

¿Cómo Disminuir las Transfusiones Homólogas ? Estudio retrospectivo.

E. Herrera, D. Schwander

RESUMEN

A pesar de todos las pruebas actualmente a disposición, los riesgos de la transfusión de sangre homóloga son considerables (particularmente las infecciones virales y los problemas inmunológicos). Los objetivos de este estudio retrospectivo son: demostrar la cantidad realmente necesaria de transfusiones de sangre homóloga durante las operaciones de cirugía electiva y urgente y por otro lado analizar desde el punto de vista económico, las técnicas de autotransfusión que hubieran podido ser utilizadas. Se ha tomado como espécimen un hospital general y se ha analizado todos los protocolos de anestesia de 1992. Se practicaron 5842 anestesiaciones en donde 343 casos (5.87 %) recibieron sangre homóloga. El análisis de resultados demuestra que la predonación disminuye únicamente los riesgos. Por otro lado, la hemodilución activa o intencional y la recuperación sanguínea intraoperatoria disminuye no solamente los riesgos sino también los costos.

Palabras Clave: Sangre, transfusiones, hemodilución.

SUMMARY

HOW TO REDUCE THE HOMOLOGOUS TRANSFUSIONS ? A RETROSPECTIVE EVALUATION

Despite extensive testing, blood transfusions still involve a risk of transmitting diseases (specially viral infections and immunologic problems). The aims of this retrospective evaluation were: to show the real needs of homologous blood and to analyze if the current autotransfusion technics would be justified. We have ana-

lyze all the anesthetic records of 1992. We have recorded 5842 anesthetics where 343 patients (5.87%) have been transfused with homologous blood. The results analyses show that the predonation reduce only the risks but not the costs. The active normovolemic hemodilution reduces both the risks and the costs. The conclusion of this paper is that we could do better use of money and we should offer to our patients this technologic development.

Key Words: Blood, hemodilution, transfusions.

Actualmente, no solamente el personal médico, sino también el público en general han tomado conciencia de los riesgos y peligros de la transfusión homóloga.¹⁻³ Durante los últimos años se han desarrollado varias técnicas para disminuir el uso de sangre homóloga.

En 1991 Alemania tomó disposiciones jurídicas sumamente estrictas respecto a la transfusión homóloga y a la autotransfusión.⁴⁻⁶ En 1992 Francia vivió el escándalo de los pacientes hemofílicos contaminados con el virus HIV y en 1993 el mismo problema se presentó en Alemania y en Suiza pero en menor escala.

La lista de complicaciones después de una transfusión de productos sanguíneos es larga (Cuadro I).⁷⁻¹⁰ Las complicaciones principales son las infecciones bacterianas y virales (Hepatitis B, C, no A, no B, citomegalovirus, síndrome de inmunodeficiencia adquirida HIV y otros virus del mismo grupo), alo-inmunización y reacciones inmunológicas (hemolíticas y no hemolíticas). También pueden presentarse reacciones metabólicas.

Servicio de Anestesiología y Reanimación Hospital Cantonal de Fribourg, Suiza. Correspondencia: E. Herrera. Subjefe del Servicio de Anestesiología y Reanimación. Hôpital Cantonal de Fribourg, 1708 Fribourg, Suiza.

Cuadro I Complicaciones de las Transfusiones

Complicaciones no inmunológicas	Infecciosas: virales (hepatitis B, C, non A, non B HIV) Bacterianas y parasitarias Metabólicas
Complicaciones inmunológicas	Alo - inmunización Reacciones hemolíticas Reacciones no hemolíticas Inmunosupresión: tolerancia de los injertos; susceptibilidad aumentada a la infección; recurrencia del cáncer

La inmunosupresión inducida por las transfusiones fue descrita la primera vez en los pacientes que habían recibido un trasplante renal. Aquellos pacientes que habían recibido transfusiones sanguíneas presentaban menos rechazo.¹¹ Posteriormente, varios trabajos demostraron que las infecciones postoperatorias eran más frecuentes en aquellos pacientes que habían recibido transfusiones sanguíneas que en los que no habían recibido.^{7,12,13} Algunos estudios recientes sugieren que la diseminación de algunos cánceres es más frecuente y más rápida en aquellos pacientes que han sido transfundidos durante la intervención,^{11,14,15} así como las anastomosis intestinales cicatrizan menos bien en aquellos pacientes que recibieron transfusiones.¹⁶

