

15/201



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**PRODUCCION DE HEMODERIVADOS Y
V. I. H.**

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INFORME DE LA PRACTICA PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
GERARDO DEL VILLAR AMEZCUA



MEXICO, D. F.

1990



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

CONTENIDO

INTRODUCCION

OBJETIVO

CAPITULO I. ANTECEDENTES.

Pags.

1.- Obtención de albumina, gammaglobulinas y factores de coagulación por fraccionamiento de plasma humano según el método de Cohn-Oncley.	8
2.- Plasmaféresis	11
2.1 Definición	12
3.- Características y aplicaciones médicas de la albumina, las gammaglobulinas y factores de coagulación	14
3.1 Albumina	14
3.1.1. Funciones principales	14
3.1.2. Usos clínicos de la albumina	15
3.2. Gammaglobulinas	16
3.2.1. Materias de Origen	19
3.2.2. Usos clínicos de las inmunoglobulinas..	21
3.3. Factores de coagulación	23
3.3.1. Coagulación de la sangre	23
3.3.2. Hemofilia	25
3.3.3. Productos usados en el tratamiento de las hemofilias A y B	26
4.- SIDA y VIH	30

4.1.	Epidemiología	30
4.2.	Inmunología y estructura	34
4.2.1	Inmunología	34
4.2.2	Estructura y ciclo viral del VIH	40
4.3	Métodos para la determinación de la presencia del VIH	43
4.3.1	ELISA (ensayo inmuno-absorbente ligado a enzimas)	45
4.3.2	Inmuno-electro transferencias (Western-Blot)	45
4.3.3	EIA (Inhibición competitiva ensayo - inmuno-enzimático)	47
4.3.4	IFA (Inmuno-fluorescencia)	48
4.3.5	Ensayo inmuno-enzimático usando neo-antígenos	49
4.3.6	Determinación de antígeno	50

CAPITULO II. CONTROLES Y MANEJO DEL PLASMA COMO MATERIA PRIMA PARA LA OBTENCION DE HEMODERIVADOS.

1.-	Selección de los donantes	53
1.1	Donantes primerizos	53
1.2	Donantes a los que ya se les ha practicado - la plasmaféresis en el mismo centro	54
1.3	Plasmaféresis	54
1.4	Criterios para la aceptación de donantes ...	55
2.-	Selección del método de análisis de la presencia del VIH en unidades de plasma	58

3.- Recomendaciones para los trabajadores encargados de la plasmaféresis, análisis y fraccionamiento de plasma	59
3.1 Precauciones para los trabajadores del centro de plasmaféresis y de la planta fraccionadora	61
3.2 Conducta ante la exposición parenteral o mucosas	63
3.3 Personal de laboratorio	64
4.- Desinfección y esterilización	65
4.1 Desinfectantes hipoclorito de sodio	66
4.2 Esterilización	66
CAPITULO III. EVIDENCIAS ANALITICAS Y EPIDEMIOLOGICAS QUE GARANTIZAN LA SEGURIDAD DE LOS HEMODERIVADOS.	
1.- Estudios de laboratorio	69
2.- Sistemas de ensayo de VIH en proceso de fraccionamiento de plasma	70
3.- Gammaglobulinas	72
4.- Albuminas	74
5.- Factores de coagulación	75
CONCLUSIONES	79
ANEXO I	82
REFERENCIAS	93
AGRADECIMIENTOS	106

INTRODUCCION

INTRODUCCION

El efecto del SIDA en la Sociedad de los últimos tiempos, se ha hecho notar de diferentes formas.

La enorme cantidad de información que generan los medios de comunicación, han producido una psicosis con respecto a la enfermedad, los enfermos y sus mecanismos de transmisión.

En el año de 1987 el gobierno Mexicano promulgó el decreto que prohíbe la comercialización de la sangre como medida preventiva, para disminuir la propagación de la enfermedad. (83) (82).

Un rubro importante es la obtención de plasma; el cual sirve como materia prima para la fabricación de biológicos hemoderivados de uso profiláctico y terapéutico tales como: concentrados de factores de coagulación VIII y IX, *gamma*-globulinas específicas e inespecíficas, fracción plasmática y albumina; de estos productos en México solo se elaboran y comercializan albuminas y *gamma*-globulinas específicas e inespecíficas, las demás fracciones aunque necesarias para el consumo interno no se hacen y por lo tanto se adquieren como terminados del extranjero. Con la promulgación de esta ley, la manufactura en nuestro país prácticamente ha desaparecido, obteniéndose solamente una pequeña cantidad, a partir del plasma que la Secretaría de Salud da a los productores y que obtiene por la captación altruista de sangre en sus diversas instituciones (IMSS, ISSSTE, C.R., PEMEX, BCS, CNES).

Además en el año de 1983 se dijo en la prensa y televisión nacionales que estos biológicos eran capaces de - - transmitir el V.I.H. en función del uso de plasma contaminado en su elaboración, por lo que el fin de esta industria en nuestro medio es prácticamente irremediable.

OBJETIVO.

Aportar: información, métodos y evidencias que garantizan la producción de hemoderivados tales como: Albuminas, gammaglobulinas específicas e inespecíficas y concentrados de los factores de coagulación VIII y IX, seguros, 100% libres del VIH y que la coagulación de plasma por medio de reconstitución al donador, puede ser manejada de forma ética, dejando de ser una posible forma de diseminación de la enfermedad y que al mismo tiempo pueda aportar información epidemiológica que ayude a seguir el curso del SIDA en nuestro país.

CAPITULO I

CAPITULO I ANTECEDENTES.

1.- Obtención de albumina, gammaglobulinas y factores de coagulación por fraccionamiento de plasma humano según el metodo de Cohn-Onoley.

La separación de proteínas, Lipoproteínas, Isoaglutininas, Protrombina, B Lipoprotéinas y Plasminógeno a partir de Plasma Humano. Fue desarrollada por el Dr. E. J. - Cohn de la escuela de medicina de Harvard con respecto a - la obtención de albumina y concluida por J. L. Onoley en - la misma institución para gammaglobulinas y factores de la coagulación, dicho método vino a cubrir problemas presentados durante la guerra; al final de la década de los 30 se necesitaba algo para usar en el tratamiento de los heridos que perdían gran cantidad de sangre.

El corto tiempo de almacenaje de la sangre (a lo sumo una semana), llevo a la investigación que condujo a la habilidad de preparar plasma liofilizado seco, el cual puede tener un largo período de vida. Para producir plasma seco, se extrajo y se unió con el de otros muchos donantes. Las células rojas, plaquetas y células blancas por su corto período de vida se descartaban.

Una dificultad con el plasma desecado era la naturaleza poco práctica del paquete para usarlo en el campo. Este consistía de una botella de agua y el equipo necesario para redissolver el plasma, antes de su infusión. La re- - constitución tomaba un tiempo considerable y algunas veces resultaba imposible hacerlo bajo las condiciones de un campo de batalla. Así, una sugerencia hecha por el Dr. E. J.

Cohn de aislar y concentrar la proteína de la albumina del plasma (la fracción del plasma responsable de corregir el shock hipovolémico) fue rápidamente aceptada. Si dicha fracción fuera concentrada como una solución lista para ser usada, esta no tendría que ser desecada para mantener su condición estable. Esto permitiría a la albumina ser llevada en su propio frasco, en condiciones de batalla y ser infundida inmediatamente a través de un equipo de administración simple. Para la primavera de 1942, ya se disponía del método (que hasta la fecha prevalece) y que fue rápidamente adaptado a la producción comercial. Posteriormente se hizo lo mismo para la producción de gammaglobulinas las cuales habían demostrado capacidad en la prevención o modificación de varias enfermedades. (14a).

El método de fraccionamiento se apoya en el control de solubilidad relativa en un sistema multivariable, para este fin se regulan parámetros tales como:

a) pH.- Ciertas proteínas se pueden separar en sistemas acuosos gracias a su insolubilidad en su punto isoeléctrico.

b) Fuerza Iónica.- Las sales neutras a baja concentración (fuerza iónica baja) incrementan la solubilidad de muchas proteínas. Las sales de iones divalentes tales como $MgCl_2$ y el $(NH_4)_2SO_4$ son más eficaces en la solubilización que los monovalentes tales como NaCl, KCl y NH_4Cl . (solubilidad por salado).

Por otra parte, a medida que las concentraciones de sales aumentan (fuerza iónica alta) una proteína puede ser

insolubilizada y precipitada de la solución (insolubilidad por salado).

c) Adición de disolventes.- La adición de disolventes orgánicos neutros miscibles con el agua, particularmente alcohol, disminuyen la solubilidad de la mayoría de las proteínas globulares en el agua, de tal manera que precipitan de su disolución. Esto en función de la constante dieléctrica del medio, el etanol posee una constante menor a la del agua, su adición a una disolución acuosa de proteína incrementa la fuerza de atracción entre las cargas opuestas, disminuyendo de este modo el grado de ionización de los grupos R de la proteína. Como resultado las proteínas tienden a agregarse y precipitarse.

d) Temperatura.- Dentro de una fluctuación limitada entre los 0 y los 40°C, la mayor parte de la solubilidad de las proteínas globulares aumenta al aumentar la temperatura, sin embargo al rebasar los 40°C la estabilidad de las proteínas disminuye y se desnaturalizan. Por lo que en adición a la presencia de disolventes como el etanol que también puede desnaturalizar la proteína, lo ideal es trabajar el fraccionamiento a temperaturas alrededor de los 0°C.

e) Concentración de proteínas.- En soluciones diluidas y concentradas se presenta diferentes grados de solubilidad en las proteínas, a una concentración determinada se pueden conocer los efectos de los demás factores regulables en un fraccionamiento proteico.

En la anexo No. 1 se recusa el método de fraccionamiento y las condiciones óptimas para la obtención de con-

centrados de alta pureza, estabilidad y potencia de gamma-globulina, albumina y factores de coagulación (1, 51, 14).

2.- Plasmaféresis.

La plasmaféresis en el ser humano es un procedimiento ético e inocuo desde el punto de vista médico, siempre que se tomen medidas adecuadas para proteger la salud de los donantes. En la medicina existen necesidades válidas de derivados del plasma que se pueden satisfacer obteniéndolos por este procedimiento, si bien se deberá entender que ninguna operación de este tipo se habrá de llevar a cabo sin el conocimiento del gobierno, responsable de la salud de la nación.

Por ejemplo, son más eficaces las inmunoglobulinas de origen humano que las de origen animal; aquellas permanecen mayor tiempo en la circulación y no entrañan el riesgo de hipersensibilización a las proteínas animales. Corresponde a las autoridades nacionales de salud decidir acerca del tipo y el origen de las inmunoglobulinas que se usen en sus servicios de salud; es decir, si se ha de inmunizar animales para obtener globulinas hiperinmunes que se apliquen a seres humanos, si se debe fraccionar la sangre normal tomada de los donantes o si se inmunizará a éstos para que suministren inmunoglobulinas humanas. Sea como fuere, se deberá contar con servicios de laboratorio donde se seleccionen los materiales de origen y se inspecciona la calidad de los productos finales.

La plasmaféresis se viene practicando desde hace muchos años, y en los países desarrollados no se ha observa-

do que comporte riesgos inaceptables para la salud si se practica del modo apropiado. No obstante, cada país deberá decidir la manera en que se lleve a cabo, tomando en consideración la salud del donante, la frecuencia con que se efectúe el procedimiento, el volumen de plasma extraído y la demanda nacional de derivados del plasma.

Es importante que las autoridades sanitarias nacionales cuenten con registros de todos los centros y procedimientos de plasmaféresis. Es menester que se proteja la salud de los donantes y se garanticen la inocuidad y la calidad del plasma y sus derivados.

La inmunización de donantes para obtener inmunoglobulinas específicas requiere atención especial. Únicamente se usarán con este propósito vacunas que satisfagan las normas pertinentes de la OMS o vacunas experimentales aprobadas por las autoridades competentes. Cuando se utilizan eritrocitos u otros inmunógenos, como ciertas sustancias derivadas de grupos sanguíneos, se tomarán en cuenta varias condiciones adicionales. (50a).

2.1 Definición: La plasmaféresis es un procedimiento por el cual se extrae sangre entera a un donante, se impide su coagulación inmediatamente después de extraerla y se separan sus componentes por métodos continuos o discontinuos. Como parte de este procedimiento, los eritrocitos que se han separado se devuelven al donante por infusión intravenosa. Toda plasmaféresis debe ser supervisada cuidadosamente por un médico y ningún donante se someterá a

este procedimiento a menos que se haya informado con minuciosidad acerca de los posibles riesgos y se obtenga antes de la donación su consentimiento escrito.

El número, el tipo y la frecuencia de los exámenes - que se hagan al donante dependerán del volumen de plasma - extraído y de la frecuencia de esta extracción en un período determinado.

El plasma obtenido por plasmaféresis se utiliza para efectuar transfusiones o para elaborar sustancias terapéuticas, profilácticas o de diagnóstico.

Donaciones por plasmaféresis.

La plasmaféresis se puede practicar con tres grados - diferentes de intensidad.

En el primer grado el donante participa en un programa de plasmaféresis una o dos veces al año.

En el segundo grado, el donante participa en un programa de plasmaféresis en que la cantidad de plasma que se extrae y la frecuencia de su extracción se plancan de manera que el volumen de suero y la velocidad de síntesis de la proteína sérica vuelvan a las cifras normales antes - de que se efectúe una nueva extracción.

El tercer grado, que se permite en algunos países, - consiste en la extracción de 1000 - 1200 ml. de plasma por semana o 50-60 litros por año a cada donante. Varios estudios realizados en donantes incorporados a este tipo de programa han puesto de relieve que si bien las concentraciones de proteínas plasmáticas varían en relación con -

los valores iniciales, pueden mantenerse dentro de los límites normales aceptados. Sin embargo, en estudios fisiológicos se ha encontrado que, en estas condiciones de plasmaféresis, la velocidad de síntesis de las proteínas del plasma no siempre ha vuelto a tener los índices normales antes de la siguiente extracción. En estas personas se debe vigilar el régimen alimenticio. (12).

3.- Características y aplicaciones médicas de las gammaglobulinas, albuminas y factores de la coagulación.

3.1 Albumina.

3.1.1 Funciones principales. 1) Mantener la presión oncótica 2) Transporte de nutrientes, medicamentos, pigmentos, enzimas, hormonas y oligoelementos a todo el organismo.

La función de las moléculas con actividad oncótica consiste en retener agua en la sangre, siendo la albumina uno de los numerosos factores que contribuyen a la fluidez intravascular. Otros factores aparte de las proteínas son la concentración de eritrocitos, la presión hidrostática intravascular e intersticial, el tono arteriolar y el metabolismo de la sal y el agua. La albumina se distribuye tanto en el plasma como en el espacio extravascular y la que existe en éste se encuentra disponible para reintegrarse al plasma con rapidez.

Como solo son eficaces los medicamentos "libres", no fijados, y muchos de uso corriente penetran en los receptores celulares o se fijan a ellos, la concentración de la albumina sérica es importante por cuanto que ésta proteína

actúa como intermediaria de la respuesta del organismo a los medicamentos. En términos de la interacción de estos, si los valores de la albumina se reducen, las concentraciones de medicamentos libres se pueden alterar rápidamente y producirse concentraciones no farmacológicas o sobrevenir una toxicidad súbita.

Estas reacciones dependen de la velocidad y el grado en que se acumulen los medicamentos y los metabolitos. La dinámica de la fijación de los medicamentos puede ser afectada tanto por la hipo-albuminemia como por ciertas enfermedades. La albumina también influye en la actividad enzimática. (73).

3.1.2 Uso clínico de la albumina.

Indicaciones generales para el uso de soluciones de albumina..

- 1) Pérdida temporal excesiva de albúmina y/o disminución de su síntesis; por ejemplo, en caso de quemaduras y grandes intervenciones quirúrgicas.
- 2) Exsanguíneo transfusión; por ejemplo, en la incompatibilidad Rh (ictericia del recién nacido) y la plasmaféresis terapéutica.
- 3) Intervenciones especializadas: a) Hemodiálisis, por ejemplo en diabéticos con nefropatías terminales y anéfricos hipertensos; b) circulación extracorpórea, como en la cirugía cardiopulmonar con derivación de la corriente sanguínea.
- 4) Tratamientos de ciertos pacientes en unidades de cuidados intensivos.

5) Hipovolemia. El choque traumático ha sido tradicionalmente una importante indicación del uso de albumina.

