



COMITÉ DE EDUCACIÓN CONTINUA Y CONTINUADA

COORDINADORA: DRA ANA CLAUDIA PERÓN

PROGRAMA CONSULTA AL EXPERTO

COORDINADORA: DRA GRACIELA LEÓN DE GONZÁLEZ

**“TRANSFUSIONES DE GRANULOCITOS: PERSPECTIVAS
ACTUALES Y FUTURAS”**

PROFESOR INVITADO: CESAR DE ALMEIDA NETO

Profesor asociado de la Disciplina de Ciencias Médicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sao Paulo; Jefe del Departamento de Aféresis de la Fundación Pró-Sangue – Hemocentro de São Paulo; Gerente Médico del Servicio de Hemoterapia del Hospital DASA Nove de Julho, São Paulo, SP, Brasil. cesarnt@uol.com.br

1. Introducción

Las transfusiones de concentrados de granulocitos (CG) se han utilizado en el tratamiento de pacientes neutropénicos febriles durante aproximadamente 60 años. La transfusión de CG responde a criterios patentes, al igual que el reemplazo de plaquetas o glóbulos rojos por transfusiones. Sin embargo, el proceso de recolección y transfusión de CG es complejo, costoso, depende de la disponibilidad de donantes calificados y puede generar eventos adversos tanto en los donantes como en los receptores. El conocimiento sobre CG ha crecido exponencialmente en los últimos 20 años, sin embargo, la efectividad de estas transfusiones para reducir la mortalidad en pacientes neutropénicos febriles no ha demostrado ser efectiva en varios estudios controlados.

En este monográfico revisaremos la historia, indicaciones, procedimiento de recolección, administración, eventos adversos y perspectivas de futuro de las unidades de CG utilizadas para transfusiones según la literatura médica actual y la experiencia acumulada en nuestro servicio en los últimos 20 años.

2. Transfusión de granulocitos: del pasado al presente

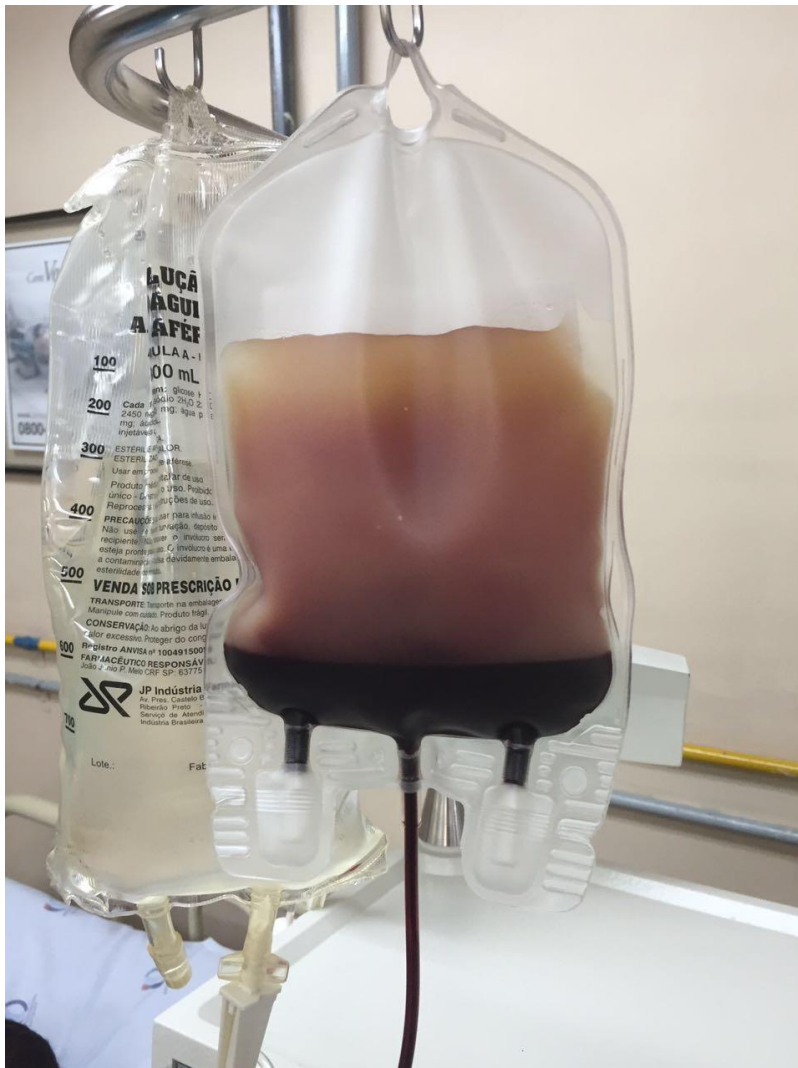
El interés en el uso de transfusiones de CG (Figura 1) ha variado mucho en los últimos 60 años. La relación entre la infección y el número de neutrófilos circulantes se describió por primera vez en la década de 1960 (1). Así como la reposición de concentrados de plaquetas era útil para reducir la incidencia de hemorragias, en ese momento se creía que la reposición de granulocitos sería también un tratamiento interesante para los pacientes neutropénicos febriles. Las primeras transfusiones se realizaron con granulocitos obtenidos de la recolección y sedimentación de sangre total de pacientes con leucemia mieloide crónica (2) y, debido a la cantidad y calidad de los granulocitos recolectados, no tuvieron éxito. Sin embargo, se reconocieron dos principios importantes; primero, la correlación de la dosis de CG con la respuesta clínica, y segundo, la observación de que en pacientes aloinmunizados aumentaban las reacciones adversas y disminuía la eficacia de las transfusiones tanto de granulocitos como de plaquetas.

