

112361



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

THE AMERICAN BRITISH COWDRAY HOSPITAL

"EVALUACION IN VITRO DE LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS OBTENIDOS POR AFERESIS EN EL BANCO DE SANGRE DEL HOSPITAL ABC"

TESIS DE POSTGRADO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: ESPECIALISTA EN: PATOLOGIA CLINICA

P R E S E N T A :

DRA. LETICIA LOZANO ESTRELLA

ASESOR DE TESIS Y PROFESOR TITULAR DEL CURSO DR. JESUS I. SIMON DOMINGUEZ



MEXICO, D.F.

2001



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 esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

NOV.2000

**"EVALUACION IN VITRO DE LOS CONCENTRADOS PLAQUETARIOS OBTENIDOS
POR AFERESIS EN EL BANCO DE SANGRE DEL HOSPITAL ABC "**

INDICE

Capítulo 1	
Introducción.....	1
Capítulo 2	
Antecedentes.....	3
Capítulo 3	
Estructura plaquetaria.....	5.
Funciones de las plaquetas.....	7
Capítulo 4	
Principios del control de calidad plaquetario.....	7
Tipo de recolección plaquetaria	8
Características de la bolsa de recolección	9
Agitación y temperatura	11
Tipo de anticoagulante	12
Volumen promedio de plasma	13
Agregación plaquetaria	13
Número de plaquetas y leucocitos.....	15
Determinación del ph	16
LDH.....	17
Contaminación bacteriana	17
Capítulo 5	
Hipotesis	19
Objetivo	19
Capítulo 6	
Material y métodos.....	20
Capítulo 7	
Resultados.....	25
Capítulo 8	
Conclusiones.....	33
Capítulo 9	
Bibliografía	34

INTRODUCCION:

Las plaquetas son pequeños fragmentos de megacariocitos que circulan en la sangre periférica en forma de disco , su función consiste en suprimir rápidamente cualquier solución de continuidad producida en el endotelio vascular mediante la formación de cúmulos plaquetarios capaces de obturar estas lesiones.

La utilización de los concentrados plaquetarios como recurso terapéutico comenzó varios decenios después de la aplicación terapéutica de los glóbulos rojos , en el tratamiento de pacientes con trombocitopenia como la causante de diversos procesos hemorrágicos.

Los concentrados plaquetarios se obtienen de donaciones de sangre a partir de fraccionamiento , por centrifugación para la obtención de plasma rico en plaquetas , ó a partir de la capa leucoplaquetaria (Buffy-Coat) y por el método de aféresis plaquetaria .

En la medida en que se ha conocido mejor la estructura de las plaquetas y las condiciones que inducen a cambios en su morfología, viabilidad y función, se han desarrollado procedimientos de conservación y se han definido los parámetros que interfieren en el mantenimiento de las características vitales de las plaquetas durante su conservación in vitro .

Esta situación refleja la necesidad de los bancos de sangre de mantener un depósito suficiente de plaquetas para cubrir las crecientes demandas clínicas.

Para la obtención de un concentrado plaquetario adecuado ,es necesaria la evaluación in vitro de los concentrados plaquetarios, tomando en cuenta estándares Internacionales establecidos por la American Association of Blood Banks (AABB) , los cuales son los siguientes :

Cuenta plaquetaria:

La cantidad mínima aceptable de plaquetas por concentrado plaquetario por aféresis es de 3.0×10^{11} (11)

Cuenta de leucocitos:

Los concentrados plaquetarios deben contener una cantidad máxima de 1.5×10^9 (9) de leucocitos por cada concentrado plaquetario.

Cuenta de eritrocitos:

Se aceptan parámetros hasta 0.1×10^9 (9) de eritrocitos por cada concentrado plaquetario

Determinación del ph:

Los valores de ph que se aceptan son desde 6.4 a 7.3 ya que se ha encontrado una viabilidad adecuada.

Además de los lineamientos de la Asociación Americana de Bancos de Sangre, se deben tomar en cuenta algunos factores que pueden modificar las características funcionales de los concentrados plaquetarios, como el tipo de anticoagulante utilizado para la recolección , la temperatura de conservación, calidad del material de plástico empleado en la fabricación de la bolsa para su conservación , el volumen de plasma residual y la agitación continua de los concentrados plaquetarios.

ANTECEDENTES:

Duke (1911) fué el primero en demostrar el valor terapéutico de las plaquetas transfundidas, en tres pacientes trombocitopénicos, que dejaron de sangrar tras la transfusión directa de sangre fresca en todos los casos disminuyó el tiempo de hemorragia.

Kissmeyer-Nielsen y Madsen (1961) pusieron de manifiesto la posibilidad de obtener una mayor supervivencia de las plaquetas empleando ACD como anticoagulante.

Aster y Jand (1964) observaron que al centrifugar el plasma rico en plaquetas procedente de sangre, se observaba formación de grumos plaquetarios lo cual se evito añadiendo ACD antes del centrifugado

Murphy y cols. (1970) establecen que uno de los principales factores limitantes de la conservación es el descenso del ph debido a la producción de lactato a partir de la glicólisis de las plaquetas cuando el ph alcanza un valor de 6.0 cambia radicalmente la morfología de las plaquetas, lo cual origina la pérdida de su viabilidad.

Becker (1973) determina como límite óptimo para mantener una capacidad de agregación, logrando un tapón hemostático adecuado, una temperatura de conservación de los concentrados plaquetarios entre 20 a 24 °.

Stuart y cols. (1975) Demostrarón que el ácido acetilsalicílico (aspirina) produce una disminución de la producción de TXA2 , observando una disminución de la actividad funcional plaquetaria .

Murphy y Gardner (1975-1976) determinaron que un concentrado plaquetario durante su conservación puede presentar carencia de oxígeno que esta se resuelve con la conservación en una bolsa de plástico adecuada que permita el paso del mismo.

Kunicki y cols. (1975) Establecen que los concentrados plaquetarios conservados a una temperatura de -20°C se correlaciona con una mala viabilidad plaquetaria

Murphy y Gardner (1976) describieron que al no agitar las plaquetas durante el almacenamiento, desciende el ph y se reduce la viabilidad por un mecanismo desconocido.

Slichter y Harker (1976) Demostrarón que las plaquetas autólogas conservadas en CPD a $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 72 horas tenían una supervivencia media de 9 días y la conservación con ACD da resultados similares.

Aster y cols. (1976) Establecen que se presenta un riesgo de infección tras la conservación a temperatura ambiente por más de 5 días de conservación en los concentrados plaquetarios .

ESTRUCTURA DE LAS PLAQUETAS:

Las plaquetas son pequeñas células anucleadas de la sangre periférica las cuales circulan en forma de disco y miden en promedio de 2 a 4 micras de diámetro y 0.6 a 1.3 micras de grosor y su función consiste en taponar rápidamente cualquier solución de continuidad producida en el endotelio vascular mediante la formación de cúmulos plaquetarios capaces de obturar estas lesiones .

