas no se debe retrasar para evitar variaciones en la sedimentación de las células¹³. A continuación, al PRP se le da un giro con fuerza y se retira casi todo el plasma dejando sólo 40-60 ml de plasma pobre en plaquetas. El sedimento de las plaquetas (altamente activadas) debe descansar un tiempo (1-2 horas) y posteriormente son resuspendidas para el almacenamiento¹³.

Para una transfusión de 4-8 unidades de PRP se pueden agrupar en el banco de la sangre o las unidades se pueden transfundir por separado. El análisis en materia de contaminación bacteriana ha aumentado el interés en el *pre-pooling* antes del almacenamiento, lo que permite una prueba de cultivo por *pool*, con reducción de los costos. La aplicación del *pool* pre-almacenamiento de PRP no LR por la Cruz Roja Americana ha permitido producciones de plaquetas muy eficientes de 4,0 x 10¹¹ de 5 PRP¹⁴.

Para evitar la formación de citoquinas durante el almacenamiento^{15,16} y prevenir la aloinmunización después de la transfusión, se debe reducir el número de leucocitos por debajo de 5 x 10⁶ pre-almacenamiento^{11,12} lo que implica que se debe filtrar el PRP.

Sin embargo las plaquetas activadas se adhieren fácilmente a las fibras del filtro y la pérdida de plaquetas puede ser considerable. Para evitar esto, la filtración del PRP se efectúa en la segunda centrifugación, o se pueden hacer *pools* a partir de PRP después de su resuspensión y se filtra el día siguiente. Se ha comprobado que la filtración antes de la segunda centrifugación de un PRP almacenado 5 días tiene una recuperación significativamente más alta de p-selectina y más baja recuperación y sobrevivencia de las plaquetas que las plaquetas LR por aféresis¹⁷.

La producción de plaquetas es más alta en las unidades filtradas un día después de la preparación 41 ± 12 x 10¹⁰ vs 39 ± 8,5, respectivamente; aunque esta diferencia no es significativa (p = 0,67). El almacenamiento subsiguiente durante 7 días del *pool* de PRP-LR no causa deterioro en su calidad o activación de plaquetas¹⁸.

Método de BC

En el método de BC a partir de sangre entera se efectúa una centrifugación fuerte (3000 g) y se obtiene plasma libre de células, una capa que contiene el 90% de los leucocitos y el 70% de las plaquetas, los que se separan de los glóbulos rojos¹⁹.

Si a la sangre recién extraída se le da una centrifugación fuerte se induce la formación de macroagregados por las plaquetas activadas, por lo tanto se recomienda que se pueda almacenar hasta 24 h^{10,19,20}. Del BC se puede obtener un CP por una segunda centrifugación con centrifugación suave, pero esto requiere personal calificado.

Muchas mejoras se han implementado desde el 1990²¹. La normalización del aislamiento de la capa leucocitaria se facilitó por la introducción de bolsas "*Top and Botton*" y los equipos automatizados para la separación, las conexiones estériles y los sistemas integrados de agrupamiento, los filtros de reducción de leucocitos, y las bolsas grandes de almacenamiento de plaquetas conectadas con una bolsa de muestreo. Más tarde, se integra un adaptador especial para poder cultivar el CP para la detección bacteriana. Por lo tanto se pueden agrupar 4-6 CP-BC y luego dar una centrifugación suave, para que el sobrenadante se pase a través del filtro LR con equipo automatizado, obteniéndose CP-BC-LR, con un alto rendimiento en la cantidad de plaquetas¹⁹.

Para aumentar la disponibilidad de plasma para la preparación de derivados plasmáticos y para prevenir las reacciones adversas a la presencia del plasma tales como TRALI o anticuerpos anti-eritrocitarios irregulares o HLA se puede usar una solución aditiva de plaquetas (PAS) como medio de almacenamiento. La PAS contiene potasio y magnesio que permiten el almacenamiento de CP para un máximo de 7 días con excelente calidad. El *pooling* (con adición de PAS) y la filtración del *pool* BC se puede automatizar^{22,23}. Inmediatamente después de la preparación, las plaquetas

derivadas de BC están menos activas que las plaquetas PRP, pero durante el almacenamiento la diferencia puede desaparecer²⁴.

El pH se mantiene más estable durante el almacenamiento de los CP-BC en comparación que CP-PRP, debido a la reducción de la glucólisis y del metabolismo oxidativo²¹.

Una investigación sobre la activación de las plaquetas en preparados de CP-BC, CP-PRP y CP-aféresis obtenido con máquina Amicus (Baxter Healthcare) y Trima (CaridianBCT) reveló que la secreción de CD62 fue mayor en las plaquetas Amicus que en las plaquetas Trima, y mayor en CP-PRP que en CP-BC durante los primeros 5 y 3 días de almacenamiento, respectivamente²⁵.

Por otro lado una validación de la aplicación de CP-BC en Canadá, concluyó que en CP-BC, LR hay menos evidencia de laboratorio de la producción de daños que reflejan una mayor calidad durante el almacenamiento que en los CP producido por el método de PRP; incluyendo la activación medida por la expresión de CD62²⁶.

Preparación del PC con aféresis

Los procedimientos de aféresis requieren una máquina, un conjunto específico de bolsas conectadas integralmente para cada colección y/o un *bowl* para centrifugación; la mayoría de los sistemas de aféresis tienen integradas una bolsa de desviación. La sangre extraída se mezcla inmediatamente con anticoagulante en una relación determinada, lo cual es una gran ventaja para evitar la activación de plaquetas en comparación con la extracción de sangre entera, donde la sangre tiene que fluir a través de alrededor de 110 cm de tubo antes de que se mezcle con el anticoagulante. Los componentes se separan mediante centrifugación de acuerdo con la densidad de cada componente y es transferido selectivamente en una bolsa específica. Los componentes no deseados son devueltos al donante.

Los programas electrónicos permiten la optimización de la pureza y el rendimiento de los componentes. Los métodos difieren en el acceso simple o doble aguja que permite el flujo discontinuo o continuo, respectivamente; el uso de bolsas o un recipiente de plástico, la forma como se recogen las plaquetas que hacen parte de la capa leucocitaria, la aplicación de los flujos de sobretensión o elutriación y el método de leucorreducción con adaptaciones especiales o configuraciones del sistema de recogida de aféresis o por filtración del componente.

La adición inmediata y dosificada de anticoagulante y la separación de los componentes permite una preparación estandarizada que también se puede ajustar a la altura del donante, peso y recuentos de sangre, con un mínimo de reacciones en donantes. Los dispositivos de muchos fabricantes son capaces de producir CP aféresis LR pre-almacenamiento.

Varios autores han comparado los productos plaquetarios. La activación plaquetaria, medida por ex-

presión CD62 fue mayor en CP obtenido con el Amicus (Baxter Healthcare) en comparación con el CP de la CobeTrima (CaridianBCT)^{25,27} ó el CP de la MCS + con LR por filtración (Haemonetics)^{25,27-29}. Hay escasa literatura sobre el impacto clínico de estos hallazgos.

