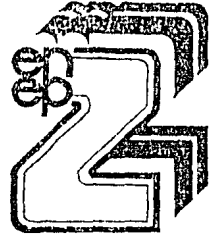




UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO
ENEP - ZARAGOZA



"DESLEUCOCITACION DE LOS PAQUETES GLOBULARES
CON UNO A DIEZ DIAS DE ANTIGÜEDAD DE
ALMACENAMIENTO"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
MARIA GUADALUPE GONZALEZ LABRA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

1.-	INTRODUCCION	1
	Fundamentación del tema	5
	Objetivos	7
	Hipótesis de Trabajo	8
2.-	GENERALIDADES	9
	Leucocitos	10
	Eritrocitos	15
	Antígenos de Histocompatibilidad	18
	Antígenos leucocitarios	20
	Precauciones para obtención sanguínea	24
	Sedimentación de la Sangre	26
3.-	MATERIAL Y METODOS	28
	Lavado de los Paquetes Globulares	30
	Cuenta de Leucocitos	33
	Técnica de Linfocitotoxicidad	36
4.-	ESTUDIOS EFECTUADOS	41
5.-	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	55
6.-	CONCLUSIONES	60
7.-	BIBLIOGRAFIA	61

INTRODUCCION.

Las reacciones febriles postransfusionales, hechos desfavorables en la terapia transfusional ocasionan:

- 1) Síntomas indeseables en el paciente y
- 2) El desperdicio de la sangre que causó estas reacciones.

Los pacientes multitransfundidos o las mujeres multigestas se sensibilizan con gran frecuencia debido a -- la presencia de leucocitos en las unidades de sangre --- transfundidas o al paso de estos, durante el parto respectivamente.

Por lo que en respuesta a este estímulo, producen - aloanticuerpos principalmente contra los determinantes - antigénicos del Sistema HLA que son comunes a neutrófilos, linfocitos y todas las células de la serie leucocitaria.

En los bancos de sangre modernos la presentación - habitual de los eritrocitos de la sangre son los concentrados de glóbulos rojos, también llamados paquetes globulares, los cuales contienen casi el cien por ciento de los leucocitos originales presentes en la sangre total - debido a los métodos de obtención.

Se han publicado varios trabajos acerca de la eliminación de los leucocitos -o desleucocitación- de los paquetes globulares; con la finalidad de evitar las reacciones febriles postransfusionales(1).

Desde 1960 (2 y 3), se conoce que la peligrosidad de estas reacciones puede reducirse por diversos métodos mediante la eliminación máxima de los leucocitos de los paquetes globulares destinados a la transfusión como son:

- 1.- Centrifugación invertida de los paquetes globulares y eliminación de la "nata de leucocitos".
- 2.- Centrifugación vertical de los paquetes globulares y eliminación de la "nata de leucocitos".
- 3.- Sedimentación con Dextran y eliminación de la "nata de leucocitos".
- 4.- Sedimentación con Hidroxi-etil-almondon y eliminación de la "nata de leucocitos".
- 5.- Congelación de los eritrocitos glicerados.
- 6.- Filtración del paquete globular, con filtros de malla de 20 micras de poro.
- 7.- Combinación de centrifugación invertida y filtración del paquete globular, con filtros de malla de 20 micras de poro.
- 8.- Otros métodos más sofisticados.

Por análisis estadístico, se observó que los mejores métodos para la eliminación de la "nata de leucocitos" fueron aquellos en los que se utilizaron los filtros de malla de 20 micras de poro, los cuales retienen la mayor parte de los microagregados de células que no son eritrocitos y que en un momento dado pueden sensibilizar al paciente que se esta transfundiendo(4).

Se ha reportado que cuando se combinan la centrifugación invertida y la filtración la efectividad puede aumentar hasta un 95% de desleucocitación de los paquetes globulares. Los demás métodos pueden proporcionar entre un 60 y 80 % de efectividad (5).

Por otro lado, se consideró necesario determinar la cantidad de leucocitos que contienen normalmente un paquete globular para saber de este modo si esta cantidad es suficiente para sensibilizar a un paciente, a partir de esta idea se afirma que la cifra no debe rebasar ---- 0.5×10^9 leucocitos por paquete (6).

Barret et. al. (7) reportaron que en la sangre refrigerada se forman espontánea y progresivamente microagregados que van relacionados directamente con el tiempo de almacenamiento de las sangres y que alcanzan su máximo entre los 5 y 9 días de almacenamiento y que debido a esto es más fácil eliminar los leucocitos de los paquetes globulares ya que están formados por leucocitos, --- plaquetas y fibrina.

Estos microagregados pueden retirarse de la sangre con el empleo de filtros especiales que actualmente se fabrican en gran escala en países industrializados.

El presente trabajo tiene el propósito de distinguir con que método, aplicando los recursos del Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional del IMSS, pueden -- obtenerse paquetes liberados de la mayor cantidad de leucocitos.

Los paquetes desprovistos de leucocitos con dos técnicas empleadas, serán valoradas desde el punto de vista del estímulo que pueden significar para los pacientes -- transfundidos, la formación de anticuerpos, y/o reacciones clínicas observables.

De manera que si las técnicas que van a ser empleadas retiran cantidades substanciales de leucocitos de la sangre por transfundir, la formación o el título de anticuerpos y/o las reacciones postransfusionales clínicamente observables deben abatirse.

FUNDAMENTACION DEL TEMA.

Es bien conocido que las reacciones febriles transfusionales son secundarias, en su mayoría, a la presencia de anticuerpos antileucocitos en la sangre del receptor, éstos dan lugar a la fiebre al reaccionar con los leucocitos de la sangre transfundida.

Los anticuerpos antileucocitos se observan con mayor frecuencia en las mujeres que han recibido transfusiones de sangre repetidas. En la actualidad la transfusión específica de leucocitos es un recurso útil para algunos pacientes. Los leucocitos se seleccionan mediante pruebas de compatibilidad, esto es, se prueba el suero del paciente contra los leucocitos del donador para comprobar que no tienen anticuerpos específicos contra estas células. Por lo tanto cuando hay reacciones transfusionales febriles (incluso muy severas que llegan a la insuficiencia respiratoria), es indispensable seleccionar sangre sin leucocitos para el caso de una transfusión en la que sólo se desean los glóbulos rojos.

Como la inmensa mayoría de las transfusiones de sangre se indican para mejorar un número de eritrocitos del paciente en la actualidad se ha considerado más práctico liberar a los eritrocitos de los leucocitos antes de su transfusión logrando así prevenir la sensibilización del paciente o evitarle reacciones postransfusionales. Esto tiene además la ventaja de un costo mucho

más bajo que la selección de pruebas de compatibilidad o por clasificación del fenotipo leucocitario. Existen varios trabajos sobre la eficiencia de métodos para separar leucocitos de la sangre, conviene comprobar sus resultados, en particular, para determinar los días críticos en los cuales las sangres por transfundir pueden ser liberadas de la mayor proporción de leucocitos. En este trabajo se pretende determinar esta característica.

OBJETIVOS.

- 1.- Determinar el día o días de almacenamiento de la sangre después de extraída, durante los cuales es más eficaz la separación de los leucocitos.
- 2.- Realizar la cuenta de leucocitos antes y después de aplicar el procedimiento de separación de estos por distintos métodos.

HIPOTESIS DE TRABAJO.

Los agregados de leucocitos que se forman durante el almacenamiento de la sangre aumentan en relacion -- directa con los días, hasta un lapso límite después -- del cual se desagregan o probablemente se lisan . Es factible determinar los días en que estos agregados están en número óptimo para favorecer una separación más eficaz de los leucocitos.

GENERALIDADES

La sangre se ajusta a la definición de tejido en vista de que es un conjunto de células similares especializadas en el desempeño de ciertas funciones. La facilidad para su obtención ha permitido conocer las relaciones de la célula con su medio ambiente.

Aunque la sangre al fluir de una herida, aparece como un líquido llamado plasma en el cual se encuentran suspendidos los elementos formes: glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas. Estas últimas son pequeños fragmentos celulares, necesarios para desencadenar el proceso de la coagulación, se derivan de los megacariocitos de la médula ósea. Los glóbulos blancos sanguíneos o leucocitos son de forma ---irregular e incoloros. Pueden moverse dentro del plasma. Hay aproximadamente 7,000 glóbulos blancos por milímetro de sangre. Han sido llamados los guardianes del cuerpo. Estos glóbulos blancos o leucocitos se dividen en cinco variantes.

Tres series de células con granulaciones y dos llamadas agranulocitos. Estos se diferencian en un frotis de sangre teñidas con el colorante de Wright o de Giemsa.

El colorante que se emplea en esta técnica se llama policromático porque produce varios colores. Es una solución de alcohol metílico de un colorante ácido y otro básico, que tiñe los gránulos de las células granulocíticas y es uno de los mejores y más empleados para teñir frotis en hematología (14).

LEUCOCITOS GRANULOCITOS:

- a) Los granulocitos neutrófilos cuyas granulaciones específicas se tiñen de color violeta con el colorante de Wright o Giemsa.
- b) Los granulocitos eosinófilos poseen granulaciones gruesas que se tiñen de color rojo y
- c) Los granulocitos basófilos se caracterizan por la presencia de granulaciones grandes de color azul oscuro.

Aún cuando estas tres variedades de granulocitos comparten un precursor común, la fisiología de las células diferenciadas es totalmente distinta.

Neutrófilos: Tienen un diámetro medio de 12 micras son mayores que los basófilos, y menores que los monocitos y eosinófilos. Su núcleo se tiñe intensamente, es irregular y adquiere a menudo formas que pueden comparar con las letras E, Z y S. Con frecuencia parece haber varios núcleos separados, y de ahí su denominación de leucocitos polimorfonucleares. Un neutrófilo segmentado o maduro presenta sus lóbulos separados por un filamento. El número de lóbulos en los neutrófilos normales es de una media de (3). Los lóbulos nucleares presentan bloques toscos de cromatina con espacios paracromáticos muy bien definidos. El citoplasma por si mismo esta lleno de finas granulaciones (0.2 a 0.3 micras) que se tiñen de color rosa con el colorante de Wright. Alrededor de los tercios de estas son gránulos azurófilos; la intensidad de coloración de estos últimos es menor que la de la célula inmadura.

Funciones: Los neutrófilos responden al estímulo quimiotáctico atravesando las paredes capilares y dirigiéndose hacia el foco inflamatorio, donde se ponen en contacto con las partículas extrañas a las cuales fijan y engloban en vacuolas fagocíticas.

