

CONTROL DE CALIDAD DE LA LEUCORREDUCCIÓN DE PLAQUETAS OBTENIDAS POR AFÉRESIS POR MEDIO DE CÁMARA DE NAGEOTTE Y CELL-DYN RUBY

HAROLD CRUZ BERMÚDEZ* PhD, JORGE ENRIQUE MORENO COLLAZOS**MAG, LILIANA CASTRILLÓN VILLADA***
BAC, ANGÉLICA PATIÑO****MAG, SANDRA FORERO RINCÓN*****BAC, ADRIANA ANGARITA-FONSECA*****MAG.

Recibido para publicación: 23-04-2014 - Versión corregida: 03-11-2014 - Aprobado para publicación: 04-11-2014

Resumen

Objetivo: Comparar por medio de dos metodologías diferentes el conteo residual de glóbulos blancos con el fin de brindar componentes sanguíneos más seguros. Los componentes sanguíneos obtenidos con aféresis ofrecen mayor seguridad a los pacientes en el momento de transfusión sanguínea; la verificación de la leucorreducción es un proceso de calidad diferenciador. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio de corte transversal descriptivo en la Fundación Hematológica Colombia. Bogotá. Se realizó un muestreo aleatorio simple a partir del listado de unidades ingresadas en una colecta de sangre con el fin de realizar la verificación del recuento de glóbulos blancos residuales por cámara de Nageotte® y Cell Dyn Ruby®. Para el análisis de los datos se aplicaron medidas de tendencia central y de dispersión para las variables cuantitativas, (IC 95%) y correlación de Spearman para el análisis de procedimientos satisfactorios (Prueba T); el análisis de los datos se realizó en el programa SPSS® de IBM Versión 19. **Resultados:** La población de estudio estuvo conformada por 124 muestras de plaquetas obtenidas por aféresis. En relación al recuento de células las dos metodologías presentaron un promedio de 0,057 vs 0,003 células contadas; el valor máximo para las dos metodologías fue de 0,34 – 0,44. **Conclusiones:** Las muestras analizadas presentaron recuentos residuales de Glóbulos Blancos por debajo de $5,0 \times 10^6$ valor estimado para definir la unidad como leucorreducida, con este hallazgo se pone en evidencia la seguridad de la transfusión de plaquetas obtenidas por aféresis en aspectos relacionados con reacciones a la transfusión por leucocitos residuales, adicionalmente se podría utilizar plaquetas con seguridad dejando en consideración el uso de filtros para leucorreducción.

Palabras Clave: Sangre, bancos de sangre, control de calidad, recuento de leucocitos.

Archivos de Medicina (Manizales), Volumen 14 N° 2, Julio-Diciembre 2014, ISSN versión impresa 1657-320X, ISSN versión en línea 2339-3874. Cruz Bermúdez, H.; Moreno Collazos, J.E.; Castrillón Villada, L.; Patiño, A.; Forero Rincón, S.; Angarita-Fonseca, A.

* Doctor en Ciencias de la Salud, Director de Investigación, Fundación Hematológica Colombia, haroldcruzcx@gmail.com

** Docente, Universidad de La Sabana. jorge.moreno2@unisabana.edu.co

*** Bacterióloga, Fundación Hematológica Colombia. lcastrillon@fuhenco.org.co

**** Master en terapia celular y banco de sangre, Fundación Hematológica Colombia. apatino@fuhenco.org.co

***** Bacterióloga, Fundación Hematológica Colombia. sforero@fuhenco.org.co

***** Epidemióloga, Universidad de Santander. adriangarita@udes.edu.co

Cruz-Bermúdez H, Moreno-Collazos JE, Castrillón-Villada L, Patiño A, Forero-Rincón S, Aangarita-Fonseca A. Control de calidad de la leucorreducción de plaquetas obtenidas por aféresis por medio de cámara de Nageotte y CELL-DYN Ruby. Arch Med (Manizales) 2014; 14(2):268-75.

