

Recolección de granulocitos



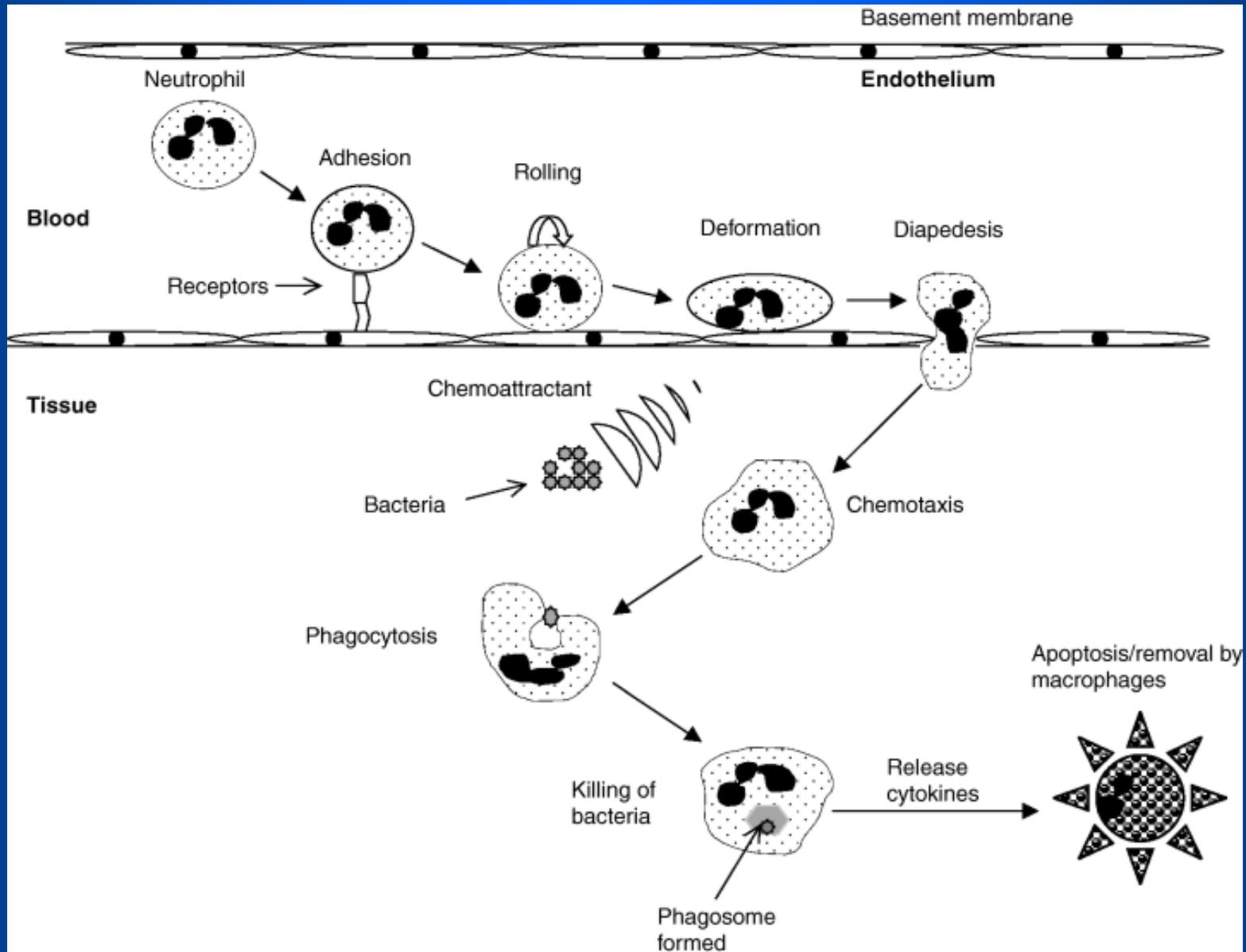
Cyntia Arrais

Fundação Pró-Sangue / Hemocentro de SP

Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo

Neutrófilos

- Principal sistema de defensa contra las bacterias y los hongos
- Concentración en la sangre periférica: $2,0 - 7,0 \times 10^9 / L$
- Producción diaria: 10^{11} células / día
- Infección: aumento en la producción
- Vida media: 9 - 10 días
 - médula ósea: 5 -7 días
 - sangre periférica: 6 - 8 horas
 - tejidos: 2 -3 días



Transfusión de granulocitos

- *Morse et al. (1966) / Schwarzenberg et. al (1967):*
 - donantes portadores de LMC
 - Resultados:
 - - 50% de respuesta
 - Desaparecimiento de la fiebre
 - Incremento del número de granulocitos
 - La respuesta estaba relacionada con la cantidad de granulocitos transfundida

Transfusión de granulocitos

| ESTUDIO | N | <u>GRUPO TRANSFUNDIDO</u> | | | <u>GRUPO CONTROL</u> | | RESPUESTA |
|-----------------------------|----|---------------------------|--------------------------|--------------|----------------------|-----------|-----------|
| | | SOBREVIDA | DOSIS x 10 ¹⁰ | HLA/WBC * | N | SOBREVIDA | |
| Higby et al ⁷ | 17 | 76% | 2.2 (F) | No / Si | 19 | 26% | Si |
| Vogler et al ⁸ | 17 | 59% | 2.7 (C) | Si / Si | 13 | 15% | Si |
| Herzig et al ⁹ | 13 | 75% | 1.7 (F) 0,4 (C) | No / Si ■ | 14 | 36% | Si |
| Alavi et al ¹⁰ | 12 | 82% | 5.9 (F) | No / No | 19 | 62% | Parcial |
| Graw et al ¹¹ | 39 | 46% | 2.0 (F) 0.6 (C) | No / Si | 37 | 30% | Parcial |
| Winston et al ¹² | 48 | 63% | 0.5 (C) | No / No | 47 | 72% | No |
| Fortuny et al ¹³ | 17 | 78% | 0.4 (C) | No / Si | 22 | 80% | No |

* Donor-recipient compatibility was enhanced by HLA matching or white blood cell crossmatch.

Transfusión de granulocitos

- A partir de los años 80, la transfusión de granulocitos fue abandonada:
 - Los estudios anteriores no comprobaron su eficacia
 - Los resultados encontrados fueron contradictorios
 - Efectos adversos de la transfusión de granulocitos
 - Desarrollo de antibióticos

Transfusión de granulocitos

- Razones para los resultados tan contradictorios
 - La recolección de granulocitos era realizada por filtración
 -
 - La dosis transfundida era inadecuada ($< 10^{10}$ /dia)
 - El estocage y la transfusión eran inadecuados
 - Los pacientes (receptores) mal seleccionados

Transfusión de granulocitos

- **Años 90: se retomó el interés por la transfusión de granulocitos**
 - **Mejor conocimiento acerca de las condiciones de estocaje y transfusión ■ propiamente dichas**
 - **Mejores condiciones de recolección (aféresis)**
 - **Mayor rendimiento a través de un mejor estímulo del donador**

Transfusión de granulocitos

| ESTUDIO | N | RESPUESTA | % RESPUESTA |
|---------------------|----|-----------------------|-------------|
| Lee et al (2001) | 25 | 10 (4/16 B, 6/9 F) | 40 |
| Cesaro et al (2003) | 15 | 6 CR, 3 PR | 60 |
| Hester et al (1995) | 15 | ■9 | 60 |
| Peters et al (1999) | 30 | 19 (14/17 B, 5/13 F) | 63 |
| Price et al (2000) | 16 | 8 (8/11 C + B, 0/5 A) | 50 |

CR, complete response; PR, partial response; B, bacterial; F, fungal; C, Candida; A, Aspergillus

Consideraciones Finales

- **Cuestionamientos acerca de la transfusión de granulocitos**



- ¿ Es efectivo?
- ¿ Cuándo indicar?
- ¿Cuál es la toxicidad para los donantes ?



Protocollo

Analizar la factibilidad de reclutar **donantes voluntarios** de plaquetas por aféresis para la donación de granulocitos, estimulados con G-CSF y dexametasona

Analizar la **toxicidad** de la transfusión de granulocitos

Analizar la **toxicidad para los donantes** y el **rendimiento** en los concentrados de granulocitos utilizando esta estrategia de estímulo al donador

- Analizar la **eficacia** de la transfusión de granulocitos como coadyuvante con los antimicrobianos en el tratamiento de infecciones por bacterias u hongos en pacientes neutropénicos febriles

- **Estudio**
 - **Estudio longitudinal y prospectivo**
- **Local del Estudio** ■
 - **Fundação Pró-Sangue / Hemocentro de São Paulo e disciplina de Hematologia do Hospital das Clínicas da FMUSP, desde 2001**

- **Selección de donantes**
 - **Voluntarios**
 - **donantes de plaquetas por aféresis**
 - **ABO / Rh compatibles**
 - **Consentimiento libre y informado**

- **Estímulo de donantes**
 - **12 a 16 horas Pre-aféresis:**
 - G-CSF 300-600 μ g (SC)
 - Dexametasona 8 mg (VO)

- **Criterios de inclusión de los pacientes**

- **Neutropenia grave ($< 500/\mu\text{l}$), con posibilidad de recuperación :**
 - a. fiebre de origen indeterminado
 - b. foco infeccioso identificado
 - c. agente infeccioso identificado
 - d. infección fúngica posible, probable o comprobada
- **En tratamiento antimicrobiano adecuado y de espectro amplio hasta por lo menos 48 horas, aún cuando sin respuesta:**
 - 1. empeoramiento del cuadro febril
 - 2. empeoramiento clínico
 - 3. inestabilidad hemodinámica

- **Criterios de Respuesta**

- **1. Respuesta Completa**

- Bacteremia y fungemia

Negativización de las culturas durante la transfusión de granulocitos

- Infecciones fúngicas invasivas

- Estabilización o mejoría de las masas / infiltrados documentados a través de exámenes de imagen del sitio de infección

- **• Criterios de Respuesta**

- 2. Respuesta Parcial**

- Bacteremia y fungemia

- Resolución de la infección original, sin embargo aparecimiento de nueva infección durante la transfusión de granulocitos

- Infecciones fúngicas invasivas

- Mejoría o estabilización de los hallazgos iniciales de imagen pero aparecimiento de infección / imagen adicional durante la transfusión de granulocitos

- **Criterios de Respuesta**

- 3. Falla terapéutica**

- **Culturas permanentemente positivas**
 -
 - **Empeoramiento progresivo de los hallazgos de imagen**
 - **Permanencia de la infección al óbito**

● **Recolección**

- **Realizada a través de aféresis**
 - COBE Spectra
 - CS 3000 Plus - Baxter
- **Acceso vascular periférico doble**
- **Flujo de extracción de 70 ml/min**
- **Volumen sanguíneo processado entre 6000 - 10000 ml**

- **Recolección**

- **HES 6% / ACD-A utilizado como agente hemosedimentante / solución anticoagulante**
 - 30 ml de citrato trissódico 46,7%
■
 - 500ml de Plasmasteril®
 - Proporción de 1:13
- **Exámenes recolectados**
 - Amuestras de 5 ml de sangre con EDTA para hemograma