Los granulocitos neutrófilos son las células con capacidad fagocítica más importante. Los monocitos son claramente menos activos en fagocitosis. Los eosinófilos también pueden fagocitar algunas sustancias, pero su papel en la remoción de agentes bacterianos es pobre; la estructura de estas células se parece a la de los neutrófilos polimorfonucleares, pero con la singular diferencia de que los gránulos son más grandes, redondos y ovalados y con gran afinidad por los colorantes ácidos. Se identifican fácilmente por el tamaño y color de los gránulos que toman un color rojo brillante con un colorante que tenga Eosina. Su citoplasma es incoloro presenta un tono débilmente azul celeste. El núcleo se tiñe algo menos intenso que el de los neutrófilos polimorfonucleares, y suele tener dos segmentos conectados, rara vez más de tres. El diámetro de los eosinófilos es de 13 micras.

Funciones: Los eosinófilos son menos conocidos en su funcionamiento que los neutrófilos. Los eosinófilos contienen alrededor de un tercio de histamina de la sangre. Son capaces de moverse y de fagocitar, aunque menos activamente que los neutrófilos. Los gránulos eliminan su contenido en las vacuolas fagocíticas. Los eosinófilos actúan habitualmente junto con las células plasmáticas, en las fases tardías de la in-

flamación. Son atraídos a los complejos antígeno-anticuerpo, a los que ingieren.

Los basófilos en general se parecen a los -- neutrófilos polimorfonucleares, pero su núcleo es menos irregular, los gránulos son mayores y con gran afinidad por los colorantes básicos. Se identifican fácilmente. En algunos basófilos faltan la mayoría de los gránulos por ser estos muy solubles en agua, dejando aberturas bien definidas en el citoplasma. En un frotis bien preparado con el colorante de Wright, los gránulos son de color púrpura oscuro, mientras -- que el núcleo se ve algo más pálido y a menudo está parcialmente oculto por la gránulaciones, por lo que resulta difícil distinguir su forma.

Funciones: En contraste con otros granulocitos, las granulaciones basófilas no son lisosomas.

A pesar de su pequeño número, los basófilos son portadores de alrededor de una mitad de la histamina de la sangre. Los basófilos reaccionan en los estados alérgicos especialmente en los de atopía.

Los linfocitos son pequeñas células mononucleares sin gránulos citoplasmáticos específicos. Vienen a ser -- del tamaño de un eritrocito o algo mayores (6 a 10 micras), pero su diámetro depende mucho del espesor de la extensión pues es muy grande en las delgadas, donde los leucocitos están muy aplanados. El linfocito típico tiene un sólo núcleo definido que contienen bloques grandes de cromatina, esta se tiñe de --

azul oscuro con el colorante de Wright, mientras que la paracromatina se distingue como unas rayas de un tono más claro; en la periferia del núcleo, la cromatina esta condensada. El citoplasma se tiñe de azul. El rasgo característico del núcleo consiste en una transición gradual entre la cromatina y la paracromatina, de modo que es prácticamente imposible distinguir donde termina aquella y donde comienza ésta. El núcleo suele ser redondo, pero a veces presenta una escotadura en un lado (9 y 10).

No son una población homogénea y en base a la existencia de marcadores específicos de la membrana es posible distinguir linfocitos T, B o nulos. Los linfocitos T o influenciados por el timo y sus descendientes actúan sobre la inmunidad mediada por células, que incluye la hipersensibilidad retardada, el rechazo de injerto, las reacciones injerto-huesped, la defensa contra microorganismos intracélulares.

De acuerdo con los conceptos actuales (Craddock y cols 1971), durante la vida fetal, el precursor de los linfocitos se origina en la médula ósea y se orienta o programan para desempeñar una función determinada en algunos de los órganos linfoides primarios, sea el timo o "la bolsa o saco equivalente" (un órgano característico, la bolsa de Fabricio se observa en las aves): se supone que en el hombre y otros mamíferos-- existe una bolsa equivalente, cuya situación se desconoce.

Los últimos períodos de la vida fetal y en la vida postnatal los linfocitos se producen en el tejido linfoide; bazo, ganglios linfáticos y tejido linfoide intestinal. Las células B y T tienden a localizarse en partes anatómicamente distintas del tejido linfoide, donde tienen lugar la proliferación. En la sangre las células B y T comprenden la mayor parte de los linfocitos circulantes, pero no pueden distinguirse por su tamaño o por la tinción de Wright; se requieren técnicas especiales. La mayoría de los linfocitos circulantes son células T que tienen una vida media de meses o años. Las células B constituyen una población menor (10 a 30% de los linfocitos). Tienen una vida más corta, de días o semanas, y se distinguen por la presencia de considerables cantidades de inmunoglobulinas sobre su membrana superficial.

Los linfocitos B y los linfocitos T pueden dividirse en varias subclases, los linfocitos B pueden clasificarse de acuerdo a las diferentes clases de Ig que se producen por la progenie de estas células cuando se estimulan adecuadamente. Los linfocitos T pueden diferenciarse por su reactividad con el anticuerpo Antily 10 y por sus diferentes habilidades; así como los linfocitos TH coadyuvan con los linfocitos B para producir IgG, los T_D participan en la hipersensibilidad retardada. Los T_K destruyen glóbulos blancos específicamente al ponerse en contacto con ellos, y los T_s células supresoras, suprimen la respuesta de otros linfocitos, mientras los T_f ejercen potentes efectos inhibitorios-

de retroalimentación al activar las células Ts, de tal manera que estas dos últimas variantes modulan en la respuesta inmune (11).

Los monocitos son las células motores de la sangre normal su diámetro viene a ser de dos a tres veces mayor que el de un eritrocito (de 14 a 20 micras), aunque se encuentran algunos más pequeños contienen un sólo núcleo lóbulado, profundamente mellado en forma de herradura y en ocasiones redondo y ovalado. El citoplasma es abundante. Con el colorante de Wright el rasgo distintivo del núcleo es que presenta la cromatina en forma de cordones.

El monocito se forma en la médula ósea, se transporta por la sangre y emigra a los tejidos en que funciona como macrofago.

Cuando el monocito se convierte en un macrofago se vuelve mayor (de 20 a 40 micras); el núcleo puede volverse ovalado y la cromatina más reticular o dispersa, por lo que pueden ser visibles los nucleolos. Es posible que se demuestre una zona clara perinuclear (Golgi).

GLOBULOS ROJOS:

Los glóbulos rojos o eritrocitos son discos biconcavos, de 7 a 8 micras de diámetro y de 1 a 2 de grosor. A diferencia de la mayor parte de las células, los eritrocitos de los mamíferos no tienen núcleo. Su estructura elástica interna a la vez que conserva la forma discoidal, permite que esta célula cambie de forma. Los eritrocitos

se destruyen y se renuevan incesantemente, de modo que su número permanece constante; se originan en la médula ósea-roja, ubicada en el hueso central de algunos huesos.

La médula ósea roja consiste en una red de tejido conectivo en innumerables vasos sanguíneos de pequeño diámetro de cuyo revestimiento se desarrollan los glóbulos rojos. Es evidente que la división celular normal únicamente es posible en una célula nucleada, de modo que los precursores de los eritrocitos en la médula ósea son todavía células sin especialización, nucleadas, carentes de hemoglobina y sin la adopción a la forma discoidal biconcava (8).

Con respecto de los grupos sanguíneos de las células de la sangre se sabe que los antígenos eritrocitarios del sistema ABO puede darnos 10 genotipos a partir de 4 fenotipos: A_1 , A_2 , B y O.

El sistema Rh-hr a partir de la combinación de 18 fenotipos nos dan 36 genotipos. En cambio los 4,500 fenotipos del sistema de Antígenos Leucocitarios Humanos nos dan cerca de 10,000 genotipos (Cepellini Van Rood 1978).

La enorme cantidad de fenotipos existentes de los antígenos HLA leucocitarios hacen de estas células el más potente inmunógeno de los antígenos sanguíneos: en orden decreciente están considerados las plaquetas, los eritrocitos, los leucocitos y finalmente las proteínas plasmáticas.

Por lo que el empleo de la terapéutica con componentes de la sangre correctamente preparados y de transfusiones especiales, no solamente brinda al enfermo un mejor tratamiento sino que evita hasta donde es posible el peligro de aloinmunización y/o reacción transfusional, permitiendo muchas veces un considerable ahorro de sangre.

Por ejemplo, cuando los pacientes requieren fracciones especiales como:

- 1.- Plasma Fresco.
- 2.- Plasma Fresco Libre de Globulina Antihemofílica.
- 3.- Paquete Globular Eritrocitario Desleucocitado.
- 4.- Concentrado Plaquetario.
- 5.- Concentrado Leucocitario.

En algunos casos de pacientes multitransfundidos o mujeres multigestas, la transfusión de glóbulos rojos pobres de leucocitos elimina por completo el peligro de anticuerpos contra estos. Se utiliza este producto cuando existe el peligro de que anticuerpos contra leucocitos administrados produzcan una reacción transfusional que puede dar como resultado desde fiebre hasta shock anafiláctico.

Los problemas que se presentan después de la transfusiones son secundarias e reacciones inmunológicas entre aloanticuerpos transfundidos en este caso leucocitos y los aloanticuerpos del receptor o anticuerpos adquiridos por cau

sa de transfusiones sanguíneas previas. Estas son las llamadas reacciones febriles no hemolíticas.

Los anticuerpos del receptor son dirigidos - contra los anticuerpos del sistema HLA; estos antígenos se presentan en los leucocitos (granulocitos y linfocitos) y en las plaquetas, así como también en todas las células nucleadas del cuerpo. Una pequeña cantidad de antígeno HLA se presenta en el plasma y, posiblemente en los glóbulos rojos-circulantes, sin embargo, estos representarían una mínima - cantidad comparada con la de los pacientes que reciben transfusiones con los leucocitos que restan en los paquetes globulares, es trascendente particularmente para los enfermos - que reciben transfusiones y en especial para los candidatos - a transplantes de órganos.

ANTIGENOS DE HISTOCOMPATIBILIDAD.

En el humano, como en los demás mamíferos estudiados hasta la fecha, hay una región cromosómica que contiene genes importantes fundamentalmente para las respuestas inmunitarias. Estos genes incluyen entre otros: los genes de histocompatibilidad HLA situados en el cromosoma número 6. Este cromosoma contiene también los genes para algunos de -- los componentes del sistema del complemento. En los estudios iniciales (Dausset 1957) los productos de los genes HLA fueron primero definidos por reacciones de anticuerpos con leucocitos y la terminología debía significar H, Humanos; L. Leu- cocitos: A, primera región definida para los antígenos de los

leucocitos humanos.

Hay 5 genes íntimamente eslabonados en esta región cromosómica que han sido designados oficialmente como genes HLA: HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-D, y HLA-DR.