Estructuralmente las plaquetas se dividen en 3 zonas bien diferenciadas con actividades funcionales específicas, la zona periférica, intermedia y organelos

Zona periférica:

Esta representa la parte más externa de las plaquetas y está formada por 3 capas, 1) el glicocáliz ó cubierta externa , 2) membrana plaquetaria ó bicapa fosfolípídica y 3) la capa submembranosa .

1)El glicocáliz ó cubierta externa es la responsable de la respuesta plaquetaria inicial a los estímulos externos , a través de receptores glicoproteicos entre los que se encuentra el complejo glicoproteico Ib- IX , su función primordial es permitir la adhesión plaquetaria al subendotelio a través del FvW y el complejo Gp Ib-IIIa que se une al fibrinogeno y ADP , provocando cambio de forma , agregación y secreción plaquetaria .

2)Membrana plaquetaria ó bicapa fosfolípídica esta zona es especialmente rica en ácido araquidónico, ante la activación, la membrana expone una

superficie cargada negativamente, indispensable para el soporte de los factores de la coagulación.

La capa más interna es 3) la submembranosa donde se produce la transformación de las señales recibidas de la superficie externa, para poder realizar los mecanismos de activación , adhesión y agregación plaquetaria .

Zona intermedia ó gel:

Esta área de las plaquetas contiene las moléculas y estructuras que participan en la formación de las proteínas contráctiles y en la interacción con los microtúbulos, así mismo es primariamente responsable de los procesos de adhesión y agregación plaquetaria .

Zona de Organelos:

En esta zona se encuentran los gránulos densos , los cuales tienen una zona central muy densa y un halo transparente , existiendo aproximadamente cinco por plaqueta , estos gránulos contienen el 60 % del ADP intraplaquetario , calcio y serotonina . También existen los gránulos alfa que son numerosos , unos 50 por plaqueta, estos son el sitio de almacenamiento de las sustancias destinadas a ser secretadas en las plaquetas activadas.

También en esta zona se encuentra el sistema membranoso de las plaquetas que consisten en el sistema canalicular abierto y el sistema tubular denso , que incrementan la superficie de contacto y permiten el intercambio de sustancias en zonas profundas de la misma.

FUNCIONES DE LAS PLAQUETAS :

Su principal función es la de permitir la formación del tapón hemostático plaquetario, dichos mecanismos se ordenan en las siguientes fases :

- 1) Adhesión plaquetaria al subendotelio expuesto por el daño vascular .
- 2) Agregación plaquetaria primaria al activarse el complejo glucoreceptor IIb /IIIa y permitir la unión entre las plaquetas
- 3) Liberación de compuestos intraplaquetarios que provocan la gregación secundaria de nuevas plaquetas al tapón hemostático
- 4) Consolidación y retracción del coágulo
- 5) Formación del tapón hemostático definitivo con la formación del polímero de la fibrina y la detención de la hemorragia .

PRINCIPIOS DEL CONTROL DE CALIDAD EN LA PREPARACION DE CONCENTRADOS PLAQUETARIOS

Hablar de control de calidad de los concentrados plaquetarios incluyen aquellas pruebas de laboratorio invitro que permiten reconocer si la viabilidad de las plaquetas durante su conservación es adecuada.

El mantenimiento de la calidad de las plaquetas durante el periodo de conservación depende de varios factores : los cuales se mencionara cada uno de ellos:

FUNCIONES DE LAS PLAQUETAS :

Su principal función es la de permitir la formación del tapón hemostático plaquetario, dichos mecanismos se ordenan en las siguientes fases :

- 1) Adhesión plaquetaria al subendotelio expuesto por el daño vascular .
- 2) Agregación plaquetaria primaria al activarse el complejo glucoreceptor IIb /IIIa y permitir la unión entre las plaquetas
- 3) Liberación de compuestos intraplaquetarios que provocan la gregación secundaria de nuevas plaquetas al tapón hemostático
- 4) Consolidación y retracción del coágulo
- 5) Formación del tapón hemostático definitivo con la formación del polímero de la fibrina y la detención de la hemorragia .

PRINCIPIOS DEL CONTROL DE CALIDAD EN LA PREPARACION DE CONCENTRADOS PLAQUETARIOS

Hablar de control de calidad de los concentrados plaquetarios incluyen aquellas pruebas de laboratorio invitro que permiten reconocer si la viabilidad de las plaquetas durante su conservación es adecuada.

El mantenimiento de la calidad de las plaquetas durante el periodo de conservación depende de varios factores : los cuales se mencionara cada uno de ellos:

Tipo de obtención de los concentrados plaquetarios :

Esta puede ser manual ó por aféresis , el fraccionamiento de la sangre se obtiene mediante centrifugación de las unidades de sangre total donadas

Ya sea obteniendo plasma rico en plaquetas ó de la capa leucoplaquetaria Buffy-Coat , ó por aféresis plaquetaria .

Aféresis plaquetaria : es un procedimiento mediante el cual se extrae sangre, se obtiene un concentrado de plaquetas y se regresan las demás células al mismo isponente. Mediante la utilización de máquinas ya sea de flujo intermitente ó de flujo continuo, algunos de estos sistemas son abiertos y limitan el almacenamiento a solo 24 horas, en los sistemas cerrados pueden conservarse durante 5 días , con un volumen de plasma de 200 a 250 ml (Norma Oficial Mexicana) y un volumen de plasma de 100-500 ml de acuerdo a la Asociación America de Bancos de Sangre

Es importante tomar en cuenta las ventajas de la obtención de concentrados plaquetarios por aféresis:

- a) Menor riesgo de inmunización al reducir el número de donantes necesarios para una transfusión a solamente uno , la probabilidad de una sensibilización a antígenos presentes en las plaquetas , sin duda mucho menor.
- b) Transfusiones más seguras por la exposición a un número muy inferior de donantes distintos, se reduce así mismo la probabilidad de transmisión de enfermedades infecciosas

- c) Mejor capacidad de los bancos de sangre para atender las crecientes demandas de plaquetas , uno de los problemas de los Bancos de sangre y centros de transfusión es el disponer de un número suficiente de concentrados de plaquetas.

características de la bolsa de recolección de los concentrados plaquetarios:

Uno de los factores que afectan la calidad de las plaquetas durante su conservación a temperatura ambiente, es la característica del plástico de la bolsa utilizada , para conservar las plaquetas de una manera adecuada, el plástico de la bolsa debe permitir un buen intercambio de gases con entrada de oxígeno y salida de bióxido de carbono a través de la bolsa.

Esto no quiere decir que el material de plástico tiene poros por el cual pasan los gases sino que los gases son solubles en el plástico y pasan al interior de la bolsa cuando el plástico está saturado.

