

La infusión de plasma convaleciente se asocia con una  
mejoría clínica en pacientes críticos con COVID-19:

## Estudio piloto

Juan Carlos OLIVARES-GAZCA (1-2)  
Jose Manuel PRIESCA-MARÍN (1)  
Martín OJEDA- LAGUNA (1)  
Javier GARCES-EISELE (2-3)  
Silvia SOTO-OLVERA (3)  
Abraham PALACIOS-ALONSO (4)  
Judith IZQUIERDO-VEGA (4)  
Rómulo CHACON-CANO (5)  
Daniel ARIZPE-BRAVO (5)  
Miguel Antonio LÓPEZ-TRUJILLO (3)  
Yahveth CANTERO-FORTIZ (1, 6)  
Danitza FERNANDEZ-LARA (1-2)  
Guillermo José RUIZ-DELGADO (1-3)  
Guillermo José RUIZ-ARGÜELLES (1-5)

- 1) Centro de Hematología y Medicina Interna. Clínica Ruiz. Puebla, México
- 2) Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. Puebla, México
- 3) Laboratorios Ruiz. Clínica Ruiz. Puebla, México
- 4) Hospital Puebla. Puebla. México
- 5) Hospital Angeles de Puebla. Puebla, México
- 6) Universidad de las Américas. Puebla, México

**Título original: Convalescent plasma in COVID-19**

**Palabras clave: Convalescent plasma; COVID-19; Severe COVID-19**

**Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés**

**Datos de contacto:**

**Guillermo J. RUIZ-ARGÜELLES MD, FRCP (Glasg), MACP, DSc (hc)**

**Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla**

**8B Sur 3710**

**72530 Puebla, MEXICO**

**Tel.: 011 (52) 222 243 8100**

**Fax: 011 (52) 222 243 8428**

**E-mail: [gruiz1@clinicaruiz.com](mailto:gruiz1@clinicaruiz.com)**

**Documento traducido por:  
María de los Ángeles Domínguez Romero**



## **Resumen / Abstract:**

**Antecedentes:** El tratamiento ideal de COVID-19 aún no se ha definido, pero el plasma convaleciente (CoPla) se ha empleado con éxito.

**Objetivo:** Estudiar la seguridad y los resultados de la administración de CoPla a personas con COVID-19 grave en un centro médico académico.

**Métodos:** Diez pacientes fueron tratados prospectivamente con plasma de donantes convalecientes de COVID-19.

**Resultados:** Durante 8 días, el puntaje de la evaluación secuencial de falla orgánica (SOFA) disminuyó significativamente en todos los pacientes, de 3 a 1.5 ( $p = 0.014$ ); el puntaje del índice de Kirby ( $PaO_2 / FiO_2$ ) aumentó de 124 a 255, ( $p < 0.0001$ ), la temperatura corporal disminuyó significativamente de 38.1 a 36.9 °C ( $p = 0.0058$ ) y los niveles de ferritina también disminuyeron significativamente de 1736.6 a 1061.8 ng / ml ( $p = 0,0001$ ). Las radiografías de tórax mejoraron en 7/10 casos y en 6/10, las tomografías computarizadas también revelaron una mejoría de la lesión pulmonar. También se observaron disminuciones en los niveles de proteína C reactiva y dímero D. Tres de cada cinco pacientes con soporte de ventilación mecánica pudieron extubarse, nueve fueron trasladados a pisos de hospitales convencionales y seis fueron enviados a casa; murieron dos pacientes. La administración de CoPla no tuvo efectos secundarios y la supervivencia global de 24 días fue del 77%.

**Conclusiones:** Aunque también se administraron otros tratamientos a los pacientes y como resultado, los datos son difíciles de interpretar, parece que la adición de CoPla mejoró la función pulmonar.

## **Introducción:**

El brote de la nueva enfermedad por coronavirus (COVID-19) causada por el nuevo virus SARS-CoV-2 es de hecho una amenaza pandémica para la salud pública mundial. Aunque el epicentro de la pandemia se ubicó inicialmente en

Wuhan, China, en diciembre de 2019, la enfermedad se ha extendido por todo el mundo y millones de vidas se han visto afectadas no solo por la enfermedad sino también por las consecuencias económicas del aislamiento obligatorio / cuarentena (1).