6) Enfermedades agudas que se acompañan de hipoalbuminemia con menos de 20-25 g/l; por ejemplo, nefrosis aguda o insuficiencia hepática aguda. (74,35).

3.2 Gammaglobulinas.

Las inmunoglobulinas son concentrados de anticuerpos que se elaboran principalmente de plasma obtenido por plasmaféresis o de sustancias placentarias. La mayoría de las inmunoglobulinas se administran por vía intramuscular, pero en ciertas circunstancias se emplean preparaciones intravenosas.

Las inmunoglobulinas humanas normales se obtienen de plasma procedente de un grupo de donadores normales y deben tener una concentración mínima de anticuerpos contra diversos antígenos víricos y bacterianos. La concentración de anticuerpos en las preparaciones de estas inmunoglobulinas debe ser por lo menos 10 veces superior a los materiales de origen.

Las inmunoglobulinas específicas se preparan a partir de materiales de origen que contienen concentraciones elevadas de anticuerpos y de los cuales se seleccionan los más convenientes o se obtienen por inmunización o hiperinmunización de los donantes. A diferencia de las inmunoglobulinas normales, las inmunoglobulinas específicas deben tener un título especialmente elevado de anticuerpos contra un antígeno por lo menos.

En las preparaciones para uso intramuscular la concentración de proteínas de las inmunoglobulinas humanas normales oscila entre 150 g/kg y 180 g/kg (15-18%) y en las inmunoglobulinas humanas específicas varía entre 100 g/kg y 180 g/kg (10-18%). Las inmunoglobulinas humanas para uso intravenosa se administran como soluciones de proteínas en concentración aproximada de 50 g/l.

Las preparaciones de inmunoglobulina para aplicación intramuscular suelen contener tiomersal 1:10000 como agente conservador y ácido aminoacético (glicina) en proporción de 0.3 mol/l, como estabilizante. En forma líquida se pueden conservar tres años a 5° C - 3° C. (4).

La molécula de IgG de las inmunoglobulinas humanas se puede disociar durante el almacenamiento, siendo atribuible esta degradación a la presencia de proenzimas plasmáticas activadas que contaminen los productos.

Si una inmunoglobulina humana preparada para usarse por vía intramuscular se administra por vía intravenosa pueden sobrevenir reacciones anafilactoides graves que ponen en peligro la vida, particularmente en pacientes con agammaglobulinemia. Por lo tanto, no se deberá aplicar inmunoglobulina humana a este tipo de pacientes a menos que haya sido preparada específicamente para usarse por vía intravenosa. No se conoce aún bien la patogenia de estas graves reacciones secundarias ni las sustancias presentes en las inmunoglobulinas que las causan. Es posible que tenga importancia la presencia de agregados de inmunoglobulina. (68, 33).

Las inmunoglobulinas para uso intravenoso se pueden -- clasificar en preparaciones de IgG modificada por enzimas, -- preparaciones de IgG modificada químicamente y preparaciones de IgG muy purificada.

1) Preparaciones de IgG modificadas por enzimas: En la elaboración de los productos pertenecientes a este primer grupo se utilizan diversas enzimas proteolíticas, particularmente pepsina y plasmina. Las preparaciones resultantes de IgG -- fragmentada contienen hasta el 50% de inmunoglobulina intacta. Sin embargo en la mayor parte de estas preparaciones la mayoría de moléculas de IgG se fragmentan. El índice de reacciones secundarias con las preparaciones muy fragmentadas es sumamente reducido y aumenta en las menos fragmentadas.

La vida media biológica de estos productos depende de las -- proporciones que alcance la degradación por enzimas, siendo de pocas horas la de preparaciones muy fragmentadas, en tanto que en las de menor degradación puede ser de varios días.

2) Preparaciones de IgG modificada químicamente: Las inmunoglobulinas de este grupo se tratan con agentes químicos de -- pequeña masa molecular relativa, (alquilación con iodoacetamida) que tienen una reactividad conocida con las proteínas, ya sean globulinas intactas o moléculas de IgG fragmentadas. En comparación con la IgG modificadas por enzimas, las preparaciones modificadas químicamente poseen una vida media más prolongada, si bien no tanto como la IgG original. Se ha observado que en ciertos casos las inmunoglobulina de este grupo causan reacciones adversas.

3) Preparaciones de IgG muy purificada: Estas preparaciones para uso intravenoso contienen gran cantidad de IgG purificada. El proceso de elaboración se ha ideado de manera que se

impida la formación de cualquier sustancia que pueda causar reacciones desfavorables (anafilácticas que pueden llegar - hasta colapso vasomotor y la muerte) o se logre que esa sustancia se destruya o elimine. La vida media biológica de - las globulinas que contienen estas preparaciones es la normal de 23-28 días. Gran parte de las moléculas de IgG se halla en su forma intacta y su segmento Fc conserva plena actividad biológica.

Es bien sabido que varias actividades biológicas importantes dependen del segmento Fc de la molécula de IgG, incluso la fagocitosis de microorganismos recubiertos de anticuerpos, activación del sistema del complemento, por la fijación de complejos de antígenos y anticuerpos a los receptores del segmento Fc de células como los macrófagos y su destrucción intracelular, estas propiedades del segmento Fc se alteran - considerablemente en las preparaciones de IgG modificada por agentes químicos y están totalmente ausentes en las modificaciones por enzimas. (66, 50, 13).

3.2.1 Materiales de Origen.

De la sangre entera, por plasmaféresis se puede obtener plasma que contenga cantidades adecuadas de anticuerpos para elaborar preparaciones de inmunoglobulinas. Las inmunoglobulinas también se pueden extraer del plasma de donantes que - hayan adquirido inmunidad por exposición natural a un antígeno o estén participando activamente en programas de inmunización.

Como material de origen de inmunoglobulinas normales pueden servir por igual la placenta entera y la sangre o el suero placentarios o retroplacentarios. (71a).

Los poseedores de concentraciones elevadas de un anticuerpo se identifican efectuando exámenes al azar entre los donantes o escogiendo a individuos que convalecen de determinadas enfermedades.

Cuando exista la necesidad válida desde el punto de vista médico de contar con inmunoglobulinas específicas que no sea posible conseguir en cantidad suficiente entre los grupos de donantes mencionados, se podrá llevar a cabo la hiperinmunización. Por esto se entiende el empleo de vacunas o inmunógenos incluso eritrocitos, para estimular la producción de "novo" de anticuerpos o aumentar las concentraciones de los que ya existen en los donantes por medio de dosis y frecuencia de administración distintas de las recomendadas para la inmunización habitual. Todos los antígenos que se utilicen para la inmunización de donantes deberán estar registrados ante las autoridades sanitarias nacionales o estar reconocidas por ellas, o bien se les notificara su uso y serán suministrados por establecimientos registrados.

El antígeno, la vía de administración, las dosis y el plan de inmunización serán elegidos por un médico autorizado, que también se encargara de observar las reacciones adversas y la respuesta de anticuerpos.

El plan de hiperinmunización con cada antígeno se sometera a la aprobación de las autoridades sanitarias nacionales y se hara cuanto sea posible para aplicar la cantidad mínima de dosis e inyecciones. Al organizar un programa de inmunización se tendrán en cuenta, como mínimo las consideraciones siguientes:

- 1) El método de valoración de los anticuerpos.
- 2) La concentración mínima de anticuerpos requerida.
- 3) Los datos en que se basan los intervalos entre las inyecciones y la dosis total propuesta para cada antígeno.
- 4) La cantidad total de cada antígeno que se puede administrar a un posible donante para que el médico responsable pueda decidir si responderá o no a su aplicación.

No se procederá a la hiperinmunización de donante alguno con más de una preparación inmunizante.

Todo donante será informado del procedimiento de inmunización por un médico registrado e invitado a participar en una discusión abierta, que en algunos países se inicia en grupos pequeños de posibles donantes; a) incitando a consultar a su médico antes de aceptar la inmunización; b) notificando de que se facilitara plena información al médico que el elija sobre el procedimiento propuesto para la inmunización, c) requerido a que manifieste su conformidad firmando un formulario en el que declare su consentimiento. (61).

3.2.2 Usos clínicos de las inmunoglobulinas.

a) Inmunoglobulinas humanas normales.

Las inmunoglobulinas normales son eficaces en las inmunodeficiencias humorales y particularmente en la profilaxis del sarampión y la hepatitis A. (52,39,43).

Las preparaciones actuales de inmunoglobulinas normales también son útiles en la profilaxis de la hepatitis B ya que son capaces de neutralizar pequeñas cantidades de virus, sin embargo son algo limitadas en la profilaxis de la rubéola y las vaperas modificando únicamente la intensidad de las enfermedades. (44).

b) Inmunoglobulinas humanas específicas.

1) La inmunoglobulina antitetánica se emplea como agente - profiláctico en los heridos que no han recibido una adecuada inmunización activa contra el tétanos. Se recomienda tam- - bién para el tratamiento de esta enfermedad. (25).

2) La inmunoglobulina contra la hepatitis B se usa en la pro- filaxis de esta enfermedad inmediatamente después de la ex- - posición, y en estos casos es posible que en concentraciones elevadas sea más eficaz que la inmunoglobulina normal. (56, 58, 62).

3) La inmunoglobulina antirrábica se utiliza con fines profi- lácticos después de la exposición junto con la inmunización activa, excepto en el caso en que se ha inmunizado previamen- te con vacuna diploide humana. (39).

4) Se debe contar con cierta cantidad de inmunoglobulina - contra la vaccina (viruela) para casos de urgencia. (71)

5) La inmunoglobulina contra la varicela zoster se aplica - como medida profiláctica a pacientes con immuno-supresión - que han estado expuestos a la varicela. (9).

6) La inmunoglobulina Rho (D) se utiliza para suprimir la - formación de anticuerpos anti-D, particularmente en mujeres Rho (D) negativas que puedan ser fecundas, que hayan recibi- do transfusiones de eritrocitos Rho (D) positivos. (con obje- to de prevenir la enfermedad hemolítica entre los recién na- cidos). (8).

7) La inmunoglobulina antipoliomielítica puede ser útil para la profilaxis de esta enfermedad en personas no vacunadas ex

puestas a riesgos especiales. (29).

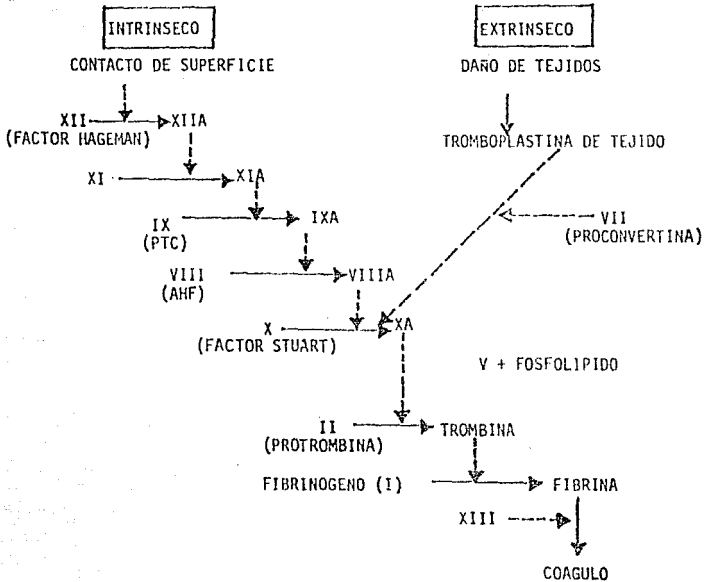
3.3 Factores de Coagulación.

3.3.1 Coagulación de la sangre.

Hay por lo menos 12 entidades biológicas separadas e - identificables que participan en la coagulación de la san-- gre. Un factor actúa sobre otro en la llamada "cascada en-- zimática de la coagulación" la cual produce un coagulo de - fibrina como término de dicha reacción. La coagulación pue - de ser iniciada desde el interior de los tejidos sanguíneos (vía intrínseca) y desde el exterior en tejidos dañados - (vía extrínseca). (15).

Factor	Denominación
I	Fibrinógeno
II	Protrombina
III	Tromboplastina
IV	Calcio
V	Proacelerina
VII	Pro-convertina (procoagulante)
VIII	Factor antihemofílico A (AHF)
IX	Factor antihemofílico B
X	Factor Stuart-Prower
XI	Antecedente plasma tromboplastina (PTA)
XII	Factor Hageman
XIII	Factor estabilizador de fibrina (FSP)

ESQUEMA GENERALIZADO DE LA COAGULACION
DE LA SANGRE



3.3.2 Hemofilia.

La hemofilia es una enfermedad en la que hay ausencia o cantidades reducidas de factor VIII o de factor IX que son proteínas esenciales de la coagulación. La deficiencia del factor VIII (Hemofilia clásica o hemofilia A) representa aproximadamente el 80% del total de hemofílicos. La deficiencia del factor IX (Enfermedad de Christmans o Hemofilia B) representa el remanente 20%. Esta enfermedad es heredada a través de genes recesivos ligados al sexo y afecta a los hombres únicamente. Las mujeres son portadoras de la característica pero casi nunca están afectadas.

La severidad de esta enfermedad depende enteramente del nivel circulante del factor VIII o IX. Generalmente a los pacientes se les cataloga como hemorrágicos severos o moderados. Es el sangrador severo con nivel de factor VIII menor de 1%, quien nos concierne, ya que el hemofílico moderado, con nivel de factor VIII de 5%, generalmente no tiene necesidad de la terapia de reposición. Aproximadamente el 60% de hemofílicos del factor VIII tienen deficiencias graves, mientras que solo el 44% de los de factor IX tienen deficiencias graves. (14a).

Aunque las cortaduras y laceraciones accidentales representan un peligro, los episodios sangrantes de los hemofílicos son más comúnmente internos particularmente dentro de las articulaciones, resultado de caídas y tropezones.

Como resultado de estos incidentes hemorrágicos, las articulaciones son severamente dañadas, y con frecuencia se

vuelven inmóviles o "congelados". Los efectos de esta enfermedad son así primordialmente ortopédicos por naturaleza y el hemofílico que no recibe cuidado apropiado puede en contrarse confinado a una silla de ruedas para toda la vida o padecer alguna deformación de tipo desfigurativo.

La enfermedad de Von Willebrand es un desorden sangrante congénito caracterizado por sangrado de las membranas mucosas. Además de un prolongado tiempo de sangría y reducción en la adhesividad de las plaquetas, las pruebas de laboratorio muestran reducción de los niveles de factor VIII y por eso, están indicadas preparaciones de ANF cuando se requieren transfusiones en casos severos. (27, 24).

3.3.3 Productos usados en el tratamiento de las hemofilias A y B.

FACTOR VIII

1. Concentrado de factor VIII
2. Crioprecipitado
3. Plasma fresco congelado

FACTOR IX

1. Concentrado factor IX
2. Plasma fresco congelado o plasma pobre en crioprecipitado.
3. Sangre íntegra

Estos productos están listados de acuerdo a su preferencia por sus cualidades terapéuticas. Los crioprecipitados se elaboran en los bancos de sangre locales después que una unidad de sangre íntegra es extraída de un donante. Si se almacena correctamente (entre menos 20° y 30° C) se conserva alrededor de un año. Para producir plasma fresco congelado, el banco de sangre suele usar sistemas cerrados de 2 ó 3 bolsas. El crioprecipitado puede ser o no ser retira

do del medio. Se extrae sangre íntegra en una de esas bolsas y se centrifuga el plasma se transfiere en tomas a una segunda bolsa la cual se congela inmediatamente y puede ser usado en el tratamiento de cualquier hemofilia porque contiene todos los factores de la coagulación. El crioprecipitado puede aún ser cosechado de esta unidad en la tercera - bolsa antes indicada, sin el crioprecipitado el plasma ya - no presenta actividad para el factor VIII pero aún contiene los otros factores de la coagulación.

Para transfundir estos productos el hemofílico debe ingresar a un hospital. El crioprecipitado se conserva en un refrigerador especial a $- 25^{\circ} \text{C}$, el factor VIII es lábil y a temperaturas mayores pierde su actividad.

Los concentrados preparados de plasma son liofilizados estables por largos períodos de tiempo a temperaturas ordinarias de refrigeración y pueden ser infundidos después de su reconstitución con una jeringa común.

Características de concentrados de factores antihemofílicos
VIII y IX.

Factor VIII

Usualmente se comercializa en 3 presentaciones.