Las bolsas de plástico utilizadas para la recolección de los concentrados plaquetarios son :

Bolsas de plástico de primera generación:

Cuando se introdujo la técnica de conservación de plaquetas al comienzo de los años setenta, el plástico utilizado estaba compuesto de cloruro de polivinilo (CPV) el cual contiene un plastificante felato de 2-dietilo -exílico (FDEE) el

intercambio de gases con éste plástico es inadecuado porque es muy grueso por lo que permite conservar las plaquetas por solo 3 días a una temperatura de 20-24 °C . Después de 3 días de conservación, el ph disminuye debido ala producción de ácido láctico durante el metabolismo anaeróbico, el mayor avance en la historia de la conservación de las plaquetas se hizo al demostrar que la disminución del ph estaba asociado con una disminución de la recuperación y sobrevida de las plaquetas in vivo, ejemplos de este tipo de bolsa es la PL146 de fenwal y CL-3000 de cutter.

Bolsa de plástico de segunda generación:

En 1975 se demostró que el ph se mantenía por un tiempo más largo si los concentrados de plaquetas se conservaban en bolsa que contenían poliolefina.

Este hallazgo enseño que la producción de ácido láctico estaba aumentando en las bolsas de primera generación y que el metabolismo por medio de la fosforilización oxidativa se facilitaba al mejorar la transmisión del oxígeno mediante el uso de plásticos permeables a gases.

Hay varios tipos de material plástico utilizado por diferentes fabricantes de bolsas de segunda generación: unas contienen cloruro de polivinilo con un plastificante trimelitato tri-2 -dietilo-exílico (FDEE) como por ejemplo la bolsa de plástico PL-1240 de fenwal ó CLX de cutter. Otras contienen poliolefina sin plastificante como la bolsa PL-732 de fenwal y otros usan una película delgada de CPV con plastificante FDEE (XT-612 de terumo)

Cuando 50-60 ml de concentrado de plaquetas son conservados, en estos tipos de bolsas de plástico, el pH y la viabilidad de las plaquetas se pueden mantener por un período de 7 días. Sin embargo el periodo se limitó a 5 días debido a la posibilidad de contaminación bacteriana de estos productos

Bolsas de plástico de tercera generación:

El uso de nuevos plásticos que permiten una mayor permeabilidad al oxígeno y bióxido de carbono ha hecho posible que se puedan recolectar y conservar en un menor volumen de plasma con mayor número de plaquetas con una función adecuada. El buen intercambio de gases permite una buena fuente de oxígeno para el metabolismo aeróbico previene la producción de ácido láctico lo cual evita la disminución del pH

Agitación y temperatura continua durante la conservación de los concentrados plaquetarios :

La agitación tiene un efecto beneficioso porque facilita la entrada de oxígeno y la salida de bióxido de carbono a través de la pared de la bolsa de plástico. Este fenómeno esta asociado con la retención adecuada del pH y de la viabilidad de las plaquetas transfundidas. Las plaquetas deben mantenerse a una temperatura entre 20-24 ° C con agitación continua , pero no debe olvidarse que la sobrevida de las plaquetas y las condiciones de almacenamiento están

también relacionados con el sistema de recolección, el número de plaquetas recolectadas, el tipo de plástico de la bolsa y el tipo de agitador.

Agitación gentil y continua es esencial cuando se mantienen las plaquetas a temperatura entre 20 a 24 ° C .Para controlar la conservación adecuada de las plaquetas, se debe medir y documentar la temperatura diariamente en el área cercana al sitio donde se mantienen las plaquetas.

Las unidades de plaquetas deben mantenerse separadas cuando se colocan en el agitador, unidades de plaquetas colocadas unas arriba de otra interfiere con el intercambio de gases a través del plástico lo cual contribuye ala disminución del ph y la alteración de la viabilidad de las plaquetas.

También al colocar las etiquetas de identificación sobre la bolsa debe hacerse siguiendo procedimientos establecidos esto asegura que se cubra un área mínima de la bolsa permitiendo el mayor intercambio de gases posible.

Tipo de anticoagulante:

Los diversos anticoagulantes que se han empleado presentan algunas dificultades como es el caso del etilendiamin tetra acetato (EDTA) que genera el cambio de forma discoide normal a esférica asociando a esto pérdida en la viabilidad ,en tanto que la heparina activa a las plaquetas provocando agregados, ambos pueden provocar efectos adversos in vivo.

Se recomienda el empleo del citrato como anticoagulante que junto con los componentes de las mezclas preservativas como son el fosfato, la dextrosa y adenina, no muestran efectos adversos en las propiedades de las plaquetas.

volumen promedio de plasma:

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM-003-SSA2 -1993) se establece que la obtención de concentrados plaquetarios a partir de sangre fresca deben contener un volumen de plasma de 45 a 60 ml , los concentrados plaquetarios obtenidos por aféresis plaquetaria deben contener un volumen de plasma de 200 a 250 ml. y la AABB (American Association of Blood Banks) establece un volumen de plasma por concentrado plaquetario por aféresis de 100 a 500 ml.

Agregación plaquetaria:

Es un término utilizado para denotar la agregación de una plaqueta a otra , esta agregación principalmente mediada por la exposición a receptores de fibrinogeno, produce primero agregados pequeños, al continuar la adherencia, los agregados de plaquetas se hacen más grandes y pueden ser visibles.

La agregación de las plaquetas depende de la presencia de calcio, factores plasmáticos como el fibrinogeno y agentes que inducen la agregación.

El fenómeno de agregación se puede inducir en el laboratorio cuando se añaden agentes capaces de agregar las plaquetas contenidas en el PRP(plasma rico en plaquetas) . Este proceso se puede medir con un espectrofotómetro (agregómetro).El PRP es ligeramente turbio debido a la presencia de plaquetas en la suspensión, cuando se añaden los agentes de agregación al

de la luz a través del PRP que se está mezclando en una cubeta mantenida a temperatura de 37 °C . Este aumento de la transmisión de la luz es medido en una curva dibujada en un papel gráfico ajustado especialmente para esta técnica la curva demuestra la rata y extensión de la agregación.

Este método permite evaluar la función de las plaquetas in vitro durante su conservación a temperatura de 20 a 24 °C. La agregación de las plaquetas varía dependiendo de la concentración y el tipo de diferentes agentes que se unen para estimular la agregación.

Los agentes agregantes utilizados para valorar la viabilidad plaquetaria en el laboratorio son el ADP , colágeno y ristocetina .

La respuesta al ADP se reduce de un 20 % a un 50 % . esta reducción implica que durante la conservación, algunas de las plaquetas no se incorporan en agregados grandes.

La concentración de ADP requerida para producir máxima agregación también aumenta dependiendo del tiempo de conservación de las plaquetas, estos resultados sugieren que los receptores de fibrinógeno están presentes y funcionan adecuadamente pero que la respuesta a la exposición de un solo agente es anormal.

La respuesta ante agregantes como colágeno y ristocetina presentan un mínimo cambio hasta del 20 % .

Número de plaquetas y leucocitos:

El número de plaquetas en productos recolectados por aféresis es mucho mayor que en productos preparados de sangre completa. Las nuevas máquinas de aféresis son ahora más eficientes por lo cual pueden recolectar más plaquetas en cada donación de tal manera, que las características del plástico, utilizado en la fabricación de las bolsas de recolección es muy importante para que permita mantener un mayor número de plaquetas.

