

## Gaceta Médica de México

Volumen 139  
Volume

Suplemento 3  
Supplement

Septiembre-Octubre 2003  
September-October

*Artículo:*

### Simposio de banco de cordón, hacia la excelencia

Derechos reservados, Copyright © 2003:  
Academia Nacional de Medicina de México, A.C.

**Otras secciones de  
este sitio:**

- 👉 Índice de este número
- 👉 Más revistas
- 👉 Búsqueda

***Others sections in  
this web site:***

- 👉 *Contents of this number*
- 👉 *More journals*
- 👉 *Search*



**Medigraphic.com**

# I. El banco de células madre hematopoyéticas de cordón umbilical para trasplante

Carlos Martínez-Murillo

## Introducción

La presencia de células progenitoras hematopoyéticas (CPHs) en el cordón umbilical (CU) se demostró por primera vez en 1974,<sup>1</sup> diez años más tarde se demostró la presencia de CPHs primitivas.<sup>2</sup> Sin embargo no fue hasta el año 1988 cuando Gluckman<sup>3</sup> realizó el primer trasplante de CPH's de CU entre hermanos HLA-idénticos, para tratar a uno de ellos con anemia de Fanconi. Este paciente en la actualidad se encuentra bien, con reconstitución completa del sistema linfohematopoyético.<sup>4</sup> Desde entonces, el conocimiento de las características biológicas de la CPH's de CU ha aumentado y las ventajas de su utilización para trasplante son cada vez mayores.

El éxito del trasplante de de CPH's de CU inicio un campo nuevo de posibilidades en el dominio de los trasplantes de CPH's alogénicos, además la sangre del CU de un donador contiene una cantidad suficiente de CPH's para reconstituir el compartimiento linfohematopoyético del receptor.<sup>4</sup> Desde entonces el conocimiento de las características biológicas de las CPH's de CU cada vez es mayor lo que enfatiza las ventajas de la utilidad de los trasplantes de CPH's de esta fuente. Esto ha permitido crear bancos de sangre de CPH's de CU para trasplantes de CU de donadores relacionados y no relacionados. Actualmente existen más de 30, 000 unidades disponibles en el mundo y más de 1500 trasplantes de CU han sido realizados en niños y el número de trasplantes en adultos es cada vez mayor.

Los bancos de CU presentan una amplia diversidad en la metodología utilizada y se ha hecho necesario realizar un esfuerzo de estandarización que contribuya a mejorar la calidad de las unidades almacenadas. Con este propósito se fundó NETCORD en 1998, agrupación formada por bancos de CPH's de CU de larga experiencia de Estados Unidos de Norteamérica, Europa, Japón y Australia. Este grupo ha elaborado estándares que contemplan regulaciones nacionales e internacionales y que han sido aceptados por los diferentes organismos relacionados con la acreditación (FACHT Foundation for the Accreditation of Hematopoietic Cell Therapy, JACIE e ISHAGE, entre otras) de este tipo de actividades. A fecha de Julio de 2002,

existían 57.676 unidades de CU almacenadas y hasta la fecha se han realizado más de 2.000 trasplantes de CU emparentados y no emparentados. El registro EUROCORDER trabaja en colaboración con NETCORD<sup>5</sup> y se encarga de recoger los datos de seguimiento de los trasplantes de CU.

En 1998, Rubinstein y col.,<sup>6</sup> publicaron los resultados de 562 trasplantes de CU no relacionado. Desde octubre de 1988 hasta marzo de 2000 se han comunicado a EUROCORDER los datos de 700 trasplantes procedentes de 121 centros pertenecientes a 29 países. De estos, 150 casos fueron de donante relacionado y 534 de donante no relacionado (378 niños y 156 adultos).<sup>6-10</sup>

## Ventajas

La principal ventaja de la sangre de CU es constituir una fuente alternativa de CPHs con facilidad de obtención, ausencia de riesgo para el donante, menor riesgo de transmisión de infecciones, disponibilidad de unidades criopreservadas, baja incidencia de enfermedad de injerto contra hospederio (EICH), debido a la inmadurez del sistema inmune del recién nacido.

Del análisis de estos resultados se concluye que los trasplantes de SCU HLA idénticos de donante emparentado tienen menos EICH e idéntica supervivencia que los trasplantes de MO en las mismas condiciones. Respecto a los trasplantes de SCU no emparentados, los resultados son similares a los de MO.

## Desventajas

Las principales desventajas Uno de los principales problemas que plantean los trasplantes de SCU, es la baja celularidad de una unidad de CU y el retraso del injerto de las líneas mieloide y plaquetaria. Esto ha dificultado el uso en adultos, sin embargo, la expansión celular ex vivo y el empleo de varias unidades de CU en un mismo receptor parece constituir alternativas viables.

Una recomendación internacional unánime sobre el número de células mononucleares mínimas a transfundir es de  $> 4 \times 10^7/\text{Kg}$ .

### Recolección de la sangre de cordón umbilical

Se utilizarán bolsas de hemodonación, con un anticoagulante apropiado y un sistema cerrado de recolección, para reducir los riesgos de contaminación de las CPH's, así como de contaminación bacteriana. La SCU se puede obtener tras la ligadura del cordón, en los 35 segundos posteriores al nacimiento del niño, mientras la placenta permanece aún en el útero, recogiendo la sangre por gravedad y tras la expulsión de la placenta. Es posible también realizar la recolección una vez que la placenta ha sido expulsada mediante la canalización de la vena umbilical, después de inyectar una solución salina heparinizada. En otros casos se puede inyectar una solución heparinizada por la arteria umbilical y aspirar con otra jeringuilla por la vena. Este procedimiento consigue aumentar el rendimiento, tanto en volumen, como en el número de células nucleadas conseguidas. El volumen de una unidad de sangre de CU oscila de 42 a 240 ml y el número total de células nucleadas varía entre  $4,7 \times 10^8$  y  $4,6 \times 10^9$ . Podrán ser subsidiarios de donación todos los cordones obtenidos de partos normales con controles serológicos negativos en la madre durante el embarazo. No deberán existir antecedentes maternos o paternos que supongan un riesgo de transmisión de enfermedades genéticas o infecciosas a través del cordón.