Volumen diluyente	Potencia AMF promedio
10 ml.	250
20 ml.	500
40 ml.	1000

La potencia varía de lote a lote pero ésta se indica en la etiqueta de cada frasco para que el médico calcule la -

cantidad necesaria para el paciente.

Característica: Ventajas con respecto a plasma - fresco y crioprecipitados.

1.- Dosis de volumen pequeño.

Administrado con jeringa sin necesidad de equipo intravenoso. Sin peligro de sobre carga circulato--ria cuando se requieren dosis ma--sivas como por ejemplo; cirugías - ortopédicas muy conveniente para auto-infusión.

2.- Potencia señalada en cada frasco.

El médico puede calcular la dosis precisa y elimina una gran canti--dad de determinaciones de poten--cia o adivinanzas como en criopre--cipitado.

3.- De 11 a 14 h. de vida media - después de su re constitución.

Comparativamente igual al plasma - fresco congelado y al crioprecipi--tado (descongelados).

4.- Bajo en fibrinógeno y proteína total.

La mayoría de la proteína innecesaria

ría ha sido removida de el producto, minimizando la respuesta inmune a proteínas extrañas.

5.- Producto muy soluble se disuelve completamente en 3 minutos.

Elimina de horas al infundir pacientes en clínicas saturadas.

6.- Probado para hepatitis B por radio inmuno ensayo.

Reduce el riesgo de transmisión de hepatitis B.

7.- Probado para anticuerpos contra VIH por ELISA.

Reduce el riesgo de transmisión del SIDA.

8.- Tratamiento con calor a temperatura regulada.

Elimina el riesgo de transmisión de enfermedades virales. (50a).

Factor IX.

Se comercializa usualmente en frascos con 500 unidades de factor IX y cantidades proporcionales de los factores II, VII y X (Dependientes vitamina K).

Característica.

Ventajas con respecto a plasma fresco y crioprecipitados.

1. Dosis a pequeño volumen.

Se puede administrar con jeringa.

2. Alta concentración. Una dosis de 20 ml es igual a -
500 ml de plasma fresco congela-
do.
3. No requiere de re--
frigeración hasta -
por un período de -
un mes. Facilita al paciente el viajar y
le permite cierta movilidad ya -
que se puede llegar a distribuir
por correo.
4. No contiene sustan-
cias vasoactivas. Menos potencial de efectos secun-
darios. (3).

4. SIDA y VIH.

4.1 Epidemiología.

La pandemia del SIDA se denunció en 1981 y a pesar de -
la basta información existente su potencial muchas veces es
sobrestimado o subestimado. Los datos actuales hablan de
250 000 casos manifiestos y se asume que debe haber 5 o 10
millones de infectados en todo el mundo, por lo tanto se es-
pera la aparición de cerca de un millón de casos en el trans
curso de los próximos 5 años.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) por medio del
programa mundial de lucha contra el SIDA, coordina los con-
troles y registros mundiales del SIDA y de esta manera ha de
finido su distribución en el mundo.

Sin embargo la mayoría de los casos de SIDA ocurridos en los países en vías de desarrollo no han sido informados a la OMS, por falta de reconocimiento y diagnóstico.

Los miles de casos de SIDA que se detectan cada año - posiblemente comensaron a propagarse ampliamente en los años setentas, no obstante que en muestras de sangre obtenidas en Zaire en 1959 se encontraron anticuerpos contra el VIH. El origen geográfico del VIH está aún por determinar, aunque existen evidencias que hacen suponer que el inicio de su desarrollo se generó en África Central y de ahí se extendió a todo el mundo. (18).

Se define ya la forma de transmisión del VIH. Los estudios efectuados indican que el virus se transmite por contacto sexual (vaginal o anal), por inyección o administración de sangre infectada y de madre infectada a hijo. (53, 21, 37).

No hay pruebas de infección por medio de picaduras de insectos, al toser o estornudar, alimentos, no se ha transmitido a individuos de una misma escuela, local de trabajo e inclusive a personal de la salud que ha trabajado durante mucho tiempo y de forma estrecha con personas infectados o materiales y equipos involucrados en el tratamiento de los mismos.

Por lo tanto, se debe evitar que los hechos básicos relacionados con la transmisión sean distorsionados por manifestaciones o rumores populares. El conocimiento de como se propaga y como no se propaga el VIH, resulta crítico para el desarrollo de medidas de control adecuadas y eficaces.

Puesto que la infección por VIH suele preceder, en varios años al desarrollo del SIDA, además de los casos declarados, se deben recoger datos sobre el número o proporción de personas que han contraído el virus. Esos datos serológicos revelan la presencia en la sangre de anticuerpos contra el VIH en personas infectadas. (63).

Actualmente se reconocen claramente tres pautas de la epidemia.

La pauta de tipo I es característico de los países industrializados con un número elevado de casos declarados. México, Estados Unidos, Canadá, Sudamérica, Europa Occidental, Australia y Nueva Zelanda caen en este esquema. Algunas regiones del norte de África aunque no son desarrolladas también lo cumplen. (17). La mayor parte de los casos se dan en varones homosexuales o bisexuales y consumidores de droga por vía intravenosa. La transmisión heterosexual responsable de un bajo porcentaje de casos aumenta. Hubo transmisión por transfusiones de sangre o de productos hemoderivados entre finales de los setentas y 1985, pero se ha conseguido eliminar esa vía casi del todo conviniendo a la gente inmersa en los grupos de alto riesgo de que se abstuviera de donar sangre y gracias al rastreo rutinario de anticuerpos contra el VIH entre los donantes de sangre. Las agujas sin esterilizar no constituyen un factor relevante en la transmisión del VIH. En las zonas que siguen la pauta de tipo I, la razón varón/mujer de sidosos varía entre 10 a 1 y 15 a 1. Dado el escaso número de mujeres infectadas en esos países, la transmisión perinatal no es frecuen-

te. De acuerdo con los datos serológicos, la cifra de infectados es menor al 1% de la población global y hasta un 50% en las personas con comportamiento de alto riesgo (Homosexuales promiscuos y drogadictos por vía intravenosa). (31)

La pauta tipo II se observa en Africa Meridional, Central, Oriental, y el Caribe; a diferencia de la pauta tipo I la relación varón/hembra de sidosos es uno a uno, la transmisión entre homosexuales y drogadictos vía intravenosa es muy baja, y la transmisión perinatal es frecuente. Según datos serológicos, la cifra de infectados varía de entre 1 a 20% de la población.

La pauta tipo III predomina en Europa Oriental, Norte de Africa el Oriente Medio y Asia. La enfermedad aquí suele afectar a los que han viajado a zonas de tipo I y II y han mantenido relaciones sexuales con individuos portadores. Recientemente se han detectado en estas zonas casos de transmisión autóctona homosexual, heterosexual y por vía intravenosa. Algunos casos los ha provocado el uso de sangre o productos importados hemoderivados. Según datos serológicos la cifra de infectados varía entre 0 y 0.5% del total de su población.

Con respecto a Africa Occidental, donde se da la pauta tipo II, las infecciones por VIH 2 son mucho más frecuentes que las de VIH 1. Cada día se detectan más casos de SIDA en Africa Occidental; la cuestión sobre si el VIH 2 resulta ser tan patogénico como el VIH 1 continúa sin resolverse y sigue siendo objeto de intensa investigación epidemiológica y clínica. (42).

4.2 Inmunología y Estructura.

4.2.1 Inmunología.

Los primeros casos de SIDA se diagnosticaron en 1981, entre jóvenes homosexuales de los Estados Unidos, se determinó rápidamente que todas sus víctimas sufrían una merma de una subserie específica de células T (las células T_4) - y que, como resultado de ello, caían víctimas de patógenos que serían fácilmente controlados por un sistema inmunológico normal.

Como posible causa se pensó en un retrovirus pues ya se conocía, el HTLV-I, que se transmitía por contacto sexual y por la sangre, además se sabía de la existencia de virus animales causantes de inmunosupresión y cáncer-virus de la leucemia felina (FeLV).

En el año de 1983, a partir de un nódulo linfático inflamado de un joven homosexual se investigó la presencia del virus. se cultivó y a las dos semanas se detectó la presencia de la retrotranscriptasa en el medio, se demostró que este virus no se trataba de los ya conocidos HTLV-I y HTLV-II.

En la búsqueda se descubrió que un virus asociado a linfadenopatías (LAV), crecía en células T_4 pero no en las T_8 , emparentadas con aquellas. Observándose que el virus mataba a las células T_4 o inhibía su crecimiento. Se identificó además, una proteína vírica, P25, que no está presente en los HTLV-1. (23). A partir de este hallazgo se preparó un ensayo en sangre para detectar anticuerpos -

contra el LAV, y de esta manera demostrar inequívocamente que las proteínas corresponden a un virus específico y no a otro. Para fabricar los anticuerpos requiere de grandes cantidades de proteínas víricas purificadas, y ello exige el cultivo del virus "in vitro". Se encontró una línea celular muy adecuada para el desarrollo del virus ya que estas no morían por la infección del virus. Las células procedentes de un paciente leucémico son una línea resistente T₄ leucémica denominada H₉ inmortal en cultivo y por lo tanto, fuente inagotable del virus. (60).

La producción del virus permitió el desarrollo de las metodologías de producción de anticuerpos contra las proteínas víricas, base de la gran cantidad de pruebas existentes actualmente. Se analizaron con los reactivos obtenidos primeramente 124 muestras de pacientes sidosos encontrando resultados positivos entre el 88% y 100% de los análisis, la causa del SIDA quedó identificada. (65).

La suma de observaciones señalada en el siguiente cuadro revelaron que el LAV y el HTLV-III eran el mismo virus. Posteriormente una comisión internacional le asignó el nombre oficial Human Immunodeficiency Virus (HIV). (En español virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

Prueba de que el VIH produce el SIDA.

Sistemas Animales. Varios tipos de retrovirus causan graves deficiencias inmunológicas en animales ejem: virus de la leucemia felina FeLV.

Un virus emparentado con el VIH es el de la inmunodeficiencia de simios (SIV), causa SIDA en los macacos. El segundo virus del SIDA VIH-2 también produce SIDA en los macacos.

Epidemiología.

En todos los países estudiados hasta la fecha el SIDA siempre ha aparecido después de la detección del VIH.

Utilizando técnicas recientes se aisla el VIH en casi el 100% de los individuos afectados por el SIDA.

En los comienzos de la epidemia, el virus se encontraba en los grupos de riesgo para la enfermedad y en casi ningún heterosexual sano.

Datos sobre transfusiones de sangre.

Un estudio sobre receptores de transfusiones de sangre en 1982 y 1983 (cuando la proporción de donantes infectados con VIH era de uno por 2000) demostró que el virus estaba en la totalidad de las 23 personas que habían desarrollado SIDA. Es más, por cada receptor afectado se encontró un donante responsable, también infectado. Hoy la mayoría de esos donantes infectados también han desarrollado el SIDA. (21).

La eliminación de sangre infectada con VIH en las transfusiones por invog

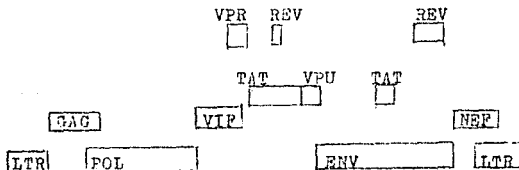
tigación de anticuerpos, ha reducido notablemente el número de casos de SIDA causados por transfusiones.

Estudios de laboratorio.

En el laboratorio, el virus mata las células T_4 , cuya merma constituye un sello del SIDA. Infecta y altera también la función de la línea de los monocitosmacrófagos, que pueden actuar como depósitos de infección de los pacientes de SIDA.

Poco después de demostrarse la reacción causa efecto se clonó y secuenció el material genético del virus, descubriéndose varios genes de control lo cual implicaba una gran complejidad genética, en el virus. (30).

ESTRUCTURA GENETICA DEL VIH



(9 genes identificados hasta el momento).

GEN	FUNCION
GAG	Proteínas Nucleocápside
POL	Enzimas
ENV	Proteína Envoltura
TAC (TAT-3, TA)	Regulador Positivo
REV (ART, TRS)	Regulador Diferencial
VIF (SOR AP: Q)	Factor de Infectividad
VPR (R)	Desconocida
VPV	Desconocida
NEF (3^1 , ORF, B, E^1 , F)	Regulador negativo

Esta complejidad genética es significativa, ya que tiene que ver con la capacidad del VIH para permanecer latente durante un largo período y replicarse después rápidamente, - un patrón de comportamiento que puede ser la clave de la patología del SIDA.

El mecanismo utilizado por el virus para infectar las - células T_4 quedó claro cuando se demostró que el VIH entra - en la célula diana interaccionando con la molécula llamada - CD_4 . Este receptor CD_4 , cumple una misión importante en la función inmunológica de los linfocitos T_4 , sirve también de marcador para este tipo de células. Sin embargo se ha descubierto que las células T no son las únicas que poseen el antígeno CD_4 en su membrana. Hasta un 40% de los monocitos de sangre periférica (que madurarían y se convertirían en macrófagos), así como otras células presentadoras de antígeno, un 5% de las células B, células de la piel, ganglios linfáticos, intestino y cerebrales presentan el receptor en cantidades - variables y por lo tanto, con menor probabilidad también son

susceptibles de infección por el VIH.

A fines de 1985 en enfermos de SIDA del occidente Africano, se detectó una especie diferente de virus al cual se le denominó VIH-2, el cual tiene una estructura general parecida al VIH-1 aunque su potencial patogénico no está aún claramente definido. (84a).

Aunque el VIH mata a las células T_4 directamente, está claro que no basta la muerte de tales células para explicar su merma, observada en el SIDA, por lo que se han sugerido varios mecanismos indirectos. La infección por VIH puede provocar que las células infectadas y sin infectar se fusionen en sincitios, formándose células gigantes que no son funcionales. Las respuestas de autoinmunidad también pueden ser factor. Es más, las células infectadas por VIH pueden enviar también señales proteínicas que debiliten o destruyan otras células del sistema inmunitario. Además, el VIH es frágil; cuando las partículas víricas abandonan las células hospedadoras, de la cubierta exterior del virus se desprende una molécula la gp 120 la cual se ha demostrado que puede unirse a receptores CD_4 de células sin infectar. Cuando el sistema inmunológico reconoce este complejo, las células que llevan dicha marca pueden ser destruidas.

Otra posibilidad es que la unión del virus con su célula diana active la liberación de enzimas proteolíticas.

Las proteasas digieren proteínas; si se liberasen en cantidades anormales podrían debilitar a los leucocitos y

acortar su vida media.

Aunque esta claro que una buena dosis de la estirpe adecuada de VIH puede causar SIDA por si misma, hay cofactores que influyen en el avance de la enfermedad.

En la gente que ya antes de la infección virica posee su sistema inmunológico debilitado, la enfermedad se desarrolla mas rápidamente. La estimulación del sistema inmunológico como consecuencia de infecciones posteriores puede también acelerar el desarrollo de la enfermedad.

La interacción con otros patógenos podría incrementar la posibilidad de que se desarrolle SIDA. En concreto, un virus herpes denominado virus linfotrópico humano de las células B (HBLV) o el virus Herpes humano número 6 (HHV-6) pueden interaccionar con él VIH haciendo que se incremente la gravedad de la infección por VIH. Si la célula T_4 sufre infección simultánea por VIH el HHV-6 puede activar el virus latente del SIDA, agravando el debilitamiento del sistema inmunológico y el empeoramiento del ciclo. (83).

4.2.2 Estructura y ciclo viral del VIH.

Virión del VIH. Es una esfera que transversalmente mide unos 1000 angstroms. La partícula está recubierta de una membrana bilipídica procedente de la membrana externa de la célula hospedadora. De la membrana sobresalen glicoproteínas cada una formada por dos componentes, la gp41, que atraviesa la membrana de un lado a otro, y gp 120, que sobresale de ella. La envuelta formada por membrana y proteínas engloban el núcleo del virión, formado por las pro-

teínas p24 y p18. En éste se encuentran el ARN del virus la enzima retrotranscriptasa, que cataliza la síntesis del ADN vírico, una integrasa y mas proteasas, por último rodeando - el ARN vírico se encuentran las proteínas p7 y p9.

El ciclo empieza cuando una partícula de VIH se une a la superficie externa de una célula e inyecta en esta su nucleocápside, estructura constituida por dos cadenas idénticas de ARN, proteínas estructurales y enzimas que llevan a cabo los pasos posteriores del ciclo de vida.