Almacenamiento prolongado de PC

Las bolsas de almacenamiento de plaquetas deben ser permeables al gas para permitir el intercambio de oxígeno y el dióxido de carbono. Las bolsas de 300 a 450 ml son suficientes para 40-70 x 10⁹ plaquetas derivadas de un CP-BC o CP-PRP en 40-70 ml de plasma. El tamaño de la bolsa debe ser adaptado al volumen del medio de almacenamiento y el número de plaquetas³⁰.

Los resultados de diversos estudios revelan que el número de plaquetas en CP-PRP, no LR es de aproximadamente 4.0 x 10¹⁰⁽¹⁴⁾, en el CP-BC, LR de aproximadamente 3.7 x 10^{10(19,30)}, y el CP-aféresis LR el número puede ser definido en 3.5 x 10^{11(25,27,28)}.

Las bolsas grandes de 1000-1500 ml fabricadas con BTHC, CLX -HP, EVA, poliolefina y DnDP permeables al gas han sido recientemente investigadas para el almacenamiento de 200-450 x 10⁹ plaquetas en plasma, manteniendo el pH estable durante 7 días en CP-BC, LR. La introducción de la detección de contaminación bacteriana ha renovado el interés en el almacenamiento prolongado de plaquetas y las pruebas *in vitro* concluyen que es posible almacenar hasta 7 días los CP-BC, LR^{19,30-32}, CP-PRP, LR¹⁸ y CP-aféresis con Cobe Trima³³.

No se ha observado diferencia alguna en los IRC a la hora (IRC-1h) en pacientes trombocitopénicos estables cuando se transfunden CP-BC, LR de cinco ó siete días de almacenados, el IRC-1h después de la transfusión en los CP de siete días de almacenado, fue ligeramente, pero significativamente menor que el IRC-1h después de la transfusión de CP de dos días de almacenado, sin embargo la diferencia se considera aceptable³².

En voluntarios la transfusión de CP-aféresis almacenados por cinco a siete días obtenidos con Trima (CaridianBCT), se observa una recuperación y supervivencia ligeramente inferior para los de siete días de almacenados en comparación con cinco días, pero también se considera aceptable³³.

Dos revisiones sistemáticas han concluido que es necesario un ensayo controlado aleatorio para probar si existen diferencias clínicas entre CP-BC, LR; CP-PRP, LR y CP-aféresis, LR^{34,35}.

Fundamento histórico para un uso preferente de CP-aféresis

Los métodos para el control de calidad de los componentes incluyen el volumen de plaquetas, recuento de plaquetas, glóbulos rojos, recuento de leucocitos, pH, y los marcadores de activación de las plaquetas³⁶⁻³⁸.

Cuando estuvieron disponibles las primeras técnicas de aféresis, se propusieron varios argumentos a favor de su empleo:

Se planteó que las funciones de las plaquetas *in vitro* podrían ser mejoradas en CP-aféresis, en comparación con CP-PRP^{39,40}. La sangre completa para preparar plaquetas a partir de PRP se mezcla con citrato -fosfato - dextrosa (CPD). Es conocido que el fosfato estimula la glucólisis⁴¹ afectando las características del almacenamiento.

Una comparación de los CP-PRP y CP-aféresis obtenidos de un mismo donante, muestra empeoramiento de la respuesta al choque hipotónico al quinto día de almacenamiento con resultados de 32 ± 13 % para CP-PRP y 57 ± 14 % para CP-aféresis⁴⁰. Por el contrario, la respuesta a la adenosindifosfato (ADP) es mejor para CP-PRP, mientras que otras mediciones mostraron diferencias de menor importancia. Para los CPs con contenido plaquetario comparable, el pH en el día 5 fue 7.30 ± 0.12 para los CP-BC y 7.04 ± 0.21 para los CP-aféresis⁴². Otras medidas *in vitro*, incluyendo la activación de marcadores CD62 y CD63, y un marcador de apoptosis de exposición de la fosfatidilserina, mostraron diferencias menores entre los preparativos. Otros confirman que CP-BC y los CP-aféresis tienen una calidad similar *in vitro* durante el almacenamiento⁴³. Una comparación de la función plaquetaria con parámetros de laboratorio reveló un mejor mantenimiento de ADP y una mejor respuesta en la agregometría inducida por colágeno de los CP-aféresis, y además de un tiempo de cierre más rápido en PFA - 100 en comparación con las plaquetas de los CP-BC⁴⁴.

En este estudio experimental, con 30 CP-aféresis que se obtuvieron con Haemonetics MCS plus y 30 unidades de CP-BC; los porcentajes de expresión de Anexina V; nivel de factor plaquetario 4 (PF4), recuento de plaquetas, leucocitos y de glóbulos rojos; pH y el volumen medidos inmediatamente después de la recolección y después de 3 días de almacenamiento, se observó que durante el almacenamiento máximo de 3 días, las unidades de CP-BC no muestran cambios significativo en el pH o contenido de glóbulos rojos, en comparación con las preparaciones de CP-aféresis ($p > 0,05$); pero sí, un aumento significativo en el PF4 y la expresión de Anexina V, en comparación con las preparaciones de CP-aféresis a los tres días ($p < 0,05$) de almacenamiento. La cinética del PF4 y los niveles de anexina V se ven influenciados por el método usado para preparar las plaquetas durante el almacenamiento⁴⁵. Los diferentes niveles de PF4 y Anexina V en CP-BC y CP-aféresis demuestran claramente una activación progresiva de las plaquetas en los CP-BC que excede a la de los CP-aféresis. Sin embargo, se deben realizar estudios *in vivo* para confirmar el impacto clínico de estos hallazgos.

La redistribución de la fosfatidilserina (FS) de la superficie interna de la membrana a la superficie exterior acompaña a la activación de plaquetas^{37,38}. La exposición de FS se puede medir mediante el uso de la citometría de flujo y con la anexina V marcada con

fluoresceína. La Anexina V es utilizada como un parámetro para controlar la calidad de los CP durante el almacenamiento. Este ensayo se basa en el principio de que la anexina V se une a la FS con alta afinidad y alta especificidad^{46,47}. La activación de las plaquetas es seguida por un aumento de la secreción de F4P en el plasma; esta proteína es el componente principal de los gránulos alfa y se secreta durante el almacenamiento^{37,38}.

Los estudios sugieren que el grado de la activación *in vitro*, como se evidencia por la liberación de PF4 y Anexina V, son dependientes de los diferentes métodos preparativos^{2, 37, 38, 44}; siendo el grado de activación significativamente mayor en los CP-BC que en los CP-aféresis y se eleva progresivamente durante el almacenamiento.

Se ha encontrado una menor contaminación de leucocitos en los CP-aféresis y las variaciones del volumen son mayores en CP-BC que en las unidades de CP-aféresis sugiriendo que se requiere una mayor normalización de la preparación de CP-BC. Estos datos sugieren que los CP-aféresis podrían tener una capacidad hemostática superior a los CP-BC al menos *in vitro*^{31,44,48}. Se deben realizar estudios *in vivo* para confirmar estos hallazgos en la circulación.