Aunque se utilice una bolsa de plástico de segunda ó tercera generación, un exceso en el número de plaquetas puede sobrepasar la capacidad de la bolsa , de tal manera que siempre se debe seguir las instrucciones de los fabricantes de las bolsas ya que ellos conocen las condiciones requeridas para cada bolsa mediante estudios de laboratorio *in vitro* y clínicos (*in vivo*).

La presencia de leucocitos en los concentrados plaquetarios no es deseable porque contribuyen con el deterioro de las plaquetas ya que los leucocitos consumen oxígeno y disminuyen el pH debido a la generación de ácido láctico.

Además productos de plaquetas leucoreducidos tienen gran demanda ya que disminuye el riesgo de reacciones transfusionales asociadas a la presencia de leucocitos. Cuando se preparan plaquetas de sangre completa la reducción de leucocitos se puede alcanzar al momento de la preparación por ejemplo cuando se preparan plaquetas de buffy-coat ó si se desea se puede reducir mucho más el número de leucocitos mediante filtración después de la recolección recientemente las nuevas máquinas de aféresis permiten recolectar productos de plaquetas con un número de leucocitos residuales muy bajos, muchas

veces por debajo de la capacidad de detección de las técnicas utilizadas para realizar el conteo.

Las técnicas automáticas para contar leucocitos residuales en los productos de plaquetas, no son suficientemente sensitivas, pero técnicas manuales donde se utilizan hemocitómetros tienen una capacidad de detección hasta de 2 leucocitos / μ l y la citometría de flujo permite conteos de 1 leucocito / μ l.

Determinación del pH :

La estabilidad del pH es uno de los factores más importantes durante la conservación de los productos de plaquetas y está asociado directamente con el metabolismo de las plaquetas. Los valores de pH de 6.4 a 7.3 han sido asociados con buena viabilidad de las plaquetas. A medida que el pH disminuye por debajo de 6.4, la función plaquetaria se altera y a pH de 6.2 las plaquetas cambian de una forma discoide a una forma esférica, comienzan a agregarse y la sobre vida de las plaquetas in vivo comienzan a disminuir. También valores elevados de pH (> 7.6) debido a un bajo contenido de plaquetas en el concentrado, produce activación y microvesículas de las plaquetas con pobre recuperación in vivo después de la transfusión.

Lactato deshidrogenasa :

La liberación de LDH en los concentrados plaquetarios indica la presencia de daño de la membrana celular (lisis), este valor se incrementa de un 10 a 20 % durante el período de conservación .

Contaminación bacteriana :

La contaminación bacteriana es infrecuente pero en ciertos casos puede producir sepsis y coagulación intravascular diseminada .

La fuente de contaminación bacteriana de los componentes sanguíneos pueden provenir de dos vías una vía endógena donde las bacterias pueden provenir de un donante que presenta una bacteriemia asintomática el día de la donación ó una contaminación exógena que puede provenir de la flora normal de la piel del donante al momento de realizar la flebotomía o debido a una contaminación del producto durante el procesamiento y el mantenimiento.

Las plaquetas son el componente más frecuentemente asociado a sepsis debido a contaminación bacteriana ya que estos productos se mantienen en bolsas plásticas que tienen una alta permeabilidad al oxígeno a una temperatura ambiente (20 a 24 ° C) por un período máximo de 5 días .

Estas condiciones tienden a favorecer el crecimiento de bacterias aeróbicas capaces de crecer a esa temperatura . El mayor porcentaje de episodios involucran el staphylococo coagulasa negativo , *Staphylococcus epidermidis* el cual posee una patogenicidad limitada pero puede causar bacteriemia en pacientes neutrópicos.

Además de la presencia de *S.aureus* ,*Enterobacter cloacae* , *E. coli* , *Pseudomonas* y *Bacillus sp.*, los productos de plaquetas se contaminan más frecuentemente al final de la fecha de expiración entre el 4 ó 5 día cuando la cantidad de organismos son potencialmente más altos, esta fué la razón por la cual la FDA en los Estados Unidos decidió disminuir el máximo periodo de conservación de los productos de plaquetas de 7 a 5 días.

En Europa se han utilizado varias soluciones aditivas para conservar las plaquetas a temperatura ambiente. Las ventajas que ofrecen estos productos son las de poder utilizar el plasma para otros propósitos, mejorar la calidad de las plaquetas y disminuir el riesgo de reacciones del paciente a proteínas plasmáticas incompatibles. A pesar de esto , la posibilidad de contaminación bacteriana no se elimina por que la cantidad de plasma remanente en el producto de plaquetas es suficiente medio para el crecimiento de bacterias.

En caso de presentarse un concentrado plaquetario con cultivo positivo , no significa que el paciente desarrollará sepsis , la variedad de los síntomas depende de las condiciones generales del paciente , de la cantidad y tipo de producto transfundido y del tipo de contaminación bacteriana. En los casos sintomáticos , uno ó más de los siguientes síntomas pueden presentarse durante una ó hasta dos horas después de la transfusión de concentrados plaquetarios contaminados :

Fiebre elevada de mas de 39 ° C ó una temperatura que aumenta mas de 2 ° C , temblor, escalofríos , taquicardia , hipotensión severa, nausea , vómito , dolor de espalda . Entre los métodos más frecuentemente utilizados para la detección

de microorganismos en los concentrados plaquetarios están la coloración de Gram con una sensibilidad de 10^5 a 10^6 UFC / ml .

los cultivos bacterianos son realizados por medio de técnicas tradicionales, la sensibilidad depende del tamaño del inóculo y la positividad depende de los cambios de presión en la botella del cultivo ,estas técnicas de cultivo poseen una sensibilidad que puede detectar hasta 1 UFC / volumen de muestra .

HIPOTESIS:

Los procedimientos de aféresis plaquetaria realizadas en el banco de sangre del hospital ABC cumplen con los estándares internacionales para obtener un producto optimo.

OBJETIVO:

validar los concentrados plaquetarios por aféresis del banco de sangre del hospital ABC que cumplan con los Estándares Internacionales (American Association of Blood Banks (AABB))

de microorganismos en los concentrados plaquetarios están la coloración de Gram con una sensibilidad de 10^5 a 10^6 UFC / ml .

los cultivos bacterianos son realizados por medio de técnicas tradicionales, la sensibilidad depende del tamaño del inóculo y la positividad depende de los cambios de presión en la botella del cultivo ,estas técnicas de cultivo poseen una sensibilidad que puede detectar hasta 1 UFC / volumen de muestra .

HIPOTESIS:

Los procedimientos de aféresis plaquetaria realizadas en el banco de sangre del hospital ABC cumplen con los estándares internacionales para obtener un producto optimo.