Hasta la fecha, no hay disponibles agentes terapéuticos específicos o vacunas para COVID-19; Actualmente se están investigando varias opciones, como remdesivir, hidroxiclороquina, lopinavir / ritonavir y otras, pero su eficacia antiviral no se ha demostrado completamente (2). Se recomendó el uso de plasma convaleciente (CoPla) como tratamiento empírico del Ébola en 2014 y más tarde, en el tratamiento del síndrome respiratorio de Medio Oriente, SARS-CoV, influenza aviar H5N1 e influenza H1N1 (3-4). CoPla se ha utilizado recientemente en el tratamiento de pacientes con COVID-19 en China (3-5) y se descubrió que es seguro y efectivo; Además, es asequible, un requisito clave en las economías de bajos y medianos ingresos (6).

Con base en los conceptos mencionados anteriormente, diseñamos un protocolo para tratar pacientes con formas graves de COVID-19 en México con CoPla, y lo registramos en [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov) NCT4357106 después de la aprobación del Comité de Ética de la Clínica Ruiz (número CEI- 03-04-20-01). Se presentan los resultados obtenidos en este estudio piloto de 10 pacientes.

### **Materiales y Métodos:**

Este estudio se realizó en el Centro de Hematología y Medicina Interna, de la Clínica Ruiz en Puebla, México, entre el 17 de abril de 2020 y el 8 de mayo de 2020. Después de su aprobación por el comité de ética, los pacientes y los donantes dieron su consentimiento informado por escrito para participar. en el estudio. El estudio es prospectivo, longitudinal, de brazo único y cuasi experimental.

#### **a) Pacientes:**

Los pacientes con evidencia de laboratorio confirmada de COVID-19 por reacción en cadena de la transcriptasa-polimerasa inversa (RT-PCR) de las secreciones del tracto respiratorio superior obtenidas mediante un hisopo, fueron elegibles para recibir CoPla siempre que cumplieran los siguientes criterios: a) Neumonía severa con rápida progresión; b)  $PaO_2 / FiO_2 < 300$ , con o sin soporte de ventilación mecánica; c) ingresado en la unidad de cuidados intensivos (UCI); d) Edad mayor de 18 años; e) Dispuesto a participar y haber firmado el formulario de consentimiento informado, ya sea pacientes o familiares de primer grado. Se determinaron los tipos de sangre ABO para la compatibilidad del donante y cada paciente recibió 200 ml de CoPla compatible con ABO. A los pacientes también se les administró el tratamiento necesario establecido por los médicos de la UCI.

#### **b) Donantes:**

Los donantes con COVID-19 confirmado por laboratorio por reacción en cadena de la transcriptasa-polimerasa inversa (RT-PCR) de las secreciones del tracto respiratorio superior obtenidas mediante prueba de hisopo fueron elegibles, siempre que cumplieran los siguientes criterios: a) Prueba positiva de RT-PCR en el momento del diagnóstico; b) Prueba negativa de RT-PCR 10 días después de la desaparición de los síntomas de la enfermedad, realizada dos veces con una diferencia de 24 horas. Las pruebas obligatorias previas a la donación en México también debían ser negativas e incluían: virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis C, VIH, Brucella sp. y sífilis. Los procedimientos de aféresis se realizaron en todos los donantes con una máquina Amicus (Fresenius Kabi, Deerfield, IL, EE. UU.) O una máquina Spectra Optia (Terumo BCT, Lakewood, CO, EE. UU.) Y siguiendo el protocolo Spin-Nebraska (8). Se prepararon y congelaron alícuotas de doscientos mililitros.

#### **c) Información clínica:**

Se recopiló la siguiente información de cada paciente: días hasta el ingreso desde el inicio de los síntomas, síntomas de presentación, tratamientos concomitantes, ventilación mecánica, temperatura corporal,  $PaO_2 / FiO_2$ , puntuación de evaluación de falla orgánica secuencial (SOFA), conteo completo

de células sanguíneas (CBC), hígado y pruebas de función renal, proteína C reactiva (PCR), dímero D y estudios de imágenes de tórax.

