

Método automatizado para la reducción de glóbulos rojos en el procesamiento de células progenitoras hematopoyéticas de médula ósea. Validación en trasplantes pediátricos con incompatibilidad mayor de grupo sanguíneo



ARTÍCULO ORIGINAL

Automated method for reduction of red blood cells in bone marrow hematopoietic progenitor cells processing. Validation in pediatric transplant with major blood group incompatibility

HEMATOLOGÍA
Volumen 28 n° 2: 12-20
Mayo - Agosto 2024

Silvestri M del R¹, Miguel A¹, Sainz R¹, Ghiguly M¹, Pizzi S², Gamba C¹, Kuperman S¹.

¹ Laboratorio de Células Progenitoras Hematopoyéticas, Hospital Garrahan. Buenos Aires, Argentina.

² Unidad de Trasplante de Médula Ósea, Hospital Garrahan. Buenos Aires, Argentina.

Msilvestri@garrahan.gov.ar

Fecha recepción: 9/4/2024
Fecha aprobación: 12/8/2024

Palabras claves: incompatibilidad ABO, trasplante de médula ósea, procesamiento automatizado.

Keywords: ABO incompatibility, marrow transplantation, automated processing.

Resumen

Introducción. En los trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas de médula ósea (CPH-MO) con incompatibilidad mayor de grupo sanguíneo una depleción de glóbulos rojos (GR) eficiente es fundamental para minimizar los efectos adversos durante y posterior a la infusión del producto. Distintos procedimientos se utilizan para la reducción de GR en estos casos, particularmente la técnica de sedimentación con hidroxietil almidón (HES) es ampliamente utilizada, pero es muy laboriosa y requiere de personal experimentado. En este trabajo presentamos los resultados de nuestro laboratorio en la validación de otra metodología para este propósito, el procesamiento con el

equipo automatizado Sepax 2, utilizando el protocolo SmartRedux v314.

Materiales y métodos. Se evaluaron 9 productos de células progenitoras hematopoyéticas de MO. Se obtuvieron datos de recuperación post procesamiento de células nucleadas (CN) y células CD34+, resultados de viabilidad, estudios microbiológicos y tiempo de procesamiento, además de las reacciones adversas durante la infusión de los productos y datos del injerto de los mismos.

Resultados. Se obtuvo una media para la reducción de GR de 92,5% (88,2 - 95,4%), una recuperación de CN de 74,1% (60,1 - 84,3%) y una recuperación de células CD34+ de 83,6% (62,6 - 99,5%). La media de

viabilidad de células CD45+ fue 93,3% (87% - 98%) y la de células CD34+ 97% (94% - 99%). Todos los resultados de microbiología fueron negativos. Luego del procesamiento todos los productos se infundieron a pacientes de nuestra institución sin reacciones adversas relevantes, siendo la mediana de recuperación hematopoyética de 15 días para neutrófilos absolutos y de 28 días para plaquetas. Todos los pacientes lograron quimerismo completo.

Discusión. Ante la posibilidad de implementar una nueva metodología para el procesamiento de productos de células progenitoras de MO con incompatibilidad mayor de grupo sanguíneo se validó el procedimiento según establecen las normas de INCUCAI y los estándares voluntarios. Se plantea una opción para el procesamiento de estos productos, con ventajas y desventajas. Cada centro deberá evaluar y validar el procedimiento que mejor se ajuste a sus necesidades.

Abstract

Introduction. In major blood group incompatible bone marrow hematopoietic progenitor cells (HPC-BM) transplant efficient red blood cells (RBC) depletion is essential to minimize adverse effects during and after the product infusion. Different procedures are used to reduce RBC in this case, particularly the hydroxyethyl starch sedimentation (HES) technique is widely used but is very laborious and requires experienced personnel. In this work we show the results of our laboratory in the validation of another methodology for this purpose; processing with Sepax 2 automated equipment, using the SmartRedux v314 protocol.

Materials and methods. We evaluated 9 BM hematopoietic progenitor cell products. Data of post processing recovery nucleated cells (NC) and CD34+ cells, viability results, microbiological studies and processing time were obtained. Besides the adverse reactions during the infusion of the products and their engraftment.