- **Concentrado de granulocitos recolectado**
 - **Submetido a irradiación gama - 25 Gy**
 - **Hasta la transfusión: mantenido a temperatura ambiente sin agitación**
 - **Liberado para infusión preferencialmente dentro de 6h del término de la recolección**

● **Infusión**

- **Hecha lentamente (en 02 – 03 horas)**
- **Precedida de pre-medicación con anti-histamínico por via EV**
 -
- **Utilizando apenas filtro de macroagregados (170 μ), nunca filtro de leucocitos**
- **Con por lo menos seis horas de intervalo entre la transfusión y la infusión da Anfotericina B**

• Infusión

- Pruebas de compatibilidad entre el donante y el receptor
- A cada 30 min desde el inicio de la transfusión hasta, 1h após su término, monitoramiento del receptor
 - Presión arterial
 - Pulso
 - Temperatura
 - Frecuencia respiratoria
 - Saturación de oxígeno

- **Reacciones adversas en los donantes**
 - **Anotadas en ficha propia el día siguiente a la administración de la medicación para estímulo**
 - Mialgia
 - Dolor óseo ■
 - Cefalea
 - Fiebre
 - Otros (insomnia, náuseas)

- **Reacciones adversas en los receptores**
 - **Fiebre : aumento de 1⁰ C en la temperatura**
 - **Escalofríos** ■
 - **Queda en la saturación de O₂ superior a 3 %**
 - **Reacción pulmonar grave**

- **Evaluación clínica en los receptores**
 - **Por lo menos 04 veces al día**
 - Temperatura axilar
 - Presión arterial
 - Frecuencia cardíaca
 - Frecuencia respiratoria
 - Estabilidad hemodinámica

- **Evaluación clínica en los receptores**
 - **Nivel de conciencia - Evaluado diariamente con la siguiente graduación**
 - Grado 0 - Alerta
 - Grado I - Letargia Transitoria
 - Grado II - Somnolencia (>12 horas al día despierto)
 - Grado III - Somnolencia (<12 horas al día despierto)
 - Grado IV - Comatoso

- **Evaluación clínica en los receptores**
 - **Tracto Respiratorio - Evaluado diariamente con la siguiente graduación**
 - Grado 0 - Normal
 - Grado I – Síntomas discretos
 - Grado II - Dispnea de esfuerzos
 - Grado III - Dispnea aunque en reposo
 - Grado IV- Incapacidad que limita el paciente a la cama

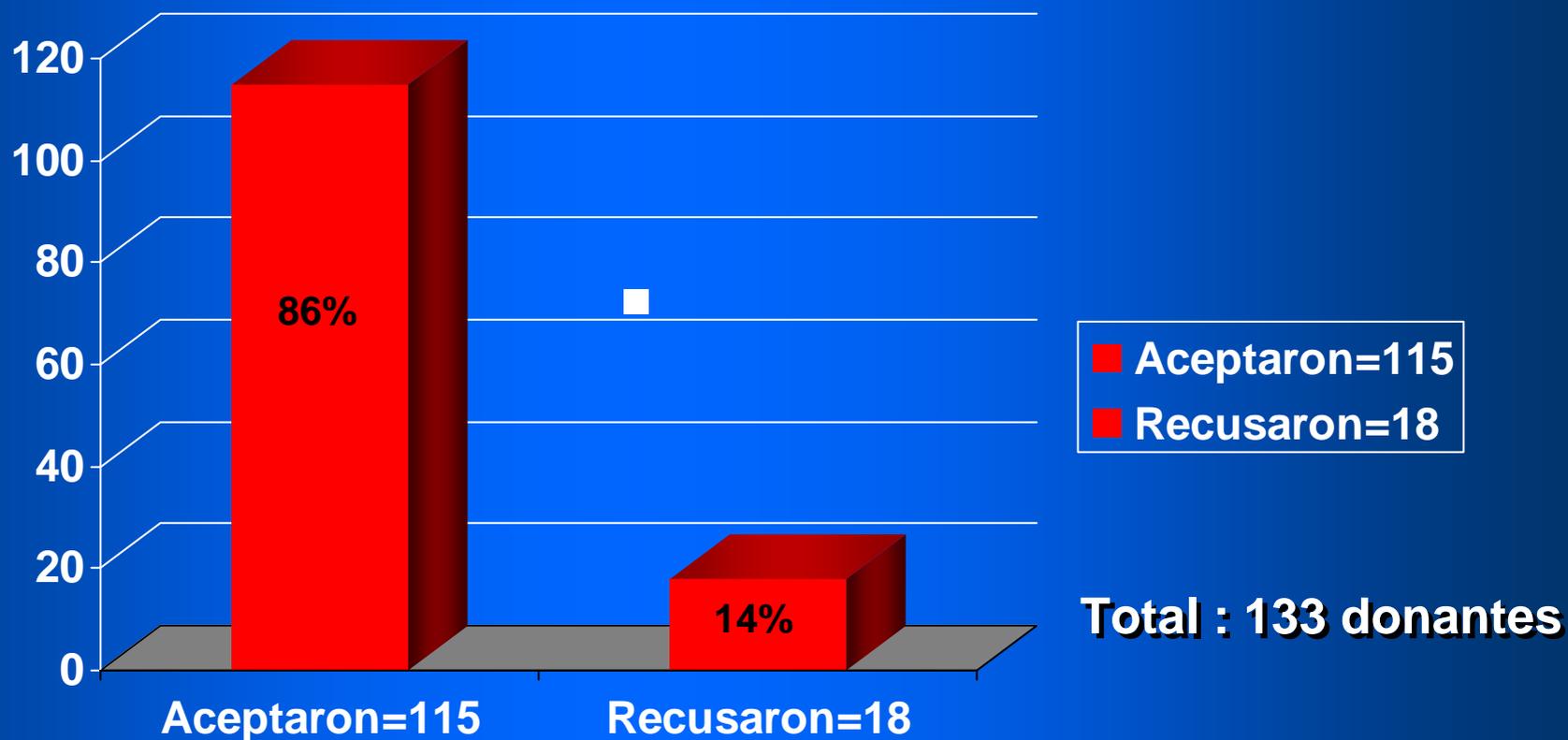
- **Evaluación laboratorial en los receptores**
 - **Contajes celulares**
 - Inmediatamente pre- transfusión
 - 01 e 04 horas post y ■
 - La mañana siguiente a la transfusión
 - **Examen de orina I, urea, creatinina, gasometría arterial y RX de tórax, culturas, tomografía computadorizada**



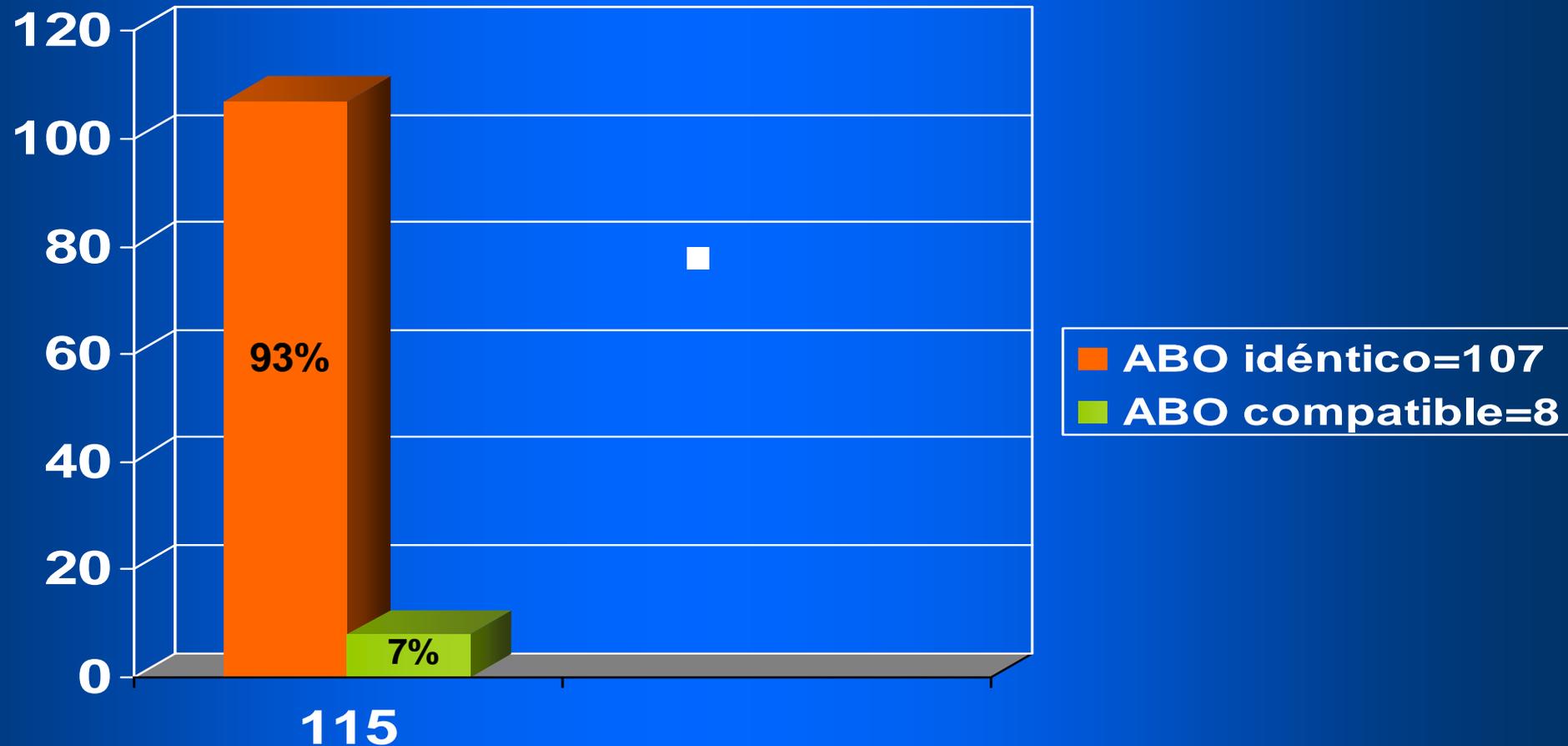
Resultados

- **Reclutamiento de los donantes**
- **Estímulos de los donantes y recolección de los granulocitos**
- **Efectos adversos en los donantes**
- **Análisis descriptiva de los pacientes que recibieron transfusión de granulocitos**
- **Efectos hematológicos de la transfusión**
- **Efectos adversos en los receptores**
- **Evolución clínica**