OBJETIVO:

validar los concentrados plaquetarios por aféresis del banco de sangre del hospital ABC que cumplan con los Estándares Internacionales (American Association of Blood Banks (AABB))

Criterios de inclusión :

Apartir de el día 25- Octubre al 07- Noviembre del año 2000 ,se realizó un estudio prospectivo , longitudinal, en el que se incluyeron todos los procedimientos de aféresis plaquetaria, realizados con el equipo Haemonetics MCS 9000 con sistema cerrado de flujo intermitente , utilizando anticoagulante ACD-A , y recolectado en una bolsa de Polivilcloride (PVC)-CLX , en el Banco de sangre del hospital ABC .

Criterios de exclusión :

Se excluyeron los procedimientos que técnicamente resultaron inconclusos .

MATERIAL Y METODOS:

De los concentrados plaquetarios analizados se determinó el volumen neto ,con la aplicación de la siguiente fórmula :

$$\text{Volumen neto} = \frac{\text{peso bruto} - \text{peso de la bolsa (82.3 g)}}{1.028 \text{ (densidad del plasma)}} = \text{gramos}$$

De los concentrados plaquetarios analizados se tomarón alícuotas de 50 ml en una de las dos bolsas de recolección , la cual fué identificada con el número de la unidad permaneciendo en agitación continua y a una temperatura de 20 a24 °C.

Criterios de inclusión :

Apartir de el día 25- Octubre al 07- Noviembre del año 2000 ,se realizó un estudio prospectivo , longitudinal, en el que se incluyeron todos los procedimientos de aféresis plaquetaria, realizados con el equipo Haemonetics MCS 9000 con sistema cerrado de flujo intermitente , utilizando anticoagulante ACD-A , y recolectado en una bolsa de Polivilcloride (PVC)-CLX , en el Banco de sangre del hospital ABC .

Criterios de exclusión :

Se excluyeron los procedimientos que técnicamente resultaron inconclusos .

MATERIAL Y METODOS:

De los concentrados plaquetarios analizados se determinó el volumen neto ,con la aplicación de la siguiente fórmula :

$$\text{Volumen neto} = \frac{\text{peso bruto} - \text{peso de la bolsa (82.3 g)}}{1.028 \text{ (densidad del plasma)}} = \text{gramos}$$

De los concentrados plaquetarios analizados se tomarón alícuotas de 50 ml en una de las dos bolsas de recolección , la cual fué identificada con el número de la unidad permaneciendo en agitación continúa y a una temperatura de 20 a24 °C.

Durante las primeras 24 horas de su recolección se tomaron 25 ml con técnica estéril para determinar en todos ellos, cuenta de eritrocitos, cuenta de leucocitos ,cuenta plaquetaria, determinación del ph, determinación de LDH, agregación plaquetaria con ADP , Colágeno y Ristocetina , cultivo de aeróbios como anaerobios y la tinción de gram.

Al quinto día se tomaron los 25 ml restantes para la determinación del ph , determinación de LDH , agregación plaquetaria con ADP , colágeno , Ristocetina , cultivo tanto de aeróbios como anerobios y tinción de gram.

La determinación de cada uno de los parametros se describen a continuación :

cuenta plaquetaria :

Se realizará una dilución 1:2 con sol. Salina, determinando la cuenta plaquetaria por método de Impedancia, con el equipo automatizado Coulter STKS .

El número de plaquetas obtenidas se multiplica por la dilución para obtener el número de plaquetas por 10^3 por mm^3 , este valor se multiplica por el volumen neto en mm^3 , para obtener la cantidad de plaquetas por concentrado plaquetario .

Cuenta de eritrocitos:

Se realizó manualmente con la cámara de Nageotte , realizando una dilución dilución 1:5 , con el diluyente para eritrocitos (Hayen) más un colorante azul de toluidina para teñir eritrocitos , se llena la cámara de Nageotte por

capilaridad , se deja sedimentar en cámara húmeda durante 10 minutos, ver al microscopio de contraste de fase.

Contar la cantidad de eritrocitos en todo el rayado de la cámara , el número de eritrocitos obtenidos se multiplica por la dilución y se divide entre 50 que son los mm^3 contados en la cámara , obteniendo el número de eritrocitos por mm^3

Cuenta de leucocitos:

Se realizó manualmente con la cámara de Nageotte , realizando una dilución 1:5 con el reactivo de turk , se llena la cámara por capilaridad , se deja sedimentar durante 10 minutos en cámara húmeda , ver al microscopio de contraste de fase , contar la cantidad de leucocitos en todo el rayado de la cámara , el número de leucocitos obtenidos se multiplica por la dilución y se divide entre 50 que son los mm^3 contados en la cámara , obteniendo el número de leucocitos por mm^3 .

Determinación del ph:

La determinación de este se realizará por el método ion selectivo con el gasómetro (Nova Biomedical) .

Control bacteriológico:

Este se llevará a cabo por la técnica habitual de cultivo para la detección microbiana Bact/Alert , el frasco de cultivo desechable y estéril de Bact / Alert contiene 40 ml. de medio conformado por solución de caldo de cerebro y corazón , polianetol, sulfonato sódico , piridoxina , HCL , menadiona , hemina ,

carbón activado , L-cisteína y otros sustratos de aminoácidos y carbohidratos complejos en agua purificada , los frascos se preparan con una atmósfera de oxígeno (aeróbicos) cerrados al vacío , los frascos anaerobicos se preparan con una atmósfera de nitrógeno y CO₂ cerrados al vacío.

La detección microbiana Bact/ Alert utiliza un sensor colorimétrico y una luz reflejada para monitorizar la producción de bióxido de carbono por la bacteria, cambiando la coloración del fondo de la botella de verde a amarillo.

Para inocular las botellas, primero se remueve la tapa protectora de las botellas, se limpia el tapón de hule con una torunda de alcohol, se inocula en cada botella tanto de aeróbicos como de anaerobios , con 2 ml. de la muestra piloto de los concentrados plaquetarios , realizandose esto en la cámara de flujo laminar para evitar una contaminación .

Ambas botellas se incuban por un lapso de 7 días , en caso de ser positivas , deben teñirse con una tinción de gram y subcultivarse para la identificación del agente microbiano.

Tinción de gram :

Se realizó un extendido de la muestra piloto del concentrado plaquetario para ser teñido por la tinción de gram ³¹ para apreciar la posible presencia de bacterias.

Agregación plaquetaria:

Está fué determinada en forma automatizada con el agregómetro (CHRONO-LOG) por el método óptico, este consta de un rayo de luz infraroja que brilla através de dos cubetas , una conteniendo plasma rico en plaquetas y otras conteniendo plasma pobre en plaquetas , los fotodiodos de silicón detectan la luz capaz de pasar a través de las muestras , el diseño de rayo ó fuente infrarojo dual en los pozos gemelos, asegura la reproducibilidad y permite la medición simultánea de la agregación y luminiscencia la cual es registrada en una curva.

Para iniciar la prueba , se procede a encender el equipo (CHRONO- LOG) 10 minutos antes de iniciar la prueba , para que alcance una temperatura de 37°C , la muestra del concentrado plaquetario , será ajustada con una cuenta plaquetaria entre 200 a 250 mil plaquetas / mm³ está se ajustará con un pool de plasma normal pobre en plaquetas con una cuenta menor de este último de 10 mil plaquetas / mm³ ,conformando así el plasma rico en plaquetas .