QUALITY CONTROL OF THE LEUCORREDUCIÓN OF PLATELETS OBTAINED BY APHERESIS THROUGH NAGEOTTE CHAMBER AND CELL-DIN RUBY

Summary

Objective: compare using two different methodologies residual white blood cell count in order to provide safer blood components. The blood components obtained from apheresis offer greater safety to patients at the time of blood transfusion; verifying leukoreduction differentiator **Material and Methods:** A descriptive study was performed cross-sectional in Colombia Hematológica Foundation. Bogotá. Simple random sampling was performed from the list entered in a blood drive for the purpose of verification of residual white blood cell count by Nageotte chamber and Cell Dyn Ruby © © units. For the analysis of the data measures of central tendency and dispersion for quantitative variables were applied (95%) and Spearman correlation analysis for satisfactory procedures (t-test); Data analysis was performed on SPSS Version IBM © program 19. **Results:** The study population consisted of 124 samples of platelets obtained by apheresis. In relation to cell count for the two methodologies presented an average of 0,057 vs 0,003 cells counted; the maximum value for the two methods was 0.34 to 0.44. **Conclusions:** The samples analyzed presented residual white blood cell counts below 5.0×10^6 estimated to set the drive as leukoreduced with this finding value puts safety of transfused platelets obtained by apheresis aspects reactions to evidence transfusion rWBC additionally could be used safely leaving platelets into consideration the use of filters to leucorreducción.

Keywords: Blood, blood banks, quality control, leukocyte count.

Introducción

En la actualidad los bancos de sangre cuentan con dos técnicas para la extracción de concentrados de plaquetas. El primer concentrado se denomina estándar, estos son preparados a partir de la donación de sangre total, los cuales se obtienen luego de recuperar con la primera centrifugación el Buffycoat que es sometido nuevamente a centrifugación obteniendo el concentrado de plaquetas¹. Este concentrado de plaquetas estándar tiene un volumen aproxi-

mado de 50-70 mililitros [ml] y contiene una concentración aproximada de $5,5 \times 10^{10}$ células plaquetarias, entre otras variables contempladas en la obtención por esta metodología, incluye valores de pH plasmático obteniendo unidades libres de leucocitos entre un 80 y un 95%.²

La segunda metodología para la obtención de concentrados plaquetarios se hace por el método de aféresis. Los concentrados son preparados a partir de un único donante utilizando un separador celular automatizado. Este

concentrado de plaquetas por aféresis tiene un volumen aproximado de 180 – 240 ml y contiene al menos $3,0 \times 10^{11}$ células plaquetarias en el 90% de las unidades realizadas por esta tecnología, pH plasmático y unidades libres de leucocitos entre un 80 y un 95%.²

La presencia de leucocitos en general en los componentes sanguíneos es responsable de reacciones adversas post - transfusionales; por tal razón es importante buscar estrategias que permitan eliminar estos residuos celulares utilizando diferentes tipos de tecnologías y llegar a disminuirlos hasta en un 99,99%.³

La leucorreducción se puede realizar en el banco de sangre en dos periodos de tiempo; el primero denominado pre - almacenamiento y el segundo pos - almacenamiento, este último debe realizarse en un tiempo máximo de 72 horas posterior a la extracción del componente sanguíneo o se puede realizar al momento de la transfusión por medio de la colocación de filtros por parte del personal sanitario que va a realizar la transfusión de plaquetas; esta última con mayores probabilidades de error durante el procedimiento.⁴ Los componentes sanguíneos obtenidos por aféresis se consideran concentrados celulares leucorreducidos teniendo en cuenta que en recuentos celulares posteriores se encuentran bajas concentraciones de células leucocitarias.⁵ La definición de leucorreducción está dada por la disminución de recuentos residuales de leucocitos a valores menores a $5,0 \times 10^6$ células.⁶

En el reino unido desde 1993, se ha documentado la importancia frente a la disminución de recuentos residuales de leucocitos en los componentes sanguíneos y se comenzaron a planear estrategias con el fin de mejorar la seguridad de la transfusión sanguínea teniendo en cuenta que en 1998 posterior a la epidemia de las vacas locas se comenzó a utilizar la leucorreducción universal como una medida de contención y propagación de la infección. Posterior a esto; varios países han introducido esta política por otras motivaciones

en donde principalmente se describe el riesgo de transmisión de Citomegalovirus ya que este se encuentra dentro de los glóbulos blancos.³