Reclutamiento de los donantes

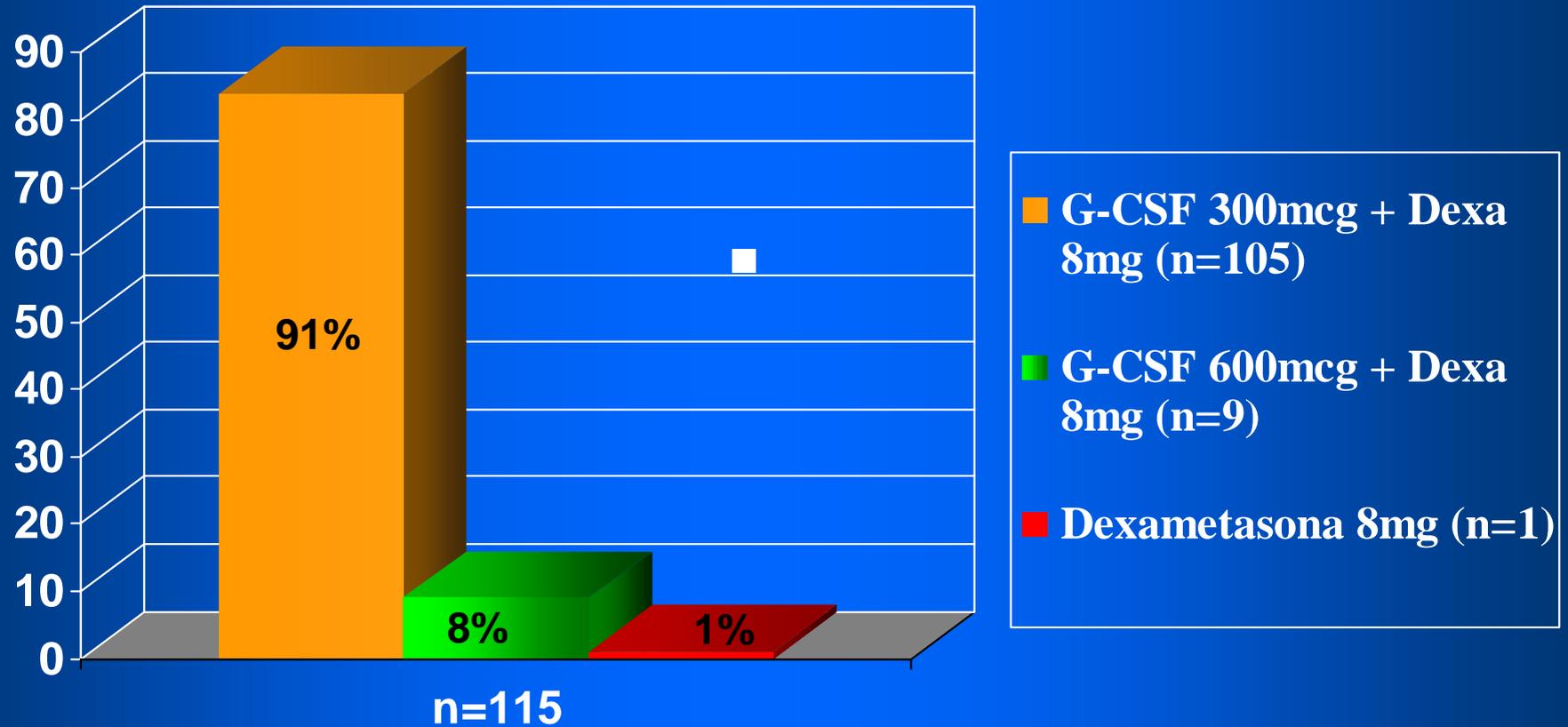


Reclutamiento de los donantes

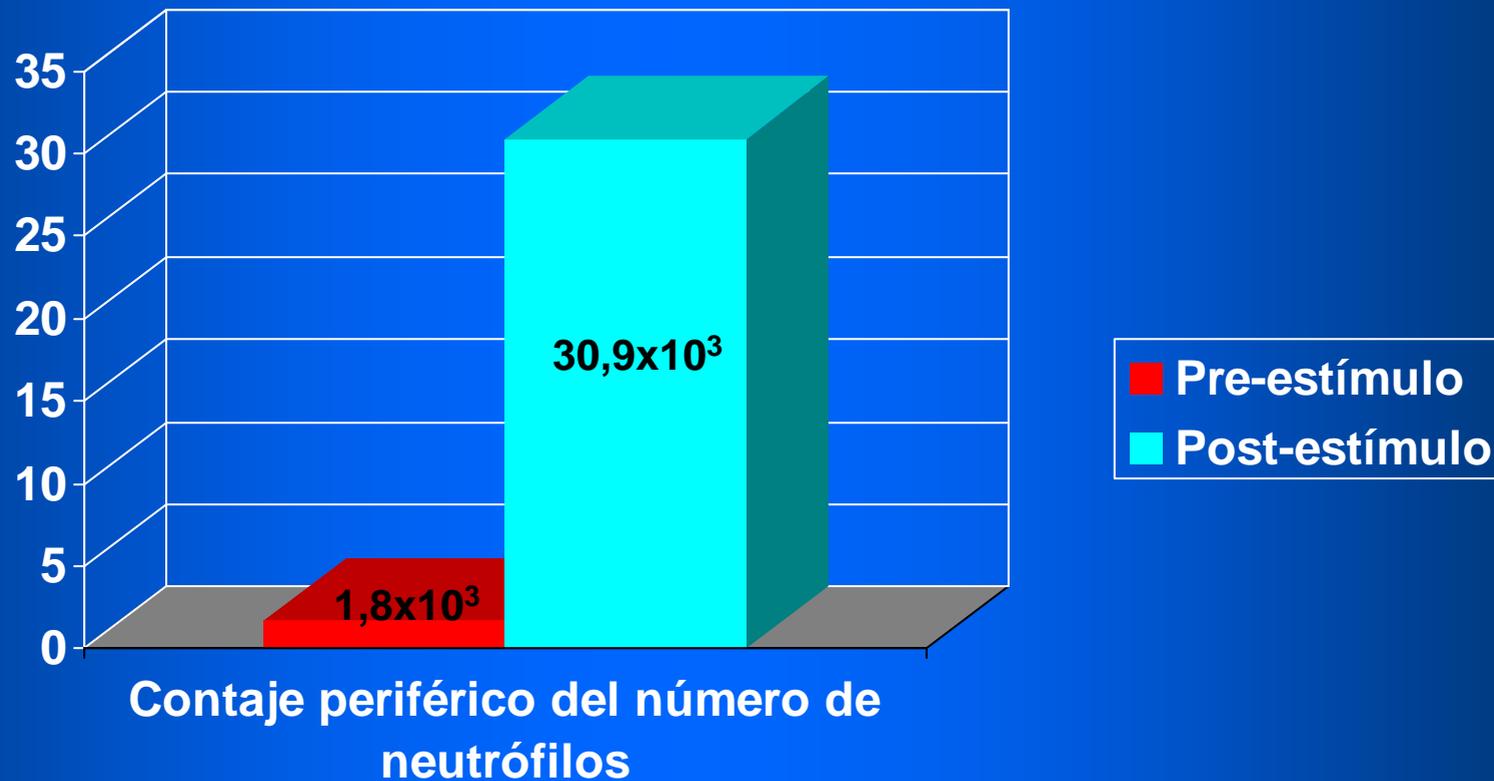


- **Reclutamiento de los donantes**
- **Estímulo de los donantes y recolección de los granulocitos**
- **Efectos adversos en los donantes**
- **Análisis descriptiva de los pacientes que recibieron transfusión de granulocitos**
- **Efectos hematológicos de la transfusión**
- **Efectos adversos en los receptores**
- **Evolución clínica**

Estímulo de los donantes



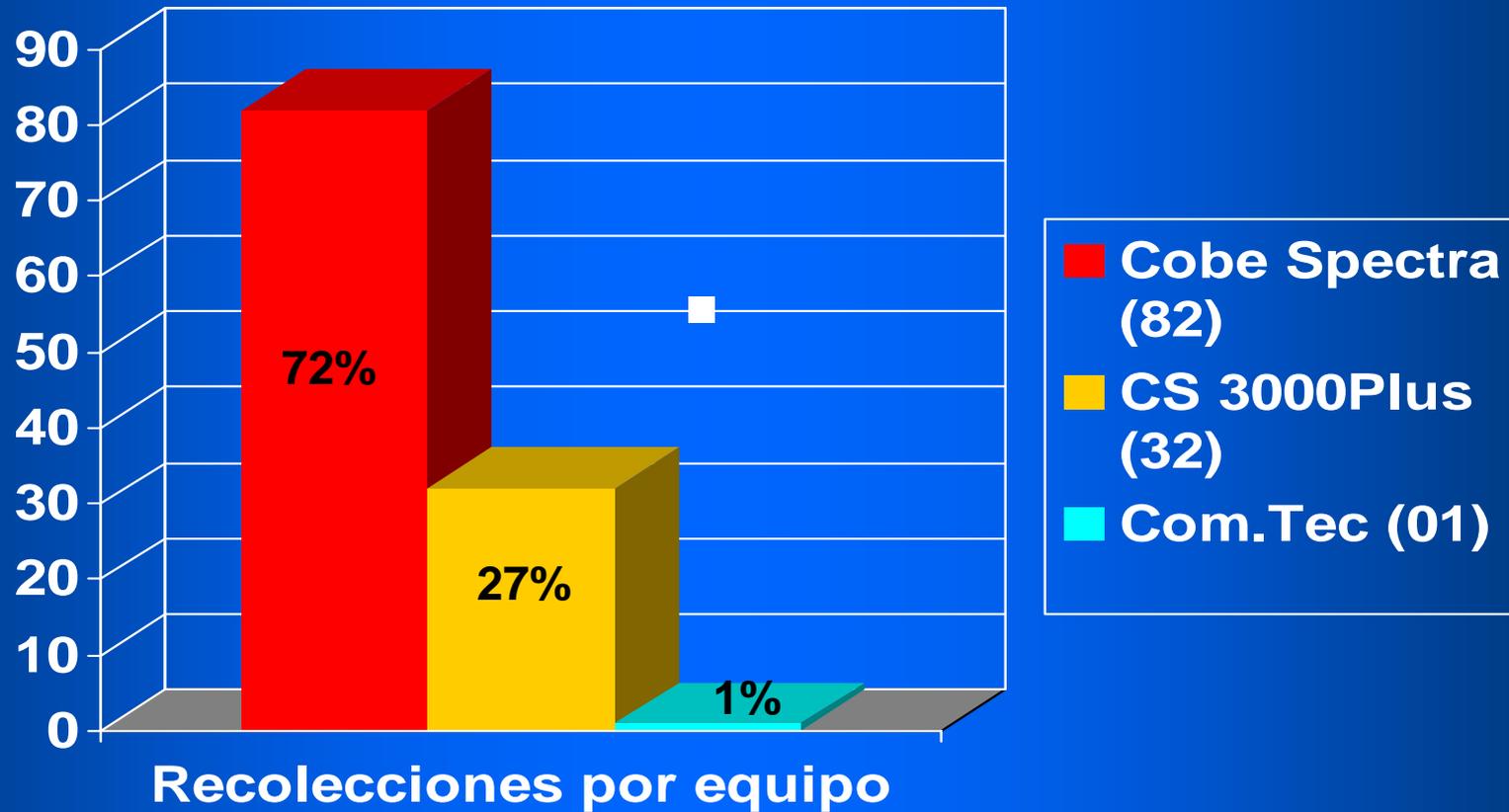
Estímulo de los donantes



- **Total de procedimientos x Volumen procesado**
 - **115 recolecciones**
 - **Volumen sanguíneo medio procesado (media \pm de)**