A principios de la década de 1970, la sangre se procesaba en componentes utilizándose centrífugas refrigeradas. En ese momento, había un interés creciente en el uso de CG para el tratamiento de pacientes neutropénicos. También se desarrollaron técnicas de filtración. En éstas, la sangre total donada se somete a filtración de leucocitos. Posteriormente, los leucocitos eran extraídos de estos filtros mediante procesos mecánicos traumáticos y transfundidos a los receptores. Debido al proceso de obtención de estos granulocitos, se liberaban citocinas leucocitarias que provocaban reacciones adversas graves y frecuentes en los receptores (3). Con el sistema de procesamiento de bolsa de centrifugación inversa, las capas de “*buffy-coat*” de unos cinco donantes eran almacenadas en una sola unidad y posteriormente transfundidas a pacientes neutropénicos con infecciones graves. Además de una mayor exposición a varios antígenos de histocompatibilidad de leucocitos de varios donantes, los eventos adversos relacionados con la liberación de citoquinas continuaron ocurriendo con frecuencia. La movilización con corticoides se introdujo en la década de 1970 para aumentar el número de leucocitos circulantes en los donantes. Sin embargo, en esta ocasión, la dosis de granulocitos recogida era muy variable y generalmente pequeña. Además, los estudios publicados eran informes o series de casos con pocos pacientes, las definiciones de respuesta clínica eran vagas y como las infecciones de los receptores ocurren en varios sitios, con diferente gravedad y por diferentes agentes, era difícil obtener estudios comparativos. Con la disponibilidad de nuevos antibióticos y antifúngicos en la década de 1980, disminuyó el interés por la transfusión de granulocitos.

En la década de 1990 hubo un nuevo impulso en el uso de la transfusión de CG. Con la introducción de factores de crecimiento para la movilización de células en donantes y las tecnologías de recolección de leucoaféresis, fue posible obtener productos más adecuados a las necesidades de los receptores, es decir, CG personalizados. A partir de ese momento, la transfusión de CG para pacientes con neutropenia o con disfunción congénita de granulocitos que presentaban infecciones bacterianas y fúngicas graves pasó a formar parte del arsenal terapéutico de los servicios de oncohematología. Nuevos estudios con mayor número de pacientes, productos con mejores estándares de calidad y

dosis estandarizadas de CG revivieron esta modalidad transfusional. Actualmente, a pesar de la disponibilidad de potentes agentes antimicrobianos y antifúngicos, las infecciones siguen siendo un desafío en los pacientes que reciben quimioterapia en dosis altas y, especialmente, en los pacientes que se someten a un trasplante de células hematopoyéticas. La aparición de bacterias multirresistentes e infecciones fúngicas en pacientes inmunodeprimidos, como la aspergilosis y la fusariosis, ha vuelto a incrementar el interés de la comunidad médica por la transfusión de CG (4).