Por otro lado, los resultados parecen variar según las diferentes máquinas de aféresis, por tanto se necesitan más experimentos para garantizar que los datos obtenidos no son específicos para el separador de células evaluado; es decir, que estos estudios deben extenderse a otros métodos de aféresis.

La anexina V puede ser un marcador más deseable para los estudios clínicos de las plaquetas activadas, es menos susceptible a la elevación por artefactos relacionados a las variaciones menores en la manipulación de la muestra y procedimientos de ensayo^{47,49}.

Gestión de la calidad

Las transfusiones de sangre modernas requieren sistemas de calidad para cumplir con las políticas nacionales que a su vez se basan en muchas directrices internacionales. Todos los procesos deben estar documentados, validados y debe existir un sistema que permita la identificación y manejo de los errores e incidentes. Todo el personal debe estar capacitado y calificado; y todos los materiales, reactivos, equipos y métodos deben ser calificados, aprobados y validados antes de su empleo. Algunos requisitos son obligatorios para la preparación de los CP. Algunos medicamentos anti-inflamatorios no esteroideos (AINES) y/o inhibidores de la agregación plaquetaria afectan la función plaquetaria. Las donaciones de sangre total de los donantes que utilizan estos fármacos no se deben utilizar para la preparación de CP, y los donantes de aféresis de plaquetas se deben diferir temporalmente de acuerdo con las políticas nacionales. Se pueden hacer otras selecciones según la necesidad de ABO/RhD, HLA o

HPA. Para los *pool*es se deben seleccionar unidades idénticas ABO y para las *pool*es Rh negativo, todas las unidades deben ser Rh -negativo.

Riesgo de transmisión de VIH, VHC y VHB

Para una cantidad equivalente de transfusiones de plaquetas, el uso de CP-aféresis requiere menos donantes, en comparación con CPR (de cuatro a diez veces menos de acuerdo con el tipo de CPR preparado y la cantidad de plaquetas recogidas por aféresis). Por lo tanto, se puede esperar una reducción del riesgo de transmisión de infecciones a través de las transfusiones de sangre. De hecho, la principal preocupación era inicialmente poder reducir el riesgo de transmisión de virus. La mayor exposición de donantes es evidente, y los datos modelados de hecho han mostrado un aumento de la incidencia de la transmisión viral⁵⁰.

No es cuestionable que el riesgo de VIH, la transmisión de VHC y VHB para un paciente dado está directamente relacionada con el número de donantes, y la promoción de los CP-aféresis frente a los CPR era una iniciativa inteligente de acuerdo con la magnitud de la transmisión de infecciones de VIH y VHC por transfusión a mediados de 1980.

Desde ese momento, es importante tener en cuenta que en la mayoría de los países, el riesgo calculado a partir de datos reales de donaciones de sangre se redujo drásticamente en los últimos 20 años, debido principalmente al desarrollo de una política activa para la selección de los donantes, y en menor medida al desarrollo de técnicas de detección altamente sensibles. En la experiencia francesa, entre 1992 y 2005, el riesgo calculado se ha reducido por un factor de 4,5 para el VIH, 15 para el VHB y 30 para el VHC, para llegar a un riesgo residual de 1/2.6 millones de donaciones para el VIH, 1/6.5 millones de donaciones para el VHC y 1/1 millón de donaciones para VHB⁵¹.

Podemos concluir que la magnitud del riesgo de transmitir el VIH, VHC y VHB se redujo drásticamente en los últimos 20 años. Sin embargo, debido a que el riesgo no ha desaparecido, el favorecimiento de los CP-aféresis tiene razón de ser, aunque menos rigurosamente, y todavía puede ser considerado y merece ser analizada como una medida de seguridad de la salud pública en términos de costo –efectividad, en especial en países donde hay dependencia de donaciones de reposición y no se realizan pruebas de biología molecular para el estudio de la sangre donada.

Riesgo de la variante de la enfermedad de Creutzfeldt Jacob (vECJ)

La vECJ se convirtió en un importante problema de salud pública en todo el mundo en los últimos años, en especial en el Reino Unido y Francia, en especial ahora que se ha establecido que la transfusión de sangre

puede ser una forma de transmisión de humano a humano de esta enfermedad⁵².

En consecuencia, la reducción del número de donantes de una unidad terapéutica similar se consideró al menos en Francia y en el Reino Unido como una medida preventiva, que llevó a recomendar el uso de los CP-aféresis en lugar de CPR⁵³.

Las tecnologías de reducción de patógenos adaptados al agente vCJD no están lo suficientemente desarrollados hoy en día, pero se puede esperar un proceso disponible en los próximos años. Sin embargo, debido al mejor conocimiento de la infectividad específica de cada fracción de la sangre y la evolución de la producción de plaquetas, la simple recomendación para favorecer CP-aféresis hecho en el año 2000 merece ser reexaminada. En primer lugar, se establece que no todas las fracciones de sangre pueden contener el príon patológico: no se encuentra en las plaquetas *per se*, pero se encuentra principalmente en los leucocitos y en el plasma⁵⁴. En segundo lugar, estas recomendaciones se habían hecho antes de la implementación de las soluciones aditivas de plaquetas. Por lo tanto, hoy en día, la pregunta a la que deben responder los expertos en la comparación de CPR y CP-aféresis para su respectivo riesgo de transmitir ECJv es la siguiente: será un producto preparado a partir de un único donante con 150 a 200 ml de plasma y 40.000 leucocitos más seguro que un producto de cinco donantes que contiene cada uno de 20 a 25 ml de plasma y 5.000 leucocitos?

Contaminación bacteriana

En los últimos 10 años, ha habido una drástica reducción de este riesgo. En los países donde se ha introducido la detección de bacterias, uno puede esperar que el riesgo relativo de CP-aféresis y CPR deba converger a niveles similares. En Francia, durante los años 2003-2004, la incidencia de reacción relacionada con la contaminación bacteriana era de 1/ 50,368 para CPR y 1/60,591 para CP-aféresis, siendo la diferencia no significativa⁵⁵.

El uso de las técnicas de procesamiento modernas de la sangre entera que reduce la contaminación por bacterias⁵⁶, el riguroso procedimiento de limpieza de la piel antes de la extracción de sangre, y la desviación de los primeros 20-30 ml de la sangre recogida tanto en la sangre entera y colecciones de aféresis no da motivos para favorecer a los CP-aféresis para evitar la complicación relacionada con la contaminación bacteriana^{14,57-59}. Estos métodos han reducido el número de *pool*es contaminados de CP-BC^{58,59} y *pool*es de CP-PRP¹⁴ alrededor del 50 %. En muchos países se han introducido pruebas de cultivos o sistemas de detección rápida para poner a prueba todos los CP antes de la emisión^{14,20,58,59}.

En un gran estudio prospectivo multicéntrico se compararon 15.198 CP-aféresis con respecto a la contaminación bacteriana con 37.045 *pool*es CP-BC. La tasa de

unidades positivas confirmados fue de 0,09 % para los CP-aféresis y 0,06 % para los *pooles* de CP-BC, respectivamente (diferencia no significativa)⁶⁰. Anteriormente algunos autores habían descrito que los CP-aféresis fueron implicados con menos frecuencia que los CP-PRP en los eventos adversos relacionados con la contaminación por bacterias^{61,62}.