La enzima polimerasa del ADN fabrica primero una copia de ADN de cadena sencilla del ARN vírico. La enzima ribonucleasa, destruye el ARN original; la polimerasa sintetiza - una segunda cadena de ADN usando como molde la primera. (El complejo que forman la polimerasa y la ribonucleasa se - conoce como transcriptasa-inversa).

La información genética vírica, ahora en forma de ADN - bicatenario, emigra hacia el núcleo celular. Una tercera - enzima vírica, la integrasa, lleva a cabo la inserción del - genoma del VIH en el ADN de la célula hospedadora a partir - de ese momento el ADN vírico (el provirus) se duplica conjuntamente con los genes de la célula cada vez que ésta se divide. Concluido el proceso la infección se torna permanente.

La segunda mitad del ciclo de vida del virus la producción de nuevas partículas víricas ocurre esporádicamente en algunas de las células infectadas. Da comienzo cuando por - medio de enzimas celulares las secuencias de nucleótidos de las denominadas repeticiones terminales largas (LTR), regiones del ADN localizadas en los extremos del genoma vírico, -

inducen la síntesis de ARN a partir del ADN del virus integrado, algunas moléculas de ARN constituirán el material genético de una nueva generación del virus. Otras hebras de ARN actuarán de mensajero, que la maquinaria celular traducirá en las proteínas estructurales de las nuevas partículas víricas y en las enzimas que contienen.

Las partículas, o viriones, están constituidas por múltiples copias de dos moléculas de proteínas distintas, en una relación cercana a 20 a 1. La más abundante es la precursora de la proteína de la nucleocápside que encerrará al ARN y las enzimas de los viriones completos. La otra molécula es mayor, contiene los mismos componentes estructurales mas unos segmentos adicionales de los que se formaran las enzimas víricas. Tras su síntesis, las dos proteínas emigran a la periferia de la célula; un ácido graso une el extremo de cada una de ellas con la parte interna de la membrana celular. Cuando las moléculas precursoras se agregan se unen entre sí y configuran una estructura esférica que abandona la célula por un proceso similar a la gemación, dos cadenas de ARN vírico se introducen en el virión cuando éste toma forma.

Una de las enzimas contenidas en la cadena precursora mayor se ocupa del paso final de la producción del virus. Es una proteasa, que corta su región no agregada y libera otras enzimas de las moléculas precursoras mayores (la ADN polimerasa, la ribonucleasa y la integrasa, así como más moléculas de proteasa). A continuación divide los precureores cortos y lo que resta de los grandes en cuatro segmentos ca

da uno. Tres de ellos se condensan en un nucleocápside en forma oval que rodea al ARN y a las enzimas mientras que el fragmento restante permanece unido a la zona interna de la membrana celular.

Una vez completado el cierre de la nucleocápside, y a medida que brota de la célula, esta se envuelve en un fragmento de membrana celular. La cubierta lleva el elemento estructural final del VIH: la proteína de la envoltura, que sobresale de la membrana a modo de diminuta espícula y que se sintetiza y se transporta hasta la superficie celular por una ruta independiente, de la que siguen las proteínas de la nucleocápside. Cada espícula es un complejo de dos o tres unidades idénticas constituidas a su vez por la asociación de dos componentes. Uno de ellos denominado glucoproteína 120 (gp 120) por su tamaño y por estar fuertemente glucosilado, permanece fuera de la membrana celular; el otro el gp41, se encuentra embebido en la membrana. Los complejos glucoprotéicos, que el virus obtiene cuando adquiere su envoltura, resultan cruciales para la capacidad de infectar nuevas células por parte del VIH. (30).

4.3 Métodos para la determinación de la presencia del VIH

Con respecto a la transfusión sanguínea, las pruebas de detección de el VIH se enfrentan principalmente a dos problemas prácticos. Primero, el número y naturaleza de las células afectadas en la infección provoca que se dificulte su detección. En casos claros de SIDA únicamente una en 100 000 células T existentes contienen el virus. En dona-

doras de sangre que fueron implicados en la transmisión del SIDA y que presentaban anticuerpos contra el VIH, solo se - logro cultivar el virus a partir de sangre periférica del - 88% de ellos.

El segundo problema se refiere a la implementación del método, debido a que la mayoría de las técnicas son complejas, ocupan mucho tiempo y son muy caras.

Por otra parte aunque existen varios métodos autorizados legalmente en diferentes países por los gobiernos locales ejem: The United States Food and Drug Administration - (FDA) ó en México la Secretaría de Salud (S.S.), para la detección de anticuerpos contra el VIH, (principalmente ELISA) los cuales han probado su sensibilidad (número de falsos negativos) y especificidad (número de falsos positivos), aún se persigue la mejora de dichos métodos. (60).

No obstante los datos epidemiológicos sugieren que el corrimiento de pruebas para detectar anticuerpos contra VIH son lo suficientemente sensibles, como para prevenir más - transmisiones. Sin embargo incrementar la seguridad en - transfusiones de sangre solo se lograra con el aumento de la sensibilidad, por lo que los esfuerzos para perfeccionar las pruebas de detección de anticuerpos ha sido enfocado a un - incremento de la sensibilidad de los inmunoensayos usando - contro aproximaciones generales: Inmunolectrotransferencia (Immunoblot o Western Slot), Inhibición Competitiva (EIA), Inmunofluorescencia (IFA) y por el uso de neoantígenos genarados por técnicas de DNA recombinante o síntesis de pep- - tidos. Inclusive combinaciones de éstas son usados en algunas pruebas.

4.3.1 ELISA (Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas)

El análisis de ELISA se emplea para detectar antígenos o anticuerpos.

Para detectar anticuerpos el antígeno se fija a una base sólida, se incuba con suero de prueba y luego se incuba con antiinmunoglobulina marcada con una enzima. La actividad enzimática adherente a la fase sólida es relacionada entonces con la cantidad de anticuerpo ligado. Para medir el antígeno, el anticuerpo se enlaza a la fase sólida, se añade una solución de prueba que contiene antígeno, y luego un segundo anticuerpo marcado con una enzima. Luego se añade el sustrato y se relaciona la actividad enzimática con la concentración del antígeno. Las enzimas empleadas con más frecuencia incluyen: a la peroxidasa de rábano, fosfatasa alcalina, lisozima y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Estas enzimas se acoplan a antígenos o anticuerpos mediante agentes de enlace cruzado, particularmente el glutaraldehído y la del maleimida.

Las ventajas de los inmunoanálisis enzimáticos incluyen la sensibilidad (rango de ng/ml), simplicidad, estabilidad de los reactivos, sin riesgo de radiación, fácil automatización y bajo costo. (45).

4.3.2 Inmunolectrotransferencia. (Western Blot).

La más común variación de este método es conocido como Western Blot. Las proteínas virales y glicoproteínas se obtienen a partir de lisados de cultivos virales o por medio

de técnicas de DNA recombinante, se purifican y se separan en gel de poliacrilamida por electroforesis junto con marcadores de peso molecular. Las proteínas separadas se traspasan a tiras de papel de nitrocelulosa por electroforesis (blotted). Las tiras se incuban dentro de la muestra de suero o plasma y los anticuerpos (si los hay) se enlazan a las proteínas virales. Se adiciona un anticuerpo anti IgG marcado con Biotina, las bandas desarrollan color por la adición de peroxidasa de rábano en presencia de peróxido de hidrógeno y 4 cloro-naftol (el color de las bandas puede disminuir por almacenaje). La especificidad de esta técnica es mayor comparada con la inhibición competitiva (EIA) porque los anticuerpos reaccionan con proteínas específicas del VIH. Además reacciones no específicas con los componentes de la prueba (células H9, HUT-78 GSM, proteínas bloqueadoras, plástico y otras) son reducidas o pueden ser identificadas. (49).

La interpretación del Western Blot puede ser difícil ya que no siempre es la misma en todas las aplicaciones de la prueba. En algunas situaciones en que la historia clínica no está disponible y no se puede entrevistar al sujeto cuyo suero se está analizando el criterio de determinación de positivo o negativo debe ser estricto. De esta manera una muestra de sangre de un donador analizado por Western Blot está definida por la presencia de reacción en las bandas que representan a las proteínas p 24, p 31 y gp 41 o gp 160. (10).

Por otra parte una muestra de sangre es considerada ne

negativa si ninguna banda presenta reacción. Sin embargo, si una persona está considerada dentro de alguno de los grupos de riesgo y presenta linfadenopatía y diarrea con la presencia en la prueba de las bandas p 24 y gp 41, presupone la infección con un alto grado de certeza.

Es necesaria la presencia de reactividad de las proteínas sintetizadas por los tres genes mayores (gag, env y pol) para la más segura definición de positivo, sin embargo en sentido estricto esta definición da muchos resultados indeterminados. Por otra parte algunas infecciones provocan presencia elevada de anticuerpos que generan reacciones inespecíficas. Al efectuar un reanálisis a los seis meses se puede aclarar el estatus de anticuerpos de individuo infectado o no. (14b).

4.3.3 EIA (Inhibición competitiva ensayo inmunoenzimático).

Esta prueba es idéntica a la que se realiza en bancos de sangre y centros de plasmaféresis para la detección de la hepatitis. La especificidad se obtiene gracias a la competencia de los anticuerpos de la muestra con los anticuerpos marcados y de cantidad conocida en el kit de prueba: Una disminución en la señal de la marca, indica que los anticuerpos de la muestra han desplazado a los anticuerpos marcados, efectuando una comparación con controles que no contengan anticuerpos. Los corrimientos de VIH basados en esta tecnología son de uso frecuente en Europa. Se tienen datos que indican que estas pruebas son sensibles y pueden ofrecer mayor especificidad contra el ensayo inmunoenzimático de rutina -

(EIA o ELISA). La efectividad de esta prueba, depende de las características de los anticuerpos polivalentes obtenidos a partir de pocos pacientes de SIDA, ya que se limita el origen y a la vez el reconocimiento de los distintos epitopes se ve limitado. La misma dificultad debido a la disminución de reconocimiento de epitopes, se encuentra en el uso de anticuerpos monoclonales cuando estos son usados en la competición. Con el conocimiento de la variación de la expresión antigénica del VIH en diferentes puntos geográficos, es posible lograr que este método contenga una amplia gama de anticuerpos para que la competición sea adecuada. (81).

4.3.4 IFA (Inmunofluorescencia).

Las células T infectadas con VIH son inactivadas y fijadas a un porta-objetos con acetona/metanol seguida de la incubación de las células con el suero de prueba, una inmunoglobulina antihumana marcada con fluorescencia se utiliza para identificar a la IgG humana enlazada a los antígenos virales en las células T infectadas. Células no infectadas se mezclan con las infectadas o se fijan en otra parte del porta-objetos como control negativo. Se ha establecido que esta técnica es muy confiable, con una sensibilidad y especificidad comparable al Western Blot. (11).

No obstante se plantea que la subjetividad de la interpretación de la prueba inherente a la microscopía fluorescente genera que los resultados de la IFA sean más variables con respecto al Western Blot. Sin embargo la IFA puede ser útil en la validación de resultados de EIA obtenidos de donadores de sangre o plasma, dando una muy buena información

adicional con una prueba más específica, para pacientes cuya historia clínica se conoce, con la ventaja adicional que es más económico que el Western Blot. (40).

4.3.5 Ensayo inmunoenzimático usando neoantígenos.

Dos tipos de neoantígenos han sido desarrollados: los que se obtienen por técnicas de DNA recombinante y los obtenidos por síntesis de péptidos in vitro. El método es idéntico al usado en EIA de rutina con la diferencia que el antígeno se obtiene por medio de cualquiera de las dos técnicas indicadas en este párrafo. Los neoantígenos ofrecen muchas ventajas. Primero: estos son más seguros que los antígenos derivados de células infectadas, puesto que no son infecciosos. Segundo: es mucho más económica su producción con respecto a los lisados virales. Tercero: la consistencia de lote a lote de estos antígenos es mucho mayor. Cuarto: se pueden generar bancos de neoantígenos que pueden ser empleados en la creación de pruebas, con una máxima sensibilidad para anticuerpos formados por una exposición muy reciente a el VIH. Por último las pruebas con reacción cruzada, debido a las proteínas de las líneas celulares en las cuales el VIH se desarrolla, serán menos frecuentes.

Sin embargo también presentan desventajas. Los epítopos expresados por los antígenos pueden ser más limitados que los obtenidos por preparaciones más crudas obtenidas a partir de lisados de virus completos. Pacientes infectados con VIH muestran respuestas variables de anticuerpos. Por ejemplo, algunos pacientes pueden desarrollar anticuerpos contra p 24 primero que para los gp 41; una prueba empuje-

cida con DNA recombinante gp 41, puede no detectar los anticuerpos en una infección temprana y en esos pacientes se deberá ocupar una prueba con DNA recombinante para p 24. Inclusive en otros pacientes puede variar el orden de los efectos serológicos.

Debido al problema de los epitopes limitados, la validación de los neoantígenos requiere que estos se prueben contra personas de diferentes puntos geográficos en diferentes estadios de la infección. (64,28).

4.3.6 Determinación de antígeno.

Cualquiera de las tecnologías conocidas para detectar la reacción antígeno anticuerpo puede ser útil para este propósito. Se han desarrollado métodos de Ensayo Inmunoenzimático y Radio-inmunoanálisis usando métodos directos o de inhibición competitiva. En algunas pruebas se utilizan pozos o esferas cubiertas con el anticuerpo contra el antígeno en cuestión y por lo general técnicas de doble sandwich son necesarias.

Se emplean anticuerpos policlonales y monoclonales, diferentes clasificaciones de anticuerpos han mejorado y aumentado la sensibilidad de dichas pruebas. Los anticuerpos capaces de detectar epitopes de la proteína gp 120 son las más usuales y más poderosas en pruebas de este tipo. Debido a las variaciones genómicas del VIH se prefieren a los anticuerpos policlonales sin embargo los anticuerpos monoclonales dirigidos a epitopes constantes tales como los codificados por el gen "pol" sirven muy bien.

La sensibilidad de las pruebas de detección de antígeno es limitada ya que se sabe que no toda la gente infectada con VIH (excepto cuando la gente ya desarrolla el SIDA - en su etapa final) presenta las partículas virales libres en su plasma. (22).

Además antígenos de retrovirus relacionados cercanamente, particularmente los antígenos codificados por el gene "gag" pueden generar reacción cruzada. Estas pruebas ofrecen una fuerte evidencia conformadora que excluye en la determinación del SIDA una prueba cruzada, pero no aporta ninguna información en caso de un resultado negativo.

CAPITULO II

CAPITULO II. CONTROLES Y MANEJO DEL PLASMA, COMO MATERIA
PRIMA PARA LA OBTENCION DE HEMODERIVADOS.

1.- Selección de los donantes.

1.1 Donantes primerizos.

Cuando los donantes acuden por primera vez a un centro de plasmaféresis suelen ser atendidos por una recepcionista que les explica el procedimiento. La selección inicial, - que no comienza hasta que el donante haya dado su consentimiento, comprende el registro permanente de los siguientes datos:

- 1) Información e identificación personales;
- 2) historia clínica preliminar relativa a enfermedades infecciosas y estado general de salud.
- 3) Si no hay contraindicaciones para la plasmaféresis se realizan pruebas de laboratorio que comprenden determinaciones del hematocrito, de las proteínas séricas totales de la glucosa y proteínas en la orina.
- 4) Si en las pruebas de laboratorio se encuentran valores normales, se inicia la evaluación del posible donador por el médico. (50a).

Como parte de esta evaluación se deberá obtener el consentimiento de aquél, después de haberle explicado el procedimiento de la plasmaféresis y los riesgos y reacciones secundarias que pueden sobrevenir. En esta etapa se dá el donante la oportunidad de negarse a participar. Si acepta participar, debe ser a condición de que no renuncie a sus derechos legales de compensación de daños y perjuicios.

Una vez que está adecuadamente informado el donante deberá firmar su consentimiento teniendo al médico por testigo. A continuación, el médico elaborará una historia clínica detallada en la que efectúa un cuestionario que identifica a los individuos de grupos de alto riesgo de infección - por VIH y practicará un examen físico cuyos resultados serán objeto de registro permanente. (historia clínica).

Si el médico considera que el donante está sano, éste - ingresa en la sala de plasmaféresis, donde se aplica el procedimiento y se obtienen muestras adicionales para otras - pruebas de laboratorio.

1.2 Donantes en los que ya se ha practicado la plasmaféresis en el mismo centro.

En el caso de individuos que ya han participado en un programa de plasmaféresis.