En cada cubeta se adicionan 500 µl de plasma rico en plaquetas y 500µl de plasma pobre en plaquetas , adicionanado el agente agregante en la dosis recomendada para cada uno, así como la presencia de un agitador magnético en el interior de cada cubeta , esperando 7 minutos , marcando el punto de inicio y fin de la prueba, así como el porcentaje de agregación , siempre utilizando un testigo normal ya conocido en cada prueba.

Cuantificación de LDH:

Está será determinada directamente de la muestra por el método modificado de wacker , con el equipo Aeroset.(Abbott)

RESULTADOS :

Durante el período comprendido entre el 25-Octubre al 07- Noviembre del año 2000 , se estudiaron 21 concentrado plaquetarios obtenidos por aféresis en el Banco de Sangre del Hospital ABC , los resultados se muestran a continuación :

tabla I

Resultados obtenidos en las primeras 24 horas

no. unidad	no. eritros	ph	volumen	no.total de plaquetas	no. total de leucos
34907	0	7.02	257.49	3.1207788	0.000720972
34908	0	7	225.29	3.176589	0.00045058
34927	0	7	323.92	3.8028208	0.00048588
34931	0	7	382.7	3.918848	0.0011481
34954	0	6.9	341.7	5.19384	0.00287028
34955	0	6.8	359.6	5.149472	0.00093496
34966	0	7.1	280.8	3.066336	0.00213408
34971	0	7.3	270.3	3.476058	0.00264894
34972	0	7.2	260.79	3.2390118	0.002242794
34973	0	7.3	248	2.68832	0.00248
34975	0	7.1	305	4.6116	0.0007625
34976	0	7.3	361.3	4.84142	0.0003613
35019	0	7.1	326.3	3.582774	0.0013052
35037	0	7.2	330.1	3.901782	0.00075923
35038	0	7	333.9	3.718646	0.00053424
35071	0	7.3	341.6	4.13336	0.0020496
35084	0	7	449.3	4.960272	0.00049423
35096	0	7.1	341.7	6.020754	0.00095676
35097	0	7.2	256.8	4.668624	0.0007704
35098	0	7.3	249.8	4.166664	0.00052458
35103	0	7.2	280	3.5448	0.000504

En esta tabla se aprecian valores aceptables de eritrocitos hasta de 0.1×10^9 (9) por cada concentrado plaquetario , leucocitos , hasta de 1.5×10^9 (9) por cada concentrado plaquetario , ph entre 6.4 a 7.3 , con un volumen total neto

Cuantificación de LDH:

Está será determinada directamente de la muestra por el método modificado de wacker , con el equipo Aeroset.(Abbott)

RESULTADOS :

Durante el período comprendido entre el 25-October al 07- Noviembre del año 2000 , se estudiaron 21 concentrado plaquetarios obtenidos por aféresis en el Banco de Sangre del Hospital ABC , los resultados se muestran a continuación :

tabla 1

Resultados obtenidos en las primeras 24 horas

no. unidad	no. eritros	pH	volumen	no.total de plaquetas	no. total de leucos
34907	0	7.02	257.49	3.1207788	0.000720972
34908	0	7	225.29	3.176589	0.00045058
34927	0	7	323.92	3.8028208	0.00048588
34931	0	7	382.7	3.918848	0.0011481
34954	0	6.9	341.7	5.19384	0.00287028
34955	0	6.8	359.8	5.149472	0.00093498
34968	0	7.1	280.8	3.066336	0.00213408
34971	0	7.3	270.3	3.476058	0.00284894
34972	0	7.2	260.79	3.2390118	0.002242794
34973	0	7.3	248	2.68832	0.00248
34975	0	7.1	305	4.6116	0.0007625
34976	0	7.3	361.3	4.84142	0.0003613
35019	0	7.1	326.3	3.582774	0.0013052
35037	0	7.2	330.1	3.901782	0.00075923
35038	0	7	333.9	3.719846	0.00053424
35071	0	7.3	341.6	4.13336	0.0020496
35084	0	7	449.3	4.960272	0.00049423
35098	0	7.1	341.7	6.020754	0.00095676
35097	0	7.2	256.8	4.668624	0.0007704
35098	0	7.3	249.8	4.166664	0.00052458
35103	0	7.2	280	3.5448	0.000504

En esta tabla se aprecian valores aceptables de eritrocitos hasta de 0.1×10^9 (9) por cada concentrado plaquetario , leucocitos , hasta de 1.5×10^9 (9) por cada concentrado plaquetario , pH entre 6.4 a 7.3 , con un volumen total neto

aceptable desde 100 a 500 ml , una cuenta plaquetaria de 3.5×10^{11} (11) por cada concentrado plaquetario , de acuerdo a los criterios de la AABB

Tabla 2

Resultados obtenidos en las primeras 24 horas

N° unidad	cultivo	gram
34907	negativo	neg.
34908	negativo	neg.
34927	negativo	neg.
34931	negativo	neg.
34954	negativo	neg.
34955	negativo	neg.
34966	negativo	neg.
34971	negativo	neg.
34972	negativo	neg.
34973	negativo	neg.
34975	negativo	neg.
34976	negativo	neg.
35019	negativo	neg.
35037	negativo	neg.
35038	negativo	neg.
35071	negativo	neg.
35084	negativo	neg.
35096	negativo	neg.
35097	negativo	neg.
35098	negativo	neg.
35103	negativo	neg.

En esta tabla se aprecian los valores obtenidos de el cultivo en las primeras 24 horas, así como la tinción de gram , los cuales fueron negativos , por lo tanto son productos que en las primeras 24 horas son estériles

Tabla 3

Resultados obtenidos al 5to. día

n° unidad	ph	cultivo	gram
34907	6.9	negativo	negativa
34908	7	negativo	negativa
34927	7.4	negativo	negativa
34931	7.2	negativo	negativa
34954	7.2	negativo	negativa
34955	7.1	negativo	negativa
34966	6.9	negativo	negativa
34971	7	negativo	negativa
34972	7.2	negativo	negativa
34973	7.1	negativo	negativa
34975	7.2	negativo	negativa
34976	7.2	negativo	negativa
35019	7.3	negativo	negativa
35037	7.1	negativo	negativa
35038	7.2	negativo	negativa
35071	7.1	negativo	negativa
35084	7.2	negativo	negativa
35096	7	negativo	negativa
35097	7.1	negativo	negativa
35098	7.1	negativo	negativa
35103	7.2	negativo	negativa

Al quinto día se observa un ph aceptable de 6.4 a 7.3 de acuerdo a la Asociación Americana de Bancos de sangre (AABB), los cultivos y la tinción de gram fueron negativos , por lo tanto son productos estériles .