Los productos de los genes HLA varían de un individuo a otro y son los determinantes primarios mediante los cuales los injertos extraños son reconocidos y rechazados. Los antígenos HLA-A y HLA-B han sido localizados sobre la mayor parte de las células del cuerpo. Estos antígenos se encuentran presente sobre riñón, hígado y células de la piel, entre otros tejidos. En la sangre los antígenos HLA-A y HLA-B pueden ser identificados sobre los granulocitos, linfocitos y plaquetas. Se encuentran presentes sobre los eritrocitos adultos en cantidades residuales solamente y en ocasiones no existen en estas células. Su ausencia sobre los eritrocitos podría relacionarse con el hecho de que los antígenos HLA se pierden constantemente y están siendo renovados por las células nucleadas lo que es un proceso imposible para los eritrocitos maduros sin núcleo. Sin embargo, los antígenos HLA se pueden demostrar sobre los reticulocitos. Hay evidencia de que los antígenos HLA sobre los eritrocitos han sido demostrados previamente como antígenos B_g (correlacionándose B_b^a con B_7 ; B_g^b con B_{17} y B_g^c con A 28). Los antígenos HLA se hallan también en bajas concentraciones en plasma y orina.

Los antígenos HLA tienen movilidad libre en la membrana celular, cuando son expuestos a anticuerpos marcados

con fluoresceína, se observa que los antígenos se aglutinan coalescen en casquete en un extremo de la célula y luego desaparecen. Este fenómeno de la formación de casquete ha constituido una útil herramienta para probar que los productos de diferentes genes HLA se hallan sobre moléculas independientes por lo que los antígenos de los loci HLA-A, HLA-B y HLA-C forman casquetes independientes.

Los antígenos HLA son glucoproteínas, ha sido solubilizadas de la membrana celular por detergente, enzimas proteolíticas y concentraciones elevadas de cloruro de sodio y cloruro de potasio.

Los antígenos HLA-A y HLA-B solubilizados por detergentes están compuestos de 2 subunidades: una glucoproteína, que contiene las especificidades antigénicas y un polipéptido. Este polipéptido es una B₂ microglobulina que esta determinada por un gen ubicado sobre el cromosoma 15. Se ha obtenido la secuencia parcial de los aminoácidos de la glucoproteína HLA. Se ha sugerido que la molécula de HLA se extiende sobre membrana celular, siendo anclada por una región hidrofóbica con la porción mayor de la molécula y su B₂ microglobulina insertada extendiéndose fuera de la membrana celular (14).

LOS ANTIGENOS LEUCOCITARIOS.

Los hematólogos observaron que algunos pacientes politransfundidos con sangre total sufrían reacciones febriles intensas después de la transfusión, a pesar de que -

sus pruebas de compatibilidad eran perfectas. Como no tenían evidencias de hemólisis anormal, se pensó que la reacción febril era causada por un conflicto de anticuerpos en el paciente contra los leucocitos de la sangre del donante. Al mejorar las técnicas de su investigación, en especial con materiales de vidrio, pudo comprobarse la existencia de anticuerpos citotóxicos detectados con técnicas de consumo de antiglobulina.

Los pediatras observaron por otro lado, que algunas mujeres multíparas tenían hijos con bajas cifras de granulocitos y pudo demostrarse en esos casos que las señoras tenían anticuerpos antileucocitos que pasaban la placenta y que producían la destrucción de los granulocitos del recién nacido (15).

Posteriores estudios de estos grupos de anticuerpos con mejores técnicas, por muchos investigadores, llegaron a la conclusión de que se podrían aceptar dos acciones distintas para el mismo anticuerpo, una dirigida contra los granulocitos y otra dirigida contra los linfocitos.

En esta etapa surge la fiebre de los transplantados de órganos y los cirujanos logran dominar las técnicas quirúrgicas, pero los enfermos rechazan a su injerto (algunas veces el injerto dañaba al paciente). En estas células de órganos transplantados, los anticuerpos citotóxicos actúan de modo que producen la destrucción de estas células.

Los anticuerpos antileucocitos tienen mucha - importancia dentro de la medicina en:

- 1.- Transfusiones de Sangre.
- 2.- Transfusiones de Plaquetas.
- 3.- Transfusiones de Granulocitos.
- 4.- Transfusiones de Linfocitos.
- 5.- Transplantes de órganos.
- 6.- Transplantes de médula ósea.
- 7.- En estudios de antropología.
- 8.- En estudios para detección de asociación con enfermedades específicas.

Los anticuerpos antileucocitarios se observan con mayor frecuencia en las mujeres que han tenido múltiples embarazos y también se observa en pacientes que han recibido transfusiones de sangre repetidas.

Es bien conocido que las reacciones transfusionales febriles son secundarias, en su mayoría a la presencia de anticuerpos antileucocitos en la sangre del receptor - estos dan lugar a fiebre al reaccionar con los leucocitos de la sangre transfundida.

Por tanto cuando hay reacciones transfusionales febriles (incluso tan severas que llegan a la insuficiencia respiratoria (16)), es indispensable seleccionar sangre sin leucocitos para el caso de una transfusión en la que sólo se desean los glóbulos rojos.

Como la inmensa mayoría de las transfusiones - de sangre que se indican para mejorar el número de eritrocitos

del paciente, en la actualidad se ha considerado más práctico liberar a los eritrocitos de los leucocitos antes de su transfusión logrando así prevenir la sensibilización del paciente o evitar la reacción.

En la actualidad la transfusión específica de leucocitos es un recurso útil para algunos pacientes como: - Anemia Refractaria, Enfermedades Hematológicas Malignas, Cáncer de cualquier tipo, etc. Los leucocitos se seleccionan-- mediante pruebas de compatibilidad ya sea por HLA o por anticuerpos citotóxicos, o se prueba el suero del paciente contra los leucocitos del donador para comprobar que no tienen anticuerpos específicos contras estas células.

PRECAUCIONES PARA OBTENCION SANGUINEA:

Quando la sangre se extravasa los mecanismos de coagulación se ponen en marcha y la sangre se coagula.

La sangre para transfusión sanguínea debe de ser obtenida sin rastros de coagulación dado que si los hubiera el consumo de factores procoagulantes y las células como las plaquetas, leucocitos y eritrocitos se dañarían en su función.

Por lo que los depósitos para recibir la sangre para transfusión sanguínea en este caso bolsas de plástico contienen un anticoagulante idóneo para evitar la coagulación y preservarle en óptimas condiciones para un período determinado.

La solución anticoagulante más comunmente empleada es el ACD cuya composición es la siguiente:

Fórmula A para la recolección de 500 ml. de sangre.

Fórmula A:

Acido cítrico 800 mg.

Citrato trisódico 2.2g.

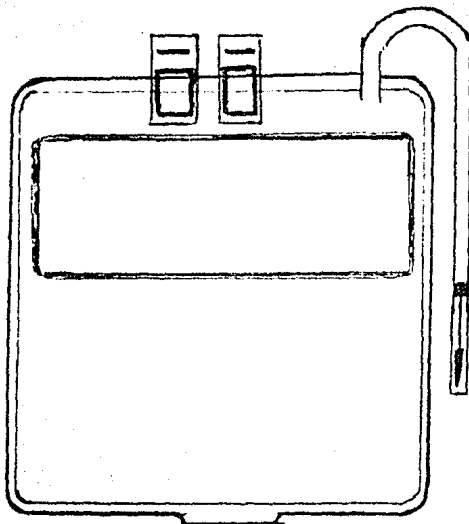
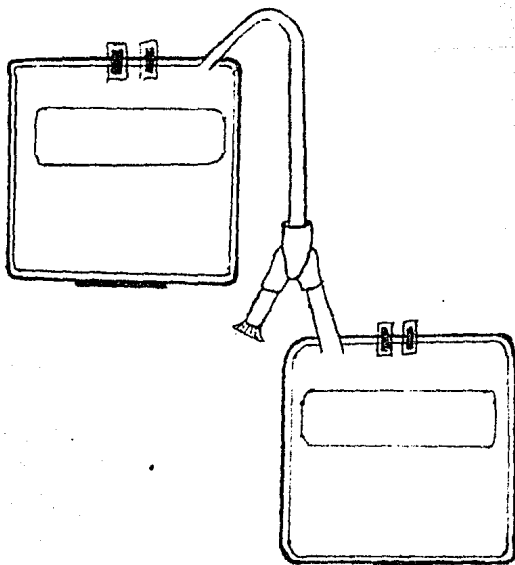
Dextrosa 2.54 g.

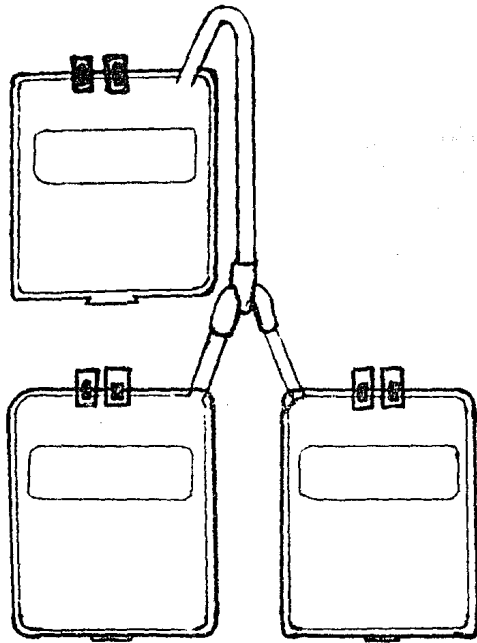
Agua inyectable c.b.p. 100 ml.

Hay diferentes presentaciones de estas bolsas:

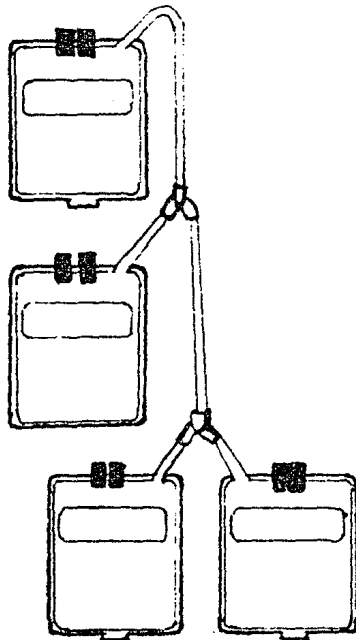
1.- La bolsa simple que actualmente en los Bancos de Sangre Modernos, no se emplea.

- 2.- La bolsa doble que consta de una bolsa matriz y una bolsa accesoria.
 - 3.- Las bolsas triples y cuádruples que tienen 2 y 3 bolsas accesorias aparte de la bolsa matriz.
- 1.- Las bolsas sencillas, se utilizan cuando se necesita una unidad de sangre fresca inmediatamente.
 - 2.- Las bolsas dobles, se utilizan cuando se necesita alguna fracción de sangre (plasma frasco, concentrado plaquetario, factor VIII, etc.) y paquete globular.
 - 3.- Las bolsas triples se utilizan cuando se necesita concentrado plaquetario, factor VIII y paquete globular.
 - 4.- Las bolsas cuádruples se utilizan cuando se requiere de concentrado plaquetario, factor VIII, plasma fresco y paquete globular, o también si se necesita fracciones de sangre completa (200 cc de sangre fresca total, etc.).