### Las células progenitoras hematopoyéticas.

La mayoría de las CPHs en humanos expresan el antígeno CD34, una proteína integral de membrana de 90-120 kD. Se ha sugerido que esta molécula funciona como regulador de la adhesión celular a las células del estroma del microambiente medular. La frecuencia de las células CD34+ en MO se ha estimado entre 1-3% de las células mononucleares, en CU oscila entre 0.2-1%. Es interesante resaltar que su frecuencia en la sangre CU disminuye con la edad de gestación. Así, se ha observado que a las 17 semanas de gestación suponen el 11% de las células mononucleares, mientras que a las 38 semanas son el 1%, aproximadamente.<sup>11-13</sup>

### Generación de células dendríticas

Las células dendríticas son las únicas células capaces de presentar antígenos extraños a los linfocitos T, estimularlos y transformarlos en linfocitos T de memoria, que cuando reconocen ulteriormente los antígenos presentados, van a transformarse en linfocitos T citotóxicos. Por lo tanto, una de las formas de vacunación antitumoral que se está desarrollando trata de producir *in vitro* células dendríticas autólogas sensibilizadas con el antígeno

tumoral específico del tumor propio del paciente y transfundirlas de manera repetida constituyendo una vacuna que pueda desencadenar *in vitro* la respuesta inmune capaz de rechazar el tumor.

### Experiencia Internacional en Trasplantes

Los resultados publicados sobre el trasplante de CPH's de CU muestra diferencias relacionadas directamente al tipo de trasplante (relacionado o no relacionado), así como también al tipo de enfermedad de base del paciente. En el cuadro I, se muestran principales indicaciones de trasplantes de CU en niños.

**Cuadro I. Número de Trasplantes de CPH's de CU asociado al diagnóstico**

Diagnóstico	Trasplante Relacionado de CPH's de CU en niños	Trasplante No Relacionado de CPH's de CU en niños
Leucemias Agudas:	18	50
-Mieloides	39	107
- Linfoblástica	6	14
-LMC	8	4
Anemia Aplástica	8	4
Anemia de Fanconi	11	18
S. Diamond Blackfan	2	1
Hemoglobinopatías	24	
Defectos hereditarios del metabolismo	15	61

Los resultados publicados demuestran mejores resultados en trasplantes de CPH's de CU de donadores relacionados. A enero del 2000, la probabilidad de supervivencia a 2 años en pacientes con malignidad fue del 46%, 76% en Anemia aplástica, 100% en hemoglobinopatías y 79% en pacientes con defectos hereditarios del metabolismo. Por otra parte, en pacientes con trasplantes de CPH's de CU de donadores no relacionados, la probabilidad de supervivencia a 2 años en pacientes con malignidad fue del 36%, 21% en anemia aplástica y 51% en pacientes con defectos hereditarios del metabolismo.

### El banco de CPH's de CU en México

En México han surgido varios bancos de sangre de CPH's de CU, tanto a nivel privado como público y todos han surgido ante la imperiosa necesidad de contar con un donador compatible en caso de requerir de un trasplante de

CPH's. Estos bancos han surgido bajo el amparo de la Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993 para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos, sin embargo, no existen recomendaciones nacionales sobre el control de calidad de estos productos, de tal suerte que ante este vacío las recomendaciones internacionales de NETCORD deben de regir a estos bancos de sangre.

#### *El Banco de sangre (BS) de CPH's de CU en el Centro Médico Nacional (CMN) Siglo XXI*

Desde octubre del 2002 el BSCU del CMN, inicio actividades de recolección, procesamiento, criopreservación y almacenamiento de CPH's de CU, contando a septiembre del 2003 con 150 unidades estudiadas y almacenadas. En el hospital de Ginecoobstetricia #4 "Luis Castelazo Ayala" de la ciudad de México se llevan a cabo las recolecciones de CPH's de CU para posteriormente estudiarlas y procesarlas en el BSCU del CMN, Siglo XXI. En el cuadro II se muestran los resultados de las variables analizadas en 150 unidades recolectadas.

**Cuadro II. Resultados obtenidos en 150 unidades recolectadas de sangre de cordón umbilical en el Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional, Siglo XXI**

Variables estudiadas	Resultados
• Unidades recolectadas	192
• Unidades procesadas y almacenadas	150
• Leucocitos totales	$4.21 \pm 2.5 \times 10^8/\text{células}$
• Células Mononucleares Totales	$2.33 \pm 1.49 \times 10^8/\text{células}$
• Células CD 34 (+)	$1.61 \pm 1.5 \times 10^6/\text{células}$
• Volumen de recolección	$92.5 \pm 8.04 \text{ mls}$

Actualmente se lleva a cabo el estudio de HLA molecular de las unidades almacenadas. Se espera llegar a un mínimo de 2000 unidades almacenadas con objeto de apoyar a las unidades de trasplante del país.

#### *El futuro del trasplante de CPH's de CU*

La experiencia acumulada en los últimos años indican que el trasplante de CPH's de CU constituye una buena opción para pacientes que requieren trasplante alogénico,

de hecho la búsqueda de unidades compatibles de CU puede efectuarse simultáneamente con el de donadores de médula ósea. El objetivo futuro del Eurocord es comparar los resultados a largo plazo de los trasplante de CPH's de CU *versus* el trasplante de Médula ósea en cada indicación médica, en orden de analizar los factores pronósticos asociados a cada trasplante, esto con objeto de publicar recomendaciones y estrategias de tratamiento.

Otras investigaciones sobre el trasplante de CPH's de CU van encaminadas en asegurar el injerto mediante la expansión celular *ex vivo*, así como la administración simultánea de varias unidades de CU en un mismo receptor adulto con objeto de asegurar una cantidad suficiente de células mononucleares que repoblarán el microambiente medular.

Por otro lado, se recomienda que los bancos de CPH's de CU trabajen con estándares internacionales de acuerdo a Netcord para uniformar los criterios de manejo de las unidades de CU y asegurar un mejor resultado en el trasplante.