Figura 1. Unidad de concentrado de granulocitos recolectada por leucoaféresis



Fuente: archivo personal del autor

3. Indicaciones para transfusiones de concentrados de granulocitos

En la tabla 1 se presentan las principales indicaciones de transfusión de CG (4).

Tabla 1. Indicaciones actuales para transfusiones de concentrados de granulocitos

Recuento absoluto de neutrófilos $<500/\text{mm}^3$ por falta de producción medular <u>e</u>
Infección no controlada a pesar de tratamiento específico $\geq 48\text{h}$ con antibacteriano y/o antifúngico <u>y</u>
Neutropenia temporal con recuperación estimada en días <u>o</u>
Infección grave (absceso/hongos) en pacientes con alteración en la función de los granulocitos

Las transfusiones de CG se pueden realizar diariamente o en días alternos, dependiendo de la cantidad de granulocitos que se recuperen en la circulación periférica del paciente. En nuestra experiencia, recomendamos realizar el recuento de leucocitos periféricos una hora después de la transfusión de CG para verificar la recuperación periférica de los granulocitos transfundidos. Para determinar la frecuencia de las transfusiones de CG, recomendamos monitorear el recuento de leucocitos del paciente todos los días por la mañana. Si los recuentos de leucocitos son $<500/\text{mm}^3$, están indicadas las transfusiones diarias.

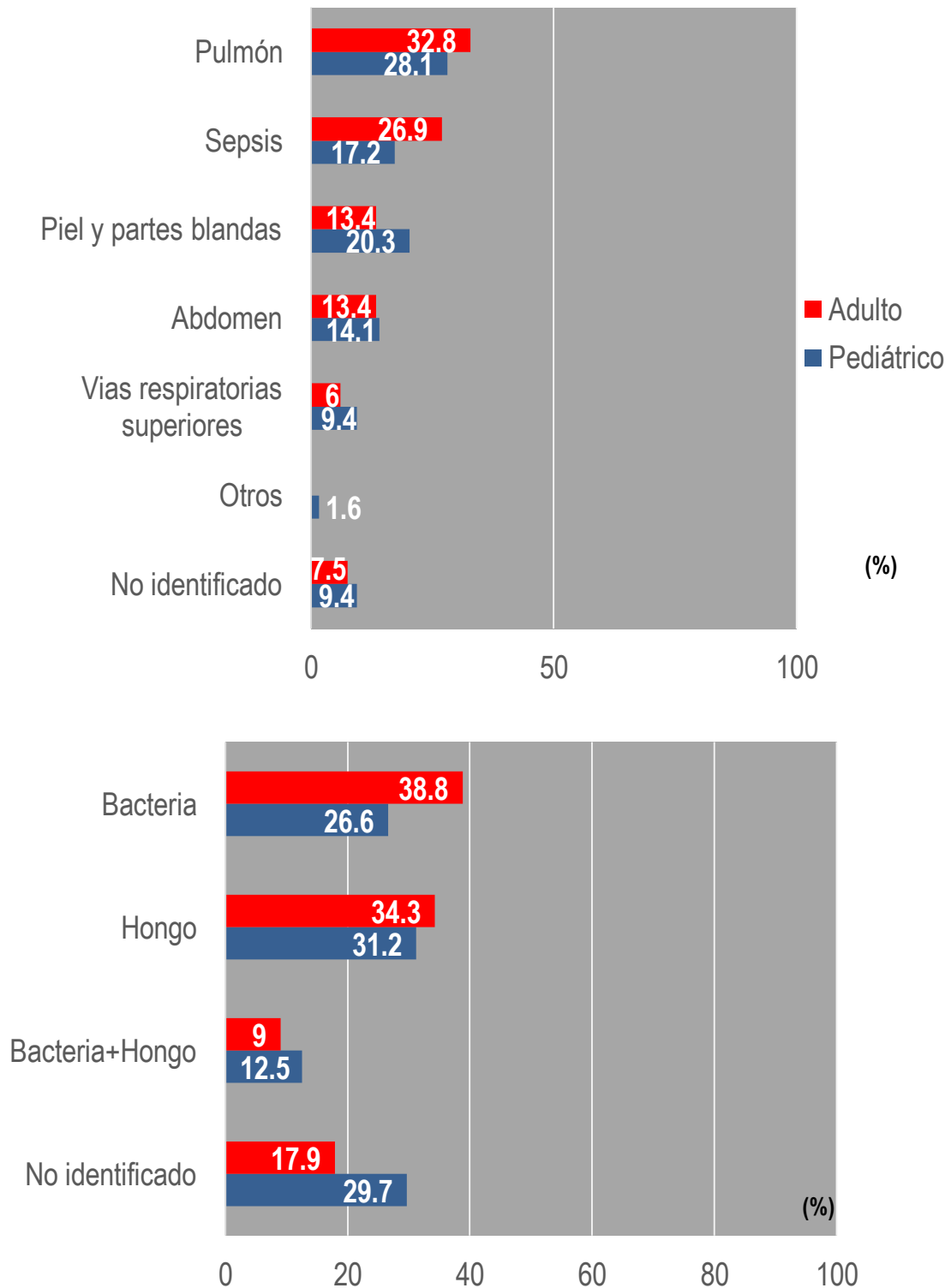
La suspensión de las transfusiones de CG puede ocurrir en varias situaciones clínicas. La tabla 2 muestra las indicaciones para suspender las transfusiones de CG (4).