6932 \pm 1272 ml

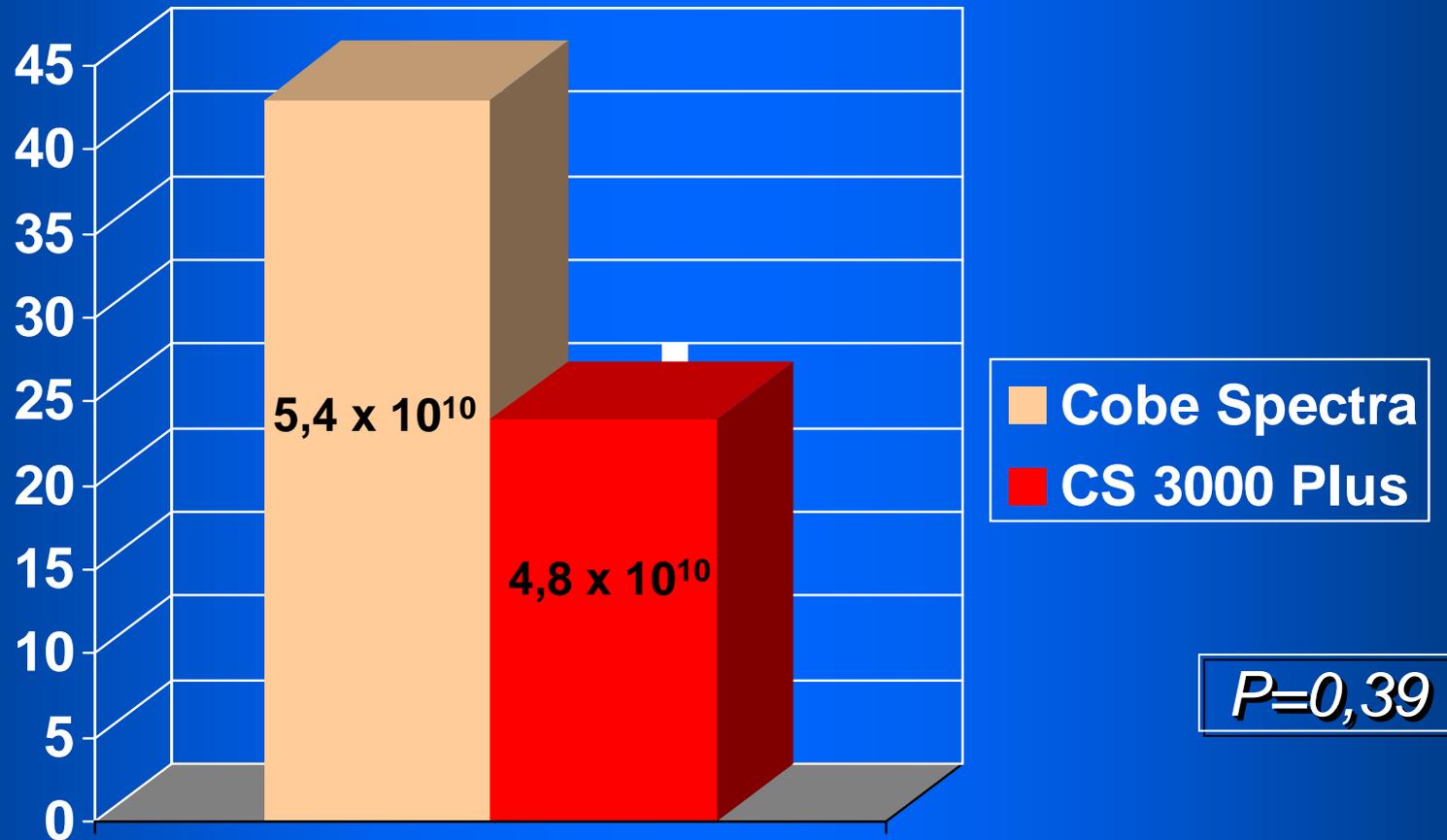
Recolección



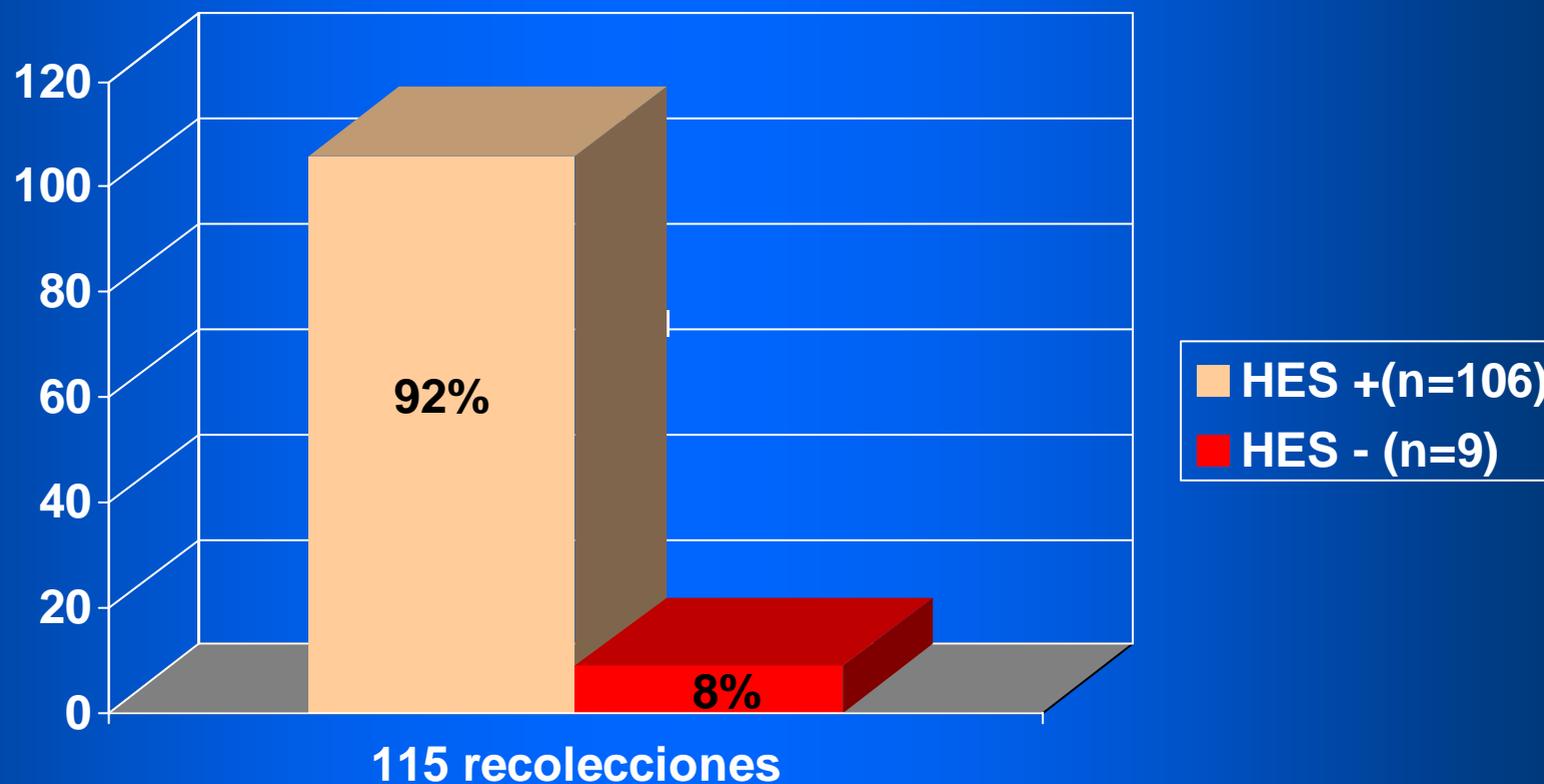
- **Total de procedimientos x Rendimiento medio**
 - **115 recolecciones**
 - **Rendimiento evaluado en 111 recolecciones**
 - **Rendimiento medio por producto recolectado (media)**

