



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας  
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών  
ΜΠΣ Βιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνωση

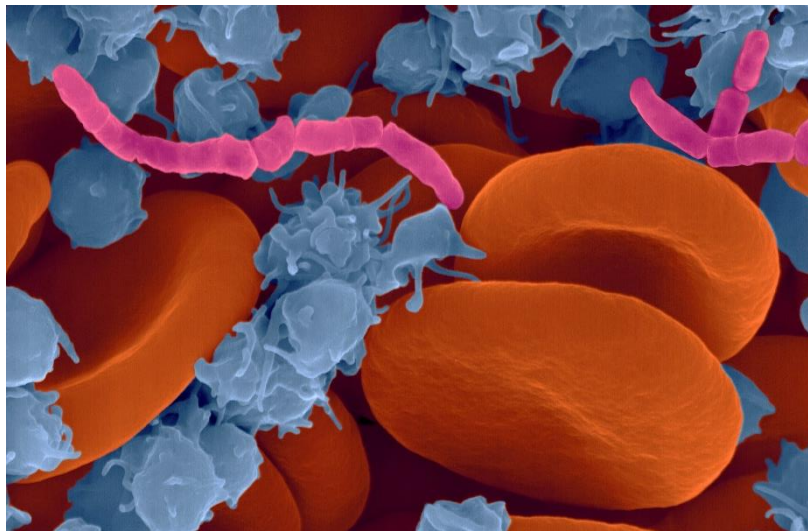


ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

## Αποθήκευση αιμοπεταλίων και ανάπτυξη βακτηρίων

POST GRADUATE THESIS

### Platelet storage and bacterial growth



ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

**Δήμητρα Ι. Καραμιχαλέλη**  
Dimitra I. Karamichaleli

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

**Αναστάσιος Γ. Κριεμπάρδης**  
Anastasios G. Kriebardis

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2023



Faculty of Health and Caring Professions  
Department of Biomedical Sciences  
Postgraduate program:  
Biomedical methods and technology in diagnosis



POST GRADUATE THESIS  
**Platelet storage and bacterial growth**

DIMITRA I. KARAMICHALELI

21009

dm\_kr2004@yahoo.gr

FIRST SUPERVISOR

ANASTASIOS KRIEBARDIS

SECOND SUPERVISOR

SOTIRIOS FORTIS

AIGALEO 2023

## Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 3/10/2023

	Ονόματα εξεταστών	Υπογραφή
1 <sup>ος</sup> Εξεταστής	Αναστάσιος Κριεμπάρδης	
2 <sup>ος</sup> Εξεταστής	Σωτήριος Φόρτης	

## Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Δήμητρα Καραμιχαλέλη του Ιωάννη, με αριθμό μητρώου 21009 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Βοϊατρικές μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Η Δηλούσα

Δήμητρα Ι. Καραμιχαλέλη

**Εικόνα εξωφύλλου:** Βακτηριαμμία. Διακρίνονται τα ραβδοειδή βακτήρια (ροζ χρώμα), τα ερυθρά αιμοσφαίρια (κόκκινο χρώμα) και τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια (γαλάζιο χρώμα). Ηλεκτρονική μικροφωτογραφία σάρωσης (SEM), μεγέθυνση X1600, φωτ.: Dennis Kunkel.  
[πηγή: <https://www.sciencephoto.com/>]

## Ευχαριστίες

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια των σπουδών μου στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα «Βιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνωση» του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής.

Με την ολοκλήρωσή της θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντά μου, καθηγητή κ. Αναστάσιο Κριεμπάρδη, υπεύθυνο του ΠΜΣ, για την ανάθεση του θέματος και την πολύτιμη καθοδήγησή του. Για τη βοήθεια και την άμεση ανταπόκρισή του, ευχαριστώ επίσης τον δεύτερο εισηγητή κ. Σωτήριο Φόρτη.

Οφείλω να ευχαριστήσω τον σύζυγό μου Παναγιώτη Φατσέα, χημικό, τόσο για την παρότρυνσή του για τη συμμετοχή μου στο ΠΜΣ όσο και για τις προτάσεις και τις επισημάνσεις του. Ευχαριστώ, τέλος, τη μητέρα μου και τις αδερφές μου, αλλά πάνω από όλα την κόρη μου Μυρτώ για την υπομονή, επιμονή και ωριμότητα που υπέδειξε αυτά τα δύο χρόνια.

στην κόρη μου Μυρτώ...

## Περίληψη

Η βακτηριακή σήψη παραμένει η πιο συχνά μεταδιδόμενη μέσω της μετάγγισης ασθένεια. Ο κίνδυνος αυτός είναι περισσότερο αυξημένος στην περίπτωση των αιμοπεταλίων οι συνθήκες αποθήκευσης των οποίων ευνοούν την ανάπτυξη των βακτηρίων. Τα περισσότερα από αυτά τα βακτήρια προέρχονται από τη χλωρίδα του δέρματος του δότη και πολλαπλασιάζονται μέσα στους ασκούς των αιμοπεταλίων, ενώ ορισμένα από αυτά σχηματίζουν βιοφίλμ.

Τα τελευταία χρόνια η αναγνώριση του κινδύνου βακτηριακής επιμόλυνσης των αιμοπεταλίων οδήγησε στην ανάπτυξη διαφόρων μεθόδων και στην υιοθέτηση διαφόρων παρεμβάσεων που είχαν ως αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση του κινδύνου εμφάνισης σηπτικών επιπλοκών. Σε ένα πρώτο επίπεδο οι παρεμβάσεις αυτές επικεντρώνονται στον δότη και στη διαδικασία συλλογής των αιμοπεταλίων και περιλαμβάνουν ενέργειες όπως η βελτίωση της συνέντευξης του δότη, η απολύμανση της περιοχής φλεβοκέντησης και η εκτροπή του αρχικού όγκου του αίματος που συλλέγεται.

Σε δεύτερο επίπεδο, οι παρεμβάσεις επικεντρώνονται στην ασφάλεια του προϊόντος και περιλαμβάνουν ταχείες μεθόδους ανίχνευσης, αυτοματοποιημένες μεθόδους καλλιέργειας ή τεχνικές όπως η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης, η φασματομετρία μάζας κ.λπ. Παράλληλα έχουν αναπτυχθεί και οι λεγόμενες τεχνικές μείωσης παθογόνων, στις οποίες τα αιμοπετάλια υποβάλλονται σε επεξεργασία με υπεριώδη ακτινοβολία και μία φωτοευαίσθητη χημική ένωση που αναστέλλει την ανάπτυξη ή καταστρέφει τους παθογόνους μικροοργανισμούς.

Κάθε μία από αυτές τις παρεμβάσεις παρουσιάζει πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα ενώ καμία από αυτές δεν μπορεί να εξασφαλίσει απόλυτη ασφάλεια. Καλύτερα αποτελέσματα επιτυγχάνονται με την υιοθέτηση στρατηγικών που αξιοποιούν περισσότερες από μία μεθόδους.

Η παρούσα εργασία αποτελεί μια βιβλιογραφική ανασκόπηση στο εκτεταμένο και πολυδιάστατο αυτό πεδίο, παρουσιάζοντας τα μέχρι σήμερα δεδομένα, τις διαθέσιμες στρατηγικές διαχείρισης καθώς και τις προοπτικές που διαμορφώνονται για το μέλλον.

**Λέξεις κλειδιά:** αιμοπετάλια, συμπυκνωμένα αιμοπετάλια, βακτήρια, βακτηριακή επιμόλυνση, σήψη, ανίχνευση βακτηρίων, τεχνολογία μείωσης παθογόνων



## Abstract

Bacterial sepsis remains the most commonly transfusion transmitted disease. This risk is most increased in the case of platelets, the storage conditions of which are conducive to bacterial growth. Most of these bacteria originate from the skin flora of the donor and multiply in the platelet concentrates, whereas some of them forming biofilms.

In recent years, recognition of the risk of bacterial contamination of platelets has led to the development of various methods and the adoption of various interventions that have resulted in a significant reduction in the risk of septic complications. At the first level, these interventions focus on the donor and the platelet collection process and include actions such as improving donor interviewing, disinfecting the venipuncture site and diverting the initial volume of blood collected.

At the second level, interventions focus on product safety and include rapid detection methods, automated culture methods or techniques such as polymerase chain reaction, mass spectrometry etc. Additionally so-called pathogen reduction techniques have been developed, in which platelets are treated with ultraviolet radiation and a photosensitive chemical compound that inhibits the growth or destroys pathogens.

Each of these interventions has advantages and disadvantages and none of them can ensure absolute safety. Better results are achieved by adopting strategies that utilize more than one method.

This dissertation is a literature review in this extensive and multi-dimensional field, presenting the data to date, the available management strategies as well as the future prospects.

**Key words:** platelets, platelet concentrates, bacteria, bacterial contamination, sepsis, bacterial detection, pathogen reduction technology

## Περιεχόμενα

.....	i
Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας .....	iv
Περίληψη .....	viii
Abstract.....	ix
Συνομογραφίες.....	xiii
Πρόλογος .....	1
<b>Κεφάλαιο 1. Αιμοπεταλιακά προϊόντα .....</b>	<b>4</b>
<b>1. 1. Τα αιμοπετάλια.....</b>	<b>4</b>
<b>1. 2. Παράγωγα των Αιμοπεταλίων .....</b>	<b>5</b>
1. 2. 1. Αιμοπετάλια από ολικό αίμα .....	5
___α. Πλάσμα Πλούσιο σε Αιμοπετάλια.....	5
___β. Αιμοπετάλια Λευκοκυτταρικής Στιβάδας.....	6
1. 2. 2. Αιμοπετάλια από αφαίρεση.....	6
<b>1. 3. Αποθήκευση των αιμοπεταλίων .....</b>	<b>7</b>
<b>1. 4. Νεότερες προοπτικές .....</b>	<b>7</b>
1. 4. 1. Κατεψυγμένα αιμοπετάλια .....	7
1. 4. 2. Λυοφιλοποιημένα αιμοπετάλια.....	8
1. 4. 3. In vitro παραγωγή αιμοπεταλίων.....	8
<b>Κεφάλαιο 2. Αλληλεπίδραση αιμοπεταλίων και βακτηρίων .....</b>	<b>9</b>
<b>2. 1. Τα αιμοπετάλια στην ανοσολογική απόκριση .....</b>	<b>9</b>
<b>2. 2. Αλληλεπίδραση βακτηρίων και αιμοπεταλίων.....</b>	<b>9</b>
2. 2. 1. Αλληλεπίδραση βακτηρίων με αιμοπεταλιακούς υποδοχείς της αιμόστασης .....	10
2. 2. 2. Αλληλεπίδραση βακτηρίων με αιμοπεταλιακούς ανοσολογικούς υποδοχείς.....	11
2. 2. 3. Αλληλεπίδραση βακτηριακών προϊόντων έκκρισης με αιμοπετάλια .....	12
2. 2. 4. Εσωτερίκευση βακτηρίων από τα αιμοπετάλια .....	13
<b>2. 3. Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στην παθοφυσιολογία της σήψης.....</b>	<b>13</b>
<b>Κεφάλαιο 3. Βακτηριακή επιμόλυνση των αιμοπεταλίων .....</b>	<b>15</b>
3. 1. Βακτηριακές λοιμώξεις μεταδιδόμενες από μετάγγιση αιμοπεταλίων .....	15
3. 2. Βακτηριακή επιμόλυνση των αιμοπεταλίων.....	16
3. 3. Ο κατάλογος αναφοράς PTRBR του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας.....	18
3. 4. Ο σχηματισμός βιοφίλμ.....	19

3. 5. Παράγοντες που ευνοούν την ανάπτυξη βακτηρίων στα αιμοπετάλια .....	21
3. 6. Η βακτηριακή επίδραση στην αλλοίωση αποθήκευσης των αιμοπεταλίων .....	21
<b>Κεφάλαιο 4. Μέθοδοι πρόληψης βακτηριακών επιμολύνσεων .....</b>	<b>23</b>
4. 1. Συνέντευξη/Εξέταση του δότη .....	23
4. 2. Απολύμανση των σημείων φλεβοκέντησης.....	24
4. 3. Εκτροπή του αρχικού όγκου συλλεχθέντος αίματος .....	25
4. 4. Ψυχρή αποθήκευση αιμοπεταλίων .....	26
<b>Κεφάλαιο 5. Μέθοδοι ανίχνευσης βακτηριακών επιμολύνσεων .....</b>	<b>28</b>
5. 1. Μέτρηση μεταβολικών παραγόντων.....	28
5. 1. 1. Μέτρηση pH.....	28
5. 1. 2. Μέτρηση επιπέδων γλυκόζης.....	28
5. 2. Περιδίνηση αιμοπεταλίων .....	29
5. 3. Μέθοδοι Χρώσης .....	29
5. 3. 1. Χρώση Gram .....	30
5. 3. 2. Χρώση ακριδίνης .....	30
5. 4. Μέθοδοι ταχείας ανίχνευσης .....	30
5. 4. 1. PGD/PGDprime .....	31
5. 4. 2. BacTx.....	32
5. 5. Μέθοδοι αυτοματοποιημένης καλλιέργειας .....	33
5. 5. 1. BacT/ALERT και BACTEC .....	34
5. 5. 2. VersaTREK.....	35
5. 5. 3. eBDS.....	36
5. 5. 4. Μικροθερμιδομετρία .....	36
5. 6. Μοριακές τεχνικές ανίχνευσης νουκλεϊκών οξέων .....	36
5. 7. Κυτταρομετρία ροής .....	38
5. 8. Φασματομετρία μάζας MALDI-TOF .....	38
5. 9. Μέθοδοι ταυτοποίησης βακτηρίων.....	39
<b>Κεφάλαιο 6. Τεχνικές μείωσης παθογόνων .....</b>	<b>40</b>
6. 1. INTERCEPT Blood System for Platelets.....	40
6. 2. Mirasol Pathogen Reduction Technology System.....	41
6. 3. THERAFLEX UV-Platelets.....	43
6. 4. Επιπτώσεις των PRTs στα αιμοπετάλια .....	43
6. 4. 1. Επιπτώσεις στους βιολογικούς και μεταβολικούς δείκτες.....	43

6. 4. 2. Επιπτώσεις στις λειτουργικές αποκρίσεις των αιμοπεταλίων.....	44
6. 4. 3. Αλλαγές στο πρωτέωμα των αιμοπεταλίων.....	45
<b>6. 5. Αντιμικροβιακή μπλε ακτινοβολία .....</b>	<b>46</b>
<b>Κεφάλαιο 7. Επιλογές και στρατηγικές διαχείρισης.....</b>	<b>47</b>
<b>7. 1. Παράγοντες που επηρεάζουν την ορθότητα των αποτελεσμάτων .....</b>	<b>47</b>
7. 1. 1. Όγκος δείγματος.....	47
7. 1. 2. Χρόνος δειγματοληψίας.....	48
7. 1. 3. Χρόνος ανίχνευσης.....	48
<b>7. 2. Στρατηγικές διαχείρισης.....</b>	<b>49</b>
7. 2. 1. Στρατηγικές με βάση τον χρόνο ελέγχου .....	49
7. 2. 2. Οι στρατηγικές του FDA.....	50
7. 2. 3. Η προσέγγιση «Αρνητικό μέχρι σήμερα».....	50
<b>7. 3. Οικονομική διάσταση του ζητήματος .....</b>	<b>51</b>
<b>Συζήτηση .....</b>	<b>53</b>
<b>Αναφορές.....</b>	<b>57</b>
<b>Πηγές Εικόνων.....</b>	<b>71</b>

## Συντομογραφίες

### Αγγλική ορολογία

### Ελληνική ορολογία

aBL	Antimicrobial blue light	Αντιμικροβιακή μπλε ακτινοβολία
ADP	Adenosine diphosphate	Διφωσφορική αδενοσίνη
AtI	Autolysin	Αυτολυσίνη
ATP	Adenosine triphosphate	Τριφωσφορική αδενοσίνη
BC	Buffy Coat	Λευκοκυτταρική στιβάδα
BM	Bone Marrow	Μυελός των οστών
CAD	Compound Adsorption Device	
CB	Cord Blood	Αίμα ομφάλιου λώρου
CCL5	C-C motif Chemokine Ligand 5	
CDC	Center for Disease Control and Prevention	Κέντρο ελέγχου και πρόληψης ασθενειών
CDP	Citrate-Phosphate-Dextrose	Κιτρικό-Φωσφορικό-Δεξτρόζη
CFU	Colony Forming Unit	Μονάδα σχηματισμού αποικιών
CHIP	Chemotaxis Inhibitory Protein	
Clf	Clumping Factor	
CLIP	Cryopreserved vs Liquid Platelets	
CPD	Citrate Phosphate Dextrose solution	Διάλυμα Κιτρικού-Φωσφορικού-Δεξτρόζης
DIC	Disseminated Intravascular Coagulation	Διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη
DMSO	Dimethyl sulfoxide	Διμέθυλο σουλφοξείδιο
DNA	Deoxyribonucleic acid	Δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ
Eap	Extracellular adhesive protein	Πρωτεΐνη εξωκυττάριας προσκόλλησης
ECBS	Expert Committee on Biological Standardization	Επιτροπή εμπειρογνομώνων για τη βιολογική προτυποποίηση
EDQM	European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare	Ευρωπαϊκή Διεύθυνση για την Ποιότητα των Φαρμάκων και της Υγείας
Efb	Extracellular fibrinogen binding protein	Εξωκυττάρια πρωτεΐνη δέσμησης στο ινωδογόνο
FDA	United States Food and Drug Administration	Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ
FLIPr	Formyl peptide Receptor-like	
Fnbp	Fibronectin binding protein	
FOG	Fibrinogen-binding protein of G streptococci	
GP	Glycoprotein	Γλυκοπρωτεΐνη
HBV	Hepatitis B Virus	Ιός της ηπατίτιδας Β
HCV	Hepatitis C Virus	Ιός της ηπατίτιδας C
HIV	Human Immunodeficiency Virus	Ιός της ανθρώπινης ανοσοεπάρκειας
HSC	Hematopoietic Stem Cell	Αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα
ISBT	International Society for Blood Transfusion	Διεθνής εταιρεία μεταγγίσης αίματος
Isd	Iron-regulated Surface Determinant	
LED	Light Emitting Diode	Δίοδος εκπομπής φωτός
LP	Lyophilized Platelets	Λυοφιλοποιημένα αιμοπετάλια
LPS	Lipopolysaccharide	Λιποπολυσακχαρίτης
LTA	Lipoteichoic Acid	Λιποτεϊχοϊκό οξύ

LVDS	Large Volume Delayed Sample	
MALDI-TOF	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight	
NAT	Nucleic Acid Detection	Ανίχνευση νουκλεϊκών οξέων
NAPSAC	Non Invasive Assessment of Platelet Shape and Concentration	
NET	Neutrophil Extracellular Traps	Εξωκυττάρια παγίδα ουδετερόφιλων
PadA	Platelet adherence protein A	
PAS	Platelet Additive Solution	Θρεπτικό διάλυμα αιμοπεταλίων
PC	Platelet concentrate	Συμπύκνωμα αιμοπεταλίων
PCR	Polymerase chain reaction	Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης
PEI	Paul Ehrlich Institut	Ινστιτούτο Paul Ehrlich
PGBP	Peptidoglycan binding protein	Πρωτεΐνη πρόσδεσης πεπτιδογλυκάνης
PGD	Pan Genera Detection	
PMS	Platelet Monitoring System	
PPP	Platelet Poor Plasma	Πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια
PORT	Point of Release Testing	Έλεγχος τη στιγμή της αποδέσμευσης
PRT	Pathogen Reduction Technique	Τεχνική μείωσης παθογόνων
PRP	Platelet Rich Plasma	Πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια
PSC	Pluripotent Stem Cell	Πολυδύναμο βλαστικό κύτταρο
PSL	Platelet Storage Lesion	Αλλοίωση αποθήκευσης αιμοπεταλίων
PTRBR	Platelet Transfusion Relevant Bacterial Reference	Βακτηριακά στελέχη αναφοράς που σχετίζονται με τη μετάγγιση αιμοπεταλίων
RDP	Random Donor Platelet	Αιμοπετάλια τυχαίου δότη
RNA	RiboNucleic Acid	Ριβονουκλεϊκό οξύ
ROS	Reactive Oxygen Species	Δραστικές μορφές αναγωγής οξυγόνου
RT	Rapid Test	Δοκιμασία ταχείας ανίχνευσης
SBC	Secondary Bacterial Culture	Δευτερογενής βακτηριακή καλλιέργεια
ScpB	Segregation and condensation protein B	
SDP	Single Donor Platelet	Αιμοπετάλια μονού δότη
SdrG	Serine-aspartate repeat protein G	
SERS	Surface Enhanced RAMAN Spectroscopy	Φασματοσκοπία RAMAN με επιφανειακή ενίσχυση
SpSL	Staphylococcus Pseudintermedius Surface Protein L	
SSL	Staphylococcal Superantigen like	
STR	Septic Transfusion Reaction	Σηπτική αντίδραση μετάγγισης
TLR	Toll-like Receptor	
TRALI	Transfusion Related Acute Lung Injury	Σύνδρομο οξείας βλάβης του πνεύμονα σχετιζόμενο με μετάγγιση
TRAP	Thrombin Receptor Activating Peptide	Πεπτίδιο ενεργοποίησης του υποδοχέα της θρομβίνης
TTBI	Transfusion Transmitted Bacterial Infection	Μεταδιδόμενη με μετάγγιση βακτηριακή λοίμωξη
TTD	Time To Detect	Χρόνος ανίχνευσης
TTID	Transfusion Transmitted Infectious Disease	Μεταδιδόμενη με μετάγγιση μολυσματική ασθένεια
UV	Ultraviolet	Υπεριώδες
vWF	von Willebrand Factor	Παράγοντας von Willebrand
WHO	World Health Organization	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας



## Πρόλογος

Όταν το 1873 - 1874 ο William Osler, ένας από τους πρώτους επιστήμονες που αναγνώρισαν τα αιμοπετάλια ως το τρίτο σχηματοποιημένο στοιχείο του αίματος, εξέτασε στο μικροσκόπιο το αίμα ποντικών, επεσήμανε ότι οι κοκκιώδεις μάζες για τις οποίες είχε μιλήσει λίγο νωρίτερα ο δάσκαλός του Edward Schaefer, προέρχονταν από συγκόλληση μικρών σωμάτων που εμφανίζονταν ως μεμονωμένες μονάδες στην κυκλοφορία. Ο Osler γράφει: «Αυτοί οι ωχροί, στρογγυλοί δίσκοι έχουν το  $1/8$  έως το  $1/2$  του μεγέθους ενός ερυθρού σωματιδίου», ενώ σε μια σχεδιαστική απεικόνιση που δημιούργησε, εμφάνιζε αυτές τις κοκκιώδεις μάζες ως μεμονωμένα στοιχεία της κυκλοφορίας, τα οποία συσσωρεύονταν όταν το αίμα χυνόταν.

Χωρίς να είναι βέβαιος για το τι τελικά ήταν αυτά τα σωματίδια, ο Osler τα θεώρησε πιθανότατα ως βακτήρια, γι' αυτό και στον τίτλο του άρθρου που δημοσίευσε εκείνη την περίοδο αναφέρθηκε ατυχώς σε «οργανισμούς». Λίγα χρόνια αργότερα, το 1881, μελετώντας την ελκώδη ενδοκαρδίτιδα, ο Osler παρατήρησε τη συσσώρευση κοκκιωδών σωματίων στις βλάβες των καρδιακών βαλβίδων μαζί με βακτήρια, συντηρώντας έτσι τη σύγχυσή του μεταξύ αιμοπεταλίων και βακτηρίων (Stone, 2003).

Αυτή η λανθασμένη αντίληψη του Osler είναι ίσως η πρώτη βιβλιογραφική αναφορά που αγγίζει την πολύπλοκη σχέση αιμοπεταλίων και βακτηρίων. Πλέον, με τη ραγδαία εξέλιξη της επιστήμης, η φύση των αιμοπεταλίων είναι επαρκώς μελετημένη, ενώ η συμμετοχή τους στις βιολογικές διεργασίες του οργανισμού αποδεικνύεται όλο και πιο σύνθετη.

Περισσότερο γνωστός και καλύτερα μελετημένος είναι ο ρόλος των αιμοπεταλίων στην αιμόσταση, με τη θεραπευτική τους αξία σε περιπτώσεις θρομβοπενίας να είναι πολύτιμη. Είναι χαρακτηριστικό ότι το 2019, στην Ευρώπη παράχθηκαν 2.7 εκατομμύρια μονάδων αιμοπεταλίων, από τα οποία τα 2.1 εκατομμύρια μεταγγίστηκαν σε ασθενείς (European Commission, 2020). Η μετάγγιση αιμοπεταλίων, ωστόσο, συνδέεται με κίνδυνο πρόκλησης βακτηριακής σήψης, που είναι αυξημένος σε σχέση με τα υπόλοιπα παράγωγα του αίματος, καθώς οι συνθήκες αποθήκευσης των αιμοπεταλίων είναι ιδιαίτερα ευνοϊκές για την ανάπτυξη βακτηρίων.

Το κρίσιμο αυτό ζήτημα της βακτηριακής επιμόλυνσης των αποθηκευμένων αιμοπεταλίων, αποτελεί το αντικείμενο της παρούσας εργασίας. Στα επτά κεφάλαιά που



την απαρτίζουν περιλαμβάνεται μία ανασκόπηση της σύγχρονης βιβλιογραφίας, που χωρίς να φιλοδοξεί να γίνει εξαντλητική, προσπαθεί να παρουσιάσει όσο το δυνατόν πληρέστερα τις διαφορετικές πτυχές του θέματος.

Στο πρώτο κεφάλαιο δίνονται οι βασικές πληροφορίες για τα αιμοπετάλια και τα αιμοπεταλιακά παράγωγα που είναι σήμερα διαθέσιμα για μετάγγιση. Παρουσιάζονται επίσης σε συντομία οι προοπτικές για την ανάπτυξη νέων αιμοπεταλιακών προϊόντων, που στοχεύουν στην αύξηση των αποθεμάτων και κυρίως της ασφάλειας των διαθέσιμων αιμοπεταλίων στο μέλλον.

Στο δεύτερο κεφάλαιο της εργασίας θεωρήθηκε χρήσιμη η παρουσίαση της αλληλεπίδρασης των αιμοπεταλίων με τα βακτήρια, καθώς και του αμφιλεγόμενου ρόλου των αιμοπεταλίων στις διαδικασίες της φλεγμονής και της σήψης. Η κατανόηση των μηχανισμών αυτών μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη νέων τεχνικών ανίχνευσης των βακτηριακών επιμολύνσεων, αλλά και πρόληψης των σηπτικών αντιδράσεων που σχετίζονται με αυτές.

Το τρίτο κεφάλαιο συγκεντρώνει τις απαραίτητες πληροφορίες για τα βακτήρια που απαντούν στα αποθηκευμένα αιμοπετάλια, τους τρόπους επιμόλυνσης και τους παράγοντες που ευνοούν την επιβίωση και την περαιτέρω ανάπτυξή τους. Παρουσιάζεται επίσης το πρόβλημα της δημιουργίας βακτηριακών βιοφίλμ, ένα ζήτημα που έχει ανακύψει σχετικά πρόσφατα και φαίνεται να θέτει σε δοκιμασία πολλές, αν όχι όλες, τις παρεμβάσεις που υλοποιούνται σήμερα για την ανίχνευση και καταπολέμηση των βακτηρίων.

Οι παρεμβάσεις αυτές, σε επίπεδο πρόληψης, ανίχνευσης, ταυτοποίησης και μείωσης των βακτηριακών επιμολύνσεων, παρουσιάζονται στα τρία κεφάλαια που ακολουθούν. Πιο συγκεκριμένα στο τέταρτο κεφάλαιο συγκεντρώνονται οι ενέργειες που μπορούν να πραγματοποιηθούν για την αποφυγή της βακτηριακής επιμόλυνσης και λαμβάνουν χώρα κυρίως κατά τη διάρκεια της συλλογής των αιμοπεταλίων. Στο πέμπτο κεφάλαιο αναλύονται οι μέθοδοι ανίχνευσης των βακτηρίων που είναι διαθέσιμες για τα αιμοπετάλια, στις οποίες περιλαμβάνονται τεχνικές ταχείας ανίχνευσης, αυτοματοποιημένες μέθοδοι καλλιέργειας, μοριακές τεχνικές, τεχνολογίες φασματομετρίας μάζας κ.λπ.

Οι τεχνικές μείωσης των παθογόνων μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται για τα αιμοπετάλια, παρουσιάζονται στο έκτο κεφάλαιο. Σκόπιμα έχει επιλεγεί η χρήση του

όρου «τεχνικές μείωσης παθογόνων» έναντι του «τεχνικές αδρανοποίησης παθογόνων», αφενός γιατί αντικατοπτρίζει περισσότερο το αποτέλεσμα που επιτυγχάνεται με την εφαρμογή τους και αφετέρου γιατί συμφωνεί με τις σύγχρονες τάσεις της διεθνούς βιβλιογραφίας (pathogen reduction technologies).

Όλες ανεξαιρέτως οι τεχνικές και οι μέθοδοι που συγκεντρώνονται στα κεφάλαια αυτά, έχουν πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα ενώ δεν μπορούν να εγγυηθούν την πλήρη εξάλειψη του κινδύνου μετάγγισης βακτηριακά μολυσμένων αιμοπεταλίων. Καλύτερα αποτελέσματα επιτυγχάνονται από την υιοθέτηση στρατηγικών οι οποίες συνδυάζουν διαφορετικές τεχνικές. Οι στρατηγικές αυτές και οι βασικές κατευθυντήριες γραμμές διαχείρισής τους συνοψίζονται στο έβδομο και τελευταίο κεφάλαιο της εργασίας. Στο ίδιο κεφάλαιο παρουσιάζεται με συντομία και η, όχι μικρής σημασίας, οικονομική διάσταση του ζητήματος.

Η εργασία ολοκληρώνεται με την ενότητα της συζήτησης, όπου μέσα από μια κριτική προσέγγιση τίθενται προβληματισμοί για τη διαχείριση του προβλήματος και παρουσιάζονται ζητήματα που παραμένουν ακόμη ανοικτά, αποτελώντας τις προκλήσεις του μέλλοντος στο πολυδιάστατο αυτό ερευνητικό πεδίο.