El banco de sangre Fundación Hematológica Colombia realiza procedimientos para la extracción de plaquetas por aféresis en separadores celulares [Equipo AMICUS Fenwal®]; cada uno de los componentes plaquetarios dentro del proceso de verificación de calidad es sometido a un conteo de glóbulos blancos mediante una metodología automatizada [Cell dyn ruby]; esta verificación del conteo residual de glóbulos blancos es denominada como unidades plaquetaria pobre en leucocitos y de esta manera son etiquetadas para su distribución a las entidades hospitalarias; por tal razón el objetivo de este trabajo fue realizar la verificación del conteo residual de glóbulos blancos por otra metodología con el fin de validar los componentes como leucorreducidos teniendo en cuenta la definición de la American Association of Blood Banks AABB.⁷

Materiales y métodos

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal en la Fundación Hematológica Colombia, Bogotá. Para la selección de la muestra se realizó un muestreo aleatorio simple (M.A.S) con una muestra inicial de 212 unidades de plaquetas, se procedió a partir de una lista de muestras [unidades de plaquetas procesadas] y se les asignó un número aleatorio con un probabilidad igual de selección obteniendo al final una muestra de 124 unidades con una confianza del 95%, y un poder de 80%; con el fin de verificar la calidad del procesamiento de las unidades y realizar la validación de la plataforma AMICUS®, se tomaron adicionalmente 20 unidades con el fin de realizar la validación interna de cada una de las plataformas y se tuvieron en cuenta los siguientes aspectos: 1. Preconteo de plaquetas, 2. Sangre a procesar, 3. Rendimiento deseado, 4. Rendimiento obtenido, 5. Rendimiento obtenido/rendimiento deseado, 6. Recuento de glóbulos blancos, Cultivos microbiológicos.

Esta validación se realiza según recomendación de la AABB⁷ bajo una estandarización de un tamaño mínimo de muestras a procesar y un número de fallas permitidas para cumplir con requerimientos para validación de los productos y control de calidad como se muestra en la **Tabla 1** y donde se tomó como referencia las recomendaciones de la guía "Guidance for Industry and FDA ReviewStaff[®]"⁸ para la estimación del tamaño muestral para el análisis de leucorreducción y criterios de validación para los componentes plaquetarios obtenidos por aféresis; este conteo residual debe ser $< 5,0 \times 10^6$ células. Con la muestra inicial por MAS se seleccionó una muestra de procedimientos de Plaquetas obtenidas por aféresis en la plataforma AMICUS[®] como lo muestra la **Figura 1**, previamente validada según recomendaciones del fabricante. Los procedimientos fueron realizados por personal previamente capacitado con el fin de evitar sesgos de información al momento de realizar la medición y obtención de los datos.

Los conteos residuales fueron realizados por un profesional de bacteriología previamente capacitado en la lectura e interpretación de resultados.

Tabla 1. Criterios de validación para los componentes plaquetarios obtenidos por aféresis.				
Producto	Requerimiento	n	n fallas	% Nivel de confianza
Aféresis de plaquetas	Por lo menos 90% de unidades controladas contienen $> 3 \times 10^{11}$ plaquetas.	10	0	65
	pH: 6.2 al final del almacenamiento preventivo	10	1	26

Verificación de recuento de glóbulos blancos

La verificación del recuento de glóbulos blancos se realizó por medio de dos metodologías:

se utilizó una cámara microscópica de alto volumen [cámara de Nageotte] como muestra la **Figura 2** de la empresa Marienfeldy[®] y por otra parte un conteo automatizado en el equipo [Cell dyn Ruby[®]] Ruby software 2.0[©] serie 35385B6 de la empresa Abbott[©].



Figura 1. Plataforma AMICUS[®], unidad de obtención de componentes sanguíneos, Fundación Hematológica Colombia. Bogotá.