Tabla 4

Resultados obtenidos del ph tanto en las primeras 24 horas como el 5to.

día

n° unidad	pH basal	pH (5° día)
34907	7.0	6.9
34908	7.0	7.0
34927	7.0	7.4
34931	7.0	7.2
34954	6.9	7.2
34955	6.8	7.1
34966	7.1	6.9
34971	7.3	7.0
34972	7.2	7.2
34973	7.3	7.1
34975	7.1	7.2
34976	7.3	7.2
35019	7.1	7.3
35037	7.2	7.1
35038	7.0	7.2
35071	7.3	7.1
35084	7.0	7.2
35096	7.1	7.0
35097	7.3	7.1
35098	7.3	7.1
35103	7.3	7.2
promedio	7.1	7.1

En esta tabla se aprecia que el ph promedio tanto en las primeras 24 horas como al quinto día fué de 7.1 , que cumple con los estándares internacionales de la AABB, que acepta ph de 6.4 a 7.3 .

Tabla 5

Resultados obtenidos de la determinación de LDH tanto en las primeras 24 horas como el quinto día

n° unidad	LDH basal	LDH 5° día	% incremento
34907	167	493	295.21
34908	170	503	295.88
34927	168	342	203.57
34931	135	296	219.26
34954	185	503	271.89
34955	140	379	270.71
34966	150	380	253.33
34971	169	346	204.73
34972	181	278	153.59
34973	226	405	179.20
34975	206	393	190.78
34976	160	294	183.75
35019	137.5	303	220.36
35037	176	285	161.93
35038	165	298	180.61
35071	150	284	189.33
35084	153	268	175.16
35096	274	314	114.60
35097	166	286	172.29
35098	170	366	215.29
35103	173	240	138.73
promedio	172.4524	345.5238	204.30

Se aprecia , un porcentaje de incremento al quinto día con relación a las primeras 24 horas de 204.30 % , lo referido en la literatura Internacional es de un incremento del 10 hasta el 20 % , por lo que se demuestra la presencia de lisis celular durante el tiempo de conservación .³²

Tabla 6

Resultados obtenidos de la agregación plaquetaria, con ADP desde las primeras 24 horas y el 5to. día

n° unidad	adp basal	adp 5° día	% decremento
34907	67	44	34.33
34908	85	42	50.59
34927	62	16	74.19
34931	69	48	30.43
34954	58	31	46.55
34955	82	48	41.46
34966	28	22	21.43
34971	31	1	96.77
34972	57	18	68.42
34973	40	14	65.00
34975	47	18	61.70
34976	17	0	100.00
35019	78	0	100.00
35037	72	8	88.89
35038	61	0	100.00
35071	43	25	41.86
35084	68	3	95.59
35098	18	7	61.11
35097	51	3	94.12
35098	61	15	75.41
35103	73	36	50.68
promedio			66.60

Se obtiene un porcentaje de decremento con ADP desde las primeras 24 horas hasta el 5to. día de la conservación de 66.60 % .

En la literatura Internacional se refiere un porcentaje de decremento desde un 20 a un 50 % , por lo que se demuestra una disminución de la actividad funcional de las plaquetas ,durante la conservación. ³³

Tabla 7

Resultados obtenidos de la agregación plaquetaria con colágeno desde las primeras 24 horas hasta el 5to. día

n° unidad	colágeno basal	colágeno 6° día	% decremento
34907	87	4	95.40
34908	91	11	87.91
34927	89	0	100.00
34931	63	56	11.11
34954	45	5	88.89
34955	41	28	31.71
34966	27	0	100.00
34971	64	0	100.00
34972	88	1	98.86
34973	29	0	100.00
34975	22	2	90.91
34976	22	0	100.00
35019	87	7	91.95
35037	27	2	92.59
35038	15	7	53.33
35071	22	5	77.27
35084	84	19	77.38
35096	25	25	0.00
35097	25	1	96.00
35098	41	4	90.24
35103	74	14	81.08
promedio	50.86	9.10	79.27

Obtuvimos un porcentaje de decremento del 79.27 % , desde las primeras 24 horas hasta el 5to. día de la conservación , la literatura internacional refiere un porcentaje de decremento de colágeno, hasta de un 20 % ,por lo que se

demuestra una disminución de la actividad funcional plaquetaria , durante la conservación.³³

Tabla 8

Resultados obtenidos de la agregación plaquetaria , con ristocetina desde las primeras 24 horas y al 5to. día

n° unidad	risto basal	risto 6° día	% decremento
34907	98	14	85.71
34908	100	28	72.00
34927	100	48	52.00
34931	100	96	4.00
34954	100	95	5.00
34955	100	97	3.00
34966	100	70	30.00
34971	100	80	20.00
34972	100	90	10.00
34973	100	100	0.00
34975	100	100	0.00
34976	31	10	67.74
35019	100	28	72.00
35037	100	21	79.00
35038	100	94	6.00
35071	90	35	61.11
35084	100	100	0.00
35096	98	41	58.16
35097	100	96	4.00
35098	75	46	38.67
35103	98	82	16.33
promedio			32.61

Se obtiene un porcentaje de decremento con ristocetina de 32.61% , en la literatura internacional se refiere un porcentaje de decremento hasta un 20 % por lo que se demuestra una disminución de la actividad funcional plaquetaria durante la conservación.³³

CONCLUSIONES:

Los procedimientos de aféresis plaquetaria realizados en banco de sangre del hospital ABC , son adecuados ya que de los 21 concentrados plaquetario 20 de ellos cumplen con los estándares Internacionales de la American Association of Blood Banks (AABB)

De acuerdo a los resultados obtenidos de agregación plaquetaria , observando una disminución de la función plaquetaria, junto con un incremento de la lisis plaquetaria, la literatura sugiere la transfusión de los concentrados plaquetarios dentro de las primeras 72 horas , pero en base a los resultados obtenidos no podemos afirmar está aceberación ya que no fueron analizados en las primeras 72 horas sino hasta el quinto día .

Se debe tomar a consideración que la activación de las plaquetas genera una serie de cambios que ocurren durante la obtención , recolección ,conservación y en el transporte de los concentrados plaquetarios , los cuales al no ser adecuados provocan cambios metabólicos como la carencia de oxígeno por lo tanto ,metabolizando la glucosa en forma anaeróbica, incrementando así la cantidad de acido láctico , disminuyendo incluso el ph , perdiendo la forma discoide de las plaquetas ,hasta la lisis de las mismas con la liberación subsecuente de LDH, . afectando la viabilidad plaquetaria.

Para poder evitar la pérdida importante de la viabilidad plaquetaria ,estas necesitan ser recolectadas , conservadas y transportadas en condiciones "ideales " para poder administrar al paciente productos de alta calidad , para ello los Bancos de Sangre deben seguir y conocer las especificaciones de cada fabricante de bolsa de recolección plaquetaria ya que ellos realizan pruebas in vitro e in vivo .

