



## **PUBLICATIE VAN DE HOGE GEZONDHEIDSRAAD NR. 8670**

### **Toepasbaarheid van de opsporingsmethoden van bacteriële besmetting in bloedplaatjesconcentraten en voordeel voor de transfusieveiligheid**

4 mei 2010

#### **1. INLEIDING EN VRAAGSTELLING**

Op 10 juni 2010 heeft de Hoge Gezondheidsraad (HGR) een adviesaanvraag ontvangen van mevrouw de minister van Sociale Zaken en Volksgezondheid<sup>1</sup> inzake het opsporen van bacteriële besmetting van bloedplaatjesconcentraten door middel van de *Platelet Pan Genera Detection*<sup>®</sup>-methode.

Er zijn momenteel verschillende procedés op de markt om bacteriële besmetting op te sporen. De HGR acht het dan ook opportuun een advies over de procedés in hun geheel te verlenen en de aandacht niet op een methode in het bijzonder te richten.

Terwijl het verminderen van overdracht van virussen via transfusie al meer dan twintig jaar een prioriteit is, brengt de overdracht van een bacteriële infectie via transfusie nog altijd een hoog risico van morbiditeit en mortaliteit met zich mee en vormt ze momenteel de grootste infectieuze risicofactor van een transfusie (Védy et al., 2009). Vooral bloedplaatjesconcentraten zijn gevoelig voor een bacteriële besmetting, omdat de bewaaromstandigheden (temperatuur en samenstelling van het suspensiemedium) gunstig zijn voor de groei van bacteriën. Ter informatie, in 2004 lag het risico van een bacteriële besmetting van bloedplaatjesconcentraten 50 tot 250 keer hoger dan het gezamenlijke risico van overdracht van het humaan immuundeficiëntievirus, de hepatitis B-, hepatitis C- en HTLV-1 en -2-virussen (Ribault et al., 2004).

Het spectrum van bacteriële besmettingen gaat van het eenvoudige vaststellen van de aanwezigheid van bacteriën door een routinematig toezicht op bloedcomponenten zonder klinische gevolgen, tot aan het overlijden van de ontvanger. Jaarlijks worden gevallen van ernstige transfusiële reacties gerapporteerd die door de hemovigilantieprogramma's aan de bacteriële besmetting van bloedcomponenten worden toegeschreven: 9 gevallen, waaronder een overlijden in Frankrijk, in 2008 (EFS, 2009), 7 gevallen in 2009 (AFSSAPS, 2010) en 6 gevallen in het SHOT-rapport 2009 in het Verenigd Koninkrijk (Taylor et al., 2010). De Belgische gegevens in verband met septische reacties op de transfusie van bloedplaatjesconcentraten omvatten, niettegenstaande de systematische microbiologische screening, 5 septische reacties gemeld in het kader van de hemovigilantie in de periode 2006 - 2008. (FAGG, 2007; FAGG, 2008; FAGG, 2010). Tijdens deze periode werden 193.000 concentraten toegediend (d.w.z. 1:38.000 reacties).

In België is het opsporen of de reductie van bacteriën in bloedplaatjesconcentraten een gangbare praktijk (Bosly et al., 2007) die noodzakelijk geacht wordt, zoals door de HGR aanbevolen (HGR,

<sup>1</sup> Brief van Mevr. L. Onkelinx, minister van Sociale Zaken en Volksgezondheid (met als ref. LO/LB/KVDW/GVG/\_), dd. 27/05/10, gericht naar de heer J. Nève, Voorzitter van de HGR.

2005): “De bewaring van bloedplaatjesconcentraten tot 7 dagen vereist de detectie of reductie van een eventuele bacteriële besmetting”.

In dit advies wordt beoogd de volgende vragen te beantwoorden:

1. Kan het opsporen van bacteriële besmetting van bloedplaatjesconcentraten de transfusieveilichheid verhogen?
2. Hoe kan dit in ons land worden toegepast?
3. Wat zijn de voor- en nadelen van het opsporen van bacteriële besmetting t.o.v. de pathogeenreductietechnieken?

Om deze vragen te beantwoorden werd de adviesaanvraag aan de werkgroep “Bloed en bloedderivaten” toegewezen met deskundigen in bloedtransfusie en microbiologie.

## 2. CONCLUSIE

1. Kan het opsporen van bacteriële besmetting van bloedplaatjesconcentraten de transfusieveilichheid verhogen?

Hoewel het antwoord duidelijk ja is, moet dit door het antwoord op vraag 3 genuanceerd worden.

2. Hoe kan dit in ons land worden toegepast?

Twee strategieën zijn mogelijk: een methode van bacteriekweek toegepast kort na de afname of het gebruik van een sneltest vlak voor de aflevering. Elke strategie heeft zijn voor- en nadelen: de winst van beide is vergelijkbaar, waardoor ze gelijkwaardig gebruikt kunnen worden (met uitzondering van methoden met geringe gevoeligheid).