## Κεφάλαιο 1. Αιμοπεταλιακά προϊόντα

Από την πρώτη επιτυχημένη χορήγηση τους για την αντιμετώπιση αιμορραγικών διαταραχών το 1910 (Duke, 1983) μέχρι σήμερα, τα αιμοπετάλια αποτελούν έναν από τους πιο αποτελεσματικούς και απαραίτητους ιατροφαρμακευτικούς παράγοντες. Γι' αυτό και ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας τα συμπεριλαμβάνει στον «Κατάλογο Βασικών Φαρμάκων» (World Health Organization Model List of Essential Medicines) (WHO, 2021).

### 1. 1. Τα αιμοπετάλια

Τα αιμοπετάλια προέρχονται από τα μεγακαρυοκύτταρα και είναι τα μικρότερα σε μέγεθος στοιχεία του αίματος. Έχουν δισκοειδές σχήμα με διάμετρο 2 - 4  $\mu\text{m}$  και συνήθως παραμένουν ζωντανά στην κυκλοφορία για 7 - 10 ημέρες (van der Meijden & Heemskerck, 2019). Ο φυσιολογικός αριθμός τους κυμαίνεται από 150 έως 400 x 10<sup>3</sup>/ $\mu\text{L}$  αίματος. Ένας μέσος υγιής ενήλικας παράγει περίπου 10<sup>11</sup> αιμοπετάλια την ημέρα ενώ τα «γηρασμένα» αιμοπετάλια καταστρέφονται μέσω φαγοκυττάρωσης στον σπλήνα και το ήπαρ (Ghoshal & Bhattacharyya, 2014).

Τα αιμοπετάλια είναι μοναδικά ως προς τη δομή τους καθώς δεν διαθέτουν πυρήνα, έχουν όμως διακριτά μιτοχόνδρια. Αν και απύρρηνα, τις περισσότερες φορές αναφέρονται ως κύτταρα, κυρίως επειδή μοιράζονται σημαντικές ιδιότητες με αυτά (Garraud & Cognasse, 2015). Διαθέτουν δύο σημαντικές αποθηκευτικές δομές, τα  $\alpha$  και τα πυκνά κοκκία, όπου αποθηκεύονται βιολογικά ενεργά μόρια που εμπλέκονται στις διαδικασίες της πήξης αλλά και στην αλληλεπίδραση με άλλα κύτταρα. Στα πιο πολυπληθή  $\alpha$ -κοκκία εμπεριέχονται πρωτεΐνες (GPIIb/IIIa, ινωδογόνο, vWF), αντιμικροβιακά πεπτίδια, Ρ-σελεκτίνη κ.α., ενώ στα πυκνά κοκκία αποθηκεύονται κυρίως ασβέστιο, κάλιο, σεροτονίνη και νουκλεοτίδια όπως τα ATP και ADP.

Στην πλασματική μεμβράνη τους, που αποτελείται από μια φωσφολιπιδική διπλοστιβάδα, τα αιμοπετάλια εκφράζουν μια πληθώρα υποδοχέων, που είναι απαραίτητοι για τις διεργασίες στις οποίες συμμετέχουν. Γνωστότερες από αυτές είναι η αιμόσταση και ο σχηματισμός του θρόμβου, σημαντικός ωστόσο είναι ο ρόλος που διαδραματίζουν τα αιμοπετάλια σε διαδικασίες όπως η ανάπτυξη των ιστών, η φλεγμονή, και η ανοσολογική απόκριση.

Δεν θα ήταν υπερβολή να πούμε ότι τα αιμοπετάλια είναι «έξυπνα» κύτταρα του αίματος, ικανά να προσαρμόζουν την απόκρισή τους ανάλογα με τους διαφορετικούς τύπους κινδύνου που καλούνται να αντιμετωπίσουν.

## **1. 2. Παράγωγα των Αιμοπεταλίων**

Τα αιμοπεταλιακά παράγωγα περιλαμβάνουν εκείνα που προέρχονται από ολικό αίμα και εκείνα που συλλέγονται με τη διαδικασία της αφαίρεσης. Πολλές φορές δημιουργείται σύγχυση καθώς στη βιβλιογραφία δεν γίνεται πάντα διαχωρισμός με βάση τη μέθοδο συλλογής. Ο FDA αποκαλεί τα αιμοπετάλια που προέρχονται από ολικό αίμα «αιμοπετάλια», «αιμοπετάλια τυχαίου δότη» (random donor platelets, RDPs) ή «συμπυκνωμένα αιμοπετάλια» (platelet concentrates, PCs). Αντίστοιχα, τα αιμοπετάλια που συλλέγονται από αφαίρεση αναφέρονται ως «αιμοπεταλιαφαίρεση» (plateletpheresis) ή «αιμοπετάλια μονού δότη» (single donor platelets, SDPs).

Μια συνήθης δόση συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων για έναν ενήλικα περιλαμβάνει  $3 - 4 \times 10^{11}$  αιμοπετάλια. Οι μονάδες αιμοπεταλίων που προέρχονται από ολικό αίμα περιέχουν συνήθως  $5.5 \times 10^{10}$  αιμοπετάλια, κάτι που σημαίνει ότι θα πρέπει να συγκεντρωθούν περίπου 4 - 6 μονάδες για να παρασκευαστεί μια δόση. Από την άλλη πλευρά, τα αιμοπετάλια μιας αφαίρεσης μπορεί να είναι 2 - 3 φορές περισσότερα από το ελάχιστο απαιτούμενο όριο, με αποτέλεσμα να διαμοιράζονται για να δώσουν περισσότερες δόσεις αιμοπεταλίων (Cushing & DeSimone, 2019).

### **1. 2. 1. Αιμοπετάλια από ολικό αίμα**

Υπάρχουν δύο βασικές μέθοδοι παραγωγής αιμοπεταλίων από ολικό αίμα. Η μέθοδος του πλούσιου σε αιμοπετάλια πλάσματος (Platelet Rich Plasma, PRP-PCs) και η μέθοδος της λευκοκυτταρικής στιβάδας (Buffy Coated Platelets, BC-PCs). Και οι δύο στηρίζονται στον διαχωρισμό των στοιχείων του αίματος, που έχουν διαφορετικά ειδικά βάρη, σε διακριτά στρώματα μέσω φυγοκέντρησης (Tynggard, 2009). Σε γενικές γραμμές δεν υπάρχει ένα κοινό πρωτόκολλο (π.χ. στροφές φυγοκέντρησης) για την παρασκευή τους.

#### **α. Πλάσμα Πλούσιο σε Αιμοπετάλια**

Το PRP παρασκευάζεται από φρέσκο ολικό αίμα ενός δότη που υποβάλλεται σε ήπια φυγοκέντρηση για τον διαχωρισμό των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Το υπερκείμενο υγρό φιλτράρεται για την αφαίρεση των λευκών αιμοσφαιρίων και φυγοκεντρείται σε υψηλές

στροφές προκειμένου να διαχωριστεί τελικά το PRP από το φτωχό σε αιμοπετάλια πλάσμα (Platelet Poor Plasma, PPP) (Collins, Alexander, & Barkatali, 2021). Όπως έχει ήδη αναφερθεί απαιτείται η ένωση 4 - 6 PRPs από διαφορετικούς δότες, για να παραχθεί το τελικό συμπύκνωμα αιμοπεταλίων. Ο FDA έχει εγκρίνει ένα σύστημα προ-συγκέντρωσης, λευκαφαίρεσης και βακτηριακού ελέγχου αιμοπεταλιακών συμπυκνωμάτων που είναι γνωστό ως «προαποθηκευμένα συγκεντρωμένα αιμοπετάλια» (prestorage pooled platelets) (Cushing & DeSimone, 2019).

### **β. Αιμοπετάλια Λευκοκυτταρικής Στιβάδας**

Τα συμπυκνώματα αιμοπεταλίων που παρασκευάζονται με τη μέθοδο της λευκοκυτταρικής στιβάδας προέρχονται συνήθως από ολικό αίμα τεσσάρων διαφορετικών δοτών που έχει συλλεχθεί σε αντιπηκτικό CPD (κιτρικό, φωσφορικό, δεξτρόζη). Μετά τη λήψη το ολικό αίμα αφήνεται για 8 - 24 h σε θερμοκρασία  $22 \pm 2$  °C προκειμένου να μειωθεί η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Στη συνέχεια υποβάλλεται σε ισχυρή φυγοκέντρηση κατά την οποία σχηματίζονται η κατώτερη στιβάδα των ερυθρών αιμοσφαιρίων, η ενδιάμεση και μικρότερη σε μέγεθος λευκοκυτταρική στιβάδα που εμπεριέχει τα λευκά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια, και τέλος το PPP πάνω από αυτήν. Αφού αφεθούν σε ηρεμία για περίπου 2 h ( $22 \pm 2$  °C) οι διαφορετικές λευκοκυτταρικές στιβάδες ενώνονται (αφού προηγηθεί έλεγχος ABO) και υπόκεινται σε νέα, ήπια φυγοκέντρηση και φιλτράρισμα για την αφαίρεση των λευκών αιμοσφαιρίων. Το συμπύκνωμα αιμοπεταλίων που προκύπτει αναμειγνύεται με το πλάσμα ενός από τους δότες ή με PAS (Platelet Additive Solution) ώστε να δημιουργηθεί ένα ομογενές συμπύκνωμα αιμοπεταλίων.

Η μέθοδος της λευκοκυτταρικής στιβάδας δίνει αιμοπεταλιακά παράγωγα ανώτερης ποιότητας και είναι πιο οικονομική (Levin, et al., 2008). Παράλληλα περιορίζει την εμφάνιση του συνδρόμου οξείας βλάβης του πνεύμονα που σχετίζεται με μετάγγιση (Transfusion Related Acute Lung Injury, TRALI) μέσω της χρήσης PAS ή αίματος αποκλειστικά από άνδρες δότες (Straus, 2019).

#### **1. 2. 2. Αιμοπετάλια από αφαίρεση**

Κατά τη διαδικασία της αφαίρεσης αιμοπεταλίων, ολικό αίμα συλλέγεται μέσω ενός κλειστού, αυτοματοποιημένου και αποστειρωμένου συστήματος διαχωρισμού κυττάρων του αίματος. Τα αιμοπετάλια διαχωρίζονται από τα υπόλοιπα στοιχεία του αίματος με

φυγοκέντρηση, ενώ το εναπομείναν αίμα επιστρέφει πίσω στον δότη. Η διαδικασία διαρκεί 1 - 2 h. Τα αιμοπετάλια από αφαίρεση συλλέγονται από έναν μόνο δότη μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο έκθεσης σε πολλαπλούς δότες αλλά και τον κίνδυνο βακτηριακής επιμόλυνσης. Σήμερα είναι διαθέσιμοι διάφοροι τύποι συσκευών αφαίρεσης, που όλες στηρίζονται στη φυγοκέντρηση.

### **1. 3. Αποθήκευση των αιμοπεταλίων**

Τα αιμοπετάλια αποθηκεύονται στους  $22 \pm 2$  °C με ήπια συνεχή ανάδευση για 5 έως 7 ημέρες (ή στους 1 - 6 °C για 3 ημέρες). Για την αποθήκευση χρησιμοποιούνται αεριοδιαπερατοί ασκοί οι οποίοι εξασφαλίζουν επαρκή οξυγόνωση που επιτρέπει την αερόβια οξειδωτική φωσφορυλίωση στα μιτοχόνδρια των αιμοπεταλίων και τη διατήρηση του pH. Αντίθετα, σε ανοξικές συνθήκες ο μεταβολισμός των αιμοπεταλίων μετατοπίζεται στην αναερόβια γλυκολυτική οδό που οδηγεί σε παραγωγή γαλακτικού οξέος, οξέωση και θάνατο των αιμοπεταλίων (Cushing & DeSimone, 2019).

### **1. 4. Νεότερες προοπτικές**

Οι σοβαρές ελλείψεις αίματος και παραγώνων του που σημειώθηκαν κατά την πρόσφατη περίοδο της πανδημίας, ανέδειξαν εκ νέου την ανάγκη ανάπτυξης προϊόντων αίματος που θα έχουν τη δυνατότητα μακράς αποθήκευσης (Al Mahmasani, Hassan Hodroj, Finianos, & Taher, 2021).

#### **1. 4. 1. Κατεψυγμένα αιμοπετάλια**

Τα κατεψυγμένα αιμοπετάλια (frozen platelets ή cryo-platelets) αναπτύχθηκαν για πρώτη φορά από τον Robert Valeri ο οποίος ακολούθησε ένα πρωτόκολλο που περιλαμβάνει επώαση των αιμοπεταλίων με διμεθυλοσουλφοξείδιο (dimethyl sulfoxide, DMSO), φυγοκέντρηση και αφαίρεση του πλάσματος και του υπολειπόμενου DMSO, ενώ απέφευγε το πλύσιμο που οδηγούσε σε μεγάλη απώλεια αιμοπεταλίων (Valeri & Ragno, 2006). Τα αιμοπετάλια καταψύχονται ως pellet και στη συνέχεια αποψύχονται και σχηματίζουν εναιώρημα με συμβατό πλάσμα.

Τα αιμοπετάλια που παρασκευάζονται με αυτόν τον τρόπο συστήνονται για ασθενείς που αιμορραγούν όχι όμως για προληπτικές μεταγγίσεις λόγω της ταχείας απομάκρυνσής τους από την κυκλοφορία, όπως συμβαίνει και με τα αιμοπετάλια ψυχρής αποθήκευσης. Η διάρκεια ζωής τους είναι 12 μήνες σε αντίθεση με τη διάρκεια 5 έως 7

ημερών που ισχύει για τα αιμοπετάλια που αποθηκεύονται σε θερμοκρασία δωματίου (Devine, 2022). Μέχρι σήμερα τα κατεψυγμένα αιμοπετάλια έχουν χρησιμοποιηθεί από στρατιωτικούς οργανισμούς, ενώ διεξάγονται ήδη σχετικές κλινικές μελέτες, όπως για παράδειγμα η μελέτη CLIP.

#### **1. 4. 2. Λυοφιλοποιημένα αιμοπετάλια**

Τα λυοφιλοποιημένα αιμοπετάλια (lyophilized platelets, LP) αποτελούν σήμερα μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική προσέγγιση. Κύριο πλεονέκτημά τους φέρεται να είναι η δυνατότητα αποθήκευσής τους για μεγάλες χρονικές περιόδους σε θερμοκρασία δωματίου, χωρίς την ανάγκη ανάδευσης. Καθώς τα LPs αποθηκεύονται σε ξηρά μορφή, αναμένεται να είναι λιγότερο ευαίσθητα σε βακτηριακή επιμόλυνση, τουλάχιστον κατά τη φάση της αποθήκευσής τους (Schnoor & Para, 2022). Οι πιο κοινές μέθοδοι παρασκευής LPs περιλαμβάνουν σταθεροποίηση των αιμοπεταλίων με παραφορμαλδεΐδη και λυοφιλοποίηση σε διάλυμα λευκωματίνης ορού, με ή χωρίς τη χρήση κρυοπροστατευτικού παράγοντα.

Τα διαφαινόμενα πλεονεκτήματα των LPs θα μπορούσαν να αυξήσουν σημαντικά τη διαθεσιμότητα των αιμοπεταλίων. Τα μέχρι σήμερα ερευνητικά δεδομένα ωστόσο δείχνουν ότι τα LPs απομακρύνονται γρήγορα από τα σπληνικά μακροφάγα, γεγονός που μειώνει τον χρόνο παραμονής των αιμοπεταλίων στην κυκλοφορία και κατ' επέκταση θέτει περιορισμούς στις θεραπευτικές τους δράσεις (Schnoor & Para, 2022).

#### **1. 4. 3. In vitro παραγωγή αιμοπεταλίων**

Η in vitro παραγωγή αιμοπεταλίων απασχολεί την επιστημονική κοινότητα ήδη από το 1995. Τα αιμοπετάλια μπορούν να παραχθούν από ανθρώπινα ενήλικα αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα (hematopoietic stem cells, HSCs), αίμα ομφάλιου λώρου (cord blood, CB), μυελό των οστών (bone marrow, BM), περιφερικό αίμα (peripheral blood, PB) και πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (pluripotent stem cells, PSCs), καθώς και από κύτταρα του λιπώδους ιστού ή ινοβλάστες. Σήμερα έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι που αξιοποιούν διάφορους κυτταρικούς τύπους, βιοϋλικά και 3D μεθόδους κατασκευής, ενώ για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται ήδη βιοαντιδραστήρες δεύτερης γενιάς (π.χ. Platelet BioGenesis, Inc., Watertown, Massachusetts) (Kweon, et al., 2023).

## **Κεφάλαιο 2. Αλληλεπίδραση αιμοπεταλίων και βακτηρίων**

Τα περισσότερα από τα βακτήρια που σχετίζονται με τη σήψη ενεργοποιούν τα αιμοπετάλια. Η ενεργοποίηση αυτή σχετίζεται με δύο τύπους λοίμωξης, μία τοπική (ενδοκαρδίτιδα) και μία συστηματική (σήψη). Η κατανόηση των μηχανισμών αυτής της αλληλεπίδρασης αιμοπεταλίων και βακτηρίων είναι σημαντική καθώς ανάλογες αλληλεπιδράσεις συμβαίνουν πιθανότατα και στα βακτηριακά μολυσμένα συμπυκνώματα αιμοπεταλίων (Ramírez-Arcos S. , 2020).

### **2. 1. Τα αιμοπετάλια στην ανοσολογική απόκριση**

Η αιμοστατική και η ανοσολογική απόκριση θεωρούνταν για χρόνια δύο διακριτά συστήματα. Πρόσφατες έρευνες ωστόσο αποδεικνύουν ότι πρόκειται για δύο διεργασίες στενά συνδεδεμένες μεταξύ τους, με συνδετικό κρίκο τα αιμοπετάλια (Cox, 2023).

Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στη διαμεσολάβηση της ανοσολογικής απόκρισης έναντι ενός λοιμογόνου παράγοντα είναι γνωστός ως ανοσοθρόμβωση. Αρχικά τα αιμοπετάλια συμμετέχουν στην αναγνώριση των βακτηρίων, κυρίως μέσω των Toll-like υποδοχέων (TLRs) τους. Η επακόλουθη αντίδρασή τους εξαρτάται από παράγοντες όπως τα είδη των βακτηρίων, οι μηχανισμοί διαφυγής τους και οι αιμοπεταλιακοί υποδοχείς που εμπλέκονται στην αλληλεπίδραση με τα βακτήρια.

Τα αιμοπετάλια συμμετέχουν στην καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών είτε εκκρίνοντας βακτηριοκτόνα πεπτίδια, είτε συνεργαζόμενα με άλλα κύτταρα μέσω οψωνινοποίησης. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια εκκρίνουν επίσης χημικούς διαμεσολαβητές, όπως οι πρωτεΐνες CCL5 και CXCL4 που συμμετέχουν στη χημειοταξία των ανοσοποιητικών κυττάρων, ιδιαίτερα των ουδετερόφιλων και των μονοκυττάρων καθώς και στη ρύθμιση της φλεγμονώδους αντίδρασης (Mariotti, Ezzeroug, & Camoin-Jau, 2022).

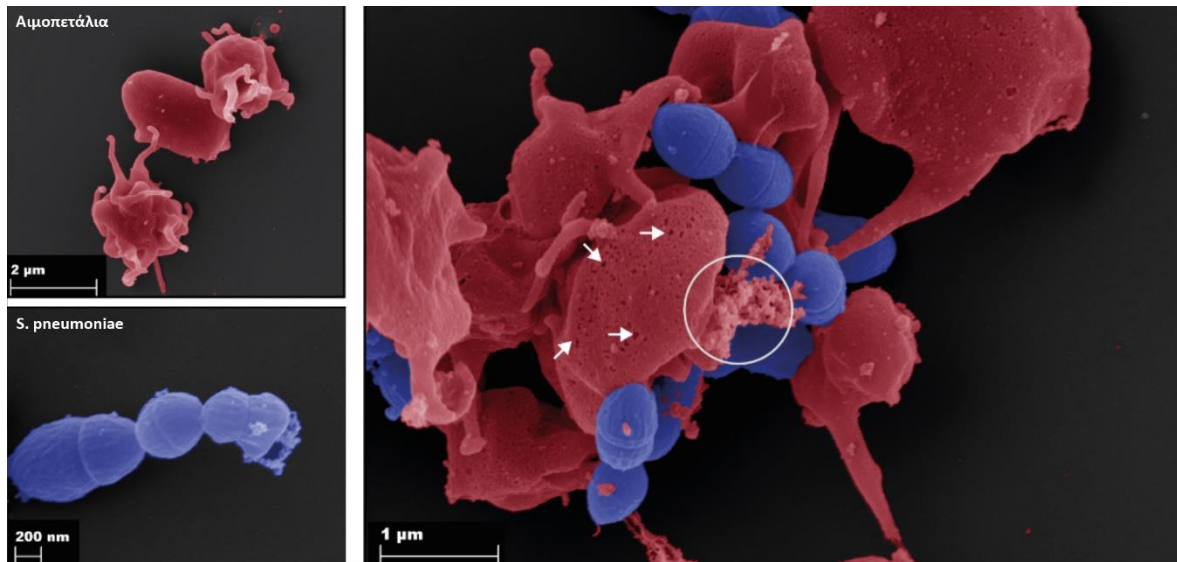
### **2. 2. Αλληλεπίδραση βακτηρίων και αιμοπεταλίων**

Η αλληλεπίδραση των βακτηρίων με τα αιμοπετάλια ξεκινά όταν τα βακτήρια προσδένονται σε κάποιον αιμοπεταλιακό υποδοχέα (Εικ. 1). Η πρόσδεση αυτή μπορεί να γίνει είτε άμεσα, είτε έμμεσα μέσω κάποιας πρωτεΐνης «γέφυρας». Αποτέλεσμα αυτής της πρόσδεσης είναι η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Προϊόντα που εκκρίνουν τα βακτήρια, κυρίως τοξίνες, μπορούν επίσης να ενεργοποιήσουν τα αιμοπετάλια. Η προσκόλληση και η ενεργοποίηση μπορεί να είναι ανεξάρτητες διαδικασίες που



διαμεσολαβούνται από διαφορετικά βακτηριακά συστατικά και διαφορετικούς αιμοπεταλιακούς υποδοχείς. Έτσι, άλλα βακτήρια έχουν φαινότυπο ενεργοποίησης, άλλα φαινότυπο προσκόλλησης, άλλα και τα δύο ή τίποτα απ' τα δύο (Ramirez-Arcos S. , 2020).

Η ποικιλομορφία των αιμοπεταλιακών υποδοχέων που εμπλέκονται στην αναγνώριση των βακτηρίων, καθιστά αυτούς τους μηχανισμούς αλληλεπίδρασης αρκετά σύνθετους (Hamzeh-Cognasse, et al., 2015).



**Εικόνα 1.** Πρόσδεση του *S. pneumoniae* (γαλάζιο χρώμα) στα αιμοπετάλια (κόκκινο χρώμα). Δεξιά διακρίνεται ο σχηματισμός πόρων πνευμονολυσίνης στις μεμβράνες των αιμοπεταλίων (βέλη) και η απελευθέρωση του περιεχομένου των αιμοπεταλιακών κοκκίων (κύκλος) (Jahn, Kohler, Swiatek, Wiebe, & Hammerschmidt, 2022).

### 2. 2. 1. Αλληλεπίδραση βακτηρίων με αιμοπεταλιακούς υποδοχείς της αιμόστασης

Η γλυκοπρωτεΐνη IIb/IIIa (GPIIb/IIIa) αποτελεί τον υποδοχέα του ινωδογόνου και είναι η κυρίαρχη πρωτεΐνη στην αιμοπεταλιακή επιφάνεια. Η αλληλεπίδραση των βακτηρίων με αυτήν είναι σημαντική για την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων.

Ο *Staphylococcus aureus*, για παράδειγμα, εκφράζει πρωτεΐνες που προσδένονται στο ινωδογόνο, όπως οι ClfA, ClfB και Fnbp (Hamzeh-Cognasse, et al., 2015). Με τον τρόπο αυτό, ο ήδη προσδεμένος στο ινωδογόνο *S. aureus* προσδένεται στην GPIIb/IIIa (Fitzgerald, et al., 2006). Άλλες βακτηριακές πρωτεΐνες που προσδένονται στην GPIIb/IIIa μέσω του ινωδογόνου είναι οι πρωτεΐνες δέσμησης στο ινωδογόνο M1, M3 και M5 (*Streptococcus pyogenes*), η SdrG (*Staphylococcus epidermitis*), SpSL (*Staphylococcus pseudintemedius*) και η FOG (στρεπτόκοκκοι της ομάδας G). Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι ο *S. aureus* εκκρίνει την εξωκυττάρια πρωτεΐνη δέσμησης στο ινωδογόνο Efb, η οποία

αναστέλλει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Μια άλλη κατηγορία πρωτεϊνών, όπως η scpB (*Streptococcus agalactiae*) προσδένονται στην GPIIb/IIIa μέσω της αλληλουχίας RGD. Άλλες πρωτεΐνες, τέλος, όπως η Sdr G (*S. epidermitis*), Isd (*S. aureus*) και PadA (*S. Gordonii*) προσδένονται απευθείας στην GPIIb/IIIa (Hamzeh-Cognasse, et al., 2015).

Για την αλληλεπίδρασή τους με τα αιμοπετάλια τα βακτήρια χρησιμοποιούν επίσης τη γλυκοπρωτεΐνη GPIb που αποτελεί τον υποδοχέα του παράγοντα vWF. Κάποιες πρωτεΐνες συνδέονται άμεσα με την GPIb όπως οι srp A (*Streptococcus sanguinis*) και Hsa (*Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis*), ενώ άλλες, λιγότερες σε αριθμό από εκείνες που συνδέονται με το ινωδογόνο, συνδέονται μαζί της αφού πρώτα συνδεθούν με τον vWF (Cox, 2023).

### **2. 2. 2. Αλληλεπίδραση βακτηρίων με αιμοπεταλιακούς ανοσολογικούς υποδοχείς**

Τα αιμοπετάλια εκφράζουν πολλαπλούς ανοσολογικούς υποδοχείς όπως ο FcγRIIa και οι TLRs. Ο FcγRIIa είναι ο μοναδικός τύπος υποδοχέα FcR που έχει βρεθεί μέχρι σήμερα στα αιμοπετάλια και είναι απαραίτητος για την ενεργοποίηση τους από τα βακτήρια, ακόμα και όταν τα τελευταία έχουν ήδη προσδεθεί σε γλυκοπρωτεΐνες (Fitzgerald, Foster, & Cox, 2006). Αυτό για παράδειγμα συμβαίνει στην περίπτωση των *S. aureus*, *Streptococcus bovis* και *Streptococcus equinus* (Hamzeh-Cognasse, et al., 2015).

Η συνδεδεμένη με βακτήρια ανοσοσφαιρίνη G είναι επίσης ικανή να συνδεθεί σε αυτόν. Τα ανοσοσυμπλέγματα της IgG με τον FcγRIIa μπορούν ακόμη και να εσωτερικευθούν από τα αιμοπετάλια, όπως συμβαίνει με τα λευκοκύτταρα (Worth, et al., 2006). Κατά μέσο όρο τα αιμοπετάλια εκφράζουν περίπου 5,000 αντίγραφα του FcγRIIa. Λαμβάνοντας υπόψη τον μεγάλο αριθμό των κυκλοφορούντων αιμοπεταλίων μπορούμε να πούμε ότι αυτά αποτελούν την πλουσιότερη δεξαμενή FcγRIIa αποτελώντας ένα σημαντικό κρίκο στην αντιβακτηριακή απόκριση (Hamzeh-Cognasse, et al., 2015). Ο FcγRIIa εμπλέκεται επίσης στην ανοσολογική θρομβοπενία (Immune Thrombocytopenia, ITP) όπου αντισώματα αιμοπεταλιακών αντιγόνων πυροδοτούν την ανοσολογική καταστροφή των αιμοπεταλίων (Cox, 2023).

Υποδοχείς TLRs εκφράζονται επίσης στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων και συμμετέχουν στην αλληλεπίδραση με τα βακτήρια, κυρίως μέσω της αναγνώρισης λιποπολυσακχαριτών στην επιφάνεια των βακτηρίων. Καλύτερα μελετημένος είναι ο TLR2

που αλληλεπιδρά με βακτήρια όπως ο *Streptococcus pneumoniae* και ο *Streptococcus agalactiae* (Liu, et al., 2017).

Ο σχηματισμός του συμπληρώματος είναι ένα ακόμα σημαντικό χαρακτηριστικό της απόκρισης του ανοσοποιητικού συστήματος στη λοίμωξη. Ανοσολογικά σύμπλοκα προσδεδεμένα στις πρωτεΐνες του συμπληρώματος μπορούν να προσδεθούν τόσο στον υποδοχέα του συμπληρώματος gC1q-R όσο και στον FcγRIIa οδηγώντας σε συσσώρευση των αιμοπεταλίων (Cox, 2023). Η αλληλεπίδραση των αιμοπεταλίων με το συμπλήρωμα είναι αμφίδρομη. Από τη μια πλευρά τα αιμοπετάλια βοηθούν στην καταστροφή των βακτηρίων αυξάνοντας τη δραστικότητα του συμπληρώματος, από την άλλη όμως, καθώς προσδέονται με τις πρωτεΐνες του μπορούν να γίνουν στόχος της λυτικής του δράσης. Αξίζει να σημειωθεί πάντως ότι ο μηχανισμός σύνδεσης αιμοπεταλίων - βακτηρίων μέσω των μορίων του συμπληρώματος είναι περισσότερο ανοσολογικός παρά αιμοστατικός, γεγονός που αναδεικνύει τη διπλή λειτουργία των αιμοπεταλίων (Hamzeh-Cognasse, et al., 2015).

### **2. 2. 3. Αλληλεπίδραση βακτηριακών προϊόντων έκκρισης με αιμοπετάλια**

Τα βακτήρια εκκρίνουν διάφορα προϊόντα, μεταξύ των οποίων και τοξίνες, που έχουν τη δυνατότητα να αλληλεπιδράσουν με τα αιμοπετάλια. Ο *S. aureus* για παράδειγμα εκκρίνει ουσίες όπως η πρωτεΐνη εξωκυττάριας προσκόλλησης (Extracellular adhesive protein, Eap), η ανασταλτική πρωτεΐνη της χημειοταξίας (Chemotaxis inhibitory protein S of *S. aureus*, CHIPS), η formyl peptide receptor-like 1 inhibitory protein (FLIPr) και η αυτολυσίνη (Atl). Εκκρίνει επίσης τις πρωτεΐνες ενεργοποίησης της προθρομβίνης σταφυλοαγκουλάση και πρωτεΐνη δέσμευσης vWF που μπορούν να προκαλέσουν ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων μέσω αυξημένης παραγωγής θρομβίνης (Cox, 2023).