1) La recepcionista toma nota de la fecha y hora de la última donación (deberán haber transcurrido por lo menos 72 horas desde ésta). No se permitirán más de dos donaciones en siete días;

2) Se registra la historia clínica y se efectúa un cuestionario para detectar a individuos en grupos de alto riesgo de infección por VIH se toma el peso del donante y personal capacitado le toma la presión sanguínea, la temperatura y la frecuencia del pulso. (14a).

1.3 Plasmaféresis.

Una vez comprobado que el donante esta sano y normal, - se practica la plasmaféresis. Es importante que se tome no-

ta de lo siguiente.

1) Cantidad de sangre entera extraída; pesándola con una balanza exacta y 2) cantidad, por peso, de plasma extraído, - haciendo también su conversión a volumen.

Se vigilará que se devuelva al donante la máxima cantidad posible de eritrocitos por infusión intravenosa. Se harán varias comprobaciones para asegurarse de que únicamente reciba sus propios eritrocitos. El donante, a su vez participará activamente en la identificación de sus eritrocitos - antes de la reinfusión. (2a).

1.4 Criterios para la aceptación de donantes.

Entre los individuos que se pueden aceptar para hacer - donaciones figuran:

1) Personas normales sanas; 2) Personas cuyas concentraciones de anticuerpos hayan aumentado naturalmente o por inmunización, y 3) Personas con concentraciones acusadamente - altas o bajas de proteínas plasmáticas específicas, cuyo - plasma sea necesario o muy valioso con fines de diagnóstico.

Los donantes deben someterse al siguiente escrutinio médico

	Frecuencia		
	Cada		Cada 16
	Inicialmente	Donación Semanas	Anualmente
1.- Examen físico por un médico	X		X
2.- Historia Clínica corriente.	X	X	
3.- Prueba completa de proteínas.	X	X	
4.- Electroforesis de suero.	X		X
5.- Urianálisis - RPA prueba.	X		X
6.- Pba. de Gíflis.	X		X
7.- Hematocrito	X	X	
8.- Presión Sanguínea.	X	X	
9.- Pulso.	X	X	
10.- Determinación Albumina	X		X

En adición a esto, el plasma se prueba para detectar el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) por ELISA o RIA; el anticuerpo contra el VIH (SIDA) por ELISA; y determinación de la aminotransferasa o ácida de la alamina que revela la existencia de una lesión hepática.

Cualquier donador con resultado positivo a estas tres pruebas ó que se encuentre en los grupos de "alto riesgo" es rechazado, se depura del registro de donadores, y se canaliza a las instituciones de salud correspondientes.

Todos los donantes deben cumplir con el siguiente criterio médico o no son aceptados:

Edad	Mínimo de 18 años
Peso	Mínimo 50 Kg.
Hematocrito	Mínimo 33%
Proteínas totales de plasma	Mínimo 6.0 g %; máximo 9.0 g %
Albumina	No menos de 40 g/l
Temperatura	36.0 - 37.0 C
Pulso mínimo	50/min; máximo 100/min.
Presión Sanguínea	Sistólica mínima 100 máxima 150 Distólica mínima 50; máxima 100
Sífilis VDRL	Negativa

En el caso de mujeres, no deben tener problemas menstruales, no deben estar menstruando al momento de la donación, no deben estar embarazadas o haber estado embarazadas dentro de los últimos seis meses.

Fracturas recientes, osteomielitis o alguna enfermedad de la sangre que se manifieste por hemorragia nasal frecuen-

ta etc., es causa de rechazo. (12)

2.- Selección del método de análisis de la presencia de el VIH en unidades de plasma.

El método de análisis de unidades de plasma obtenidas por el centro de plasmaféresis o por el laboratorio que adquiere dichas unidades debe reunir las siguientes características: 1) Sensibilidad, 2) especificidad, 3) facilidad de ejecución, 4) debe ser susceptible de automatización debido a la gran cantidad de muestras que se manejan, 5) no debe ser muy costoso, de tal manera que afecte directamente el precio final de los productos obtenidos, y 6) debe ser fácilmente adquirible en el medio comercial. (6, 80).

Los métodos comentados en la sección I.4.3. cumplen con respecto a la sensibilidad y la especificidad, sin embargo a excepción del ELISA: ocupan equipo muy especializado, personal con alto grado de capacitación, consumen mucho tiempo, no se pueden efectuar en serie ya que son poco susceptibles de automatización y en su mayoría son mucho más costosos que el método de ELISA. (28a).

En la actualidad los productores de kits de ELISA para determinación de anticuerpos anti-VIH ofrecen una sensibilidad (determinación de seropositivos o individuos enfermos en poblaciones de alto y bajo riesgo) y especificidad (ocurrencia de falsos positivos en una población de bajo riesgo) que fluctúan en porcentajes de:

Sensibilidad 98 - 100%.

Especificidad 99 - 100%.

En el caso de personas de seroconversión reciente (posible infección en los 3 meses anteriores a la prueba) ofrecen del 80 a 90% (en promedio) de detección.

Todos estos valores son comparables con los métodos de confirmación existentes en especial Western Blot ó inmunofluorescencia.

Por tales razones, actualmente en bancos de sangre y centros de plasmaféresis, el método tamiz de selección de donantes es el ELISA, para determinación de anticuerpos contra VIH. Sin embargo estos se limitan a los kits de productores que han sido aprobados por las dependencias gubernamentales de cada país y a los requerimientos internos de las instituciones o fabricantes que los emplean. (20). Siendo indispensable la realización de corrimientos de lotes de muestras, en diferentes estatus de infección del VIH y sueros negativos, usando diferentes marcas de kits en la institución o empresa interesada en su utilización, para seleccionar entonces el uso de los reactivos del proveedor que ofrezca mayor especificidad y sensibilidad. Las dependencias de gobierno, deberán autorizar los procedimientos y recursos necesarios, para implementar el análisis en serie de las muestras de plasma obtenidos en centros de plasmaféresis. (76,2).

3.- Recomendaciones para los trabajadores encargados de la Plasmaféresis, Análisis y Fraccionamiento de Plasma.

Las recomendaciones subrayan las precauciones para prevenir la transmisión de enfermedades infecciosas vehiculadas por la sangre. Estas deben ser impuestas de modo rutinario, al igual que otras precauciones normalizadas de control de la infección, sin tener en cuenta que estén infectados los trabajadores o los donantes. Además de estar informado de estas precauciones todo el personal de la empresa fraccionadora, incluidos oficinistas y personal directivo, todos ellos deben tener el conocimiento de la transmisión y prevención de las infecciones por VIH.

El riesgo de los trabajadores de adquirir el VIH, a partir de donantes infectados es remoto. Una amplia experiencia entre trabajadores de atención a la salud con sangre de pacientes infectados a través de lesiones por pinchazo de agujas o exposición a mucosas, ha recogido un solo caso de infección; se ha descrito un pequeño número de otros casos posiblemente asociados con exposiciones intra-hospitalarias. Es importante que los donadores infectados con VIH sean tratados con dignidad y respeto, de acuerdo con las más altas normas profesionales, sin prejuicio ni estigma.

Las medidas más importantes para prevenir la transmisión del VIH desde los donantes a los trabajadores, comprenden el evitar pinchazos con agujas y la exposición de otras lesiones abiertas parenteral o mucosas a el plasma del donador o donadores. Por último la prevención de la transmisión de donadores a donador del VIH exige una vigorosa esterilización del equipo reutilizable tal como agujas, jeringas, e instrumentos penetrantes a la piel.

3.1 Precauciones para los trabajadores del centro de plasmaféresis y de la planta fraccionadora.

Estas precauciones representan más medidas prudenciales que se aplican a prevenir la transmisión de todas las infecciones veniculizadas por la sangre y deben seguirse de modo rutinario.

1) Los objetos agudos (agujas, hojas de bisturí, tijeras y - otros instrumentos) deben considerarse como potencialmente - infectantes, deben ser manejados con extraordinario cuidado - para prevenir lesiones accidentales y deben de situarse en - envases resistentes a la presión, situados tan próximos como sea práctico a la zona en que sean usados.

Para prevenir los pinchazos por agujas, éstas no deben de ser recubiertas con su funda, dobladas a propósito, rotas, separadas de las jeringas desechables o manejadas con - la mano. Las agujas y jeringas desechables deben de ser - destruidas rápidamente, o en todo caso manejadas de modo que se evite su reutilización. Ello se puede realizar mediante incineración o introduciéndolas en autoclave o mediante hervido primero y después rompiéndolas, aplastándolas o, en todo caso, deformando la aguja y la jeringa antes de ser enterradas.

2) También debe tenerse extraordinario cuidado en evitar el contacto entre lesiones de piel abierta de los trabajadores con el plasma de los donantes (bolsas de plasmaféresis o - pool de plasma). Cuando existe la posibilidad de exposición a el plasma se deben usar guantes, batas o ropa exclusiva de

trabajo y protectores de ojos. Las manos han de lavarse intensamente si se han contaminado con plasma.

3) La sangre y otras muestras de donantes que se sabe o sospeche que estén infectados con VIH deben de ser etiquetadas en forma llamativa con una advertencia especial como "Precaución con la sangre" ó "Precaución con el plasma". En algunos lugares la prevalencia de infección por VIH en la población de donantes debe de justificar el manejo de todas las muestras de sangre o plasma como si contuviesen VIH. Si el exterior del envase está visiblemente contaminado con sangre o plasma deberá ser limpiado con un desinfectante adecuado. Idealmente todas las bolsas de plasma o muestras de sangre deben de ser colocadas (en caso de que sea necesario transportarla fuera del centro de plasmaféresis), en un segundo envase tal como una bolsa impermeable. La bolsa o recipiente debe ser examinado cuidadosamente buscando agujeros o desgarros.

4) Las salpicaduras de sangre o plasma deberán ser limpiadas rápidamente con una solución desinfectante, tal como hipoclorito sódico.

5) Los objetos contaminados con sangre o plasma deben ser situados en una bolsa impermeable, llamativamente señalizada "Precaución con la sangre o plasma" antes de ser enviados a reprocesado o desecho. Como alternativa, tales artículos contaminados deben de ser colocados en una bolsa de plástico, de un color especial que se emplee únicamente para el desecho de residuos "infecciosos" en la planta. Los artículos de un solo uso deben de ser incinerados o desechados de

acuerdo con las normas hospitalarias para el desecho de los residuos infecciosos. Los objetos reutilizables u objetos contaminados con virus de la hepatitis B.

6) Se prefieren las agujas y las jeringas desechables. Si se emplean jeringas reutilizables deben de esterilizarse antes de volver a ser usadas y debe tenerse especial cuidado en su manejo para evitar lesiones.

3.2 Conducta ante la exposición parenteral o mucosas.

Si un trabajador tiene una exposición parenteral (por ejemplo, pinchazo con aguja o incisión) o de mucosas (por ejemplo, salpicadura al ojo o a la boca) con sangre o plasma: deberá efectuarse un seguimiento tanto del donador como de la persona expuesta. Se tiene un margen de seguridad muy amplio ya que cada donador para ser aceptado como tal, es evaluado clínicamente y epidemiológicamente. Posteriormente se analiza serológicamente por el método de detección de anticuerpos anti-VIH por ELISA. Si en el donador se presenta seropositividad y signos que indiquen infección por VIH, el trabajador debe de ser evaluado en sus aspectos clínicos y serológicos en busca de pruebas de infección por VIH, tan pronto como sea posible después de la exposición. Si el trabajador resulta, seronegativo él o ella debe de ser analizado nuevamente y evaluado clínicamente 6 semanas más tarde y de una forma periódica después (por ejemplo 3, 6 y 12 meses después de la exposición) para determinar si la transmisión ha tenido lugar. Durante este período de seguimiento, especialmente en las primeras 6-12 semanas en que la mayor parte de las personas infectadas se espera que serocon-

viertan, el trabajador debe recibir asesoramiento acerca del riesgo de infección. El procedimiento arriba establecido es una adición a cualesquiera otro protocolo de conducta tal como se utiliza para la hepatitis B. (77).

3.3 Personal de laboratorio.

Más que instituir precauciones especiales con las muestras que se saben contaminadas con el VIH, deben de seguirse precauciones rutinarias en el laboratorio contra la transmisión de la infección por sangre. Los procedimientos normales de análisis de aislamiento del virus y la utilización de la técnica de ELISA y de otros procedimientos de diagnóstico, debe de realizarse bajo las condiciones descritas.

- 1) Deben emplearse los aparatos-pipetas mecánicas para la manipulación de todos los líquidos en el laboratorio. Está prohibido el uso de pipetas de boca.
- 2) Las agujas y jeringas deben ser manejadas como se indica en (3.1.1.).
- 3) Deben usarse goggles, cubrebocas, cofias, batas o uniformes de laboratorio mientras se trabaje con materiales potencialmente infecciosos y deben descartarse adecuadamente antes de dejar el laboratorio.
- 4) Deben llevarse guantes para evitar el contacto de la piel con la sangre o plasma, de las muestras, los objetos manchados, etc.
- 5) Todos los procedimientos y manipulaciones del material potencialmente infeccioso deben de ser realizados cuidadosamen

te para minimizar la formación de gotas y aerosoles.

6) Las superficies de trabajo del laboratorio deben ser descontaminadas con un desinfectante tal como una solución de hipoclorito sódico, tras cualquier salpicadura de material potencialmente infeccioso y al finalizar las actividades de trabajo.

7) Todos los materiales potencialmente contaminados utilizados en las pruebas de laboratorio deben ser descontaminados, preferentemente mediante autoclave antes de su desecho o reutilización.

8) Todo el personal debe lavarse las manos tras acabar las actividades del laboratorio y quitarse los vestidos protectores antes de abandonar el laboratorio.

9) No se permite comer, fumar, beber o aplicarse cosméticos en el laboratorio. (75).

4.- Desinfección y Esterilización.

Estudios recientes han mostrado que los desinfectantes comunmente usados en laboratorios y servicios de asistencia sanitaria inactivan al VIH a concentraciones mucho menores que las que se usan comunmente en la práctica general. Los procedimientos rutinarios de esterilización y de desinfección usados en los servicios de asistencia sanitaria y en los laboratorios no necesitan modificarse por causa del VIH. Se prefieren los desinfectantes que son micobactericidas - puesto que son eficaces contra los grupos de microorganismos más resistentes.

4.1 Desinfectantes.

1) Cloro-hipoclorito sódico.

Una solución de 5g/l (5.000 ppm) como cloro disponible se recomienda para uso general. Se precisa un tiempo de contacto de 10 a 30 minutos, dependiendo del nivel de contaminación del material a desinfectar.

2) Formaldehído-como formol- 50g/l (5%) 10-30 minutos tiempo de contacto.

3) Etanol: 700 g/l (70%) tiempo de contacto 10-30 minutos.

4) Glutaraldehído: 20 g/l (2%) tiempo de contacto 10-30 minutos.

4.2 Esterilización.

1) Todo equipo de atención al donante que sea reutilizable y los instrumentos que penetren en el torrente sanguíneo o en los tejidos, deberán esterilizarse por vapor a presión (autoclave). Los autoclaves deben trabajar a 121°C (250°F) durante un tiempo mínimo de exposición de 20 minutos. Este equipo puede ser descontaminado también por ebullición durante 20 minutos.

2) El equipo y los instrumentos no desechables y termolábiles deben someterse a un alto nivel de desinfección. La técnica requiere un lavado copiososo de los materiales, antes de la desinfección con un germicida adecuado tal como glutaraldehído al 2% durante un tiempo de contacto de 10-30 minutos. Después de esto, el equipo debe ser enjuagado con agua estéril.

Pueden usarse otros desinfectantes pero, hay que tener cuidado de usar los que sean compatibles con los materiales de los dispositivos médicos y químicos. El uso de las técnicas reconocidas de esterilización gaseosa pueden ser útiles si se dispone de equipo. (70).

C A P I T U L O I I I

CAPITULO III. EVIDENCIAS ANALITICAS Y EPIDEMIOLOGICAS QUE GARANTIZAN LA SEGURIDAD DE LOS HEMODERIVADOS.

Los virus pueden ser suprimidos de los hemoderivados, - por separación o inactivación durante el proceso de manufactura. Durante la preparación de inmunoglobulinas la eliminación del VIH ocurre a través de el fraccionamiento, sin embargo, este mecanismo es de poco significado en la elaboración de factores de coagulación.