Als de Belgische transfusie-instellingen de gewoonte hebben de kweekmethode te gebruiken zal het invoeren van sneltests echter moeilijk op te lossen logistieke problemen veroorzaken, waaronder het aanzienlijke aantal vals positieve, onbepaalde en niet-bevestigde resultaten, de praktische organisatie, de bevoorradingsproblemen en de verdeling van de verantwoordelijkheden tussen de bloedtransfusie-instelling en de verzorgingsinstelling.

3. Wat zijn de voor- en nadelen van het opsporen van bacteriële besmetting ten opzichte van de pathogeenreductietechnieken?

De huidige gepubliceerde gegevens suggereren dat het opsporen van bacteriën via de beschikbare methoden een vals gevoel van veiligheid kan scheppen. Het is namelijk bekend dat de aanpak via het opsporen, ongeacht de gekozen methode, een efficiëntie vertoont die afneemt naarmate de bacteriële besmettingsgraad daalt. Daarentegen is de pathogeenreductie des te efficiënter hoe lager de besmettingsgraad.

Kortom, hoewel betere criteria voor donorselectie toegepast worden en de gebruikte opsporingstests een duidelijke verlaging van de risico's van infectieoverdracht door transfusie, onder andere de bacteriële besmetting, toelaten, toch kan een pathogeen agens omwille van verschillende redenen nog aan de opsporing ontsnappen en zo de ontvanger besmetten. De vensterperiode, de onvoldoende gevoeligheid van sommige tests en het opduiken van nieuwe pathogene agentia zijn de belangrijkste voorbeelden. Pathogeenreductie toegepast op bloedcomponenten kan een oplossing bieden voor deze drie aandachtspunten, zoals dit al voor plasma-afgeleide geneesmiddelen gebeurt. Het nadeel van deze technieken ligt er echter in dat ze een functionele schade aan de behandelde plaatjes berokkenen en hun recuperatie na transfusie verlagen. In geval van opkomst van een nieuw pathogeen agens moet uiteraard de reductiegraad worden nagekeken.

### 3. UITWERKING EN ARGUMENTATIE

Gebruikte afkortingen: DNA = desoxyribonucleïnezuur; RNA = ribonucleïnezuur; CFU = *colony forming units*; CMV = cytomegalovirus; FDA = *Food and Drugs Administration*; HTLV = *human T-cell lymphotropic virus*; PCR = *polymerase chain reaction*; SHOT = *Serious Hazards of Transfusion*; TOI = *time-of-issue*; NAT = *nucleic acid testing*.

#### 3.1 Methodologie

Het advies berust op een systematische review van de beste wetenschappelijke kennis en bestaande evidentie. De systematische review is het resultaat van het grondig doorzoeken van de referentielijsten van alle relevante artikels en online beschikbare artikels vóór hun publicatie in de belangrijkste tijdschriften voor klinische transfusie. Deze gegevens werden aangevuld met het opzoeken van verwante artikels via de gegevensbank PubMed. Met drie auteurs werd er ook contact opgenomen om bijkomende inlichtingen te verkrijgen zodat de betekenis van de resultaten beter beoordeeld kon worden.

#### 3.2 Uitwerking

##### 3.2.1. Stand van zaken en huidige risico's

Het fundamentele verschil tussen een virale en een bacteriële contaminatie is dat bacteriën zich sterk kunnen vermenigvuldigen tijdens de bewaring van bloedplaatjesconcentraten (Müller et al., 2008). Geschat wordt dat in gewone bewaaromstandigheden ( $22 \pm 2$  °C) het aantal bacteriën meer dan  $10^{10}$  CFU (*colony forming units*) per zakje kan bedragen (Montag 2008). Een bacteriële besmetting boven de  $10^5$  CFU/mL kan al ernstige infectieuze complicaties veroorzaken ook hangt dit af van de aard van het micro-organisme en de gevoeligheid van de patiënt (Morel et al., 2003).

De draagwijdte van het probleem is niet altijd gemakkelijk te beoordelen en de inschatting van het werkelijke risico varieert van studie tot studie. Verschillende elementen liggen hier aan de basis, waaronder het ontbreken van een voldoende gevoelige opsporingsmethode, het inadequaat identificeren van septische reacties door klinici (Rao et al., 2007; Traore et al., 2009), de methodologische verschillen en het moment van uitvoering van bacteriële opsporingstests op bloedplaatjesconcentraten (Palavecino et al., 2006).