#### **d) RT-PCR**

Las muestras nasofaríngeas / orofaríngeas se recogieron en un medio de transporte viral durante la hospitalización y se enviaron al laboratorio. El qRT-PCR para SARS-CoV-2 se realizó de acuerdo con los protocolos publicados de US-CDC, Atlanta (CDC 2019-nCoV en tiempo real RT-PCR Panel Diagnóstico) (9) y / o Charité Virology, Berlín (Diagnóstico detección de 2019-nCoV por RT-PCR en tiempo real) (10); este último se realizó con una sonda RdRP modificada por el laboratorio nacional de referencia, Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica, México. Brevemente, la extracción total de ácido nucleico de las muestras se realizó con el kit viral QIAamp RNA (Qiagen, México), y la qRT-PCR se realizó con el sistema RT-PCR de un solo paso SuperScript™ III con el kit Platinum™ Taq DNA Polymerase (ThermoFisher, México), y cebadores y sondas específicos para SARS-CoV-2 como se describe anteriormente (9-10).

#### **e) Anticuerpos anti-SARS-CoV2**

Los anticuerpos anti-coronavirus IgG e IgM se determinaron mediante inmunoensayo de flujo lateral rápido después de la aféresis, de acuerdo con las instrucciones del fabricante: se colocaron 5-20 µl de sangre total en el pocillo de muestra, se colocaron 80-100 µl del tampón del fabricante en un adyacente bien y ambos se incubaron a temperatura ambiente durante 10 minutos: un resultado positivo se reflejó en la aparición de una banda de color en el control y en los indicadores IgG y / o IgM (7). Cada casete incluía un control positivo y los resultados se confirmaron mediante evaluación ELISA cualitativa; No se evaluó la actividad neutralizante de los anticuerpos.

#### **Resultados:**

##### **a) Pacientes:**

Diez pacientes varones con una mediana de edad de 53 años (rango 27 a 72), se incluyeron prospectivamente en el estudio. Todos estaban en las unidades de cuidados intensivos de tres hospitales en Puebla, México. La tabla 1 resume las características más destacadas de los pacientes. Todos ellos albergaban el virus SARS-CoV-2 en el tracto respiratorio superior identificado por RT-PCR. Cuando se infundió la CoPla, la relación mediana de PaO<sub>2</sub> / FiO<sub>2</sub> (índice de Kirby) fue de 124 (rango 59 a 221). El oxígeno suplementario se administraba activamente a todos los pacientes, pero 5 casos estaban en soporte de ventilación mecánica; 4 eran febriles y la puntuación mediana de SOFA fue de 3 (rango 1 a 11). Se obtuvieron los niveles de PCR, dímero D y ferritina y se muestran en la Figura 1, que también muestra la evolución de la puntuación SOFA, el índice de Kirby y la temperatura corporal de los pacientes después de la infusión de CoPla. Durante un período de 8 días, la puntuación SOFA de los pacientes disminuyó significativamente de 3 a 1.5 ( $p = 0.014$ ); el índice de Kirby aumentó de 124 a 255 ( $p < 0.0001$ ) y la temperatura corporal bajó de 38.1°C a 36.9°C ( $p = 0.0058$ ). Las radiografías de tórax mejoraron en 7 de 10 pacientes y en 6, la tomografía computarizada (TC) también reveló una mejoría de la lesión pulmonar (Figura 3). Estos hallazgos clínicos reflejan claramente una mejora en la función respiratoria general y el estado clínico de los pacientes después de la infusión de CoPla; en consecuencia, 3 de cada 5 casos de ventilación mecánica pudieron extubarse, 9 fueron transferidos de la UCI a los pisos convencionales del hospital y seis fueron enviados a sus hogares. Un paciente (número 2) desarrolló una embolia pulmonar mortal el día del alta hospitalaria después de haberse recuperado de Covid-19; No estaba recibiendo anticoagulantes. El paciente número 9 falleció luego de ser trasladado a la UCI de otro hospital con recursos más limitados. La Figura 2 muestra la supervivencia general de los pacientes utilizando el método de Kaplan-Meier (11). La administración de plasma alogénico no tuvo efectos secundarios, incluidas reacciones alérgicas o hemolíticas.

#### **b) Donantes:**

Los CoPla se obtuvieron de cinco donantes con una mediana de edad de 35 años (rango 24 a 52), 2 de los cuales eran mujeres. Todos fueron negativos al SARS-CoV-2 en el tracto respiratorio superior en al menos dos pruebas consecutivas obtenidas con 24 horas de diferencia y antes de la donación. Cuatro donantes tenían IgG anti-SARS-CoV-2 IgG, mientras que 1 tenía IgM anti-SARS-CoV-2. El volumen medio de plasma obtenido de los donantes fue de 700 ml, rango de 600 a 1000 ml. En todos los casos, el plasma coincidía con el grupo ABO del paciente. Los cultivos bacterianos de todas las muestras de plasma fueron negativos.

