

Impacto de la implementación de NAT en el pesquisa viral del plasma por fraccionamiento

1

González-Cabrera L¹; Reyes-Vega MC².

¹ Laboratorios DALMER S.A; ² Centro Nacional Coordinador de Ensayos Clínicos, La Habana, Cuba.

Email: lgcabrera.80@gmail.com

RESUMEN

El pesquiasje de marcadores serológicos de los virus VHB, VHC y VIH en los bancos de sangre aumenta la seguridad de la sangre y sus componentes, pero son las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (NAT por sus siglas en inglés) las que permiten la detección directa de los virus en la fase de ventana serológica. En el año 2011 la Empresa de Sueros y Productos Hemoderivados (ESPH) “Adalberto Pesant” implementó el sistema cobas s 201, basado en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés), para el tamizaje viral del plasma destinado a la producción de hemoderivados. El objetivo del trabajo consistió en la revisión documental de los resultados obtenidos desde enero/2011 a julio/2015 y las acciones ejecutadas en función del sistema de hemovigilancia. El estudio mostró que, de un total de 1 273 014 unidades de plasma pesquiasjadas, 122 muestras (0,01 %) resultaron PCR-reactivas, con 67/122 muestras (54.92 %) reactivas a UMELISA y 55/122 muestras (45.08 %) en período de ventana. La distribución fue: 80/122 (65,57 %) reactivas a VHB, 35/122 (28,68 %) reactivas a VHC y 7/122 (5,74 %) reactivas a VIH. La ESPH notificó a los bancos de sangre involucrados y otros centros relacionados, los resultados de PCR y de los ensayos serológicos e inmunoenzimáticos solicitados al Laboratorio Nacional de Referencia de Sida (LISIDA). Estos reportes fueron investigados por los bancos de sangre e informados a los Centros Provinciales de Higiene y Epidemiología (CPHE), posibilitando el estudio y tratamiento oportuno de donantes de sangre supuestamente sanos con infecciones virales. Se demostró el impacto positivo de la incorporación de las tecnologías analíticas de biología molecular para reforzar la seguridad transfusional, la garantía de la calidad de las materias primas suministradas a la industria y la producción de hemoderivados cubanos.

Palabras clave: técnicas de amplificación de ácidos nucleicos, reacción en cadena de la polimerasa, plasma, medicamentos hemoderivados.

INTRODUCCIÓN

Algunos componentes sanguíneos como el plasma, constituyen el material de partida en la fabricación de hemoderivados a partir de mezclas de plasma de miles de donantes. Garantizar sangre y derivados sanguíneos seguros requiere de una política de calidad exigente con el objetivo de salvaguardar los intereses de los pacientes, la sociedad y el Estado.

El pesquisaje de marcadores virales en el Programa Nacional de Sangre (PNS) se realiza obligatoriamente al 100 % de las donaciones en Cuba, tal como ha recomendado la Organización Mundial de la Salud (OMS), el Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CECMED) y está soportado en una red de laboratorios que emplean el Sistema Ultramicroanalítico (SUMA) distribuidos en bancos de sangre, hospitales y CPHE, los que determinan anticuerpos al VIH y VHC y el antígeno de hepatitis B (HBsAg) y su posterior confirmación, por lo que el riesgo de transmisión de estos virus a través de la sangre es muy bajo.

No obstante, son los ensayos mediante *NAT*, basados en la amplificación de secuencias de ácidos nucleicos los que detectan ADN o ARN del agente etiológico independientemente de la respuesta inmune (anticuerpos o antígenos), los que nos permiten descubrir el virus en la fase de “ventana serológica” y así disminuir ese riesgo potencial de transmisión. La automatización es una ventaja adicional ante estas técnicas complejas, lo que simplifica y disminuye el período de entrenamiento, reduce los errores y garantiza una mayor sensibilidad y especificidad.^{1, 2}

En el año 2011 la ESPH “Adalberto Pesant” contrató a la compañía farmacéutica Roche (filial panameña) e implementó el sistema cobas s 201 para el tamizaje del plasma para fraccionamiento.

Este trabajo evalúa los resultados de 4 años y 6 meses de empleo del sistema cobas s 201, para el diagnóstico cualitativo de los virus VHB, VHC y VIH en el plasma humano empleado como materia prima en la producción de hemoderivados.

Objetivo general: Analizar la significación de la implementación de la tecnología de ácidos nucleicos para el pesquiasje viral del plasma para fraccionamiento en la ESPH.

Objetivos específicos:

- 1- Evaluar los resultados del pesquiasje viral del plasma destinado a la industria en el laboratorio de biología molecular, desde enero/2011 a julio/2015.
- 2- Valorar el impacto de la implementación de NAT en la producción de hemoderivados y en el sistema de vigilancia de infecciones transmitidas por la sangre en Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio descriptivo, longitudinal y cualitativo en el laboratorio de biología molecular de la ESPH, desde enero/2011 hasta julio/2015. La muestra estuvo constituida por 1 273 014 unidades de plasma de los bancos de sangre y centros de plasmaféresis de Cuba que suministran esta materia prima a la industria y que cumplieron con los criterios de inclusión descritos en las regulaciones del CECMED y las especificaciones de calidad del plasma humano vigentes en la ESPH.¹

Se realizó un estudio descriptivo y documental de las acciones efectuadas por el área de Banco de Sangre de la ESPH en función del sistema de vigilancia de infecciones transmitidas por la sangre.