BOLSAS DE PLASTICO PARA RECOLECCION DE LA SANGRE.BOLSA SIMPLE.BOLSA DOBLE.



BOLSA TRIPLE.



BOLSA CUADRUPLE.

La sedimentación sin centrifugación se lleva a cabo muy lentamente de 2 a 5 horas.

Para recolectar este proceso se emplea la centrifugación y cuando queremos separar cada una de las fracciones antes mencionadas se emplea la centrifugación diferencial.

Hay una relación estrecha entre las revoluciones por minuto y la gravedad lo que se refleja en la fórmula siguiente:

$$G = N^2 \times r \times 0.0000118$$

En donde:

G = Gravedad.

N = Revoluciones por minuto (r.p.m.).

r = Radio de la centrifuga donde se trabaja (16 cm.)

0.0000118 = Factor de corrección.

Ejemplo:

$$400 \text{ G} = Z \text{ r.p.m.}$$

$$N = \sqrt{\frac{G}{r \times 0.0000118}}$$

$$N = \sqrt{\frac{400}{16 \times 0.0000118}}$$

$$N = 1455.6$$

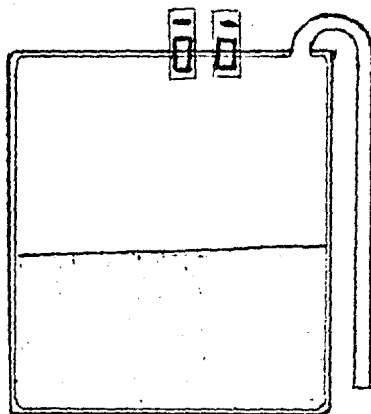
SEDIMENTACION DE LA SANGRE.

En la sangre sedimentada (1 X G) los componentes ---
sanguíneos se separan de la siguiente manera según su den-
sidad : (Tabla No. 1).

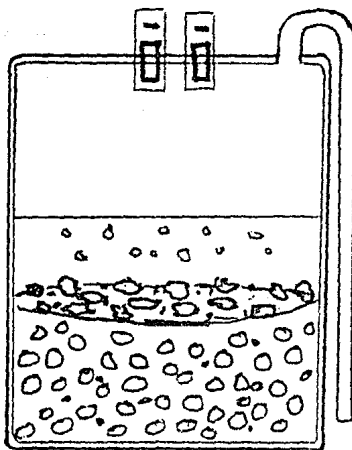
	CELULAS	DENSIDAD.
1.-	ERITROCITOS	1.092
2.-	LEUCOCITOS	1.075
3.-	LINFOCITOS	1.048
4.-	PLAQUETAS	1.026

TABLA No. 1 VALORES DE DENSIDAD DE LOS DIFERENTES
ELEMENTOS SANGUINEOS.

SEDIMENTACION DE LA SANGRE



ANTES DE SEDIMENTAR



DESPUES DE SEDEMENTAR.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 173 pacientes que acudieron al Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional del IMSS para transfusiones como pacientes ambulatorios, a los cuales se les hizo búsqueda de anticuerpos linfocitotóxicos antes de la transfusión del primer paquete globular y 15 ó 20 días después de este. Se revisaron sus expedientes para saber si tenían antecedentes transfusionales o no y de acuerdo a estos, se determinó si se transfundía el enfermo únicamente con paquetes globulares lavados con solución salina fisiológica o lavada y filtrada libre de microagregados utilizando filtros (Fenwal 4C 2423), según si los antecedentes eran negativos o positivos respectivamente.

Los paquetes de glóbulos rojos se almacenaron de 1 a 10 días a 4°C, posteriormente estos paquetes se fueron lavando según se iban utilizando en el Banco Central de Sangre. Los paquetes antes de ser lavados se mezclaron de 40 a 50 veces, así como se pesaron antes y después de esta maniobra. Inmediatamente después de ser lavados los glóbulos rojos se pasaron a otra bolsa Fenwal de 300 ml conteniendo 25 ml de solución salina fisiológica estéril 0.9% de manera que la "nata de leucocitos" no pasara al paquete de eritrocitos.

Los paquetes lavados sólo pueden ser transfundidos dentro de las cuatro horas después de ser lavados ya que de lo contrario estos se van hemolizando debido a la poca resistencia de los eritrocitos en la solución salina 0.9% en la -

que se encuentran resuspendidos.

Las muestras para contar leucocitos de los paquetes globulares, se tomaron antes y después de lavados y/o lavados y filtrados.

Técnica no. 1

LAVADO DE PAQUETES GLOBULARES

REACTIVO.

Solución salina estéril 0.9%

MATERIAL

Bolsas de plástico Fenwal (F40P4) de 500 ml.

Bolsas de plástico Fenwal (F37P7) de 300 ml.

Equipos de transfusión de plaquetas (uniones)

Agujas estériles.

Campana de flujo laminar.

Centrifugas Sorval RC-3 (HG-4L Head), de radio
16cm.

Pinzas, Tijeras.

Etiquetas (para el grupo, No. de bolsa, Fecha y -
hora de entrega del paquete globular ya lavado)

Gasas estériles.

MATERIAL BIOLÓGICO

Sangre de donadores sanos.

PROCEDIMIENTO

Obtención de la sangre.

Los donadores aprobados clínicamente pasan a la sa
la de sangrado.

En la sala sentados cómodamente los donadores se -
les busca la mejor posición para la punsi3n de la vena - -
m3s apropiada.

Una vez extraída la sangre paso al área de fraccionamiento.

En esta área se fraccionó la sangre en:

- 1.- Plasma fresco rico en plaquetas.
- 2.- Concentrado plaquetario.
- 3.- Plasma fresco y/o Crioprecipitados.
- 4.- Paquete globular.

Una vez que se ha separado la sangre en todos sus componentes se almacenan a 4°C de 1 a 10 días.

Los paquetes se identificaron con la fecha de extracción y el día en que llegan a su caducidad.

LAVADO DE LOS PAQUETES GLOBULARES.

Dentro de una Campana estéril mezclar unas 40 a 50 veces lo mejor posible con movimientos de báscula los paquetes globulares, limpiar perfectamente el tubo piloto con una torunda impregnada con izodine y cortar con tijeras estériles.

Tomar la muestra del paquete y enseguida conectar el equipo de unión para después conectarlo al frasco de solución salina estéril al 0.9% y llenar la bolsa que contiene el paquete.

Sellar el tubo piloto, separar la bolsa del frasco de la solución salina y colocar la bolsa en posición invertida.

Centrifugar a 3,500 r.p.m. durante 10 minutos en la centrífuga refrigerada a 4°C.

Mientras tanto en otra bolsa de 300 ml colocar aproximadamente 25 ml de solución salina estéril al 0.9% así como la etiqueta con el grupo, número de la bolsa original, fecha y hora en que se lavo.

Centrifugado el paquete colgarlo de lo más alto posible y conectar la bolsa con los 25 ml de solución salina donde se va a pasar los eritrocitos; esperar a que pase la mayor parte de ellos.

Sacrificar algunos eritrocitos para evitar lo más posible, que pase la "nata de leucocitos".

A la bolsa se le saco el aire se desconecto de la otra bolsa y se sello, se peso y entrego a la enfermera para transfundirlo.

La muestra para determinar los leucocitos remanetes, tomarla antes de ser transfundido el paquete al enfermo.

Técnica No. 2

CUENTA DE LEUCOCITOS

REACTIVOS

Solución de ácido acético al 3%

MATERIAL

Tubos de ensaye de 13 X 75.

Gradillas.

Pipetas volumétricas de 2 ml.

Pipetas serológicas de 0.1 ml.

Pipetas Pasteur.

Cámaras de Neubauer.

Cámara Húmeda.

Papel parafilm.

Bulbos de plástico.

Microscopio óptico.

Contador automático.

MATERIAL BIOLÓGICO

Sangre humana antes de ser lavada (paquete globular).

Sangre humana después de ser lavada (paquete globular).

PROCEDIMIENTO

10 tubos de 13 X 75 mm etiquetar con el número de la bolsa del paquete globular.

En una libreta aparte anotar el número de la bolsa, su peso antes y después de lavarse, la fecha de extracción y el nombre del paciente al que se le va a transfundir el paquete-globular lavado, por último se apunta el resultado de las cuenta

tas de leucocitos en las muestras tomadas antes y después de lavados los paquetes globulares.

ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

La muestra para la cuenta de leucocitos, mezclarla de 15 a 18 veces suavemente, y tomar 0.1 ml de sangre con una pipeta serológica de 0.1 ml, introducir a un tubo con 2 ml de ácido acético al 3%, dejar fluir lentamente para que conforme vaya fluyendo no se quede nada en las paredes de la pipeta, al final se sopla suavemente a la pipeta para que baje totalmente la muestra.

Tapar el tubo con papel parafilm y mezclar -- perfectamente.

Estas muestras se hacen por duplicado, cargar las cámaras de Neubauer con una pipeta Pasteur conectada a un bulbo y dejar reposar la cámara aproximadamente 5 minutos en cámara húmeda.

El microscopio se limpia antes de ser usado - con papel especial para microscopio.

Contar los cuadros más grandes de la cuadrícula, ubicados en sus extremos de la siguiente manera, ver figura No. 1.

DONDE:

$$S = 1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm} = 1 \text{ mm}^2$$

$$V = 1 \text{ mm}^2 \times 0.1 \text{ mm} = 0.1 \text{ mm}^3$$

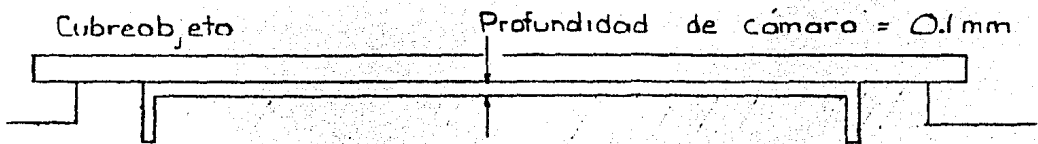
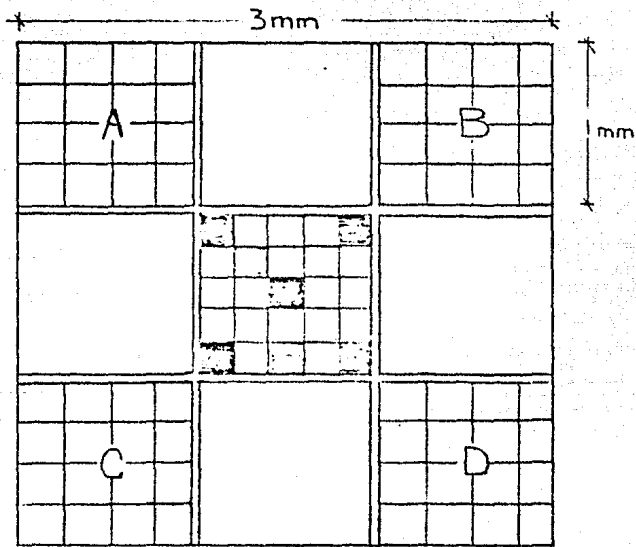


FIGURA No. 1 . CAMARA DE NEUBAUER

PARA LA CUENTA DE GLOBULOS BLANCOS SE
EMPLEAN LOS CUADRO A, B, C Y D.