Er bestaan vier bronnen van bacteriële besmetting van bloedcomponenten (Wagner, 2004):

1° De huid van de donor op de punctieplaats: een goede huidontsmetting vermindert de bacteriële lading, maar kan de punctieplaats onmogelijk volledig steriliseren, in het bijzonder bij een litteken, dat voor sommige kiemen een "schuilplaats" kan zijn, onbereikbaar voor ontsmettingsmiddelen. Op te merken valt dat de oorzaak niet enkel bij de huid ligt, want twee derden van de gerapporteerde overlijdensgevallen in het Amerikaanse hemovigilantiesysteem van de *Food and Drugs Administration* (FDA) zijn te wijten aan bacteriën die niet typisch zijn voor de huidflora (Yomtovian et al., 2007);

2° Het bloed van de donor: sommige donoren kunnen een beperkte asymptomatische bacteriëmie vertonen, hetzij chronisch (zoals in het kader van een chronische osteomyelitis), hetzij van voorbijgaande aard (na bijvoorbeeld tandverzorging). Het medisch onderzoek vóór de donatie is in dit verband een essentiële preventiemaatregel;

3° Het materiaal voor eenmalig gebruik dat voor de afname gebruikt wordt. Hoewel dit zeer zelden voorkomt, liggen de 11 gevallen van besmetting met *Serratia marcescens* in Zweden en Denemarken in het begin van de jaren 90 nog in het geheugen (Heltberg et al., 1993; Hogman et al., 1993);

4° De omgeving: deze besmettingsbron vormt enkel een gevaar als het gesloten systeem tijdens de afname, bereiding of bewaring van bloedcomponenten onderbroken wordt.

Dankzij de door de bloedtransfusie-instellingen genomen voorzorgsmaatregelen (zie *infra*) wordt algemeen aangenomen dat het aanvankelijke besmettingsniveau door bacteriën in de geïnfecteerde eenheden zeer laag is, van 1 tot 10 CFU per mL (of 300 tot 3.000 CFU per bloedplaatjesconcentraat) (Prowse, 2007).

Door het systematisch op kweek zetten van bloedplaatjesconcentraten kan de bacteriële besmettingsgraad van bloedplaatjesconcentraten op 1 tot 2 op 3.000 geschat worden (Védy et al., 2009). Wanneer de bloedplaatjesconcentraten op de achtste dag van hun bewaring opnieuw op kweek worden gezet, stijgt dit gehalte tot 1 op 1.500 (Murphy et al., 2008). Als het opsporen na de bewaartijd wordt uitgevoerd, kunnen gehalten van 1 op 385 verwacht worden, zoals in de studie van Walther-Wenke uit 2001, gepubliceerd in 2006, werd aangetoond (Walther-Wenke et al., 2006). Gelukkig veroorzaken de meeste besmette eenheden geen transfusiële reactie, in het bijzonder wanneer de bacteriële besmettingsgraad laag is. Een onderrapportering van ongewenste voorvallen lijkt echter duidelijk, aangezien een actief toezicht (systematische prospectieve toezichtsmethode) 32 keer meer besmette bloedcomponenten en 10,6 keer meer septische reacties kan opsporen dan het passief toezicht (onderzoeken uitgevoerd na aangifte van transfusiële reacties) (Jacobs et al., 2008).

Wat de klinische gevolgen betreft, wordt het risico van septische reactie na transfusie in Frankrijk op 1 op 25.000 verdeelde bloedplaatjesconcentraten geschat; in een rapport van het Amerikaanse Rode Kruis (Benjamin, 2010) is dit 1 op 108.000. Het risico op overlijden door transfusionele sepsis werd berekend en situeert zich tussen 1 op 20.000 en 1 op 100.000 in een Nederlandse studie (De Korte et al., 2006) en 1 op 200.000 in Frankrijk en 1 op 500.000 in de Verenigde Staten (Védy et al., 2009).

Het onderkennen van een transfusionele sepsis kan moeilijk zijn aan het bed van de patiënt, in het bijzonder wanneer de zieken al koortsig zijn vóór de transfusie en/of een antibioticabehandeling ondergaan voor een sepsis van andere oorsprong. Het aantal bevestigde en gerapporteerde klinische gevallen moet dus als het topje van de ijsberg beschouwd worden (Wood, 2010). Volgens de definitie van de groep SHOT (*Serious Hazards of Transfusion*; cf. Taylor et al., 2010) wordt een via transfusie overgedragen infectie bevestigd wanneer:

- de ontvanger na de transfusie duidelijk een infectie vertoont die voor de transfusie nog niet aanwezig was en er geen andere infectiebron bestaat;
- ten minste één van de door de ontvanger ontvangen bloedcomponenten afkomstig is van een donor die duidelijk dezelfde kiem vertoont;
- het infectieuze agens in ten minste één van de getransfundeerde componenten werd aangetoond.