Tabla 2. Indicaciones para suspender la transfusión de concentrado de granulocitos

Recuperación neutrofilica de la médula ósea <u>o</u>
Recuento de neutrófilos $>500/\text{mm}^3$ durante 3 días consecutivos sin necesidad de transfusión de CG <u>o</u>
Mejoría clínica del receptor <u>o</u>
Empeoramiento clínico a pesar de la transfusión de granulocitos <u>o</u>
Ausencia de respuesta clínica y/o de laboratorio <u>o</u>
Evolución del receptor de cuidados paliativos

Las infecciones bacterianas y fúngicas en pacientes neutropénicos pueden ser sistémicas o localizadas. En la Figura 2, podemos observar el foco infeccioso y la etiología de la infección en 67 pacientes adultos y 64 pacientes pediátricos que recibieron transfusiones de CG en el Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo entre 2000 y 2019.

Figura 2. Foco de infección y agente etiológico en 67 pacientes adultos y 64 pacientes pediátricos que recibieron transfusiones de concentrado de granulocitos en el HC-FMUSP entre 2000 y 2019.



Fuente: de Almeida-Neto C, Corso LM, Bassolli L, Witkin SS, Hamasaki DT, Albiero AL, Manangão CL, Mendrone-Junior A, Rocha V. Survival among children and adults treated with granulocyte transfusions: Twenty years' experience at a Brazilian blood center. *Transfus Apher Sci.* 2022;61(2):103300.

4. Selección de donantes y pruebas de laboratorio previas a la recolección

Los candidatos para la donación de granulocitos se reclutan entre los familiares del paciente o entre donantes sin vínculos de parentesco. Aunque es más rápido y fácil reclutar donantes entre familiares, en estos casos se debe considerar el riesgo de aloinmunización del paciente por antígenos del sistema HLA, especialmente cuando el donante y el receptor son familiares de primer grado. Si este familiar se convierte en un futuro donante de células progenitoras, la sensibilización previa del receptor a los antígenos HLA dificulta el trasplante de células progenitoras, con mayor morbilidad y altos costos para la desensibilización del paciente. Por otro lado, los donantes no emparentados pueden ser recogidos entre los donantes de plaquetas por aféresis. Estos últimos, además de estar acostumbrados al proceso de donación automatizado, suelen disponer de un adecuado acceso venoso periférico para la recogida de granulocitos por aféresis. Cabe destacar que el candidato a donación de CG debe tener un buen acceso venoso periférico en ambos miembros superiores. El mejor acceso debe reservarse para la extracción de sangre total por el separador de células y el otro para el retorno de sangre después de la retención de los granulocitos.