Técnica No. 3

TECNICA DE LINFOCITOTOXICIDAD

FUNDAMENTACION DEL TEMA:

Prueba de linfocitotoxicidad.

Cuando los linfocitos se incuban con una mezcla de suero conteniendo anticuerpos linfocitotóxicos, complemento y colorante como la eosina, y contienen el antígeno correspondiente al anticuerpo la reacción Ag-ac se lleva a cabo, el complemento se fija y la membrana de la célula se daña por lo que el colorante entra a la célula y la tiñe de color guinda. El porcentaje de las células teñidas (muertas) es proporcional a la intensidad de la reacción Ag-ac.

Debe recordarse que los linfocitos empleados deben de ser del grupo "O" ya que los anticuerpos anti AB reaccionan con los linfocitos.

REACTIVOS:

Agua libre de hierro.

Eosina al 5% acuosa.

Solución de Formol ajustada a pH 7.0 con solución de fosfato-disódico monobásico (Na_2HPO_4) 0.15 M (2.13 g c.b.p.100 ml) y cuya concentración final debe ser de 35% en el formol.

Solución de Ficoll-Hypaque.

Se toma solución de Hypaque al 50%: 6.56 ml + 3.44 ml de --
Agua libre de hierro, y se agrega solución de Ficoll al 8%: 8%
1.92 + 24 ml de agua libre de hierro y se mezclan las dos soluciones agitando suavemente.

Solución de Hnaks a IX (se pesa 1.1 g de Hanks Medio 199 y se agrega agua libre de hierro c.b.p. 10 ml ajustar el pH 7.0 con bicarbonato de sodio al 10%:

Solución de Hanks a 4 X (se pesa 1.79 g de Hanks Medio 199 y se le agrega agua libre de hierro c.b.p. a 4 ml - ajustar el pH a 7.0 con bicarbonato al 10%).

MATERIAL

Perlas de vidrio.

Jeringa Hamilton de 1 lambda.

Jeringa Hamilton de 5 lambdas.

Tubos de ensaye de 13 X 100.

Pipetas graduadas de 10 ml.

Pipetas graduadas de 2 ml.

Pipetas Pasteur.

Placas de Falcon 3034 preparadas con 7.5 ml. de aceite mineral.

Laminillas de vidrio de 5 X 7.5 cm.

Microscopio invertido.

MATERIAL BIOLÓGICO.

3 ml. de mezcla de sueros del grupo AB.

Suero buffer (1.2 ml de suero del grupo AB más 0.3 de Hanks 4X).

Complemento de conejo (a un frasco de complemento liofilizado-comercial, se le agrega 1.2 ml de agua libre de hierro).

1 ml de suero problema.

Obtención de linfocitos por gradiente de densidad.

Muestras de sangre desfibrinada de 10 donadores "O" Rh +

PROCEDIMIENTO.

1.- En matrices de 25 ml conteniendo g perlas de vidrio tomar una muestra de 5 a 10 ml de sangre "O" Rh+ de cada uno de 10 donadores sanos.

2.- Mezclar con movimientos rotativos suaves para desfibrinar durante 7 a 10 minutos hasta aparición de fibrina atrapada por las perlas de vidrio..

3.- De la solución de Ficoll-Hypaque colocar 2.0 ml en cada uno de los 10 tubos de 13 X 100 rotulados específicamente.

4.- En otra serie de 10 tubos de 13 X 100 colocar en cada uno 2 ml de solución salina estéril al 0.9%.

5.- A cada uno de la serie de 10 tubos con salina agregar 2 ml de sangre desfibrinada mezclar por inversión 5 veces y la solución pasarla a la serie de tubos con Ficoll-Hypaque estratificándola por las paredes del tubo con mucho cuidado.

6.- Centrifugar de 30 a 40 minutos a 18°C a 1350 rpm- retirar de la centrífuga con mucho cuidado y observar las capas para distinguir la de los linfocitos, que corresponde a la capa delgada de color blanco, colocada en la interfase de la capa transparente y la capa de color amarillo.

7.- Con pipeta Pasteur extraer los linfocitos de cada tubo y pasarlos a otra serie de tubos rotulados; agregar 4 ml de Hanks a IX a cada uno de los tubos, para lavar los linfocitos, decantar el sobrenadante y los tubos secarlos sobre papel absorbente.

8.- A cada tubo que contiene los linfocitos agregar una gota de suero buferiado.

9.- En las placas de Falcon preparadas con aceite mineral, colocar:

1 ul de linfocitos suspendidos en el suero buferiado en cada uno de los 60 pozos.

En la hilera A colocar solamente 1 ul de linfocitos y 1 ul de solución de Hanks

En la hilera B colocar 1 ul de linfocitos más 1 ul de suero testigo positivo.

En la hilera C colocar 1 ul de linfocitos más 1 ul de suero testigo negativo.

En la hilera D colocar 1 ul de linfocitos más 1 ul de suero problema sin diluir.

En la hilera E colocar 1 ul de linfocitos más 1 ul de suero problema diluido 1/2

Ver Figura No. 2

Dejar reposar 30 minutos y añadir 5 lambdas de complemento a cada pozo, dejar incubar durante 60 minutos a temperatura de 22°C aproximadamente. Posteriormente adicionar 2 lambdas de Eosina. Dejar reposar 10 minutos.

Para fijar las células agregar 3 lambdas de formol.

Cubrir la placa de Falcon con una laminilla de vidrio procurando no hacer burbujas para evitar dificultad durante la lectura.

Dejar reposar de 5 a 24 horas a la temperatura ambiente.

Se lee en microscopio invertido.

Las células teñidas son células muertas (se tiñe de color guinda).

El grado de positividad dependió del número de células muertas, y cuyos resultados se reportaron de 1+ a 4+ (una a cuatro cruces).

Figura No. 2.- Esquema de la ubicación de las reacciones en placa de Falcon.

	A	B	C	D	E	F
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0

LINFOCITOS

Fila A Linfocitos solos con Hanks.

Fila B Linfocitos con suero testigo negativo.

Fila C Linfocitos con suero testigo positivo.

Fila D Linfocitos con suero problema puro sin diluir.

Fila E Linfocitos con suero problema diluido 1/2.

Fila F Linfocitos con otro suero problema sin diluir.

ESTUDIOS EFECTUADOS

1.1 IN VITRO

Se hicieron cuentas de leucocitos en los paquetes globulares conservados a 4°C, por 1 a 10 días. Las cuentas se hicieron por duplicado, se contaron leucocitos antes y después de lavados y filtrados. En grupos de 11 a 12 paquetes conservados desde el día 1° a el día 10 y se hizo el promedio y la desviación estandar de cada grupo correspondiente a cada día.

1.2 IN VIVO.

Se estudiaron 173 pacientes a los cuales se les practicaron transfusiones de uno o varios paquetes globulares lavados o lavados y filtrados según antecedentes transfusionales.

Una muestra de leucocitos se tomo inmediatamente antes de lavar el paquete y otra antes de la transfusión al paciente.

Se seleccionó a los pacientes en 2 grupos:

1.- El que tenía antecedentes transfusionales y reacciones transfusionales, y

2.- Los que no tenían.

Para aquellos con antecedentes se agrego un filtro -- Fenwal 4C2423 además del lavado del paquete para asegurar una mayor desleucocitación.

En esta forma resultaron 2 grupos:

1.- De 93 pacientes que se transfundieron con paquetes globulares lavados.

2.- Otro de 80 pacientes con paquetes lavados y filtrados con filtros Fenwal 4C2423.

En todos los pacientes se hizo una investigación de anticuerpos linfocitotóxicos previa a la transfusión del paquete de eritrocitos; se transfundieron cotidianamente de uno a tres paquetes globulares distribuidos en períodos de 15 a 20 días; y entre 15 y 20 días después de la aplicación del primer paquete globular se hizo una nueva investigación de anticuerpos linfocitotóxicos.

Los pacientes fueron transfundidos al azar con paquetes globulares conservados a 4°C por uno a diez días.

D. DE A.	NO. DE P	PROMEDIO DE LEUCOCITOS		P.C. DE L.R.	DESVIACION ESTANDAR	
		ANTES X 10 ⁹	DESPUES X10 ⁸		ANTES	DESPUES
1	12	0.4062015	0.683789	17.94	5964711	750288
2	12	0.3594969	0.541615	15.15	3039235	824040
3	12	0.3480663	0.440929	13.01	4343893	526665
4	12	0.3224545	0.433561	14.00	2059596	230757
5	12	0.4425173	0.504049	12.11	4557265	882391
6	12	0.4199089	0.368874	8.72	2609131	676822
7	11	0.3311681	0.326511	8.84	2729964	467175
8	11	0.3774390	0.161424	4.33	4629320	366198
9	12	0.3689892	0.303769	8.43	244324	468636
10	11	0.3917196	0.468576	13.02	2320224	422496

CUADRO No. 1 Número de leucocitos residuales de cada grupo de paquetes globulares lavados.