De ernst van de klinische verschijnselen, toegeschreven aan de transfusie van besmette bloedplaatjesconcentraten, wordt door zowel kwantitatieve als kwalitatieve parameters bepaald (aantal getransfundeerde CFU, type betrokken bacterie, bacteriële proliferatiegraad, latentiefase). De ernst van een septische reactie hangt ook van patiëntgebonden parameters af en kan dus groter zijn bij immuungedepriëerde patiënten (Védy et al., 2009). In meerdere studies werd er een verband tussen de besmettingsgraad en de ernst van de reactie aangetoond, met drempelwaarden op  $10^5$  (Jacobs et al., 2008) of  $10^6$  CFU/mL (Yomtovian et al., 2006) voor ernstige reacties. De virulentie van de bacterie lijkt echter een belangrijkere factor dan de bacteriële lading (Yomtovian et al., 2006). Deze auteurs beschreven ook septische reacties (koorts, rillingen, hypotensie) met coagulase-negatieve stafylokokken waarvan de concentratie niet boven de  $10^2$  CFU/mL lag.

De aangetoonde bacteriën in de betrokken plaatjeseenheden bij transfusionele sepsis zijn voor het merendeel Grampositieve aërobe bacteriën (Eder et al., 2007). Bij Gramnegatieve kiemen is het overlijdensrisico echter groter (60 %) dan in het geval van transfusionele sepsis met Grampositieve kiemen (40 %) (Wagner, 2004).

### 3.2.2. Op bloedplaatjesconcentraten toepasbare opsporingsmethoden van bacteriële besmetting

De beschikbare strategieën om bacteriën in een bloedcomponent op te sporen (Wood, 2010) zijn de volgende:

- tests voor kwaliteitscontrole;
- de routinematige toezichtopsporing of elke andere test net voor de aflevering;
- het visueel onderzoeken van het uiterlijk van de componenten in de bloedtransfusie-instelling, in de bloedbank van het ziekenhuis en aan het bed van de zieke net voor de transfusie;
- het aandachtig opvolgen van patiënten tijdens en na de transfusie.

Bij een ideaal opsporingssysteem van bacteriële besmetting zou een zo groot mogelijke gevoeligheid (om alle relevante gevallen op te sporen) moeten samengaan met een adequate specificiteit (om het onterecht afkeuren van componenten te voorkomen). Het zou ook om een snelle, automatische, eenvoudige, technisch robuuste methode moeten gaan en dit tegen een redelijke kostprijs. Tot slot moeten de resultaten eenvoudig in de databank van de transfusiediensten geïntegreerd kunnen worden (Müller et al., 2008).

Naast de conventionele (meten van pH en Gramkleuring) of indirecte benaderingen worden de verschillende beschikbare methoden ingedeeld in twee categorieën: de kweekmethoden en de zogenaamde snelle methoden.

- De kweekmethoden nemen enige tijd in beslag voordat een signaal wordt opgewekt, omdat ze afhangen van de groei van de bacteriën. Ze moeten dus op een vroeg afgenomen staal worden uitgevoerd (een dag na de donatie). Hun voordeel ligt in het feit dat ze relatief eenvoudig in de logistiek van de bloedtransfusie-instellingen geïmplementeerd kunnen worden. De na de donatie aanvankelijk zeer lage besmettingsgraad zorgt er echter voor dat de toepassing van deze strategie een aantal "steekproeffouten" (valse negatieven) voortbrengt.

- Met de snelle methoden kan binnen een korte tijdsspanne een resultaat verkregen worden, waardoor het mogelijk wordt de staalname uit te stellen. Een late staalname (na eventuele proliferatie van bacteriën) gecombineerd met een sneltest maakt het mogelijk de transfusie van sterk besmette componenten die tot een septische shock of zelfs het overlijden van de patiënt zou leiden, te vermijden. Deze procedures brengen wel logistieke problemen met zich mee. De meestal veel hogere detectiedrempel dan met de kweekmethode zou verantwoordelijk kunnen zijn van bijkomende valse negatieven in geval van kiemen met septikemisch potentieel.

De verschillende benaderingen worden hieronder beschreven.

#### 3.2.2.1. De indirecte tests en het conventioneel opsporen door Gramkleuring

##### 1) De indirecte tests

De tests bestaan uit het bepalen van de pH-waarde en het glucosegehalte in het bloedplaatjesconcentraat, doorgaans door het gebruik van strips. Deze indirecte tests hebben een hoge detectielimiet in de orde van  $10^7$  tot  $10^8$  CFU/mL (Montag, 2008) en ze kunnen dus niet worden aanbevolen (Védy et al., 2009). Hun toepassing is echter zeer eenvoudig en zou de transfusie van sterk besmette componenten kunnen voorkomen.