Inmunización HLA

Se ha previsto también que el uso de CP-aféresis podría conducir a la reducción de la frecuencia de la inmunización HLA, que era, antes de la introducción de las técnicas de leucorreducción, extremadamente alta en pacientes con enfermedades malignas hematológicas graves politransfundidos, con anticuerpos anti-HLA en al menos 30%, y hasta el 60% de los pacientes^{63,64}. Un estudio comparó el grado de inmunización HLA en pacientes transfundidos, con CP-PRP y CP-aféresis⁶⁵, sin encontrar diferencias estadísticas entre ellos siempre que sean leucorreducidos: siendo 3% para los receptores de CP-PRP, LR y 4% para los receptores de CP-aféresis, LR, en comparación con el 13% de los receptores de CPR no leucorreducidos; quedando bien establecido que el factor principal que conduce a la inmunización HLA es la cantidad total de leucocitos en los componentes sanguíneos. Por lo tanto, aunque no existe ningún estudio equivalente al estudio TRAP con CP-BC, podemos especular que conducen a por lo menos resultados equivalentes, ya que su contenido de leucocitos es el más bajo entre los productos plaquetarios. Podemos concluir que la prevención de aloinmunización HLA no puede ser un criterio para favorecer el uso de CP-aféresis como tratamiento de primera línea. Por supuesto, el uso de CP-aféresis HLA compatibles sigue siendo la mejor solución para proporcionar una eficiente transfusión de plaquetas en el caso de los pacientes inmunizados HLA, pero esta situación hace referencia hoy en día a sólo una minoría de pacientes.

Reevaluación de los fundamentos para un uso preferente de PC-A

La mayoría de los argumentos que se habían presentado a favor de un uso preferente de CP-aféresis hace 10 a 20 años en países como Francia o Suiza, no han sido apoyados por estudios posteriores. Por lo tanto, es útil volver a examinar las preferencias a la luz de los conocimientos y la situación epidemiológica actual.

Evaluación de la calidad *in vivo* e *in vitro* de los concentrados plaquetarios

Comparación de CP-PRP y CP-BC

Inicialmente desarrollados en los Países Bajos⁶⁶, la preparación de CP-BC muestra rápidamente tener muchas

ventajas sobre CP-PRP, con una cantidad de plaquetas recuperadas de la sangre entera mejorada en un 20 a 30% y una reducción del número de leucocitos residuales. Por otra parte, se ha demostrado que las funciones de las plaquetas *in vitro* son mucho mejor conservadas en CP-BC; por ejemplo, después de siete días de almacenamiento, la liberación de ATP, la agregación con colágeno y GMP 140 en CP-BC se ha encontrado es equivalente a los CP-PRP almacenados por un día⁶⁷. Estas observaciones, fueron confirmados por otros estudios²⁴. En lo que se refiere a la recuperación *in vivo* de plaquetas en un único estudio⁶⁸ con plaquetas marcadas no se encontraron diferencias entre CP-BC y CP-PRP.

Al considerar los datos clínicos, las plaquetas derivadas de CP-PRP tuvieron una recuperación del $35,2 \pm 6,7\%$ frente a $36,8 \pm 5,3\%$ para CP-aféresis, cuando se colectan y reinfunden al mismo voluntario (no significativo)⁴⁰.

Una comparación de CP-PRP, CP-BC y CP-aféresis no mostró ninguna diferencia en el IRC 1-h, siendo de $9,2 \pm 1,5$ para CP-PRP, $11,1 \pm 1,3$ para CP-BC, y $12,0 \pm 1,2$ para los CP-aféresis ($p = 0,763$); el IRC 24-h mostró el mismo patrón, $6,2 \pm 2,2$; $6,5 \pm 1,8$ y $8,6 \pm 1,7$, respectivamente ($p = 0,761$)⁶⁹. Un estudio similar comparando sólo CP-BC con CP-aféresis no encontró diferencias significativas para el IRC 1-h e IRC-24 h, las IRC 1-h CRI fueron del 68% en CP-BC y 69% para CP-aféresis⁷⁰. Los IRC-24 h fueron aceptables con 50 % para CP-BC y 46% en los CP-aféresis.

Por último, un metaanálisis de CP obtenidos de sangre entera en comparación con las plaquetas de aféresis mostró mejor IRC a 1 h y 24 h para las plaquetas de aféresis³⁵ con una diferencia media superior de 2.49 y 1.64, respectivamente. Sin embargo, los autores advierten que la muestra utilizada para el metaanálisis fue pequeña y los resultados deben ser interpretados con cautela. La sobrevida a las 72 horas fue de $44,1 \pm 18,6\%$ para CP-PRP y $53,8 \pm 10,5\%$ para CP-aféresis.

Las plaquetas obtenidas por el método CP-BC o CP-aféresis y almacenados durante 5 días, mostraron una recuperación media del 34,8% y 28,1%, respectivamente⁷¹. La supervivencia fue de 6,9 días para las plaquetas de CP-BC y 5,4 días para las plaquetas de CP-aféresis. Aunque el rendimiento de las plaquetas de aféresis puede parecer más bajo en este estudio, puede ser un factor de confusión la mayor concentración de plaquetas que induce una lesión de almacenamiento de plaquetas.

En general, con la evidencia de laboratorio y clínica, parece que hay pequeñas diferencias de calidad entre las plaquetas derivadas de sangre entera y aféresis; sin duda, existen varios factores, aparte del método de recolección, que contribuyen a los cambios durante el almacenamiento de las plaquetas

Reacciones adversas

También se había reconocido que el uso de CP-PRP estaba mucho más asociado con reacciones adversas que en los receptores CP-BC^{69,72,73} y su aparición está

fuertemente correlacionada con la cantidad de IL - 6 en los CP⁷². Además, aunque no se observa ningún aumento significativo en los niveles del factor de necrosis tumoral-alfa (TNF – alfa) en los CP-BC durante el período de almacenamiento, los niveles aumentan significativamente en los CP-PRP desde el primer día⁷⁴.

En la actualidad, podemos utilizar la información de los sistemas de hemovigilancia, en el supuesto de que la notificación de las reacciones adversas se lleva a cabo en condiciones similares para los receptores de CP-BC o CP-aféresis, y que no hay criterios clínicos específicos para el uso de cada uno de ellos⁷⁵. Entre 2003 y 2006, el centro de transfusión sanguínea de Gran Bretaña había entregado 1.275 CP-BC sin solución aditiva, 8206 CP-BC con solución aditiva, 25698 CP-aféresis sin solución aditiva, y 3525 de CP-aféresis con solución aditiva. Aparte del uso de CP-aféresis compatibles en los pacientes inmunizados por HLA, el criterio para seleccionar CP-aféresis o CPR era sólo la disponibilidad de una transfusión ABO compatible. De la misma manera, los componentes en solución de aditivos se utilizaron progresivamente a medida que la producción se cambió del plasma hacia la solución de aditivos. La comparación permite establecer no sólo una disminución significativa de la reacción alérgica vinculada con el uso de la solución aditiva, sino también una diferencia estadísticamente significativa de reacciones alérgicas entre CP-aféresis y CPR con o sin solución aditiva, en favor de la CPR sin solución aditiva $P = 0,04$. Por el contrario, la incidencia similar de reacciones febriles no hemolíticas no es sorprendente debido a la leucorreducción. Resultados similares se han observado en Francia⁷⁶. Podemos concluir que los CP-aféresis son más propensos a provocar una reacción adversa alérgica en los receptores que el CP-BC, y que el uso de CP-BC puede reducir su incidencia por un factor de más de tres en el caso de los componentes preparados con plasma, y por un factor de más de 10 en el caso de que los componentes sean preparados en solución aditiva.