D. DE A. = DIAS DE ALMACENAMIENTO.

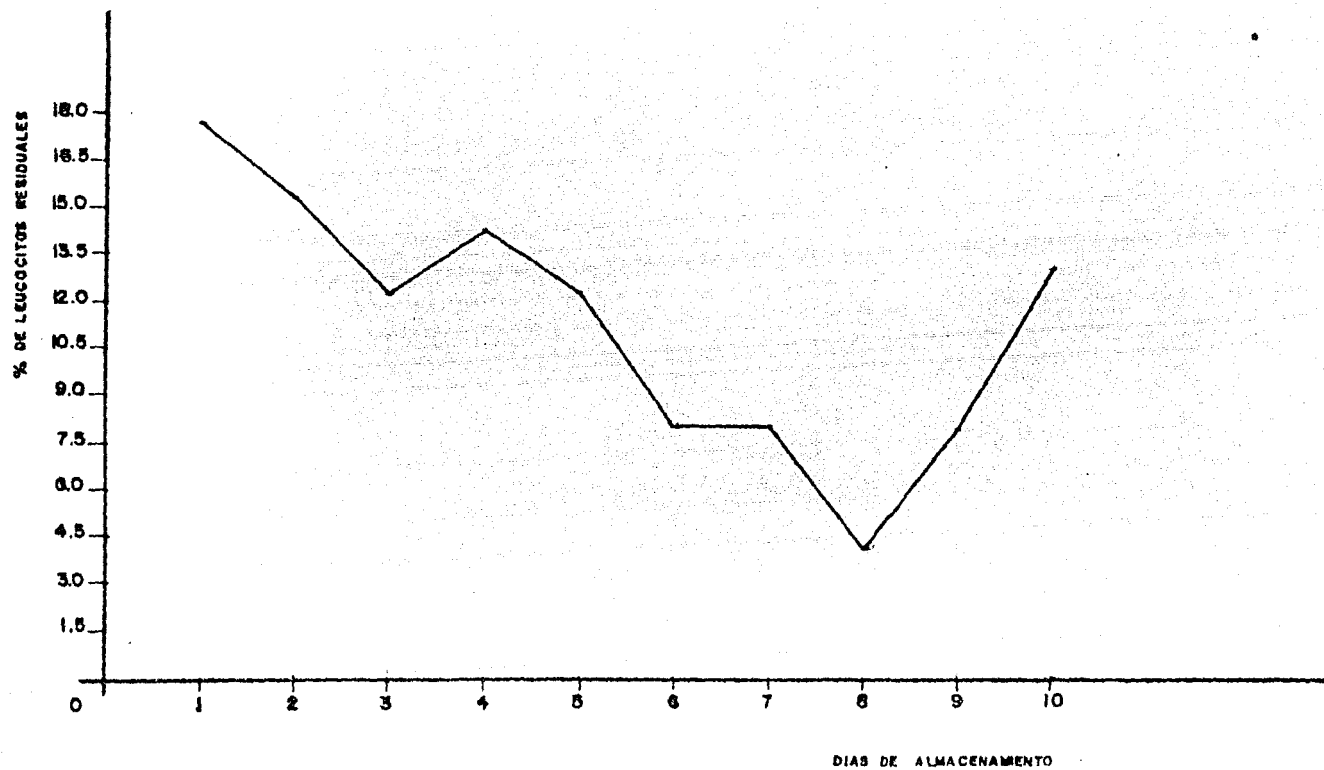
No. De P. = NUMERO DE PAQUETES

P.C. DE L.R. = PORCIENTO DE LEUCOCITOS RESIDUALES.

Según los días de almacenamiento:

En el cuadro no. 1 se ven las cifras absolutas-promedio de leucocitos obtenidas de los paquetes globulares -- conservados por 1 a 10 días y posteriormente lavados, es clara su tendencia a disminuir en razón de los días de almacenamiento a partir del 6o. día, alcanzando la cifra mínima el día 8.

En la gráfica No. 1 estos datos se registran - en por ciento de leucocitos residuales según los días de almacenamiento.



GRAFICA 1. PORCIENTO DE LEUCOCITOS RESIDUALES EN PAQUETES GLOBULARES LAVADOS SEGUN DIAS DE ALMACENAMIENTO

D. DE A.	NO. DE P	PROMEDIO DE LEUCOCITOS		P.C. DE L.R.	DESVIACION ESTANDAR	
		ANTES X 10 ²	DESPUES X 10 ²		ANTES	DESPUES
1	12	0.5019214	0.3768192	7.52	1098433	92586
2	12	0.4194870	0.2406553	5.85	2049188	122411
3	12	0.3481413	0.206558	5.93	1341790	147585
4	10	0.4094727	0.237087	5.79	780100	98839
5	12	0.3639668	0.133575	3.67	1521179	90976
6	12	0.3430638	0.111833	3.26	852548	38489
7	10	0.3627717	0.129146	3.56	758064	51143
8	12	0.3636378	0.65091	1.79	877714	48323
9	10	0.4337222	0.074166	1.71	119663	76444
10	10	0.3674283	0.224131	6.10	564631	120009

CUADRO No. 2 Número de leucocitos residuales de cada grupo de paquetes-globulares lavados y filtrados según los días de almacenamiento.

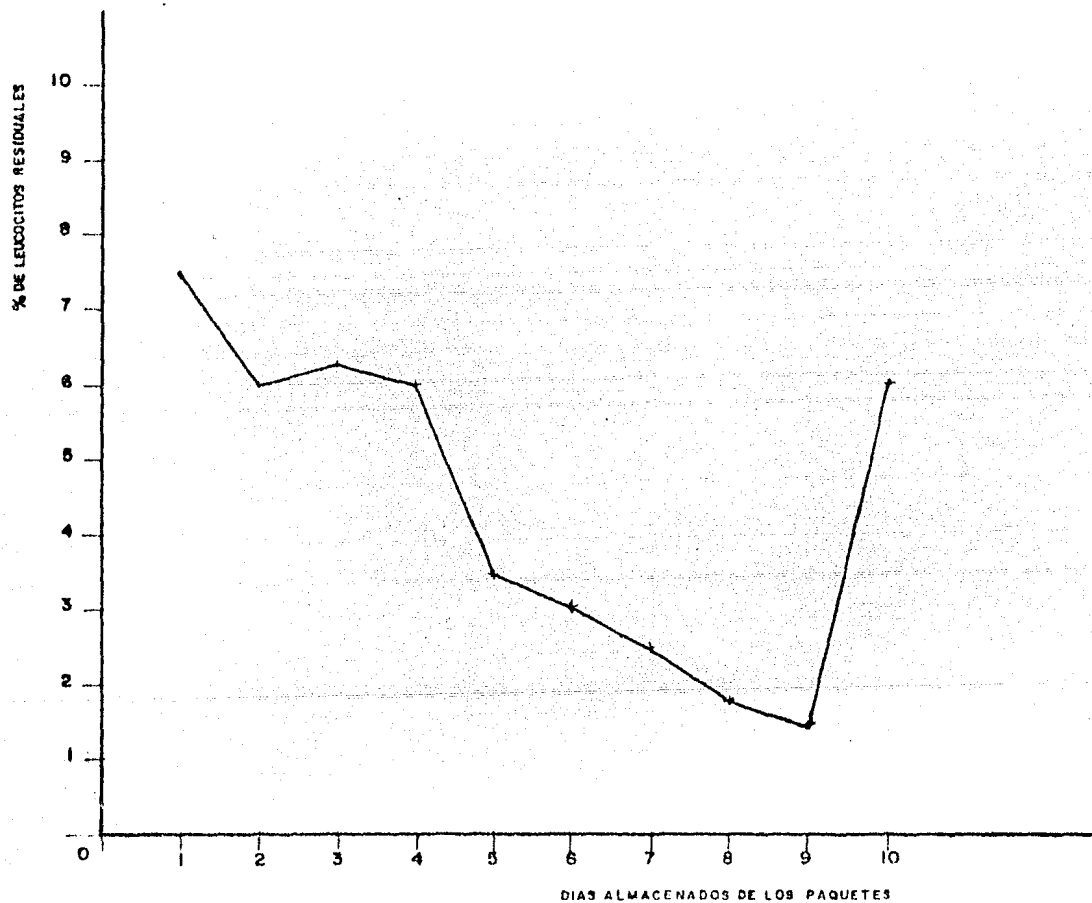
D. DE A. = DIAS DE ALMACENAMIENTO.

No. DE P. = NUMERO DE PAQUETES.

P.C. DE R.L. = PORCIENTO DE LEUCOCITOS RESIDUALES.

En el cuadro no. 2 se ven las cifras absolutas-promedio de leucocitos y su desviación estandar obtenidas de los paquetes globulares después de lavados y filtrados, conservados de 1 a 10 días: en este caso es clara su tendencia a disminuir a partir del 5o. día de almacenamiento alcanzando la cifra mínima el día 9.

En la gráfica No. 2 estos datos se registran en porcentaje de leucocitos residuales según los días de almacenamiento.



GRAFICA No.2 PORCIENTO DE LEUCOCITOS RESIDUALES EN PAQUETES GLOBULARES LAVADOS Y FILTRADOS SEGUN DIAS DE ALMACENAMIENTO.

NO. PACIENTES	ANTECEDENTES TRANSFUSIONALES POSITIVOS	ANTICUERPOS LINFOCITOTOXICOS	
		NO.	%
93	93	23	24.75
80	0	6 +	7.7

+ INCLUYE DOS PACIENTES DE SEXO FEMENINO MULTIGESTAS.

CUADRO No. 3: Anticuerpos linfocitotóxicos detectados en los --
pacientes antes de la primera transfusión del pa-
quete globular.

Se agrupan según: Con o sin antecedentes transfu-
sionales.

En el cuadro no. 3 se anota el resultado de la --
investigación de anticuerpos linfocitotóxicos, encontrados en --
cada uno de los grupos de pacientes según antecedentes transfu-
sionales.

Es clarente mayor el número de pacientes que tie-
nen anticuerpos linfocitotóxicos en los que no los tienen.

Como se aclara en el cuadro, dos de los pacientes
sin antecedentes transfusionales con anticuerpos linfocitotóxi-
cos, son mujeres múltiparas. De los cuatro restantes dos co-
rresponden a Hipoplasia de Médula Osea, uno a Mieloma Múltiple y
otro a Cirrosis Hepática.

En el cuadro no. 4 se anota el análisis del resultado inmediato de la transfusión de paquetes desleucocitados relacionándolo con la presencia de anticuerpos linfocitotóxicos y el empleo de filtros durante la transfusión.

NO. PACIENTES	ANTICUERPOS		FILTROS		REACCION TRANSFUSIONAL
	LINFOCITOTOXICOS		CON	SIN	
	+	-			
30	30	0	30	0	2
50	0	50	50	0	0
93	0	93	0	93	0

CUADRO No. 4: Número de reacciones transfusionales observables - después de transfundir paquetes desleucocitados, - relacionadas con la presencia de anticuerpos linfocitotóxicos y el empleo de filtro.

Como puede verse en 30 casos con anticuerpos linfocitotóxicos (se agrego el caso no. 32, que en la segunda determinación resultó con anticuerpos linfocitotóxicos positivos), hubo dos reacciones transfusionales, dentro del grupo de aquellos que además de lavado de paquetes transfundidos uno tenía 9 días - del almacenamiento y otro un día, con cifras absolutas de leucocitos de 553 612 000 y 431 892 000 respectivamente.

DIAGNOSTICO	NO. PACIENTES	PACIENTES POSITIVOS	
		No.	%
CANCER UTERINO	36	2	5.55
INSUFICIENCIA RENAL CRONICA	20	3	15.00
ENF. HEMATOLOGICA MALIGNA	40	7	17.50
CANCER DE MAMA	13	1	7.69
ANEMIA REFRACTARIA	17	10	58.52*
CANCER PROSTATA	4	1	25.00
HbINURIA PAROXISTICA NOCTURNA	4	3	75.00
CIRROSIS HEPATICA	2	1	50.00
ANEMIA BENIGNA	2	1	50.00
ANEMIA HEMATOLOGICA MALIGNA	2		50.00

CUADRO No. 5: Frecuencia de linfocitotóxicidad según diagnóstico.