##### 2) De Gramkleuring

Goed gekend in de wereld van de microbiologie, biedt deze methode een gevoeligheid van  $10^4$  à  $10^5$  CFU/mL bij toepassing op bloedplaatjesconcentraten. Er werd een verband tussen de resultaten van de Gramkleuring en de kwantitatieve schatting van bacteriën waargenomen (Yomtovian et al., 2006): de Gramkleuring was positief in 90 % van de gevallen (19 op 21)

wanneer de telling meer dan  $10^5$  CFU/mL was en negatief in 94 % van de gevallen (17 op 18) wanneer de telling minder dan  $10^5$  CFU/mL was. De test moet echter onmiddellijk vóór de transfusie worden uitgevoerd, waardoor zijn invoering moeilijk uit te voeren wordt in de gangbare praktijk van de transfusiediensten.

### 3.2.2.2. De kweekmethoden

Momenteel zijn de kweekmethoden de meest gevoelige technieken voor het opsporen van bacteriën. Twee methoden worden op de markt gebracht en zijn in de transfusiediensten toepasbaar:

- 1) De *BacT/ALERT*<sup>®</sup>-methode (bioMérieux) is een geautomatiseerde colorimetrische kweektest die werkt op basis van detectie van koolstofdioxide, dat door de groeiende micro-organismen geproduceerd wordt. Met deze methode kunnen zowel aërobe als anaërobe bacteriën, gisten en schimmels opgespoord worden. Het op kweek zetten gebeurt 24 uur na de afname. De flessen worden gedurende 5 tot 7 dagen voortdurend geanalyseerd. Voor exogene besmettingstests was de groeimidaan vóór het opsporen van een positief signaal 9,3 tot 18,9 uur voor een lading van 10 CFU/mL, of 8,7 tot 18,2 voor een lading van 100 CFU/mL (Te Boekhorst et al., 2005). Bij het systematisch op kweek zetten van bloedplaatjesconcentraten werd voor een bevestigde besmetting met aërobe kiemen een mediaan interval van 0,7 dagen vastgesteld, terwijl het voor een besmetting met anaërobe kiemen 3,7 dagen bedroeg (Schrezenmeier et al., 2007). De gevoeligheid van de methode is 1 tot 10 CFU/mL. Wat de specificiteit, betreft wordt het aantal vals positieven vastgesteld tussen 1 op 400 (Schmidt et al., 2007) en bijna 1 op 3.000 (Eder et al., 2007);
- 2) De *eBDS*-methode (Pall Corporation) berust op het meten van het zuurstofverbruik van de bacteriën in het medium. Het op kweek zetten gebeurt ook 24 uur na de afname. De gevoeligheid van de methode is 1 tot 10 CFU/mL. De vertraging voor detectie bedraagt 8 tot 17 uur. De specificiteit is 100 %. Aan de methode is echter een belangrijke beperking verbonden: anaërobe bacteriën kunnen niet opgespoord worden, ook al worden anaërobe kiemen zelden met een dodelijke infectie na transfusie van bloedplaatjes geassocieerd (Jacobs et al., 2008). Het aantal vals positieven is zeer laag (1 op 3.000) (Schmidt et al., 2007).

Montag et al. (2010) hebben recent een pilotstudie met het *Milliflex*<sup>®</sup> *Rapid Microbiology Detection System* (Millipore) op celculturen uitgevoerd. Deze methode verhoogt de opsporing van het adenosine-trifosfaat afkomstig van de levende bacteriën na kweek van de staal die door een bacterietegenhoudend filter gezeefd werd. De toepasbaarheid op bloedplaatjesconcentraten moet worden onderzocht.

Ondanks deze resultaten, kunnen deze tests de transfusie van alle besmette componenten niet voorkomen en dit om de volgende twee redenen (Benjamin et al., 2007):

- de bacteriën zijn aanwezig in het in de kweekflessen geïnoculeerd staal, maar het product werd reeds getransfuseerd voordat het signaal positief werd (vertraagd echt positief);
- het geïnoculeerd staal bevat geen levensvatbare bacteriën (vals negatief).

Het vaststellen van lage concentratie aan bacteriën op het moment van de staalname kan worden toegeschreven aan verschillende oorzaken:

1° aanvankelijke besmetting door kleine aantallen levensvatbare bacteriën: bij tests inzake exogene besmetting van bloedplaatjesconcentraten door bacteriën heeft men kunnen aantonen dat bacteriële concentraties lager dan 5 CFU/mL leiden tot een kweek waarvan het resultaat onbepaald of zelfs negatief was (Nussbaumer et al., 2007);

2° inactivatie van een deel van de bacteriën door de antibacteriële factoren in het bloed (bacteriedodende werking);

3° langere latentiefase voor de bacteriegroei;

4° bacteriesoort die zich langzaam vermenigvuldigt onder aërobe bewaaromstandigheden van bloedplaatjes;

5° verlengde verdubbelingstijd ("vensterperiode"). Daarom moet het staal voor bacteriële kweek na enige tijd worden afgenomen, omdat het anders geen enkele bacterie zou kunnen bevatten (wet van Poisson) en zou leiden tot een vals negatief resultaat (Montag, 2008). Dit interval is niet altijd voldoende omdat de latentiefase (*lag phase*) voor sommige bacteriën langer kan zijn.