Actualmente, las indicaciones a la transfusión de productos sanguíneos (concentrado eritrocitario, plasma fresco congelado y plasma rico en plaquetas), están bien

Cuadro II Indicaciones Para la Transfusión Intra-operatoria de Concentrados Eritrocitarios (National Institutes of Health, 1988)

- 1.- La transfusión intraoperatoria de concentrados eritrocitarios lleva consigo un riesgo bien conocido de transmisión de enfermedades infecciosas y de reacciones inmunológicas, por lo cual, la transfusión de sangre homóloga debe limitarse al mínimo necesario
- 2.- No existe ninguna evidencia de que la anemia moderada aumente la morbilidad peri-operatoria
- 3.- Actualmente existen múltiples alternativas para evitar la transfusión de sangre homóloga
- 4.- No existe un solo criterio para indicar la transfusión sanguínea (por ejemplo < 10 gr/dl). Nada puede reemplazar el juicio clínico para decidir una transfusión sanguínea en el periodo peri-operatorio

establecidas (cuadros II, III, IV) (Consensus Conference, 1985, 1988)^{17,18}

Por otra parte, existen múltiples técnicas a disposición para disminuir el uso de productos sanguíneos homólogos¹⁹⁻²⁴ (Cuadro V)

En esta época de recesión económica, para poder obtener cierta tecnología avanzada hay que justificar ante la Administración y evaluar el costo-beneficio de tales técnicas. Los objetivos de este estudio retrospectivo han sido: primero, calcular las necesidades reales de transfusiones homóloga únicamente en el periodo intra-operatorio de operaciones electivas y urgentes y segundo, analizar desde el punto de vista económico si en un hospital general de 500 camas, la aplicación de las técnicas de autotransfusión eran justificables,⁵ y de esta forma, poder transpolar los resultados a otros hospitales.

MATERIAL Y METODOS

Se analizaron los protocolos de anestesia de 1992. Se practicaron 5842 anestесias en donde 343 casos (5.87%) recibieron transfusiones de sangre homóloga: 205 casos (59.77 %) de cirugía electiva y 138 casos (40.23 %) de cirugía urgente.

Hay que mencionar que 90 de los casos transfundidos (26.23 %) pertenecían a la cirugía oncológica en donde los métodos de recuperación sanguínea intra-operatoria están, para algunos, contraindicados.²⁵⁻²⁶

Cuadro III Indicaciones Para la Transfusión de Plasma Fresco Congelado (National Institute of Health, 1984)

- 1.- No se justifica en caso de:
Hipovolemia
Transfusión Masiva
- 2.- Indicaciones clínicas:
Sustitución de factores de la coagulación en caso de deficiencias aisladas
Para contrarrestar efectos de la warfarina
En caso de transfusión masiva si:
pérdida masiva ≥ 1 x el volumen circulante en unas cuantas horas
deficiencia de factores de la coagulación confirmada por el laboratorio
sangrado anormal
Deficiencia de Anti-Trombina
Tratamiento de Inmunodeficiencias
Tratamiento de la Púrpura Trombocitopénica Trombótica

Cuadro IV

Indicaciones Para la Transfusión de Plasma Rico en Plaquetas

(National Institute of Health, 1984)

- 1.- En caso de Hemorragia activa si:
Trombocitopenia $< 50,000/\text{mm}^3$
Función plaquetaria anormal
Tiempo de sangrado $\geq 2 \times$ el límite superior
- 2.- Profiláctica
Trombocitopenia $\leq 20,000/\text{mm}^3$
Preoperatoria
Trombocitopenia $\leq 50,000/\text{mm}^3$
Función plaquetaria anormal
Tiempo de sangrado prolongado
- 3.- Transfusión Masiva
Trombocitopenia $\leq 50,000/\text{mm}^3$ y/o
Sangrado anormal
- 4.- Cirugía Cardíaca
Trombocitopenia $\leq 50,000/\text{mm}^3$ o
Función plaquetaria anormal
Solamente si el sangrado es anormal

El cuadro VII muestra la repartición por especialidades. Hay que mencionar que los casos de cirugía cardíaca han sido excluidos ya que está perfectamente comprobado que en este tipo de cirugía todos los métodos para disminuir las transfusiones de productos sanguíneos homólogos son practicables y rentables.