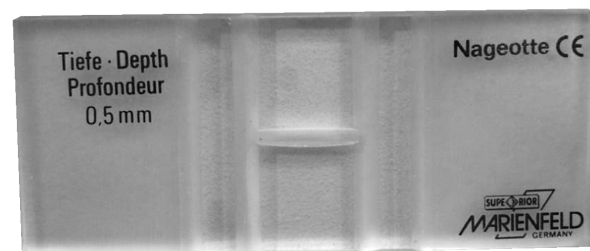


Figura 2. Cámara de Nageotte, laboratorio de Inmunohematología Fundación Hematológica Colombia. Bogotá.

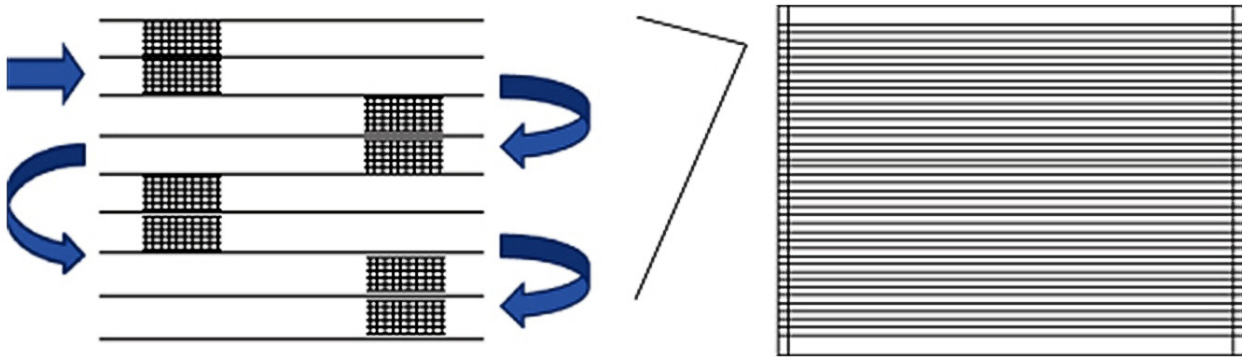


Figura 3. Lectura de leucocitos en el procedimiento Cámara de Nageotte (7).

Procedimiento Cámara de Nageotte: Para realizar el conteo por cámara de nageotte de cada uno de los procedimientos, se utilizó un tubo plástico el cual fue rotulado con el número de pre donante (procedimiento) 24 horas posterior a la recolección de la unidad plaquetaria, se agregó 900µL de solución de turk [ácido acético 30 ml – agua desmineralizada 1000ml] posterior a la cual se realizó dilución 1:10 de la muestra y se agregó 100 µL de cada muestra en el tubo rotulado. Se mezcló la muestra diluida y se dejó reposar por 10 minutos para lizar los eritrocitos. Se tomó 600 µL de muestra, se colocó un cubreobjetos en la mitad de la cámara de Nageotte, y se dispensó la muestra por una orilla del cubre objeto/cámara hasta que llenó completamente. Se dejó reposar la cámara dentro de una caja de petrí durante 15 minutos para favorecer la sedimentación de los leucocitos y se contaron los leucocitos barriendo la superficie delineada de un lado a otro, como se muestra en la **Figura 3**.

Se contaron todos los leucocitos del área, incluyendo leucocitos que tocaran las líneas del borde, los leucocitos fueron contados en los 40 rectángulos de una de las cámaras [primer conteo], así mismo se realizó el conteo en la segunda área [recuento por duplicado].

Para calcular los leucocitos/µL se utilizó la fórmula: **Leucocitos/ µL:** células contadas * dilución/Volumen del conteo (µL). El volumen del conteo fue de 100 µL. Si no se visualizan

células en cualquiera de las cámaras de conteo, los leucocitos residuales se calculan como 0.1 (sensibilidad del método).