En la actualidad se vislumbra un campo de posibilidades para las CPH's de CU, no sólo por lo que implican las investigaciones de inmunoterapia con células dendríticas, sino, por el potencial de las CPH's de CU en otras enfermedades como infartos al miocardio, cerebral, etc.

#### Referencias

1. Knudtson S. In vitro growth of granulocyte colonies from circulating cells in human cord blood. *Blood* 1974;43:357-361.
2. Nakahata T, Ogawa M. Hemopoietic colony-forming cells in umbilical cord blood with extensive capability to generate mono- and multipotential hemopoietic progenitors. *J Clin Invest* 1983;70:1324.
3. Gluckman E, Broxmeyer HE, Auerbach AD. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 1989;321:1174.
4. Gluckman E. Current status of umbilical cord blood hematopoietic stem cell transplantation. *Exp Hematol* 2000;28:1197-1205.
5. International Standards for Cord Blood Collection, Processing, testing, Banking, Selection and Release. NETCORD y FAHCT. First edition 2000.
6. Rubinstein P, Rosenfield RD, Adamson JW. Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *N Engl J Med* 1998;339:1565-1577.
7. Migliaccio ARI. Cell dose and speed of engraftment in placental/umbilical cord blood transplantation: graft progenitor cell content is a better predictor than nucleated cell quantity. *Blood* 2000;96:2717-2722.
8. Hao QL, Shah AJ, Thiemann FT, et al. A functional comparison of CD34+CD38 cells in cord blood and bone marrow. *Blood* 1995;86:3745-3753.
9. Larochelle A, Vornnoor J, Hanenberg H. Identification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating NOD/SCID mouse bone marrow: implications for gene therapy. *Nat Med* 1996;2:1329-1337.
10. Bhatia M, Wang JC, Kapp U, et al. Purification of primitive hematopoietic cells capable of repopulating immune-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:5320-5325.
11. Oh I-H, Lau A, Eaves CJ. During ontogeny primitive (CD34+CD38-) hematopoietic cells showed altered expression of a subset of genes associated with early cytokine and differentiation responses of their adult counterparts. *Blood* 2000;96:4160-4168.
12. Szilvassy SJ, Meyerrose TEJ, Ragland PL, Grimes B. differential homing and engraftment properties of hematopoietic progenitor cells from murine bone marrow, mobilized peripheral blood, and fetal liver. *Blood* 2001;98:2108-2115.
13. Rosler ES, Brandt JE, Chute J, Hoffman R. An *in vivo* competitive repopulation assay for various sources of human hematopoietic stem cells. *Blood* 2000;96:3414-3421.

## II. El proceso del banco de sangre de cordón umbilical

Carlos Torrico

La sangre fetal, atrapada en el territorio vascular placentario después del nacimiento, contiene células madre hemopoyéticas en número suficiente para reconstituir la médula ósea.<sup>1-3</sup> Con el fin de disponer de un inventario de sangre de cordón, clasificado por HLA, como fuente de células madre para trasplantes no emparentados, se han diseñado los programas de los bancos de cordón.<sup>4,5</sup> La actividad de estos programas se ha definido en los estándares internacionales NETCORD-FACT.<sup>6,7</sup>

### *Definición del proceso*

Para la utilización terapéutica de la sangre de cordón es necesario definir y controlar el proceso que la lleve desde el donante hasta el receptor. El proceso consta de 3 fases: una de donación del producto, una segunda de manipulación que lleva el producto desde la maternidad al centro de trasplante, y una tercera de trasplante y seguimiento clínico. Durante este trayecto se deben realizar actuaciones que mantengan las propiedades funcionales del producto original, con garantías de seguridad para el donante y el receptor. De forma complementaria, pues, se deben desarrollar controles que verifiquen la calidad funcional del producto (calidad hemopoyética), y la seguridad del receptor (calidad transfusional).

El proceso así definido puede dividirse en diferentes técnicas de manipulación del producto, sobre el cual se aplican pruebas analíticas de caracterización y controles de calidad.

En los artículos citados a continuación se presenta un análisis del coste del programa y un modelo de aseguramiento de la calidad para el proceso del banco de cordón.<sup>8,9</sup>

### *Técnicas de manipulación*

Las técnicas de manipulación del proceso deben llevar el producto controlado desde el territorio vascular de la placenta hasta el sistema circulatorio del receptor. Desde que iniciara la actividad hace 10 años, el banco de cordón de Barcelona ha adaptado y desarrollado técnicas encaminadas al aumento de la eficiencia del proceso<sup>10</sup>. Esto se ha conseguido con la definición de los puntos críticos

del proceso que ha supuesto en una gran parte de los casos el desarrollo de técnicas automatizadas.

Las técnicas utilizadas en el proceso son las siguientes:

- Técnica de recogida de sangre de cordón umbilical.
- Técnica de almacenamiento y transporte en fresco.
- Técnica de manipulación del producto, incluyendo reducción de volumen, criopreservación y almacenamiento en frío.
- Técnica de envío, entrega y trasplante de la unidad.

Todas las técnicas implementadas deben tener una validación previa, que asegure la consecución de un producto inicial seguro para el donante y obtenido respetando sus derechos individuales, y un producto final definido y seguro para el paciente. Al mismo tiempo, debe desarrollarse un programa de revalidación para asegurar el mantenimiento de las prestaciones de las mismas.

### *Pruebas analíticas y controles de calidad*

Durante el proceso se realizan pruebas analíticas para cuantificar y cualificar las propiedades definidas del producto. Además, se verifican estas propiedades mediante controles de calidad. En ocasiones, se incluyen criterios emitidos por profesionales cualificados en el despistaje de enfermedades transmisibles. A continuación se describen los utilizados según las distintas fases del proceso:

### *Fase de donación*

Se debe actuar en los siguientes aspectos:

- Respeto de los derechos individuales: El donador es la gestante que actúa en nombre del recién nacido. Esta debe ser informada previamente al parto sobre el programa, los beneficios de la donación y los perjuicios. Con la información recibida, debe firmar un consentimiento que autorice la manipulación de su producto para el uso terapéutico propuesto. La donación debe ser altruista, aceptando la no compensación económica por ella y además cediendo la titularidad del producto al banco de cordón. La donante debe ser mayor de edad para tomar estas decisiones.