Tratamientos físicos como calentamiento, radiación ultravioleta y tratamientos químicos, como el uso de pepsina a bajo pH, úrea, beta-propiolactona, tri-(n-butyl)-fosfato en combinación con colato de sodio, han sido usados para la inactivación del VIH en productos sanguíneos tales como las inmunoglobulinas, albumina y factores de coagulación. (69).

1.- Estudios de laboratorio.

La información sobre la eficacia de la separación o inactivación del VIH en los procesos de fraccionación a sido obtenida de varias formas.

a) Agregando al plasma en el inicio del fraccionamiento el VIH, o algún otro virus (usualmente el virus xenotrófico de ratón) o algún otro virus marcador (tal como BMV o Sindbis) y muestreando a través del proceso de fraccionamiento. (32, 48).

b) Agregando VIH previamente a cada etapa de fraccionamiento o paso de inactivación y muestreando de el producto o productos obtenidos. (84, 82, 59, 54).

c) Análisis retrospectivos de el efecto de productos que han

sido preparados de diferentes formas y que se han administrados a individuos seronegativos. (7, 72).

2.- Sistemas de ensayo de VIH en proceso de fraccionamiento de plasma.

Existen varios sistemas para detectar la presencia de VIH.

La presencia del VIH en una muestra puede ser detectada indirectamente determinando la actividad de la retrotranscriptasa, o directamente demostrando la infectividad de la muestra en células susceptibles. (5).

El ensayo de la retrotranscriptasa es efectuado con un templete sintético que funciona como cebador (primer) después de separar el virus de el medio inactivador químico y concentrando la muestra. Aunque este ensayo es ampliamente utilizado no tiene un significado totalmente real en la detección del virus. A diluciones a las cuales la retrotranscriptasa da resultado negativo, pueden aún existir partículas capaces de infectar células in vitro, y a la inversa, la actividad de la retrotranscriptasa puede ocasionalmente ser detectada en asociación con un virus no infeccioso.

La infectividad puede ser también detectada por inoculación en cultivos de células susceptibles y monitoreando por los siguientes métodos.

- a) Inmunofluorescencia indirecta (usando anticuerpos de sueros positivos humanos o por anticuerpos monoclonales).
- b) Observando al microscopio para detectar el efecto citopático.

c) Ensayo de retrotranscriptasa, (éste se efectúa usualmente cada tres días en sobrenadantes de los cultivos celulares).

d) Analizando sobrenadantes de cultivo o lisados celulares para detectar antígenos virales (por un ELISA de captura de antígenos). (32).

La infección de células blancas de sangre, es el método in vitro más sensible para la detección del VIH; sin embargo también tiene sus limitaciones. Su sensibilidad depende del tipo de células usadas. La fitohemaglutinina se usa como estimulante de los leucocitos de sangre periférica o de células susceptibles T o B tales como las líneas celulares H9 o CEM. La sensibilidad de los leucocitos de sangre periférica a la infección viral depende del donador de las células, y puede en algunos casos ser mayor o menor con respecto a la sensibilidad de las líneas celulares H9 y CEM.

Las células infectadas pueden ser detectadas por ensayo de inmunofluorescencia, sin embargo, ésta técnica no es muy eficaz, especialmente en el caso de leucocitos de sangre periférica, donde solo una pequeña cantidad de células puede ser positiva.

El efecto citopático del VIH es variable y parece depender de el origen de las células susceptibles utilizadas y de la especie de virus. En general esta prueba no es muy reproducible como para detectar una infección viral. (36)

Los medios más comunmente usados para detectar la re--

plicación del virus en células infectadas con la determinación de la retrotranscriptasa y el ensayo de captura de antígenos los cuales tienen una sensibilidad similar.

El ensayo de captura de antígenos está convirtiéndose en la prueba de elección porque es económico y fácil de realizar en gran número de muestras. Además es fácil la cuantificación de el virus presente y expresa el resultado como DI/ml (dosis infectivas por mililitro).

3.- Gammaglobulinas.

Las observaciones realizadas en todo el mundo por many facturadores de hemoderivados indican que en cada paso de - fraccionación el virus se encuentra casi exclusivamente en los precipitados, muchos de los cuales son desechados duran te el proceso de fabricación. En cada paso de separación - se determinó una disminución de la $4 \log_{10}$ de DI/ml del virus. Las cantidades finales acumuladas a través de todo el proceso de fraccionamiento tiene un rango que va de 7 a $15 \log_{10}$ DI/ml. Una cantidad adicional de $4 \log_{10}$ de reducción se puede aun obtener si la preparación final de inmu noglobulinas, se almacena a 27°C durante 24 días previos a su uso, con respecto a las inmunoglobulinas de uso intramus cular. (21a).

Por otra parte las inmunoglobulinas para uso intraveno so obtenidas por tratamiento con pepsina a pH bajo introduce una seguridad adicional; ya que este técnic o es capaz de inactivar de 4 a $5 \log_{10}$ DI/ml de el virus.

Los datos con los que se cuenta hasta el momento indi-

can que en las preparaciones de inmunoglobulinas son seguras. El más detallado análisis fue efectuado por Wells y sus colaboradores para la Food and Drug Administration en los Estados Unidos. (84). Usando el método de fraccionamiento de Cohn-Onclay el cual tiene seis pasos de partición o inactivación, se estableció que en cada uno de estos pasos se separaban del orden de $4 \log_{10}$ de dosis infecciosas del virus/ml in vitro. Asumiendo que la eficiencia de cada paso es independiente de la dosis de inicio, ellos calcularon una disminución total de $15 \log_{10}$ DI/ml. Dado que la infectividad media del plasma de individuos contaminados es de 0.02 DI/ml, que los pools son preparados actualmente a partir de donadores que son analizados por anti-VIH por el método de ELISA y que la sensibilidad de los análisis existentes es del 98% ellos calcularon que en un pool de 1000 litros de plasma preparados a partir de donadores analizados de esta manera deben de contener menos de 0.18×10^{-6} DI/ml del VIH dando con esto un amplio margen de seguridad. (85)

No obstante que estos cálculos contienen muchas pre--sunciones, los resultados sugieren que la capacidad del método de fraccionamiento de Cohn y Onclay para separar o inactivar el VIH, es mucho más grande que la cantidad teóricamente acarreada, (esta observación es además apoyada por observaciones clínicas y estudios de laboratorio) muchos investigadores han demostrado que receptores de Inmunoglobulinas normales o Inmunoglobulinas específicas contra la hepatitis B, en las cuales se encontraron anticuer-

pos contra el VIH. (16, 55, 38). (Cosa de alguna manera normal, ya que antes de 1985 no se efectuaba el análisis de determinación del anticuerpo del VIH en los donadores de plasma), nunca han sido convertidos a seropositivos y no han desarrollado síntomas de la infección. (26). Esto tomando en cuenta que de 1981 (fecha en que se caracteriza la enfermedad) hasta 1984 (fecha en la que se cuenta con un método de detección de anticuerpos anti VIH), se produjeron millones de dosis de gammaglobulinas, las cuales se aplicaron a otros tantos receptores, sin presentarse ninguna evidencia de desarrollo de infección del VIH en función directa a la aplicación de dichas dosis. (15). Por último muchos lotes de diversos tipos de Inmunoglobulina (específicas, no específicas, intravenosas, e intramusculares) las cuales contenían anticuerpos anti-VIH se han cultivado sin obtener resultado de desarrollo del virus en ninguna ocasión. (78).

4.- Albuminas.

Los datos obtenidos a partir de estudios de laboratorio in vitro, (apoyados por observaciones de seronegatividad en serorecipientes), demuestran la eficacia de los métodos utilizados para reducir o eliminar el riesgo de contaminación por VIH. En el caso de Albumina en solución la pasteurización es el método más seguro y más comúnmente usado. (34a).

La Albumina solución que es preparada por tratamiento a 60°C por 10 horas tiene una larga historia de seguridad (con respecto a cualquier virus), estas preparaciones han demostrado que no tienen riesgo de transmisión del VIH. La

eficacia de este proceso ha sido demostrada en estudios de laboratorio, en los cuales los lotes de Albumina son inocu- lados con cantidades superiores a las $8 \log_{10}$ DI/ml del - VIH calentándolas a 60°C , en tiempos menores a los 5 minu- tos de calentamiento no se ha detectado ninguna actividad residual del virus. (41,34).

5.- Factores de Coagulación.

La alta prevalencia de la infección por el VIH en pa- cientes con Hemofilia de los tipos A y B, (19, 79) llevó a los productores a la búsqueda de métodos de fabricación de los factores coagulación VIII y IX con poder terapéutico - libres de riesgo de infección por VIH. Los métodos más - comúnmente usados son el calor húmedo y el calor seco.

Por algunos años un fabricante (Behringwerke), había utilizado calentamiento en la fabricación de los factores de coagulación; estabilizaba los concentrados de proteínas por tratamiento a 60°C por 10 horas, previo a la adición - de estabilizadores y a la liofilización. Estudios con ino- culos del VIH han demostrado que este proceso puede inac- tivar más de $5 \log_{10}$ DI/ml del VIH en preparaciones de fac- tor VIII y más de $6 \log_{10}$ DI/ml del factor IX. Un grupo - de 100 recipientes seronegativos de factor VIII preparados de esta manera, han sido observados por varios años y nin- guno tiene evidencia de la infección del VIH. En el mismo país, 60% de los hemofílicos que recibieron preparaciones sin este tratamiento desarrollaron anticuerpos anti VIH.

El procedimiento más ampliamente usado para reducir -

el riesgo de la transmisión de la infección por medio de los factores de coagulación es el calentamiento del producto - liofilizado a 60-68°C por 72 horas. Se han efectuado estudios con varias especies de virus para conocer la eficacia - de este procedimiento, añadiéndoles al liofilizado reconstituido y reliofilizando ó al producto, previo a su liofilización y distribución en ampoyetas. (57).

La liofilización por si misma ha demostrado un bajo nivel de inactivación, produciendo reducciones del título de - 1 a 3 \log_{10} DI/ml siendo un rango final muy bajo.

En el tratamiento por calor de los concentrados de factor VIII y factor IX, varios grupos han demostrado una disminución del virus de 3.5 a 8 \log_{10} DI/ml dependiendo del título de inicio del inculo. La eficacia de este proceso - parece que depende de la humedad residual de liofilizado y otros factores, tales como la concentración de sal y la presencia de estabilizadores no estando totalmente definidos. - Se observa que el virus se inactiva más rápida y completamente cuando el contenido de humedad es 1.0% o más.

Este calentamiento de los factores de coagulación genera una modesta pérdida de actividad, usualmente 5-15%. Las preparaciones resultantes no presentan cambios de tipo inmunológico, conservan sus características electroforéticas, - tienen una vida media normal y son efectivos en la detección de sangrados en hemofílicos carentes de estos factores.

Estudios en hemofílicos seronegativos que han recibido grandes cantidades de factor VIII y IX, tratados con calor,

observados entre 6 y 12 meses, no mostraron evidencia clínica o serológica de la infección con VIH, a pesar de que parte del plasma usado en esas fabricaciones fue colectado entre 1982 y 1984. (3).

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

La epidemia del SIDA generó varias reacciones a todo nivel; científico, económico y social; sin embargo en este momento ya se ha caracterizado el problema, se debe pensar que no lo resolveremos a corto plazo y que tendremos que convivir (y sobrevivir) con él, por lo que las decisiones que se tomaron en un principio deben de revisarse y adecuarse a la realidad presente. En México existe el potencial humano para trabajar los hemoderivados de forma segura y eficiente, tanto a nivel público como privado.

Por los datos expuestos en el presente trabajo se puede ver que: regulando con precisión el funcionamiento de los centros de plasmaféresis y a las empresas fraccionadoras, se puede lograr que en México resurja este tipo de industria Biológica la cual podría generar recursos económicos que fomentarán el desarrollo de la biotecnología, que en el futuro posiblemente sustituya a algunos de los hemoderivados existentes, (como ya esta sucediendo con factor VIII antihemofílico y algunas hormonas humanas) y de esta manera llegar a evitar depender de las importaciones. Actualmente prácticamente todos los hemoderivados que se consumen en nuestro país son importaciones de los Estados Unidos y Europa, (en los que la proporción de casos de SIDA es mayor que en México), lo que complica el control que se pudiese ejercer sobre los proveedores, y esto en todo caso, implica el mismo riesgo (que no lo hay) de tener productos supuestamente contaminados.

Las condiciones que generaron la modificación de la

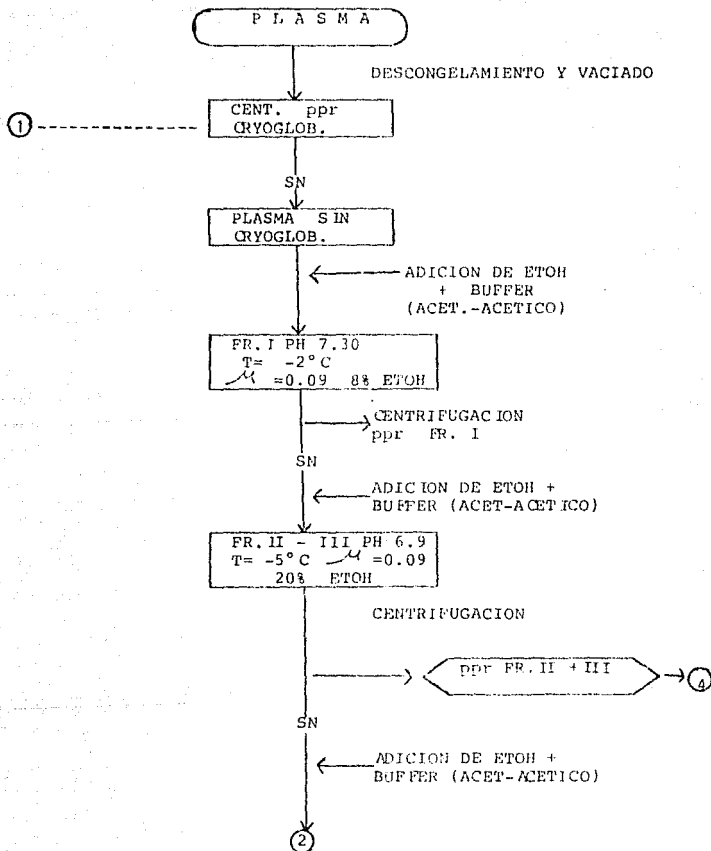
**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

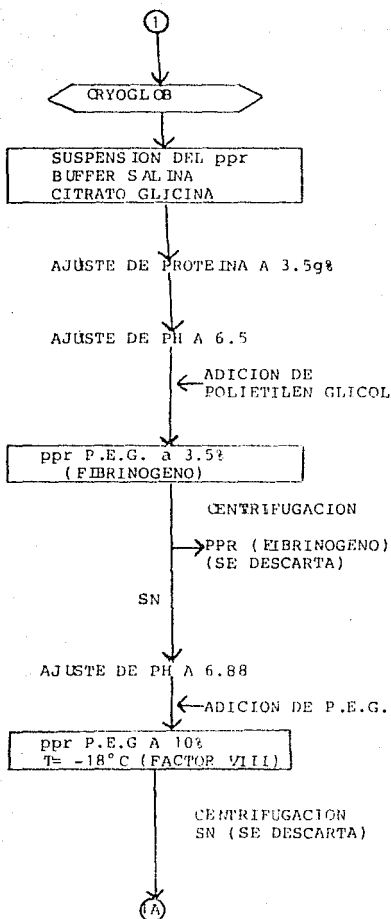
Ley General de Salud, se apoyaron en los datos con los que se contaba hasta el día 1^o de Julio de 1987, fecha en la que se habían reportado 584 casos, de los cuales el 44.3% se encontraba en el D. F.; el 73% adultos (entre 25 y 44 años de edad), el 68% correspondía a homosexuales masculinos; el 20% a bisexuales; 3.8% en contactos heterosexuales, 3.1% hemofílicos y por transfusión el 4.2%, estos últimos dos datos que implican el 7.4% del total generaron la determinación de promulgar la Ley que prohibiría el comercio con la sangre en México a partir del día 25 de Agosto de 1987. (46), (47). La razón por la que se adoptó tal decisión, en un principio pareció justificada, sin embargo, si ese 7.4% se debía a la comercialización, era suficiente (y necesario), acercarse a las empresas que compraban sangre y/o plasma, detectar cuales eran las malas prácticas en que estaban incurriendo, suspender su licencia sanitaria, hasta que implantaran los controles y corrigieran las posibles fallas; de hecho, la única planta fraccionadora privada en México, incluyó en sus políticas desde mediados de 1986, la detección por el método de ELISA del anticuerpo contra el VIH, (67) en todas las unidades de plasma obtenidas de cada donador; si este control era llevado a cabo en un negocio privado ¿porqué todos los demás no podrían hacerlo?