RESULTADOS

Tomando en cuenta las recomendaciones actuales respecto a la predonación,^{19,21} se calculó el número de pa-

Cuadro V

Técnicas Para Disminuir la Transfusión Homóloga

Preoperatorio:	predonación
Intra operatorio:	Hemodilución Normovolémica (pasiva, activa o intencional)
	Recuperación Intraoperatoria: sistema sencillo (Solcotrans); sistema de eritrocitos lavados (Cell Saver)
	Técnica Anestésica: hipotensión controlada, posición del paciente durante la operación, anestesia regional
	Medicamentos Hemostáticos: aprotinina, desmopresina
Postoperatorio:	Recuperación sanguínea de los drenajes

cientes que hubieran podido practicar la predonación preoperatoria según la edad, la hemoglobina preoperatoria pero sin tomar en cuenta el estado cardiopulmonar de los pacientes ya que se trata de un estudio retrospectivo.

De 343 casos, 136 pacientes (40%) hubieran podido practicar la predonación. Por supuesto hubo algunos pacientes que la practicaron.

Hay que mencionar que la predonación no es un método necesariamente más económico, puesto que hay que contar aproximadamente \$ 175 Dlls por cada unidad de sangre prelavada y que este precio se factura si se utiliza o no la unidad de sangre. Este precio incluye todos las pruebas requeridas, infraestructura y almacenamiento. Hay que mencionar que en Suiza por tradición, toda la sangre es donada y es la Cruz Roja Suiza quien monopoliza el manejo de todos los productos sanguíneos, siendo una organización privada, ésta presta sus servicios vendiendo sus productos a todos los hospitales tanto privados como del estado o públicos.

Con la predonación se pueden obtener 4 a 5 unidades de sangre autóloga, la última unidad debe extraerse por lo menos 3 días antes de la cirugía programada. No hay que olvidar que el reemplazo de Hierro es necesario. En ciertas ocasiones, se puede administrar la eritropoyetina que estimula la eritropoyesis medular.^{27,28} Bajo este tratamiento es posible extraer mayor cantidad de sangre autóloga.^{27,29} La mayor ventaja de la predonación es la disminución del riesgo de las transfusiones.

Respecto a la hemodilución normovolémica, se puede dividir en dos: 1) La hemodilución normovolémica pasiva. Método ampliamente utilizado por los anestesiólogos y es lo que explica el porqué únicamente el 5.87% de nuestros pacientes fueron transfundidos. Habitualmente, la pér-

Cuadro VI

Número de Casos de Cirugía Electiva y de Urgencia

Número total de anestias	5,842	100 %
Número de casos transfundidos	343	5.87 %
Número de casos electivos transfundidos	205	59.77%
Número de casos urgentes transfundidos	138	40.23 %

Cuadro VII
Número de Casos Según la Especialidad

Total de casos	343	100 %
Ortopedia y traumatología	165	48.10
Cirugía general (torácica y visceral)	90	26.24
Cirugía vascular	37	10.79
Ginecología y obstetricia	22	6.42
Otorrinolaringología	14	4.08
Cirugía urológica	12	3.51
Neurocirugía	1	0.29
Cirugía plástica y reconstructiva	1	0.29
Medicina interna	1	0.29

didada sanguínea es reemplazada con soluciones cristaloides (Ringer-lactado) o con soluciones coloidales (HAES-steril 6%) hasta obtener un hematrocito de 18 a 30 % según el caso y posteriormente se transfunden concentrados eritrocitarios.^{19,23,30} 2) La hemodilución normovolémica activa o intencional. Después de la inducción de la anestesia se extrae un volumen predeterminado de sangre el cual se substituye con soluciones coloidales (HAES 6 %). La o las unidades de sangre obtenidas contienen un hematrocito elevado y son re-transfundidas al final de la operación. Este método permite economizar entre 15 a 40 % de transfusiones homólogas. Evidentemente existen ciertas contraindicaciones a practicar este método como por ejemplo la presencia de una anemia preexistente, o una insuficiencia cardiaca o respiratoria grave. En el paciente coronario se debe evitar un hematrocito menor de 30 %.^{19,30}

En nuestro estudio retrospectivo, encontramos que en 162 pacientes (47 %) se pudo haber practicado la hemodilución intencional. Este método tiene la ventaja de ser sencillo, rápido, practicable en la mayoría de los casos y sin intermediarios, además el riesgo de cometer un error humano es mínimo.