* EN UN CASO SE DETECTO EN LA SEGUNDA DETERMINACION.

En el cuadro no. 5 se analiza la frecuencia de anticuerpos linfocitotóxicos según el diagnóstico de los pacientes transfundidos. Destacan las causas en que el número de enfermos fué superior a 10 (Cáncer Cervicouterino, Insuficiencia-Renal Crónica, Enfermedades Hematológicas Malignas, Cáncer de Mama y Anemia Refractaria porque de 17 enfermos 9 tuvieron anticuerpos linfocitotóxicos en la primera determinación en uno de ellos se demostraron después de la transfusión de 4 paquetes globulares, hay que distinguir que este enfermo tenía antecedentes previos de por lo menos 4 transfusiones.

Es difícil valorar los grupos de enfermos con menos de 5 casos, sin embargo, sí se agrupan los pacientes de Anemia Refractaria, Hemoglobinuria Paroxística Nocturna y Enfermedades Hematológicas Malignas (61 Pacientes), más del 30% tienen anticuerpos linfocitotóxicos.

En el cuadro no. 6 se registran los resultados de la investigación de anticuerpos linfocitotóxicos antes de la aplicación y después de esta, de paquetes globulares lavados y filtrados; comprenden 30 enfermos de los cuales se excluyen 4 porque no regresaron a una segunda transfusión. De los 26 restantes, en uno (T.G.S.)* se observó estímulo ya que el título aumentó de 1/4 a 1/16 y su reactividad contra células del panel fué de 2 de 10 a 3 de 10; en otro caso (A.F.R.)* que originalmente no mostró presencia de anticuerpos linfocitotóxicos después de las transfusiones presentó anticuerpos linfocitotóxicos positivos 1/2 y la reactividad contra células del panel fué con 2 de 10; en el resto de los pacientes (92.3%) no hubo estímulo en tanto el título previo se abatio como también se negativizo; sólo en uno (Z.R.V.)*, el título no varío.

En el caso de T.G.S. la cifra absoluta de leucocitos transfundidos fué de 102 690 000 y en A.F.R. 742 864 000. Es decir que el número de leucocitos transfundidos que estímulo al paciente fué inferior a la cifra media menos una desviación estandar, según se anota, para las cifras correspondientes en el cuadro no. 2.

En vista de estos últimos resultados, se separaron los datos de los pacientes anotados en el cuadro no. 6, en dos cuadros.

Uno conteniéndo los datos de los que no fueron estimulados por la transfusión ya que desapareció el anticuerpo linfocitotóxico (cuadro no. 7); y otro en el que se consideró también que no hubo estímulo porque el título del anticuerpo descendió notablemente (cuadro no. 8).

En ambos casos se anotan las cifras absolutas de los leucocitos transfundidos y las cifras promedio correspondientes a los días de almacenamiento de los paquetes transfundidos para hacer la comparación correspondiente es decir: en el cuadro no. 7 de ocho pacientes en los que hubo desaparición de anticuerpos linfocitotóxicos, en siete la cifra absoluta de leucocitos transfundidos fué también muy superior a la media más una desviación-estandar.

Otra observación relevante del cuadro no. 8 son los datos de los pacientes S.R.A. y L.A.C. que tuvieron reacción -- transfusional con la primera transfusión, y a pesar de esto se abatió el título de anticuerpos linfocitotóxicos en S.A.F. de $1/128$ a $1/4$ y la reactividad contra células del panel de 8 a 10 a 3 de 10 y en L.A.C. de $1/4096$ a $1/512$ y la reactividad contra células del panel de 6 de 10 a 2 de 10.

*Siglas del nombre del Paciente.

CUADRO No. 6

VARIACION DEL TITULO DE LOS ANTICUERPOS LINFOCITOTOXICOS ANTES Y DESPUES DE LA TRANSFUSION, DE LOS PAQUETES GLOBULARES LAVADOS Y FILTRADOS.

PACIENTE	REACTIVIDAD Y TITULO CONTRA CELULAS DEL PANEL			
	ANTES DE LA TRANSFUSION		DESPUES DE LA TRANSFUSION.	
	REACTIVIDAD	TITULO	REACTIVIDAD	TITULO
L. J. B.	2 DE 10	Sp	NO REGRESO	
A. R. J.	2 DE 10	1/2	NO REGRESO	
V. A. G.	2 DE 10	1/4	NO REGRESO	
H. R. G.	2 DE 10	1/4	NO REGRESO	
T. G. S.	2 DE 10	1/4	3 DE 10	1/16
A. F. R.	NEGATIVO		2 DE 10	1/2
Z. R. V.	1 DE 10	1/2	1 DE 10	1/2
O. N. T.	2 DE 10	Sp	NEGATIVO	
T. M. H.	3 DE 10	1/2	NEGATIVO	
B. G. E.	2 DE 10	1/2	NEGATIVO	
M. T. M.	3 DE 10	1/2	NEGATIVO	
M. B. L.	4 DE 10	1/8	NEGATIVO	
P. B.	2 DE 10	Sp	NEGATIVO	
R. P. M. J.	2 DE 10	1/2	NEGATIVO	
A. A. T.	2 DE 10	1/16	NEGATIVO	
S. S. T.	4 DE 10	1/16	2 DE 10	1/2
S. T. M. L.	2 DE 10	1/2048	2 DE 10	1/512
G. G. E.	2 DE 10	1/128	4 DE 10	1/16
M. O. A.	4 DE 10	1/256	3 DE 10	1/64
S. R. A.	8 DE 10	1/128	3 DE 10	1/8
L. A. C.	6 DE 10	1/4096	2 DE 10	1/512
R. R. M.	2 DE 10	1/128	3 DE 10	1/32
G. S. E.	2 DE 10	1/2048	2 DE 10	1/256
B. M. L.	2 DE 10	1/256	1 DE 10	Sp
C. Z. A.	3 DE 10	1/16	2 DE 10	1/2
O. S. V.	2 DE 10	1/16	2 DE 10	1/4
H. C. R.	2 DE 10	1/16	2 DE 10	1/2
C. D. G.	2 DE 10	1/64	2 DE 10	1/4
G. P. M. A.	4 DE 10	1/4	3 DE 10	1/2
G. M. P.	4 DE 10	1/4	2 DE 10	Sp

CUADRO No. 7

PACIENTES EN QUIENES EL ESTIMULO FUE NULO: DESAPARICION DEL ANTICUERPO LINFOCITOTOXICO.

PACIENTE	C.A. DE LEUCOCITOS TRANSFUNDIDOS $\times 10^9$	D. DE A. DE LOS P.G.	LEUCOCITOS	
			C. P. CORRESPONDIENTE A LOS D. DE A. $\times 10^9$	DESVIACION ESTANDAR
O.N.T.	0.085065	6	0.1118333	38489
T.M.H.	0.13002	10	0.303193	120090
B.G.E.	0.406350	5	0.199121	90976
M.T.M.	0.270195	8	0.061023	48323
M.B.L.	0.25032	8	0.061023	48323
P.B.	0.518175	10	0.303193	90976
R.P.M.J.	0.8946	1	0.368192	92586
A.A.T.	0.3528	2	0.206537	122411

D. DE A. = DIAS DE ALMACENAMIENTO

P.G. = PAQUETES GLOBULARES

C.A. = CIFRA ABSOLUTA

C.P. = CIFRA PROMEDIO

PACIENTES	C.A. DE LEUCOCITOS TRANSFUNDIDOS $\times 10^9$	D. DE A. DE LOS P.G.	LEUCOCITOS	
			C.P. CORRESPONDIETE A LOS D. DE A. $\times 10^8$	DESVIACION ESTANDAR
S.S.T.	0.372963	4	0.23708	98839
S.T.M.L.	0.2688	3	0.206447	147585
G.G.E.	0.03528	8	0.065091	48323
M.O.A.	0.39585	10	0.22413	120009
S.R.A.	0.553612	9	0.07460	76444
L.A.C.	0.431892	1	0.3774	95586
R.R.M.	0.294234	3	0.206441	147585
G.S.E.	0.111047	6	0.111833	38489
B.M.L.	0.028190	7	0.12946	51143
C.Z.A.	0.095130	9	0.07469	76444
O.S.V.	0.463046	1	0.3774	92586
H.C.R.	0.46610	8	0.065091	48323
C.D.G.	0.1944	3	0.206447	147585
G.P.M.A.	0.57453	3	0.206447	147585
G.M.P.	0.65600	3	0.206447	147585

Cuadro No. 8 Casos en los que hubo descenso notable en el título de anticuerpos linfocitotóxicos.

P.G. = PAQUETES GLOBULARES
D. DE A. = DIAS DE ALMACENAMIENTO.
C.A. = CIFRAS ABSOLUTAS.
C.P. = CIFRAS PROMEDIO.

DISCUSION

Es bien conocido que en las reacciones transfusionales por anticuerpos antileucocitos existen grandes variables que se traducen desde un leve aumento de temperatura corporal hasta la Insuficiencia Respiratoria Severa que puede llevar a la muerte.

En la literatura se reportan varios procedimientos para desleucocitar la sangre empleada como paquetes globulares y evitar sensibilización contra leucocitos y/o reacciones postransfusionales.

Los datos de este trabajo nos permiten ver una gran disparidad de resultados desde los que reportan que con la simple sedimentación de la bolsa invertida se protege de reacciones transfusionales al 95% de los casos hasta aquellas que dicen que la sangre retirada de la "nata de leucocitos" y lavada sólo protegen el 68% de los casos.

Recientemente se han reportado nuevas metodologías para desleucocitar la sangre, de esta destacan 2:

- 1.- En la que se retiran un gran número de leucocitos (16), emplea sangre que ha sido almacenada por una semana o más y después se pasa el paquete globular através de un filtro diseñado especialmente para impedir el paso de microorganismos; con esta técnica se ha retirado cerca del 90% de los leucocitos.

2.- En la que se utilizan filtros de fibra de algodón para filtrar la sangre (Erypur e Imugard M.R.) y que son capaces de retirar más del 98% de los leucocitos.

Con estos dos últimos métodos se ha determinado que la cifra mínima de leucocitos que resta en los paquetes y que es incapaz de estimular al paciente para la formación de anticuerpos es de 0.5×10^9 .

De manera que para estos autores la cifra de 0.5×10^9 sería el umbral límite para evitar reacciones transfusionales y estímulo para la formación de anticuerpos linfocitotóxicos cuando se transfunde un paquete globular desprovisto de leucocitos.