El candidato a donante de CG debe cumplir con todos los requisitos previos para la donación de sangre total. La actual ordenanza brasileña del Ministerio de Salud establece que el candidato a la donación de CG debe tener un recuento de leucocitos $> 5.000/\text{mm}^3$, pruebas serológicas de detección de hepatitis B y C, enfermedad de Chagas, VIH, HTLV-1/2 y sífilis y pruebas de biología molecular para hepatitis B y C y VIH no reactivos en muestras recolectadas hasta 72 horas antes de la donación (5). Los CG son componentes hemáticos, ya que contienen más de 2 ml de glóbulos rojos. Por lo tanto, deben ser del mismo tipo sanguíneo ABO o tipo compatibles con el del receptor. Cuando el tipo ABO no es el mismo pero compatible, es necesario verificar si el título de hemaglutinina del donante frente al antígeno presente en los glóbulos rojos (GR) del receptor es <128 . La incompatibilidad menor conduce a reacciones hemolíticas en receptores de bajo volumen de sangre, como recién nacidos y lactantes.

El estado serológico para el citomegalovirus (CMV) del receptor debe evaluarse antes de indicar la transfusión de CG. Los pacientes CMV negativos deben recibir preferentemente CG de donantes CMV negativos. Los riesgos, aunque bajos, y beneficios de transfundir CG de donantes CMV positivos a receptores CMV negativos, deben ser evaluados por el equipo médico y de hemoterapia. En estos casos el tratamiento antiviral puede implementarse de manera temprana para prevenir secuelas graves (6)

5. Movilización de donantes

Se permite el uso de agentes movilizadores de granulocitos, como el factor estimulante de colonias-granulocíticas o G-CSF (filgrastim) y/o corticoides (dexametasona) y el uso de sedimentadores globulares (hidroxietil almidón) en donantes siempre que se especifique en el protocolo del servicio (5).

La dosis indicada de G-CSF es de 5 µcg/kg por vía subcutánea (en la práctica, una ampolla de 300 µcg/SC) y/o 8 mg de dexametasona oral, 12 a 16 horas antes de la colecta. La elección de los agentes movilizadores debe basarse en las necesidades transfusionales del receptor y las características clínicas del donante. Para una dosis promedio de CG de $1-2 \times 10^{10}$ polimorfonucleares (PMN)/unidad, la movilización solamente con corticosteroides es suficiente. Con la administración de G-CSF solo se obtienen dosis entre $3-5 \times 10^{10}$ PMN/unidad, mientras que con la asociación de corticoides y G-CSF se obtienen dosis $>5 \times 10^{10}$ PMN/unidad (3). Se especula que los CG recolectados de donantes movilizados con G-CSF tienen un mayor poder de fagocitosis debido al estímulo para la producción de células más jóvenes por parte de la médula ósea del donante. A diferencia de los leucocitos circulantes, las células precursoras más jóvenes siguen proliferando en los receptores (7).

Los eventos adversos de la movilización con G-CSF incluyen dolor óseo (5%), mialgia, artralgias, dolor de cabeza, fiebre, escalofríos, fatiga y, en raras ocasiones, ruptura esplénica. La movilización con corticosteroides puede causar dolor de cabeza, rubefacción, insomnio, euforia, palpitaciones, dolor epigástrico e hiperglucemia. Algunas condiciones médicas preexistentes pueden exacerbar estos eventos adversos. Para la elección de los agentes movilizadores, se debe verificar el antecedente de hipertensión arterial, úlcera péptica y diabetes mellitus antes de la administración de corticoides. Se deben analizar antecedentes de enfermedades inflamatorias, gota y riesgo de trombosis antes de prescribirse G-CSF (8).

6. Recolección de concentrados de granulocitos por aféresis

Las colectas de CG se realizan por leucoaféresis a través del programa de recolección de PMN, con una velocidad de extracción de 50-60 ml/minuto, y procesando 7-10 litros en 120 a 150 minutos. Como sedimentador, se recomiendan 500 ml de hidroxietil almidón 450/0,7-6%, peso molecular 450.000, que se instala en la vía de extracción de sangre total, en una bomba de infusión, siendo infundida en toda la extracción. Hay informes de Tiempo de Tromboplastina Parcial aumentado y niveles de fibrinógeno disminuidos debido a la expansión del volumen intravascular y efectos de dilución causados por el hidroxietil almidón (8). En sujetos que recibieron dosis > 20 ml/kg/día, se han descrito disminuciones en la actividad del factor VIII, del antígeno del factor VIII

y del factor von Willebrand (8). El hidroxietil almidón tiene una vida media prolongada, lo que constituye un riesgo en la leucoaféresis cuando un solo donante se expone a múltiples colecciones de CG.