En el presente estudio se pudo calcular aproximadamente el ahorro que se hubiera podido realizar si se hubiese extraído una sola unidad de sangre autóloga en los 162 pacientes (47%) tomando en cuenta el precio de sangre homóloga incluyendo todos los tests requeridos actualmente y si el pedido era urgente o no. Como se mencionó anteriormente, el precio unitario es de \$ 175 Dlls. El ahorro

Cuadro VIII
Ventajas y Desventajas del Cell Saver

Ventajas:

Hematocrito elevado (50 - 65%)
Contenido elevado de 2,3,DPG
No hay transmisión de enfermedades
No hay riesgo de reacciones a la transfusión
Filtra la hemoglobina libre, los factores de coagulación activados, los restos celulares y el anticoagulante.
No hay aloinmunización
Rápida recuperación

Desventajas:

No recupera los factores de coagulación
No recupera plaquetas
Rentable a partir de 1,500 ml de pérdidas sanguíneas
Indicación discutible en cirugía oncológica
Costo de la máquina y gastos en personal

aproximado utilizando esta técnica hubiera sido de alrededor de \$ 29,000.00 Dlls.

El tercer método para disminuir la transfusión de sangre homóloga es la recuperación sanguínea transoperatoria con un sistema sencillo como por ejemplo el Solcotrans o un sistema sofisticado como Cell-Saver 4.^{19,22,23}

Para evaluar el número de casos que hubieran podido beneficiar de una recuperación sanguínea con un sistema sencillo (Solcotrans) se tomaron en cuenta los pacientes que habían recibido una o dos unidades de sangre en el trans-operatorio (88 casos recibieron 2 unidades y 14 casos una sola unidad, total 102 casos 29 %). Se excluyeron todos los casos de cirugía oncológica y cirugía séptica.

Se calculó el precio aproximado del sistema Solcotrans, el cual es de \$ 135 Dlls para la primera unidad y de \$ 90 Dlls a partir de la segunda unidad. Si se hubiera utilizado este sistema, el gasto total habría sido de aproximadamente \$ 21,000 Dlls. Por otro lado, estos 102 pacientes recibieron un total de 190 unidades de sangre homóloga a \$ 175 Dlls la unidad, hace un total de alrededor de \$ 33,000 Dlls, es decir que se hubieran podido ahorrar \$ 12,000 Dlls.

Con el sistema sencillo de recuperación sanguínea (Solcotrans) se puede recuperar la sangre durante el trans y postoperatorio, aunque hay que tomar en cuenta que la cantidad y la calidad de la sangre recuperada está limitada. Por otra parte, se puede utilizar una máquina sofisticada (por ejemplo, el Cell Saver 4) para recuperar la sangre en el transoperatorio y con la que se obtienen concentrados de eritrocitos lavados (hematrocitos de 50 a 65 %). Las ventajas de este método se muestran en el cuadro VIII.

Cuadro IX
Número de Casos en el que se Hubiera Podido Utilizar un Cell Saver

Cirugía Programada	63
Cirugía de Urgencia	82
Cirugía Oncológica	47
Total	192 = 55.97%

En este estudio, se calculó el número de casos en los que hubiera podido utilizar el Cell Saver, incluyendo los casos que recibieron 3 o más unidades de sangre homóloga, e incluyendo los casos de cirugía oncológica (Cuadro IX). Actualmente varios grupos practican la autotransfusión de tales casos. Evidentemente, nuestros resultados son relativos puesto que no toda la sangre es recuperable y los casos de cirugía oncológica quedan bajo reserva.

El precio actual de un Cell Saver es de \$ 40,000 Dlls y el set para cada caso es de \$ 185 Dlls. Es difícil calcular con exactitud cuanta sangre homóloga se hubiera podido economizar, pero si se toma en cuenta un promedio de 3 unidades de sangre por caso (en realidad, el promedio fue de 5 unidades por paciente) se pudo haber ahorrado alrededor de \$ 100,000 Dlls. Por otro lado hay que contar con los gastos inevitables como son: sets individuales para cada caso 35,000 Dlls, el Cell Saver, es decir, servicio y amortización alrededor de \$ 17,000 Dlls y el personal de anestesia suplementario \$ 25,000 Dlls. De esta forma se pudo haber economizado alrededor de \$ 20,000 a 25,00 Dlls.