- Seguridad para el donador: El único riesgo potencial descrito en la literatura científica deriva de la realización de un clampaje precoz, condicionado por la donación. En estudios publicados se ha podido comprobar que el clampaje precoz puede condicionar una reducción media de 1 gr/dl de hemoglobina sobre la media de recién nacidos. Esto puede originar problemas solamente a recién nacidos por debajo de la semana 34 de gestación, que son explícitamente excluidos del programa. Estos casos explícitamente se excluyen como donantes. Por otra parte no hay riesgo alguno ni para la salud de la madre ni para la del recién nacido.
- Seguridad para el receptor: El trasplante de células madre puede transmitir una enfermedad del donante al receptor. El tipo de enfermedades transmisibles por esta vía son las genéticas, básicamente enfermedades linfomohemopoyéticas del recién nacido (como inmunodeficiencias y hemoglobinopatías), y las enfermedades infecciosas de la madre (como SIDA, hepatitis o sepsis). En el proceso de donación se incluirán medidas para minimizar el riesgo de transmitir este tipo de enfermedades al receptor, basada en la anamnesis, revisión de la historia clínica y estudios serológicos previos al parto.
- Incidencias en la recepción del producto
- Resultado de la descongelación: caracterización celular y viabilidad
- Seguimiento clínico: del prendimiento, de la enfermedad injerto contra huésped, y de la supervivencia.

#### *Controles de calidad implementados en el banco de cordón de Barcelona*

Los controles de calidad implementados, pues, se pueden dividir en transfusionales y hemopoyéticos. A continuación se mencionan los realizados en el banco de cordón de Barcelona (en la tabla adjunta se resumen los criterios cuantitativos):

#### *Controles de calidad trasfusional*

- Propios del proceso de inclusión: Información, Anamnesis, Revisión de la Historia Clínica y Estudios serológicos previos al parto.
- Propios del proceso de caracterización del producto: HLA, Grupo sanguíneo y esterilidad.
- Verificación de la seguridad transfusional.
- Estado serológico de la madre al momento de la donación: Estudio de los marcadores de infectividad utilizados en medicina transfusional, y vigentes en el país del donante y el país del receptor.
- Estado serológico de la madre 6 meses después de la donación para los mismos marcadores.
- Revisión médica de la madre y del recién nacido, a partir del 6º mes, para descartar enfermedades genéticas precoces.
- Confirmación del HLA del producto en nuevas muestras del donante para evitar errores de trazabilidad (idealmente una alícuota ligada a la bolsa de trasplante).
- Verificación del haplotipo HLA materno en muestra de la madre para descartar errores de trazabilidad.

#### *Fase de manipulación*

Comprende todo el proceso desde la recogida de la sangre de cordón hasta la entrega al centro de trasplante. Las medidas utilizadas para controlar la calidad son:

- Caracterización del producto: definiendo el contenido celular, el contenido de progenitores hemopoyéticos y sus características transfusionales como el grupo sanguíneo y el HLA.
- Estudios de esterilidad después de la realización de manipulaciones.
- Seguimiento de las células diana durante el proceso.
- Registro del almacenamiento.
- Registro del transporte desde la maternidad al banco y desde el banco al centro de trasplante.

#### *Fase de envío y trasplante*

Depende del centro de trasplante y es responsabilidad del equipo médico que atiende al enfermo receptor. En todo caso, el banco debe velar que el centro de destino de su unidad sea un centro autorizado por las autoridades sanitarias del país para la realización de este tipo de procedimiento terapéutico. Además, el banco debe seguir el resultado de la infusión y del trasplante para detectar posibles anomalías:

#### *Controles de calidad hemopoyéticos*

- Propios de la caracterización del producto: Contenido en células nucleadas, contenido en células CD34+.
- Propios del proceso de manipulación: sistemas cerrados y automáticos, usos de productos certificados para uso humano, límites de tiempo para el proceso, control del transporte del producto, validación y revalidación técnica, pérdida de células diana durante la manipulación.
- Verificación de la seguridad hemopoyética: Comprobar en alícuotas representativas del contenido del

producto a infundir el contenido celular, su viabilidad y su capacidad funcional in Vitro, a través de recuentos, citometría de flujo y cultivos clonogénicos, (Cuadro I).

**Cuadro I. Criterios cuantitativos para validación de una muestra de sangre de cordón**

Criterios cuantitativos	Valor
Edad mínima de la donante	18 años
Semanas de gestación	34 semanas
Tiempo de manipulación	48 horas
Volumen de sangre neta	60 mL
Células nucleadas (CN) por ML	5-30x10 <sup>6</sup>
Células nucleadas totales al inicio	8x10 <sup>8</sup>
Recuperación de CN postmanipulación	>60%
CFU/CD34 postdescongelación	>10%

## Conclusión

El programa de sangre de cordón constituye una fuente alternativa de donantes de células madre hemopoyéticas para trasplante alogénico. El desarrollo de las técnicas de procesamiento ha llevado a la consecución de productos perfectamente caracterizados y seguros, que pueden ser

referenciados en inventarios internacionales de donantes. Las ventajas de la sangre de cordón son: disponibilidad inmediata, caracterización previa del producto, coste-beneficio alto a largo plazo, y resultados clínicos alentadores a pesar del grado de disparidad donante-receptor. El potencial hemopoyético y la seguridad transfusional lo hacen especialmente indicado en trasplantes pediátricos, o en el futuro en medicina regenerativa.