Los riesgos de la leucoaféresis transfusional son similares a los de la donación de sangre total. El hematoma (1,2%), la reacción vasovagal (0,05%), el síncope (0,08%) y la toxicidad por citrato de sodio (0,4%) son los eventos adversos notificados con mayor frecuencia (8).

7. Administración de concentrados de granulocitos

Los CG se almacenan a temperatura ambiente (20-24°C), sin agitación y se irradian con 25 Gy de radiación gamma. Antes de cada transfusión se realizan pruebas de compatibilidad y tipificación sanguínea ABO y Rh de la unidad y del receptor.

El paciente o su representante legal debe firmar un formulario de consentimiento informado antes de las transfusiones de CG.

La dosis recomendada en cada transfusión de CG es de $0,6 \times 10^9$ /kg para adultos (9) y $0,8 \times 10^9$ (10) para niños, diariamente o en días alternos. El objetivo es mantener un recuento de granulocitos en la sangre periférica $>500/\text{mm}^3$ hasta la recuperación de la médula ósea, la mejoría clínica y la estabilidad del paciente. Los pacientes que mantienen un recuento de granulocitos $>500/\text{mm}^3$ durante más de 24 horas pueden recibir transfusiones de CG en días alternos. El empeoramiento clínico, la falta de respuesta, los eventos adversos graves y la evolución del paciente a cuidados paliativos son indicaciones para suspender las transfusiones de CG (Tabla 2).

El estudio multicéntrico “*Resolving Infection in Neutropenia with Granulocytes (RING)*” evaluó la supervivencia a 42 días y la respuesta a la infección en pacientes sometidos aleatoriamente o no a transfusiones de granulocitos. Aunque el estudio tenga muchas limitaciones, las transfusiones de CG mostraron beneficios terapéuticos exclusivamente en pacientes que recibieron dosis transfusionales adecuadas de CG en comparación con aquellos que recibieron los CG en dosis inadecuadas (9).

En nuestro servicio logramos una supervivencia del 40,6% de los pacientes pediátricos y solamente del 9% de los pacientes adultos, a los 30 días de la administración de la primera unidad de CG, en pacientes tratados con transfusiones de CG. La dosis ideal se obtuvo en el 80,4% de las transfusiones en niños y en el 19,6% en adultos, lo que nos lleva a especular que una mejor supervivencia en niños también puede estar asociada a dosis de CG más adecuadas al peso del paciente (11).

Las transfusiones de CG se realizan preferiblemente dentro de las 6 horas posteriores a la recolección. La administración debe ser lenta, 1-2x10¹⁰ PMN/hora, utilizando filtros de macro agregados comunes (170 micras). Nunca se deben utilizar filtros de leucorreducción. Los pacientes deben recibir premedicación con paracetamol y difenhidramina. Los signos vitales, la saturación de oxígeno y los signos y síntomas que presenta el receptor son monitoreados antes, durante y después de las transfusiones. En caso de reacciones adversas, se debe interrumpir la transfusión, mantener el acceso venoso con solución salina y avisar al banco de sangre. No es necesario desechar la unidad de CG, y se puede elegir la opción de continuar la transfusión de CG si se descarta la correlación entre el evento adverso y la transfusión.

En la tabla 3 presentamos un resumen de los diferentes pasos para la obtención, conservación y administración del CG.

Tabla 3. Selección y movilización de donantes, recolección, almacenamiento y administración de concentrados de granulocitos

Notas de selección de donantes	
Familiar versus sin parentesco	Evitar a un familiar si pudiera ser donante de células progenitoras hematopoyéticas
Dos accesos venosos de gran calibre	Acceso venoso de mayor calibre reservado para la extracción de sangre total
Mismo tipo ABO o tipo compatible	Tipo compatible: hemaglutinina contra el antígeno GR del receptor <128
Leucocitos del donante >5.000/mm ³	
Cumplir con los criterios para la donación de sangre total	
Pruebas de tamizaje serológico y biología molecular no reactivas negativas <72 hrs. antes de la donación	
Prueba de compatibilidad mayor Compatible	
CMV del donante y CMV del receptor	Receptor CMV (-): elegir donante CMV (-) o profilaxis antiviral del receptor si donante es CMV (+)
Movilización	
Dexametasona 8 mg VO 12-16 hrs. antes de la donación	Contraindicación absoluta: alergia Contraindicaciones relativas: diabetes mellitus, úlcera péptica, hipertensión arterial sistémica