$4,9 \times 10^{10}$

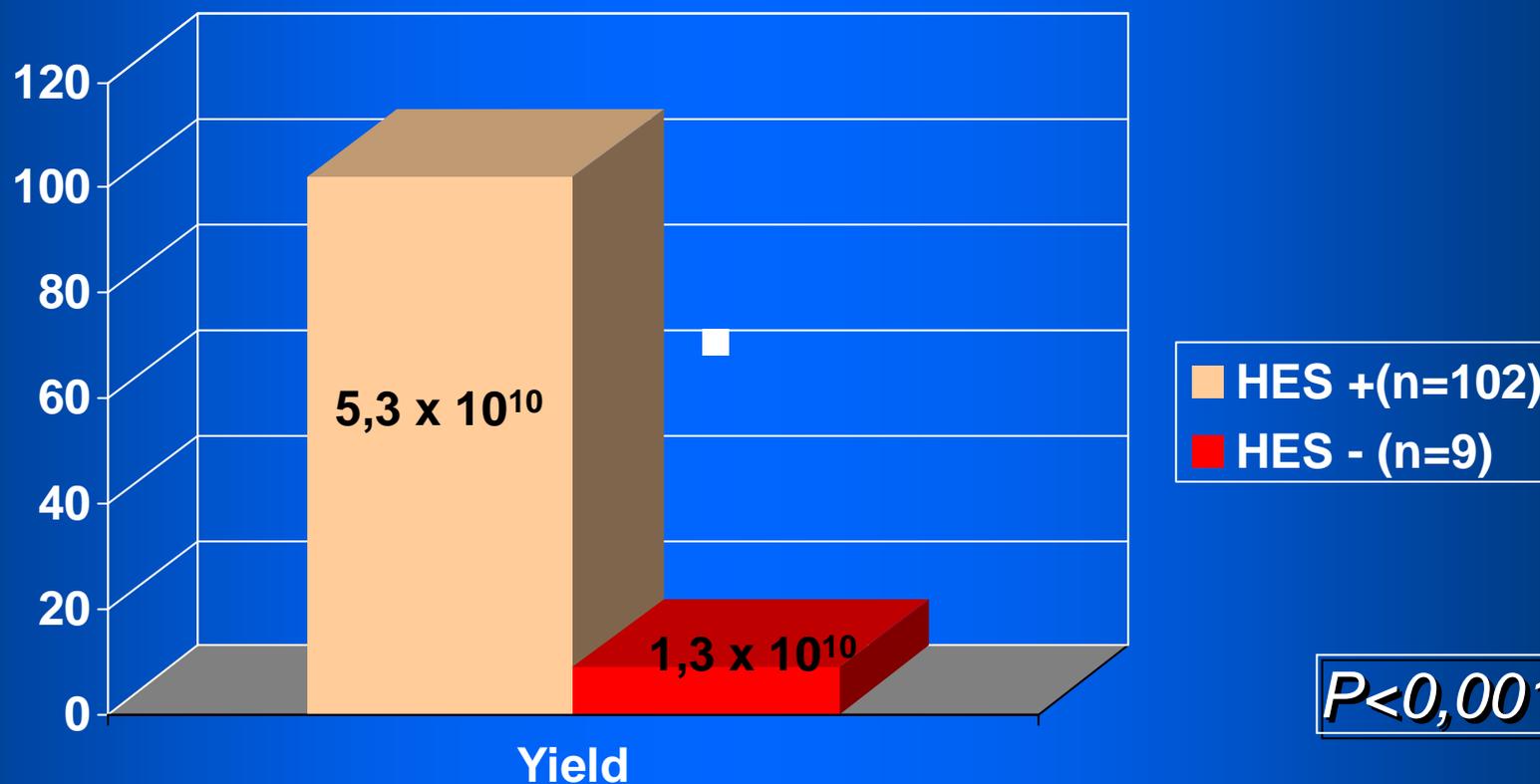
Rendimiento medio x Equipo



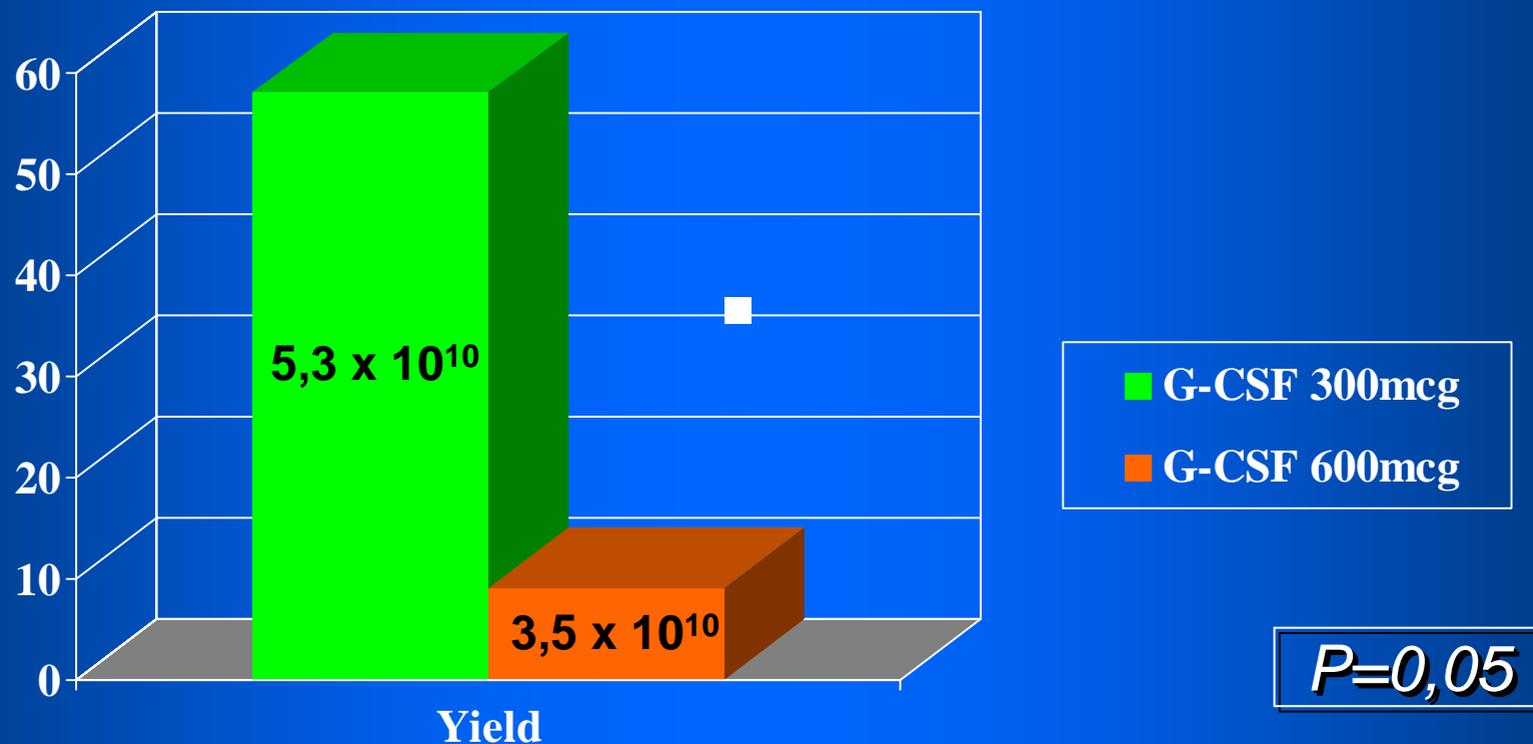
Utilización de HES



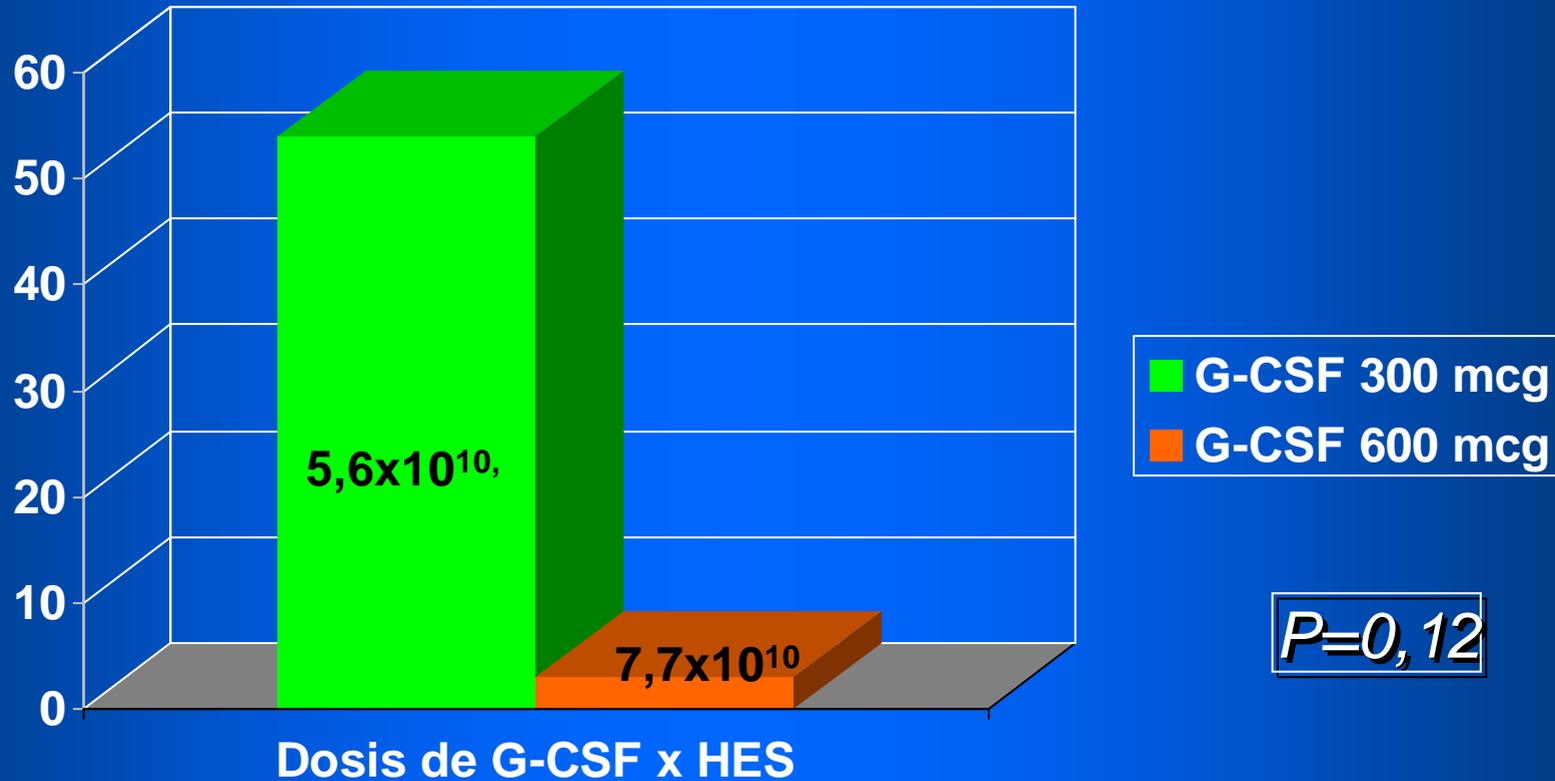
Rendimiento x HES



Rendimiento x Estímulo

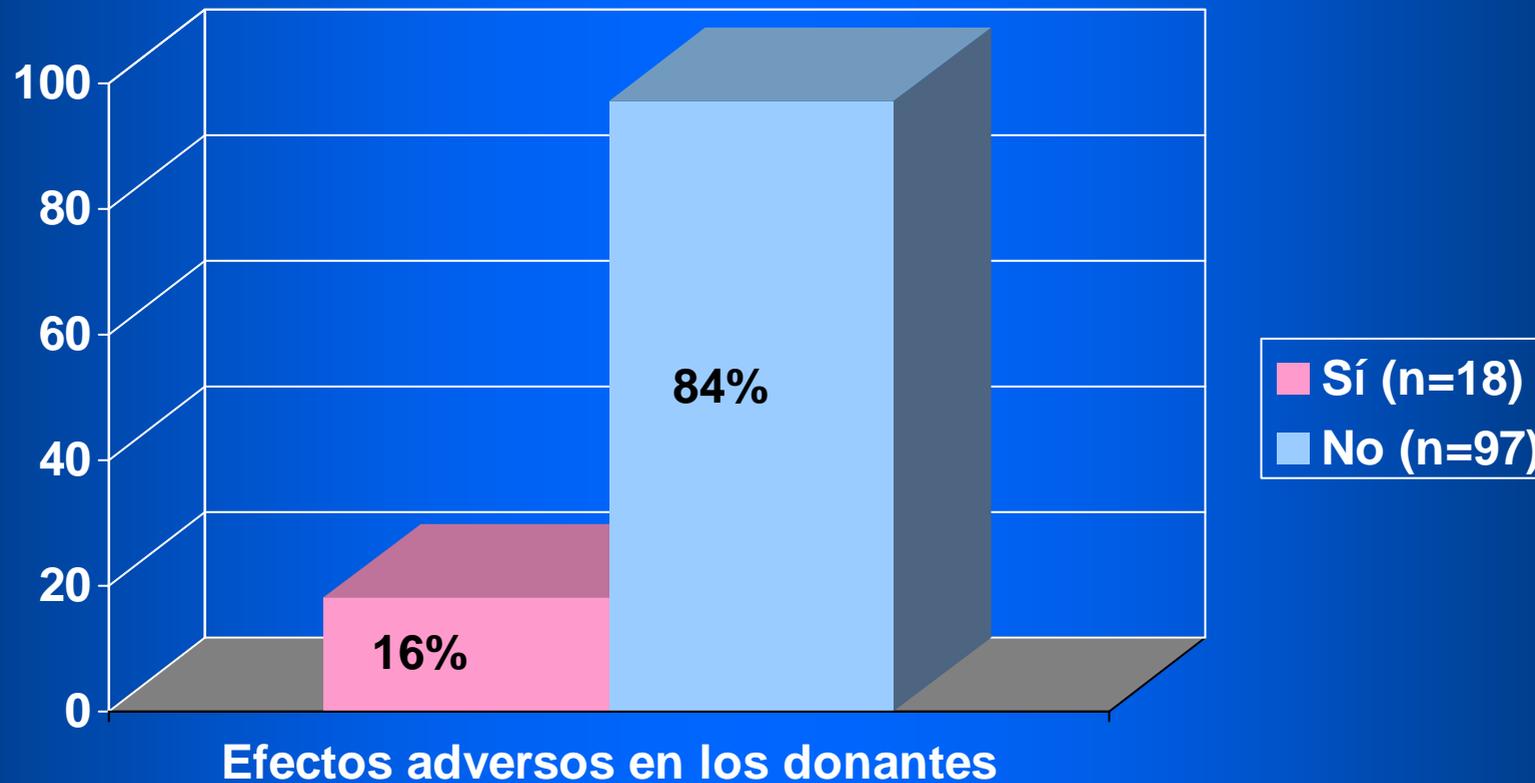


Análisis Estratificada del Rendimiento

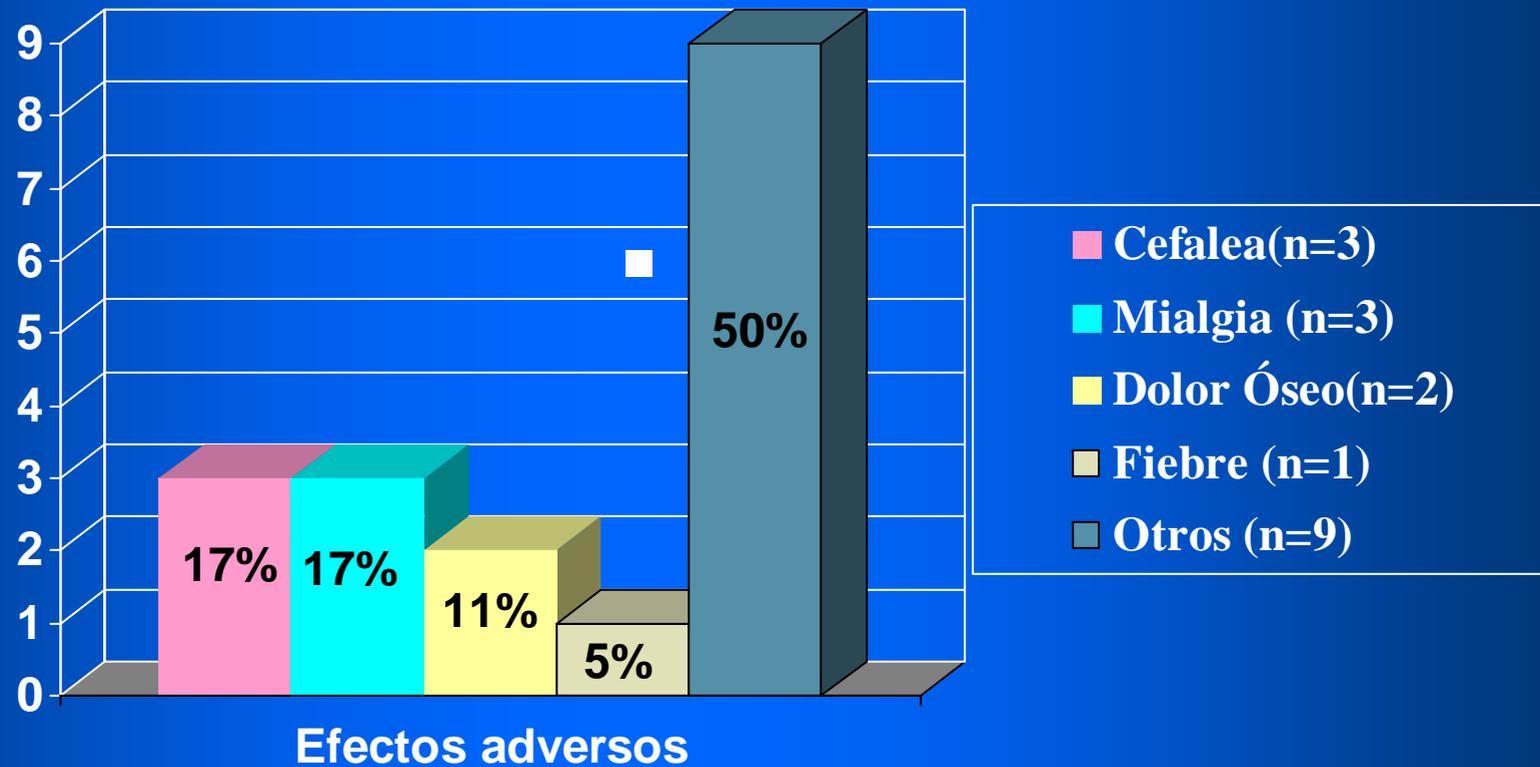


- Reclutamiento de los donantes
- Estímulo de los donantes y recolección de los granulocitos
- Efectos adversos en los donantes
- Análisis descriptiva de los pacientes que recibieron transfusión de granulocitos
- Efectos hematológicos de la transfusión
- Efectos adversos en los receptores
- Evolución clínica

Efectos adversos en los donantes



Efectos adversos en los donantes



- **Reclutamiento de los donantes**
- **Estímulo de los donantes y recolección de los granulocitos**
- **Efectos adversos en los donantes**
 -
- **Análisis descriptiva de los pacientes que recibieron transfusión de granulocitos**
- **Efectos hematológicos de la transfusión**
- **Efectos adversos en los receptores**
- **Evolución clínica**

Análisis descriptiva de los pacientes

- **Pacientes**