Είναι γνωστή επίσης μια οικογένεια τοξινών που συνδέονται με τη λιπιδική διπλοστοιβάδα της αιμοπεταλιακής μεμβράνης σχηματίζοντας πόρους, με τρόπο όμοιο με το ιονοφόρο ασβέστιο. Σε αυτές περιλαμβάνονται η πνευμολυσίνη (*S. pneumoniae*), στρεπτολυσίνη O (ομάδα A στρεπτόκοκκοι) και η α-τοξίνη (*S. aureus*). Ο *Staphylococcus aureus* και ο *S. Pyogenes* παράγουν μια υπερ-οικογένεια τοξινών, τις staphylococcal superantigen-like (SSL) τοξίνες που έχουν γνωστή υπεραντιγονική δράση (Cox, 2023).

Οι εκκρινόμενες από τα βακτήρια τοξίνες, τέλος, συμμετέχουν στον σχηματισμό των βιοφίλμ κάποιων βακτηρίων μέσα στα συμπυκνώματα αιμοπεταλίων (Ighem Chi & Ramirez-Arcos, 2022).

#### **2. 2. 4. Εσωτερίκευση βακτηρίων από τα αιμοπετάλια**

Ένας ακόμη τρόπος αλληλεπίδρασης είναι η εσωτερίκευση (internalization) των βακτηρίων από τα αιμοπετάλια. Το φαινόμενο αυτό περιγράφηκε για πρώτη φορά στο βακτήριο *S. aureus*, για την εσωτερίκευση του οποίου ήταν απαραίτητη η ταυτόχρονη διέγερση των αιμοπεταλίων από ADP. Με λίγο διαφορετικό τρόπο, το βακτήριο *Porphyromonas gingivales* εσωτερικεύεται από τα αιμοπετάλια χωρίς πρόσθετη διέγερση.

Η τύχη των εσωτερικευμένων βακτηρίων παραμένει ασαφής. Από τη μια πλευρά αυτά θα μπορούσαν να θανατωθούν από τις αντιμικροβιακές ουσίες των αιμοπεταλιακών κοκκίων, ενώ από την άλλη η διαδικασία αυτή θα μπορούσε να τα βοηθήσει να διαφύγουν από το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή (Jahn, Kohler, Swiatek, Wiebe, & Hammerschmidt, 2022).

#### **2. 3. Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στην παθοφυσιολογία της σήψης**

Μόλις τα βακτήρια εισέλθουν στην κυκλοφορία, αλληλεπιδρούν με τα αιμοπετάλια οδηγώντας στην ενεργοποίησή τους. Οι καταρράκτες της πήξης και η φλεγμονώδης απόκριση, σε συνδυασμό με τις βλάβες του ενδοθηλιακού ιστού ενισχύουν την ενεργοποίηση αυτή.

Αρχικά, τα αιμοπετάλια είναι σε θέση να επάγουν την απόκριση οξείας φάσης στη λοίμωξη μέσω της απελευθέρωσης αντιμικροβιακών πεπτιδίων, αλλά και μέσω ενίσχυσης της ικανότητας των μονοκυττάρων να σκοτώνουν τους παθογόνους μικροοργανισμούς. Γενικά η παρουσία των αιμοπεταλίων φαίνεται να είναι σημαντική για την προστασία από τη σήψη, κατά την έναρξή της, κυρίως λόγω του ρόλου τους στην ανοσολογική απόκριση (Shannon, 2021).

Στα πρώτα στάδια της σήψης, ενισχύεται η παραγωγή των αιμοπεταλίων, ως απάντηση στην κατανάλωσή τους, γι' αυτό και μπορεί να παρατηρηθεί αύξηση του αιμοπεταλιακού αριθμού. Όσο όμως η σήψη προχωρά, ο ρυθμός κατανάλωσης των αιμοπεταλίων είναι μεγαλύτερος από τον ρυθμό παραγωγής τους, με αποτέλεσμα να εμφανίζεται θρομβοπενία (Cox, 2023).

Η σήψη προκύπτει μόνο εάν ο παθογόνος μικροοργανισμός είναι ανθεκτικός στα αντιμικροβιακά πεπτίδια των αιμοπεταλίων ή εάν το μικροβιακό φορτίο είναι τόσο υψηλό που το ανοσοποιητικό σύστημα δεν μπορεί να το υπερνικήσει. Όμως εάν τελικά η σηπτική κατάσταση εδραιωθεί, η ανοσολογική απόκριση των αιμοπεταλίων έχει ήδη αποτύχει και τα αιμοπετάλια γίνονται πλέον μέρος του προβλήματος (Cox, 2023).

Ένας αυξανόμενος αριθμός πρόσφατων μελετών υποδεικνύει ότι τα αιμοπετάλια εμπλέκονται ενεργά στις επιβλαβείς διεργασίες της σήψης. Η προσκόλληση και η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, η ενεργοποίηση των αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων, η αλληλεπίδραση με τα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα, ο σχηματισμός NETs και η εναπόθεση ινικής, ο σχηματισμός θρόμβων, λαμβάνουν ανεξέλεγκτες διαστάσεις οδηγώντας σε πολλαπλές οργανικές βλάβες και στο σύνδρομο πολυοργανικής ανεπάρκειας (Mariotti, Ezzeroug, & Camoin-Jau, 2022).

## **Κεφάλαιο 3. Βακτηριακή επιμόλυνση των αιμοπεταλίων**

Στις μέρες μας η διαχείριση όλων των παραγώγων αίματος ρυθμίζεται από αυστηρούς κανόνες, ενώ οι μέθοδοι συλλογής και ελέγχου έχουν βελτιστοποιηθεί με στόχο τη διασφάλιση της ποιότητας και της ασφάλειας δοτών και ληπτών (Prax, Bekeredjan-Ding, & Krut, 2019). Η εισαγωγή στη ρουτίνα των κέντρων αιμοδοσίας σύγχρονων μεθόδων ανίχνευσης ιών (HIV, HCV, HIV-1) έχει μειώσει τον κίνδυνο μετάδοσης τέτοιων ασθενειών σε ποσοστό μικρότερο από 1:1,000,000. Αντίθετα, ο υπολειπόμενος κίνδυνος μετάδοσης λοιμώξεων που οφείλονται σε βακτήρια υπολογίζεται σε 1:2,000 έως 1:100,000 (Schmidt, Ramirez-Arcos, Stiller, McDonald, & ISBT/WP-TTID, Subgroup on Bacteria, 2022) με τη βακτηριακή σήψη να παραμένει η πιο συχνά μεταδιδόμενη ασθένεια μέσω της μετάγγισης. Ο κίνδυνος μετάδοσης βακτηριακών λοιμώξεων είναι σημαντικά αυξημένος στην περίπτωση της μετάγγισης αιμοπεταλίων, με ποσοστό που ανέρχεται σε 1:1,000 έως 1:2,500 (Levy, Neal, & Herman, 2018).

### **3. 1. Βακτηριακές λοιμώξεις μεταδιδόμενες από μετάγγιση αιμοπεταλίων**

Από όλα τα παράγωγα του αίματος, τα συμπυκνωμένα αιμοπετάλια είναι τα πιο ευαίσθητα στη βακτηριακή επιμόλυνση, κυρίως λόγω των συνθηκών αποθήκευσής τους που επιτρέπουν στα βακτήρια να πολλαπλασιάζονται. Οι μεταδιδόμενες με μετάγγιση βακτηριακές λοιμώξεις (Transfusion transmitted bacterial infections, TTBI) και οι σηπτικές αντιδράσεις μετάγγισης (Septic transfusion reactions, STRs) είναι οι κύριες πηγές νοσηρότητας και θνησιμότητας μετά από μετάγγιση αιμοπεταλίων. Μια ανασκόπηση τεσσάρων ανεξάρτητων μελετών μεγάλης κλίμακας του 2013, έδειξε ότι ένας αιματολογικός/ογκολογικός ασθενής που λαμβάνει κατά μέσο όρο 6 μονάδες αιμοπεταλιαφαίρεσης ανά νοσηλεία, είχε πιθανότητες 1:250 να λάβει μολυσμένη μονάδα και 1:1,000 να εμφανίσει STR (Kleinman, Reed, & Stassinopoulos, 2013).

Αξίζει να σημειωθεί ότι σε παγκόσμιο επίπεδο τα περιστατικά TTBI και STR υποκαταγράφονται. Για να καταγραφεί για παράδειγμα μια TTBI στις ΗΠΑ, με βάση τις οδηγίες των κέντρων για τον έλεγχο και την πρόληψη των ασθενειών (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) θα πρέπει η λοίμωξη να έχει εκδηλωθεί εντός 24h από τη μετάγγιση, να έχουν αποκλεισθεί άλλες πιθανότητες μόλυνσης και να έχει ληφθεί θετικό αποτέλεσμα καλλιέργειας από δείγματα τόσο του ασθενούς όσο και του ασκού μετάγγισης. Τις περισσότερες φορές, ωστόσο, οι ασκοί μετάγγισης απορρίπτονται μετά τη

χρήση και δεν είναι διαθέσιμοι για καλλιέργεια, ενώ ασθενείς που βρίσκονται σε αντιβιοτική αγωγή είναι πιθανόν να μην δώσουν θετικό αποτέλεσμα στην καλλιέργεια. Από την άλλη μεριά, η χορήγηση βακτηριακά μολυσμένων αιμοπεταλίων δεν οδηγεί απαραίτητα σε εμφανή κλινικά συμπτώματα, ενώ συνήθεις αντιδράσεις μετά από μετάγγιση που δεν θεωρούνται σοβαρές, όπως για παράδειγμα η εμπύρετη μη αιμολυτική αντίδραση, συχνά δεν καταγράφονται. Οι συνήθεις στρατηγικές αιμοεπαγρύπνισης, τέλος, σπάνια είναι σε θέση να ανιχνεύσουν τη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα που σχετίζονται με τις TTbIs (Levy, Neal, & Herman, 2018).

Οι STRs μπορεί να κυμαίνονται από ήπιες σηπτικές αντιδράσεις έως σοβαρό σηπτικό σοκ και θάνατο (Prax, Bekeredjan-Ding, & Krut, 2019). Ασαφείς ορισμοί για τις STRs συμπεριλαμβάνουν συμπτώματα όπως ο πυρετός, η ταχυκαρδία ή η δύσπνοια, που απαντούν σε πολλές εναλλακτικές διαγνώσεις κι έτσι μπορούν να οδηγήσουν επίσης σε παρανοήσεις και τελικά υποκαταγραφές περιστατικών (Levy, Neal, & Herman, 2018).

Σήμερα, παρά την αδιαμφισβήτητη πρόοδο στο πεδίο πρόληψης και ελέγχου, οι TTbIs και STRs εξακολουθούν να αποτελούν ένα επίμονο πρόβλημα, με τη βακτηριακή επιμόλυνση των αιμοπεταλίων να αποτελεί τον σημαντικότερο μολυσματικό κίνδυνο από μετάγγιση στις αναπτυσσόμενες χώρες (Spindler-Raffel, et al., 2017).

### **3. 2. Βακτηριακή επιμόλυνση των αιμοπεταλίων**

Κυριότερη πηγή βακτηριακής επιμόλυνσης των αιμοπεταλίων είναι η μικροχλωρίδα του δέρματος στον βραχίονα του δότη. Σε πολύ μικρότερο βαθμό η βακτηριακή επιμόλυνση μπορεί να οφείλεται σε βακτηραιμία του δότη, παροδικό αποικισμό του δέρματος, μολυσμένο εξοπλισμό συλλογής, επιμόλυνση κατά την επεξεργασία του παραγώγου και διεργασίες σχετικές με τη μετάγγιση στο νοσοκομείο (de Korte & Marcelis, 2014).

Η βακτηριακή επιμόλυνση των αιμοπεταλίων μπορεί να οφείλεται σε θετικά και αρνητικά κατά Gram βακτήρια. Πιο συνηθισμένα είναι τα θετικά, όπως οι κοαγκουλάση αρνητικοί σταφυλόκοκκοι και τα προπιονικά βακτήρια, ενώ τα αρνητικά μπορούν επίσης να προκαλέσουν σοβαρό και συχνά θανατηφόρο σηπτικό σοκ. Τα κυριότερα είδη βακτηρίων που απαντούν στα συμπυκνωμένα αιμοπετάλια δίνονται στον πίνακα που ακολουθεί.

**Πίνακας 1.** Κυριότερες βακτηριακές επιμολύνσεις σε συμπυκνωμένα αιμοπετάλια (Ramirez-Arcos S. , 2020).

Τύπος	Είδη
Θετικά κατά Gram βακτήρια	<i>Staphylococcus epidermitis</i>
	<i>Cutibacterium acnes</i>
	<i>Corynebacterium spp.</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Streptococcus spp.</i>
	<i>Bacillus spp.</i>
	<i>Clostridium perfringens</i>
Αρνητικά κατά Gram βακτήρια	<i>Serratia marcescens</i>
	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	<i>Enterobacter spp.</i>
	<i>Pseudomonas spp.</i>

Με την πρόοδο των διαδικασιών ελέγχου, ανιχνεύονται και άλλα είδη βακτηρίων σε μολυσμένες μονάδες αιμοπεταλίων. Το 2019, για παράδειγμα, καταγράφηκαν επτά περιπτώσεις σήψης σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές που αποδόθηκαν σε επιμόλυνση από το βακτήριο *Acinetobacter calcoaceticus* (Green, et al., 2023).

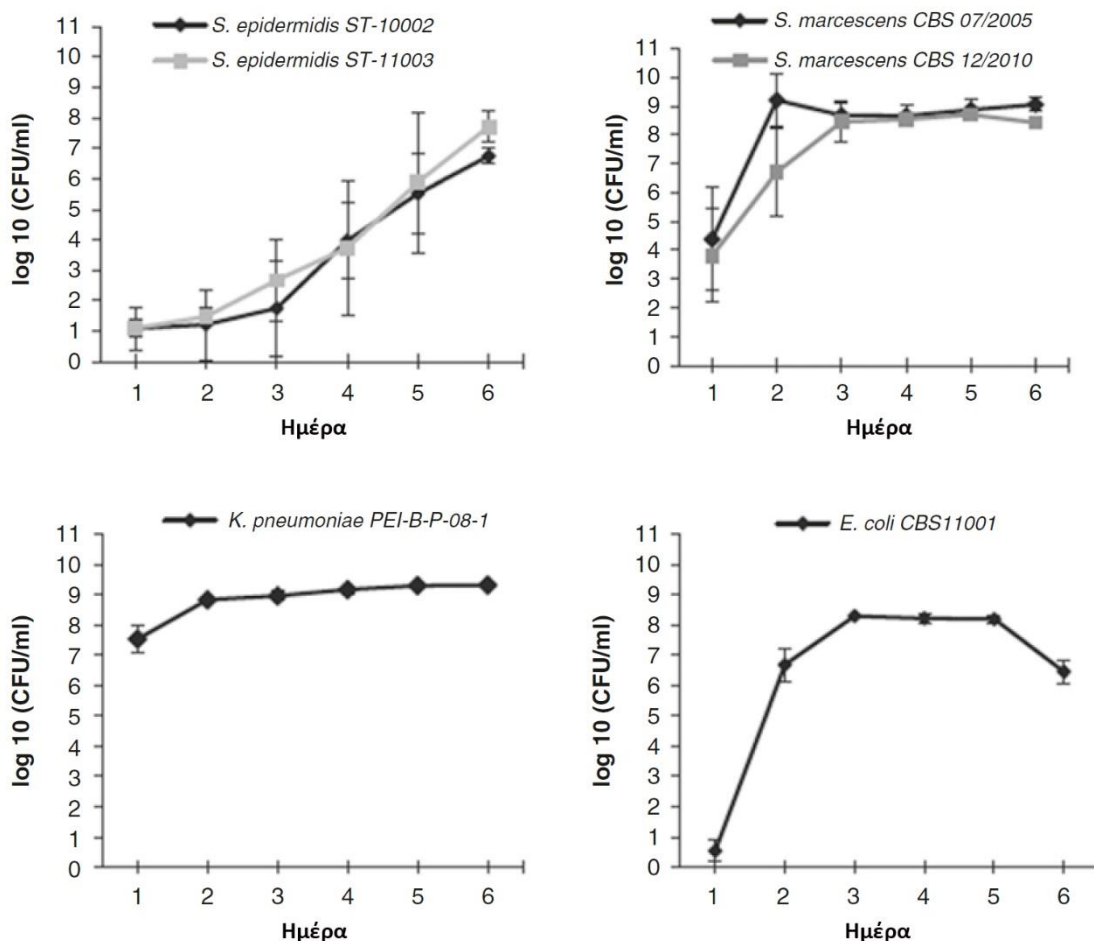
Με τη βοήθεια μαθηματικών μοντέλων υπολογίζεται ότι το μέσο βακτηριακό φορτίο ενός μολυσμένου ασκού αιμοπεταλίων κατά τη στιγμή της συλλογής κυμαίνεται από 5 έως 62 CFU/ασκό, μικρότερο δηλαδή από 1 CFU/mL. Το μικρό αυτό βακτηριακό φορτίο μπορεί να αναπτυχθεί ταχέως κατά την αποθήκευση των αιμοπεταλίων, φθάνοντας σε υψηλές συγκεντρώσεις (Spindler-Raffel, et al., 2017) (Εικ. 2).

Είναι γενική παραδοχή ότι οι συνθήκες αποθήκευσης των αιμοπεταλίων προσφέρουν ένα ιδανικό περιβάλλον για την ανάπτυξη των βακτηρίων, ωστόσο υπάρχουν και κάποιες εξαιρέσεις. Οι Cloutier et al., για παράδειγμα, αναφέρουν την περίπτωση του *Bordetell holmesii* το οποίο βρέθηκε να έχει εξαιρετικά χαμηλή βιωσιμότητα κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των αιμοπεταλίων (Cloutier, et al., 2018). Αν και δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα, η περίπτωση αυτή εισάγει ένα νέο προβληματισμό για την πιθανότητα ύπαρξης μικροοργανισμών που, σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει συνήθως, είναι πιο επικίνδυνοι στην αρχή της αποθήκευσης των αιμοπεταλίων παρά στο τέλος της.

Πολλά από τα βακτήρια που απαντούν στα αιμοπετάλια σχηματίζουν βιοφίλμ (βλ. ενότητα 3.4) προκαλώντας πρόσθετα προβλήματα, ενώ εκτός από τα βακτηριακά κύτταρα, ένας μολυσμένος ασκός μπορεί να περιέχει ενδοτοξίνες ή εξωτοξίνες που παράγονται από τα βακτήρια. Αξίζει να σημειωθεί, τέλος, ότι ακόμα και βακτηριακά είδη



που συνήθως δεν θεωρούνται ισχυρά παθογόνα, μπορούν κατά τη μετάγγιση να προκαλέσουν σοβαρές, απειλητικές για τη ζωή, λοιμώξεις (Montag, 2008).



**Εικόνα 2.** Ανάπτυξη θετικών κατά Gram (*Staphylococcus epidermitis* ST-10002 και ST-11003) και αρνητικών κατά Gram (*Serratia marcescens* CBS 07/2005 και CBS 12/2010, *Klebsiella pneumoniae* PEI-B-P-08-1, *Escherichia coli* CBS 1101) βακτηρίων σε συμπυκνωμένα αιμοπετάλια, υπό κανονικές συνθήκες αποθήκευσης για 5 ημέρες (Taha, et al., 2016).

### 3. 3. Ο κατάλογος αναφοράς PTRBR του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας

Η Υποομάδα για τα Βακτήρια (Subgroup on Bacteria) της Ομάδας Εργασίας για τις Μεταδιδόμενες Ασθένειες μέσω Μετάγγισης (Working Party on Transfusion Transmitted Infectious Diseases, TTIDs) της Διεθνούς Εταιρείας Μετάγγισης Αίματος (International Society for Blood Transfusion, ISBT) πραγματοποίησε το 2008 μία διεθνή μελέτη αξιολόγησης για τα βακτηριακά στελέχη αναφοράς που σχετίζονται με τη μετάγγιση αιμοπεταλίων (Platelet Transfusion Relevant Bacterial Reference, PTRBR).

Αποτέλεσμα της μελέτης αυτής ήταν η σύνταξη από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας του πρώτου καταλόγου PTRBR που περιλάμβανε τέσσερα βακτηριακά στελέχη:

*Staphylococcus epidermitis* PEI-B-P-06, *Klebsiella pneumoniae* PEI-B-P-08, *Streptococcus pyogenes* PEI-B-P-20 και *Escherichia coli* PEI-B-P-19 (Stormer , et al., 2012).

Το 2010 η Επιτροπή Εμπειρογνομών του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας για τη Βιολογική Προτυποποίηση (Expert Committee on Biological Standardization, ECBS) ενέκρινε πρόταση για περαιτέρω διεύρυνση του καταλόγου, με σκοπό την καλύτερη αντιπροσώπευση της υψηλής ποικιλομορφίας των στελεχών που εμπλέκονται στις TTIDs παγκοσμίως. Έτσι, ακολούθησε μία δεύτερη διεθνής συνεργατική μελέτη την οποία συντόνισε το Ινστιτούτο Paul Ehrlich (PEI) (Langen, Germany). Αποτέλεσμα της νέας μελέτης ήταν ο εμπλουτισμός του καταλόγου PTRBR, το 2017, με δέκα ακόμα βακτηριακά στελέχη: *Bacillus cereus*, spores PEI-B-P-57 *Bacillus thuringiensis*, spores PEI-B-P-07, *Enterobacter cloacae* PEI-B-P-43, *Morganella morganii* PEI-B-P-91, *Proteus mirabilis* PEI-B-P-55, *Pseudomonas fluorescens* PEI-B-P-77, *Serratia marcescens* PEI-B-P-56, *Staphylococcus aureus* PEI-B-P-63, *Streptococcus dysgalactiae* PEI-B-P-71, *Streptococcus bovis* (επανακατηγοριοποιημένος ως *Streptococcus gallolyticus*) PEI-B-P-61 (Spindler-Raffel, et al., 2017).

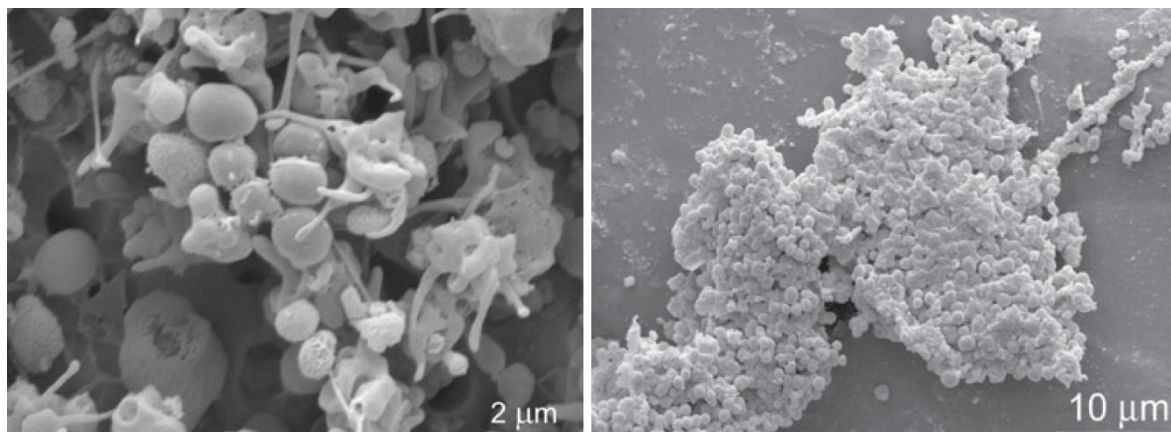
Ο κατάλογος PTRBR αποτελεί ένα αξιόπιστο και χρήσιμο εργαλείο για τους ερευνητές και μπορεί να συμβάλλει στην αξιολόγηση και τη βελτίωση των μεθόδων ανίχνευσης και μείωσης βακτηρίων που χρησιμοποιούνται σήμερα, αλλά και στην ανάπτυξη νέων, αποτελεσματικότερων τεχνικών.

### **3. 4. Ο σχηματισμός βιοφίλμ**

Ορισμένα από τα βακτήρια που απαντούν στη δερματική χλωρίδα, όπως για παράδειγμα οι κοαγκουλάση αρνητικοί σταφυλόκοκκοι, σχηματίζουν συσσωματώματα κυττάρων στα βαθύτερα στρώματα του δέρματος, γνωστά ως βιοφίλμ (Brandwein, Steinberg, & Meshner, 2016). Βιοφίλμ όπως εκείνα του σταφυλόκοκκου είναι ανθεκτικά στη βακτηριοκτόνο δράση των συνηθισμένων απολυμαντικών κι έτσι είναι σε θέση να επιμολύνουν τα συλλεγόμενα αιμοπετάλια (Ramirez-Arcos S. , 2020).

Βιοφίλμ μπορούν επίσης να σχηματισθούν και μέσα στους ασκούς των αιμοπεταλίων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Χαρακτηριστική είναι η περίπτωση του *S. epidermitis*, ενός βακτηρίου που προέρχεται από τη φυσιολογική χλωρίδα του δέρματος και σχηματίζει βιοφίλμ σε συμπυκνώματα αιμοπεταλίων, είτε αλληλεπιδρώντας άμεσα με τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, είτε προσκολλώμενο στην εσωτερική επιφάνεια των

ασκών αποθήκευσης (Εικ. 3). Οι Motoyama et al. επίσης, χρησιμοποίησαν ένα σύστημα βιοαπεικόνισης για να δείξουν τον σχηματισμό, κατά τα αρχικά στάδια αποθήκευσης, μικροαποικιών του *S. epidermitis* που επιπλέουν (Motoyama, et al., 2009).



**Εικόνα 3.** Σχηματισμός βιοφίλμ του *Staphylococcus epidermitis* σε συμπυκνωμένα αιμοπετάλια. Αριστερά: πρόσδεση των βακτηρίων στα αιμοπετάλια, Δεξιά: βιοφίλμ προσκολλημένο στην εσωτερική επιφάνεια των ασκών αποθήκευσης αιμοπεταλίων (Greco, et al., 2007).

Είναι αξιοσημείωτο ότι οι συνθήκες και το μέσο αποθήκευσης των αιμοπεταλίων προάγουν τον σχηματισμό βιοφίλμ, ακόμα και σε κοαγκουλάση αρνητικά σταφυλοκοκκικά στελέχη που παραδοσιακά θεωρείται ότι δεν σχηματίζουν βιοφίλμ (Ramirez-Arcos S. , 2020).

Η υφή του υλικού κατασκευής των ασκών αποθήκευσης των αιμοπεταλίων, είναι ένας ακόμη παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξη των βακτηρίων και τον σχηματισμό βιοφίλμ. Καθώς τα βακτήρια τείνουν να προσκολλώνται ισχυρότερα στις αδρές επιφάνειες, ένα τραχύ υλικό κατασκευής συνήθως ευνοεί τη βακτηριακή προσκόλληση στο εσωτερικό του ασκού (Hadjesfandiari, et al., 2016).

Βακτήρια που σχηματίζουν βιοφίλμ παρουσιάζουν ενισχυμένη ανθεκτικότητα στις αντιβιοτικές θεραπείες και τους ανοσοποιητικούς παράγοντες, πιθανότατα λόγω δομικών τροποποιήσεων της βακτηριακής κυτταρικής επιφάνειας που λαμβάνει χώρα κατά τον σχηματισμό των βιοφίλμ, γι' αυτό και τα βακτήρια αυτά σχετίζονται με αυξημένη παθογένεια (Ramirez-Arcos S. , 2020).

Η ανάπτυξη βιοφίλμ στην εσωτερική επιφάνεια των ασκών αποθήκευσης μπορεί να οδηγήσει σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα ανίχνευσης, καθώς λιγότερα βακτήρια θα βρίσκονται διαθέσιμα στο υπερκείμενο υγρό από όπου γίνεται η δειγματοληψία (Lopez, Vlamakis, & Kolter, 2010). Αναφορές περιστατικών STR από μετάγγιση ψευδώς

αρνητικών αιμοπεταλίων που είχαν μολυνθεί με *S. epidermitis* και *S. aureus* είναι ενδεικτικές.

Βακτήρια που σχηματίζουν βιοφίλμ θα μπορούσαν επίσης να αποικίσουν προσθετικά υλικά (π.χ. καθετήρες, βηματοδότες, μοσχεύματα κ.λπ.) και να προκαλέσουν λοιμώξεις αρκετές ημέρες μετά τη μετάγγιση των αιμοπεταλίων, παρακάμπτοντας έτσι την άμεση συσχέτισή τους με αυτήν (Ramirez-Arcos S. , 2020).

### **3. 5. Παράγοντες που ευνοούν την ανάπτυξη βακτηρίων στα αιμοπετάλια**

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η ιδιαίτερη ευαισθησία των αιμοπεταλίων στη βακτηριακή επιμόλυνση οφείλεται κυρίως στις συνθήκες αποθήκευσής τους, οι οποίες διευκολύνουν τον πολλαπλασιασμό των βακτηρίων. Η θερμοκρασία αποθήκευσης (20 - 24 °C) και η σχετικά υψηλή παροχή οξυγόνου που επιτυγχάνεται μέσω της συνεχούς ανάδευσης σε αεροδιαπερατούς ασκούς, διαμορφώνουν ένα ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη των βακτηρίων (Prax, Bekeredjan-Ding, & Krut, 2019).

Το μέσο αποθήκευσης των αιμοπεταλίων επιδρά επίσης στην ανάπτυξη των βακτηρίων. Έχει βρεθεί ότι αποθηκευμένα αιμοπετάλια σε PAS έχουν 4 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο πρόκλησης ΤΤΒΙ σε σχέση με αιμοπετάλια που έχουν αποθηκευθεί σε πλάσμα. Μια πιθανή εξήγηση είναι ο μηχανισμός αυτο-απολύμανσης των συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων σε πλάσμα, που δυνητικά αναστέλλει την ανάπτυξη ενός υψηλού βακτηριακού φορτίου (Kreuger, et al., 2017). Πρόσθετες ουσίες που ενδεχομένως χρησιμοποιούνται στα διαλύματα αποθήκευσης, τέλος, μπορούν να λειτουργήσουν ως πηγή ενέργειας διευκολύνοντας την ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών (Prax, Bekeredjan-Ding, & Krut, 2019).