## Referencias

1. **Gluckman E, Rocha V, Chevret S.** Results of unrelated umbilical cord blood hematopoietic stem cell transplant. *Transfus Clin Biol* 8;146:2001.
2. **Rubinstein P, Adamson JW, Stevens C.** The Placental/Umbilical Cord Blood Program of the New York Blood Center. A progress report. *Ann N Y Acad Sci* 872;328:1999.
3. **Rubinstein P, Carrier C, Scaradavou A, Kurtzberg J, Adamson J, Migliaccio AR, Berkowitz RL, Cabbad M, Dobrila NL, Taylor PE, Rosenfield RE, Stevens CE.** Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *N Engl J Med* 339;1565:1998.
4. **Rubinstein P.** Placental blood-derived hematopoietic stem cells for unrelated bone marrow reconstitution. *J Hematother* 2;207:1993.
5. **Rubinstein P, Taylor PE, Scaradavou A, Adamson JW, Migliaccio G, Emanuel D, Berkowitz RL, Alvarez E, Stevens CE.** Unrelated placental blood for bone marrow reconstitution: organization of the placental blood program. *Blood Cells* 20;587:1994.
6. **Hakenberg P, Kogler G, Wernet P.** NETCORD: a cord blood allocation network. *Bone Marrow Transplant* 22 Suppl 1:S17, 1998.
7. **Gluckman E, Rocha V, Chevret S.** Results of unrelated umbilical cord blood hematopoietic stem cell transplantation. *Rev Clin Exp Hematol* 5;87:2001.
8. **Sirchia G, Rebulla P, Mozzi F, Lecchi L, Lazzari L, Ratti I.** A quality system for placental blood banking. *Bone Marrow Transplant* 21 Suppl 3:S43, 1998.
9. **Sirchia G, Rebulla P, Tibaldi S, Lecchi L.** Cost of umbilical cord blood units released for transplantation. *Transfusion* 39;645:1999.
10. **Querol S, Gabarro M, Amat L, Gonzalez S, Gomez MD, de la Calle O, Madoz P, Badell I, Garcia J.** The placental blood program of the Barcelona Cord Blood Bank. *Bone Marrow Transplant* 22 Suppl 1:S3, 1998.

# III. Indicadores de calidad en el banco de cordón

Sergi Querol\*

El banco de cordón (BC) consiste en un equipo integrado responsable de la recogida, procesamiento, análisis, almacenamiento, selección y envío de células de sangre de cordón (SC) para trasplante de progenitores hemopoyéticos (PH) alogénicos y/o autólogos.

Los datos biológicos previos han mostrado la existencia de PH circulantes en el momento del nacimiento<sup>1</sup>. Estas células tras su infusión consiguen regenerar la función medular, repoblando la médula ósea y los tejidos linfhemopoyéticos del huésped, con células procedentes del donante.<sup>2</sup>

Los factores que determinan la eficiencia del proceso son de origen del donante o del receptor. Los factores que influyen en el éxito de la terapéutica y que son condicionados por el receptor son de responsabilidad clínica, mientras que los derivados del donante entran de lleno en la responsabilidad del BC. Tras 10 años de realización de trasplantes alogénicos no emparentados, se han publicado datos que permiten definir las variables más importantes que condicionan el éxito del trasplante. Desde la vertiente clínica estas variables son fundamentalmente la edad del paciente, la indicación y su estadio, la

\* Director de Laboratorio.

estrategia de acondicionamiento y profilaxis de la enfermedad injerto contra huésped (EICH).<sup>3</sup> La buena indicación del trasplante, la correcta definición del protocolo clínico de estudio, así como la estructura del centro de trasplante para dar el correcto soporte al mismo van a influir de forma importante en el éxito terapéutico. Los indicadores de calidad dependientes de los centros de trasplante quedan fuera del ámbito de esta presentación. A continuación se comentan las variables dependientes del donante.

#### *Medidores de eficacia en el banco de cordón*

La eficacia del trasplante de cordón desde el punto de vista del banco consiste en llevar a la cabecera del enfermo un tejido de trasplante, el mejor posible para él, en condiciones funcionales óptimas. Este tejido debe ser seguro, y además el proceso para su consecución y trasplante debe resultar fácil, rápido y efectivo. Para conseguir este objetivo podemos definir indicadores de calidad que midan el grado de cumplimiento del mismo. Estos pueden dividirse en indicadores derivados de la calidad del tejido, y en indicadores derivados de la calidad del servicio prestado. A continuación se abordarán estos supuestos.

#### *Indicadores derivados de la propia calidad del producto*

Para la utilización terapéutica de la SC es necesario definir y controlar el proceso que la lleve desde el donante hasta el receptor. Durante este trayecto se deben realizar actuaciones que mantengan las propiedades funcionales del producto original, con garantías de seguridad para el donante y el receptor. De forma complementaria, pues, se deben desarrollar controles que verifiquen la calidad funcional del producto (calidad hemopoyética), y la seguridad del receptor (calidad transfusional).

#### *Calidad transfusional*

Desde un punto de vista de seguridad transfusional, los datos a controlar más relevantes se pueden dividir en:

- Evitar la transmisión de enfermedades.
- Genéticas: es importante mediante entrevistas y cuestionarios, descartar enfermedades de prevalencia familiar que pudieran transmitirse a partir de las células madre inoculadas (las más importantes en relación con las hemoglobinopatías).
- Infecciosas: evitando que las personas con riesgo de padecer enfermedades virales crónicas transmisibles (VIH, VHC, VHB en transfusión) sean donantes.

- Caracterizar la unidad de SCU para evitar reacciones transfusionales no previstas:
- Fenotipo eritrocitario.
- Caracterización HLA.
- Presencia de anticuerpos hemolíticos.
- Esterilidad de la muestra tras la última manipulación.