Fysiologische factoren kunnen ook een rol spelen, zoals de adhesie van bacteriën aan de eiwithoudende biofilm aan de binnenkant van de bewaarzakjes van bloedplaatjes of het vrijkomen van levensvatbare bacteriën na cytolyse van leukocyten tijdens de bewaring.

Het aantal vals negatieve resultaten werd in een Nederlandse studie op 1 op 14.000 geschat (Te Boekhorst et al., 2005) en op 1 op 50.000 door het Amerikaanse Rode Kruis (Eder et al., 2009) en het Paul-Ehrlich Instituut (Burkhardt et al., 2005). Als het bloedplaatjesconcentraat systematisch op dag 7 opnieuw op kweek wordt gezet, kan geschat worden dat het risico van vals negatieven voor het op kweek zetten op dag 1 1 op 500 bedraagt (Larsen et al., 2005). Om het risico van vals negatieven te verlagen werd voorgesteld om het volume van de op kweek gezette bloedplaatjesconcentraten te verdubbelen, waardoor de gevoeligheid van de test met 54 % stijgt (Eder et al., 2009). Hoewel het gebruik van een groter volume de gevoeligheid van het opsporen verhoogt, vermindert dit echter de einddosis van het beschikbare product voor transfusie (Nussbaumer et al., 2007). In de praktijk moet er dus een compromis worden gevonden tussen beide beperkingen.

Bij het gebruik van een kweekmethode worden de bloedplaatjesconcentraten afgeleverd volgens het *negative-to-date* principe maar de kweek blijft bewaard tot na de houdbaarheidsdatum van het concentraat. Als er een positief signaal wordt geregistreerd nadat de component werd afgeleverd dan wordt een terugroepprocedure van het bloedproduct opgestart (als de component nog niet getransfuseerd werd) of wordt de patiënt onder toezicht geplaatst (als de transfusie al heeft plaatsgevonden). In de Nederlandse studie (Te Boekhorst et al., 2005; De Korte et al., 2006) ging het in 74 % van de kweken die na een termijn van ten minste 48 uur incubatietijd positief werden om producten die al getransfuseerd waren. Er werd geen enkele klinische transfusiële reactie gemeld. Dit betekent vermoedelijk dat de bacteriële lading zeer laag was of dat het agens verantwoordelijk voor de besmetting een beperkte pathogeniciteit had.

Er kan geconcludeerd worden dat het testen van bloedplaatjesconcentraten door bacteriële kweek de transfusie van een significant aantal besmette bloedplaatjesconcentraten kan voorkomen. Het probleem van vals positieven waardoor conforme bloedcomponenten weggegooid worden en dat van vals negatieven die tot transfusionele sepsis kunnen leiden blijft echter bestaan.

### 3.2.2.3. Snelle methoden

De snelle of TOI (*Time-Of-Issue*) methoden bieden het voordeel informatie in *real time* te verstrekken, net voor de verdeling van het bloedplaatjesconcentraat. Een TOI-test moet snel en eenvoudig zijn, zodat hij meerdere keren per dag kan uitgevoerd worden, naargelang de omvang van de transfusiedienst. De test moet voldoende gevoelig zijn om de aflevering van besmette producten te vermijden en een hoge specificiteit hebben om te vermijden dat niet-besmette producten weggegooid worden (Palavecino et al., 2006; Yazer et al., 2010). Bovendien zou hun detectielimiet laag genoeg moeten zijn om bacteriën met een sterk septikemisch potentieel op te sporen.

Op dit ogenblik zijn al deze methoden nog in ontwikkeling (Palavecino et al., 2010).

### 1) Studie van nucleïnezuren (NAT)

Deze techniek uit de moleculaire biologie berust op het opsporen van consensussequenties voor ribosomaal RNA van bacteriën. DNA- of RNA-tests hebben een gevoeligheid van  $10^3$  tot  $10^5$  CFU/mL, die kan afnemen tot  $10^1$  tot  $10^2$  CFU/mL bij gebruik van *real time* PCR (Montag, 2008; Müller et al., 2008; Rood et al., 2010). Rood et al. (2010) stellen bovendien vast dat de gevoeligheid t.o.v. Grampositieve bacteriën minder goed is dan voor Gramnegatieven. Momenteel geven de tests resultaat in 4 uur, wat relatief lang is voor een sneltest. Aan deze techniek zijn bovendien meerdere beperkingen verbonden: hoge kosten, complex gebruik en van groter belang, de beschikbaarheid van amplificatiereagentia. Bovendien is een van de belangrijkste praktische problemen het risico van besmetting van de test met DNA of RNA van exogene bacteriën vervat in de amplificatiereagentia, in het bijzonder in bacteriële enzymen, en met de sequenties van bacterieel DNA dat vaak in menselijk bloed wordt aangetroffen (risico op fout positieven). Voorts kan het opsporen van kleine hoeveelheden bacterieel DNA te midden van grote hoeveelheden menselijk DNA problematisch zijn (Védy et al., 2009). Het grootste nadeel is echter dat er gelijktijdig dode bacteriën die mogelijk geen klinische betekenis hebben, worden opgespoord (risico op fout positieven). Het werd nog niet aangetoond dat deze methode in de context van het opsporen van bacteriën in bloedplaatjesconcentraten kan toegepast worden.