### **3. 6. Η βακτηριακή επίδραση στην αλλοίωση αποθήκευσης των αιμοπεταλίων**

Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής τους τα αιμοπετάλια υφίστανται πολυάριθμες αλλαγές που αναφέρονται επιγραμματικά ως «αλλοίωση αποθήκευσης των αιμοπεταλίων» (platelet storage lesion, PSL). Όπως είναι αναμενόμενο η αλλοίωση αυτή επιδρά αρνητικά στη λειτουργικότητα και τη βιωσιμότητα των αιμοπεταλίων (Shrivastava, 2009). Η αλλοίωση αποθήκευσης έχει ως αποτέλεσμα την προοδευτική ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων που προκαλείται από την αυξημένη απελευθέρωση  $\alpha$ -κοκκίων, μεταβολή στην έκφραση γλυκοπρωτεϊνών και αυξημένη προπηκτική δραστηριότητα. Επιπλέον μπορεί να απορρυθμιστεί η γλυκόλυση καταλήγοντας σε αυξημένη παραγωγή γαλακτικού

οξύς και μείωση του pH (Waters, Cameron, Padula, Marks, & Johnson, 2018). Οι παραπάνω διεργασίες μπορούν να οδηγήσουν σε ανεπιθύμητα αποτελέσματα μετά τη μετάγγιση.

Έχει αποδειχθεί ότι η επιμόλυνση συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων με *S. aureus* επιφέρει σημαντικές αλλαγές στο μεταβολικό περιεχόμενό τους και επιταχύνει το φαινόμενο της αλλοίωσης αποθήκευσης (Yousuf, Pasha, Pineault, & Ramirez-Arcos, 2022). Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι η βακτηριακή επιμόλυνση των αιμοπεταλίων έχει αντίκτυπο όχι μόνο στην ασφάλεια της μετάγγισης, αλλά και στην ποιότητα και τη λειτουργικότητα των μεταγγιζόμενων αιμοπεταλίων.

## Κεφάλαιο 4. Μέθοδοι πρόληψης βακτηριακών επιμολύνσεων

Οι μέθοδοι πρόληψης αναφέρονται συνήθως σε ενέργειες που πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια της συλλογής των αιμοπεταλίων και εστιάζουν στον δότη ή/και στη διαδικασία. Σε αυτές περιλαμβάνονται πρακτικές όπως η βελτίωση των διαδικασιών συνέντευξης και εξέτασης του δότη, η απολύμανση του σημείου φλεβοκέντησης και η εκτροπή του αρχικού όγκου του αίματος ή των αιμοπεταλίων που συλλέγονται (Szczeriorkowski & Pagano, 2022). Ως μέθοδος πρόληψης, αυτή τη φορά με εστίαση στο τελικό προϊόν, μπορεί να θεωρηθεί και η ψυχρή αποθήκευση των αιμοπεταλίων.

### 4. 1. Συνέντευξη/Εξέταση του δότη

Η επιλογή του δότη αποτελεί ένα προληπτικό μέτρο πρώτης γραμμής και βασίζεται στην εκτίμηση του κινδύνου μιας πιθανής βακτηριακής λοίμωξης λαμβάνοντας υπόψιν το ιατρικό ιστορικό, την τρέχουσα ιατρική κατάσταση και τη φαρμακευτική αγωγή που πιθανόν λαμβάνει. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιείται συνέντευξη που, εκτός των άλλων, περιλαμβάνει ερωτήσεις για πρόσφατο ιστορικό λοίμωξης ή ασθένειας.

Έρευνα σε περισσότερους από 11,000 δότες δείχνει ότι οι απαντήσεις τους μπορεί να ποικίλουν, όντας άμεσα συνδεδεμένες με τον τρόπο διατύπωσης των ερωτήσεων. Σε γενικές γραμμές οι απαντήσεις του δότη βασίζονται σε υποκειμενικούς παράγοντες όπως η ειλικρίνεια, η δυνατότητα ανάκλησης της μνήμης και η αναφορά ευαίσθητων δεδομένων, γι' αυτό και τα ερωτηματολόγια δεν θα πρέπει να θεωρούνται πάντα αξιόπιστα, ενώ δεν είναι σε θέση να προβλέψουν τις περιπτώσεις ασυμπτωματικής βακτηριαιμίας (Levy, Neal, & Herman, 2018).

Συνήθως, βέβαια, η βακτηριαιμία συνοδεύεται από πυρετό οπότε δεν είναι πολύ πιθανό να παραμείνει απαρατήρητη, χωρίς ωστόσο να μπορούν να αποκλειστούν περιπτώσεις σιωπηλής, παροδικής βακτηριαιμίας, όπως για παράδειγμα μετά από εντατικό οδοντικό καθαρισμό (Schmidt, Sireis, & Seifried, 2011). Γι' αυτό και σε δότες με αυξημένο κίνδυνο βακτηριαιμίας (π.χ. πρόσφατες οδοντιατρικές επεμβάσεις, πληγές που δεν έχουν επουλωθεί πλήρως κ.λπ.) μπορεί να χρειαστεί η αναβολή της συλλογής αιμοπεταλίων (Szczeriorkowski & Pagano, 2022).

Πάντα ωστόσο υπάρχουν και παράγοντες που δεν μπορούν να προβλεφθούν. Χαρακτηριστική είναι η πρώτη καταγεγραμμένη περίπτωση σηψαιμίας μετά από μετάγγιση αιμοπεταλίων μολυσμένων με *Lactococcus garvieae*, ο δότης των οποίων είχε

καταναλώσει ωμό χταπόδι πέντε ημέρες πριν από τη συλλογή και έπασχε εν αγνοία του από καρκίνο του παχέος εντέρου (Nakamura, et al., 2019). Γι' αυτό ο έλεγχος των αιμοπεταλίων είναι καθοριστικής σημασίας και δεν θα πρέπει να παραλείπεται.

#### **4. 2. Απολύμανση των σημείων φλεβοκέντησης**

Με δεδομένο ότι η πρωταρχική πηγή της βακτηριακής επιμόλυνσης ενός παραγώγου αίματος είναι η δερματική χλωρίδα του δότη, η αποτελεσματική απολύμανση του δέρματος μπορεί να συμβάλλει στη μείωση του μικροβιακού φορτίου του σημείου φλεβοκέντησης (Arghittu, et al., 2022). Η αποτελεσματικότητα της απολύμανσης εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως το είδος και η συγκέντρωση του χρησιμοποιούμενου αντισηπτικού, ο τρόπος εφαρμογής του (τρίψιμο, μπατονέτα, απλικατέρ ή αμπούλα), η εφαρμογή του σε ένα ή δύο βήματα, ο χρόνος παραμονής του στο δέρμα και η εκπαίδευση του προσωπικού που πραγματοποιεί την απολύμανση (de Korte & Marcelis, 2014). Ιδανικά το απολυμαντικό μέσο θα πρέπει να επιδρά άμεσα στους παθογόνους μικροοργανισμούς (μόλις εφαρμοστεί στο δέρμα), να έχει βακτηριοκτόνο και όχι απλά βακτηριοστατική δράση και να μην προκαλεί παρενέργειες στο δέρμα του δότη ή άλλες ανεπιθύμητες αντιδράσεις (Debrincat, Gialanze, Spiteri, & Zammit, 2020).

Το 1999 η Εθνική Υπηρεσία Υγείας για τη Μετάγγιση και τη Μεταμόσχευση (National Health Service Blood and Transplant) του Ηνωμένου Βασιλείου ανέλαβε τη διεξαγωγή μιας μελέτης για τη διερεύνηση της αποτελεσματικότητας των τεχνικών απολύμανσης του βραχίονα των δοτών και την εξεύρεση της βέλτιστης πρακτικής. Οι McDonald et al. συνέκριναν έξι διαφορετικές μεθόδους απολύμανσης και κατέληξαν ότι η διαδικασία δύο σταδίων με αρχική εφαρμογή ισοπροπυλικής αλκοόλης και στη συνέχεια ιωδίου επέφερε αποτελεσματικότερη απολύμανση (McDonald, et al., 2001). Κατά την πρακτική εφαρμογή της μεθόδου ωστόσο, ο χρόνος αναμονής αποδείχθηκε αρκετά μεγάλος (McDonald, et al., 2004). Η έρευνα κατέληξε σε μια διαδικασία ενός βήματος, με τη χρήση 1.5 mL μείγματος 70% ισοπροπυλικής αλκοόλης και 2% χλωρεξιδίνης. Δημιουργήθηκε έτσι το ChloroPrep (CareFusion, San Diego, CA, USA), ένα τυποποιημένο κιτ απολύμανσης ενός βήματος (μίγμα ισοπροπυλικής αλκοόλης και χλωρεξιδίνης) (McDonald, et al., 2010).

Εκτός από αυτό, σήμερα χρησιμοποιείται επίσης η μέθοδος ενός βήματος με διάλυμα 2% χλωρεξιδίνης που έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα αποτελεσματική για την

πρόληψη βακτηριακών επιμολύνσεων σε αιμοπεταλιαφαιρέσεις (Benjamin, Dy, Warren, Lischka, & Eder, 2011). Για τους δότες που παρουσιάζουν ευαισθησία στη χλωρεξιδίνη χρησιμοποιούνται απολυμαντικά με βάση το ιώδιο (Jenkins, Ramirez-Arcos, Goldman, & Devine, 2011).

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι το αποτέλεσμα της απολύμανσης είναι άμεσα συνδεδεμένο με την κατάσταση του δέρματος στο οποίο εφαρμόζεται. Για παράδειγμα ουλές ή δερματικές παθήσεις δημιουργούν δυσπρόσιτους στο απολυμαντικό θύλακες, στους οποίους εγκαθίστανται τα βακτήρια (de Korte & Marcelis, 2014). Σε κάθε περίπτωση το απολυμαντικό δρα στην επιφάνεια του δέρματος και δεν μπορεί να καταπολεμήσει μικροοργανισμούς που πιθανόν βρίσκονται σε βαθύτερα δερματικά στρώματα (Byrd, Belkaid, & Segre, 2018) ή/και έχουν σχηματίσει βιοφίλμ. Το μικροβιακό φορτίο αυτών των μικροοργανισμών μπορεί να μειωθεί μόνο με την εκτροπή του αρχικού όγκου συλλεχθέντος αίματος, όπως αναλύεται στην υποενότητα που ακολουθεί.

#### **4. 3. Εκτροπή του αρχικού όγκου συλλεχθέντος αίματος**

Βασιζόμενοι στην υπόθεση ότι κατά τη φλεβοκέντηση η βελόνα πιέζει μια μικρή περιοχή του δέρματος (δερματικό βύσμα) στην οποία υπάρχουν βακτήρια, οι Olthuis et al. πρότειναν ήδη από το 1995 την αποφυγή χρησιμοποίησης του αρχικού όγκου του συλλεχθέντος αίματος για τη μείωση του βακτηριακού φορτίου του τελικού παραγώγου (de Korte & Marcelis, 2014).

Σε μια σχετική μελέτη τους σε καλλιέργειες ολικού αίματος, οι de Korte et al. έδειξαν ότι η απομάκρυνση των πρώτων 10 mL του συλλεγόμενου αίματος οδήγησε σε μείωση του αριθμού των θετικών καλλιεργειών κατά 40% (de Korte D. , Marcelis, Verhoeven, & Soeterboek, 2002). Ο αρχικός αυτός όγκος θα μπορούσε να συλλεχθεί ξεχωριστά με την παρεμβολή στη γραμμή συλλογής ενός μικρού σάκου εκτροπής (diversion pouch). Με τον τρόπο αυτό η συχνότητα της βακτηριακής επιμόλυνσης σε συμπυκνώματα BC αιμοπεταλίων βρέθηκε να μειώνεται περισσότερο από 50% (de Korte, et al., 2006).

Πλέον η χρησιμοποίηση του σάκου εκτροπής έχει εισαχθεί στη ρουτίνα της συλλογής παραγώγων αίματος. Ένα πρόσθετο πλεονέκτημά της είναι η εξασφάλιση ενός δείγματος που θα είναι διαθέσιμο για επαναληπτικό έλεγχο ακόμα και μετά τη μετάγγιση ψευδώς αρνητικών αιμοπεταλίων (Nightingale, et al., 2013). Όπως είναι αυτονόητο, η



χρήση του σάκου εκτροπής δεν προφυλάσσει το υλικό συλλογής από βακτήρια που βρίσκονται ήδη στην κυκλοφορία του δότη.

#### **4. 4. Ψυχρή αποθήκευση αιμοπεταλίων**

Η ψυχρή αποθήκευση των αιμοπεταλίων σε θερμοκρασίες κάτω των 6° C μπορεί να αυξήσει σημαντικά τη διάρκεια ζωής τους, με *in vitro* μελέτες να δείχνουν ότι αιμοπετάλια που αποθηκεύονται εν ψυχρώ για διάστημα έως και 21 ημέρες διατηρούν τη λειτουργικότητά τους. Παράλληλα η ψυχρή αποθήκευση λειτουργεί ανασταλτικά για τη βακτηριακή ανάπτυξη (Vostal & Mondoro, 1997). Η αποθήκευση αιμοπεταλίων στους 4° C για παράδειγμα, βρέθηκε να επιβραδύνει σημαντικά τον πολλαπλασιασμό πολλών βακτηριακών ειδών (Currie, Harper, Allan, & Connor, 1997). Ο χρόνος που μεσολαβεί από τη συλλογή των αιμοπεταλίων μέχρι την ψυχρή αποθήκευσή τους δεν φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά το ρυθμό της βακτηριακής ανάπτυξης.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η κλινική Mayo Clinic (Rochester, Minnesota, USA) επιχείρησε από το 2013 να λάβει έγκριση για ψυχρή αποθήκευση αιμοπεταλίων από αφαίρεση για 5 ημέρες χωρίς ανάδευση, που προορίζονταν για χορήγηση σε αιμορραγούντες ασθενείς. Τελικά ο FDA ενέκρινε μόνο την ψυχρή αποθήκευση για διάστημα 3 ημερών χωρίς ανάδευση, χωρίς όμως την ανάγκη για διενέργεια ελέγχου βακτηριακής επιμόλυνσης (Stubbs, et al., 2017).

Τα αιμοπετάλια που έχουν υποστεί ψυχρή αποθήκευση διατηρούν την ικανότητα συσσώρευσής τους, παρουσιάζουν όμως χαμηλότερο βαθμό ενεργοποίησης λόγω της αποθήκευσης, μείωση της κατανάλωσης γλυκόζης και της παραγωγής γαλακτικού οξέος, παράγοντες που έχουν συνδεθεί με την ενίσχυση της βακτηριακής ανάπτυξης σε θερμοκρασία δωματίου (Ketter, Kamucheka, Arulanandam, Akers, & Cap, 2019).

Στα μειονεκτήματα της μεθόδου, περιλαμβάνονται αλλαγές στα ανοσολογικά χαρακτηριστικά των αιμοπεταλίων που ελαττώνουν την έκκριση αγωνιστών και επηρεάζουν τον αριθμό των υποδοχέων που εμπλέκονται στην ανοσολογική τους απόκριση. Η ψυχρή αποθήκευση βρέθηκε επίσης να ενισχύει τη συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων που προκαλείται από τα *E. coli* και *S. aureus*. Δεν είναι ακόμα διευκρινισμένο, ωστόσο, εάν τέτοιου τύπου επιδράσεις στο ανοσολογικό προφίλ των αιμοπεταλίων έχουν *in vivo* επίδραση μετά τη μετάγγιση (Winskel-Wood, Padula, Marks, & Johnson, 2022)

Ακόμα και στα αιμοπετάλια ψυχρής αποθήκευσης ωστόσο παραμένει ο κίνδυνος της βακτηριακής επιμόλυνσης, καθώς δεν μπορεί να αποκλεισθεί η παρουσία ψυχοτροφικών βακτηρίων (Brown, et al., 2022) όπως για παράδειγμα το *Yersinia enterocolitica*, που μπορεί να επιβιώσει στους 4 °C πολλαπλασιαζόμενο σε κλινικά σημαντικά επίπεδα. Έτσι, η έρευνα θα πρέπει να επικεντρωθεί στο συνδυασμό της ψυχρής αποθήκευσης με κάποια από τις τεχνικές μείωσης παθογόνων μικροοργανισμών (βλ. κεφάλαιο 6) (Zhao & Devine, 2022).

## **Κεφάλαιο 5. Μέθοδοι ανίχνευσης βακτηριακών επιμολύνσεων**

Ο έλεγχος για βακτηριακή επιμόλυνση των αιμοπεταλίων ξεκίνησε στην Ευρώπη στα τέλη της δεκαετίας του '90. Το 2003 στην 22<sup>η</sup> έκδοση των «Προτύπων για τις Τράπεζες Αίματος και τις Υπηρεσίες Μετάγγισης» (Standards for Blood Banks and Transfusion Services) της Αμερικανικής Ένωσης Τραπεζών Αίματος (American Association Blood Banks, AABB) αναφέρεται ότι οι υπηρεσίες αιμοδοσίας και μετάγγισης «πρέπει να διαθέτουν μεθόδους για να περιορίσουν και να ανιχνεύσουν βακτηριακή επιμόλυνση σε όλα τα αιμοπεταλιακά παράγωγα» (Ramirez-Arcos & Goldman, 2012). Στο κεφάλαιο αυτό συνοψίζονται οι κυριότερες μέθοδοι ανίχνευσης βακτηριακών επιμολύνσεων στα αιμοπετάλια.

### **5. 1. Μέτρηση μεταβολικών παραγόντων**

Για πολλά χρόνια, η μέτρηση του pH και της γλυκόζης ήταν η συνήθης τακτική για την ανίχνευση βακτηριακών επιμολύνσεων στα αιμοπετάλια. Η προσέγγιση αυτή στηρίζεται στο γεγονός ότι τα περισσότερα βακτήρια, αν και όχι όλα, μεταβολίζουν γλυκόζη και παράγουν οξέα (Burstain, et al., 1997). Οι μέθοδοι αυτοί αποδείχθηκαν αναποτελεσματικές και οδήγησαν στην απόρριψη πολλών μονάδων αιμοπεταλίων λόγω ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων (Stormer & Vollmer, 2014), έτσι πλέον πρακτικά δεν χρησιμοποιούνται (Szczepiorkowski & Pagano, 2022).

#### **5. 1. 1. Μέτρηση pH**

Ο Burstain πρότεινε τη μέτρηση του pH μέσω ταινιών μέτρησης (στικ) ωστόσο μπορεί να χρησιμοποιηθεί και πεχάμετρο. Η μέθοδος έχει μικρή ευαισθησία, της τάξης των  $10^6 - 10^7$  CFU/mL (Hay & Brecher, 2004) γι' αυτό και πλέον δεν χρησιμοποιείται. Με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης, η αξιοπιστία της μεθόδου μειώνεται σημαντικά (Palavecino, Yomtovian, & Jacobs, 2006).

#### **5. 1. 2. Μέτρηση επιπέδων γλυκόζης**

Τα επίπεδα γλυκόζης των συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων παρουσιάζουν μεγάλες διακυμάνσεις, ακόμα και απουσία μικροβιακών επιμολύνσεων, λόγω διαφορών στον αριθμό των αιμοπεταλίων ή/και στον βαθμό ενεργοποίησής τους. Η μεταβλητότητα αυτή δρα ανασταλτικά για την ανάπτυξη ενός τεστ μέτρησης γλυκόζης που θα μπορεί να δώσει αξιόπιστα αποτελέσματα για την ανίχνευση βακτηριακών επιμολύνσεων (Wagner &

Robinette, 1996). Σε κάθε περίπτωση, η ευαισθησία της μεθόδου είναι χαμηλή, αντίστοιχη με εκείνη της μέτρησης του pH ( $10^6$  -  $10^7$  CFU/mL) (Hay & Brecher, 2004).

## **5. 2. Περιδίνηση αιμοπεταλίων**

Η μορφολογία των αιμοπεταλίων, ιδιαίτερα η διατήρηση του δισκοειδούς τους σχήματος, έχει συνδεθεί με παραμέτρους βιωσιμότητας των αιμοπεταλίων (Bertolini & Murphy, 1994). Το ποσοστό των αιμοπεταλίων που διατηρούν το δισκοειδές σχήμα τους μπορεί να εκτιμηθεί ποιοτικά μέσω της μη επεμβατικής μεθόδου της περιδίνησης (swirling) των αιμοπεταλίων.

Κατά την εφαρμογή της μεθόδου, το περιεχόμενο των μονάδων αιμοπεταλίων κρατείται μπροστά σε λάμπες φθορισμού και αναστρέφεται ή αναδεύεται υπό ήπια πίεση (Tynggard, 2009). Στοιχεία ροής ή «μαργαρώδης» εμφάνιση καταγράφονται σε μία αριθμητική κλίμακα που συνήθως λαμβάνει τιμές από 0 έως +4 (Wagner & Robinette, 1996). Η μέθοδος είναι οικονομική και παρέχει γρήγορα αποτελέσματα όμως η ευαισθησία της στην ανίχνευση βακτηρίων είναι χαμηλή (Wagner & Robinette, 1996), ενώ καθώς η εκτίμηση είναι ποιοτική, εξαρτάται άμεσα από υποκειμενικούς παράγοντες όπως η εκπαίδευση και η εμπειρία του προσωπικού.

Στο παρελθόν έχουν επίσης αναπτυχθεί συστήματα, όπως το Platelet Monitoring System (PMS) (Bellhouse Products LTD, Abingdon, UK) και το Non Invasive Assessment of Platelet Shape and Concentration (NAPSAC) (Beecher Medical, Silver Spring, MD), που μετρούν το φως που περνά μέσα από μία ποσότητα αιμοπεταλίων η οποία υφίσταται ελεγχόμενη ανάδευση. Τα αποτελέσματα των συστημάτων αυτών δεν ήταν πάντα σε συμφωνία με εκείνα άλλων *in vitro* δοκιμασιών ή με την οπτική εικόνα των αιμοπεταλίων γι' αυτό και πλέον δεν χρησιμοποιούνται (George, Holme, & Moroff, 1989).

## **5. 3. Μέθοδοι Χρώσης**

Στις μεθόδους χρώσης που αξιοποιούνται για την ανίχνευση βακτηριακής παρουσίας στα αιμοπετάλια περιλαμβάνονται οι χρώσεις Gram και ακριδίνης. Για την παρασκευή του επιχρίσματος μικροσκόπησης 1 - 2 σταγόνες από τη μονάδα αιμοπεταλίων μεταφέρονται σε καθαρή γυάλινη αντικειμενοφόρο πλάκα με τη χρήση αποστειρωμένης βελόνας. Το δείγμα απλώνεται ώστε να σχηματίσει μια ομοιόμορφη μεμβράνη και αφήνεται να στεγνώσει στον αέρα ή σε ειδικό θερμαντήρα. Τα επιχρίσματα μπορούν επίσης να παρασκευασθούν με τη χρήση αυτοματοποιημένων συστημάτων.

### **5. 3. 1. Χρώση Gram**

Η διαδικασία χρώσης Gram περιλαμβάνει τα βήματα της εφαρμογής του κρυσταλλικού ιώδους, του αποχρωματισμού με αλκοόλη και του αντι-χρωματισμού (counterstaining) με σαφρανίνη. Τα θετικά κατά Gram βακτήρια διαθέτουν ένα παχύ στρώμα πεπτιδογλυκάνης προσδεμένο στη λιπιδική τους μεμβράνη, το οποίο δεν επιτρέπει τον αποχρωματισμό της αρχικής χρώσης με αποτέλεσμα να εμφανίζονται τελικά με βαθύ ιώδες χρώμα. Στα αρνητικά κατά Gram βακτήρια το στρώμα πεπτιδογλυκάνης είναι λεπτό, καταστρέφεται από τον αποχρωματιστή και η αρχική χρώση αντικαθίσταται από την κόκκινη αντι-χρωστική. Το επίχρισμα εξετάζεται μικροσκοπικά με 100X αντικειμενικό φακό (εμβάπτιση σε λάδι) (Palavecino, Yomtovian, & Jacobs, 2006).

Η ευαισθησία της μεθόδου είναι  $10^5$  CFU/mL (ή  $10^4$  CFU/mL εάν το δείγμα έχει προετοιμαστεί με αυτοματοποιημένη μέθοδο) (Palavecino, Yomtovian, & Jacobs, 2006), ενώ καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται όταν η χρώση πραγματοποιηθεί την 4<sup>η</sup> ή 5<sup>η</sup> ημέρα αποθήκευσης των αιμοπεταλίων, οπότε η συγκέντρωση των βακτηρίων που πιθανόν υπάρχουν είναι αυξημένη (Steen, Hanson-Steen, John, & Indrikovs, 2003). Στο παρελθόν η μέθοδος έχει συμβάλλει σημαντικά στην αποφυγή μετάγγισης βακτηριακά μολυσμένων αιμοπεταλίων (Yomtovian, et al., 1993), σήμερα ωστόσο η χρήση της είναι περιορισμένη (Szczerbiorkowski & Pagano, 2022).

### **5. 3. 2. Χρώση ακριδίνης**

Η μέθοδος χρησιμοποιεί το πορτοκαλί της ακριδίνης (0.1 g/L σε ρυθμιστικό διάλυμα οξικού οξέος 0.5 M, εφαρμογή για 2 min), μία φθορίζουσα χρωστική που προσδέεται στα νουκλεϊκά οξέα των βακτηρίων. Υπό την επίδραση UV ακτινοβολίας τα βακτήρια αποκτούν φωτεινό πορτοκαλί χρώμα, ενώ το χρώμα των ανθρώπινων κυττάρων και του υποβάθρου κυμαίνεται από ανοιχτοπράσινο έως κίτρινο (οι πυρήνες των ενεργοποιημένων λευκοκυττάρων μπορεί να εμφανίσουν πορτοκαλί ή κόκκινο χρώμα). Η μικροσκόπηση γίνεται σε μικροσκόπιο φθορισμού με 40X ξηρό ή 100X (εμβάπτιση σε λάδι) φακό.

Η ευαισθησία της μεθόδου είναι περίπου  $10^4$  CFU/mL (Palavecino, Yomtovian, & Jacobs, 2006).

## **5. 4. Μέθοδοι ταχείας ανίχνευσης**

Σήμερα είναι διαθέσιμες δύο μέθοδοι ταχείας ανίχνευσης (rapid tests), οι οποίες χρησιμοποιούν ως στόχο ανίχνευσης το βακτηριακό κυτταρικό τοίχωμα: η Verax Pan

Genera Detection (PGD/PGDprime) και η BacTx. Σε γενικές γραμμές η αναλυτική ευαισθησία των ταχέων μεθόδων ανίχνευσης κυμαίνεται μεταξύ 50 και 100,000 CFU/mL, ενώ ο χρόνος που απαιτείται είναι από 0.5 έως 4 h.

Οι μέθοδοι ταχείας ανίχνευσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν για επί τόπου (point of care) έλεγχο, για επέκταση του χρόνου αποθήκευσης των αιμοπεταλίων ή για να λειτουργήσουν συμπληρωματικά με κάποια μέθοδο καλλιέργειας (Schmidt, Ramirez-Arcos, Stiller, McDonald, & ISBT/WP-TTID, Subgroup on bacteria, 2022).

#### 5. 4. 1. PGD/PGDprime

Η δοκιμασία Pan Genera Detection (PGD) (Verax Biomedical, Marlborough, MA, USA) είναι μια ανοσολογική δοκιμασία τύπου διπλού σάντουιτς, που ανιχνεύει βακτηριακά αντιγόνα λιποπολυσακχαρίτη (LPS) και λιποτειχοϊκού οξέος (LTA) αρνητικών και θετικών κατά Gram βακτηρίων αντίστοιχα (Vollmer, Hinse, Kleesiek, & Dreier, 2010). Πραγματοποιείται σε μια μικροσυσκευή μιας χρήσης που περιλαμβάνει ένα τεστ για θετικά κατά Gram βακτήρια (αριστερή πλευρά) και ένα για αρνητικά κατά Gram βακτήρια (δεξιά πλευρά) (Εικ. 4).



**Εικόνα 4.** Οι μικροσυσκευές ταχείας ανίχνευσης PGD (αριστερά) και PGDprime (δεξιά).

Για τη δοκιμασία απαιτείται δείγμα όγκου 500  $\mu$ L που επεξεργάζεται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή, με αντιδραστήρια που απελευθερώνουν τα αντιγόνα LPS και LTA από την επιφάνεια των βακτηρίων. Το επεξεργασμένο δείγμα τοποθετείται στο φρεάτιο της μικροσυσκευής και τα συστατικά του κινούνται προς διαφορετικές κατευθύνσεις, περνώντας από υποστρώματα εμποτισμένα με αντισώματα ανίχνευσης (ειδικά για τα LTA και LPS) προσδεδεμένα σε χρυσό.

Στην περίπτωση παρουσίας βακτηρίων, η σύζευξη των αντιγόνων με τα αντισώματα έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό μίας ή δύο διακριτών, κάθετων γραμμών σε κάποια πλευρά της μικροσυσκευής (ή και στις δύο). Το χρώμα των γραμμών κυμαίνεται

από ανοιχτό ροζ έως σκούρο μωβ, και το αποτέλεσμα της δοκιμασίας θεωρείται θετικό ανεξάρτητα από την ένταση του χρώματος. Η δοκιμασία ολοκληρώνεται σε λιγότερο από 30 min (Jacobs, et al., 2011).

Το PGDprime (Verax Biomedical, Marlborough, MA, USA) είναι το σύστημα επόμενης γενιάς που αντικατέστησε το PGD στα μέσα του 2021 (Schmidt, Ramirez-Arcos, Stiller, McDonald, & ISBT/WP-TTID, Subgroup on Bacteria, 2022). Η αρχή ανίχνευσης είναι η ίδια, όμως η διάταξη της χρησιμοποιούμενης μικροσυσκευής είναι διαφορετική και περιλαμβάνει μία ταινία για την ανίχνευση αερόβιων και αναερόβιων Gram θετικών και αρνητικών βακτηρίων (Εικ. 4).