Bibliografía :

- 1) Lo SC , Lin DT , Lin Sw , **Invitro evaluation of the effects of transportation and storage on platelet concentrates** , J Formos Med Assoc 1977, Mar, 96 (3) ,189-93.
- 2) Turner VS , Hawker RJ , Mitchell , **Paired in vivo and in vitro comparison of apheresis and " recovered " platelet concentrates stored for 5 days** , J Clin Apheresis 1994 ,9 (3) :189-94 .
- 3)Holme S , Murphy, **platelet storage at 22 degree °C for transfusion,interrelation ship of platelet density and size medium ph , and viability after in vivo infusion**,J lab.Clin. Med.1983 , Jan ,1001 (1) : 161-74.

Para poder evitar la pérdida importante de la viabilidad plaquetaria ,estas necesitan ser recolectadas , conservadas y transportadas en condiciones "ideales " para poder administrar al paciente productos de alta calidad , para ello los Bancos de Sangre deben seguir y conocer las especificaciones de cada fabricante de bolsa de recolección plaquetaria ya que ellos realizan pruebas in vitro e in vivo .

Bibliografía :

- 1) Lo SC , Lin DT , Lin Sw , **Invitro evaluation of the effects of transportation and storage on platelet concentrates , J Formos Med Assoc** 1977, Mar, 96 (3) ,189-93.
- 2) Turner VS , Hawker RJ , Mitchell , **Paired in vivo and in vitro comparison of apheresis and " recovered " platelet concentrates stored for 5 days , J Clin Apheresis** 1994 ,9 (3) :189-94 .
- 3)Holme S , Murphy, **platelet storage at 22 degree °C for transfusion,interrelation ship of platelet density and size medium ph , and viability after in vivo infusion,J lab.Clin. Med.**1983 , Jan ,1001 (1) : 161-74.

4)Rock G, Figueredo A. **Metabolic changes during platelet storage transfusion** 1976 , Nov-Dec ,16 (6) :571-9.

5)Slichter SJ,Harker LA ,**Preparation and storage of platelet concentrates II storage variables influencing platelet viability and funcion** ,Br.J. Haematol 1976 , Nov, 34 (3) : 403-19 .

6)Moroff G , Friedman A, Robkin-Klinel , **Factors influencing changes in ph during storage of platelet concentrates at 20-24 degree C**, Vox Sang.1982 Jan,42 (1) :33-45.

7) Slichter SJ **preservation of platelet viability and funcion during storage of concentrates**, prog Clin Biol. Res .1978,28 :83-100

8) Klem A, Adamik A , Mischker , **changes in platelet concentrates from dogs due storage II** , **Biochemical changes in concentrates plasma** , Berl Munch tierarztl Wochenschr 1999 , Aug,112 (8) :281-

9) Klinger MH , **the storage lesion of platelets : ultraestructural and functional aspects** , Ann Hematol 1996 , Sep,73 (3) :103-12 .

10) Mitrovic S, Mitrovic D, Dragojlovicz, Todorovic , A simple morphological score for the quality control of platelet concentrates , Haematologia ,1997 ,28 (4) :239-46.

11) Hauswirth Wa , Oehler M, Ruther G, Walther, Hypotonic shock reaction as quality control marker for platelet concentrates , Beitr, Infusions ther transfusion med .1994,32 : 88-91.

12) GRUH j, Stock K, Kratzer MA, Quality control of platelet concentrates functional assessment of stored platelets in vitro , Anaesthesist 1993, Dec,42 (12) 847-55.

13) Lumadue JA , Lanzkran SM, Kennedy , Cytokine induction of platelet , activation, Am,J,Clin,Pathol 1996 Dec,106 (6) :795-8.

14) Matsubayashi, Weidner J, Miraglia CC, Mc Intyrej A. Platelet membrane early activation markers during prolonged storage , thromb Res 1999 Feb 15 ,93 (4) :151-60

15) Snyder EL, Hezzey A, Katz , **Ocurrence of the release reaction during preparation and storage of platelet concentrates**

Vox Sang 1981 , Sep, 41 (3) :172-7.

16) Rebutta P, **In vitro and in vivo properties of various types of platelets**

Vox Sang, 1998 , 74 , Suppl,2: 217-22 .

17) Holmes , Vaidja K, Murphys, **platelet storage at 22 degrees C : effect of**

type of agitation on morphology , viability and function in vitro , blood

1978 , Aug, 52 (2) : 425-35 .

18) Solberg C, Holmes , Little C, **Morphological changes associated with ph changes during storage of platelet concentrates in first-generation 3-day**

container , Vox Sang 1986,50 (2) :71-7.

19) ROCK g, Sherring VA , **Five -day storage of platelet concentrates,**

transfusion 1984 , Mar – Apr, 24 (2) :147-52 .

20) Hogman CF , GongJ, **Studies of one invasive and two no invasive methods for detection of bacterial contamination of platelet concentrates ,**

Vox Sang ,1994, 67 (4) :351-5 .

21) Slichter SJ, Harker LA ,preparation and storage of platelet concentrates , transfusion 1976 Jan – Feb , 16 (1) :8-12 .

22) Dzik Wlt , Cusack WF , Sherburne B, Kickler T , The effect of prestorage white cell reduction on the function and viability of stored platelet concentrates , transfusion 1992 , May , 32 (4) : 334-9 .

23) Holme S, Moroff G, Murphy S, A Multi – laboratory evaluation of in vitro platelet assays : the tests for extent of shape change and response to hypotonic shock Biomedical Excellence for safer transfusion working party of the international Society of Blood , transfusion 1998 , Jan, 38 (1) :31-40 .

24) Solberg C, Moen P , Little C. , Effect of centrifugation on the storage propierties of platelets , Vox Sang. 1998 ,55 (2) :97-103 .

25) By Charles A, Schiffer , Edward J , Lee, Paul M, Ness, Clinical evalunión of platelet , concentrates stored for one to five days , Blood , Vol. 67 , No. 6 (June) 1986 : pp1591-1594.

26) R.Funheer R, N.I.Pietersz D. Monitoring of platelet morpholo y during storage of platelet concentrates , transfusion 1989 , 29 : 36-40

27) G Moroff , S , Holme , V, M, George , and W.A. Heaton .

Effect on platelet properties of exposure to temperatures below 20 ° C for short periods during storage at 20 a 24 ° C ,transfusion 1994 , 34 : 317- 321

28) Toby L, Simon , **principales of transfusion Medicine Second Edición ,**
Editores Ennio C,Rossi , pag. 245-253

29) **Blood transfusión y therapy , A, physician's Hand Book , 3era Edición**
American Association of Blood Banks ,1989 , pag 14

30) Joseph R, Bove , M.D. , John Case , **practical Blood transfusión , 4ta**
Edición Fourth, Edition , pag.328 .

31) Koneman, Allen , Dowell , **Diagnóstico microbiológico , tercera edición ,**
esditorial panamericana , pag. 158 .

32)Holme S,Sweeney JD , Elfath , M D.

The expression of p- selectin during collection , processing and storage of platelet concentrates : relation ship to loss of in vivo viability transfusión
1997,37 : 12-17

33)Murphy S. **platelet storage for transfusion , seminars in Haematology ,**
22 (3) , July 1985.