Al comparar el porcentaje de eventos adversos graves en los pacientes después de la transfusión, no se encontraron diferencias significativas en un metaanálisis cuando se aplicó la leucorreducción, con un *odds ratio* de 1,78 (intervalo de confianza del 95 %, 0,87-3,62)³⁵.

Por último, la preparación de CP-PRP es totalmente manual, y tiene al menos un paso razonablemente alto en términos de activación de las plaquetas después de la centrifugación a alta velocidad, mientras que los otros pueden ser producidos con un proceso automático con una alta y reproducible recuperación de las plaquetas²².

Habiendo considerado que el CP-BC es de mejor calidad que el CP-PRP, la mayoría de los países europeos han adoptado esta técnica⁸.

Comparación de la CPR y CP-aféresis

Entre los estudios que comparan CP-BC y CP aféresis en lo que respecta a la recuperación de los pacientes, medida por el incremento del recuento corregido

y el intervalo entre las transfusiones, no se observa una diferencia estadísticamente significativa^{69,70,77-79}. Por el contrario, en un estudio que compara CP-PRP y CP-aféresis, hay una diferencia estadísticamente significativa a favor de este último^{17,80}.

Leucorreducción

La implementación de la leucorreducción universal en un número creciente de países es una decisión importante para mejorar la seguridad de las transfusiones; por lo menos reduce drásticamente la incidencia de HLA inmunización⁸¹ y reacciones adversas en los pacientes^{69,82}. En el caso específico de la comparación de los diferentes CP, debemos evitar todos los estudios con componentes no leucorreducidos, debido al hecho de que no sólo los CP-PRP no leucorreducidos tienen mucho más leucocitos que el CP-BC, sino también los procedimientos de aféresis que son extremadamente heterogéneos en cuanto al contenido inicial de leucocitos.

Soluciones aditivas para plaquetas

Desde los primeros intentos de utilizar soluciones aditivas en las plaquetas, se han realizado muchas mejoras, y aunque la recuperación *in vivo* de las plaquetas se redujo ligeramente, se han encontrado muchas ventajas relacionadas con su uso⁸³. Entre ellos, una reducción significativa de la reacción alérgica en la transfusión^{75,76,84-86}.

La solución aditiva de plaquetas se ha implementado para CP-BC y separadores celulares; por el contrario, no están adaptados al CP-PRP.

En claro, no sólo que el volumen total de plasma en CP-BC es el más bajo por un factor de 2 a 3, sino que el volumen de plasma de donantes por aféresis se reduce por un factor de 7 a 15.

Podemos concluir que la imposibilidad de utilizar las soluciones aditivas para CP-PRP es un argumento adicional para su prohibición, y que el efecto beneficioso esperado para los pacientes por la reducción del volumen de plasma de los donantes individuales es mucho más marcado en el caso de CP-BC.

Reducción de patógenos

En los últimos 10 años se han hecho avances significativos, y en la actualidad hay procesos de reducción de patógenos desarrollados, aprobados para uso y otros en avanzado proceso de comercialización y autorización o en etapa de evaluación clínica.

Uno de los principales intereses de esta técnica es ser proactivo en la prevención de los efectos perjudiciales de la introducción de un nuevo virus o un parásito. Además, añade un nuevo nivel de seguridad para la contaminación bacteriana.

Hasta ahora, la creciente experiencia en el uso a gran escala de reducción de patógenos no revela ninguna reacción o efecto adverso específico, y se espera que su uso en muchos países pueda aumentar en los próximos años.

La aplicación de estas técnicas también elimina la ventaja de CP-aféresis sobre los CPR en términos de seguridad de las transfusiones y la transmisión del virus.

Las reacciones adversas en donantes de sangre

La seguridad para los donantes es otra consideración; el análisis de datos de más de un millón de donaciones revela que 0,38% de las donaciones de sangre total se asocian con reacciones moderadas, frente a 0,12% para los procedimientos de plaquetaféresis; y valores de 0,09% y 0,03% para las reacciones graves, respectivamente⁸⁷. Mientras algunas reacciones, como las relacionadas como la toxicidad por citrato son específicas de aféresis.

Los datos de la literatura sugieren que el riesgo de reacciones que requieren hospitalización es mayor en el caso de la donación por aféresis⁸⁸. Datos similares se han descrito en el sistema de hemovigilancia de donantes en Francia: entre las donaciones de sangre entera 70/millón requieren una consulta médica o una estancia en el hospital, en comparación con las donaciones por aféresis de 107/millón ($P = 0,02$)⁸⁹.

Podemos concluir que en términos de la seguridad del donante, no hay ningún argumento para promover la donación de aféresis.

Costo de los CP-aféresis y CPR

Un hecho interesante es que no hay paralelismo entre el costo real y la política de precios. El costo real de la preparación de concentrados de plaquetas es más importante para CP-aféresis. Sin embargo, puede ser difícil evaluar con exactitud cuál es la magnitud de la diferencia, debido a las variaciones en las metodologías de contabilidad de costos entre las instituciones y/o los países.

Sabemos que, incluso si se estima que no hay ninguna razón para adoptar CP-aféresis como un componente de primera línea, hay una necesidad restante de usar CP-aféresis para mantener un *pool* de donantes HLA tipificados que se puede estimar en 20% de la necesidad total de las plaquetas.

Por otra parte, en la hipótesis de implementar una técnica de reducción de patógenos se podría generar una disminución sustancial en los gastos para la transfusión de plaquetas.

Conclusión

La preparación de los CP ha sido mejorada y estandarizada con varias medidas de calidad. Con la

optimización de los procesos hoy se sabe que los productos finales de *pool*es CP-PRP LR, CP-BC LR o CP-aféresis LR contienen en promedio el mismo número de plaquetas y tienen buena calidad durante el almacenamiento por 7 días.

En los últimos 20 años, muchos cambios ocurrieron en la transfusión de sangre, lo que lleva a reconsiderar las ventajas respectivas de CP-aféresis y CPR.

La definición por la selección de un producto dependerá de la situación local, la disponibilidad de los donantes, el equipo, los recursos, la necesidad de transfusiones coincidentes, la disponibilidad de los grupos sanguíneos y los laboratorios de tipificación HLA, entre otros.