Το δείγμα αναμειγνύεται με το αντιδραστήριο προεπεξεργασίας και το pH ρυθμίζεται κατάλληλα με την προσθήκη αντιδραστηρίου εξουδετέρωσης. Το επεξεργασμένο δείγμα μεταφέρεται στο φρεάτιο της μικροσυσκευής και καθώς κινείται μέσω της ταινίας δοκιμής, τα βακτήρια που πιθανόν υπάρχουν σε αυτό συνδέονται με ειδικά αντισώματα ανίχνευσης, σημασμένα με βιοτίνη, για να δημιουργήσουν σύμπλοκα σάντουιτς με αντισώματα που είναι ακινητοποιημένα σε μία μεμβράνη νιτροκυτταρίνης. Στη συνέχεια με την προσθήκη ρυθμιστικού αντιδραστηρίου, απελευθερώνονται σωματίδια χρυσού επικαλυμμένα με στρεπταβιδίνη τα οποία ρέουν κατά μήκος της νιτροκυτταρίνης, πίσω από το επεξεργασμένο δείγμα, έτσι ώστε ο επικαλυμμένος με στρεπταβιδίνη χρυσός να συνδεθεί με τα σημασμένα με βιοτίνη σύμπλοκα σάντουιτς (Mintz & Vallejo, 2021).

Η δοκιμασία PGDprime έχει απλοποιημένη ροή εργασίας και παρουσιάζει αυξημένη ευαισθησία και ειδικότητα σε σύγκριση με την PGD. Πρόσφατα έχει αναπτυχθεί και μία ενισχυμένη τεχνική PGDprime με στόχο την ανίχνευση του *Acinetobacter spp*, ένα βακτήριο που έχει βρεθεί να ευθύνεται για αρκετές σηπτικές επιπλοκές μετά από μετάγγιση αιμοπεταλίων (LaVerda, et al., 2021).

#### **5. 4. 2. BacTx**

Το BacTx (Immunitics, Inc., Boston, MA, USA) είναι μια ποιοτική, χρωματομετρική δοκιμασία για την ανίχνευση της πεπτιδογλυκάνης που βρίσκεται στα κυτταρικά τοιχώματα των βακτηρίων. Η μέθοδος στηρίζεται στην πρόσδεση της πεπτιδογλυκάνης στην αντίστοιχη πρωτεΐνη πρόσδεσης (Peptidoglycan binding protein, PGBP), που με τη σειρά της ενεργοποιεί την ενζυματική μετατροπή ενός χρωμογόνου υποστρώματος σε

οπτικό προϊόν με μετρήσιμη απορρόφηση του φωτός (Heaton, Good, Galloway-Haskins, Yomtovian, & Jacobs, 2014).

Για τη διενέργεια της δοκιμασίας ένας μικρός όγκος δείγματος (0.5 mL) προστίθεται σε ένα μικροσωληνάριο φυγοκέντρησης που περιέχει αντιδραστήριο λύσης (υδατικό διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου, τασιενεργό ουσία και η-βουτανόλη). Το διάλυμα φυγοκεντρείται προκειμένου τα αδιάλυτα κατάλοιπα και τα θραύσματα των κυτταρικών τοιχωμάτων των βακτηρίων (εάν υπάρχουν) να επικαθίσουν ως pellet. Στη συνέχεια το pellet ομογενοποιείται με την προσθήκη αντιδραστηρίου εκχύλισης (υδατικό διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου) που απελευθερώνει την πετιδογλυκάνη από τα βακτηριακά κυτταρικά τοιχώματα. Ακολουθεί εξουδετέρωση (με 4-μορφολίνο-προπανοσουλφονικό οξύ) και προσθήκη των λυοφιλοποιημένων αντιδραστηρίων ανίχνευσης, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Το τελικό εναιώρημα φωτομετρείται σε αυτοματοποιημένο αναλυτή που καταγράφει αυτόματα την αντίδραση ανίχνευσης και ερμηνεύει το αποτέλεσμα με βάση ένα ειδικό λογισμικό που είναι εγκατεστημένο σε συνδεδεμένο υπολογιστή. Η δοκιμασία θεωρείται θετική εάν ανιχνευθούν βακτήρια μέσα σε διάστημα 30 min (Schmidt, Ramirez-Arcos, Stiller, McDonald, & ISBT/WP-TTID, Subgroup on Bacteria, 2022).

Η μέθοδος έχει ειδικότητα 99.8% και αναλυτική ευαισθησία που κυμαίνεται από  $10^3$  CFU/mL για τα *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *S. epidermidis* και *Bacillus cereus* έως  $10^5$  CFU/mL για τα *Streptococcus agalactiae*, *P. aeruginosa* και *Serratia marcescens*, ενώ διατηρεί την υψηλή ειδικότητα και αναπαραγωγιμότητα και σε περιπτώσεις βακτηρίων που αναπτύσσονται αργά ή/και σχηματίζουν βιοφίλμ (Mohammadi, Pietersz, Vandenbroucke-Grauls, Savelkoul, & Reesink, 2005).

Προς το παρόν δεν υπάρχουν δημοσιευμένες αναφορές για χρήση του BacTx σε έλεγχο ρουτίνας αιμοπεταλίων (Schmidt, Ramirez-Arcos, Stiller, McDonald, & ISBT/WP-TTID, Subgroup on Bacteria, 2022).

## **5. 5. Μέθοδοι αυτοματοποιημένης καλλιέργειας**

Τα τελευταία χρόνια η ασφάλεια της μετάγγισης αιμοπεταλίων έχει βελτιωθεί επιφέροντας σημαντική μείωση των καταγεγραμμένων θανάτων. Αυτό είναι το αποτέλεσμα ποικίλων παρεμβάσεων, κυρίως όμως οφείλεται στην εφαρμογή μεθόδων καλλιέργειας (Kamel, Ramirez-Arcos, & McDonald, 2022).



Οι μέθοδοι καλλιέργειας απαιτούν αρκετό χρόνο για την παραγωγή αποτελέσματος καθώς εξαρτώνται από τον ρυθμό της βακτηριακής ανάπτυξης, γι' αυτό και τα προς εξέταση δείγματα συλλέγονται από τα αιμοπεταλιακά συμπυκνώματα συνήθως εντός 24 h από τη συλλογή (Denys, et al., 2020). Πιο συχνά χρησιμοποιούμενα είναι τα συστήματα BacT/ALERT, BACTEC και eBDS.

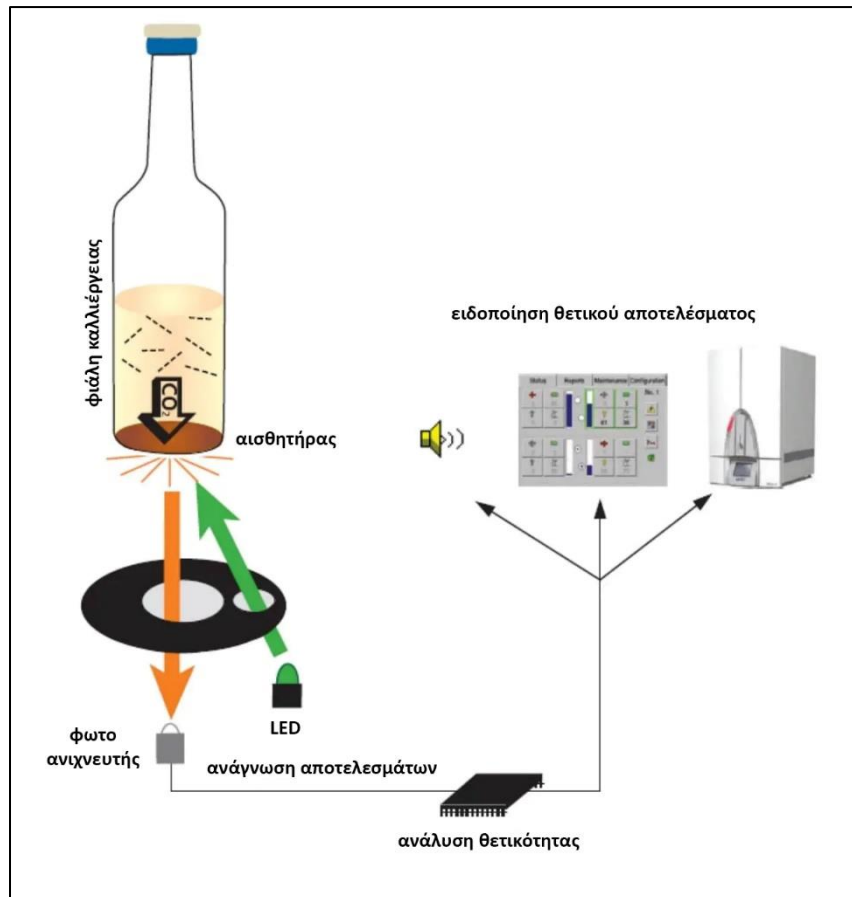
#### **5. 5. 1. BacT/ALERT και BACTEC**

Πρόκειται για δύο αυτοματοποιημένες μεθόδους καλλιέργειας που ανιχνεύουν την παραγωγή CO<sub>2</sub> ως προϊόν μεταβολισμού των παθογόνων μικροοργανισμών.

Το BacT/ALERT (bioMerieux, Inc., Durham, NC, USA) είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο. Ένας μικρός όγκος από το προς εξέταση δείγμα (4-10 mL) τοποθετείται υπό άσηπτες συνθήκες σε φιάλες που περιέχουν θρεπτικό υλικό αερόβιας και αναερόβιας καλλιέργειας. Οι εμβολιασμένες φιάλες επωάζονται για 7 ημέρες σε θερμοκρασία 35 - 37 °C στη μονάδα επώασης του συστήματος. Το παραγόμενο CO<sub>2</sub> αλλάζει το χρώμα σε έναν αεροδιαπερατό αισθητήρα που υπάρχει στο κάτω μέρος της φιάλης καλλιέργειας, από γκρι σε κίτρινο (Schmidt, Sireis, & Seifried, 2011) (Εικ. 5).

Η ευαισθησία της μεθόδου είναι 1 - 10 CFU/mL (Benjamin, McDonald, & ISBT TTID Bacterial Workgroup, 2014) τόσο για αιμοπετάλια από ολικό αίμα όσο και για αιμοπετάλια από αφαίρεση (Munksgaard, Albjerg, Lillevang, Gahrn-Hansen, & Georgsen, 2004). Κατά καιρούς έχουν αναφερθεί ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα (Abela, Fenning, Maguire, & Morris, 2018), ενώ όπως έχει ήδη αναφερθεί η μέθοδος μπορεί να μην ανιχνεύει βακτήρια που σχηματίζουν βιοφίλμ (Greco-Stewart, et al., 2012).

Το νεότερο μοντέλο BACT/ALERT VIRTUO αξιοποιεί την ίδια χρωματομετρική τεχνολογία, προσφέρει όμως βελτιώσεις που αφορούν στη σταθερότητα της θερμοκρασίας, στην αυτόματη φόρτωση και εκφόρτωση των φιαλών καλλιέργειας για ελαχιστοποίηση των χειροκίνητων διαδικασιών και στον χρησιμοποιούμενο αλγόριθμο, επιτρέποντας τη μείωση του χρόνου ανίχνευσης (Kamel, Ramirez-Arcos, & McDonald, 2022).



**Εικόνα 5.** Η αρχή λειτουργίας των αυτοματοποιημένων μεθόδων καλλιέργειας BacT/ALERT και BACTEC.

Το BACTEC (BD Diagnostics, USA) είναι ανάλογο με το BacT/ALERT μόνο που η παραγωγή του CO<sub>2</sub> καταγράφεται μέσω φθορισμού (Levy, Neal, & Herman, 2018) (Εικ. 5). Η ευαισθησία της μεθόδου είναι αντίστοιχη με εκείνη του BacT/ALERT (1 - 10 CFU/mL) (Dunne, Case, Isgriggs, & Lublin, 2005).

### 5. 5. 2. VersaTREK

Το σύστημα VersaTREK παρακολουθεί τη βακτηριακή ανάπτυξη ανιχνεύοντας μεταβολές της ατμοσφαιρικής πίεσης στον κενό χώρο της φιάλης καλλιέργειας, οι οποίες προκύπτουν δευτερογενώς από την κατανάλωση/παραγωγή αερίων. Η ευαισθησία της μεθόδου κυμαίνεται μεταξύ 10 - 20 CFU/mL (Nanua, Weber, Isgriggs, & Dune, 2009). Το σύστημα παρουσιάζει αυξημένη ευαισθησία στην εξέταση μικρών δειγμάτων, ενώ στα πλεονεκτήματά του περιλαμβάνεται η δυνατότητα προσαρμογής του όγκου του δείγματος (0.1 - 10 mL) (Chetouane, et al., 2018).

### **5. 5. 3. eBDS**

To enhanced Bacteria Detection System (Haemonetics Corporation, USA) χρησιμοποιείται για την ανίχνευση αερόβιων βακτηρίων σε λευκαφαιρεμένα αιμοπετάλια (Ortolano, et al., 2003). Ένας μικρός όγκος δείγματος (2 - 3 mL) επωάζεται στους 37 °C σε ειδικό σάκο με θρεπτικό υλικό για τουλάχιστον 24 h. Στη συνέχεια ο σάκος σφραγίζεται και επωάζεται στους 35 °C υπό ανάδευση με συνεχή μέτρηση της συγκέντρωσης του οξυγόνου (McDonald, et al., 2005). Καθώς τα βακτήρια καταναλώνουν οξυγόνο κατά τον πολλαπλασιασμό τους, η μεταβαλλόμενη συγκέντρωση του οξυγόνου καταγράφεται. Το αποτέλεσμα θεωρείται θετικό εάν η μέτρηση του οξυγόνου είναι μικρότερη από 12.5% (Stormer & Vollmer, 2014). Η ευαισθησία της μεθόδου είναι 1 CFU/mL (Stormer & Vollmer, 2014).

### **5. 5. 4. Μικροθερμιδομετρία**

Η τεχνική της μικροθερμιδομετρίας έχει εφαρμοσθεί για την ανίχνευση βακτηριακών επιμολύνσεων σε αιμοπετάλια. Η μέθοδος στηρίζεται στη μέτρηση της θερμότητας που παράγεται κατά τον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών στη διάρκεια της επώασης. Οι καμπύλες ροής της θερμότητας καταγράφονται συνεχώς μέσω ενός μικροθερμιδομετρικού αισθητήρα.

Μεταβολές θερμότητας σε συμπυκνώματα αιμοπεταλίων με χαμηλό βακτηριακό φορτίο (1 CFU/mL) είναι συνήθως μη ανιχνεύσιμες, ενώ όσο μειώνεται η αρχική συγκέντρωση των βακτηρίων, τόσο αυξάνεται ο χρόνος που απαιτείται για την παραγωγή αποτελέσματος. Βακτήρια με γρήγορο ρυθμό πολλαπλασιασμού ανιχνεύθηκαν σε χρόνο επώασης 8 h (Trampuz, Salzmann, Antheaume, & Daniels, 2007). Λόγω της μεγάλης αναμονής η μέθοδος συνδυάζεται με πρόωμη δειγματοληψία, που όμως ενέχει υψηλότερο κίνδυνο σφάλματος (Stormer & Vollmer, 2014).

## **5. 6. Μοριακές τεχνικές ανίχνευσης νουκλεϊκών οξέων**

Η ανίχνευση νουκλεϊκών οξέων (Nucleic Amplification Test, NAT) είναι μια τεχνική που βασίζεται στην τεχνολογία της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (Polymerase Chain Reaction, PCR) και ανιχνεύει το DNA ή το ριβοσωμικό RNA των βακτηρίων. Θεωρητικά η μέθοδος επιτρέπει τον ακριβή ποσοτικό προσδιορισμό της αλληλουχίας νουκλεϊκών οξέων σε ένα σύνθετο μίγμα, ακόμα και αν η αρχική ποσότητα του υλικού είναι πολύ χαμηλής συγκέντρωσης. Σημαντικοί παράγοντες που θα πρέπει να

ληφθούν υπόψη κατά τον σχεδιασμό τέτοιων μοριακών μεθόδων είναι το γονίδιο (ή τα γονίδια) στόχος, η τεχνική που θα χρησιμοποιηθεί για την εξαγωγή των νουκλεϊκών οξέων και ο τρόπος αξιολόγησης των αποτελεσμάτων (Dreier, Stormer, & Kleesiek, 2007).

Σε γενικές γραμμές χρησιμοποιούνται μικροί όγκοι δείγματος (περίπου 0.5 mL) ενώ η εξαγωγή των νουκλεϊκών οξέων γίνεται χειροκίνητα ή με τη χρήση αυτοματοποιημένων μεθόδων. Καθολική βακτηριακή ανίχνευση μπορεί να πραγματοποιηθεί στοχεύοντας στα 16s (Mohammadi, Pietersz, Vandenbroucke-Grauls, Savelkoul, & Reesink, 2005) ή 23s ριβοσωμικά γονίδια ή σε γονίδια όπως τα *groB* ή *groEL* (Dreier, Stormer, & Kleesiek, 2004). Οι Dreier et al. χρησιμοποίησαν αντιδραστήριο 8-μεθοξυψωραλενίου και ακτινοβόληση UV για μείωση της επιμόλυνσης DNA, ενώ υποστήριξαν ότι η ευαισθησία της ανάλυσης εξαρτιόταν από το χρησιμοποιούμενο ένζυμο ενίσχυσης που χρησιμοποιούσαν (Dreier, Stormer, & Kleesiek, 2004). Μια ερευνητική ομάδα από τη Βραζιλία ανέφερε πρόσφατα τη βελτιστοποίηση μιας μεθόδου RT-PCR που περιλαμβάνει την ανίχνευση της 16s ριβοσωμικής αλληλουχίας και μείωση του μη ειδικού θορύβου υποβάθρου μέσω επεξεργασίας του κύριου μίγματος με μονοαζίδιο του αιθιδίου (Alexandrino, Malgarin, Krieger, & Morello, 2021). Σημαντικός για τις δοκιμασίες αυτές είναι ο ποιοτικός έλεγχος, ο οποίος πραγματοποιείται συνήθως χρησιμοποιώντας αιμοπετάλια αρνητικά σε καλλιέργεια (Schmidt, Ramirez-Arcos, Stiller, McDonald, & ISBT/WP-TTID, Subgroup on Bacteria, 2022).

Αν και οι μοριακές μέθοδοι αποσκοπούν κυρίως σε καθολική βακτηριακή ανίχνευση, έχουν αναπτυχθεί και δοκιμασίες που στοχεύουν στην ανίχνευση συγκεκριμένων μικροοργανισμών. Οι Mastronardi και Ramirez-Arcos για παράδειγμα, βελτιστοποίησαν μια RT-PCR δοκιμασία που στοχεύει στο σχετιζόμενο με την κυτταρική διαίρεση γονίδιο *divIVA* για την ανίχνευση του *S.epidermitis* (Mastronardi & Ramirez-Arcos, 2007).

Οι περιορισμοί των μεθόδων NAT για τον έλεγχο των αιμοπεταλίων σχετίζονται με την πιθανή επιμόλυνση των αντιδραστηρίων της ανάλυσης που επηρεάζει την ειδικότητα και την ευαισθησία, τη δυσκολία στην εφαρμογή της μεθόδου σε επίπεδο ρουτίνας και το υψηλό κόστος (Stormer & Vollmer, 2014). Ο Γερμανικός Ερυθρός Σταυρός χρησιμοποιεί από το 2021 μια μέθοδο NAT σε επίπεδο ρουτίνας (Schmidt, Ramirez-Arcos, Stiller, McDonald, & ISBT/WP-TTID, Subgroup on Bacteria, 2022), ενώ προς το παρόν δεν υπάρχουν γενικές δοκιμασίες NAT διαθέσιμες στο εμπόριο.

## 5. 7. Κυτταρομετρία ροής

Η ανίχνευση βακτηρίων με τη μέθοδο της κυτταρομετρίας ροής πραγματοποιείται με σήμανση των ζωντανών βακτηριακών κυττάρων με μία φθορίζουσα ουσία η οποία διαπερνά την κυτταρική μεμβράνη και εισέρχεται μέσα στο κύτταρο, όπου διασπάται από ενδοκυττάριας εστεράσες παράγοντας φθορισμό.

Το πρώτο σύστημα που βασίστηκε σε αυτή την τεχνολογία ήταν το BactiFlow (Dreier, Vollmer, & Kleesiek, 2009). Η ευαισθησία του συστήματος ήταν 150 CFU/mL, σημαντικά μικρότερη από εκείνη των μεθόδων καλλιέργειας και το ποσοστό ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων 1.7% (Vollmer, Engemann, Kleesiek, & Dreier, 2011). Το σύστημα χρησιμοποιήθηκε στη Γερμανία για αρκετά χρόνια (Muller, et al., 2015) μέχρι το 2020 (Schmidt, Ramirez-Arcos, Stiller, McDonald, & ISBT/WP-TTID, Subgroup on Bacteria, 2022).

Το Scansystem ήταν ένα ακόμα σύστημα κυτταρομετρίας στερεάς φάσης, με τεχνολογία laser, που στόχευε στην ανίχνευση βακτηρίων στα αιμοπετάλια, που όμως δεν κυκλοφορεί πλέον στο εμπόριο (Motoyama, et al., 2008).

## 5. 8. Φασματομετρία μάζας MALDI-TOF

Τα τελευταία χρόνια η φασματομετρία μάζας MALDI-TOF έχει γίνει ένα ισχυρό και γρήγορο εργαλείο για την ανίχνευση και την ταυτοποίηση βακτηρίων (Seng, et al., 2009). Η πρώτη μελέτη για την εφαρμογή της στην ανίχνευση βακτηριακής επιμόλυνσης αιμοπεταλίων δημοσιεύθηκε το 2018 (Chetouane, et al., 2018).

Πρόκειται για μία μέθοδο που βασίζεται στην ανάλυση πρωτεϊνών (κυρίως ριβοσωμικών) μάζας 2,000 - 20,000 Daltons από το πρωτέωμα των παθογόνων μικροοργανισμών. Η δειγματοληψία μπορεί να γίνει απευθείας από το συμπύκνωμα των αιμοπεταλίων ή από υγρό καλλιέργειας. Το δείγμα αναμειγνύεται με ένα διάλυμα απορρόφησης ενέργειας και ξηραίνεται προκειμένου να συγκρυσταλλωθεί με αυτό. Μια δέσμη laser ιονίζει τις πρωτεΐνες του δείγματος μέσω πρωτονίωσης, τα ιόντα που δημιουργούνται επιταχύνονται σε σταθερό δυναμικό και διαχωρίζονται με βάση το λόγο μάζας/φορτίου που μετράται σε συνάρτηση με τον χρόνο. Έτσι παράγεται ένα φάσμα μάζας που είναι αντιπροσωπευτικό για κάθε ιονισμένο πεπτίδιο του δείγματος (Vrioni, et al., 2018). Η ταυτοποίηση του μικροβιακού στελέχους πραγματοποιείται με τη βοήθεια μιας βάσης δεδομένων με φάσματα που έχουν προέλθει από έναν μεγάλο αριθμό καλά

μελετημένων και ταυτοποιημένων βακτηρίων (Chabriere, Bassene, Drancourt, & Sokhna, 2018).

Τα Gram θετικά βακτήρια παρουσιάζουν μεγαλύτερη δυσκολία στην ανάλυση και ταυτοποίηση, λόγω της πολύπλοκης σύνθεσης των κυτταρικών τους τοιχωμάτων και της συγγένειας μεταξύ των διαφορετικών στελεχών του ίδιου είδους (Elbehiry, et al., 2022).

### **5. 9. Μέθοδοι ταυτοποίησης βακτηρίων**

Η ταυτοποίηση του φαινότυπου των βακτηρίων μπορεί να γίνει μέσω των μακροσκοπικών και μικροσκοπικών ιδιοτήτων τους. Μακροσκοπικά αξιολογούνται το χρώμα και η οπτική εμφάνιση των αποικιών. Μικροσκοπικά χρησιμοποιούνται η μέθοδος χρώσης Gram και συνήθεις τεχνικές βακτηριολογίας όπως οι δοκιμασίες κοαγκουλάσης, ουρεάσης, ινδόλης, μανιτόλης κ.λπ. Για την ταυτοποίηση των βακτηρίων μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν το API kit (bioMerieux, France) καθώς και αυτοματοποιημένες μέθοδοι όπως το σύστημα Vitek 2 (bioMerieux, France) (Farzad, Farzad, Zahra, Nahid, & Mahsa, 2016).

## Κεφάλαιο 6. Τεχνικές μείωσης παθογόνων

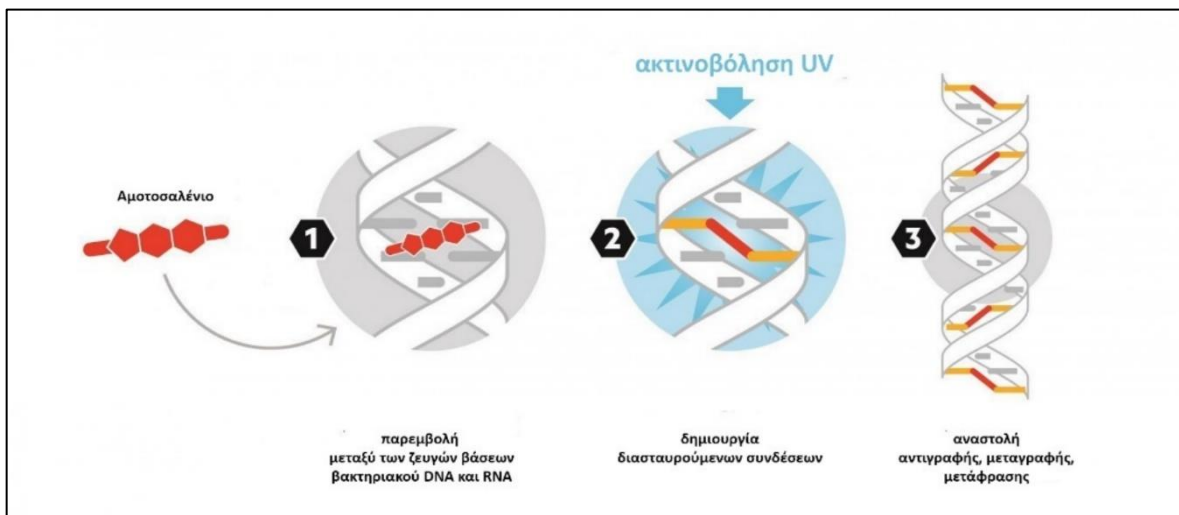
Σε αντίθεση με τις μεθόδους ανίχνευσης που αναφέρθηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο, οι νεότερες τεχνολογίες μείωσης παθογόνων (pathogen reduction technologies, PRTs) αποτελούν μια προληπτική προσέγγιση στο πεδίο ασφάλειας των αιμοπεταλιακών παραγώγων. Πρόκειται για τεχνολογίες που δεν στοχεύουν μόνο στα γνωστά βακτηριακά στελέχη αλλά μετριάζουν τους κινδύνους που σχετίζονται ακόμα και με άγνωστους παθογόνους μικροοργανισμούς. Οι υπάρχουσες μέθοδοι δεν είναι αποτελεσματικές στα βακτηριακά σπόρια, ούτε και στα prions που δεν διαθέτουν DNA ή RNA (Prowse, 2013).

Οι σύγχρονες τεχνικές μείωσης των παθογόνων μικροοργανισμών σε παράγωγα του αίματος αξιοποιούν τη γνωστή από παλιά αντιμικροβιακή δράση της υπεριώδους (UV) ακτινοβολίας (Enwemeka, Baker, & Bumah, 2021). Τρεις από αυτές είναι κατάλληλες για χρήση στα αιμοπετάλια.

### 6. 1. INTERCEPT Blood System for Platelets

Ο μηχανισμός δράσης του INTERCEPT Blood System (Cerus Corporation, Concond, CA, USA) βασίζεται στις ιδιότητες του αμοτοσαλενίου, μιας φωτοδραστικής χημικής ένωσης που ανήκει στην κατηγορία των ψωραλενίων. Το αμοτοσαλένιο μπορεί να διαπερνά τις κυτταρικές μεμβράνες, τα τοιχώματα των βακτηρίων ή τους φακέλους των ιών και να αλληλεπιδρά άμεσα με τα νουκλεϊκά οξέα των παθογόνων μικροοργανισμών χωρίς να επηρεάζει τις πρωτεΐνες ή τα κυτταρικά λιπίδια. Η χημική δομή του δεν αλλάζει από τη διείσδυση στο κύτταρο γεγονός που του επιτρέπει να αδρανοποιεί και ενδοκυττάρια παθογόνα (Levy, Neal, & Herman, 2018).

Το αμοτοσαλένιο παρεμβάλλεται άμεσα στις δομές διπλής έλικας DNA ή της αλυσίδας του RNA των βακτηρίων όπου κατά τη διάρκεια ακτινοβόλησης με UVA ενώνεται ομοιοπολικά με τις βάσεις πυριμιδίνης (Johannsson, et al., 2020). Αποτέλεσμα της πρόσδεσης αυτής είναι η μη αναστρέψιμη αναστολή της αντιγραφής και μεταγραφής των DNA και RNA (Lin, et al., 2004) (Εικ. 6).



**Εικόνα 6.** Ο μηχανισμός δράσης του αμοτοσαλενίου.

Η συσκευή ακτινοβολίας έχει σχεδιαστεί ειδικά ώστε να επιτρέπει μόνο την ακτινοβολία UVA να φτάνει στα αιμοπεταλιακά παράγωγα, καθώς έχει αναφερθεί ότι ακτινοβολίες μικρότερου μήκους κύματος όπως η UVB ή η UVC έχουν επιβλαβή δράση στα αιμοπετάλια και στις πρωτεΐνες μέσω της δημιουργίας δραστικών μορφών αναγωγής του οξυγόνου (ROS). Στο δεύτερο στάδιο που διαρκεί έως 16 h πραγματοποιείται η απομάκρυνση του εναπομείναντος αμοτοσαλενίου και ελεύθερων φωτοπροϊόντων μέσω μιας συσκευής CAD (Compound Adsorption Device). Ολόκληρη η διαδικασία πραγματοποιείται σε ένα κλειστό σετ μιας χρήσης (Irsch & Lin, 2011). Τελικά τα αιμοπετάλια μεταφέρονται σε νέους ασκούς αποθήκευσης και αποθηκεύονται σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι 7 ημέρες.