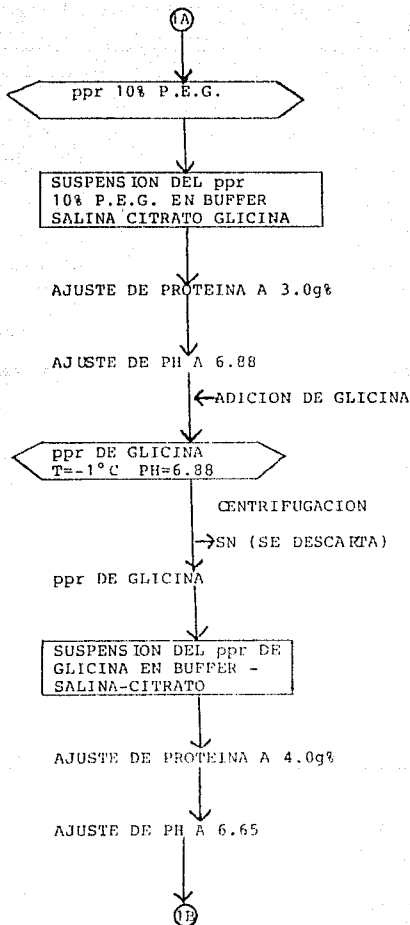
La proposición es: volver autorizar el comercio de la sangre, es decir, permitir que se otorgue remuneración a cambio de sangre o plasma, implementando las regulaciones que permitan controlar la captación y convertirla en un proceso totalmente ético, que aporte datos epidemiológicos

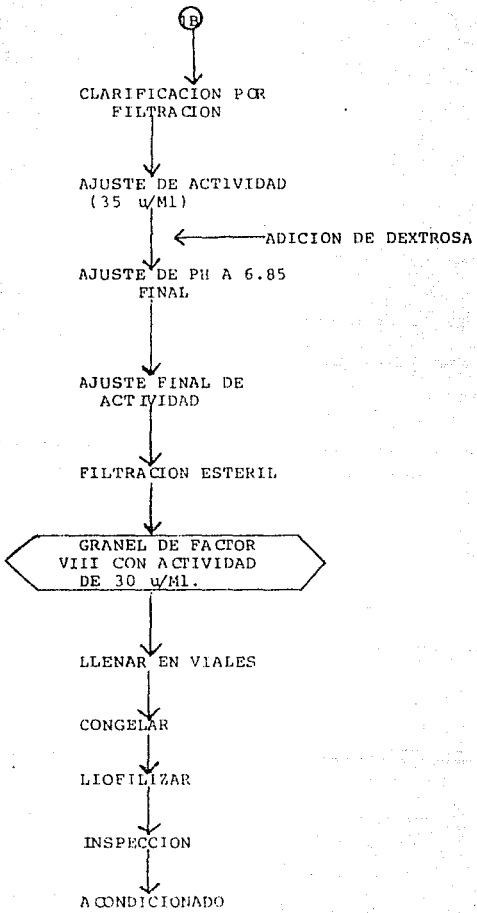
sobre el curso de la enfermedad; que en el caso del plasma genere productos de costo adecuado a la situación económica de nuestro país; resolviendo así los problemas de salud que les atañen, evitando depender del extranjero y lograr de esta manera que no se pierda esta tecnología en México.

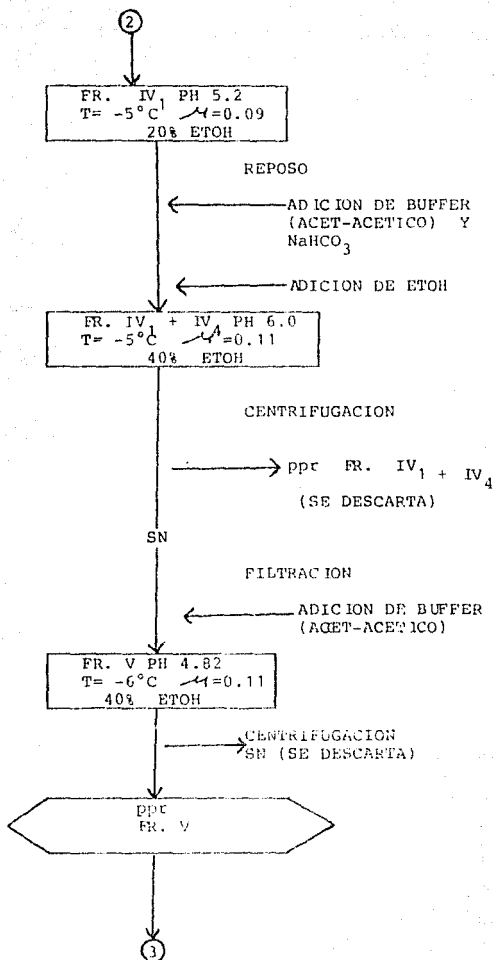
ANEXO 1

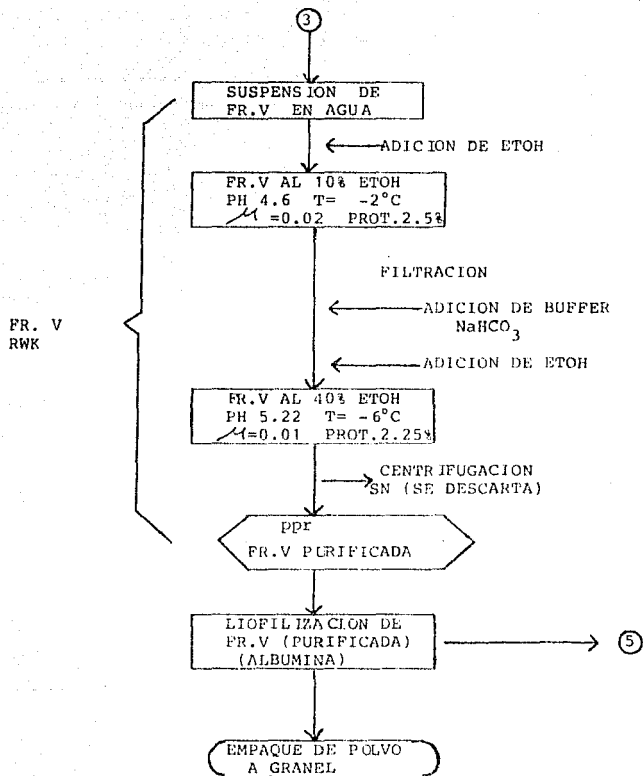


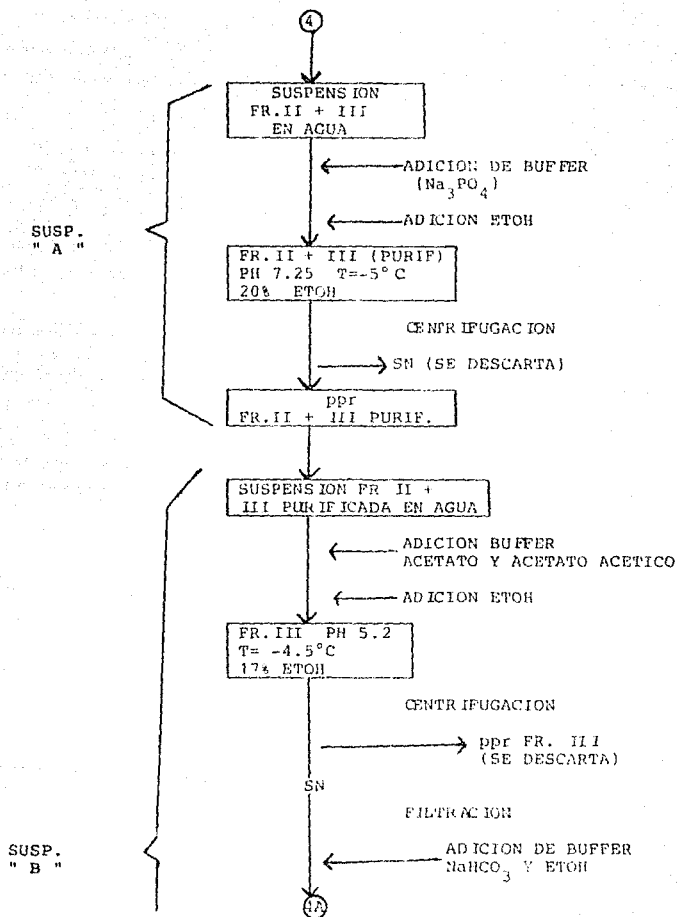


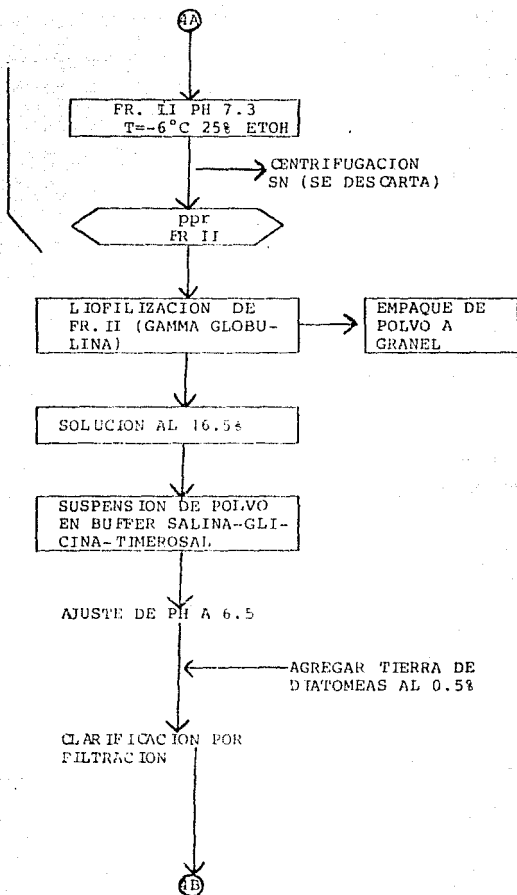


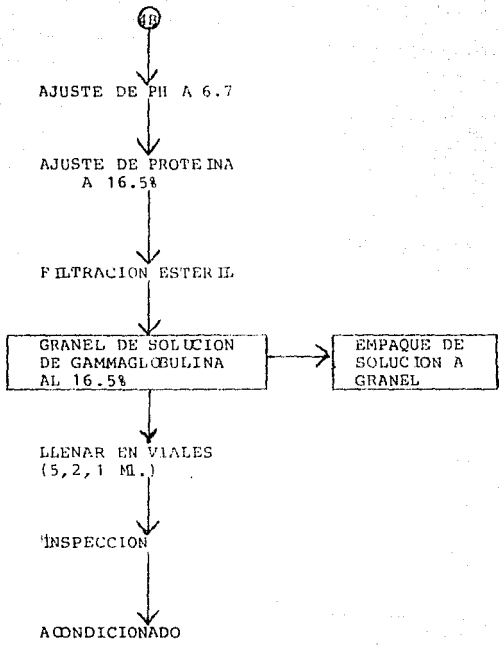


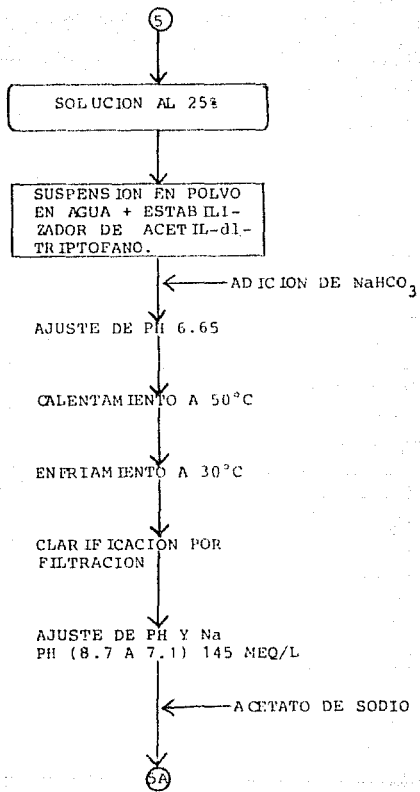


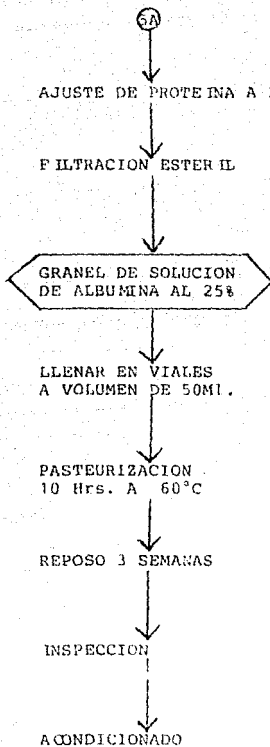












ABREVIATURAS

ppr = PRECIPITADO

ETOH = ALCOHOL ETILICO

SN = SOBRENADANTE

P.E.G. = POLIETILEN GLICOL

T = TEMPERATURA

MEQ./L = MILIEQUIVALENTES POR LITRO

M = FUERZA IONICA

u/ML. = UNIDADES POR MILILITRO

R E F E R E N C E S

- 1.- Abildgaard, G. F. Simone, J. J. Corrigan, J. J. et al;
Treatment of hemophilia with glycine precipitated factor
VIII. N. Engl J. Med 275:471-475, 1966.
- 2.- ABRA. Public Educación Program (1984) Who collects -
plasma. Plasma Quaterly. Summer: 36-39.
- 2a.- American Blood Resources Association. (1988) A study
of commercial and non-commercial plasma procurement
and plasma fractionation. Plasmaferesis. February 54-
58.
- 3.- American Blood Resources Association. (1988) Coagula-
tion concentrates. Status Report. October 15:1-11.
- 4.- Baron, A, Barnet, E. U. Goldsmith, R. S. et al: -
(1964) Prophylaxis of infections by gammaglobulin.
Am J. Hyg. 79:136-195.
- 5.- Screening for antibodies to LAV/HTLV-III in recipien-
tes of immunoglobulin preparations (1986).
a. Beneviste, R. E. et al. Lancet, 1:1091
b. Bremard, O., et al Lancet, 1:1090
c. Ikeda, Y., et al. Lancet, 1:1092
- 6.- Bianco C. (1986) International perspective for the -
control of transfusion associated HIV infection. -
First Panamerican conference on acquired immuno defi-
ciency Síndrome (AIDS). México City. Centro Médico -
Nacional.
- 7.- Bossel, J. (1986) Safety of immune serum globulin -

- preparations with respect to transmission of HIV - associated virus infection MMAR. 25:231-233.
- 8.- Bowman, J. M., Pollock, J. M. (1978). Antenatal Prophylaxis of Rh is a immunization. C.M.A. Journal: 113:627, 1978.
 - 9.- Broder, S., and Muchmore, A. (1979) Gammaglobulin - therapy for immunodeficiency. Drug Therapy (HOSP). - June.
 - 10.- Burke, D. S. et al (1987) Variations in Western Blot banding patterns of human T-cell lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus. J. Clin. Microbiol. 25:31-34.
 - 11.- Carlson, J. R. et al. (1987) Comparison of indirect immunofluorescence and Western Blot for detection of anti-human immunodeficiency virus antibodies. J. - Clin. Microbiol. 25:494-497.
 - 12.- Code of federal regulations (1987). Current good manufacturing practice for blood and blood components. Subparts 606.3, 606.20, 606.40, 606.60, 606.65, - 606.100, 606.110, 606.120, 606.121, 606.122, 606.140, 606.151, 606.160, 606.165, 606.170, 640.30, 640.31, 640.32, 640.33, 640.34, 640.60, 640.61, 640.62, - 640.64, 640.65, 640.66, 640.67, 640.68, 640.69. - 640.70, 640.71, 640.72, 640.73, 640.74, 640.75, 640.76,. FDA. U. S.