Results. A mean reduction of GR of 92.5% (88.2 - 95.4%), a recovery of NC of 74.1% (60.1 - 84.3%) and a recovery of CD34+ cells of 83.6% (62.6 - 99.5%) was obtained. The mean viability of CD45+ cells was 93.3% (87% - 98%) and of CD34 cells was 97% (94% - 99%). All microbiology results were negative. After processing, the products were all infused to patients at our institution without relevant adverse reactions, with the median hematopoietic recovery being 15 days for absolute neutro-

phils and 28 days for platelets. All patients achieved complete chimerism.

Discussion. Having the possibility of implementing a new methodology for the processing of BM progenitor cell products with major blood group incompatibility, the procedure was validated according to the INCUCAI regulations and voluntary standards. An option is proposed for the processing of these products, with advantages and disadvantages. Each center must evaluate and validate the procedure with best adjustment to its needs.

Introducción

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) se ha establecido como tratamiento para una gran variedad de enfermedades hematológicas, inmunodeficiencias y desórdenes congénitos del metabolismo, entre otras. Estas células pueden ser obtenidas de distintas fuentes: médula ósea, sangre periférica movilizada o sangre de cordón umbilical⁽¹⁾.

Los TCPH se pueden realizar incluso en los casos con incompatibilidad de grupo sanguíneo ABO entre donante y receptor. De acuerdo con el tipo de incompatibilidad (mayor, menor, bidireccional) deberá evaluarse el tipo de procesamiento en cada caso^(2,3).

El caso particular de la incompatibilidad ABO mayor, es decir, cuando la sangre del receptor tiene isohemaglutininas contra los hematíes del donante, constituye un desafío para el laboratorio de procesamiento cuando la fuente del producto es médula ósea. Esto se debe a que la capa deseable de células progenitoras hematopoyéticas sedimenta muy cerca de la capa indeseable de glóbulos rojos cuando se realiza una centrifugación simple y se debe reducir el volumen de glóbulos rojos del producto con la menor pérdida de células nucleadas posible⁽⁴⁾.

La importancia de la reducción del volumen de glóbulos rojos incompatibles radica en que su infusión puede presentar complicaciones como hemólisis aguda y tardía, aplasia pura de serie roja y demoras en el injerto^(5,6).

Los procedimientos estándar para los trasplantes ABO incompatibles consisten en la depleción de glóbulos rojos y/o plasma realizada mediante dispositivos de aféresis, separación en gradiente de densidad y centrifugación simple, asociada generalmente al uso de agentes de sedimentación, como el hidroxie-

til almidón (HES)⁽⁷⁾. Estas técnicas son muy laboriosas, difíciles de estandarizar, operador dependiente y además la pérdida de células nucleadas asociadas a este tipo de procesamiento suele ser considerable. En caso de utilizar HES para la sedimentación del producto, también es necesario disponer del insumo de la calidad apropiada (apto para uso humano).

Como cada producto tiene características biológicas distintas y hay parámetros variables para cada TCPH (células nucleadas totales finales, volumen final del producto, volumen de glóbulos rojos, etc. que dependerán del peso y condiciones de cada donante y receptor) se requieren metodologías de procesamiento flexibles. La manipulación de CPH-MO es un factor clave en el proceso de trasplante y puede influir tanto en el injerto como en la sobrevida global del receptor. La estandarización del procesamiento de las células disminuiría la variabilidad de la calidad del producto final y la necesidad de formación de personal especializado. En los últimos años se ha incursionado en nuevas metodologías a la hora de reducir el volumen de glóbulos rojos de este tipo de productos⁽⁸⁾. Este artículo presenta la experiencia de nuestro laboratorio de preparaciones celulares (EPC) en el uso de un sistema cerrado, totalmente automatizado y de grado clínico (Sepax, Biosafe, Eysins, Suiza) para el procesamiento de CPH-MO en diferentes entornos clínicos.