De hecho, el ahorro más importante que se puede hacer es en todos los casos que se practica el grupo sanguíneo inútilmente y en la cantidad de unidades de sangre que se piden para operaciones electivas en las que muchas de ellas no se transfunde sangre homóloga y que por otro lado si se practicaran todas las técnicas de autotransfusión anteriormente mencionadas, el ahorro sería mucho más importante.

Por otra parte, la tecnología ha evolucionado en forma increíble. Además del Cell Saver, hay máquinas para plasmaféresis, tromboféresis y eritroféresis para utilizar en el preoperatorio. Con todos estos métodos de autotransfusión, se puede evitar hasta el 80 % la transfusión sanguínea homóloga.

Existen otros medios para disminuir las transfusiones homólogas por ejemplo: a) la técnica anestésica: la anestesia balanceada con discreta hiperventilación o la hipoten-

sión controlada puede disminuir las pérdidas sanguíneas. La anestesia loco regional (anestesia epidural y subaracnoidea disminuyen las pérdidas sanguíneas, principalmente en la cirugía de la cadera y de la rodilla); b) la utilización de sustancias hemostáticas como la desmopresina y la aprotinina. La aprotinina ha sido ampliamente estudiada y utilizada en cirugía cardíaca y aparentemente disminuye en forma significativa las pérdidas sanguíneas principalmente en los casos de una reoperación; c) la recuperación sanguínea postoperatoria de drenajes en cirugía cardíaca y ortopédica.

CONCLUSIONES

Todo programa de autotransfusión es multidisciplinario (médico general, cirujano, anestesiólogo, centro de transfusión).

Los riesgos de la transfusión homóloga son considerables (particularmente las infecciones virales y las reacciones inmunológicas).

Las indicaciones a la transfusión de concentrados eritrocitarios, de plasma fresco congelado, y de plasma rico en plaquetas están actualmente bien establecidas.

Actualmente disponemos de múltiples técnicas para disminuir la utilización de sangre homóloga. Desde el punto de vista económico, estas técnicas se acompañan de un ahorro considerable en este periodo de recesión.

Gracias al desarrollo tecnológico y aplicando todos los métodos de autotransfusión anteriormente mencionados, podemos disminuir el consumo de sangre homóloga hasta el 80 %.

Analizando los resultados de este estudio retrospectivo, podemos afirmar que la Administración Hospitalaria debería repartir mejor sus fuentes económicas.

Todo hospital de cierta importancia debe de incluir todas las técnicas de autotransfusión mencionadas a los pacientes por su seguridad y si se trata de un centro de formación en anestesiología-reanimación debe de ofrecer este aprendizaje a todo su personal.

Si se hubieran aplicado mejor las técnicas de autotransfusión, por un lado se hubieran podido disminuir los gastos y por otro lado, los pacientes hubieran corrido un menor riesgo de las transfusiones homólogas.