La información se obtuvo de las estadísticas de informes anuales de la ESPH e investigaciones enviadas por los bancos de sangre sobre los casos reactivos reportados. Se utilizó la estadística descriptiva y el porcentaje como unidad de resumen. Se emplearon técnicas cualitativas como la revisión documental de toda la información obtenida y la literatura consultada.

RESULTADOS

En el período 2011-junio/2013 se implementó el sistema cobas s 201 configuración C MR1, versión 1.0, inicialmente con *pooles* de 48 muestras y en el año 2012 la configuración fue ampliada a *pooles* de 96 muestras. En julio/2013 se realizó el cambio de configuración C a configuración D, con el empleo de los kits TaqScreen MPX versión 2.0, lo que permitió la resolución individual de cada virus y garantizó mejores posibilidades operacionales del sistema.

El empleo del sistema cobas s 201 y kits con mayores rendimientos garantizó el pesquiasaje de un mayor número de unidades, analizándose más de 300 000 muestras anualmente, equivalentes a más de 80 000 litros de plasma humano, lo que permitió una logística de trabajo compatible con las necesidades de la industria biofarmacéutica.

Desde enero/2011 a julio/2015 se pesquisaron 1 273 014 muestras de plasma para fraccionamiento y se detectaron 122 muestras reactivas (0.01 %), resultando 67/122 muestras (54.92 %) reactivas en el ensayo UMELISA (TecnoSuma. La Habana, Cuba) y 55/122 muestras (45.08 %) en período de ventana (Tabla 1), las cuales fueron clasificadas como No Conformes y segregadas, lo que disminuyó significativamente el riesgo biológico en los hemoderivados obtenidos, los gastos por destrucción de productos intermedios No Conformes por virales, así como los atrasos en el ciclo productivo.

Tabla 1. Resultados reactivos del Laboratorio de Biología Molecular y confirmados por LISIDA (Período enero/2011-julio/2015)

Virus	Total	%	Período Ventana	Reactivo SUMA
VHB	80	65.57	44	36
VHC	35	28.69	7	28
VIH	7	5.74	4	3
Total	122	100.00	55	67

Fuente: Estadísticas de Informes Anuales. ESPH “Adalberto Pesant”. La Habana. 2011-2015.

Debe destacarse que el 54.92 % de las muestras positivas a virus corresponden a unidades que fueron enviadas a la industria con resultados no reactivos (falsos negativos), lo que implica cuantiosos gastos adicionales en la producción de hemoderivados, al incrementarse el consumo de reactivos por resolución de muestras, además de la implicación clínica al ocurrir un error humano, cuando una muestra reactiva se informa como no reactiva y se libere para su uso, lo que conduciría a la transfusión de componentes contaminados.

Las investigaciones realizadas en cada caso definen como principales causas:

- 1- Fallas en el proceso de selección de donantes según la [Resolución No. 101/2008 que](#) aprueba y pone en vigor los Requisitos para la Selección de Donantes de Sangre.
- 2- Deficiencias en el funcionamiento del sistema de control de la calidad y trazabilidad, por errores humanos en la identificación de muestras y bolsas de sangre, ineficaz rechazo de unidades reactivas y la no disponibilidad oportuna de información sobre donantes excluidos de forma permanente, así como el ineficiente análisis periódico de los resultados de los ensayos serológicos y de seroconversión de donantes.
- 3- Inefectivo flujo de información entre los CPHE y los bancos de sangre, ya que no garantizan la información sistemática sobre la confirmación o no de las muestras enviadas al LISIDA de los donantes con UMELISA VIH/sida repetidamente reactivo y con resultados reactivos a las pruebas serológicas para la detección de HBsAg y anticuerpos al VHC, así como la confirmación de la notificación a los individuos afectados y la conducta posterior seguida.

A pesar de que en el año 2004 se desarrolló la Red de Bancos de Sangre del país implementándose el módulo Galen Banco de Sangre y el acceso al Registro Centralizado de Donantes (RCD) y que se contó en el 2014 con toda la información de las donaciones, solamente desde el año 2015 se automatizaron algunos Centros de Extracción.³

No obstante, a los esfuerzos por automatizar los procesos relacionados con la actividad de los bancos de sangre, todavía no se garantiza totalmente el soporte técnico al sistema y a la

infraestructura tecnológica instalada, lo que no permite la obtención de estadísticas reales y rápidas que garanticen la trazabilidad de la sangre y la identificación de los donantes excluidos.