Siguiendo las normas locales, un proceso de validación implica establecer y proporcionar evidencia documentada de que un proceso específico producirá consistentemente una preparación celular con sus especificaciones predeterminadas y atributos de calidad (dosis de células nucleadas, volumen de plasma y/o glóbulos rojos incompatibles, etc.)⁽⁹⁾. Es por ello que se requiere calificar y validar cualquier aspecto que pueda afectar la calidad de la preparación celular, ya sea directa o indirectamente, incluyendo cambios significativos en locales, instalaciones, equipamiento o procesos. Es fundamental preparar y conservar un informe escrito que resuma los resultados registrados y las conclusiones alcanzadas y en base a éstos deben establecerse los procesos y procedimientos (procedimientos escritos, valores de aceptación, indicadores de calidad, etc.).

En este trabajo presentamos los resultados de la validación realizada en nuestro EPC para el procedimiento de reducción de glóbulos rojos con un equipo automatizado para la reducción del volumen

de glóbulos rojos de productos de CPH-MO para la aplicación en TCPH con incompatibilidad mayor de grupo sanguíneo en receptores pediátricos.

Materiales y métodos

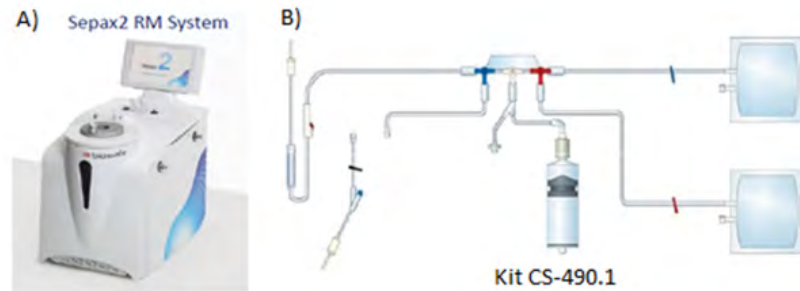
Los productos evaluados fueron colectas de CPH-MO de donantes alogénicos sanos (relacionados y no relacionados) obtenidas en nuestra institución o en otros centros habilitados. La médula ósea fue colectada por punciones de ambas crestas ilíacas posteriores de los donantes y colocada en bolsas de transferencia conteniendo anticoagulante (en algunos casos ACD y heparina y en otros sólo heparina) de acuerdo a los procedimientos de cada centro de colecta. Se incluyeron en la validación todos los productos de CPH-MO con incompatibilidad mayor de grupo sanguíneo entre donante y receptor procesados en nuestro EPC entre 2018 y 2020, excepto un producto que por falta del kit descartable para procesar por la metodología automatizada se realizó la sedimentación con HES de alto peso molecular (procedimiento estandarizado de nuestro laboratorio previo a la validación de la nueva metodología).

Equipo de procesamiento y protocolo

Todos los productos fueron procesados con el equipo Sepax 2 (Biosafe SA) (Figura 1 A), que es un dispositivo para procesamiento automatizado de productos celulares, usando el protocolo Smart Redux v314. Se utiliza un kit comercial específico (CS-490.1, Biosafe SA) para reducción de volumen, el cual se realiza a expensas de glóbulos rojos y plasma obteniéndose un producto enriquecido en células nucleadas. Este descartable consta de una cámara donde el producto es centrifugado y separado en los distintos componentes en bolsas auxiliares (Figura 1 B).

Los parámetros programables para el protocolo son: volumen inicial (30-3300 ml), volumen final (1-1500 ml), plasma adicional (0 - 150 ml), volumen reprocesado (0 - 50 ml). Se utilizó la estrategia de volumen fijo del protocolo, es decir el volumen final es fijado por el operador. Considerando el volumen y la dosis inicial de CN y las recomendaciones para la reducción de volumen del fabricante, se decidió en cada caso el volumen final a usar. Dado los distintos productos de CPH-MO colectados, el volumen inicial y el final fueron variables, pero en todos los casos se optó por no agregar plasma adicional y el volumen reprocesado elegido fue 50 ml.

Figura 1. Equipo de procesamiento SEPAX 2 (A) y kit descartable utilizado para el procesamiento de los productos (B).