La reducción de la exposición a donantes, durante mucho tiempo ha sido vista como una ventaja principal de las plaquetas obtenidas por aféresis; sin embargo hoy es más difícil sostener esta ventaja debido a la dramática reducción de riesgo de transmisión de virus conocidos.

La contaminación bacteriana es similar en *pool*es de CPA o aféresis. Una desventaja de la aféresis es el coste más alto. En muchas situaciones mantener una mezcla de CPA LR y CP-aféresis LR, es ideal.

El desarrollo de la tecnología de CP-BC es un paso importante en el procesamiento de las plaquetas de la sangre total que ofrece tantas mejoras al método CP-PRP introducidos hace 40 años, que podemos concluir razonablemente que los últimos deben ser prohibidos en los modernos servicios de transfusión de sangre.

Es de destacar que, en la perspectiva de la generalización de las tecnologías de reducción de patógenos, su impacto se limita al riesgo vCJD.

En cuanto a las reacciones adversas en los receptores, todos los datos recientes proporcionados por los estudios dirigidos específicamente y de las redes de hemovigilancia, muestran una ventaja para CP-BC. Por otra parte, en el lado del donante, hay al menos ninguna ventaja para CP-aféresis.

No se consideraron en esta revisión el efecto inmunomodulador de la transfusión de plaquetas, debido a la falta de estudios diseñado específicamente para comparar CPR y CP-aféresis. En este asunto de nuevo, el equilibrio es probablemente entre la exposición a donantes en un lado, y la cantidad de las fracciones de la sangre que pueden jugar un papel, principalmente los leucocitos y el plasma de los donantes individuales.

Por último, mirando los costes de producción no como un simple ejercicio de contabilidad de costes, se hace necesario orientarse hacia estudios de costo-beneficio, considerando los cambios del entorno descrito en esta revisión.

En conclusión, los datos muestran que sí hay una superioridad de CP-aféresis frente al CP-PRP, pero ninguna diferencia se ha encontrado cuando se compara con CP-BC.

En resumen, los CP-BC o por aféresis son comparables en calidad, pero otros factores tales como los ries-

gos de infección, el número de reacciones adversas, la disponibilidad de los donantes, los aspectos de costos, así como las consideraciones éticas, pueden conducir a la elección definitiva del método deseado de recolección de plaquetas para transfusión.

Referencias

1. Holme S, Sweeney JD, Sawyer S, Elfath MD. The expression of p-selectin during collection, processing, and storage of platelet concentrates: relationship to loss of in vivo viability. *Transfusion* 1997;37:12-7.
2. Wal Heaton, Rebulla P, Pappalettera M. A comparative analysis of different methods for routine blood component preparation. *Transfus Med Rev* 1997;11:116-29.
3. Freireich EJ, Kliman A, Gaydos LA, et al. Response to repeated platelet transfusion from the same donor. *Ann Intern Med* 1963;59:277-87.
4. Mourad N. A simple method for obtaining platelet concentrates free of aggregates. *Transfusion* 1968;8:48-7.
5. McCredie KB, Freireich EJ, Hester JP, Vallejos C. Leukocyte transfusion therapy for patients with host-defense failure. *Transplant Proc Sep* 1973;5(3):1285-9.
6. Ts'ao CH, Wirman JA, Ruder EA. Altered in vitro functions of platelets prepared by the haemonetics blood processor. *J Lab Clin Med Aug* 1975;86(2):315-25.
7. Pietersz RN, Reesink HW, Dekker WJ, Fijen FJ. I: preparation of leukocyte-poor platelet concentrates from buffy coats. II. Lack of effect on storage of different plastics. *Vox Sang* 1987;53(4):208-13-7.
8. Murphy S. Platelets from pooled buffy coats: an update. *Transfusion* 2005;45:634-9.
9. Andreu G, Vasse J, Sandidl, Tardivel R, Semana G. Use of random versus apheresis platelet concentrates. *Transfusion Clinique et Biologique* 14 (2007) 514-521
10. Van der Meer PF, Pietersz RNI. Overnight storage of whole blood: a comparison of two designs of butane-1,4-diol cooling plates. *Transfusion* 2007;47:2038-43.
11. Standards for blood banks and transfusion services. AABB. 25th ed.; 2008.
12. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. European directorate for the quality of medicines and healthcare of the council of Europe. 14th ed.; 2008.
13. Kelley DL, Fegan PL, Ng AT, et al. High yield platelet concentrates attainable by continuous improvement reduce platelet transfusion cost and donor exposure. *Transfusion* 1997;37:482-6.
14. Benjamin RJ, Kline L, Dy BA, Kennedy J, Pisciotto P, Sapatnekar S, et al. Bacterial contamination of whole blood-derived platelets: the introduction of sample diversion and prestorage pooling with culture testing in the American Red Cross. *Transfusion* 2008;48:2348-55.
15. Muylle L, Peetermans ME. Effect of prestorage leukocyte removal on the cytokine levels in stored platelet concentrates. *Vox Sang* 1994;66:14-7.
16. Heddle NM, Blajchman MA, Meyer RM, Lipton JH, Walker IR, Sher GD, et al. A randomized controlled trial comparing the frequency of acute reactions to plasma-removed platelets and prestorage WBC- reduced platelets. *Transfusion* 2002;42:556-66.
17. Arnold DM, Heddle NM, Kulczyk M, Carruthers J, Sigouin C, Blajchman MA. In vivo recovery and survival of apheresis and whole blood-derived platelets: a paired comparison in healthy volunteers. *Transfusion* 2006;46:257-64.
18. Sweeney JD, Kouttab NM, Holme S, Kurtis JD, Cheves TA, Nelson EJ. Prestorage pooled whole-blood-derived leukoreduced platelets stored for seven days, preserve acceptable quality and do not show evidence of a mixed lymphocyte reaction. *Transfusion* 2004;44:1212-9.
19. Pietersz RNI, Van der Meer PF, Steneker I, et al. Preparation of leukodepleted platelet concentrates from pooled buffy coats: prestorage filtration with AutostopTM BC. *Vox Sang* 1999;76:231-6.
20. International Forum Reesink HW, Engelfriet CP, editors. What is the optimal storage temperature for whole blood prior to preparation of blood components. *Vox Sang* 1993;65:320-7.
21. For the BEST collaborative, Murphy S. Platelets from pooled buffy coats: an update. *Transfusion* 2005;45:634-9.
22. Larsson S, Sandgren P, Sjödin A, Vesterinen M, Gulliksson H. Automated preparation of platelet concentrates from pooled buffy coats: in vitro studies and experiences with the OrbiSac system. *Transfusion* 2005;45:743-51.
23. Sandgren P, Callaert M, Shanwell A, Gulliksson H. Storage of platelet concentrates from pooled buffy coats made of fresh and overnight-stored whole blood processed on the novel Atreus 2C+ system: in vitro study. *Transfusion* 2008;48:688-96.
24. Fijnheer R, Pietersz RN, De Korte D, Gouwerok CW, Dekker WJ, Reesink HW, et al. Platelet activation during preparation of platelet concentrates: a comparison of the platelet-rich plasma and the buffy coat methods. *Transfusion* 1990;30:634-8.
25. Skripchenko A, Kurtz J, Moroff G, Wagner SJ. Platelet products prepared by different methods of sedimentation undergo platelet activation differently during storage. *Transfusion* 2008;48:1469-77.
26. Levin E, Culibrk B, Gyöngyösy-Issa MIC, Weiss S, Scammell K, LeFresne W, et al. Implementation of buffy coat platelet component production: comparison to platelet-rich plasma platelet production. *Transfusion* 2008;48:2331-7.
27. Bueno JL, García F, Castro E, Barea L, González R. A randomized crossover trial comparing three plateletpheresis machines. *Transfusion* 2005;45:1373-81.
28. Hagberg IA, Akkø CA, Lyberg T, Kjeldsen-Kragh J. Apheresis-induced platelet activation: comparison of three types of cell separators. *Transfusion* 2000;40:182-92.
29. Holme S, Andres M, Goermar N, Giordano GF. Improved removal of white cells with minimal platelet loss by filtration of apheresis platelets during collection. *Transfusion* 1999;39:74-82.
30. International Forum Pietersz RN, Engelfriet CP, Reesink HW, editors. Evaluation of stored platelets. *Vox Sang* 2004;86:203-22.
31. Dijkstra-Tiekstra MJ, Kuipers W, Setroikromo AC, de Wildt-Eggen J. Platelet capacity of various platelet pooling systems for buffy coat-derived platelet concentrates. *Transfusion* 2008;48:2114-21.
32. Dijkstra-Tiekstra MJ, Pietersz RNI, Hendriks EC, Reesink HW, Huijgens PC. In vivo PLT increments after transfusions of WBC-reduced PLT concentrates stored for up to 7 days. *Transfusion* 2004;44:330-6.
33. Dumont LJ, Aubuchon JP, Whitley P, et al. Seven-day storage of single-donor platelets: recovery and survival in an autologous transfusion study. *Transfusion* 2002;42:847-54.
34. Cid J, Lozano M. Lower or higher doses for prophylactic platelet transfusions: results of a meta-analysis of randomized controlled trials. *Transfusion* 2007;47:464-70.
35. Heddle NM, Arnold DM, Boye D, Webert KE, Resz I, Dumont LJ. Comparing the efficacy and safety of apheresis and whole blood-derived platelet transfusions: a systematic review. *Transfusion* 2008;48:1447-58.
36. Fijnheer R, Piterez R, Dekker W, et al. Platelet activation during preparation of platelet concentrates. *Transfusion* 1990;30:219-30.
37. Herry M, Rinder A, et al. Platelet activation and its detection during the preparation of platelet for transfusion. *Transfus Med Rev* 1998;2:271-88.
38. Jerad S, Prane K. The platelet storage lesions. *Transfus Med Rev* 1997;11(2):130-44.
39. Sloand EM, Yu M, Klein HG. Comparison of random-donor platelet concentrates prepared from whole blood units and platelets