REFERENCIAS

- 1.-Englehardt S. Soyez votre propre donneur. *Reader's Digest*: 1990; juin: 50-55.
- 2.-Pekkanen J. How safe is our blood supply? *Reader's Digest*: 1988; june: 37-44.
- 3.-Consumer Reports. Is the blood supply safe. 1987; 596-598.
- 4.-Martin E. Autologue Bluttransfusion. Juristische und Medizinische Aspekte. *Kaden Verlag* 1992
- 5.-List WF, Gombotz H. Blutsparmassnahmen im Rahmen operativer Eingriffe. *Verlag Wilhelm Mandrich. Beiträge zur Anaesthesiologie, Intensiv-und Notfallmedizin*, 1991
- 6.-Biermann E. Forensische Gesichtspunkte der Bluttransfusion. *Anaesthesist* 1993; 42: 187-202.
- 7.-Jensen LS. Postoperative infection and natural killer cell function following blood transfusion in patients undergoing elective colorectal surgery. *Br J Surg*. 1992; 79: 513-516.
- 8.-Faust RJ, Warner MA. Transfusion risk. *International Anesthesiology Clinics* 1990; 28: 184-189.
- 9.-Janot C, Streiff F. Reconsidération du risque de transmission de maladies infectieuses par la transfusion sanguine. *Ann Fr Anesth Réanim*. 1989; 8: 199-203.
- 10.-Carson JL, Russe LB, Taragin MI, Sonnenberg FA, Duff AE, Bauer S: The risk of blood transfusion: The relative influence of acquired immunodeficiency syndrome and non A, non B hepatitis. *Am J Med* 1992; 92: 45-52.
- 11.-George CD, Morello PJ. Immunology effects of blood transfusion upon renal transplantation, tumor operations and bacterial infections. *Am J Surg* 1986; 152: 329-337.
- 12.-Blumberg N, Triulzi DJ, Heal JM. Transfusion-induced immunomodulation and its clinical consequences. *Transfusion Medicine Reviews*, 1990; 4 (4): 24-35.
- 13.-Triulzi DJ. A clinical and immunologic study of blood transfusion and postoperative bacterial infection in spinal surgery. *Transfusion*. 1992; 32(6): 517-524.
- 14.-Heiss MM. Vorläufige Ergebnisse in der Vergleichsstudie von autologer und homologer Bluttransfusion in der kolorektalen Chirurgie. *Hämatologie München, Sympomed*. 1992 (1): 122-128.
- 15.-Waymarck JP, Moomaw CH. The effect of perioperative blood transfusions on long-term survival of colon cancer patients. *Milit Med* 1989; (10): 515- 517.
- 16.-Tadros T, Wobbes TH, Hendriks TH. Effect of blood transfusion on experimental intestinal anastomoses. *Abstracts. 17th European Federation Congress International College of Surgeons* 1991; june: 23-26.
- 17.-Consensus Conference. Fresh-frozen plasma, indications and risk. *JAMA* 1985; 253: 551-553.
- 18.-Consensus Conference. Perioperative red blood cell transfusion. *JAMA* 1988; 260: 2700-2703.
- 19.-Janssens M. How can we reduce blood transfusion. *Intens Crit Care Digest* 1992;11: 49-51.
- 20.-Ellison N. Blood transfusion- when and what?. *International Anesthesia Research Society. Review Course Lectures* 1991; 7-13.
- 21.-Stehling L. Autologous transfusion. *International Anesthesiology Clinics*. 1990; 28: 190-193.
- 22.-Janvier G. Transfusion autologue peropératoire. *Ann Fr Anesth Réanim*. 1989; 8: 213-220.
- 23.-Nydegger U, Walpoth B. Massnahmen zur Einsparung von Erythrocyten aus Fremdblutspende. *HAEMO* 1992, Dezember.
- 24.-Klimberg I, Sirois R, Wajzman Z, Baker J. Intraoperative autotransfusion in urologic oncology. *Arch Surg*. 1986; 121: 1326-1329.
- 25.-Klimberg I, Sirois R, Wajzman Z, Baker J. Intraoperative autotransfusion in urologic oncology. *Arch Surg* 1986; 121:1326-1329
- 26.-Miller GV, Ramsden CW, Primrose JN. Autologous transfusion: an alternative to transfusion with banked blood during surgery for cancer. *Br J Surg* 1991; 78: 713-715.
- 27.-Kulier AH, Gombotz H, Fuchs G, Vuckovic U, Metzler H. Subcutaneous Recombinant Human Erythropoietin and autologous blood donation before coronary artery bypass surgery. *Anesth Analg* 1993; 76: 102-106.
- 28.-Bettex JG. Recombinantes menschliches Erythropoietin (rHuEPO): Ein Produkt von wehrmedizinischem Interesse?. *Schweiz Z Milit Med*. 1992; 69 (2): 43-44.
- 29.-Beris Ph, Mermillod B, Levy G. Recombinant Human Erythropoietin (rhEpo) as adjuvant Treatment for Autologous Blood Donation. A Prospective study. Poster at the *Annual meeting of the Swiss Society of Hematology*, Geneva 1992; June 11-12.
- 30.-Robertie PG, Gravlee GP. Safe limits of isovolemic hemodilution and recommendations for erythrocyte transfusion. *International Anesthesiology Clinics* 1990; 28: 190-196.
- 31.-Klinberg J. Autotransfusion and blood conservation in urologic oncology. *Seminars in Surgical Oncology*. 1989; 5: 286-292.
- 32.-Walker RH. Technical Manual, American Association of Blood Banks 10 th ed, 1990.