Evaluación de los productos

Las determinaciones realizadas sobre los productos pre y post procesamiento para la evaluación del protocolo incluyeron: recuento de células nucleadas (CN) y hematocrito (HCT) en contador hematológico automatizado (CELL DYN 3200, Abbott y XE-2100, Sysmex Corp.), recuento de células CD34+ y viabilidad de CD45+ y CD34+, con un ensayo inmunofluorescente por citometría de flujo (Accuri C6, BD) basado en el protocolo ISHAGE utilizando la técnica de plataforma única⁽¹⁰⁾. Con los datos obtenidos se compararon los datos pre y post procesamiento y se calcularon porcentajes de recupero de células nucleadas, recupero de células CD34+, reducción de la cantidad de glóbulos rojos, viabilidad celular y duración del procedimiento.

Se realizaron cultivos microbiológicos de todos los productos procesados utilizando botellas de cultivo BacT/ALERT anaeróbicas (FN Plus) y aeróbicas (PF Plus). Se inocularon con el concentrado de glóbulos rojos remanente del procesamiento. Las botellas se incubaron en el sistema de detección microbiológica automatizado BacT/ALERT (bioMérieux, Inc.).

Todas las determinaciones se realizaron siguiendo procedimientos operativos estándares (POEs).

Como criterio de aceptación de la validación se establecieron: una recuperación de células nucleadas mayor o igual a 70%, una reducción de glóbulos rojos mayor o igual a 80%, viabilidad total mayor al 80% y cultivos microbiológicos negativos. Los otros parámetros (recuperación de células CD34+, duración del procedimiento) fueron analizados pero no definidos como criterios de aceptación previamente en la validación.

Seguimiento de los pacientes

La reconstitución de neutrófilos luego de un TCPH se define como el primero de tres días consecutivos

con neutrófilos absolutos (NAN) mayor a $0.5 \times 10^9/L$, y la reconstitución de plaquetas al primero de tres días consecutivos con recuento de plaquetas mayor a $20 \times 10^9/L$ en ausencia de transfusiones por siete días sucesivos. Asimismo, para MO, la falla primaria del injerto se define como la ausencia de $NAN > 0.5 \times 10^9/L$ al día +30 post TCPH con pancitopenia asociada, confirmada con un quimerismo del donante (medido por STR-PCR) $< 5\%$ ^(11,14).

Como complicaciones agudas luego de una infusión de CPH-MO ABO mayor incompatible puede producirse hemólisis intravascular. Esta hemólisis aguda de los glóbulos rojos incompatibles presentes en la médula ósea del injerto puede producir compromiso de la función renal y, si fuese severa, hasta un fallo múltiple de órganos⁽⁹⁾.

En nuestro análisis se registraron como marcadores de hemólisis, el valor de la creatinina el día después de la infusión, comparándolo con la creatinina del día 0 (día de la infusión) y la presencia o no de hemoglobinuria en las tiras reactivas de orina. También se registraron otros efectos adversos que pudieron o no estar asociados a la hemólisis intravascular. Respecto a la evaluación del injerto, se registró la recuperación de NAN y de plaquetas y el quimerismo al día + 30.

Todos los datos fueron obtenidos de las historias clínicas de la institución.

Resultados

Se evaluaron 9 productos de CPH de médula ósea de donantes alogénicos sanos (relacionados y no relacionados) con incompatibilidad mayor de grupo ABO entre donante y receptor procesados entre diciembre de 2018 y septiembre 2020 (Tabla 1). Los receptores de los productos fueron todos pacientes pediátricos (2,1 - 15,6 años), con diagnósticos de: leucemia linfoblástica aguda (4 pacientes),

enfermedad granulomatosa crónica (2 pacientes), síndrome mielodisplásico (1 paciente), anemia de Fanconi (1 paciente). El volumen inicial de los productos procesados varió entre 577 ml y 1.827 ml (Tabla 2). Las horas desde la colecta hasta la recepción de estos productos en el EPC fueron entre 1 y 30 h (promedio: 9.6 h) dependiendo del lugar de procedencia de los mismos.

Los resultados obtenidos del procesamiento se muestran en la tabla 3. En cuanto a la reducción de glóbulos rojos (GR) el resultado fue una media de 92,5% (88,2 - 95,4%) (Figura 2). El volumen de GR en el producto final (el cual no debe superar el máximo de GR permitidos a infundir en este tipo de incompatibilidades^(12,13)) fue 26,4 mL (12,2 - 40,2 mL). La recuperación de CN fue del 74,1% (60,1 - 84,3%),

Tabla 1. Datos de receptor y donante de los 9 casos evaluados.