En el presente trabajo se ensayaron 2 procedimientos para abatir el contenido de leucocitos, uno mediante el lavado y eliminación de la capa de leucocitos y otro adicionando en el momento de la aplicación, un filtro para la retención de agregados (Fenwal 4C2423) en ambos procedimientos se evaluó el promedio de leucocitos residuales en un mínimo de 10 paquetes lavados y se obtuvo una cifra absoluta inferior a 0.5×10^9 en los conservados por 3 y hasta 9 días; la cifra mínima residual se observó al octavo día de almacenamiento (0.3×10^9). En los paquetes lavados y filtrados desde el primer día de almacenamiento la cifra fué inferior a 0.1×10^9 . Por lo tanto estos procedimientos son útiles para eliminar una cantidad razonable de leucocitos particularmente cuando se utiliza el lavado y el filtrado de los paquetes ($p < 0.05$). Esto nos permite sugerir que desde el punto de vista de la transfusión es recomendable emplear paquetes lavados y filtrados que tengan de 7 a 9 días -

CUADRO NO. 9

TITULO	REACTIVIDAD CONTRA CELULAS DEL PANEL.									
	1/10	2/10	3/10	4/10	5/10	6/10	7/10	8/10	9/10	10/10
Sp	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-
1:2	1	3	2	-	-	-	-	-	-	-
1:4	-	2	1	2	-	-	-	-	-	-
1:8	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
1:16	-	3	1	-	-	-	-	-	-	-
1:32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1:64	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-
1:128	-	2	-	-	-	-	-	Rx	-	-
1:256	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-
1:512	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1:1024	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1:2048	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-
1:4096	-	-	-	-	-	-	Rx	-	-	-

CUADRO No. 9 Características de reactividad (Título y Reacción contra células del panel) de los anticuerpos linfocitotóxicos - encontrados en 29 pacientes que los presentaban antes de la primera transfusión.

de almacenamiento.

En los 29 pacientes que tienen anticuerpos linfocitotóxicos antes de la primera transfusión se observaron dos -- reacciones a pesar de que fueron transfundidos con paquetes lavados y filtrados.

Al buscar una explicación a esto, analizamos los datos de las características de reactividad de los anticuerpos -- linfocitotóxicos encontrados en estos pacientes con los resultados que se anotan en el cuadro no. 9, en el cuál se observa el título y la reactividad contra 10 muestras de leucocitos del panel, en el se observa que dos de los pacientes que tuvieron reacciones transfusionales, uno tuvo un título de 1/128 y reaccionó con 8 de las 10 muestras de leucocitos del panel, y el otro tuvo un título de 1/4096 y reaccionó con 7 de 10 muestras del panel, es decir que posiblemente debido a esta actividad que se -- presenta contra las células de panel, los pacientes presentaron reacciones debido a que la mayoría de los donadores los sensibilizan con sus leucocitos y por lo tanto se presentó la reacción -- postranfusalional.

Por otro lado, como se anotó en el Cuadro No. 5 los pacientes que probablemente tienen la mayor frecuencia de anticuerpos linfocitotóxicos, padecieron también Anemia Refractaria como los 2 pacientes sin antecedentes transfusionales que tuvieron también anticuerpos linfocitotóxicos, 2 de ellos padecían también de Anemia Refractaria.

A mayor abundamiento el caso A.F.R. del Cuadro No. 6 que en la primera determinación no tuvo anticuerpos linfocitotóxicos fué el único que los presentó después de la primera transfusión en este estudio y que también padecía Anemia Refractaria.

Se debe mencionar que las varias técnicas para desleucocitación tienen como característica importante que un alto costo su difícil accesibilidad como la de los eritrocitos congelados y la de separación por centrifugación-discontinua.

Las técnicas empleadas en este trabajo son técnicas accesibles en tanto se hicieron con el equipo rutinario del Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional del IMSS.

La observación del comportamiento de 3 pacientes con diagnóstico de Anemia Refractaria 2 de ellos presentando reacciones transfusionales a pesar del uso de paquetes desleucocitados y filtrados y el otro una respuesta inmunosecundaria obligada a ser las siguientes consideraciones:

- 1.- Los pacientes con antecedentes transfusionales y de multiparidad tienen una gran posibilidad de haber produ-

cido anticuerpos antileucocitarios (24.75 y 7.7% respectivamente).

2.- Los varios grupos que han trabajado en este coinciden en que es indispensable retirar la mayor cantidad de leucocitos para evitar reacciones transfusionales o estímulo a la formación de anticuerpos leucocitarios.

3.- La observación de que los pacientes con anticuerpos linfocitotóxicos a alto título 1/128 o mayores concomitantes con un anticuerpo específico contra antígenos de alta frecuencia, obliga a considerar la investigación de estos anticuerpos antes de la transfusión del paquete lavado y filtrado (para agregados) en particular en enfermos con hematopatías malignas como la Anemia Refractaria.

4.- Es factible que con la técnica de separación de leucocitos en paquetes almacenados durante 7 a 9 días lavados y pasados por filtro de algodón, los pacientes con anticuerpos a alta frecuencia puedan ser transfundidos para evitar sensibilización y/o reacción postranfusal.

De no contar con estos filtros, es indispensable seleccionar los paquetes a transfundir con pruebas cruzadas contra los leucocitos de donadores.

CONCLUSIONES

La eliminación óptima de leucocitos se alcanzó en sangre almacenada de 6 a 8 días en los paquetes lavados, y de 6 a 9 días en los paquetes lavados y filtrados, aunque los paquetes lavados y filtrados no reestiman a los pacientes que tienen anticuerpos linfocitotóxicos previos a la transfusión, sin embargo, la cantidad de leucocitos que puede dar a reacciones o estímulo esta entre 0.1 y 0.75×10^9 , los pacientes con anticuerpos linfocitotóxicos a títulos de $1/128$ o mayores deben transfundirse con paquetes desprovistos de leucocitos - que contengan el menor número posible de células remanentes - para evitar reacciones postransfusionales severas.

Se encontró que el 20% de pacientes con antecedentes transfusionales presentaron anticuerpos linfocitotóxicos en contraste con el 6% que no tuvieron antecedentes transfusionales.

Por otro lado, observamos que en los enfermos con Anemias Refractarias hubo mayor incidencia de anticuerpos linfocitotóxicos.

Se recomienda: La investigación de anticuerpos linfocitotóxicos en pacientes con Anemia Refractaria previa a la transfusión.

También se recomienda utilizar paquetes globulares lavados y filtrados almacenados por 7 a 9 días debido a que proporcionan un menor número de leucocitos.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- G. Sirchia, A. Parraviccini, P.Rebulla, L. Fattori,
S. Milani. "EVALUATION OF THREE PROCEDURES FOR THE
PREPARATION OF LEUCOCYTE - POOR BLOOD AND LEUCOCYTE-
FREE RED BLOOD CELLS FOR TRANSFUSION".
Vox Sang. 38: 197-204, 1980'
- 2.- A.Hughes, V.Mijovic, B. Brozovic, A.S.B. Hughes y
J.D. Davies. " LEUCOCYTE-DEPLETED BLOOD". A Compari-
son of cell-washing techniques.
Vox Sang. 42; 145- 150, 1982.
- 3.- V. Mijovic, B. Brozovic, A.S.B. Hughes y J.D. Davies.
"LEUCOCYTE-DEPLETED BLOOD ". A Comparison of filtra--
tion techniques.
Transfusion 23: 30-32, 1983.
- 4.- K. Haneda K.Tsubokura, M. Tajima, E.Tokunga.
" A STUDY OF PREPARATION METHOD OF LEUCOCYTE- POOR --
RED BLOOD CELLS".
Abstrac (The 25th Annual Meeting of Japan Society of
Blood Transfusion Held in Nagano) June, 1977.
- 5.- R.Sotela.
" PREPARACION DE PAQUETES GLOBULARES POBRES EN LEU-
COCITOS".
Tesis para obtener el Título de Q.F.B. en la Facul-
tad de Química en Ciudad Universitaria.
- 6.- B.Wenz, " MICROAGGREGATE BLOOD FILTRATION AND THE --
FEBRILE TRANSFUSION REACTION". A Comparative study.
Transfusion 23: 95-98 , 1983.

- 7.- J. Barret, D.S. Dejongh, E. Miller.
"MICROAGGREGATE FORMATION IN STORED HUMAN PACKED CELLS".
Ann Surg, 183, 109-113, 1983.
- 8.- C.A. Ville.
"BIOLOGIA".
Ed. Interamericana (1979). 6° Edición pp 267-278.
- 9.- V.A. Diego, R. Medina, C. Parrao.
"INTRODUCCION A LA HEMATOLOGIA". Soc. Mexicana de Hema-
tología. México 1978.
Edit. EL MANUAL MODERNO, S.A. 3a. Edición.
- 10.- H.A. Harper, V.W. Rodwell. P.A. Mayes.
"MANUAL DE QUIMICA FISIOLOGICA"
Ed. Hospital Infantil de México, 1° edición 1983.
- 11.- R. Medina.
"INMUNOLOGIA APLICADA AL BANCO DE SANGRE".
1° Edición Mexicana (1979) pp 56-60.
- 12.- H.A. Fudenberg, D.P. Stites.
"INMUNOLOGIA CLINICA".
3° Edición 1982, ED. El Manual Moderno p.p. 23-70.
- 13.- J. Davidson, J.B. Henry.
"DIAGNOSTICO CLINICO POR EL LABORATORIO".
Ed. Salvat, S.A. 1980 6° Edición p.p. 150-160.
- 14.- P.L. Mollison.
"BLOOD TRANSFUSION IN CLINICAL MEDICINE".
6° Edición Blacwell Scientific Pub. Oxford, London,
Edinbhone. p.p. 487-538, 1979.
- 15.- G. Sirchia, A. Parravicini, N. Greppi, M. Scalamogna,
"EFFECTIVENESS OF RED BLOOD CELLS FILTERED THROUGH
COTTON WOOL TO PREVENT ANTILEUCOCYTE ANTIBODY PRO -

DUCTION IN MULTITRANSFUSED PATIENTS".

Vox Sang. 42: 190-197, 1982.

16.- M. Smijewski.

"INMUNOHEMATOLOGY".

Ed. Appleton-Century-Crofts. 1972, 2° Edición pp. 214-237.

17.- M.J. Lynch, R.S. Stanley, D.L. Mellor.

"METODOS DE LABORATORIO".

Editorial Interamericana S.A. 1972. 2° Edición Philadelphia
pp. 861-890.

18.- H.A. Perkins, R. Payne, J. Ferguson y M. Wood.

"NONHEMOLYTIC FEBRILE TRANSFUSION REACTION". Quantitative -
effects of blood componentes with emphasis on isoantigenic-
incompatibility of leucocyte.

Vox. Sang. 11: 578-600. (1966).