- prepared from single-donor apheresis collections. *Transfusion* 1996;36:955–9
40. Turner VS, Hawker RJ, Mitchell SG, Symour Mead AM. Paired in vivo and in vitro comparison of apheresis and "recovered" platelet concentrates stored for 5 days. *J Clin Apheresis* 1994;9:189–94.
 41. Gulliksson H, Larsson S, Kumlien G, Shanwell A. Storage of platelets in additive solutions: effects of phosphate. *Vox Sang* 2000;78:176–84.
 42. Krailadsiri P, Seghatchian J. Are all leucodepleted platelet concentrates equivalent? Comparison of Cobe LRS Turbo, Haemonetics MCS+ LD, and filtered pooled buffy-coat-derived platelets. *Vox Sang* 2000;78:171–5.
 43. Li J, de Korte D, Woolum MD, Ruane PH, Keil SD, Lockerbie O, et al. Pathogen reduction of buffy coat platelet concentrates using riboflavin and light: comparisons with pathogen-reduction technology-treated apheresis platelet products. *Vox Sang* 2004;87:82–90.
 44. Böck M, Rahrig S, Kunz D, Lutze G, Heim MU. Platelet concentrates derived from buffy coat and apheresis: biochemical and functional differences. *Transfus Med* 2002;12:317–24.
 45. SoleimanyFerizhandy A. Platelet activation of platelet concentrates derived from buffy coat and apheresis methods *Transfusion and Apheresis Science* 44 (2011) 11–13
 46. Albanyan AM, Murphy MF, Rasmussen JT, Heegaard CW, Harrison P. Measurement of phosphatidylserine exposure during storage of platelet concentrates using the novel probe lactadherin: a comparison study with annexin V. *Transfusion* 2009;49:99–107.
 47. Inger A, Hagberg T, Lyber F. Blood platelet activation evaluated by flow cytometry. *Platelets* 2000;11:137–50.
 48. Snyder EL, Hezzy A, et al. Occurrence of the release reaction during preparation and storage of platelet concentrates. *Vox Sang* 1988;40:115–9.
 49. Jonatan F, Christina S, Wood Brent L. Measurement of phosphatidylserine exposure in leukocytes and platelet by flow cytometry with annexin V. *Blood Cells Mol Dis* 1999;25:271–8.
 50. Vamvakas EC. Relative safety of pooled whole blood-derived versus single-donor (apheresis) platelets in the United States: a systematic review of disparate risks. *Transfusion* 2009;49:2743–58.
 51. Pillonel J, Le Marrec N, Girault A, David D, Laperche S. Epidemiological surveillance of blood donors and residual risk of blood-borne infections in France, 2001 to 2003. *TransfusClinBiol* Jul 2005;12(3):239–46
 52. Llewelyn CA, Hewitt PA, Knight RSG, Amar K, Cousens S, Mackenzie J, et al. Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion. *Lancet* 2004;363:417–21.
 53. Alperovitch A, Barin F, Bégaud B, Béloucif S, Billelte de Villemeur T, Brown P, et al. Analyse du risque de transmission de la nouvelle variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob par le sang et ses dérivés. *Recommandations, Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé*, 11 décembre 2000.
 54. Brown P, Rohwer RG, Dunstan BC, MacAuley C, Gajdusek DC, Drohan WN. The distribution of infectivity in blood components and plasma derivatives in experimental models of transmissible spongiform encephalopathy. *Transfusion* 1998;38:810–6.
 55. Rebibo D, Hauser L, Zorzi P, Legras JF, Afssaps, Slimani A, et al. International forum: hemovigilance. *Vox sang* 2006;90(3):207–41.
 56. Högman CF, Gong J, Eriksson L, Hambræus A, Johansson CS. White cells protect donor blood against bacterial contamination. *Transfusion* Sep 1991;31(7):620–6.
 57. Blajchman MA, Goldman M, Baeza F. Improving the bacteriological safety of platelet transfusions. *Transfus Med Rev* 2004;18:11–24.
 58. McDonald CP, Roy A, Mahajan P, et al. Relative values of the interventions of diversion and improved donor-arm disinfection to reduce the bacterial risk from blood transfusion. *Vox Sang* 2004;86:178–82.
 59. De Korte D, Curvers J, De Kort WLAM, Hoekstra T, van der Poel CL, Beckers EA, et al. Effects of skin disinfection method, deviation bag, and bacterial screening on clinical safety of platelet transfusions in the Netherlands. *Transfusion* 2006;46:476–85.
 60. Schrezenmeier H, Walther-Wenke G, Müller TH, Weinauer F, Younis A, Holland-Letz T, et al. Bacterial contamination of platelet concentrates: results of a prospective multicenter study comparing pooled whole blood-derived platelets and apheresis platelets. *Transfusion* 2007;47:644–52.
 61. Ness PM, Campbell-Lee SA. Single donor versus pooled random donor platelet concentrates. *Curr Opin Hematol* 2001;8:392–6.
 62. Ness P, Braine H, King K, et al. Single-donor platelets reduce the risk of septic platelet transfusion reactions. *Transfusion* 2001;41:857–61.
 63. Eernisse JG, Brand A. Prevention of platelet refractoriness due to HLA antibodies by administration of leukocyte-poor blood components. *Exp Hematol* Jan 1981;9(1):77–83.
 64. Andreu G, Dewailly J, Leberre C, Quarre MC, Binet ML, Tardivel R, et al. Prevention of HLA immunization with leukocyte-poor packed red cells and platelet concentrates obtained by filtration. *Blood* 1988;72(3):964–9.
 65. The Trial to Reduce Alloimmunization to Platelets Study Group. Leukocyte reduction and ultraviolet B irradiation of platelets to prevent alloimmunization and refractoriness to platelet transfusions. *N Engl J Med* 1997;337:1861–9.
 66. Pietersz RN, de Korte D, Reesink HW, et al. Preparation of leukocyte-poor platelet concentrates from buffy-coats. III. Effect of leukocyte contamination on storage conditions. *Vox Sang* 1988;55:14–20.
 67. Bertolini F, Rebulla P, Porretti L, Murphy S. Platelet quality after 15 day storage of platelet concentrates prepared from buffy coats and stored in a glucose-free crystalloid medium. *Transfusion* 1992;32:9–16.
 68. Keegan T, Heaton A, Holme S, et al. Paired comparison of platelet concentrates prepared from platelet-rich plasma and buffy coats using a new technique with ¹¹¹In and ⁵¹Cr. *Transfusion* 1992;32:113–20.
 69. Anderson NA, Gray S, Copplestone JA, et al. A prospective randomized study of three types of platelet concentrates in patients with haematological malignancy: corrected platelet increments and frequency of non haemolytic febrile transfusion reactions. *Transfus Med* 1997;7:33–9.
 70. Akkøk CA, Brinch L, Lauritzsen GF, Solheim BG, Kjeldsen-Kragh J. Clinical effect of buffy-coat vs. apheresis platelet concentrates in patients with severe thrombocytopenia after intensive chemotherapy. *Vox Sang* 2007;93:42–8.
 71. Mitchell SG, Turner VS, Hawker RJ, Mead AM. A comparative study in volunteers of apheresis and buffy coat derived platelets. *Platelets* 1995;6:146–51.
 72. Muylle L, Wouters E, Peetermans ME. Febrile reactions to platelet transfusion: the effect of increased interleukin 6 levels in concentrates prepared by the platelet-rich plasma method. *Transfusion* 1996;36(10):886–90.
 73. Oksanen K, Ebeling F, Kekomaki R, Elonen E, Sahlstedt L, Volin L, et al. Adverse reactions to platelet transfusions are reduced by use of platelet concentrates derived from buffy coat. *Vox Sang* 1994;67:356–61.
 74. Chaudhary R, Aggarwal A, Khetan D, Dayal R. Cytokine generation in stored platelet concentrate: comparison of two methods of preparation. *Indian J Med Res* 2006;124:427–30.
 75. Andreu G, Vasse J, Herve F, Tardivel R, Semana G. Introduction of platelet additive solutions in transfusion practice. Advantages, disadvantages and benefit for patients. *TransfusClinBiol* 2007;14:100–6.
 76. Rebibo D, Simonet M, Slimani A. Étude nationale sur les effets indésirables chez les receveurs liés aux concentrés de plaquettes avec et sans solution de conservation. *Transfus Clin Biol* 2007;14:213–4.
 77. Strindberg J, Berlin G. Transfusion of platelet concentrates – clinical evaluation of two preparations. *Eur J Haematol* 1996;57:307–11.