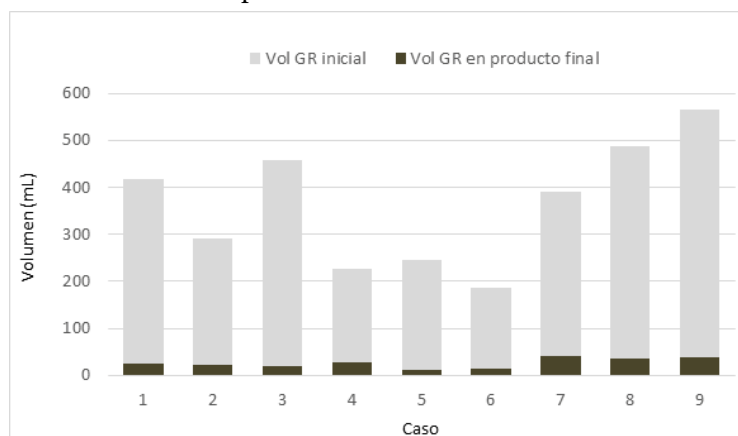
R: receptor, D: donante, NR: no relacionado, REL: relacionado, LMA: leucemia mieloide aguda, LLA: leucemia linfocítica aguda, EGC: enfermedad granulomatosa crónica, SMD: síndrome mielodisplásico, AF: anemia de Fanconi.

Caso	Diagnóstico	ABO Rh R	Peso R (Kg)	Tipo de donante	ABO Rh D
1	LMA	0 POS	36,6	NR	A POS
2	LLA	0 POS	19,0	REL	A POS
3	EGC	0 POS	16,6	NR	B POS
4	LLA	0 POS	25,0	NR	A POS
5	LLA	A POS	14,3	REL	AB POS
6	EGC	0 POS	11,6	REL	B POS
7	LLA	0 POS	60,0	REL	A POS
8	SMD	0 POS	46,0	REL	A POS
9	AF	A POS	25,0	REL	AB POS

Tabla 2. Características de los productos pre-procesamiento. HCT: hematocrito, GB: glóbulos blancos, CN: células nucleadas.

	Vol inicial (mL)	HCT inicial (%)	Rto GB inicial ($\times 10^6$ /ml)	Dosis de CN inicial (10^8 /Kg)	Dosis de CD34+ inicial (10^6 /Kg)
Promedio	1132,5	32,1	20,7	9,0	12,6
DS	397,9	3,8	8,0	3,8	13,4
Mín	577,4	27,2	9,9	4,4	1,7
Máx	1827,0	39	34,4	15,4	37,4

Figura 2. Volumen de glóbulos rojos (GR) en producto inicial y final (post-procesamiento) para cada caso evaluado.



lo que indica una pérdida asociada a esta reducción menor a 26% en promedio. Un solo caso resultó en un recuperado de CN del 60,1%, el resto superaron el 70%. En ningún caso la dosis de CN para infundir fue menor de 3×10^8 /kg de receptor (3,4 - $11,0 \times 10^8$ /Kg) (Figura 3).

En cuanto a la recuperación de CD34+ los resultados fueron similares, se obtuvo una media de 83,6% (62,6 - 99,5%) (Tabla 3); salvo el mismo caso mencionado antes, para el cual se obtuvo un recuperado de CD34+ de 62,6%, en los demás casos analizados el recuperado de CD34+ fue mayor al 74,5%. Se excluyó de este análisis un solo caso donde no se pudo evaluar este recuperado, ya que tanto en la muestra pre procesamiento como la post procesamiento no pudo llevarse a cabo la determinación de CD34+ por presencia de microcoágulos.

Los volúmenes iniciales y finales fueron variables, en todos los casos se redujo entre 12 y 15 veces el volumen original de la colecta (Figura 4). La duración

del protocolo varió entre 1 h 46 min y 5 h 38 min, dependiendo principalmente del volumen inicial a procesar.