 - **30 pacientes**
 - **Sexo : 19 M / 11 F**
 - **Edad : 1- 62 anos (31)**
 - **TMO : 09 (08 post-TMO, 01 Pre-TMO)**
 - **QT: 15 pacientes**
 - **Trasplante Hepático : 01 paciente**
 - **Sepsis: 03 pacientes**
 - **Post ATG: 02 pacientes**

Análisis descriptiva de los pacientes

- **Pacientes / Diagnóstico infeccioso**
 - **Infección Bacteriana comprobada:**
 - 11 pacientes
 - **Infección Fúngica:**
 - 09 pacientes
 - **Infección Bacteriana comprobada + Infecção Fúngica posible**
 - 04 pacientes
 - **Colitis del neutropénico:**
 - 04 pacientes
 - **Sin evidencia etiológica:**
 - 02 pacientes

- **Total de transfusiones**

- **129 recolecciones**

- **1128 transfusiones**

- **30 pacientes**

- **Transfusioes por paciente (media \pm de)**

4,8 \pm 2,7 transfusiones

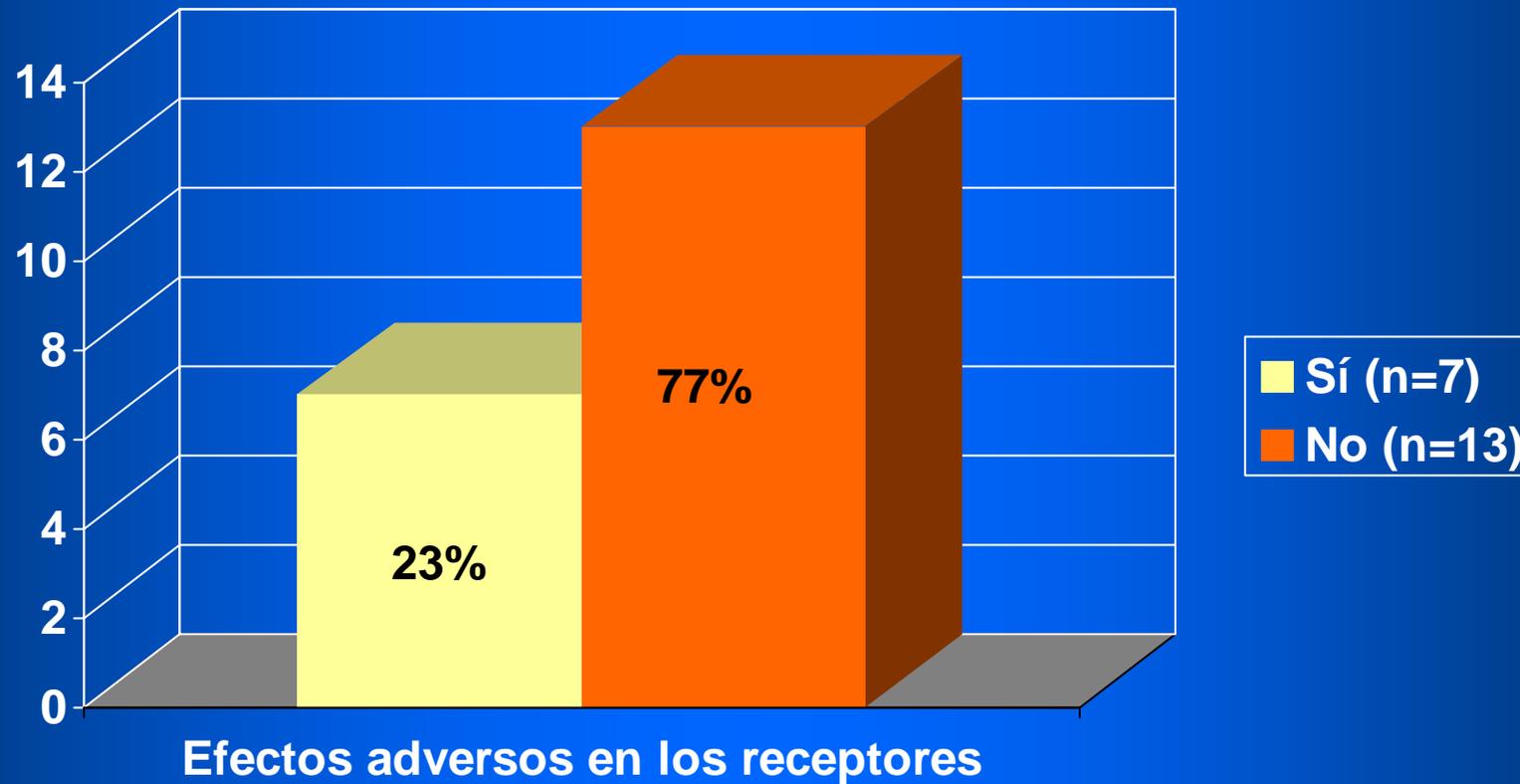
- **Reclutamiento de los donantes**
- **Estímulos de los donantes y recolección de los granulocitos**
- **Efectos adversos en los donantes**
- **Análisis descriptiva de los pacientes que recibieron transfusión de granulocitos**
- **Efectos hematológicos de las transfusiones**
- **Efectos adversos en los recptores**
- **Evolución clínica**