Το σύστημα δίνει τη δυνατότητα ταυτόχρονης ακτινοβολίας δύο αιμοπεταλιακών συμπυκνωμάτων. Η διαδικασία πραγματοποιείται εντός 24 h από τη λήψη των αιμοπεταλίων (Levy, Neal, & Herman, 2018), ενώ ο χρόνος για την προετοιμασία των αιμοπεταλιακών παραγώγων δεν ξεπερνά τα 10 min. Ειδικά όταν χρησιμοποιείται το διπλό σύστημα η ταχύτητα διεκπεραίωσης μιας συσκευής ακτινοβολίας είναι περίπου 40 μονάδες/h. Το σύστημα μπορεί να επεξεργαστεί αιμοπετάλια από αφαίρεση όσο και συμπυκνώματα αιμοπεταλίων από ολικό αίμα (Irsch & Lin, 2011).

## 6. 2. Mirasol Pathogen Reduction Technology System

Το Mirasol Pathogen Reduction Technology System (TerumoBCT, Lakewood, CO, USA) είναι επίσης μια φωτοδυναμική διαδικασία αξιοποίησης μιας φωτοδραστικής ουσίας και της UV ακτινοβολίας. Ως φωτοευαισθητοποιητή χρησιμοποιεί τη ριβοφλαβίνη, μια φυσική



βιταμίνη (B<sub>2</sub>) που προάγει την οξείδωση των νουκλεϊκών οξέων των παθογόνων μικροοργανισμών. Η ριβοφλαβίνη σε συνδυασμό με ένα ευρύ φάσμα UV ακτινοβολίας (60% UVA, 100% UVB και 20% UVC) (285-365 nm) προκαλεί τροποποιήσεις στις αλυσίδες των νουκλεϊκών οξέων των βακτηρίων εστιάζοντας κυρίως στις βάσεις γουανίνης (Marschner & Goodrich, 2011).

Σε γενικές γραμμές η διαδικασία περιλαμβάνει τη μεταφορά των αιμοπεταλίων σε ασκό ακτινοβολίας όπου προστίθεται η ριβοφλαβίνη, την ακτινοβολία και τελικά την αποθήκευση του επεξεργασμένου αιμοπεταλιακού συμπυκνώματος σε συνήθεις συνθήκες αποθήκευσης, όπου παραμένει άμεσα διαθέσιμο για μετάγγιση (Goodrich, Edrich, Li, & Seghatchian, 2006). Καθώς η βιταμίνη B<sub>2</sub> είναι φυσικό προϊόν και επειδή τα παράγωγα της φωτοδιάσπασής της είναι μη τοξικά, δεν απαιτείται η απομάκρυνσή τους πριν από τη μετάγγιση των αιμοπεταλίων (Levy, Neal, & Herman, 2018).

Το Mirasol έχει 98% αποτελεσματικότητα στην αδρανοποίηση είκοσι κλινικά σημαντικών βακτηριακών στελεχών όταν αυτά υπάρχουν σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, όπως συνήθως συμβαίνει κατά τον χρόνο συλλογής των αιμοπεταλίων. Η αποτελεσματικότητα του συστήματος ήταν 91% σε βακτηριακές συγκεντρώσεις που αντιστοιχούν σε βακτήρια βραδείας ανάπτυξης (Goodrich, Gilmour, Hovenga, & Keil, 2009). Σημαντική για την αποτελεσματικότητα της μεθόδου είναι η ελαχιστοποίηση του χρόνου που μεσολαβεί μεταξύ της συλλογής των αιμοπεταλίων και της εφαρμογής της μεθόδου. Σε μια έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε αιμοπετάλια από ολικό αίμα μολυσμένα με 5 στελέχη της *Klebsiella pneumoniae* για παράδειγμα, η αδρανοποίηση ήταν πλήρης όταν πραγματοποιήθηκε 24 h μετά τη συλλογή, ενώ ένα από τα στελέχη δεν αδρανοποιήθηκε όταν ο χρόνος αναμονής για την έναρξη της διαδικασίας παρατάθηκε στις 36 h (Alabdullatif, et al., 2021).

Πρόσφατα οι Zhu et al. ανέπτυξαν μια μέθοδο μείωσης παθογόνων που αξιοποιεί τη ριβοφλαβίνη αλλά χρησιμοποιεί UV-LED ακτινοβολία. Η μέθοδος ήταν σε θέση να μειώσει σημαντικά τον απαιτούμενο χρόνο ακτινοβολίας για την επίτευξη της αδρανοποίησης του φαρμακοανθεκτικού βακτηρίου *Acinetobacter baumannii* στα αιμοπετάλια, ωστόσο δεν αποδείχθηκε αποτελεσματική για την αδρανοποίηση του επίσης φαρμακοανθεκτικού Gram θετικού *Staphylococcus aureus* στο πλάσμα (Zhu, Li, & Wang, 2020).

### **6. 3. THERAFLEX UV-Platelets**

Το σύστημα THERAFLEX UV-Platelets (Macopharma, Mounaux, France) είναι μια νέα μέθοδος μείωσης παθογόνων που στηρίζεται στη UV ακτινοβολία, χωρίς όμως τη χρησιμοποίηση φωτοδραστικών ουσιών. Η αδρανοποίηση επιτυγχάνεται με τη χρησιμοποίηση μονοχρωματικής UVC ακτινοβολίας (254 nm) που αλληλεπιδρά απευθείας με τα νουκλεϊκά οξέα των παθογόνων μικροοργανισμών σχηματίζοντας διμερή πυριμιδίνης και προκαλώντας βλάβες στις αλυσίδες των νουκλεϊκών οξέων (Seltsam & Muller, 2011). Η ακτινοβολία πραγματοποιείται και από τις δύο πλευρές του ασκού αποθήκευσης και απαιτεί λιγότερο από 1 min για να επιτευχθεί μια βιολογικά δραστική δόση UVC. Κατά την ακτινοβολία τα αιμοπετάλια υφίστανται έντονη ανάδευση προκειμένου να εξασφαλιστεί ομοιογενής επεξεργασία, μια διαδικασία που πιθανόν επιδρά στην ποιότητα των αιμοπεταλίων (Levy, Neal, & Herman, 2018).

Η μέθοδος είναι αποτελεσματική για την αδρανοποίηση των βακτηρίων, είναι αμφίβολο ωστόσο, εάν μπορεί να αδρανοποιήσει τα σπόρια των βακτηρίων ή τα βιοφίλμ (Gravemann, Handke, Muller, & Seltsam, 2019).

### **6. 4. Επιπτώσεις των PRTs στα αιμοπετάλια**

Η εφαρμογή των μεθόδων PRTs στα αιμοπετάλια έχει τριπλό στόχο: την πρόληψη της βακτηριακής επιμόλυνσης, την παράταση της διάρκειας ζωής των αποθηκευμένων αιμοπεταλίων και την παροχή πρόσθετης ασφάλειας κατά των μολυσματικών ασθενειών που μεταδίδονται με τη μετάγγιση. Οι μεταβολές που προκαλούνται στα αιμοπετάλια έχουν αποτελέσει αντικείμενο εκτεταμένων μελετών, καθώς είναι άρρηκτα συνδεδεμένες με τη λειτουργικότητα και την αποτελεσματικότητα των μεταγγιζόμενων αιμοπεταλίων.

#### **6. 4. 1. Επιπτώσεις στους βιολογικούς και μεταβολικούς δείκτες**

Οι μεταβολικές αλλαγές που προκαλούνται από το INTERCEPT συνδέονται άμεσα με ενίσχυση του αναερόβιου μεταβολισμού που αντικατοπτρίζεται σε αυξημένη κατανάλωση γλυκόζης, συσσώρευση γαλακτικού οξέος και οξίνιση. Οι μεταβολές αυτές συνοδεύονται από αλλαγές στη μορφολογία των αιμοπεταλίων, μικρές μειώσεις στην περιδίνιση και μεταβολή της αντίστασης στο υπεροσμωτικό σοκ. Μέτριες μειώσεις έκφρασης της GPIIb με ταυτόχρονη ενεργοποίηση της GPIIb-IIIa και ενισχυμένη έκφραση της P-σελεκτίνης έχουν επίσης περιγραφεί. Παρουσιάζονται επίσης έντονα σημάδια απόπτωσης με έκθεση ανιονικών φωσφολιπιδίων, δέσμευση ανεξίνης V και

απελευθέρωση μικροσωματιδίων. Εισαγωγή κλασικών ή νεότερων τύπων PAS δεν αποτρέπει την επιδείνωση που παρατηρείται μετά την επεξεργασία με INTERCEPT, ενώ η μείωση της συγκέντρωσης του κιτρικού οξέος μπορεί να μειώσει ελαφρά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων.

Παρόμοιες μεταβολές παρατηρούνται και σε αιμοπετάλια που έχουν επεξεργαστεί με το σύστημα Mirasol. Οι πληροφορίες για την επίδραση του THERAFLEX στην ποιότητα των αιμοπεταλίων είναι λίγες και βασίζονται κυρίως σε μελέτες με αιμοπετάλια BC. Μεταβολές στην παρουσία γλυκοπρωτεϊνών, ενισχυμένη έκφραση της P-σελεκτίνης και αυξημένη πρόσδεση της ανεξίνης V έχουν αναφερθεί και για τη μέθοδο αυτή, φαίνεται ωστόσο να είναι λιγότερο έντονες (Escolar, Diaz-Ricart, & McCullough, 2022).

#### **6. 4. 2. Επιπτώσεις στις λειτουργικές αποκρίσεις των αιμοπεταλίων**

Αρκετές μελέτες αναφέρουν μειωμένη απόκριση στη συσσωμάτωση αιμοπεταλίων από ADP, κολλαγόνο ή θρομβίνη μετά από επεξεργασία με INTERCEPT και από ADP, κολλαγόνο, TRAP ή άλλους αγωνιστές μετά από επεξεργασία με Mirasol. Οι αποκρίσεις στο ADP και στο κολλαγόνο διατηρήθηκαν σε μεγάλο βαθμό στην περίπτωση επεξεργασίας με THERAFLEX αν και οι έρευνες συγκριτικά με τις υπόλοιπες PRTs είναι λιγότερες.

Σε ένα μοντέλο όπου το ανασυσταθέν αίμα περνά πάνω από κατεστραμμένα αγγειακά τμήματα, οι συγκολλητικές και συσσωρευτικές ιδιότητες των αιμοπεταλίων που είχαν υποστεί επεξεργασία με INTERCEPT ήταν παρόμοιες με εκείνες των αιμοπεταλίων ελέγχου και διατηρήθηκαν καλά για διάστημα αποθήκευσης έως και 7 ημερών. Τα επεξεργασμένα με Mirasol BC αιμοπετάλια διατήρησαν επίσης τις προσκολλητικές και συγκολλητικές τους λειτουργίες σε σύγκριση με τα αιμοπετάλια ελέγχου (Escolar, Diaz-Ricart, & McCullough, 2022).

Σε γενικές γραμμές, η έκθεση των αιμοπεταλίων στην υπεριώδη ακτινοβολία προκαλεί ήπια ενεργοποίηση, η οποία επιδεινώνεται από την αποθήκευση. Τέλος, οι τεχνικές μείωσης παθογόνων φαίνεται να προκαλούν μείωση της βιωσιμότητας των αιμοπεταλίων στην κυκλοφορία (Pati, Masiello, Rupella, Cruciani, & De Angelis, 2022), επιδρώντας στη λειτουργία των μιτοχονδρίων τους (Devine, 2022).

### 6. 4. 3. Αλλαγές στο πρωτέωμα των αιμοπεταλίων

Πρωτεωμικές μελέτες σε συμπυκνώματα αιμοπεταλίων υποδεικνύουν ότι το 97% των πρωτεϊνών παραμένουν αμετάβλητες κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, με λίγες αλλαγές να εντοπίζονται στις κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες και σε εκείνες που σχετίζονται με τις λειτουργίες της απόπτωσης (Thiele, et al., 2007).

Μελέτη των πρωτεωμικών αλλαγών που προκαλεί η επεξεργασία με INTERCEPT σε BC αιμοπετάλια και αιμοπετάλια από αφαίρεση έδειξε μεταβολές σε 23 και 58 πρωτεΐνες κατά την 1η και την 5η ημέρα αποθήκευσης αντίστοιχα. Από αυτές μόνο τρεις παρουσίασαν σταθερή μεταβολή μετά την επεξεργασία και την αποθήκευση. Γενικότερα η επεξεργασία με INTERCEPT φαίνεται να έχει μικρή επίπτωση στο αιμοπεταλιακό πρωτέωμα, επηρεάζοντας περισσότερο τις πρωτεΐνες που σχετίζονται με τη μιτοχονδριακή δραστηριότητα και το οξειδωτικό στρες. Κάποιες ακόμα αλλοιώσεις σχετίζονται με τον υποδοχέα του ADP, τη σύνθεση cAMP και την PI3K, πρωτεΐνες που συνδέονται με την ενεργοποίηση και τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων.

Σε αιμοπετάλια επεξεργασμένα με το σύστημα Mirasol εντοπίστηκαν πρωτεΐνες που εκφράζονται διαφορετικά την 6<sup>η</sup> ημέρα αποθήκευσης συγκριτικά με την ημέρα συλλογής. Οι πρωτεΐνες που επηρεάστηκαν συνδέονταν με τη δομή και τον κυτταροσκελετό καθώς και τη ρύθμιση της GPIIb-IIIa. Είναι αξιοσημείωτο ότι τα αιμοπετάλια μπορούν να συνθέτουν πρωτεΐνες παρά την επεξεργασία τους με ριβοφλαβίνη και τη UV ακτινοβολία, γεγονός που θα μπορούσε να σημαίνει ότι διαθέτουν έναν μηχανισμό για την προστασία του mRNA τους. Άλλες μελέτες έδειξαν υψηλό ποσοστό οξείδωσης σε πρωτεΐνες BC αιμοπεταλίων και αλλαγές σε κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων (Escolar, Diaz-Ricart, & McCullough, 2022).

Σε μια μελέτη σύγκρισης της επίδρασης της UVC ακτινοβολίας του THERAFLEX με εκείνες UVB ή ακτινοβολίας γ, βρέθηκε να επηρεάζεται διαφορετικός αριθμός πρωτεϊνών από κάθε τύπο ακτινοβολίας, ενώ μια ομάδα 92 πρωτεϊνών επηρεάστηκε και από τους τρεις τύπους. Οι μεταβολές αυτές ήταν εντονότερες για την ακτινοβολία γ ακολουθούμενες από εκείνες των ακτινοβολιών UVB και UVC (Escolar, Diaz-Ricart, & McCullough, 2022).

Σε γενικές γραμμές η εφαρμογή των μεθόδων PRTs φαίνεται να έχει ασθενή αντίκτυπο στο συνολικό πρωτέωμα των αιμοπεταλίων.

## **6. 5. Αντιμικροβιακή μπλε ακτινοβολία**

Η μονοχρωματική (405 nm) μπλε ακτινοβολία του ορατού φάσματος αποτελεί μια νέα προσέγγιση στο πεδίο της μείωσης των παθογόνων μικροοργανισμών. Η αξιοποίηση της βασίζεται στην εγγενή αντιμικροβιακή της δράση και δεν απαιτεί τη χρησιμοποίηση φωτοευαίσθητοποιητών όπως στην περίπτωση του αμοτοσαλενίου ή της ριβοφλαβίνης (Lu, et al., 2020). Η δράση της αντιμικροβιακής μπλε ακτινοβολίας (antimicrobial blue light, aBL) βασίζεται στη διέγερση των ενδογενών πορφυρινών που βρίσκονται μέσα στα βακτηριακά κύτταρα, η οποία προκαλεί μεταφορά ενέργειας και δημιουργίας δραστικών μορφών αναγωγής του οξυγόνου (ROS). Τα τοξικά αυτά είδη προκαλούν εκτεταμένες οξειδωτικές βλάβες στους παθογόνους μικροοργανισμούς οδηγώντας τελικά στο θάνατό τους (Maclean, et al., 2020).

Μελέτες ακτινοβολήσης με aBL συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων δείχνουν ισχυρή αντιμικροβιακή δράση (100% των δοκιμασθέντων μικροοργανισμών) με μία μόνο ακτινοβολήση, ενώ παράλληλα δεν φαίνεται να επηρεάζονται η βιωσιμότητα και η λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων (Lu, et al., 2020).

## **Κεφάλαιο 7. Επιλογές και στρατηγικές διαχείρισης**

Παρά τις προσπάθειες ο κίνδυνος της βακτηριακής επιμόλυνσης παραμένει, και τουλάχιστον με τα σημερινά δεδομένα, δεν φαίνεται να μπορεί να εξαλειφθεί πλήρως. Σημαντική μείωση του κινδύνου, ωστόσο, επιτυγχάνεται όταν υιοθετούνται στρατηγικές που συνδυάζουν μία ή περισσότερες μεθόδους (Kamel, Ramirez-Arcos, & McDonald, 2022). Οι κυριότερες από αυτές τις προσεγγίσεις παρουσιάζονται στο κεφάλαιο αυτό.

### **7. 1. Παράγοντες που επηρεάζουν την ορθότητα των αποτελεσμάτων**

Η ανίχνευση βακτηριακών επιμολύνσεων σε αιμοπετάλια με τη χρήση αυτοματοποιημένων συστημάτων καλλιέργειας εξαρτάται από παράγοντες όπως ο όγκος του δείγματος, ο χρόνος δειγματοληψίας και ο χρόνος ανίχνευσης. Μέχρι σήμερα δεν υπάρχει ένα συγκεκριμένο πρωτόκολλο, ενώ μελέτες των τελευταίων ετών έχουν επικεντρωθεί στις παραμέτρους αυτές προκειμένου να μειωθεί η πιθανότητα λήψης ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων.

#### **7. 1. 1. Όγκος δείγματος**

Ο όγκος του δείγματος που θα χρησιμοποιηθεί σε μια μέθοδο καλλιέργειας, έχει μεγάλη σημασία για την επιτυχή ανίχνευση της βακτηριακής επιμόλυνσης. Σήμερα ο όγκος δείγματος που χρησιμοποιείται για μια αερόβια καλλιέργεια είναι της τάξης των 8 - 10 mL (Kamel, Ramirez-Arcos, & McDonald, 2022). Η ποσότητα αυτή εξασφαλίζει μεγαλύτερες πιθανότητες αποφυγής σφάλματος δειγματοληψίας, ιδίως αν λάβουμε υπόψιν ότι ο αριθμός των βακτηρίων σε έναν μολυσμένο ασκό αιμοπεταλίων είναι σχετικά μικρός, ακόμα και 24 h μετά τη συλλογή. Έρευνες του Αμερικανικού Ερυθρού Σταυρού για παράδειγμα, έχουν δείξει ότι η μέση συγκέντρωση βακτηρίων σε έναν ασκό αιμοπεταλίων 24 h μετά τη συλλογή είναι 0.154 CFU/mL (Eder, et al., 2009).

Η λεγόμενη προσέγγιση του αναλογικού όγκου δείγματος (Kamel, Townsend, Bravo, & Vassallo, 2017) φαίνεται να δίνει καλύτερα αποτελέσματα. Με την αξιοποίηση ενός μοντέλου Poisson έχει βρεθεί ότι εμβολιασμός του 3.8% του συνολικού όγκου του προς εξέταση παραγώγου των αιμοπεταλίων οδηγεί σε βελτιωμένη ανίχνευση σε σύγκριση με σταθερό όγκο 8 - 10 mL (Tomasulo & Wagner, 2013).

Σε κάθε περίπτωση κατά την επιλογή του όγκου δείγματος θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη και άλλοι παράγοντες, όπως για παράδειγμα οι προδιαγραφές για τον ελάχιστο αριθμό αιμοπεταλίων σε μια μονάδα (Prax, Bekeredjan-Ding, & Krut, 2019).

### **7. 1. 2. Χρόνος δειγματοληψίας**

Μελέτες εμβολιασμού τεκμηριώνουν σαφώς ότι η καθυστερημένη δειγματοληψία μπορεί να αυξήσει σημαντικά τα επίπεδα ανίχνευσης των βακτηρίων και κατ' επέκταση την απόδοση των μεθόδων καλλιέργειας (Benjamin, McDonald, & ISBT TTID Bacterial Workgroup, 2014). Για παράδειγμα καθυστέρηση της δειγματοληψίας κατά 18 - 24 h από τη συλλογή, επιτρέπει την επαρκή ανάπτυξη των βακτηρίων έτσι ώστε η συγκέντρωσή τους να είναι κοντά στα 10 CFU/mL.

Θεωρητικά, καθυστέρηση της καλλιέργειας κατά τον χρόνο διπλασιασμού των βακτηρίων στη λογαριθμική φάση της ανάπτυξής τους, διπλασιάζει τον αριθμό των βακτηρίων που είναι διαθέσιμα για ανίχνευση.

Σήμερα έχουν υιοθετηθεί και μέθοδοι που χρησιμοποιούν μεγαλύτερο όγκο δείγματος και καθυστερημένο χρόνο δειγματοληψίας γνωστές ως Large Volume Delayed Sampling (LVDS) (Delage & Bernier, 2021). Στις περιπτώσεις αυτές οι κατευθυντήριες γραμμές του FDA προτείνουν όγκο δείγματος 16 mL που ισοκατανέμεται σε φιάλες αερόβιας και αναερόβιας καλλιέργειας (FDA, 2020).

### **7. 1. 3. Χρόνος ανίχνευσης**

Ιδανικά μια καλλιέργεια θα πρέπει να επωάζεται για χρονικό διάστημα ικανό να διασφαλίσει την ανίχνευση των βακτηριακών επιμολύνσεων πριν τα αιμοπετάλια δοθούν για μετάγγιση, χωρίς παράλληλα να επηρεάζεται η διαθεσιμότητά τους. Ο χρόνος ανίχνευσης (Time to Detect, TTD) εξαρτάται από παράγοντες όπως το μέγεθος του εμβολιασμού, το βακτηριακό στέλεχος και η κινητική της βακτηριακής ανάπτυξης του (Jacobs, Good, Lazarus, & Yomtovian, 2008). Με δεδομένο, εξάλλου, ότι μια μονάδα αιμοπεταλίων μπορεί να περιέχει έναν μεγάλο αριθμό διαφορετικών βακτηρίων, η επιλογή του χρόνου ανίχνευσης δεν είναι πάντα εύκολη υπόθεση. Για τα περισσότερα βακτήρια, χρόνος ανίχνευσης  $\geq 12$  h φαίνεται να είναι επαρκής (Walker, et al., 2023).

Αξιοποιώντας μαθηματικά μοντέλα, οι Walker et al. σε μια πρόσφατη μελέτη τους καταλήγουν ότι μια αποτυχημένη επιλογή χρόνου ανίχνευσης, έχει τελικά μικρή επίδραση στην επιτυχία ανίχνευσης των βακτηριακών επιμολύνσεων. Για τους περισσότερους

μικροοργανισμούς το ποσοστό αυτό δεν ξεπερνά το 10%. Ειδικότερα, η αύξηση του ελάχιστου χρόνου ανίχνευσης από 12 σε 24 h δεν φάνηκε να αυξάνει σημαντικά την ασφάλεια της μετάγγισης. Η παρατήρηση αυτή, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι αναμονή 24 h για τη λήψη αποτελεσμάτων θα μείωνε την διάρκεια ζωής των αποθηκευμένων αιμοπεταλίων και θα επηρέαζε αρνητικά τη διαχείριση των διαθέσιμων αποθεμάτων, υποδεικνύει ότι ο χρόνος ανίχνευσης 12 h είναι μια λογική επιλογή (Walker, et al., 2023).

Η κατανομή των χρόνων ανίχνευσης αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την αξιολόγηση του σχεδιασμού ενός ελέγχου ρουτίνας με την αξιοποίηση μεθόδων καλλιέργειας.

## **7. 2. Στρατηγικές διαχείρισης**

Όλες οι στρατηγικές διαχείρισης που χρησιμοποιούνται σήμερα για τον βακτηριακό έλεγχο αποτελούν συνδυασμούς μίας ή περισσότερων μεθόδων ανίχνευσης ή/και μείωσης παθογόνων σε συνάρτηση με τον χρόνο διενέργειας του ελέγχου. Παράγοντες που θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά τον σχεδιασμό ή/και την επιλογή μιας στρατηγικής είναι η ασφάλεια που επιτυγχάνεται, το κόστος που απαιτείται και η προσφερόμενη διαθεσιμότητα των αιμοπεταλίων.

### **7. 2. 1. Στρατηγικές με βάση τον χρόνο ελέγχου**

Με βάση τον χρόνο διεξαγωγής του ελέγχου, διακρίνονται οι στρατηγικές πρώιμου και όψιμου ελέγχου. Ο πρώιμος έλεγχος πραγματοποιείται σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά τη συλλογή των αιμοπεταλίων, συνήθως εντός 24 h, με τη χρήση μεθόδων αυτοματοποιημένης καλλιέργειας που όπως έχει αναφερθεί απαιτούν περισσότερο χρόνο (Denys, et al., 2020).

Εναλλακτικά η πραγματοποίηση του ελέγχου μπορεί να γίνει κατά την αποδέσμευση των αιμοπεταλίων για μετάγγιση. Για τον όψιμο έλεγχο χρησιμοποιούνται μέθοδοι ταχείας ανίχνευσης που απαιτούν μικρό χρόνο για την εξαγωγή αποτελέσματος. Άλλωστε, εάν υπάρχουν βακτήρια στο συμπύκνωμα των αιμοπεταλίων, αυτά κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης θα έχουν πολλαπλασιαστεί σε υψηλά επίπεδα που ανιχνεύονται εύκολα (de Korte & Marcelis, 2014).



### 7. 2. 2. Οι στρατηγικές του FDA

Το 2020 κυκλοφόρησε η πιο πρόσφατη αναθεώρηση των οδηγιών του FDA με τίτλο «Στρατηγικές ελέγχου βακτηριακού κινδύνου για ιδρύματα αιμοληψίας και υπηρεσίες μετάγγισης για να ενισχυθεί η ασφάλεια και η διαθεσιμότητα των αιμοπεταλίων από μετάγγιση» (Bacterial risk control strategies for blood collection establishments and transfusion services to enhance the safety and availability of platelets for transfusion). Πρόκειται για εναλλακτικούς τρόπους διαχείρισης των διαθέσιμων μεθόδων ελέγχου, δομημένες σε σχέση με τον χρόνο εφαρμογής τους αλλά και τον χρόνο αποθήκευσης των αιμοπεταλίων (FDA, 2020). Οι στρατηγικές αυτές περιλαμβάνουν ένα ή δύο βήματα και παρουσιάζονται στον πίνακα 2.

**Πίνακας 2.** Οι στρατηγικές ελέγχου του βακτηριακού κινδύνου στα αιμοπετάλια που προτείνει ο FDA (FDA, 2020).

Βήμα 1	Βήμα 2	Αποθήκευση Αιμοπεταλίων
LVDS ≥ 36 h	-	5 d
LVDS ≥ 48 h	-	7 d
PRT	-	5 d
Καλλιέργεια ≥ 24 h	Καλλιέργεια ≥ 3d	5 d
Καλλιέργεια ≥ 24 h	Καλλιέργεια ≥ 4d	7 d
Καλλιέργεια ≥ 24 h	Ταχεία Ανίχνευση	7 d
LVDS ≥ 36 h	Καλλιέργεια ≥ 4d	7 d
LVDS ≥ 36 h	Ταχεία Ανίχνευση	7 d

Συγκριτικές μελέτες προσομοίωσης αποδεικνύουν ότι οι στρατηγικές δύο σταδίων υπερτερούν εκείνων του ενός σταδίου. Μάλιστα, οι στρατηγικές δύο σταδίων που περιλαμβάνουν δευτερογενή καλλιέργεια έχουν την καλύτερη απόδοση και παρουσιάζουν τον χαμηλότερο κίνδυνο ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων (Walker, et al., 2020).

### 7. 2. 3. Η προσέγγιση «Αρνητικό μέχρι σήμερα»

Λόγω της μικρής διάρκειας ζωής των συμπυκνωμένων αιμοπεταλίων δεν είναι πάντα εφικτή η αναμονή για την ολοκλήρωση μιας καλλιέργειας. Έτσι πολλές φορές υιοθετείται το κριτήριο «Αρνητικό μέχρι σήμερα» (Negative to date) σύμφωνα με το οποίο τα αιμοπετάλια δίνονται για μετάγγιση ενώ η καλλιέργεια συνεχίζεται (Koopman, et al., 2009). Η προσέγγιση «Αρνητικό μέχρι σήμερα» χρησιμοποιείται συνήθως σε συνδυασμό με αυτοματοποιημένα συστήματα μικροβιακής ανίχνευσης.

Οι χώρες που υιοθέτησαν αυτή την προσέγγιση έχουν καταφέρει να μειώσουν τον κίνδυνο ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων ανιχνεύοντας τα περισσότερα «εξαιρετικά

παθογόνα» βακτήρια πριν από τη μετάγγιση (Schmidt, Ramirez-Arcos, Stiller, McDonald, & ISBT/WP-TTID, Subgroup on Bacteria, 2022). Η χρήση του κριτηρίου «Αρνητικό μέχρι σήμερα», ωστόσο, μειώνει κατά πολύ τη διαγνωστική ευαισθησία, καθώς ένα σχετικό ποσοστό αιμοπεταλίων έχει ήδη μεταγγισθεί τη στιγμή που το αποτέλεσμα της καλλιέργειας βγαίνει θετικό (Stormer & Vollmer, 2014).

### **7. 3. Οικονομική διάσταση του ζητήματος**

Η επιλογή μιας ή περισσότερων στρατηγικών για την αντιμετώπιση του ζητήματος της βακτηριακής επιμόλυνσης των αιμοπεταλίων, θα πρέπει να λαμβάνει υπόψιν τις πιθανές επιπτώσεις στη διαθεσιμότητα των αιμοπεταλιακών μονάδων, καθώς και λειτουργικούς, λογιστικούς και οικονομικούς παράγοντες (Lu, et al., 2020).

Η οικονομική διάσταση του ζητήματος είναι αρκετά σοβαρή και δεν θα πρέπει να αγνοείται, αφενός γιατί η εισαγωγή κάποιων από αυτές τις μεθόδους στη ρουτίνα εργασίας συνεπάγεται έναν τεράστιο αριθμό ελέγχων και αφετέρου γιατί το κόστος των μεθόδων ανίχνευσης βακτηρίων ή/και μείωσης παθογόνων είναι υψηλό.