Procedimiento cell dyn Ruby: Este equipo es un analizador hematológico multiparamétrico automatizado **Figura 4**, diseñado para el diagnóstico in vitro en los laboratorios clínicos, se caracteriza por ser un instrumento totalmente óptico; utiliza la tecnología MAPSS™ para el recuento y diferenciación celular, cuenta con un conjunto óptico que contiene los componentes que conforman el citómetro de flujo. El objetivo fundamental del conjunto óptico es detectar el esparsamiento de luz a causa de las células a su paso por la celda de flujo. Para el caso de linfocitos el analizador examina el área bajo la nube linfocitaria y por encima del umbral. Toda partícula comprendida en esta zona es



Figura 4. Equipo CELL-Dyn Ruby software 2.0, laboratorio de Inmunohematología Fundación Hematológica Colombia. Bogotá.

separada de los linfocitos mediante un umbral dinámico. Todas las partículas de esta región quedan excluidas del recuento leucocitario y de la fórmula leucocitaria. Y además se genera un alarma que advierte al usuario sobre la presencia de estos elementos en la muestra.⁹

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se aplicaron medidas de tendencia central y de dispersión para las variables cuantitativas con intervalos de confianza al 95% y por último se realizó una correlación de Spearman para el análisis de procedimientos satisfactorios, y la significancia estadística por medio de una prueba T. Los datos fueron inicialmente digitados en el programa Excel Versión 2010 y el análisis de los mismos se realizó en el programa estadístico SPSS Versión 19.

Consideraciones éticas

El presente estudio de investigación tuvo en cuenta que los participantes diligenciarán el consentimiento informado, teniendo en cuenta la legislación existente para estos casos, a saber: Resolución 008430 de 1993 sobre normas científicas y técnicas de la investigación con seres humanos, la declaración de Helsinki

2013, la Ley 266 de 1994 y la Ley 528 de 1999. De acuerdo con lo establecido en la Resolución 008430 de 1993.

Resultados

La población de estudio estuvo conformada por 124 muestras de plaquetas obtenidas por aféresis, el promedio de sangre a procesar fue de $4723,11 \pm 756,64$ ml y la sangre procesada de $4788,67 \pm 805,94$ con poca dispersión entre los dos valores (CV=16,0 vs 16,8). En relación al recuento de células para las dos metodologías presentaron un promedio de 0,057 vs 0,003 células contadas. El valor máximo para las dos metodologías fue de 0,34 – 0,44 **Tabla 2**.

En la **Tabla 3** se presentan los resultados del análisis del procedimientos satisfactorios, se encontró una alta correlación para el procesamiento de la sangre y el rendimiento (0,82 - 0,950) datos estadísticamente significativos ($p=0,000$).

Discusión

Dentro del aseguramiento de la calidad de los componentes sanguíneos se pueden plantear diferentes metodologías para la detección del recuento residual de leucocitos en las plaquetas

Tabla 2. Estadísticas descriptiva de la muestra analizada (n=124) teniendo en cuenta parámetros de AABB

Variable	X $\pm$ D.E		IC 95%		Mín.	Máx.
Sangre a procesar	4723	756,64	4588,66	4857,66	3240	6930
Sangre procesada	4788,6	805,94	4579,40	4865,90	2622	6669
Rendimiento Deseado	7,15	1,26	6,90	7,30	5	9,6
Rendimiento Obtenido	7,09	1,29	6,80	7,30	3,33	9,99
Recuento G. Blancas (x106) *	0,05	0,05	0,040	0,060	0	0,34
Recuento C. Nageotte Leucocitos/ul	0,003	0,04	(-)0,00	0,010	0,1	0,44

X = Promedio Aritmético, D.E =Desviación estándar

Tabla 3. Análisis de procedimientos satisfactorios

Variable	n	Correlación	P*
Sangre a procesar / Sangre procesada	124	0,822	0,000
Rendimiento Deseado / Rendimiento Obtenido	124	0,950	0,000

Correlación de spearman, Prueba T*

obtenidas por aféresis. Por tal razón se realizó una verificación por método automatizado y conteo directo celular en este estudio, aunque hay autores que ya respaldan que solo con métodos automatizados se puede verificar el cumplimiento de la leucorreducción, es indispensable documentar el proceso.¹⁰