Efectos hematológicos de la transfusión

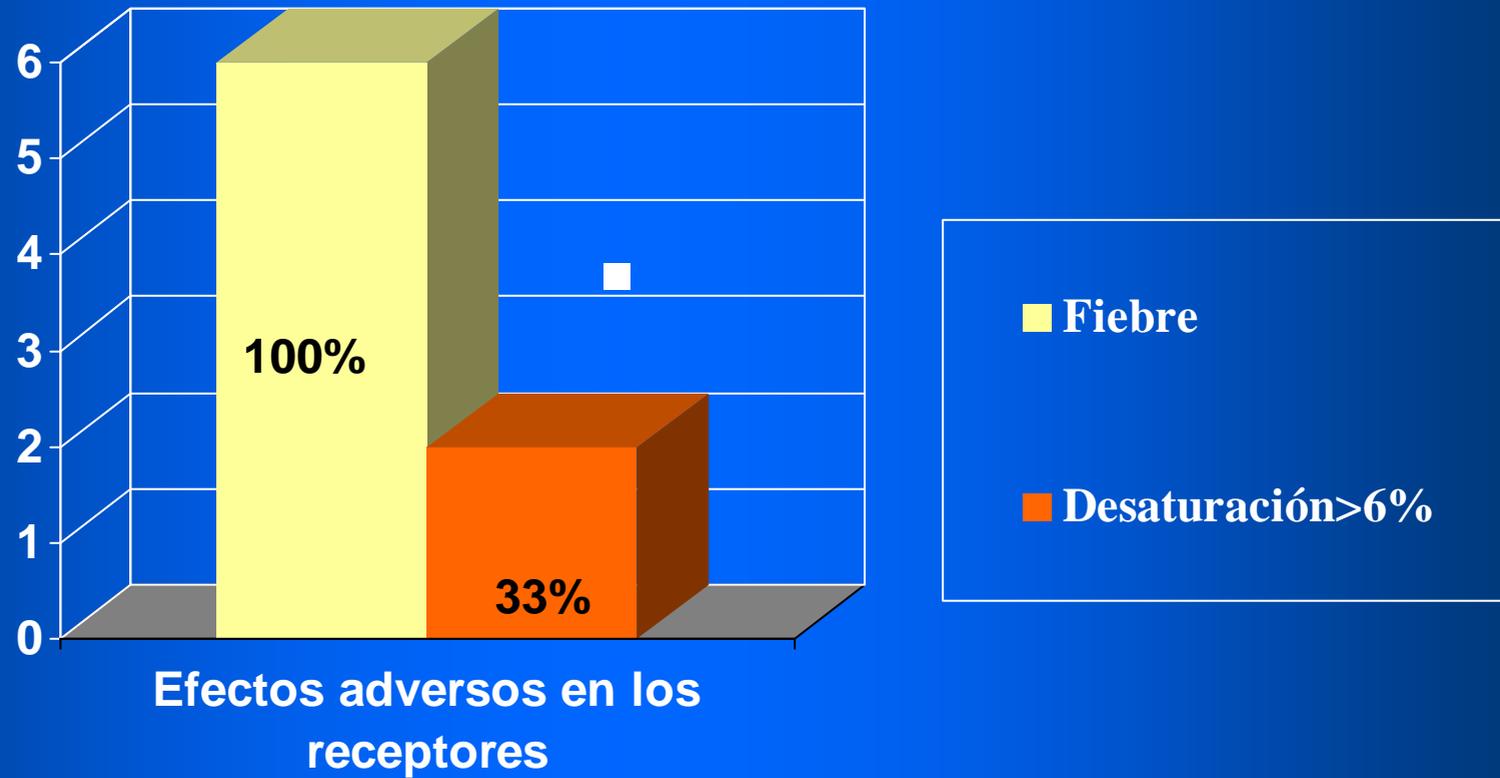
- Incremento de neutrófilos
 - Post 1h de la transfusión (media \pm de)
 - $0,77 \pm 0,84 \times 10^3/\text{mm}^3$
 - Post 4h de la transfusión (media \pm de)
 - $0,73 \pm 0,3 \times 10^3/\text{mm}^3$

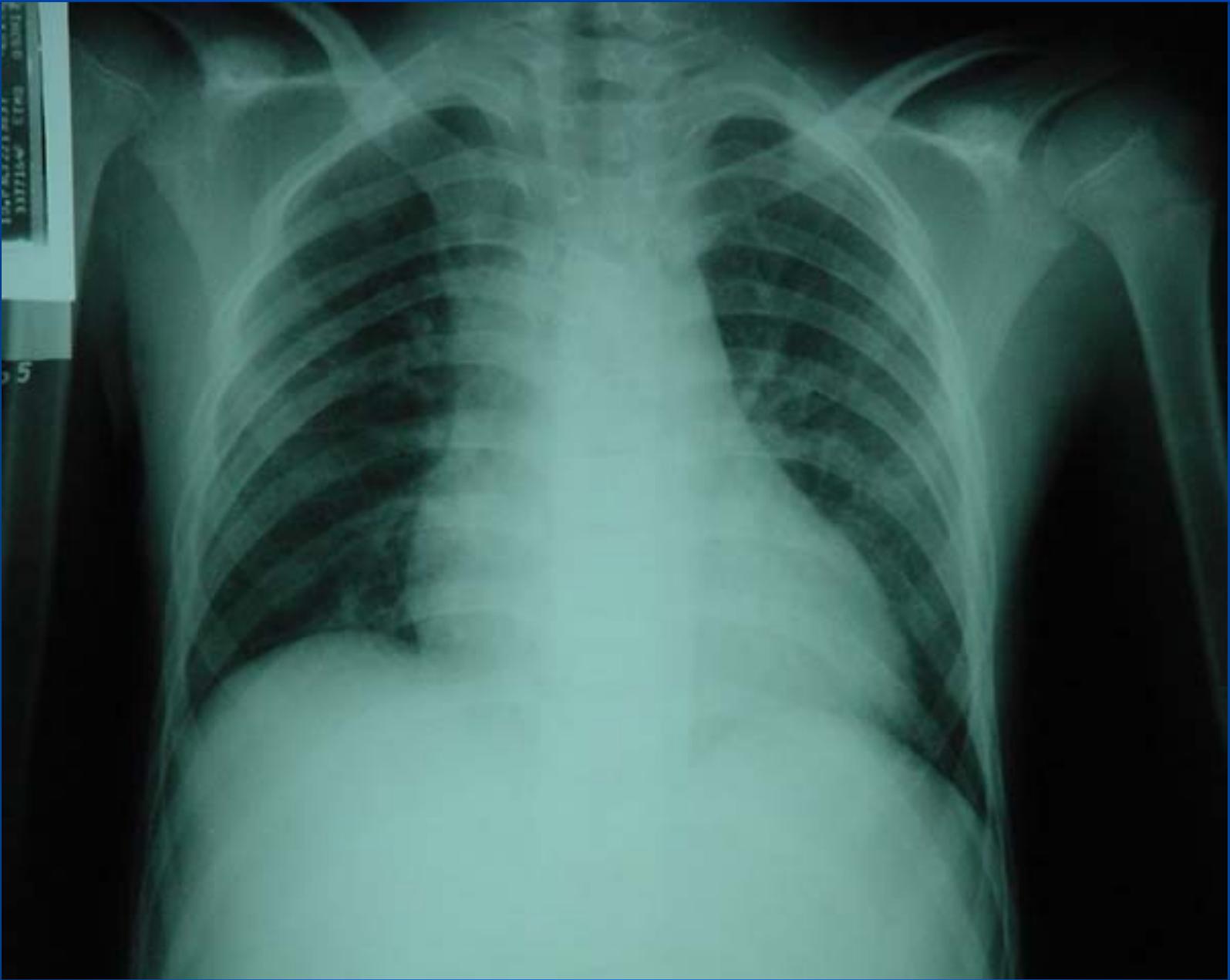
- **Reclutamiento de los donantes**
- **Estímulos de los donantes y recolección de los granulocitos**
- **Efectos adversos en los donantes**
 -
- **Análisis descriptiva de los pacientes que recibieron transfusión de granulocitos**
- **Efectos hematológicos de la transfusión**
- **Efectos adversos en los receptores**
- **Evolución clínica**