Se evaluó la viabilidad celular, en células CD45+ y CD34+ de los productos a infundir. En cuanto a la viabilidad de CD45+ la media del resultado fue 93,3% (87% - 98%) y para viabilidad CD34+ 97% (94% - 99%) (Tabla 3). En este análisis se exceptuó un caso, el mismo para el que no se pudo evaluar el recuperado de CD34+ por el motivo explicado anteriormente.

Los cultivos microbiológicos fueron todos negativos. En cuanto a los efectos adversos post infusión y el seguimiento de los pacientes que recibieron estos productos los resultados se muestran en la tabla 4. Dos pacientes presentaron trazas de hemoglobinuria, ningún paciente presentó alteración de la función renal y un solo paciente manifestó fiebre con escalofríos durante el pasaje de la MO. La mediana de recuperación hematopoyética fue: para NAN >

Figura 3. Dosis de células nucleadas (CN) en producto inicial y final (post-procesamiento) para cada caso evaluado.

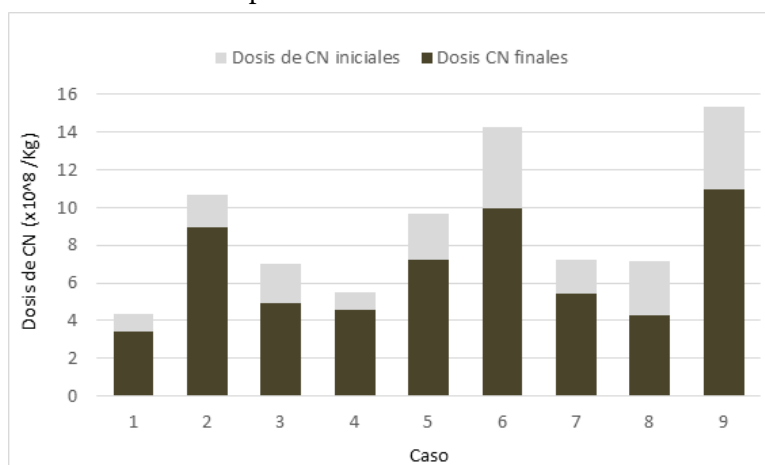
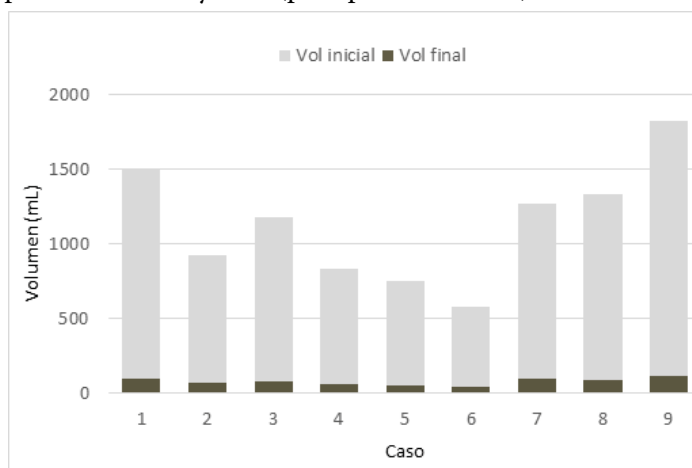


Tabla 3. Características de los productos post-procesamiento y datos de recuperación. GR: glóbulos rojos.

	Tiempo de procesamiento (hs:mm)	Vol final (ml)	Recuperación CN (%)	Dosis final CN (10^8 / kg)	HCT final (%)	Reducción GR (%)	Vol de GR en producto final (ml)	Recuperación CD34+ (%)*	Viabilidad CD45 (%)*	Viabilidad CD34 (%)*
Pro-medio	03:32	79,6	74,1	6,7	33,1	92,5	26,4	83,6	93,3	97,0
DS	01:18	26,5	7,3	2,7	7,3	2,4	10,6	11,1	3,5	1,7
Mín	01:46	40,3	60,1	3,4	24,2	88,2	12,2	62,6	87,0	94,0
Máx	05:38	120,8	84,3	11,0	44,4	95,4	40,2	99,5	98,0	99,0

*El caso 6 fue excluido de este análisis debido a que no pudo realizarse la determinación de CD34+ y viabilidad por citometría de flujo.