### 2) Vaste fase cytometrie

Deze techniek die oorspronkelijk ontwikkeld werd voor de steriliteitscontroles in de farmaceutische industrie, berust op het fluorescent merken van bacteriële nucleïnezuren gevolgd door een detectie door laserscanning. Om deze techniek op bloedplaatjesconcentraten toe te passen, moeten de bloedplaatjes eerst verwijderd worden om interferenties te vermijden; hierdoor bestaat het gevaar dat ook een deel van de levensvatbare bacteriën verloren gaat. Ondanks een goede gevoeligheid, van  $10^1$  tot  $10^2$  CFU/mL naargelang de stam, en een snel resultaat na 70 tot 90 minuten (Ribault et al., 2004) werd de productie van een dergelijk systeem onderbroken omdat de techniek routinematig moeilijk toe te passen is in de transfusie (Montag, 2008).

### 3) Flowcytometrie

Hoewel deze techniek iets minder gevoelig is dan de bacteriële kweekmethoden — detectielimiet van 150 CFU/mL voor het systeem *BactiFlow*<sup>®</sup> (AES Chemunex) (Dreier et al., 2009) — biedt ze het voordeel net voor de aflevering te kunnen worden toegepast, aangezien het resultaat in minder dan een uur verkregen wordt. Een fluorochroom dringt door het membraan van levende bacteriën en wordt door cellulaire esterasen gesplitst waardoor een fluorescent signaal ontstaat dat het mogelijk maakt al dan niet levende bacteriën te onderscheiden. De correlatie met de traditionele tellingen op platen is uitstekend. De flowcytometrie kan als kwantitatieve methode gebruikt worden met *beads* als interne standaard (Karo et al., 2008). De beperking van haar routinematig gebruik houdt verband met de beschikbaarheid van een flowcytometer in de bloedtransfusie-instelling en/of de ziekenhuisbloedbank. Recent heeft het *BactiFlow*-systeem zijn doeltreffendheid in routinematig gebruik aangetoond (Vollmer et al., 2011). Het aantal vals positieve (d.w.z. 1,7 %) is vergelijkbaar met dat van de bacteriële kweekmethoden.

### 4) Kwalitatieve immunoassay

Deze onlangs op de markt gebrachte test (*Platelet Pan Genera Detection*<sup>®</sup>, Verax Biomedical) berust op een immunodiffusietechniek die gebruik maakt van antistoffen tegen lipopolysacchariden voor het opsporen van Gramnegatieve bacteriën en antistoffen tegen lipoteïchoïnezuur voor het opsporen van Grampositieve bacteriën. Schimmels en gisten kunnen met de techniek niet opgespoord worden. Hij is eenvoudig uit te voeren en geeft binnen de 90 minuten het definitieve resultaat. De specificiteit is 99,85 %; de positief voorspellende waarde werd echter op 14,3 % geschat (Yazer et al., 2010). De gemelde gevoeligheid bedraagt  $10^4$  tot



$10^6$  CFU/mL naargelang de bacteriële stam in kwestie: dit betekent dus dat met deze test enkel zeer hoge concentraties van bacteriën opgespoord kunnen worden (Benjamin, 2010). De gevoeligheid daalt voor sommige Gramnegatieve bacteriën echter tot  $10^7$  CFU/mL (Vollmer et al., 2010): welnu, hoewel bij besmettingen van bloedplaatjesconcentraten meestal Grampositieve bacteriën werden aangetoond, zijn het de Gramnegatieve bacteriën die verantwoordelijk zijn voor de meeste dodelijke gevallen (Jacobs et al., 2008). Vollmer et al. (2010) wijzen verder op de huidige moeilijkheid om een duidelijk detectiesignaal te bekomen. Een verhoging van de gevoeligheid lijkt dus noodzakelijk om de transfusie van met Gramnegatieve bacteriën besmette bloedplaatjes te vermijden. Een ander nadeel van de test is de gelijktijdige detectie van dode bacteriën zonder klinische betekenis. Deze methode werd door de bevoegde Amerikaanse en Europese instanties toegelaten als een opsporingsaanpak ter aanvulling van een kweekmethode.

Tabel 1 toont een samenvattende vergelijking van de verschillende momenteel op de markt beschikbare methoden die in de bloedtransfusie-instellingen toepasbaar zijn.