G-CSF 300 µcg SC 12-16 h antes de la donación	Contraindicación absoluta: alergia Contraindicaciones relativas: gota, enfermedades inflamatorias, riesgo de trombosis
Leucaféresis	
Procesar 7-10 L	
Usar hidroxietil almidón 6% en paralelo	Contraindicación absoluta: alergia
Almacenamiento	
Temperatura ambiente (20 - 24°C), sin agitación	
Irradiación gamma 25 Gy	
Administración	
Pruebas de compatibilidad y tipificar ABO y Rh de la unidad	
Premedicación del receptor con antipirético y antihistamínico	
Intervalo > 4 hrs. de anfotericina	
Infundir preferentemente < 6 hrs. Velocidad de infusión de 1-2 x 10 ¹⁰ PMN/h	
Evaluar signos vitales y saturación de O ₂ en cada transfusión	Antes, durante (30x30min) y después (1 hr.)
Notifique al banco de sangre si se produce una reacción adversa	No desechar la unidad

PMN= leucocitos polimorfonucleares

8. Eventos adversos de la transfusión de granulocitos

La incidencia de eventos adversos a la transfusión de CG oscila entre el 5% y el 13%, con un 1% de complicaciones graves y un 0,1% de broncoespasmo con hipoxemia (3).

Las reacciones pulmonares adversas ocurren en aproximadamente el 5% de los pacientes (6) e incluyen tos, disnea, hipoxia, cambios en las radiografías y otras pruebas de imagen del tórax. Los eventos adversos pulmonares se exacerban cuando la transfusión de CG se administra de manera concomitante con la infusión de anfotericina. Se recomienda transfundir CG al menos cuatro horas después de usar este antifúngico.

También se han informado infecciones por CMV que es un patógeno intraleucocitario. La selección adecuada de los donantes y la profilaxis con antivirales del receptor, como se mencionó anteriormente, son esenciales para prevenir este evento adverso.

Los eventos adversos a largo plazo incluyen aloinmunización por anticuerpos anti-HLA y la refractariedad plaquetaria consiguiente. Un estudio de revisión retrospectivo mostró que el 17 % de los pacientes con anemia aplásica grave tratados con transfusiones de granulocitos desarrollaron anticuerpos anti-HLA.

En el mismo estudio, los pacientes aloimmunizados tuvieron aumentos más bajos en el recuento de leucocitos después de las transfusiones de granulocitos (6,12).

9. Perspectivas de futuro

La creciente preocupación por los microorganismos multirresistentes a antibióticos y antifúngicos ha despertado recientemente el interés por las transfusiones de concentrados de granulocitos. Debido a la necesidad de coleccionar productos personalizados y adecuados al peso del paciente, se han evaluado nuevos sedimentadores eritrocíticos como la gelatina fluida modificada (4% Gelafundin®). Un estudio reciente en pacientes pediátricos demostró que este nuevo sedimentador de eritrocitos es seguro y eficaz como alternativa al hidroxietil almidón para recolectar CG para transfusiones. Esta gelatina fluida modificada permitió la recolección promedio de 2.8×10^{10} PMN/unidad y el 35% de los productos recolectados contenían $\geq 4.0 \times 10^{10}$ PMN/unidad (13).

Con el objetivo de aumentar el tiempo de almacenamiento y la posibilidad de transfundir los CG independientemente de la compatibilidad ABO entre donante y receptor, un grupo de investigadores alemanes desarrolló un método para purificar y lavar las unidades de CG recolectadas (14). En este estudio, los investigadores lograron una reducción del 95 % en los eritrocitos y del 96% en las plaquetas de los productos recolectados. Después de 72 horas de almacenamiento, más del 90% del recuento inicial de neutrófilos estaba conservado y era viable. Estos CG exhibieron una alta propiedad de fagocitosis y oxidación in vitro, comparable a los CG utilizados tradicionalmente. Por lo tanto, la purificación de CG aumenta el tiempo de almacenamiento de 24 a 72 horas, mantiene las características de los neutrófilos y aumenta la viabilidad de la reserva de CG (14).