Para conseguir este propósito se utilizan los siguientes métodos:

- Epidemiológicos: En relación con el desarrollo de un programa de donación en la maternidad que controle a las madres durante el parto, en el momento del parto y postparto. Para conseguirlo, hemos desarrollado un programa de inclusión de donantes que tiene en cuenta los siguientes aspectos:
- Información adecuada, para que el hecho de la donación sea un acto libre.
- Despistaje adecuado de enfermedades transmisibles, sobre la base de encuestas epidemiológicas.
- Adaptar un programa de seguimiento para asegurar la seguridad del tejido donado, en términos de seguridad transfusional.
- Seguimiento de la madre en el postparto y a medio plazo.
- Conocimiento de aspectos relevantes en la salud del niño.
- Estudiar los aspectos obstétricos relacionados con la recogida de SCU: Seguridad para la madre y para el feto de la obtención de este tejido, y analizar los aspectos obstétricos relacionados con la calidad biológica del producto.
- Analíticos: Con el fin de conseguir la caracterización inmunológica y descartar la presencia de agentes infecciosos. El primero pretende evitar reacciones transfusionales y para ello se determina el fenotipo eritrocitario, la presencia de anticuerpos hemolíticos, y el tipaje HLA. Este último es el factor más importante, y por eso se deben realizar las verificaciones necesarias para confirmar sus características. Es conveniente que el laboratorio de HLA del BC este acreditado por agencias internacionales (EFI, ASHI o similares). Además, la verificación se debe hacer, siempre y cuando sea posible, de una nueva muestra obtenida de un segmento, perfectamente ligado a la bolsa de trasplante. Al mismo tiempo, es de interés verificar el haplotipo sobre ADN de la madre, para descartar errores de trazabilidad. Los agentes infecciosos a determinar son los bacterianos y fúngicos mediante hemocultivo al terminar todo el proceso de manipulación, y la presencia de virus que podrían transmitir una enfermedad potencialmente grave. La presencia de anticuerpos contra VIH, VHC o HTLV-I,II contraindican en la mayoría de los países la utilización del tejido. Las pruebas de anticuerpos pueden ser



Cuadro I.

Indicador	Unidad de medida	Resultado (promedio)
Uni. procesadas sobre recogidas	%	43
Volumen medio (+ 29 mL CPD)	mL	100
Concentración celular inicial	CN ( $\times 10^6$ )/mL	12,5
CN criopreservadas	$\times 10^8$ CN	11,7
Recuperación CN tras proceso	%	79
Células CD34+	%CD34+/CD45+	0,35
Células CD34+ criopreservadas	$\times 10^6$ CD34+	4,32
Uni. validadas sobre procesadas	%	92
Uni.no estériles sobre analizadas	%	9
Serología + sobre analizadas	%	0,5
Recuperación de colonias	% (en alícuota criopreservada)	94
Recuperación CN	% (en alícuota criopreservada)	100
Viabilidad de las CN	% (en alícuota criopreservada)	76
Trasplantes realizados/año	Nº	19
Ratio de trasplantes/unidades validadas	% Media mensual	0,03
Pacientes analizados	Nº	68
Supervivencia global acumulada	%, 2 años (Pediátricos/Adultos)	46/19

realizadas en la muestra materna, ya que las presentes en el donante son de origen materno. La utilización de técnicas antigénicas como el antígeno de superficie del VHB, el antígeno p24 del VIH, o la amplificación del ARN del VHC, se pueden utilizar para descartar estas enfermedades a partir de muestras del donante. Otros marcadores utilizados son CMV (fundamentalmente descartando presencia de IgM en la madre), Toxoplasma, y virus de Epstein-Barr.

### Calidad hemopoyética

Los datos que deben acompañar a la SC y que marcan su potencia hemopoyética son: el recuento de células nucleadas, la cuantificación de células CD34+, la recuperación de unidades formadoras de colonias tras la descongelación de alícuotas, y la viabilidad de las subpoblaciones leucocitarias. El laboratorio de análisis debe validar las técnicas y conocer la incertidumbre de las medidas respectivas, para así establecer sus rangos de normalidad. La reproducibilidad del método, así como su exactitud son importantes, y los laboratorios deben someterse a controles internos y externos para garantizar la calidad. Las variables analizadas sirven además para monitorizar la eficacia de la metodología utilizada en el procesamiento de la muestra en el BC, fundamentalmente el método de conservación en fresco tras la recogida, la técnica de reducción de volumen y la de criopreservación.

Desde un punto de vista clínico el dato más relevante es el contenido de células nucleadas que se ha correlacionado con el injerto. Recientemente, se ha podido demostrar que el contenido de células CD34+ puede ser

una variable más potente en esta predicción, por lo que la validación de las técnicas de citometría de flujo se hace imprescindible en el BC. El método recomendado para la SC es el ISHAGE de plataforma única, para obtener contenido de CD34 por unidad de volumen.<sup>4</sup>

### Indicadores de calidad derivados de la prestación de servicios

Este epígrafe se refiere a la capacidad del banco de promover la donación, de proporcionar muestras para trasplante, y de que los procesos administrativos y de control sean seguros, rápidos y efectivos. Para ello se debe considerar mecanismos que aseguren la calidad dentro de la organización (por ejemplo la certificación ISO9000<sup>5</sup>) y a través de ella, analizar las variables de calidad derivadas como porcentaje de donaciones aceptadas sobre las totales, trasplantes realizados sobre las unidades validadas, unidades propuestas sobre el total de consultas efectuadas, evaluación del coste/beneficio del programa, etc. La publicación de los estándares internacionales para la recogida, proceso, análisis, almacenamiento, selección y envío de sangre de cordón<sup>6</sup> permiten normalizar la actividad y demostrar la calidad a través de programas de acreditación.

### Indicadores de calidad en el banco de cordón de Barcelona

En el cuadro I. se presentan los indicadores de calidad utilizados en nuestro BC que permiten controlar el grado de eficacia de nuestro programa.

Los datos corresponden al análisis del año 2002. Las unidades totales recibidas fueron 1878 y las criopreservadas 781. En la actualidad (Junio de 2003) las unidades disponibles para trasplante son 5678, y se han utilizado 129 con fines terapéuticos. Cuadro I.

## Referencias

1. Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, y cols. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86:3828-32.
2. Wagner JE, Barker JN, DeFor TE, y cols. Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood* 2002;100:1611-8.
3. Grewal SS, Barker JN, Davies SM, Wagner JE. Unrelated donor hematopoietic cell transplantation: marrow or umbilical cord blood? *Blood* 2003;101:4233-44.
4. Keeney M, Chin-Yee I, Weir K, y cols. Single platform flow cytometric absolute CD34+ cell counts based on the ISHAGE guidelines. *International Society of Hematotherapy and Graft Engineering. Cytometry* 1998;34:61-70.
5. Sirchia G, Rebulla P, Mozzi F, y cols. A quality system for placental blood banking. *Bone Marrow Transplant* 1998;21 Suppl 3:S43-7.
6. International standards for cord blood collection, processing, testing, banking, selection and release, 2<sup>nd</sup> edition, July 2001, Netcord and Foundation for the accreditation of cellular therapy.