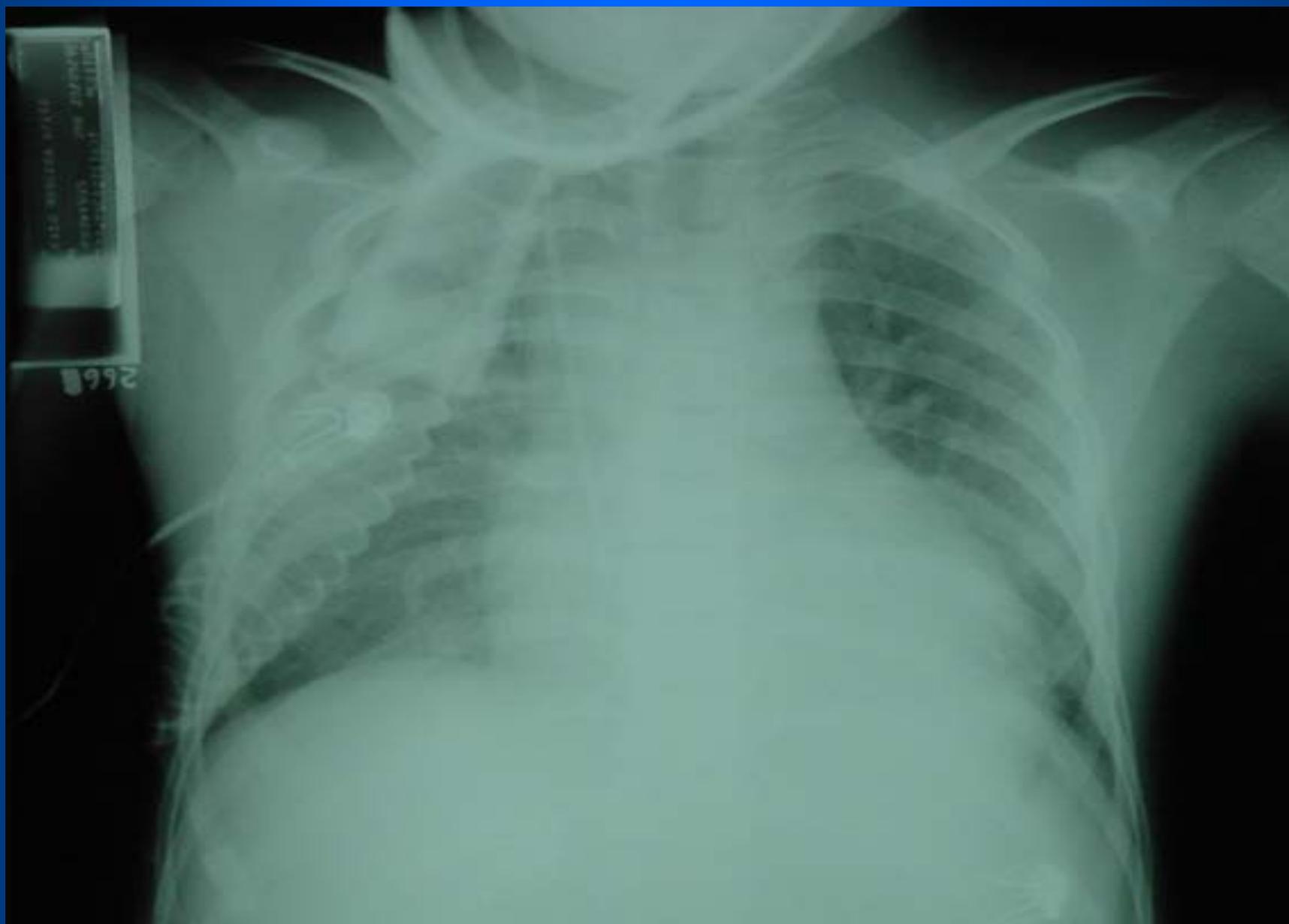
Efectos adversos en los receptores

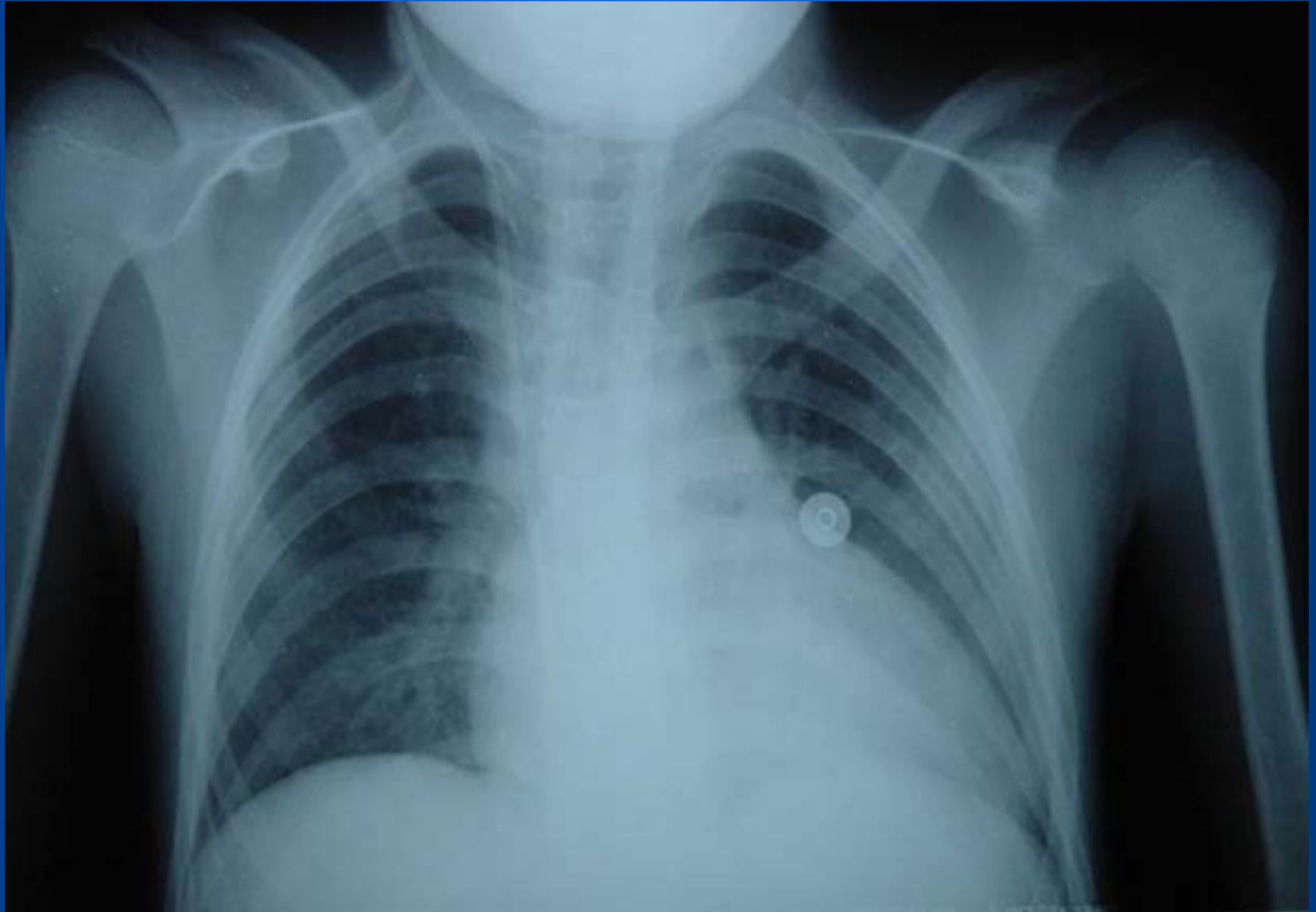


Efectos adversos en los recptores



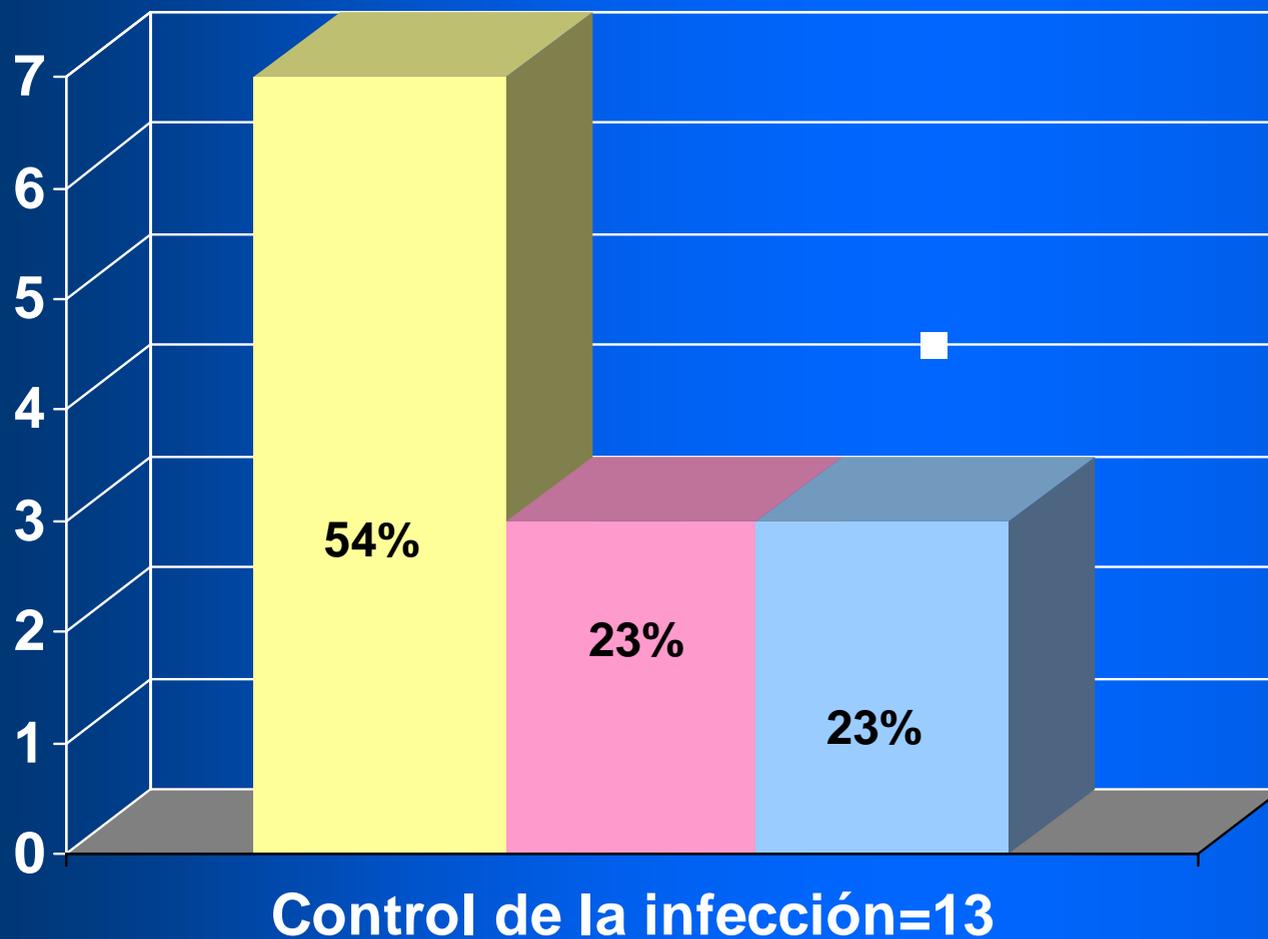






- **Reclutamiento de los donantes**
- **Estímulos de los donantes y recolección de los granulocitos**
- **Efectos adversos en los donantes**
 -
- **Análisis descriptiva de los pacientes que recibieron transfusión de granulocitos**
- **Efectos hematológicos de la transfusión**
- **Efectos adversos en los recptores**
- **Evolución clínica**

Evolución clínica de los pacientes



*Control de la
infección:*

13 pacientes (43%)

■ Bacteriana(07)

■ Fúngica(03)

■ Bacteriana
+Fúngica(03)



Conclusiones

A: Viabilidad para reclutar donantes en la comunidad

Aceptación de 86 % de los donantes



B: Rendimiento de los granulocitos

El rendimiento medio de granulocitos por producto recolectado fue mayor en las recolecciones en que se utilizó el HES como agente hemosedimentante.

HES fue un factor importante en el rendimiento debiendo siempre ser utilizado.

**HES + estímulo en el donante con G-CSF y Corticoide
= número adecuado de granulocitos transfundido**

B: Rendimiento dos granulocitos

La utilización de un esquema de estímulo del donante con 300 μ g² de G-CSF y 8mg de dexametasona 12 horas antes de la recolección, es posible, bien tolerado y eficiente.

C: Eficacia

Hubo control de la infección en 40% de los pacientes, sugiriendo un efecto potencialmente benéfico de la transfusión de granulocitos, especialmente en infecciones bacterianas.

D: Efectos adversos en los receptores

Los efectos adversos en los receptores fueron en general leves o moderados, siendo que reacción adversa pulmonar grave ocurrió en apenas 01 de los 30 pacientes tratados (3,3%)

E: Seguridad para el donante

El procedimiento para obtener granulocitos por aféresis post estímulo del donante se mostró seguro, en el corto plazo, como quedó demostrado por el grado de efectos adversos relatados

Consideraciones Finales

¿ La transfusión de granulocitos es eficaz?

Todavía son necesarios estudios con número mayor de pacientes

¿ Cuáles son las indicaciones clínicas?

El principal problema todavía es la ausencia de criterios bien establecidos para la selección de los pacientes que van a recibir transfusión de granulocitos

¿Cuál es su toxicidad?

La toxicidad es baja y no debe ser la causa para postergar o contraindicar la transfusión de granulocitos

¿Cuál es la toxicidad para los donantes?

Perfectamente tolerable aunque con estímulo previo con G-CSF y esteroides y utilización de HES durante la recolección

Consideraciones Finales

- Es una posibilidad terapéutica que no debe ser ignorada por los hematólogos, y los hemoterapeutas deben prepararse para obtener concentrado de granulocitos cuando estos sean solicitados

cyntia.arrais@prosangue.sp.gov.br