Οι Kacker et al. μελέτησαν το διαφορετικό οικονομικό κόστος που προκύπτει για ένα σταθερό αριθμό μονάδων αιμοπεταλίων για τρεις διαφορετικές στρατηγικές: την εφαρμογή μιας μεθόδου PRT, την ταχεία ανίχνευση ακριβώς πριν την αποδέσμευση για μετάγγιση (Point of release testing, PORT) και την δευτερογενή καλλιέργεια (Secondary Bacterial Culture, SBC). Ενδεικτικά το συνολικό κόστος ανά μονάδα αιμοπεταλίων ήταν 827.82\$, 686.33\$ και 668.50\$ για τεχνική PRT, έλεγχο PORT και SBC αντίστοιχα. Η SBC φάνηκε λοιπόν να είναι η λιγότερο δαπανηρή ανά μονάδα αιμοπεταλίων, καθώς αναμένεται να οδηγήσει σε χαμηλότερο κόστος δοκιμών από την PORT και να αποφύγει την ακριβή υλικοτεχνική πρόκληση της PRT στις καθημερινές ανάγκες. Βέβαια η στρατηγική επιβαρύνεται με επιπλέον κόστος δοκιμών για όλες τις μονάδες, ακόμα και εκείνες που θα λήξουν και δεν θα χρησιμοποιηθούν (Kacker, et al., 2019).

Σε μια άλλη μελέτη, που ας σημειωθεί, χρηματοδοτήθηκε από κατασκευαστική εταιρεία ανάπτυξης μεθόδου PRT, οι Prioli et al. συνέκριναν τρία διαφορετικά σενάρια: εφαρμογή μόνο μεθόδου PRT, εφαρμογή μόνο μεθόδου LVDS ( $\geq 48$  h), εφαρμογή και των δύο μεθόδων. Το αποτέλεσμα έδειξε ότι υπάρχει μια μικρή διαφορά μεταξύ των τριών προσεγγίσεων που όμως δεν είναι σαφές εάν είναι οικονομικά σημαντική (Prioli, et al., 2022).

Άλλες μελέτες ήταν λιγότερο υποστηρικτικές για την οικονομική ανωτερότητα των μεθόδων PRT θεωρώντας ότι οι μέθοδοι βακτηριακής ανίχνευσης LVDS είναι πιο ανταγωνιστικές ως προς το κόστος, εξαλείφοντας την αναγκαιότητα περαιτέρω ελέγχων (Kacker, et al., 2020).

## Συζήτηση

Είναι αλήθεια ότι τα τελευταία τριάντα χρόνια έχει σημειωθεί πολύ σημαντική πρόοδος στον τομέα ελέγχου των αιμοπεταλίων για τυχόν βακτηριακές επιμολύνσεις. Ωστόσο ο κίνδυνος της βακτηριακής σηψαιμίας που οφείλεται σε μετάγγιση αιμοπεταλίων εξακολουθεί να υφίσταται.

Η ποικιλία των μεθοδολογικών προσεγγίσεων που έχουν αναπτυχθεί αποδεικνύουν την πολυπλοκότητα του ζητήματος του βακτηριακού ελέγχου, αναδεικνύοντας παράλληλα τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα κάθε μίας από αυτές. Από τις παρεμβάσεις που είναι σήμερα διαθέσιμες, οι μέθοδοι αυτοματοποιημένης καλλιέργειας θεωρούνται ο «χρυσός κανόνας» της βακτηριακής ανίχνευσης, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι δεν εμπεριέχουν τον κίνδυνο ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων. Η εφαρμογή μεθόδων μείωσης παθογόνων από την άλλη, φαίνεται να προσφέρει ένα υψηλότερο επίπεδο ασφάλειας, δεν είναι όμως αποτελεσματικές έναντι των βακτηριακών σπορίων και είναι οι πιο κοστοβόρες. Συνεχή πρόκληση για όλες τις μεθόδους, εξάλλου, αποτελούν οι αναδυόμενοι άγνωστοι παθογόνοι μικροοργανισμοί.

Η βιβλιογραφική ανασκόπηση δείχνει ότι δεν εφαρμόζονται όλες οι μέθοδοι σε επίπεδο ελέγχου ρουτίνας, ενώ φαίνεται ότι ο συνδυασμός περισσότερων προσεγγίσεων θα μπορούσε να λειτουργήσει προς μια αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση. Οι περισσότερες δημοσιευμένες μελέτες, ωστόσο, συγκρίνουν τα αποτελέσματα πριν και μετά την εφαρμογή μιας συγκεκριμένης προσέγγισης, ενώ λείπουν οι τυχαιοποιημένες μελέτες που συγκρίνουν μεταξύ τους διαφορετικές στρατηγικές. Τέτοιου είδους έρευνες είναι δύσκολο να υλοποιηθούν, κυρίως λόγω του γεγονότος ότι η μόλυνση από βακτήρια μετά από μετάγγιση αιμοπεταλίων είναι ένα γεγονός χαμηλής απόλυτης συχνότητας, με αποτέλεσμα να απαιτούνται μεγάλα δείγματα για τον εντοπισμό στατιστικά σημαντικών διαφορών στα ποσοστά ανίχνευσης. Γι' αυτό πολλές δημοσιεύσεις αφορούν σε μελέτες προσομοίωσης ή μετα-αναλύσεις ήδη δημοσιευμένων μελετών.

Σημαντικό πρόβλημα είναι επίσης η απουσία μιας επίσημης, κοινής κατευθυντήριας γραμμής. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση για παράδειγμα, ορισμένες πρακτικές αρχές περιλαμβάνονται στον «Οδηγό για την προετοιμασία, τη χρήση και τη διασφάλιση της ποιότητας των συστατικών του αίματος» (Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components) που εκδίδεται και επικαιροποιείται τακτικά από την

Ευρωπαϊκή Διεύθυνση για την Ποιότητα των Φαρμάκων και της Υγείας (European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare, EDQM). Οι κατευθυντήριες γραμμές της EDQM αναφέρουν γενικά ότι «το αίμα και τα συστατικά του δεν διατίθενται για διανομή έως ότου η ποιότητά έχει κριθεί ότι είναι ικανοποιητική και ότι έχουν διενεργηθεί οι απαραίτητες δοκιμές». Σύμφωνα με την EDQM οι εθνικές αρχές είναι υπεύθυνες για την υιοθέτηση των εν λόγω προδιαγραφών σε εθνικό επίπεδο, ενώ επιπλέον μέτρα που υπερβαίνουν τις τρέχουσες απαιτήσεις μπορούν να εγκριθούν. Καθώς οι συστάσεις αυτές είναι πολύ γενικές και οι οδηγίες έχουν μη δεσμευτικό χαρακτήρα, παρατηρείται σαφής έλλειψη εναρμόνισης των μέτρων ασφαλείας στην Ευρώπη, γεγονός που καταλήγει στην υιοθέτηση διαφορετικών στρατηγικών και μεθόδων από κάθε ευρωπαϊκή χώρα (Prax, Bekeredjan-Ding, & Krut, 2019).

Έτσι μεταξύ των κρατών μελών παρατηρείται ευρεία διαφοροποίηση στην αντιμετώπιση του ζητήματος, που εκτείνεται από τον διεξοδικό έλεγχο ρουτίνας έως την αποδέσμευση αιμοπεταλίων για μετάγγιση χωρίς επαρκή έλεγχο ασφαλείας. Η τελευταία στρατηγική είναι σίγουρα και η πιο αμφιλεγόμενη. Η μείωση του αριθμού των λοιμώξεων από μετάγγιση αιμοπεταλίων που καταγράφονται, δεν θα πρέπει να αποπροσανατολίζει από το γεγονός ότι ο κίνδυνος εξακολουθεί να παραμένει για τους ασθενείς, και κατά συνέπεια δεν μπορεί να δικαιολογήσει την απουσία ελέγχου. Άλλωστε, όπως έχει ήδη αναφερθεί στο κεφάλαιο 3, η συχνότητα εμφάνισης περιστατικών σηψαιμίας μετά από μετάγγιση υποεκτιμάται και κατά συνέπεια τα δεδομένα δεν αντικατοπτρίζουν την πραγματικότητα.

Από την άλλη μεριά είναι σαφές ότι η εφαρμογή πρόσθετων μέτρων ασφαλείας συνδέεται με υψηλότερες δαπάνες, γεγονός που μπορεί να αποτελέσει εμπόδιο για τα κράτη μέλη με περιορισμένες οικονομικές δυνατότητες. Η διερεύνηση ενός πλαισίου για την υλοποίηση ευέλικτων συνεργασιών ανάμεσα σε κέντρα και υπηρεσίες διαχείρισης παραγώγων αίματος, θα μπορούσε να επιτρέψει την υιοθέτηση οικονομικά αποδεκτών στρατηγικών που θα εξασφαλίσουν ένα επαρκές και ασφαλές απόθεμα αιμοπεταλίων.

Σε κάθε περίπτωση οι προοπτικές για μελλοντική έρευνα στο πεδίο αυτό είναι πολλές και διαφορετικές. Σε αυτές μπορούν να συμπεριληφθούν:

- Η ανάγκη περαιτέρω κατανόησης των πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων μεταξύ βακτηρίων και αιμοπεταλίων, καθώς και του ρόλου των αιμοπεταλίων στη βακτηριακή σήψη. Παρά τα συχνά αντικρουόμενα αποτελέσματα που συναντά κανείς στη βιβλιογραφία, είναι

πλέον αποδεκτό ότι η ανεξέλεγκτη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων που συμβαίνει στις περιπτώσεις της σήψης μπορεί να αποβεί θανατηφόρα. Κατά πόσο μια βακτηριακά μολυσμένη αιμοπεταλιακή μονάδα θα μπορούσε να λειτουργήσει ως «δούρειος ίππος», εισάγοντας τον παθογόνο μικροοργανισμό στην κυκλοφορία, αλλά και τροφοδοτώντας τους σηπτικούς μηχανισμούς με ήδη ενεργοποιημένα αιμοπετάλια; Η διασαφήνιση αυτών των μηχανισμών θα συμβάλλει εκτός των άλλων και στη φαρμακευτική αντιμετώπιση της σήψης με χρήση αντιαιμοπεταλιακών παραγόντων που ναι μεν δεν θα θεραπεύουν τη σήψη αλλά πιθανότατα θα προλαμβάνουν τη διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη.

- Η διερεύνηση των ρυθμιστικών μηχανισμών που εμπλέκονται στις αλλαγές που υφίστανται τα βακτηριακά βιοφίλμ όταν αναπτύσσονται σε μονάδες αιμοπεταλίων, καθώς και των μηχανισμών αντίστασής τους στην ανοσολογική κάθαρση.

- Η μελέτη του προβλήματος της μικροβιακής ανθεκτικότητας που τα τελευταία χρόνια αποδεικνύεται όλο και πιο έντονο και μπορεί να σχετίζεται με μεμονωμένες περιπτώσεις αποτυχίας των τεχνικών μείωσης παθογόνων. Οι Green et al. έχουν ήδη εισάγει τον προβληματισμό για το κατά πόσο μηχανισμοί που εκδηλώνονται από φαρμακοανθεκτικά παθογόνα, όπως για παράδειγμα οι μηχανισμοί αντλίας εκροής, θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε ανθεκτικότητα έναντι ουσιών όπως το αμοτοσαλένιο, καθιστώντας τη χρήση του για τη μείωση των παθογόνων ανεπαρκή (Green, et al., 2023).

- Η ανάπτυξη βιοδεικτών με βάση βακτηριακά προϊόντα έκκρισης, όπως οι τοξίνες. Πολύ πρόσφατα για παράδειγμα, ανιχνεύθηκαν εξωτοξίνες βακτηρίων σε μολυσμένα με *S. aureus* αιμοπετάλια, τα οποία προηγουμένως είχαν βρεθεί αρνητικά σε έλεγχο ρουτίνας με μέθοδο αυτοματοποιημένης καλλιέργειας (Ighem Chi, Kumaran, Zeller, & Ramirez-Arcos, 2022).

- Η διερεύνηση των μεταβολικών αλλαγών που παρατηρούνται στα βακτηριακά μολυσμένα αιμοπετάλια, και η αξιοποίησή τους ως δείκτες υψηλών επιπέδων επιμόλυνσης που συνδέονται με σηπτικά περιστατικά (Yousuf, Pasha, Pineault, & Ramirez-Arcos, 2022). Μια τέτοια περίπτωση θα μπορούσε να είναι η ανίχνευση μικροσωματιδίων των αιμοπεταλίων, τα οποία εκκρίνονται κατά την ενεργοποίησή τους και έχουν συσχετισθεί με μειωμένη ανάκαμψη των αιμοπεταλίων μετά από μετάγγιση (Maurer-Spurej & Chipperfield, 2016).

- Η αξιοποίηση νέων τεχνολογιών για την ανάπτυξη μεθόδων ανίχνευσης και ταυτοποίησης των βακτηριακών επιμολύνσεων. Έχει ήδη αναφερθεί η φασματομετρία

μάζας (MALDI-TOF), ενώ η έρευνα θα μπορούσε να επεκταθεί και σε άλλες τεχνικές, όπως η μέθοδος SERS που στηρίζεται στη φασματοσκοπία RAMAN και χρησιμοποιείται ήδη για την ανίχνευση βακτηρίων σε τρόφιμα και για άλλες κλινικές εφαρμογές (Zhou, et al., 2020).

- Η ανάπτυξη νέων παραγώγων ή/και υποκατάστατων των αιμοπεταλίων, όπως τα αιμοπετάλια ψυχρής αποθήκευσης, τα κρυσσοσυντηρημένα ή τα λυοφιλοποιημένα αιμοπετάλια και η αξιοποίησή τους για συγκεκριμένες κλινικές εφαρμογές,

Όλα τα παραπάνω θα μπορούσαν να συμβάλλουν στην περαιτέρω ελαχιστοποίηση των κινδύνων που συνδέονται με τα μολυσμένα από βακτήρια αιμοπετάλια προς το ιδανικό των άμεσα διαθέσιμων ασφαλών αιμοπεταλίων.

Η πρόσφατη πανδημία COVID-19 δίνει μία ακόμα, διαφορετική διάσταση στο ζήτημα, καθώς πρόκειται για μια θανατηφόρα ασθένεια που εξαπλώθηκε ταχέως σε ολόκληρο τον κόσμο, δημιουργώντας μια πρωτοφανή κρίση, τουλάχιστον για τη σύγχρονη ιστορία. Αν και ο ιός δεν μεταδίδεται μέσω του αίματος, προειδοποιεί τα συστήματα υγείας ότι η πιθανότητα παγκόσμιας εξάπλωσης λοιμωδών νοσημάτων είναι μια πραγματικότητα.

Με την αυξανόμενη παγκοσμιοποίηση, την κλιματική αλλαγή και τον απρόβλεπτο παράγοντα των αναδυόμενων παθογόνων μικροοργανισμών, η εμπειρία από την καθολική βακτηριακή ανίχνευση μέσω καλλιέργειας ή την προληπτική εφαρμογή τεχνικών μείωσης παθογόνων στα αιμοπετάλια, μπορεί να αποβεί πολύτιμη για τη μελλοντική αντιμετώπιση όλων σχεδόν των μολυσματικών παραγόντων, αυξάνοντας την ετοιμότητα μας απέναντι σε μελλοντικές υγειονομικές απειλές.

## Αναφορές

- Abela, M. A., Fenning, S., Maguire, K. A., & Morris, K. G. (2018). Bacterial contamination of platelet components not detected by BacT/ALERT®. *Transfusion Medicine*, 28(1), pp. 65-70. doi:10.1111/tme.12458
- Al Mahmasani, L., Hassan Hodroj, M., Finianos, A., & Taher, A. (2021). COVID-19 pandemic and transfusion medicine: the worldwide challenge and its implications. *Annals of Hematology*, 100(5), pp. 1115-1122. doi:10.1007/s00277-021-04441-y
- Alabdullatif, M., Osman, I. E., Alrasheed, M., Ramirez-Arcos, S., Alyousef, M., Althawadi, S., & Alhumiadan, H. (2021). Evaluation of riboflavin and ultraviolet light treatment against *Klebsiella pneumoniae* in whole blood-derived platelets: A pilot study. *Transfusion*, 61(5), pp. 1562-1569. doi:10.1111/trf.16347
- Alexandrino, F., Malgarin, J. S., Krieger, M. A., & Morello, L. G. (2021). Optimized broad-range real-time PCR-based method for bacterial screening of platelet concentrates. *Brazilian Journal of Biology*, 81(3), pp. 692-700. doi:10.1590/1519-6984.229893
- Arghittu, A., Dettori, M., Deriu, G. M., Soddu, S., Manca, P. C., Carboni, A. A., . . . Masia, M. D. (2022). Controlling infectious risk in transfusion: Assessing the effectiveness of skin disinfection in blood donors. *Healthcare*, 10(5), 845. doi:10.3390/healthcare10050845
- Benjamin, R. J., Dy, B., Warren, R., Lischka, M., & Eder, A. F. (2011). Skin disinfection with a single-step 2% chlorhexidine swab is more effective than a two-step povidone-iodine method in preventing bacterial contamination of apheresis platelets. *Transfusion*, 51(3), pp. 531-538. doi:10.1111/j.1537-2995.2010.02868.x
- Benjamin, R. L., McDonald, C. P., & ISBT TTID Bacterial Workgroup. (2014). The international experience of bacterial screen testing of platelet components with an automated microbial detection system: a need for consensus testing and reporting guidelines. *Transfusion Medicine Reviews*, 28(2), pp. 61-71. doi:10.1016/j.tmr.2014.01.001
- Bertolini, F., & Murphy, S. (1994). A multicenter evaluation of reproducibility of swirling in platelet concentrates. Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Working Party of the International Society of Blood Transfusion. *Transfusion*, 34(9), pp. 796-801. doi:10.1046/j.1537-2995.1994.34994378282.x
- Brandwein, M., Steinberg, D., & Meshner, S. (2016). Microbial biofilms and the human skin microbiome. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 2, 3. doi:10.1038/s41522-016-0004-z
- Brown, B. L., Wagner, S. J., Hapip, C. A., Fischer, E., Getz, T. M., Thompson-Montgomery, D., & Turgeon, A. (2022). Time from apheresis platelet donation to cold storage: Evaluation of platelet quality and bacterial growth. *Transfusion*, 62(2), pp. 439-447. doi:10.1111/trf.16785
- Burstain, J. M., Brecher, M. E., Workman, K., Foster, M., Faber, G. H., & Mair, D. (1997). Rapid identification of bacterially contaminated platelets using reagent strips:



- glucose and pH analysis as markers of bacterial metabolism. *Transfusion*, 37(3), pp. 255-258. doi:10.1046/j.1537-2995.1997.37397240205.x
- Byrd, A. L., Belkaid, Y., & Segre, J. A. (2018). The human skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 16(3), pp. 143-155. doi:10.1038/nrmicro.2017.157
- Chabriere, E., Bassene, H., Drancourt, M., & Sokhna, C. (2018). MALDI-TOF MS and point of care are disruptive diagnostic tools in Africa. *New Microbes and New Infections*, 26(S1), pp. S83-S88. doi:10.1016/j.nmni.2018.08.020
- Chetouane, Y., Dubourg, G., Gallian, P., Flaudrops, C., Chiaroni, J., Chabriere, E., . . . Camoin-Jau, L. (2018). Rapid identification of microorganisms from platelet concentrates by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry after short-term incubation on liquid medium. *Transfusion*, 58(3), pp. 766-773. doi:10.1111/trf.14430
- Chetouane, Y., Gallian, P., Chetouane, K., Dubourg, G., Chiaroni, J., Raoult, D., & Camoin-Jau, L. (2018). Comparing two blood culture systems for the detection of bacterial contamination in platelet concentrates. *Transfusion*, 58(11), pp. 2604-2610. doi:10.1111/trf.14911
- Cloutier, M., Nolin, M. E., Daoud, H., Jacques, A., de Grandmond, M., Ducas, E., . . . Thibault, L. (2018). *Bordetella holmesii* contamination of platelet concentrates: Revisiting the definition of a positive culture. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(12), pp. e01105-e01118. doi:10.1128/JCM.01105-18
- Collins, T., Alexander, D., & Barkatali, B. (2021). Platelet rich plasma: a narrative review. *Efort Open Reviews*, 6(4), pp. 225-235. doi:10.1302/2058-5241.6.200017
- Cox, D. (2023). Sepsis - it is all about the platelets. *Frontiers in Immunology*, 14, 1210219. doi:10.3389/fimmu.2023.1210219
- Currie, L. M., Harper, J. R., Allan, H., & Connor, J. (1997). Inhibition of cytokine accumulation and bacterial growth during storage of platelet concentrates at 4 °C with retention of in vitro functional activity. *Transfusion*, 37(1), pp. 18-24. doi:10.1046/j.1537-2995.1997.37197176946.x
- Cushing, M. M., & DeSimone, R. A. (2019). Platelet products. In B. H. Shaz, C. D. Hillyer, & M. Reyes Gil (Eds.), *Transfusion medicine and hemostasis. Clinical and laboratory aspects* (pp. 213-217). Oxford: Elsevier.
- de Korte, D., & Marcelis, J. H. (2014). Platelet concentrates: reducing the risk of transfusion-transmitted bacterial infections. *International Journal of Clinical Transfusion Medicine*, 2, pp. 29-37. doi:10.2147/IJCTM.S40037
- de Korte, D., Curvers, J., de Kort, W. L., Hoekstra, T., van der Poel, C. L., Beckers, E. A., & Marcelis, J. H. (2006). Effects of skin disinfection method, deviation bag, and bacterial screening on clinical safety of platelet transfusions in the Netherlands. *Transfusion*, 46(3), pp. 476-485. doi:10.1111/j.1537-2995.2006.00746.x

- de Korte, D., Marcelis, J. H., Verhoeven, A. J., & Soeterboek, A. M. (2002). Diversion of first blood volume results in a reduction of bacterial contamination for whole-blood collections. *Vox Sanguinis*, *83*(1), pp. 13-16. doi:10.1046/j.1423-0410.2002.00189.x
- Debrincat, A., Gialanze, J. P., Spiteri, N., & Zammit, V. (2020). Blood donor arm disinfection - Preventing the contamination of blood components. *eMedical Research*, *2*, 100011.
- Delage, G., & Bernier, F. (2021). Bacterial culture of platelets with the large volume delayed sampling approach: a narrative review. *Annals of Blood*, *6*(30). doi:10.21037/aob-21
- Denys, G., Tulpule, A., Roth, J., Warns, P., Collins, T., & Mindel, S. (2020). A dual-center evaluation of platelet culture vials to detect the presence of mikroorganisms in platelets. *Transfusion*, *60*(1), pp. 126-132. doi:10.1111/trf.15583
- Devine, D. V. (2022). Novel platelet products including cold-stored platelets. *Hematology*, *2022*(1), pp. 421-423. doi:10.1182/hematology.2022000400
- Dreier, J., Stormer, M., & Kleesiek, K. (2004). Two novel real-time reverse transcriptase PCR assays for rapid detection of bacterial contamination in platelet concentrates. *Journal of Clinical Microbiology*, *42*(10), pp. 4759-4764. doi:10.1128/JCM.42.10.4759-4764.2004
- Dreier, J., Stormer, M., & Kleesiek, K. (2007). Real-time polymerase chain reaction in transfusion medicine: applications for detection of bacterial contamination in blood products. *Transfusion Medicine Reviews*, *21*(3), pp. 237-254. doi:10.1016/j.tmr.2007.03.006
- Dreier, J., Vollmer, T., & Kleesiek, K. (2009). Novel flow cytometry-based screening for bacterial contamination of donor platelet preparations compared with other rapid screening methods. *Clinical Chemistry*, *55*(8), pp. 1492-1502. doi:10.1373/clinchem.2008.122515
- Duke, W. W. (1983). The relation of blood platelets to hemorrhagic disease. By W.W. Duke. *JAMA*, *250*(9), pp. 1201-9.
- Dunne, W. M. Jr, Case, L. K., Isgriggs, L., & Lublin, D. M. (2005). In-house validation of the BACTEC 9240 blood culture system for detection of bacterial contamination in platelet concentrates. *Transfusion*, *45*(7), pp. 1138-1142. doi:10.1111/j.1537-2995.2005.04343.x
- Eder, A. F., Kennedy, J. M., Dy, B. A., Notari, E. P., Skeate, R., Bachowski, G., . . . the American Red Cross Regional Blood Centers. (2009). Limiting and detecting bacterial contamination of apheresis platelets: inlet-line diversion and increased culture volume improve component safety. *Transfusion*, *49*(8), pp. 1554-1563. doi:10.1111/j.1537-2995.2009.02192.x

- Elbehiry, A., Aldubaib, M., Abalkhail, A., Marzouk, E., Albeloushi, A., Moussa, I., . . . Rawway, M. (2022). How MALDI-TOF mass spectrometry technology contributes to microbial infection control in healthcare settings. *Vaccines*, *10*(11), 1881. doi:10.3390/vaccines10111881
- Enwemeka, C. S., Baker, T. L., & Bumah, V. V. (2021). The role of UV and blue light in photo-eradicating of microorganisms. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, *8*, 100064. doi:10.1016/j.jpap.2021.100064
- Escolar, G., Diaz-Ricart, M., & McCullough, J. (2022). Impact of different pathogen reduction technologies on the biochemistry, function, and clinical effectiveness of platelet concentrates: An updated view during a pandemic. *Transfusion*, *62*(1), pp. 227-246. doi:10.1111/trf.16747
- European Commission. (2020). *Summary of the 2020 annual reporting of serious adverse reactions and events for blood and blood components*.
- Fadeyi, E. A., Wagner, S. J., Goldberg, C., Lu, T., Young, P., Bringmann, P. W., . . . Palavecino, E. (2021). Fatal sepsis associated with a storage container leak permitting platelet contamination with environmental bacteria after pathogen reduction. *Transfusion*, *61*(2), pp. 641-648. doi:10.1111/trf.16210
- Farzad, B. B., Farzad, B., Zahra, B., Nahid, A., & Mahsa, K. B. (2016). Bacterial contamination of platelet products in the Blood Transfusion Center of Isfahan, Iran. *GMS Hygiene and Infection Control*, *11*, Doc 23. doi:10.3205/dgkh000283
- FDA. (2020). *Bacterial risk control strategies for blood collection establishments and transfusion services to enhance the safety and availability of platelets for transfusion*. Silver Spring: U.S. Food & Drug Administration.
- Fitzgerald, J., Foster, T. J., & Cox, D. (2006). The interaction of bacterial pathogens with platelets. *Nature Reviews Microbiology*, *4*(6), pp. 445-457. doi:10.1038/nrmicro1425
- Fitzgerald, J., Loughman, A., Keane, F., Brennan, M., Knobel, M., Higgins, J., . . . Foster, T. J. (2006). Fibronectin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* mediate activation of human platelets via fibrinogen and fibronectin bridges to integrin GPIIb/IIIa and IgG binding to the FcγRIIIa receptor. *Molecular Microbiology*, *59*(1), pp. 212-230. doi:10.1111/j.1365-2958.2005.04922.x
- Gammon, R. R., Reik, R. A., Stern, M., Vassallo, R. R., Waxman, D. A., Young, P. P., & Benjamin, R. J. (2021). Acquired platelet storage container leaks and contamination with environmental bacteria: A preventable cause of bacterial sepsis. *Transfusion*, *62*(3), pp. 641-650. doi:10.1111/trf.16776
- Garraud, O., & Cognasse, F. (2015). Are platelets cells? And if yes, are they immune cells? *Frontiers in Immunology*, *6*, 70. doi:10.3389/fimmu.2015.00070

- Gehrie, E. A. (2018). Atypical bacterial growth within units of platelets challenges transfusion medicine dogma. *Journal of Clinical Microbiology*, *56*(12), pp. e01363-e01368. doi:10.1128/JCM.01363-18
- George, V., Holme, S., & Moroff, G. (1989). Evaluation of two instruments for noninvasive platelet concentrate quality assessment. *Transfusion*, *29*(3), pp. 273-275. doi:10.1046/j.1537-2995.1989.29389162737.x
- Ghoshal, K., & Bhattacharyya, M. (2014). Overview of platelet physiology: its hemostatic and nonhemostatic role in disease pathogenesis. *Scientific World Journal*, *781857*. doi:10.1155/2014/781857
- Goodrich, R. P., Edrich, R. A., Li, J., & Seghatchian, J. (2006). The Mirasol PRT system for pathogen reduction of platelets and plasma: an overview of current status and future trends. *Transfusion and Apheresis Science*, *35*(1), pp. 5-17. doi:10.1016/j.transci.2006.01.007
- Goodrich, R. P., Gilmour, D., Hovenga, N., & Keil, S. D. (2009). A laboratory comparison of pathogen reduction technology treatment and culture of platelet products for addressing bacterial contamination concerns. *Transfusion*, *49*(6), pp. 1205-1216. doi:10.1111/j.1537-2995.2009.02126.x
- Gravemann, U., Handke, W., Muller, T. H., & Seltsam, A. (2019). Bacterial inactivation of platelet concentrates with the THERAFLEX UV-Platelets pathogen inactivation system. *Transfusion*, *59*(4), pp. 1324-1332. doi:10.1111/trf.15119
- Greco, C., Martincic, I., Gusinjac, A., Kalab, M., Yang, A. F., & Ramirez-Arcos, S. (2007). Staphylococcus epidermitis forms biofilms under simulated platelet storage conditions. *Transfusion*, *47*(7), pp. 1143-1153. doi:10.1111/j.1537-2995.2007.01249.x
- Greco, E., Lupia, E., Bosco, O., Vizio, B., & Montrucchio, G. (2017). Platelets and multi-organ failure in sepsis. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(10), 2200. doi:10.3390/ijms18102200
- Greco-Stewart, V. S., Brown, E. E., Parr, C., Kalab, M., Jacobs, M. R., Yomtovian, R. A., & Ramirez-Arcos, S. (2012). Serratia marcescens strains implicated in adverse transfusion reactions form biofilms in platelet concentrates and demonstrate reduced detection by automated culture. *Vox Sanguinis*, *102*(3), pp. 212-220. doi:10.1111/j.1423-0410.2011.01550.x
- Green, A. B., Chiaraviglio, L., Truelson, K. A., Zulauf, K. E., Cui, M., Zhang, Z., . . . Kirby, J. E. (2023). RND pump-mediated efflux of Amotosalen, a compound used in pathogen inactivation technology to enhance safety of blood transfusion products, may compromise its Gram-negative anti-bacterial activity. *mSphere*, *8*(2), e0067322. doi:10.1128/msphere.00673-22