### **Discusión:**

Estudios anteriores han informado sobre el mérito de CoPla en varias enfermedades infecciosas (2-5) y específicamente, en COVID-19 (3, 12). En este estudio, 10 pacientes críticos debido a la infección por el virus SARS-CoV-2 y con un índice de Kirby inferior a 300 que refleja una lesión pulmonar grave, recibieron CoPla de 5 donantes. Todos los pacientes tuvieron un resultado positivo, definido como la mejora tanto en su curso clínico como en los marcadores sustitutos de la enfermedad; 3/5 pacientes con ventilación mecánica ya no necesitaban asistencia respiratoria 10 días después de la transfusión del plasma convaleciente. La supervivencia general del paciente fue del 77%, 24 días después de la infusión del plasma convaleciente, y las dos muertes podrían haberse evitado estrictamente: una, si hubiera recibido terapia de anticoagulación y la otra, si no hubiera sido transferido a otra UCI. Los cambios en los marcadores sustitutos de la actividad de la enfermedad sugieren un efecto beneficioso de la infusión de plasma: hubo mejoras significativas en la temperatura corporal, en el índice de Kirby ( $PaO_2 / FiO_2$ ), el índice de SOFA y en los niveles de ferritina en suero. No determinamos las cargas virales del paciente.

Dado que los pacientes estaban recibiendo otros tratamientos (ver Tabla 1), es difícil concluir que la infusión de CoPla fue totalmente responsable de la mejora en la función pulmonar y en el curso clínico de los pacientes. Está claro que nuestro estudio piloto tiene varias limitaciones: 1) El número de pacientes es bajo;



2) Los resultados no pueden generalizarse; 3) No hay grupo de control; 4) Hay varios factores de confusión, principalmente los otros tratamientos administrados junto con CoPla; 5) Los criterios de inclusión son limitados ya que solo se incluyeron pacientes gravemente enfermos.

Sea como fuere, este estudio piloto sugiere que la administración de CoPla puede mejorar la función respiratoria y el curso clínico de los pacientes con COVID-19. Aunque los números son pequeños, la intervención confirma experiencias previas (3) y nuestros resultados podrían impulsar el desarrollo de un ensayo clínico prospectivo, aleatorizado y controlado. Agregar CoPla al tratamiento de pacientes críticos con COVID-19 puede ser útil y es asequible y seguro.

### **Fondos**

Este estudio fue financiado por el Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Puebla. Puebla, México.

### **Conflicto de intereses**

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

## Referencias:

- 1) Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;15(39):497–506
- 2) Lu H. Drug treatment options for the 2019-new coronavirus (2019-nCoV). *Biosci Trends*. 2020;14(1): 69-71
- 3) Shen C, Wang Z, Zhao F, Yang Y, Li J, Yuan J, et al. Treatment of 5 Critically Ill Patients with COVID-19 with Convalescent Plasma. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2020; 28;323(16): 1582-1589
- 4) Chen L, Xiong J, Bao L, Shi Y. Convalescent plasma as a potential therapy for COVID-19. *Lancet Infectious Diseases*. 2020(20): 398–400
- 5) Liu C, Zhou Q, Li Y, Garner L V., Watkins SP, Carter LJ, et al. Research and Development on Therapeutic Agents and Vaccines for COVID-19 and Related Human Coronavirus Diseases. *ACS Cent Sci*. 2020;6(3):315–31
- 6) Ruiz-Argüelles GJ, Steensma DP.: Staunching the rising costs of haematological health care. *Lancet Haematol* 2016; 3:455
- 7) Whitman JD, Hiatt J, Mowery CT, Shy BR, Yu R, Yamamoto TN, et al. Test performance evaluation of SARS-CoV-2 serological assays. *MedRxiv [Internet]*. 2020 Apr 29
- 8) Ruiz-Argüelles GJ, Ruiz-Argüelles A, Pérez-Romano B, Marín-López A, Larregina-Díez A, Apreza-Molina MG.: Filgrastim-mobilized peripheral-blood stem cells can be stored at 4 degrees and used in autografts to rescue high-dose chemotherapy. *Am J Hematol* 1995; 48:100-103.
- 9) CDC 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-Time RT-PCR Diagnostic Panel. CDC-006-00019, Revision: 03. 3/30/2020. Available at: <https://www.fda.gov/media/134922/download>
- 10)Corman V, Bleicker T, Brünink S, Drosten C, Landt O, Koopmans M, et al. Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR. Version 2. 1/17/2020. Available at: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf>
- 11)Schemper M, Smith TL. A note on quantifying follow-up in studies of failure time. *Control Clin Trials*. 1996;17(4):343–6.