# IV. Los bancos de sangre de cordón umbilical, la normativa internacional y su situación actual en la República Mexicana

Eva Calderón-Garcidueñas

Un banco de sangre de cordón umbilical (BSCU), es un centro dedicado a la recolección, procesamiento, estudio y criopreservación de sangre de cordón para ser utilizada en uso clínico, principalmente en trasplante para restaurar la médula ósea.

El trasplante de células de cordón umbilical, constituye una invaluable oportunidad para aquellos pacientes, principalmente niños, que sufren diversas enfermedades hematológicas y genéticas, incluyendo leucemias linfoides y mieloides, así como otros padecimientos como anemia de Fanconi, anemia aplásica, síndrome de Hunter, síndrome de Wiskott-Aldrich, beta-talasemias, y neuroblastoma. El trasplante permite conservar la vida del sujeto con un nivel aceptable de salud, reincorporarlo a su ámbito productivo y disminuir los gastos que le generan los tratamientos sustitutivos.

## Antecedentes

Durante 1985 y 1992 se realizaron una serie de estudios biológicos que demostraron que la proporción de células progenitoras hematopoyéticas (células madre) presentes en la sangre del cordón umbilical era similar a la de la médula ósea del adulto. Durante éste periodo se observó que las células madre procedentes de cordón umbilical, mantenían su viabilidad durante dos o tres días a tempe-

ratura ambiente y también después de ser sometidas a un proceso de criopreservación; que tenían una mayor capacidad para formar colonias y que probablemente la cantidad de dichos progenitores contenidos en una sola donación era suficiente para realizar con éxito un trasplante.

En 1988 se realizó el primer trasplante con sangre de cordón umbilical, en un niño afectado de anemia de Fanconi, quien actualmente sigue vivo y gozando de buena salud.

El primer banco de sangre de cordón umbilical de donadores voluntarios no emparentados se fundó en 1992 y para 1995 se fundó el grupo Eurocord con sede en París, con la finalidad de crear un registro de trasplantes de sangre de cordón umbilical con un seguimiento de los pacientes y un foro para el desarrollo de estudios cooperativos. Paralelamente se creó el grupo Netcord, constituido en 1998 y formalizado en 2000, que es una red internacional de bancos, capaces de buscar en todo el inventario mundial, la unidad de sangre de cordón que se requiera (virtual office), así como establecer normas de buena práctica y cooperación entre los bancos y los centros de trasplante.<sup>1,2</sup>

Esta red internacional, ha desarrollado los estándares NETCORD/FACT (Foundation for the Accreditation of Hematopoietic Cell Therapy), que son actualmente los que dictan el funcionamiento de los BSCU en el mundo.<sup>3</sup>

El número de trasplantes con sangre de cordón umbilical al 31 de marzo del 2003 es de 2260, de los cuales, 1527 se realizaron en niños y 713 en adultos.

Así pues, ha quedado demostrado que la sangre del cordón umbilical, considerada hasta hace poco como producto de deshecho, es una fuente potencial de células progenitoras para ser utilizada en el trasplante de médula ósea.<sup>4</sup>

En los últimos años, se han desarrollado diferentes métodos de obtención y procesamiento de las células madre, y se han creado diversos programas de trasplante con sangre de cordón de donantes no emparentados, como alternativa a los de médula ósea, siendo los bancos de sangre de cordón una herramienta fundamental en estos programas.

### *Normativa Internacional*

Actualmente los bancos de sangre de cordón umbilical se apoyan en estándares internacionales para su adecuado funcionamiento, adicionalmente a la normatividad vigente en sus países de origen. Estos estándares han surgido de la experiencia misma de los BSCU a nivel mundial, como es el caso de NETCORD.<sup>5-7</sup>

También existen diversas publicaciones de apoyo como el BOE en España, FDA y AABB en Estados Unidos de Norteamérica, el proyecto de NOM en el caso de México, que establecen de manera precisa los requerimientos específicos para el desarrollo de los bancos de células progenitoras hematopoyéticas.<sup>8-11</sup>

Los requisitos y condiciones mínimas que deben cumplir los bancos de cordón umbilical para poder ser autorizados para la práctica de la obtención de células hemopoyéticas, de acuerdo a la normativa internacional son las siguientes:

- a Disponer de, o estar en relación con, una unidad médico-quirúrgica especializada en ginecología y obstetricia, para facilitar la obtención de sangre de cordón umbilical, con el personal sanitario suficiente y adecuado para realizar esta actividad.
- b Tener establecida relación con un equipo de coordinación de trasplantes.
- c Disponer de las instalaciones y medios materiales necesarios para garantizar la obtención preparación y almacenamiento de la sangre de cordón umbilical.
- d Disponer de un protocolo consensuado, tanto con la unidad materna, sobre la obtención, la preparación y el transporte de la sangre de cordón umbilical, como para su procesamiento en el BSCU.
- e Garantizar la realización de los estudios pertinentes necesarios para descartar la presencia de enfermedades transmisibles conocidas, así como las pruebas al uso.

- f Disponer del personal y servicios adecuados para la criopreservación y disponer de un protocolo validado.
- g Tener establecida documentalmente las condiciones de actuación con los centros de trasplante con los que se relacione.
- h Disponer de un registro, de acceso restringido y confidencial, donde constarán las extracciones realizadas con los datos necesarios para la identificación del donador, de la sangre de cordón umbilical donada, así como la aplicación o el destino de la misma, con sus fechas y las pruebas que fueron realizadas, de tal forma que permita en caso necesario el adecuado seguimiento de la unidad obtenida por el BSCU.

### *Ventajas que ofrece una unidad de sangre de cordón umbilical*

Si tratáramos de establecer un modelo comparativo entre la obtención de unidades para un trasplante de médula ósea de un donador no emparentado, y un trasplante de sangre de cordón umbilical, podríamos observar que las unidades de sangre de cordón umbilical conllevan diversas ventajas.