78. Ericksson L, Kristensen J, Olsson K, et al. Evaluation of platelet function using the in vitro bleeding time and corrected count increment of transfused platelets. Comparison between platelet concentrates derived from pooled buffy coats and apheresis. *Vox Sang* 1996;70:69–75.
79. Vasse J, Tardivel R, Gaucheron S, Andreu G, Semana G. Surveillance study of the transfusion efficiency after transfusions of apheresis platelet concentrates and pooled platelet concentrates. ISBT regional meeting, Madrid, July 7, 2007.
80. Gurkan E, Patah PA, Saliba RM, Ramos CA, Anderson BS, Champlin R, et al. Efficacy of prophylactic transfusions using single donor apheresis platelets versus pooled platelet concentrates in AML/MDS patients receiving allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2007;1–4.
81. Andreu G, Dewailly J. Prevention of HLA alloimmunization by using leukocyte-depleted components. *Curr Stud Hematol Blood Transfus* 1994;29–40.
82. Enright H, Davis K, Gernsheimer T, McCullough JJ, Woodson R, Slichter SJ. Factors influencing moderate to severe reactions to PLT transfusions: experience of the TRAP multicenter clinical trial. *Transfusion* 2003;43:1545–52.
83. Gulliksson H, AuBuchon JP, Cardigan R, et al. Storage of platelets in additive solutions: a multicentre study of the in vitro effects of potassium and magnesium. *Vox Sang* 2003;85:199–205.
84. Kerkhoffs JL, Eikenboom JC, Schipperus MS, van Wordragen-Vlaswinkel RJ, Brand R, Harvey MS, et al. A multicenter randomized study of the efficacy of transfusions with platelets stored in platelet additive solution II versus plasma. *Blood* 2006;108:3210–5.
85. de Wildt-Eggen J, Nauta S, Schrijver JG, van MarwijkKooy M, Bins M, van Prooijen HC. Reactions and platelets increments after transfusion of platelet concentrates in plasma or an additive solution: a prospective, randomised study. *Transfusion* 2000;40:398–403.
86. Snyder E, McCullough J, Slichter SJ, Strauss RG, Lopez-Plaza I, Lin JS, et al. Clinical safety of platelets photochemically treated with amotosalenHCl and ultraviolet A light for pathogen inactivation: the SPRINT trial. *Transfusion* 2005;45:1864–75.
87. Wiltbank TB, Giordano GF. The safety profile of automated collections: an analysis of more than 1 million collections. *Transfusion* 2007;47:1002–5.
88. Winters JL. Complications of donor apheresis. *J Clin Apheresis* Jul 2006;21(2):132–41.
89. Rebibo D, Hauser L, Simonet M, Slimani A. Hémo-vigilancedonneur : aspects nationaux et internationaux. *TransfusClinBiol* 2007;14:173.