12) Sullivan HC, Roback JD. Convalescent Plasma: Therapeutic Hope or Hopeless Strategy in the SARS-CoV-2 Pandemic. Transfus Med Rev. 2020. In press.

### Imágenes y Tablas

Paciente	Edad	Ventilación Mecánica	Días	Comorbilidad	Tratamiento prior CoPla
1	72	Si	8	DM, HT	ST, HY, AZI
2	54	No	6	DM, HT	ST, HY
3	53	No	7	DM, OB	ST, HY, AZI
4	64	No	4	OB	ST, HY, AZI
5	43	Si	10		ST, HY
6	46	Si	4		ST, HY, AZI, TOC, LOP/RIT
7	27	Si	2	DM, OB	ST, HY, TOC, LOP/RIT
8	64	No	1	HT	ST, HY
9	59	Si	1	DM, OB	ST, HY, AZI
10	38	No	2	DM, OB	ST, HY, AZI, LOP/RIT

Tabla 1. Características sobresalientes de los pacientes. Días = número de días en la ICU antes de la administración del plasma. DM = Diabetes mellitus, HT = Hipertensión, OB = Obesidad, ST = Esteroides, HY = Hidroxicloroquina, AZI = Azitromicina,

TOC = Tocilizumab, LOP/RIT = Lopinavir/Ritonavir.