Figura 4. Volumen de producto inicial y final (post-procesamiento) en cada uno de los 9 casos evaluados.**Tabla 4.** Reacciones adversas a la infusión y seguimiento de los pacientes que recibieron los productos de CPH-MO procesados. NAN: recuento de neutrófilos absolutos, PLTs: recuento de plaquetas

Caso	Reacciones adversas a la infusión	NAN >0.5x10 ⁹ /L (días)	PLTs>20x10 ⁹ /L (días)	Quimerismo +30 días (%)
1	NO	12	23	100
2	NO	19	28	97
3	Hipertermia + escalofríos	21	29	100
4	NO	15	59	100
5	NO	12	23	99
6	NO	13	20	68
7	Trazas hemoglobinuria	24	46	100
8	NO	20	31	95
9	Trazas hemoglobinuria	12	17	99

0.5 x 10⁹/L de 15 días, y para plaquetas mayor a 20 x 10⁹/L de 28 días. Todos los pacientes presentaron NAN > 500/mm³ antes del día +30, con quimerismos completos del donante (> 95%) salvo un paciente que tuvo 68%, logrando recién el quimerismo completo a los seis meses (caso 6, con diagnóstico de EGC).

Discusión

En nuestro EPC durante muchos años procesamos los productos de CPH-MO con incompatibilidad mayor de grupo ABO con la metodología ampliamente utilizada de sedimentación con HES. Si bien siempre obtuvimos resultados aceptables, este procedimiento suele ser muy laborioso y el personal para llevar a cabo el proceso requiere de experiencia, lo cual implica un entrenamiento previo, además de la disponibilidad del HES de alto peso molecular

que usamos para este propósito. Por otro lado, en nuestro laboratorio funciona hace más de diez años el Banco Público de Sangre de Cordón Umbilical para el cual desde el inicio se ha utilizado para el procesamiento de estas unidades la tecnología Sepax, que es un sistema cerrado y totalmente automatizado para el procesamiento eficiente y consistente de sangre de cordón umbilical (SCU), médula ósea (MO), sangre periférica (SP) y otros productos celulares, lo que nos motivó a emplearlo para otros usos además de la SCU.

Según establecen las normas de INCUCAI y los estándares voluntarios (FACT-JACIE o AABB), hay que realizar validaciones de cada nuevo método o modificación de un procedimiento. Con este objetivo a partir del año 2018 comenzamos a validar el método automatizado para la reducción de glóbulos rojos en productos de CPH-MO con incompatibilidad

mayor de grupo ABO con el cual obtuvimos muy buenos resultados.

Demostramos que el equipo Sepax con el protocolo Smart Reduxv314 permite una reducción muy buena del volumen de GR en estos productos (mayor a 88%), lo que facilitó la infusión de los mismos en nuestros receptores pediátricos sin complicaciones adicionales a las del procedimiento del trasplante, con pérdidas mínimas de celularidad (buen recuadro de CNT y CD34) y sin afectar la viabilidad de los productos.

Este procedimiento permite la utilización de *kits* descartables con un circuito cerrado y un procesamiento automatizado, lo que posibilita una disminución de la curva de aprendizaje, una menor manipulación del producto y la obtención de mejores resultados independientemente de los operadores. Los métodos manuales o semiautomatizados requieren de la experiencia de personal idóneo para la realización de un proceso que puede realizarse pocas veces al año, dependiendo el trabajo del centro de trasplante. Cabe destacar que adquirir el equipamiento requiere

de una inversión inicial costosa, la realización de los mantenimientos preventivos programados a cargo de personal técnico especializado y la adquisición de equipos descartables importados.

Otra cosa a tener en cuenta es el volumen de los productos procesados. Si bien el equipo permite procesar productos en un rango de 30 a 3300 mL, nosotros somos un centro de trasplante pediátrico, por lo que los volúmenes que se manejan generalmente son menores que en los centros de adultos. Para grandes volúmenes de producto inicial podría no ser el mejor procesamiento, ya que se requerirían de muchos ciclos de sedimentación, lo que se traduciría en varias horas de procesamiento adicionales. Como conclusión validamos un método de procesamiento de productos de CPH-MO con incompatibilidad mayor de grupo ABO en pacientes pediátricos con muy buenos resultados. Este método tiene sus ventajas y desventajas, cada centro deberá evaluar y validar el procedimiento que mejor se ajuste a sus necesidades.