Para la obtención de médula ósea se requiere de múltiples punciones en crestas iliacas y en el esternón del donador bajo anestesia general o epidural, con los inconvenientes del dolor, del riesgo de infección local o de ingreso hospitalario, mientras que la obtención de sangre de cordón es sencilla e inofensiva y además es sabido que sólo el 25 por ciento de los enfermos con algún tipo de cáncer hematológico tiene un familiar inmunológico compatible con el suyo para poder llevar a cabo un trasplante de médula.

En el trasplante de médula ósea de donador no emparentado, cuando se localiza un donador voluntario compatible, se le debe consultar si todavía está dispuesto a realizar la donación; sin embargo, las unidades de sangre de cordón están disponibles en los bancos de sangre de cordón, criopreservadas y clasificadas de acuerdo a sus antígenos HLA, lo que permite ahorrar tiempo en la búsqueda de un donante compatible, hecho que agiliza el trasplante en el momento en que se necesite.

Los BSCU pueden ofrecer unidades de SCU adecuadas para la práctica de trasplantes en niños y en adultos con una alta calidad, seguridad e interacción óptima.

### *El Banco de Sangre de Cordón Umbilical (BSCU)*

El objetivo primordial de un BSCU es servir a los centros de trasplante, seleccionando la mejor unidad disponible

de células progenitoras a través de su propio inventario, de los registros nacionales de cada país o bien a través de NETCORD. Es necesario suministrar unidades de calidad, mediante la aplicación de los estándares internacionales y la automatización y validación del proceso.

El BSCU debe mantenerse operativo, esto se logra con la petición y suministro de unidades a los centros de trasplante y tratando de alcanzar el equilibrio Costo / Beneficio. La dimensión que alcance un BSCU puede condicionar en gran medida su supervivencia.

### *Situación actual de los BSCU en México*

En México se han presentado dos vertientes de los Banco de Sangre de Cordón Umbilical: autólogos en su gran mayoría privados y los BSCU no emparentados, de tipo gubernamental.

Entre los BSCU privados figuran 3 en el Distrito Federal, 2 en Jalisco y uno en Puebla. En cuanto a instituciones gubernamentales existen 13 Hospitales en DF, 5 en Nuevo León, uno en Jalisco, 3 en Puebla, uno en Coahuila, uno en S.L.P. y uno en Baja California Norte, que tienen autorización para manejo de células progenitoras hematopoyéticas (CPH), de los cuales tienen BSCU, 2 en el Distrito Federal y uno en Nuevo León.

Los BSCU empezaron a surgir en México a partir del 2001 y se rigieron en principio siguiendo solamente la Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993 para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. A partir del 2003, el Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea incluyó en el proyecto de NOM los requisitos básicos para el manejo de células progenitoras hematopoyéticas procedentes de cordón umbilical, basándose en los estándares internacionales y en la normatividad mexicana. Se iniciaron verificaciones técnicas a los BSCU con el objeto de unificar los criterios de validación de las unidades y sobre todo la seguridad transfusional.

A partir de agosto de 2003 y derivado de la reforma a la Ley General de Salud, en donde se adicionaron los artículos 17 bis, 17 bis 1, 17 bis 2 y se reformaron los artículos 313, fracción I y 340, publicados en el Diario Oficial de la Federación el 30 de junio de 2003, el Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea suspendió la recepción de trámites para la emisión de Licencias

Sanitarias para Banco de Sangre sus componentes y Células Progenitoras Hematopoyéticas a partir del día 11 de agosto de 2003. Estos trámites pasaron a partir de esa fecha a cargo de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), quien será ahora el encargado de regular a los BSCU. El CNTS continuará emitiendo la normatividad, recomendaciones o guías técnicas para el manejo de las CPH.

### *El BSCU del CNTS*

A partir de junio del 2003, el CNTS inicio actividades de criopreservación de CPH procedentes de cordón umbilical. El BSCU esta conformado por la unidad materna, la unidad de procesamiento y almacenaje, la unidad de búsqueda y gestión y el Banco Paralelo. Sus actividades siguen los criterios establecidos por los estándares internacionales de NETCORD, lo que permite una validación del proceso en forma global y trazabilidad del mismo.

Todas las unidades son clasificadas de acuerdo a HLA por técnicas de biología molecular. Cuenta con un sistema automatizado de separación celular (SEPAX-BIOSAFE) y un sistema robotizado de almacenaje (BIOARHIVO). La presencia del BSCU del CNTS, permitirá al Sector Salud, acceder a unidades de sangre de cordón umbilical de alta calidad para la población mexicana.

### **Referencias**

1. Real Decreto 1-3-1996, núm. 411/1996: RCL 1996\1075 Ministerio de Sanidad y Consumo. Publicación BOE 23-3-1996, núm. 72, (pág. 11246).
2. L. Madero. Trasplante de progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical. An Esp pediatr 1999;50:119-125.
3. Wagner JE, Kurtzberg J. Banking and transplantation of unrelated donor umbilical cord blood: status of the National Heart, Lung, and Blood Institute-sponsored trial. Transfusion. 1998;38:807-809.
4. Gluckman E, Rocha V, Chastang C. European results of unrelated cord blood transplants. Bone Marrow Transplant. 1998;21(suppl 3):87-91.
5. World Marrow Donor Association international Standards for unrelated hematopoietic stem cell donor Registres. September 21, 2000.
6. Carreras E, Brunet S, Ortega JJ, Monserray E, Sierra J, Urbano-Ispizua A. Manual de Trasplante hemopoyético 2ª edición. Editorial Antares 2000.
7. Manual de acreditación para la extracción, procesamiento y trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. JACIE (Joint Accreditation Committee of ISHAGE-Europe and EBMT). Mayo 1999.
8. National Marrow Donors Program. (NMDP) Donor Center Manual of operations. 1998.
9. National Marrow Donors Program. (NMDP) Standards Edition 17, Sep1999.
10. International Standards for Cord Blood Collection, Processing, testing, Banking, Selection and Release. NETCORD y FAHCT. First edition 2000.
11. Proyecto de la NOM-003-SSA2-1993 para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos 2003.