En el futuro, los CG tal vez sean fabricados en laboratorios, la expansión y diferenciación de células progenitoras pueden colaborar para aumentar la cantidad de CG viables para uso clínico (15). Queda ahora avanzar en nuestro conocimiento hacia los efectos inmunomoduladores de los CG y las indicaciones precisas, y en el momento adecuado, para los pacientes que realmente pueden beneficiarse de esta terapia.

Referencias bibliográficas

1. Bodey GP, Buckley M, Sathe YS, Freireich EJ. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med* 1966;64:328-40.
2. Freireich EJ. White cell transfusion born again. *Leuk Lymphoma*.1993; 11Suppl 2:161-5.
3. Atallah E, Schiffer CA. Granulocyte transfusion. *Curr Opin Hematol* 2006;13:45-49.
4. de Almeida Neto C. Transfusão de concentrados de granulócitos. In: Hematologia para o clínico, primeira edição, editado por: Figueiredo VLP, Vicari P, Arce IL. 2019 Editora Fontenele, São Paulo, SP. Páginas 238-247.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 158, de 4 de fevereiro de 2016. Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. Brasília, 2016.
6. Lu Q. Granulocyte transfusions. UpToDate. Disponível em <https://www.uptodate.com/contents/granulocyte-transfusions#!> Acessado em 21 de Dez 2022.
7. Ginzburg Y, Kessler D, Narici M, Caltabiano M, Rebosa M, Strauss D, Shaz B. How do I provide leukapheresis products? Blood center experience and evidence for process improvement. *Transfusion* 2013;53:2123-9.
8. Winters JL. Complications of donor apheresis. *J Clin Apher* 2006;21:132-41.
9. Price TH, Boeckh M, Harrison RW, McCullough J, Ness PM, Strauss RG, Nichols WG, Hamza TH, Cushing MM, King KE, Young JA, Williams E, McFarland J, Holter Chakrabarty J, Sloan SR, Friedman D, Parekh S, Sachais BS, Kiss JE, Assmann SF. Efficacy of transfusion with granulocytes from G-CSF/dexamethasone-treated donors in neutropenic patients with infection. *Blood* 2015;126:2153-61.
10. Strauss RG. Neutrophil collection and transfusion. In: Rossi's Principles of Transfusion Medicine, 4th Edition, Edited by Toby L. Simon, E. L. Snyder, B. G. Solheim, Christopher, P. Stowell, Ronald, G. Strauss and Marian Petrides 2009 Blackwell Publishing, Bethesda. MD. Pages 219-227.

11. de Almeida-Neto C, Corso LM, Bassolli L, Witkin SS, Hamasaki DT, Albiero AL, Manangão CL, Mendrone-Junior A, Rocha V. Survival among children and adults treated with granulocyte transfusions: Twenty years' experience at a Brazilian blood center. *Transfus Apher Sci.* 2022;61(2):103300.
12. Quillen K, Wong E, Scheinberg P, Young NS, Walsh TJ, Wu CO, Leitman SF. Granulocyte transfusions in severe aplastic anemia: an eleven-year experience. *Haematologica.* 2009;94:1661-8.
13. Knapp S, Brosig A, Troeger A, Kleinschmidt K, Offner R, Corbacioglu S, Burkhardt R, Foell J, Ahrens N. Granulocyte transfusions made with modified fluid gelatin in pediatric and adolescent patients with prolonged neutropenia. *Transfusion.* 2022;62(2):306-315.
14. Klinkmann G, Doss F, Goudeva L, Doss S, Blasczyk R, Milej M, Koch S, Mitzner S, Altrichter J. Prolonged storage of purified granulocyte concentrates: Introduction of a new purification method. *Transfusion.* 2022;62(1):194-204.
15. Morton S, Fleming K, Stanworth SJ. How are granulocytes for transfusion best used? The past, the present and the future. *Br J Haematol.* 2022. doi: 10.1111/bjh.18445. Epub ahead of print.