- 13.- Collins, M.S., and Roby, R. E. (1933) Anti-Pseudomonas aeruginosa activity of an intravenous human IgG preparation in burned mice. J. of Trauma. 23:530-534.
- 14.- Cohn, E. J., Strong, L. E., Hughes, W. L., et al. - (1946) Preparation and properties of serum and plasma proteins. A system for the separations into fractions of the protein and lipoprotein components of biological tissues and fluids. J. Am. Chem. Soc. 68:459-475.
- 14a.- Crow L. (1977) Manual de información sobre productos de fracciones plasmáticas. Secciones, I, III, IV, VII, y XI. Cutter International.
- 14b.- Dagani R. (1987) El problema a las pruebas de diagnóstico para SIDA/C&EN, 65(47), 35-40.
- 15.- Davidson, I, y Hery, J. B. (1932) Diagnóstico Clínico por el laboratorio. El Salvat. España. Pags. 425-460.
- 16.- Department of Health and Human Services (1986) - Safety of immunoglobulines in relation to HTLV-III F.D.A. Drug Bulletin. 16:3.
- 17.- Dondero, T. J., (1987) Human Immunodeficiency Virus infection in the United States: A review of current Knowledge. M.M.W.R. 36:1-48.
- 18.- Essex, M. and Kanki, P. J., (1983) The origins of the AIDS virus. Scientific American 259,4:44-51.

- 19.- Evatt, B. L. Ramsey, R. B., Laurence, D. N., et al (1984). The acquired immunodeficiency syndrome in patients with hemophilia. *Ann. Intern. Med.* 100:499-504.
- 20.- FDA. Memoranda (1985) Implementation of Public Health Service Provisional Recommendations Concerning testing blood and plasma for antibodies to HTLV-III February 19, 1985. *Plasma Quarterly*.
- 21.- Peorino, F. M., Jaffe, H. W., Palmer, E., et al: (1985) Transfusion-associated acquired immunodeficiency syndrome: Evidence for persistent infection in blood donors. *N. Engl. J. Med.* 312:1293-1296.
- 21a.- Friedli H. R. (1987) Safety of intravenous immunoglobulins: Swiss Red, Cross. AIDS: The safety of blood and blood products. Edited by: S.H.O. and John Wiley and Sons, U.S.A. pages. 99-101.
- 22.- Gaines, H. et al (1987) Antibody response in primary human immunodeficiency virus infection. *Lancet.* 1:1249-1253.
- 23.- Gallo, R. C., Salahuddin, S. Z., Topovic, W., et al. (1984) Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science.* 224:500-503.
- 24.- George, J. N. Breckenridge, R. T: The use of factor VIII and IX concentrates during surgery *JAMA*, 214:1673-1676, 1970.
- 25.- Giessem, M. Van der; Groenboes-Kemners, O. (197b). The subclasses of human IgG antibodies against tetanus toxoid. *Clin. Exp. Immunol.* 25:117-121.

- 26.- Gocke, D. J., Raska, K. Jr., Follack, W., Schwarzer, T. (1986) HTLV-III Antibody in commercial Immunoglobulin Lancet. i:37.
- 27.- Goodnight, S. H. Jr., Common, H. H., Lourien, E. W. (1976) Factor VIII inhibitor following surgery for epidural hemorrhage in hemophilia successful therapy with a concentrate containing factors II, VIII, IX, and X. J. Pediatr. 88:356.
- 28.- Groopman, J. E. et al (1986) Serological Characterization of HTLV-III Infection in AIDS and related disorders. J. Infec. Dis. 153:736-742.
- 28a.- Gust., I. D., et al (1987) The safety of blood products. AIDS: The safety of blood and blood products. Edited by: W. H. O. and John Wiley and Sons. - U.S.A. pages. 69-90.
- 29.- Hammon, W. M., Coriell, L. L., Ludwig, E. H. et al - (1945). Evaluation of Red Cross gammaglobulin prophylactic agent for poliomyelitis. 5. Reanalysis of results based on laboratory confirmed cases. JAMA 156:21-27.
- 30.- Haseltine, T. A., and Wong-Staal, F., (1988) The molecular Biology of The AIDS virus. Scientific American 259,4:34-42.
- 31.- Hecht, A. (1986) AIDS Progress report. P. D. A. consumer. February: 33-35.
- 32.- Hein, R., McCue, J., Mozen, N M., Rouseel, R. H. - (1986). Elimination of human immunodeficiency virus from immunoglobulin preparations. Lancet. i:1217.

- 33.- Henneg, C. S. Ellis, S. F., (1968) Antibody production to aggregated human gammaglobulin in acquired hypogammaglobulinemia. *N. Engl. J. Med.* 278:1144-1146
- 34.- Hilfenhaus, J., Herrmann, A., Mauler, R. Prince, A. P. (1985) Inactivation of the AIDS-causing retrovirus and other human viruses in antinemophilic plasma protein preparations by pasteurization. *Vox. Sang:* 50:208-211.
- 34a.- Hilfenhaus, J., Mauler, R., Friis, R., Bayer, H., - (1985) Safety of human blood products: inactivation of retroviruses by heat treatment at 60°C. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 178:580-584.
- 35.- Janeway, C. A., Gibson, S. T., Woodruff, L. H. et al. (1944) Concentrated human serum albumin; albumin in the treatment of shock; safety of albumin; albumin in the treatment of hypoproteinemia. *J. Clin. Invest.* 23:465-499.
- 36.- Kapikan, A. I. Bell, J. A., Rosen L, et al: (1962). Attenuated measles-virus vaccine. Clinical antigenic, and prophylactic effects when administered with gammaglobulin. *J.A.M.A.* 179:841-847.
- 37.- Kreiss, J. E., Kitchen, E. Y. Prince, H. E., et al. (1985); Antibody to human T-lymphotropic virus type III in wives of hemophiliacs: Evidence for heterosexual transmission. *Ann Intern. Med.* 102:623-626.
- 38.- Kurth, R., Schmidt, I., et al. (1983) Detection of antibodies to HTLV-III in commercially available immunoglobulin preparations. *Klinische Wochenschrift.* 64:386-388.

- 39.- Kuwet E. K., Werner, J. Marcus, I. and Sabasso, V. J. (1978) Immunisation against rabies with rabies immunoglobulin, human (RIGH) and a human diploid cell strain (HDGS) rabies vaccine. *J. Biol Standard.* 6:211-219.
- 40.- Lennette, E. T., Karpatkin, S. and Levy, A. J. (1987) Indirect immunofluorescence assay for antibodies to human immunodeficiency virus. *J. Clin. Microbiol.* 25:199-202.
- 41.- Levy, J. A. Mitra, G. Wong, K. P., Mozen, M. M. (1985) Inactivation by wet and dry heat of AIDS associated retroviruses during factor VIII purification from plasma *Lancet* i:1456-1457.
- 42.- Mann, M. J., Chin J., Piot P. and Quinn T. (1988) The international epidemiology of AIDS. *Scientific American* 259,4:60-69.
- 43.- Martin, C. M. Gordon, R. S., Mc Callough, N. B. (1956). Acquired hypogammaglobulinemia in an adult. Report of a case, with clinical and experimental studies. *N. Engl. J. Med.* 254:449-456.
- 44.- Martin D. R., Koechli, B., Dovath, A. (1972), Protection of nonimmune volunteers against rubella by intravenous administration of normal human gammaglobulin. *J. Infect. Dis.* 126:341-344.
- 45.- Mc Dougal, J. S., Cort, B. P., Kennedy, M. S., et al. (1985) Immunoassay for the detection and quantitation of infections human retrovirus, lymphadenopathy associated virus LAV. *J. Immunol Methods.* 76:171-83.

- 46.- México, Secretaría de Salud. (1987) *El SIDA en México*. L. -
Ley General de Salud. D.F. Oficial 1, Mayo, 87.
- 47.- México, Dirección General de Epidemiología. (1987) -
Transmisión del SIDA por sangre y hemoderivados. Ac-
tividades de prevención. Bol. Mens. SIDA 1:41-43.
- 48.- Mitro, G., Wang, M. J. Koren, M. A. de Dougal, J. S.
and Levy, J. A. (1986) Elimination of infectious -
retroviruses during preparation of immunoglobulins.
transfusion 26:394-397.
- 49.- Nicholson, P., Taylor J.M.G., Korog M., Dezel R., -
Saah A. and Fanci, J. G. (1987) Significance of Quan-
titative Enzyme- Linked Immunosorbente Assay (ELISA)
Results in evaluation of three ELISAs and Western -
Blot test for detection of antibodies to human -
Immunodeficiency virus in a high-risk population. J.
Clin. Microbiol. 25,399-400.
- 50.- Ochs, R. D., Intravenous immunoglobulin therapy of -
patients with primary immune deficiency syndromes: -
efficacy and safety of a new modified immunoglobulin
preparation. Allergy and Clinical Immunology Ab-
sing. October 22, 1979 at 11th. 35th to E. J.
- 50a.- O.M.S. (1987) Tema, Funcionamiento, Inspección de -
la calidad y uso de la sangre y de los productos -
sanguíneos. Pa.m. 50-53 - 36-49.
- 51.- Oncley, J. L., Henkin, M. Rifkin, J. A., et al. -
(1949) The separation of the amino acids, factor VIII
fibrin, prothrombin, plasminogen and β -2 globulin in
the subfractions of human plasma.

- 52.- Ordwan, C. W., Jenning C. G., Jansway, C. A., (1944).
Use of concentrated normal human serum gamma-globulin
(human immune serum globulin) in the prevention and -
attenuation of measles J. Clin. Invest. 23:541-549.
- 53.- Peterman, T. A. and Cuoran, J. W., (1986) Sexual -
Transmission of human immunodeficiency virus. -
J.A.M.A. 256:2222-2226.
- 54.- Piszkiwicz, D., Kingdon, H., Anfelzweig, R. et al -
(1985). Inactivation of HTLV-III/LAV during plasma -
fractionation. Lancet. ii:1188-1189.
- 55.- Piszkiwicz, D., Mankarius, S., Holts, S., Dillon, -
K. (1986) HIV antibodies in commercial immunoglobu-
lins. Lancet. i:1327.
- 56.- Pollock, T. M., Reid D. (1969) Immunoglobulina for -
the prevention of infectious hepatitis in persons wor-
king overseer. Lancet 1:281-285.
- 57.- Petriciani, J. C., Mc Dougal, J. S. Evatt, B. L. -
(1985). Case for concluding that heat treated, licen-
sed anti-haemophilic factor is free from HTLV-III. -
Lancet ii:890-891.
- 58.- Prince, A. M. (1977) Prevention of Hepatitis B infec-
tions by Passive Immunization (A review) La Ricerca.
Clin. Lab. 7:198-203.
- 59.- Prience, A. M. Diet, M. F. J., Horowitz, B. (1986) -
Effect of Cohn fractionation conditions of infectivi-
ty of the AIDS virus. N. Engl. J. Med. 314:387.

- 60.- Popovic, M., Sarngadharan, M. G., Read, E. and Gallo, R. C., (1984) Detection, isolation, and continuous - production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science*. 224:497-500
- 61.- Queenan, J. T. 1980: Up-date on Rh and other blood - group immunizations, *Contemp O. B. Gyn* 16:31-57.
- 62.- Redeker, A. G., Morley, J. W., Cooke, B. J., et al - (1985) Hepatitis B Immunoglobulin as a prophylactic - measure for spouses exposed to acute type B hepatitis *N. Engl. J. Med.* 293:1055.
- 63.- Redfield, R. R. and Burke, D. S. (1988) HIV Infec- - tion: The clinical picture. *Scientific American*. - 259,4:70-78.
- 64.- Saah, A. J., Farzadegan, H., et al (1987) Detection of early antibodies in human immunodeficiency virus infec- - tion by enzyme-linked immunosorbent assay, Western - Blot and radioimmunoprecipitation.
- 65.- Sarngadharan, M. G. Popovic, M Bruch, L. Schyppach, - J., Gallo R. C. (1984) Antibodies reactive with human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum - of patients with AIDS. *Science*. 224:506-8.
- 66.- Schroeder, D. D., Tankersley, D. L. and Lundblad J. - L. (1981) A New Preparation of Modified Immune Serum Globulin (Human) Suitable for Intravenous Administra- - tion. *Vox Sang.* 40:373382.
- 67.- Sepulveda, A. J., Garcia, G. M. L., Dominguez, T. J. - L. Valdespino, G. M. L. (1988). Prevención de la -

- 68.- Shemin, E. R. (1968) Anaphylactic reactions to gamma-globulin. JAMA 203:59.
- 69.- Spire, B., Barre Sinoussi, P., Dormont, D., Montagnier L., Cherman, J. G., (1985) Inactivation of lymphadenopathy associated virus by heat, gamma rays, and ultraviolet light Lancet i:188-189.
- 70.- Spire, B. Barre Sinoussi, P. Montagnier, L., Cherman, J.C. Inactivation of lymphadenopathy associated virus by chemical disinfectants. Lancet ii:899-901.
- 71.- Stites, D. P., Stobo, J. D., Fundenberg H. H., Wells, J. V., (1983) Inmunología Básica y Clínica. Ed. El Manual Moderno. México Pags. 722-723.
- 71a.- Talyor, F. C. et al (1955) The preparation of gamma-globulin from placental blood by ethanol fractionation - J. Am. Chem. Soc. 78 1356-1358.
- 72.- Tedder, R. S., Utley A., Chernysov-Popov R. (1985) - Safety of immunoglobulin preparation containing anti-HTLV-III Lancet. i:815.
- 73.- Tullis, J. L. (1977) Albumin 1. Background and Use. - JAMA 237:355-360.
- 74.- Tullis, J. L (1977) Albumin 2. Guidelines for clinical Use. JAMA 237:460-463.
- 75.- U.S.C.D.C. (1982) Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). Presentation for Clinical and Laboratory Staff. MMWR 81:577-580.
- 76.- USCDC. (1985). Provisional public health service interagency recommendations for screening donated

- blood and plasma for antibody to the virus causing -
acquired immunodeficiency syndrome MMWR 34:1-5.
- 77.- USCDC. (1985) Recommendations for preventing transmi-
ssion of infection with human T-lymphotropic virus -
type III/limphadenopathy- associated virus in the -
workplace. MMWR. 34:681-686, 691-695.
- 78.- U.S.C.D.C. (1986) Safety of therapeutic immunoglobu-
lin preparations with respect to transmission of
human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-
associated virus infection. MMWR. 35:231-232.
- 79.- U.S.C.D.C. (1984). Update Acquired Immunodeficiency
Sindrome (AIDS) in persons with hemophilia.
MMWR 33:589-590.
- 80.- U.S.C.D.C. (1988) Update. Serologic testing for anti-
body to human immunodeficiency virus. MMWR.
36:833-40,845.
- 81.- Vercauteren, G., Groenvander, G., Piot, P. (1987) -
Comparison of enzyme immunoassays and an immunofluo-
rescence test for detection of antibody to human immu-
nodeficiency virus in African sera. Int. J. Clin
Microbiol. 6:132-135.
- 82.- Wah Po Shing, Magnin A. A. et al (1986) Inactivation
of human immunodeficiency virus during processing of
plasma products. CDWR 12-137-139.
- 83.- Teber, J. M. and Weiss, R. A. (1988) HIV infection: -
The cellular picture. Scientific American, -
259,4:70-78.

- 84.- Wells, W., Witteck, A., Epstein, J. et al. (1986). - Inactivation and Portition of Human T- Cell Lymphotropic Virus, Type III, During Ethanol Fractionation of Plasma. *Transfusion*, 26:210-213.
- 84a.- World Health Organization. (1986) Second meeting of the WHO collaborating centres on AIDS: memorandum from a WHO meeting. 64 (1) 37-46.
- 85.- Zuck, T. P., Preston, M. S. et al. (1986) More on partitioning and inactivation of AIDS virus in immunoglobulin preparations. *N. Engl. J. Med* (Letter). - 314:1454-1455.

AGRADECIMIENTOS.

DESEO EXTERNAR MI AGRADECIMIENTO A LAS SIGUIENTES PERSONAS: Q.F.B. GUADALUPE RODRIGUEZ CURIEL, Q.F.B. MIGUEL ANGEL PERALTA BAUTISTA, I.B.Q. FELIPE MENDEZ HERNANDEZ, Q.F.B. BERTHA LINDA CONTRERAS Y AL SR. ANSEL MONTEEL CANALES POR LA APORTACION DE ARTICULOS Y CONCEPTOS QUE FUERON DE GRAN UTILIDAD EN LA ELABORACION DE ESTE TRABAJO. POR ULTIMO AGRADESCO A MI HERMANA ELIDETH, A MI ESPOSA OLGA Y A MI MADRE JOSEFINA, LA MECANOGRAFIA DEL MANUSCRITO Y LA REVISION DEL TEXTO.