La leucorreducción de productos celulares se convierte hoy en un punto importante en la medicina transfusional, los bancos de sangre en la actualidad buscan estrategias de seguridad sanguínea con el fin de brindar productos cada vez más seguros al momento de la transfusión en los pacientes; dentro de la seguridad se tienen en cuenta varios aspectos como es el caso de la minimización de posibles riesgos de transmisión de patógenos y productos libres de leucocitos que hacen que la presentación de reacciones asociadas a la transfusión se minimice.⁵⁻¹⁰ En general la leucorreducción beneficia sustancialmente a aquellos pacientes que han requerido transfusiones previas, disminuye la inmunización por anticuerpos de los donantes y en general brinda seguridad al paciente.⁵

La lectura del número de glóbulos blancos fue menor a $5,0 \times 10^6$ células, parámetros establecidos por la AABB para definir una unidad de componentes sanguíneos como leucorreducida; en ninguna de las lecturas se presentaron errores de proceso o en la obtención de la muestra, de igual manera el procesamiento deseado tiene alta correlación con el esperado y obtenido.⁶⁻¹¹

El total de procedimientos realizados por el método automatizado fue satisfactorio; de igual manera el recuento por método manual por Cámara de Nageotte, situación que puede disminuir costos teniendo en cuenta que se puede verificar recuento de leucocitos con métodos automatizados con buena correlación entre los resultados disminuyendo costos en el procesamiento y certificación de unidades sanguíneas obtenidas por aféresis.¹²

Le leucorreducción dada por la plataforma AMICUS® se explica por el funcionamiento del equipo en el cual se evidencia el procedimiento

de centrifugación, metodología utilizada para la obtención de la plaquetas y al mismo tiempo la separación de la capa leuco-plaquetaria en la cual se ha reportado la importancia e influencia en la disminución de los leucocitos residuales por medio de metodologías automatizadas. Los reportes de conteos residuales se establecen por encima del 95% posterior a la obtención del componente sanguíneo.¹³

Por último los productos obtenidos por aféresis brindan recuentos de células blancas inferiores a los obtenidos por técnicas tradicionales, con la evolución de las técnicas de obtención y separación de componentes sanguíneos también se incursiona en productos sanguíneos cada vez más seguros.¹⁴ La aplicabilidad del presente estudio está orientada a optimizar la utilización de los componentes sanguíneos automatizados dentro de la práctica clínica articulada con aspectos de seguridad transfusional y seguridad del paciente.¹³⁻¹⁴

Ahora bien es importante indagar sobre la verdadera necesidad de la utilización de filtros de leucorreducción en este tipo de productos sanguíneos, de no ser así se impactaría positivamente en la minimización de los gastos y optimización de los recursos al momento de realizar transfusión de plaquetas.¹⁵

Se deja abierta la posibilidad de analizar por parte de los médicos tratantes los beneficios de la utilización de productos plaquetarios obtenidos por metodologías automatizadas ya que estos se orientan a una menor posibilidad de presentación de reacciones adversas a la transfusión.¹⁶⁻¹⁷

En relación a los avances en temas de control de infecciones posiblemente transmitidas por la sangre, encontramos que Francia e Inglaterra realizan procesos de certificación de plaquetas con niveles de leucocitos por debajo de 1×10^6 células residuales como una medida de seguridad transfusional y prevención de la aloinmunización¹⁸.

El estudio cuenta con limitación en relación a la estandarización del concepto en nuestro medio, consideramos que se debería replicar el

estudio con otros bancos de sangre buscando estandarizar el concepto de leucorreducción dada por las plataformas automatizadas.

Conflictos de interés: Los autores de la presente investigación declaran no tener conflictos de interés en representación de la Fundación Hematológica Colombia siguiendo

los estándares de investigación y éticos para la aplicación objeto del estudio.

Fuentes de financiación: igualmente los procedimientos fueron financiados por la institución prestadora de servicios para la consecución y logros de objetivos propuestos.