Conflictos de interés: Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Contribución de los autores: Todas las personas autoras han efectuado una contribución sustancial a la concepción o el diseño del estudio o a la recolección, análisis o interpretación de los datos; han participado en la redacción del artículo o en la revisión crítica de su contenido intelectual; han aprobado la versión final del manuscrito; y son capaces de responder respecto de todos los aspectos del manuscrito de cara a asegurar que las cuestiones relacionadas con la veracidad o integridad de todos sus contenidos han sido adecuadamente investigadas y resueltas.

References

1. Ljungman P, Bregni M, Brune My col. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions and current practice in Europe 2009. *Bone Marrow Transplantation*. 2010;45:219-34. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19584824>.
2. Raimondi R, Soli M, Lamparelli T y col. ABO-incompatible bone marrow transplantation: a GITMO survey of current practice in Italy and comparison with the literature. *Bone Marrow Transplant*. 2004; 34:321-330. <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1704579>.
3. Stussi G, Halter J, Schanz U, Seebach JD. ABO-histo blood group incompatibility in hematopoietic stem-cell and solid organ transplantation. *Transfusion and Apheresis Science*. 2006; 35:59-69. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2006.05.009>.
4. Rowley SD, Donato ML, Bhattacharyya P. Red blood cell-incompatible allogeneic hematopoietic progenitor cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*. 2011; 46:1167-1185. <https://doi.org/10.1038/bmt.2011.135>.
5. Ciftciler R, Goker H, Buyukaskik Y y col. Impact of ABO blood group incompatibility on the outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transfusion and Apheresis Science*. 2020 Feb;59(1):102597.. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2019.06.024>.
6. Jiménez-Ochoa MA, Contreras-Serrato MM, González-Bautista ML y col. Incompatibilidad ABO en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas y sus complicaciones. *Rev Med Inst Merx Seguro Soc*. 2023;93:12-18.
7. Daniele N, Scerpa MC, Rossi C y col. The processing of stem cell concentrates from the bone marrow in ABO-incompatible transplants:how and when. *Blood Transfus*. 2014; 12:150-158. <https://doi.org/10.2450/2013.0127-13>.
8. Nickel RS, Qayed M, Worthington-White D y col. Infusion Hemolysis after Pediatric Major ABO Mismatched BMT:Comparison of Two Red Blood Cell Depletion Techniques. *Pediatr Blood Cancer*. 2018 Mar;65(3):10.1002/pbc.26883. <https://doi.org/10.1002/pbc.26883>.
9. Resolución INCUCAI 119/2012. Anexo I: Normas para las buenas prácticas de elaboración y laboratorio para preparaciones celulares.
10. Brocklebank AM, Sparrow RL. Sparrow. Enumeration of CD34+ Cells in Cord Blood:A Variation on a Single-Platform Flow Cytometric Method Based on the ISAGHE Gating Strategy. *Cytometry*. 2001; 46:254-261. <https://doi.org/10.1002/cyto.1136>.
11. Carreras E, Rovira M, Valcárcel D. Fallo de injerto. Complicaciones sistemicas del TCPH. Manual de trasplante hematopoyético y terapia celular. 2022. 6ta Edición.
12. Patrick K, Lau W, Gassas A y col. Major ABO incompatible BMT in children:determining what residual volume of donor red cells can safely be infused following red cell depletion. *Bone Marrow Transplant*. 2015; 50:536-539. <https://doi.org/10.1038/bmt.2014.309>.
13. Cushing MM, Hendrickson JE. Transfusion support for hematopoietic stem cell transplant recipient. AABB Technical manual. 19^{na}. edición.
14. Mohamed A. Kharfan-Dabaja, Ambuj Kumar, Ernesto Ayala y col. Standardizing Definitions of Hematopoietic Recovery, Graft Rejection, Graft Failure, Poor Graft Function, and Donor Chimerism in Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: A Report on Behalf of the American Society for Transplantation and Cellular Therapy. *Transplantation and Cellular Therapy*. 2021; 27: 642-649. <https://doi.org/10.1016/j.jtct.2021.04.007>.



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.