En opinión de las autoras, resulta fundamental un enfoque sistémico de las acciones de vigilancia efectuadas en los donantes de sangre, para lograr eliminar las fallas en las notificaciones de casos positivos hasta el área de salud, así como la integración de todos los componentes del sistema de vigilancia para infecciones transmitidas por la sangre.

La notificación a los bancos de sangre por parte de la ESPH de los resultados de las muestras reactivas obtenidos en el laboratorio de biología molecular, así como de los ensayos serológicos e inmunoenzimáticos adicionales solicitados al LISIDA, permitieron la retroalimentación con la red de bancos de sangre sobre la calidad del desempeño y la toma de decisiones, para la mejora en la certificación de derivados de la sangre, realizándose las investigaciones con búsqueda retrospectiva (*look-back*) que fueron comunicadas a la ESPH y los CPHE. Esto ha contribuido a optimizar los niveles de seguridad transfusional en las condiciones actuales, al permitir el estudio y tratamiento de donantes de sangre y plasma en apariencia sanos, que pueden ser portadores de infecciones virales y que no han sido detectados con las pruebas de tamizaje posdonación implementadas actualmente en la gran mayoría de los bancos de sangre del país.

Además se notificaron los resultados reactivos al resto de los componentes del sistema de vigilancia: PNS, CECMED, Programa Nacional de Hepatitis, Centro de Inmunoensayo/TecnoSuma y el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), con el objetivo de lograr que la información obtenida en la ESPH sea difundida y contribuya al reforzamiento de las actividades de vigilancia efectuadas en todo el país, además de que posibilita la adopción de acciones de prevención y control más efectivas y oportunas.

La comunicación de los CPHE al LISIDA de los casos reactivos detectados en la ESPH, posibilitó la realización de estudios serológicos y moleculares de VIH-1, que favorecieron el conocimiento de la variabilidad genética del VIH-1 en Cuba, así como la vigilancia epidemiológica de los subtipos en función del programa nacional ITS/VIH/sida del MINSAP.

CONCLUSIONES

Se implementó exitosamente la tecnología de ácidos nucleicos, sistema cobas s 201, para el pesquiasje viral del plasma para fraccionamiento en la ESPH. Se demostró el impacto positivo en los ámbitos científico, tecnológico, económico y social, de la incorporación de las nuevas tecnologías analíticas de biología molecular para plasma humano. Se incrementó la garantía de la calidad de la materia prima recibida en la industria y el nivel de producción y comercialización de hemoderivados. La retroalimentación entre la ESPH, los bancos de sangre y las instituciones involucradas en el sistema de hemovigilancia, favoreció la seguridad transfusional y el suministro a la población de medicamentos hemoderivados cubanos con elevados niveles de calidad y seguridad, sobre todo si tomamos en consideración las limitaciones de los métodos serológicos de pesquisa empleados en Cuba ya que la tecnología *NAT* solo se utiliza en el Banco de Sangre Provincial de La Habana.

RECOMENDACIONES

- 1- Realizar auditorías a los centros proveedores de plasma para fraccionamiento, enfatizando en el chequeo de aspectos como: la selección de los donantes, la trazabilidad de las donaciones y los componentes obtenidos, los resultados analíticos de las muestras, así como los reportes estadísticos anuales.
- 2- Mejorar la plataforma informática, permitiendo el acceso controlado y oportuno al registro centralizado de donantes excluidos, en todos los centros de extracción y bancos de sangre del país, así como la retroalimentación efectiva entre las personas e instituciones implicadas en las actividades de hemovigilancia.
- 3- Incentivar a las instancias superiores del MINSAP para que se estudie y valore la creación de centros con estructuras centralizadas que se ajusten a la captación y procesamiento de sangre con tecnología automatizada que incluya *NAT*, además de procesos sistematizados y la implementación de sistemas de gestión de la calidad en sus procesos, adecuados para adquirir una certificación de buenas prácticas de calidad en bancos de sangre.

BIBLIOGRAFÍA

1. Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos. [Internet]. Regulación No. M 74-14. Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de sangre. La Habana: CECMED; 2014. [Citado 10 octubre 2016]. Disponible en: http://www.cecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/ambitor/ar_no_00-226.pdf
2. World Health Organization [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2014. Blood Donor Selection. Guidelines on Assessing Donor Suitability for Blood. [Citado 10 octubre 2016]. Disponible en: https://extranet.who.int/iris/restricted/bitstream/10665/76724/1/9789241548519_eng.pdf
3. Paderni M d C, Hernández M, Díaz A, Aznielles Y. Estadísticas para el registro centralizado de donantes (RCD). RCIM [Revista en Internet]. 2016 [Citado 10 octubre 2016]; 8 (1): 87-96. Jun Disponible en: [http://www.rcim.sld.cu/revista_32/articulo_pdf/Estadísticas\(RCD\).pdf](http://www.rcim.sld.cu/revista_32/articulo_pdf/Estadísticas(RCD).pdf)