Literatura citada

1. Otter J, Cooper ES. **What do the accreditation organizations expect?** *American Association of Blood Banks. Arch Pathol Lab Med* 1999; 123(6):468-71.
2. Rivas J, Lopez E, Gastelúm C. **Controversias en la transfusión de plaquetas.** *Rev hematol Mex* 2011; 12(1):46-48.
3. Menitove JE. **Process control. Standard for blood banks and transfusion services.** 22nd ed. Bethesda: American Association of Blood Banks; 2003.
4. Thomas P. **Analytical Approaches to the Quality Assurance of Leukocyte-Reduced Blood Components.** *Clinical Immunology* 1997; 17(4):45-49.
5. Inaipil SV, Romero LD, Santiago SC, Ramos GA, Rangel RS, Paquini MM, et al. **Estudio comparativo de plaquetoféresis para evaluar la eficiencia en la cámara PLT-30 vs A-35 del separador celular CS 3000 plus.** Ciudad de México: Memorias de la Reunión Anual de Investigación del Hospital Infantil de México Federico Gómez; 2002.
6. Aguado MJ, Villegas R, Márquez S, Corbacho B, Navarro JA. **Leucorreducción universal de productos sanguíneos. Revisión sistemática de la literatura y evaluación económica.** Sevilla: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía; 2007.
7. Medicare, Medicaid, and CLIA Programs. **Continuing Approval of AABB (Formerly the American Association of Blood Banks as a CLIA Accreditation Organization.** Department of Health & Human Services (HHS) Documents / FIND. Atlanta: Centers for Medicare and Medicaid Services (CMS); 2008.
8. FDA. **Agency Information Collection Activities; Submission for Office of Management and Budget Review; Comment Request; Guidance on Medical Devices: The Pre-Submission Program and Meetings With FDA Staff.** Atlanta: Department of Health and Human Services Food and Drug Administration; 2013.
9. ICSH. **Guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leukocyte and reticulocyte counting and cell marker applications.** International Council for Standardization in Haematology: prepared by the ICSH Expert Panel on Cytometry. *Clin Lab Haematol.* 1994; 16: 157-74.
10. Crucian BE, Sams CF. **The use of a spaceflight-compatible device to perform WBC surface marker staining and whole-blood mitogenic activation for cytokine detection by flow cytometry.** *J Gravit Physiol.* 1999; 6(1):33-34.
11. Galel SA, Gaitan J, Yu DT, Tolentino L, Webster J, Sugawara E, et al. **Frequency and specificity of the Trima Accel "verify WBCs" advisory: considerations for product management.** *Transfusion* 2012; 52(5):995-1002.
12. Ali SF. **Platelet activation of platelet concentrates derived from buffy coat and apheresis methods.** *Transfus Apher Sci* 2011; 44(1):11-3.
13. Fischer JC, Quenzel EM, Moog R, Wenzel F, Riethmacher R, Tutschek B, Giers G. **Reducing costs in flow-cytometric counting of residual white blood cells in blood products: utilization of a single-platform bead-free flow-rate calibration method.** *Transfusion* 2011; 51(7):1431-8.
14. Young J. **Component Preparation.** In: Rudmann S. *Textbook of blood banking and transfusion medicine.* Philadelphia: WB Saunders Company; 1994.
15. Stegmayr B, Ptak J, Wikström B et al. **World apheresis registry 2003-2007 data.** *Transfus Apher Sci* 2008; 39(3):247-254.
16. Mathes GA. **Options and cost effectiveness of multicomponents blood collection.** *Transfusion Apher Science* 2002; 115-121.
17. Osta V, Segura C, Tissera G, Ayuso C. **Estudio de eficiencia y sensibilidad de alarmas de dos analizadores hematológicos en un hospital pediátrico.** *Acta Bioquím Clin Latinoam* 2014; 48(1):71-9.
18. Saarinen UM, Kekomäki R, Siimes MA, Myllylä G. **Effective prophylaxis against platelet refractoriness in multitransfused patients by use of leukocyte free blood components.** *Blood* 1990; 75:512-517.