- Hadjesfandiari, N., Schubert, P., Fallah Toosi, S., Chen, Z., Culibrk, B., Ramirez-Arcos, S., . . . Brooks, D. E. (2016). Effect of texture of platelets bags on bacterial and platelet adhesion. *Transfusion*, *56*(11), pp. 2808-2818. doi:10.1111/trf.13756
- Hamzeh-Cognasse, H., Damien, P., Chabert, A., Pozzetto, B., Cognasse, F., & Garraud, O. (2015). Platelets and infections - Complex interactions with bacteria. *Frontiers in Immunology*, *6*, 82. doi:10.3389/fimmu.2015.00082
- Hay, S. N., & Brecher, M. E. (2004). Validation of pH and glucose determination for bacteria detection screening in platelet concentrates stored in the Terumo Teruflex XT612 platelet container. *Transfusion*, *44*(9), 1395. doi:10.1111/j.0041-1132.2004.00434.x
- Heaton, W. A., Good, C. E., Galloway-Haskins, R., Yomtovian, R. A., & Jacobs, M. R. (2014). Evaluation of a rapid colorimetric assay for detection of bacterial contamination in apheresis and pooled random-donor platelet units. *Transfusion*, *54*(6), pp. 1634-1641. doi:10.1111/trf.12603
- Ighem Chi, S., & Ramirez-Arcos, S. (2022). Staphylococcal enterotoxins enhance biofilm formation by *Staphylococcus aureus* in platelet concentrates. *Microorganisms*, *11*(1), 89. doi:10.3390/microorganisms11010089
- Ighem Chi, S., Kumaran, D., Zeller, M. P., & Ramirez-Arcos, S. (2022). Transfusion of a platelet pool contaminated with exotoxin-producing *Staphylococcus aureus*: a case report. *Annals of Blood*, *7*(43). doi:10.21037/aob-21-38
- Irsch, J., & Lin, L. (2011). Pathogen inactivation of platelet and plasma blood components for transfusion using the INTERCEPT blood system. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, *38*(1), pp. 19-31. doi:10.1159/000323937
- Jacobs, M. R., Good, C. E., Lazarus, H. M., & Yomtovian, R. A. (2008). Relationship between bacterial load, species virulence, and transfusion reaction with transfusion of bacterially contaminated platelets. *Clinical Infectious Diseases*, *46*(8), pp. 1214-1220. doi:10.1086/529143
- Jacobs, M. R., Smith, D., Heaton, W. A., Zantek, N. D., Good, C. E., & PGD Study Group. (2011). Detection of bacterial contamination in prestorage culture-negative apheresis platelets on day of issue with the Pan Genera Detection test. *Transfusion*, *51*(12), pp. 2573-2582. doi:10.1111/j.1537-2995.2011.03308.x
- Jahn, K., Kohler, T. P., Swiatek, L. S., Wiebe, S., & Hammerschmidt, S. (2022). Platelets, bacterial adhesins and the pneumococcus. *Cells*, *11*(7), 1121. doi:10.3390/cells11071121
- Jenkins, C., Ramirez-Arcos, S., Goldman, M., & Devine, D. V. (2011). Bacterial contamination in platelets: incremental improvements drive down but do not eliminate risk. *Transfusion*, *51*(12), pp. 2555-2565. doi:10.1111/j.1537-2995.2011.03187.x
- Johannsson, F., Arnason, N. A., Landro, R., Guomundsson, S., Sigurjonsson, O. E., & Rolfsson, O. (2020). Metabolomics study of platelet concentrates photochemically

- treated with amotosalen and UVA light for pathogen inactivation. *Transfusion*, 60(2), pp. 367-377. doi:10.1111/trf.15610
- Kacker, S., Bloch, E. M., Ness, P. M., Gehrie, E. A., Marshall, C. E., Lokhandwala, P. M., & Tobian, A. A. (2019). Financial impact of alternative approaches to reduce bacterial contamination of platelet transfusions. *Transfusion*, 59(4), pp. 1291-1299. doi:10.1111/trf.15139
- Kacker, S., Katz, L. M., Ness, P. M., Bloch, E. M., Goel, R., Gehrie, E. A., . . . Tobian, A. A. (2020). Financial analysis of large-volume delayed sampling to reduce bacterial contamination of platelets. *Transfusion*, 60(5), pp. 997-1002. doi:10.1111/trf.15773
- Kamel, H., Ramirez-Arcos, S., & McDonald, C. (2022). The international experience of bacterial screen testing of platelet components with automated microbial detection systems: An update. *Vox Sanguinis*, 117(5), pp. 647-655. doi:10.1111/vox.13247
- Kamel, H., Townsend, M., Bravo, M., & Vassallo, R. R. (2017). Improved yield of minimal proportional sample volume platelet bacterial culture. *Transfusion*, 57(10), pp. 2413-2419. doi:10.1111/trf.14198
- Ketter, P. M., Kamucheka, R., Arulanandam, B., Akers, K., & Cap, A. P. (2019). Platelet enhancement of bacterial growth during room temperature storage: mitigation through refrigeration. *Transfusion*, 59(S2), pp. 1479-1489. doi:10.1111/trf.15255
- Kleinman, S., Reed, W., & Stassinopoulos, A. (2013). A patient-oriented risk-benefit analysis of pathogen-inactivated blood components: application to apheresis platelets in the United States. *Transfusion*, 53(7), pp. 1603-1618. doi:10.1111/j.1537-2995.2012.03928.x
- Koopman, M. W., van't Ende, E., Lieshout-Krikke, R., Marcelis, J., Smid, W. M., & de Korte, D. (2009). Bacterial screening of platelet concentrates: results of 2 years active surveillance of transfused positive cultured units released as negative to date. *Vox Sanguinis*, 97(4), pp. 355-357. doi:10.1111/j.1423-0410.2009.01221.x
- Kreuger, A. L., Middelburg, R. A., Kerkhoffs, J. L. H., Schipperus, M. R., Wiersum-Osselton, J. C., & van der Bom, J. G. (2017). Storage medium of platelet transfusions and the risk of transfusion-transmitted bacterial infections. *Transfusion*, 57(3), pp. 657-660. doi:10.1111/trf.13969
- Kweon, S., Kim, S., Choi, H. S., Jo, K., Park, J., & Baek, E. J. (2023). Current status of platelet manufacturing in 3D or bioreactors. *Biotechnology Progress*, 2023, pp. 1-6. doi:10.1002/btpr.3364
- LaVerda, D., Shinefeld, L., Best, N., Lisitu, J., Tambolleo, G., & Vallejo, Y. R. (2021). Evaluation of an improved rapid bacterial assay with untreated and pathogen-reduced platelets: Detection of *Acinetobacter* strains. *Transfusion*, 61(9), pp. 2710-2717. doi:10.1111/trf.16514

- Levin, E., Culibrk, B., Gyongyossy-Issa, M. I., Weiss, S., Scammell, K., LeFresne, W., . . . Devine, D. V. (2008). Implementation of buffy coat platelet component production: comparison to platelet-rich plasma platelet production. *Transfusion*, *48*(11), pp. 2331-2337. doi:10.1111/j.1537-2995.2008.01836.x
- Levy, J. H., Neal, M. D., & Herman, J. H. (2018). Bacterial contamination of platelets for transfusion: strategies for prevention. *Critical Care*, *22*(1), 271. doi:10.1186/s13054-018-2212-9
- Lin, L., Dikeman, R., Molini, B., Lukehart, S. A., Lane, R., Dupuis, K., . . . Corash, L. (2004). Photochemical treatment of platelet concentrates with amotosalen and long-wavelength ultraviolet light inactivates a broad spectrum of pathogenic bacteria. *Transfusion*, *44*(10), pp. 1496-1504. doi:10.1111/j.1537-2995.2004.04125.x
- Liu, X., Liu, H., Luo, X., Zhang, P., Gao, Y., Xie, S., . . . Ma, L. (2017). Strains of Group B streptococci from septic patients induce platelet activation via Toll-like Receptor 2. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, *44*(3), pp. 335-343. doi:10.1111/1440-1681.12707
- Lopez, D., Vlamakis, V., & Kolter, R. (2010). Biofilms. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *2*(7), a000398. doi:10.1101/cshperspect.a000398
- Lu, M., Dai, T., Hu, S., Zhang, Q., Bhayana, B., Wang, L., & Wu, M. X. (2020). Antimicrobial blue light for decontamination of platelets during storage. *Journal of Biophotonics*, *13*(1), e201960021. doi:10.1002/jbio.201960021
- Lu, W., Delaney, M., Flegel, W. A., Ness, P., Ratcliffe, N., Triulzi, D. J., . . . Dunbar, N. M. (2020). How do you... decide which platelet bacterial risk mitigation strategy to select for your hospital-based transfusion service? *Transfusion*, *60*(4), pp. 675-681. doi:10.1111/trf.15693
- Macleane, M., Gelderman, M. P., Kulkarni, S., Tomb, R. M., Stewart, C. F., Anderson, J. G., . . . Atreya, C. D. (2020). Non-ionizing 405 nm light as a potential bactericidal technology for platelet safety: Evaluation of in vitro bacterial inactivation and in vivo platelet recovery in severe combined immunodeficient mice. *Frontiers in Medicine*, *6*, 331. doi:10.3389/fmed.2019.00331
- Mariotti, A., Ezzraimi, A. E., & Camoin-Jau, L. (2022). Effect of antiplatelet agents on Escherichia coli sepsis mechanisms: A review. *Frontiers in Microbiology*, *13*. doi:10.3389/fmicb.2022.1043334
- Marschner, S., & Goodrich, R. (2011). Pathogen reduction technology treatment of platelets, plasma and whole blood using riboflavin and UV light. *Transfusion Medicine Hemotherapy*, *38*(1), pp. 8-18. doi:10.1159/000324160
- Mastronardi, C. C., & Ramirez-Arcos, S. (2007). Quantitative PCR for detection and discrimination of the bloodborne pathogen Staphylococcus epidermidis in platelet preparations using divIVA and icaA as target genes. *Canadian Journal of Microbiology*, *53*(11), pp. 1222-1231. doi:10.1139/w07-091

- Maurer-Spurej, E., & Chipperfield, K. (2016). Could microparticles be the universal quality indicator for platelet viability and function? *Journal of Blood Transfusion*, 2016, 6140239. doi:10.1155/2016/6140239
- McDonald, C. P., Lowe, P., Roy, A., Robbins, S., Hartley, S., Harrison, J. F., . . . Barbara, J. A. (2001). Evaluation of donor arm disinfection techniques. *Vox Sanguinis*, 80(3), pp. 135-141. doi:10.1046/j.1423-0410.2001.00029.x
- McDonald, C. P., Pearce, S., Wilkins, K., Colvin, J., Robbins, S., Colley, L., . . . Barbara, J. A. (2005). Pall eBDS: an enhanced bacterial detection system for screening platelet concentrates. *Transfusion Medicine*, 15(4), pp. 259-268. doi:10.1111/j.0958-7578.2005.00587.x
- McDonald, C. P., Roy, A., Mahajan, P., Smith, R., Charlett, A., & Barbara, J. A. (2004). Relative values of the interventions of diversion and improved donor-arm disinfection to reduce the bacterial risk from blood transfusion. *Vox Sanguinis*, 86(3), pp. 178-182. doi:10.1111/j.0042-9007.2004.00404.x
- McDonald, C., McGuane, S., Thomas, J., Hartley, S., Robbins, S., Roy, A., . . . Barbara, J. (2010). A novel rapid and effective donor arm disinfection method. *Transfusion*, 50(1), pp. 53-58. doi:10.1111/j.1537-2995.2009.02332.x
- Mintz, P. D., & Vallejo, R. P. (2021). The PGDprime immunoassay for detection of bacterial contamination in platelet concentrates: sensitivity and specificity. *Annals of Blood*, 6, 19. doi:10.21037/aob-2020-bcpc-01
- Mohammadi, T., Pietersz, R. N., Vandenbroucke-Grauls, C. M., Savelkoul, P. H., & Reesink, H. W. (2005). Detection of bacteria in platelet concentrates: comparison of broad-range real-time 16S rDNA polymerase chain reaction and automated culturing. *Transfusion*, 45(5), pp. 731-736. doi:10.1111/j.1537-2995.2005.04258.x
- Montag, T. (2008). Strategies of bacteria screening in cellular blood components. *Clinical Chemistry Laboratory Medicine*, 46(7), pp. 926-932. doi:10.1515/CCLM.2008.176
- Motoyama, Y., Yamaguchi, N., Matsumoto, M., Ichijo, T., Nagumo, H., Kagami, N., . . . Nasu, M. (2009). Staphylococcus epidermidis forms floating micro-colonies in platelet concentrates at the early stage of contamination. *Journal of Health Science*, 55(5), pp. 726-731. doi:https://doi.org/10.1248/jhs.55.726
- Motoyama, Y., Yamaguchi, N., Matsumoto, M., Kagami, N., Tani, Y., Satake, M., & Nasu, M. (2008). Rapid and sensitive detection of viable bacteria in contaminated platelet concentrates using a newly developed bioimaging system. *Transfusion*, 48(11), pp. 2364-2369. doi:10.1111/j.1537-2995.2008.01863.x
- Muller, B., Walther-Wenke, G., Kalus, M., Alt, T., Bux, J., Zeiler, T., & Schottstedt, V. (2015). Routine bacterial screening of platelet concentrates by flow cytometry and its impact on product safety and supply. *Vox Sanguinis*, 108(3), pp. 209-218. doi:10.1111/vox.12214



- Munksgaard, L., Albjerg, L., Lillevang, S. T., Gahrn-Hansen, B., & Georgsen, J. (2004). Detection of bacterial contamination of platelet components: six years' experience with the BacT/ALERT system. *Transfusion*, *44*(8), pp. 1166-1173. doi:10.1111/j.1537-2995.2004.04019.x
- Nakamura, S., Nakai, K., Sakata, M., Nagaoka, Y., Yoshida, K., Katsumata, U., . . . Matsubayashi, K. (2019). Recipient sepsis caused by *Lactococcus garvieae* contamination of platelets from a donor with colon cancer. *Vox Sanguinis*, *114*(2), pp. 182-184. doi:10.1111/vox.12740
- Nanua, S., Weber, C., Isgriggs, L., & Dune, W. M. Jr. (2009). Performance evaluation of the VersaTREK blood culture system for quality control test of platelet units. *Journal of Clinical Microbiology*, *47*(3), pp. 817-818. doi:10.1128/JCM.02173-08
- Nightingale, M. J., Beard, M. J., Bennett, J., Hambleton, R., Ramskill, S., & Thomas, S. (2013). The donor line break cannula: effect on the donation process, blood component quality and transfusion microbiology testing of an important new blood bag safety feature. *Transfusion Medicine*, *23*(4), pp. 219-225. doi:10.1111/tme.12040
- Ortolano, G. A., Freundlich, L. F., Holme, S., Russell, R. L., Cortus, M. A., Wilkins, K., . . . Wenz, B. (2003). Detection of bacteria in WBC-reduced PLT concentrates using percent oxygen as a marker for bacteria growth. *Transfusion*, *43*(9), pp. 1276-1284. doi:10.1046/j.1537-2995.2003.00487.x
- Palavecino, E. L., Yomtovian, R. A., & Jacobs, M. R. (2006). Detecting bacteria contamination in platelet products. *Clinical Laboratory*, *52*(9-10), pp. 443-456.
- Pati, I., Masiello, F., Pupella, S., Cruciani, M., & De Angelis, V. (2022). Efficacy and safety of pathogen-reduced platelets compared with standard apheresis platelets: A systematic review of RCTs. *Pathogens*, *11*(6), 639. doi:10.3390/pathogens11060639
- Prax, M., Bekeredjan-Ding, I., & Krut, O. (2019). Microbiological screening of platelet concentrates in Europe. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, *46*(2), pp. 76-86. doi:10.1159/000499349
- Prioli, K. M., Abersone, I., Kopko, P. M., Herman, J. H., Custer, B., & Pizzi, L. T. (2022). Economic implications of FDA platelet bacterial guidance compliance options: Comparison of single-step strategies. *Transfusion*, *62*(2), pp. 365-373. doi:10.1111/trf.16778
- Prowse, C. V. (2013). Component pathogen inactivation: a critical review. *Vox Sanguinis*, *104*(3), pp. 183-199. doi:10.1111/j.1423-0410.2012.01662.x
- Ramirez-Arcos, S. (2020). The impact of bacterial biofilms in transfusion medicine. In B. Li, T. F. Moriarty, T. Webster, & M. Xing (Eds.), *Racing for the surface: advance in antimicrobial and osteoinductive studies* (pp. 213-222). Switzerland: AG: Springer.

- Ramirez-Arcos, S., & Goldman, M. (2012). Bacterial contamination. In M. A. Popovsky (Ed.), *Transfusion reactions (4th edition)* (pp. 53-181). Bethesda, MD, USA: American Association of Blood Bank Press.
- Schmidt, M., Ramirez-Arcos, S., Stiller, L., McDonald, C., & ISBT/WP-TTID, Subgroup on Bacteria. (2022). Current status of rapid bacterial detection methods for platelet components: A 20-year review by the ISBT Transfusion-Transmitted Infectious Diseases Working Party Subgroup on Bacteria. *Vox Sanguinis*, *117*(8), pp. 983-988. doi:10.1111/vox.13283
- Schmidt, M., Sireis, W., & Seifried, E. (2011). Implementation of bacterial detection methods into blood donor screening - Overview of different technologies. *Transfusion Medicine Hemotherapy*, *38*(4), pp. 259-265. doi:10.1159/000330305
- Schnoor, B., & Papa, A. L. (2022). Lyophilized platelets inhibit platelet aggregation with simultaneous paradoxical promotion of platelet adhesion. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *10*, 941817. doi:10.3389/fbioe.2022.941817
- Seltsam, A., & Muller, T. H. (2011). UVC irradiation for pathogen reduction of platelet concentrates and plasma. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, *38*(1), pp. 43-54. doi:10.1159/000323845
- Seng, P., Drancourt, M., Gouriet, F., La Scola, B., Fournier, P. E., Rolain, J. M., & Raoult, D. (2009). Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clinical Infectious Diseases*, *49*(4), pp. 543-551. doi:10.1086/600885
- Shannon, O. (2021). The role of platelets in sepsis. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, *5*(1), pp. 27-37. doi:10.1002/rth2.12465
- Shrivastava, M. (2009). The platelet storage lesion. *Transfusion and Apheresis Science*, *41*(2), pp. 105-113. doi:10.1016/j.transci.2009.07.002
- Shu, E., Dela Cruz Batilo, C., Sussmann, H., Owen, B., Belanger, G. A., Pandey, S., & Pham, T. D. (2022). Implementation strategy for complete pathogen reduction technology treated apheresis platelet inventory. *Transfusion*, *62*(10), pp. 2108-2116. doi:10.1111/trf.17081
- Spindler-Raffel, E., Benjamin, R. J., McDonald, C. P., Ramirez-Arcos, S., Aplin, K., Bekeredjian-Ding, I., . . . ISBT/WP-TTID, Subgroup on Bacteria. (2017). Enlargement of the WHO international repository for platelet transfusion-relevant bacteria reference strains. *Vox Sanguinis*, *112*(8), pp. 713-722. doi:10.1111/vox.12548
- Steen, R. M., Hanson-Steen, A. S., John, C. S., & Indrikovs, A. J. (2003). The use of the Gram stain to screen platelet concentrates for bacterial contamination. *Laboratory Medicine*, *34*(8), pp. 609-612. doi:10.1309/WU87W6KP1WYB097Q
- Stone, M. J. (2003). William Osler's legacy and his contribution to haematology. *British Journal of Haematology*, *123*(1), pp. 3-18. doi:10.1046/j.1365-2141.2003.04615.x

- Stormer, M., Arroyo, A., Brachert, J., Carrero, H., Devine, D., Epstein, J. S., . . . Montag, T. (2012). Establishment of the first International Repository for Transfusion-Relevant Bacteria Reference Strains. *Vox Sanguinis*, *102*(1), pp. 22-31. doi:10.1111/j.1423-0410.2011.01510.x
- Stormer, M., & Vollmer, T. (2014). Diagnostic methods for platelet bacteria screening: current status and developments. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, *41*, pp. 19-27. doi:10.1159/000357651
- Straus, D. (2019). Component preparation and manufacturing. In B. H. Shaz, C. D. Hillyer, & M. Reyes Gil (Eds.), *Transfusion medicine and hemostasis. Clinical and laboratory aspects* (pp. 53-58). Oxford: Elsevier.
- Stubbs, J. R., Tran, S. A., Emery, R. L., Hammel, S. A., Haugen, A. L., Zielinski, M. D., . . . Jenkins, D. (2017). Cold platelets for trauma-associated bleeding: regulatory approval, accreditation approval, and practice implementation-just the "tip of the iceberg". *Transfusion*, *57*(12), pp. 2836-2844. doi:10.1111/trf.14303
- Szczepiorkowski, Z. M., & Pagano, M. B. (2022). Platelet components and bacterial contamination: hospital perspective 2022. *Hematology, American Society of Hematology Education Program*, *2022*(1), pp. 430-436. doi:10.1182/hematology.2022000402
- Taha, M., Culibrk, B., Kalab, M., Schubert, P., Yi, Q. L., Goodrich, R., & Ramirez-Arcos, S. (2017). Efficiency of riboflavin and ultraviolet light treatment against high levels of biofilm-derived *Staphylococcus epidermidis* in buffy coat platelet concentrates. *Vox Sanguinis*, *112*(5), pp. 408-416. doi:10.1111/vox.12519
- Taha, M., Kalab, M., Yi, Q. L., Maurer, E., Jenkins, C., Schubert, P., & Ramirez-Arcos, S. (2016). Bacterial survival and distribution during buffy coat platelet production. *Vox Sanguinis*, *111*(4), pp. 333-340. doi:10.1111/vox.12427
- Thiele, T., Steil, L., Gebhard, S., Scharf, C., Hammer, E., Brigulla, M., . . . Greinacher, A. (2007). Profiling of alterations in platelet proteins during storage of platelet concentrates. *Transfusion*, *47*(7), pp. 1221-1233. doi:10.1111/j.1537-2995.2007.01255.x
- Tomasulo, P. A., & Wagner, S. J. (2013). Predicting improvement in detection of bacteria in apheresis platelets by maintaining constant component sampling proportion. *Transfusion*, *53*(4), pp. 835-842. doi:10.1111/j.1537-2995.2012.03821.x
- Trampuz, A., Salzmann, S., Antheaume, J., & Daniels, A. U. (2007). Microcalorimetry: a novel method for detection of microbial contamination in platelet products. *Transfusion*, *47*(9), pp. 1643-1650. doi:10.1111/j.1537-2995.2007.01336.x
- Tynngard, N. (2009). Preparation, storage and quality control of platelet concentrates. *Transfusion and Apheresis Science*, *41*(2), pp. 97-104. doi:10.1016/j.transci.2009.07.001

- Valeri, C. R., & Ragno, G. (2006). Cryopreservation of human blood products. *Transfusion and Apheresis Science*, 34(3), pp. 271-287. doi:10.1016/j.transci.2005.11.010
- van der Meijden, P. E., & Heemskerk, J. W. (2019). Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. *Nature Reviews Cardiology*, 16, pp. 166-179. doi:10.1038/s41569-018-0110-0
- Vedy, D., Robert, D., Gasparini, D., Canellini, G., Waldvogel, S., & Tissot, J. D. (2009). Bacterial contamination of platelet concentrates: pathogen detection and inactivation methods. *Hematology Reviews*, 1(1), e5. doi:10.4081/hr.2009.e5
- Vollmer, T., Engemann, J., Kleesiek, K., & Dreier, J. (2011). Bacterial screening by flow cytometry offers potential for extension of platelet storage: results of 14 months of active surveillance. *Transfusion Medicine*, 21(3), pp. 175-182. doi:10.1111/j.1365-3148.2011.01070.x
- Vollmer, T., Hinse, D., Kleesiek, K., & Dreier, J. (2010). The Pan Genera Detection immunoassay: a novel point-of-issue method for detection of bacterial contamination in platelet concentrates. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(10), pp. 3475-3481. doi:10.1128/JCM.00542-10
- Vostal, J. G., & Mondoro, T. H. (1997). Liquid cold storage of platelets: a revitalized possible alternative for limiting bacterial contamination of platelet products. *Transfusion Medicine Reviews*, 11(4), pp. 286-295. doi:10.1016/S0887-7963(97)80094-6
- Vrioni, G., Tsiamis, C., Oikonomidis, G., Theodoridou, K., Kapsimali, V., & Tsakris, A. (2018). MALDI-TOF mass spectrometry technology for detecting biomarkers of antimicrobial resistance: current achievements and future perspectives. *Annals of Translational Medicine*, 6(12), 240. doi:10.21037/atm.2018.06.28
- Wagner, S. J., & Robinette, D. (1996). Evaluation of swirling, pH, and glucose tests for the detection of bacterial contamination in platelet concentrates. *Transfusion*, 36(11-12), pp. 989-993. doi:10.1046/j.1537-2995.1996.36111297091744.x
- Walker, B. S., Schmidt, R. L., Fisher, M. A., White, S. K., Blaylock, R. C., & Metcalf, R. A. (2020). The comparative safety of bacterial risk control strategies for platelet components: a simulation study. *Transfusion*, 60(8), pp. 1723-1731. doi:10.1111/trf.15919
- Walker, B. S., Schmidt, R. L., Moore, R. A., White, S. K., Fisher, M. A., & Metcalf, R. A. (2023). Bacterial culture time to detection in platelet components: An evidence synthesis and estimation of detection failures. *Transfusion*, 63(1), pp. 182-192. doi:10.1111/trf.17179
- Waters, L., Cameron, M., Padula, M. P., Marks, D. C., & Johnson, L. (2018). Refrigeration, cryopreservation and pathogen inactivation: an updated perspective on platelet storage conditions. *Vox Sanguinis*, 113(4), pp. 317-328. doi:10.1111/vox.12640

- WHO. (2021). *World Health Organization model list of essential medicines - 22nd list*. Geneva: WHO.
- Winkel-Wood, B., Padula, M. P., Marks, D. C., & Johnson, L. (2022). Cold storage alters the immune characteristics of platelets and potentiates bacterial-induced aggregation. *Vox Sanguinis*, *117*(8), pp. 1006-1015. doi:10.1111/vox.13293
- Worth, R. G., Chien, C. D., Chien, P., Reilly, M. P., McKenzie, S. E., & Schreiber, A. D. (2006). Platelet FcγRIIA binds and internalizes IgG-containing complexes. *Experimental Hematology*, *34*(11), pp. 1490-1495. doi:10.1016/j.exphem.2006.06.015
- Xu, J., Yi, J., Zhang, H., Feng, F., Gu, S., Weng, L., . . . Hu, X. (2018). Platelets directly regulate DNA damage and division of *Staphylococcus aureus*. *FASEB Journal*, *32*(7), pp. 3707-3716. doi:10.1096/fj.201701190R
- Yamket, W., Sathianpitayakul, P., Santanirand, P., & Ratthawongjirakul, P. (2023). Implementation of helicase-dependent amplification with SYBR Green I for prompt naked-eye detection of bacterial contaminants in platelet products. *Scientific Reports*, *13*(1), 3238. doi:10.1038/s41598-023-30410-8
- Yeaman, M. R. (2014). Platelets: at the nexus of antimicrobial defence. *Nature Reviews Microbiology*, *12*(6), pp. 426-437. doi:10.1038/nrmicro3269
- Yomtovian, R., Lazarus, H. M., Goodnough, L. T., Hirschler, N. V., Morrissey, A. M., & Jacobs, M. R. (1993). A prospective microbiologic surveillance program to detect and prevent the transfusion of bacterially contaminated platelets. *Transfusion*, *33*(11), pp. 902-909. doi:10.1046/j.1537-2995.1993.331194082380.x
- Yousuf, B., Pasha, R., Pineault, N., & Ramirez-Arcos, S. (2022). Contamination of platelet concentrates with *Staphylococcus aureus* induces significant modulations in platelet functionality. *Vox Sanguinis*, *117*(11), pp. 1318-1322. doi:10.1111/vox.13353
- Zhao, H., & Devine, D. V. (2022). The missing pieces to the cold-stored platelet puzzle. *International Journal of Molecular Science*, *23*(3), 1100. doi:10.3390/ijms23031100
- Zhou, X., Hu, Z., Yang, D., Xie, S., Jiang, Z., Niessner, R., . . . Sun, P. (2020). Bacteria detection: From powerful SERS to its advanced compatible techniques. *Advanced Science*, *7*, 2001739. doi:10.1002/advs.202001739
- Zhu, L., Li, C., & Wang, D. (2020). A novel ultraviolet illumination used in riboflavin photochemical method to inactivate drug-resistant bacteria in blood components. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, *204*, 111782. doi:10.1016/j.jphotobiol.2020.111782

## Πηγές Εικόνων

Εικόνα 1: Jahn, K., Kohler, T. P., Swiatek, L.-S., Wiebe, S., & Hammerschmidt, S. (2022). Platelets, bacterial adhesins and the pneumococcus. *Cells*, 11(7). doi:10.3390/cells11071121

Εικόνα 2: Taha, M., Kalab, M., Yi, Q., Maurer, E., Jenkins, C., Schubert, P., & Ramirez-Arcos, S. (2016). Bacterial survival and distribution during buffy coat platelet production. *Vox Sanguinis*, 111(4), pp. 333-340. doi:10.1111/vox.12427

Εικόνα 3: Greco, C., Martincic, I., Gusinjac, A., Kalab, M., Yang, A.-F., & Ramirez-Arcos, S. (2007). Staphylococcus epidermitis forms biofilms under simulated platelet storage conditions. *Transfusion*, 47(7), pp. 1143-1153. doi:10.1111/j.1537-2995.2007.01249.x

Εικόνα 4: Verax Biomedical, <https://www.veraxbiomedical.com/>

Εικόνα 5: <https://microbeonline.com/bactec-automated-blood-culture-system/>

Εικόνα 6: <https://interceptbloodsystem.com/>