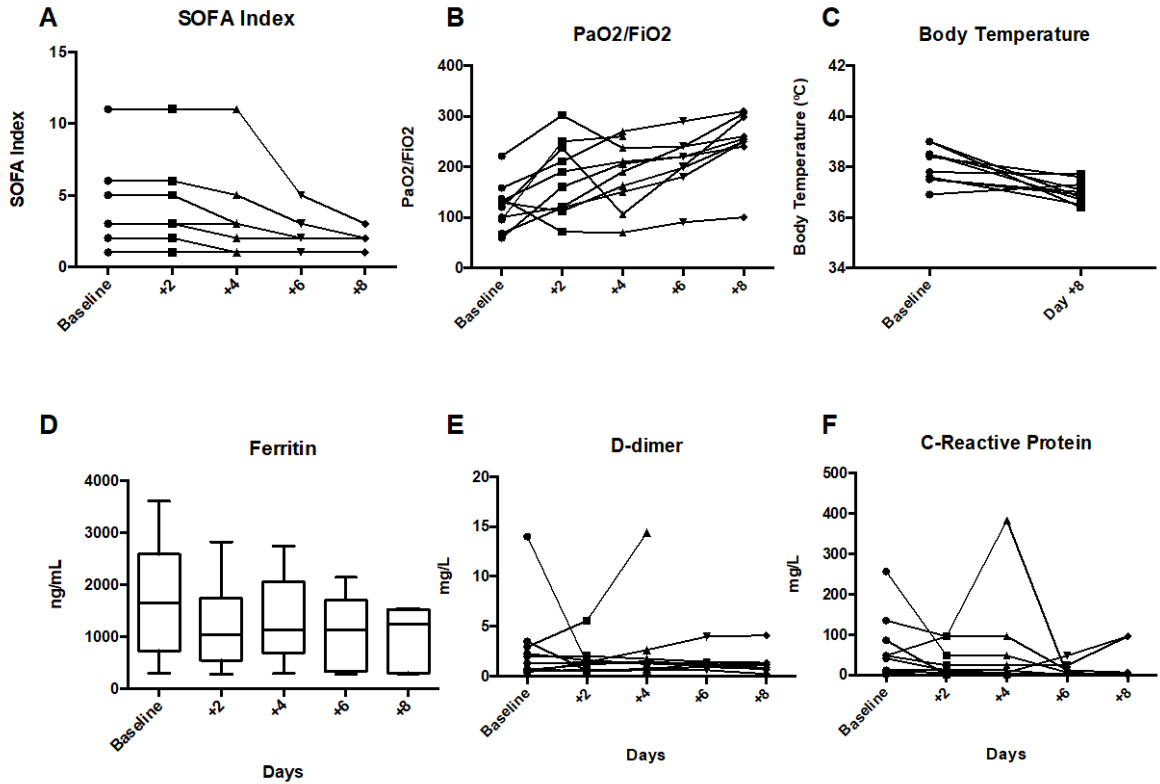


Imagen 1. Cambios después de la infusión de plasma: el Panel A muestra la caída significativa del índice SOFA; el panel B muestra el aumento significativo en el índice de Kirby ( $pO_2/FiO_2$ ); el panel C muestra la disminución significativa en la temperatura corporal y el panel D muestra la caída significativa en los niveles de ferritina sérica. Los paneles E y F indican las caídas en dímeros D y proteína C reactiva, que no son significativas.

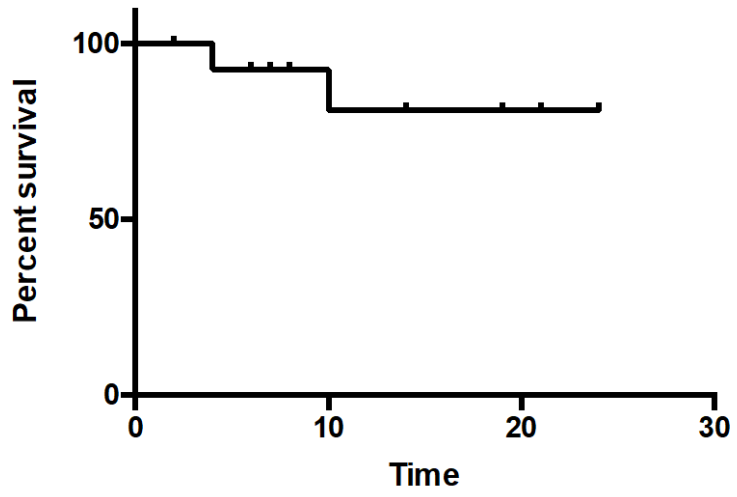


Imagen 2. Supervivencia global según Kaplan y Maier (11) de los 10 pacientes después de la infusión de plasma convaleciente.

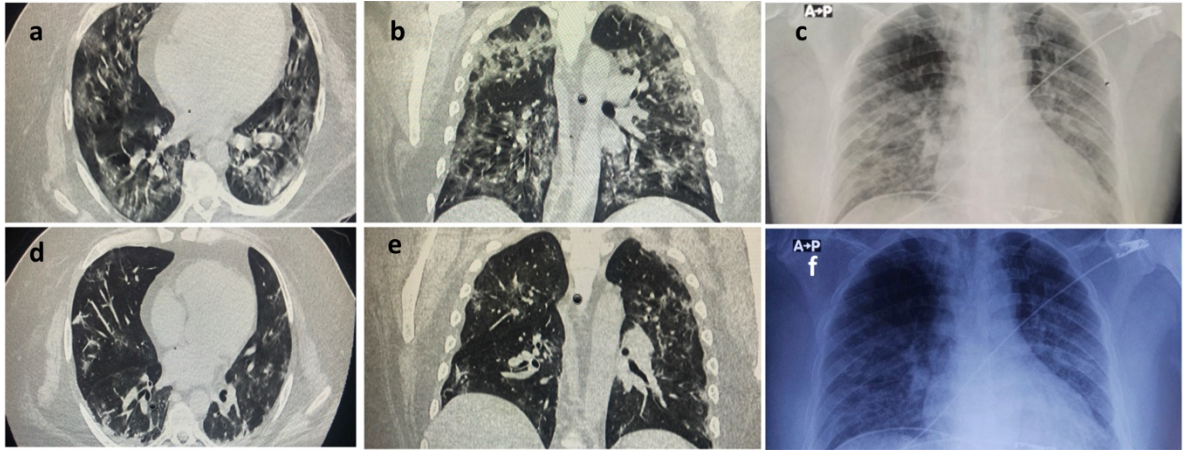


Imagen 3. Imágenes del tórax del paciente 10. Los paneles a, b y c representan la condición antes de la entrega del CoPla; los paneles d, e y f representan la condición 6 días después de la infusión.