**Tabel 1.** Vergelijking van de verschillende bacteriële opsporingsmethoden (uit Dreier et al., 2009).

	Bacteriële kweekmethoden	NAT	BactiFlow®	“klassieke” Flow-cytometrie	Kwalitatieve immunoassay (Platelet PGD®)
<b>Opsporingsprincipe</b>	Daling van de pH	Amplificatie van nucleïnezuren	Doorstroomcytometrie	Doorstroomcytometrie	Immunodiffusie
<b>Doel</b>	Productie van CO <sub>2</sub>	Bacteriële nucleïnezuren	Esterasenactiviteit	Bacteriële nucleïnezuren	Lipopolysacchariden en lipoteïchoïnezuur
<b>Opsporingslimiet (CFU/mL)<sup>1</sup></b>	1 - 10	20 - 30	150	10 <sup>3</sup> - 10 <sup>5</sup>	> 8,2 x 10 <sup>3</sup>
<b>Tijd tot resultaat</b>	> 4 uur (afhankelijk van de bacteriële lading)	4 uur <sup>2</sup>	45 tot 60 minuten <sup>3</sup>	30 minuten	90 minuten <sup>4</sup>
<b>Eenvoud van uitvoering</b>	+++	+	++	++	+++ <sup>4</sup>
<b>Opleidingsniveau van het personeel</b>	Middelmatig (werk in steriele omstandigheden)	Hoog	Laag	Laag	Zeer laag
<b>Opleidingsduur van het personeel</b>	< 1 dag	2 weken	2 dagen	2 dagen	< 1 dag
<b>Technisch materiaal</b>	Automatische incubator – detector	Extractiesysteem; thermocycler in <i>real time</i>	Cytometer; centrifuge; incubator	Cytometer; centrifuge; incubator	Centrifuge

<sup>1</sup> Er dient opgemerkt te worden dat een opsporingsmethode met een gevoeligheidsdrempel van 10<sup>3</sup> CFU/mL 90 % van de besmette gevallen kan opsporen (Jacobs et al., 2008).

<sup>2</sup> Door de automatisering kunnen ongeveer 90 stalen tegelijk geïncubeerd worden; in een Belgisch ziekenhuis beantwoordt het parallel testen van een dergelijk aantal stalen echter niet aan de werkelijkheid.

<sup>3</sup> Met de cytometer kunnen 12 stalen parallel geanalyseerd worden.

<sup>4</sup> De voorbereiding bestaat uit meerdere eenvoudige noodzakelijke stappen om het staal klaar te maken voor immunodiffusie. De 90 minuten bestaan uit 30 minuten voor de voorbereiding en 60 minuten voor het uitsluiten van een vals positief signaal (T. Vollmer, *pers. mededeling*).

## 5) Spectrometrische methode

Het betreft een zeer recent beschreven spectrometrische methode, waarbij gebruik gemaakt wordt van de directe vergelijking van de lichtspectra (met name licht dicht bij infrarood, golflengtes tussen 700 en 1.100 nm). De enige momenteel beschikbare gegevens komen uit een studie van de exogene besmetting van bloedplaatjesconcentraten met *Bacillus cereus* en *Staphylococcus epidermidis* (Saranwong et al., 2010). Een positief resultaat wordt respectievelijk 42 en 54 uur na inoculatie verkregen. De voordelen van deze test zijn interessant: een resultaat binnen enkele seconden, geen staal van de bloedcomponent nodig, een gevoeligheid van respectievelijk 100 en 98 % voor de twee bestudeerde stammen. Deze resultaten moeten echter nog bevestigd worden.

Een andere spectrometrische methode is de opsporingstest van peptidoglycanen ontworpen door Kovalenco & Levin (2010) waarvan het gebruiksprincipe door Palavecino et al. (2010) vermeld wordt.

## 6) Andere recente innovatieve aanpakken

Motoyama et al. (2008) hebben een methode voor de telling van levende bacteriën (gekleurd door een fluorescente indicator van esterassenactiviteit) via een *bio-imaging* systeem voorgesteld met een gevoeligheid van 20 CFU/mL en een resultaat binnen de 45 minuten.

Palavecino et al. (2010) hebben ook geprobeerd enkele potentiële nieuwe technieken te beoordelen zoals:

- biosensors voor bacteriesporen (Rotman & Cote, 2003);
- microcalorimetrie (Trampuz et al., 2007);
- opsporen van de fysiologische respons van bacteriën op stress (Rieder & Zavizion, 2008).

Op dit ogenblik werd de bruikbaarheid van de dielectroforetische methoden in de praktijk (Brecher & Hay, 2005; Cheung et al., 2010) nog niet bevestigd.

Al deze innoverende aanpakken moeten nog verbeterd worden om routinematig gebruikt te kunnen worden (Rieder et al., *in press*) en moeten door andere onderzoekers beoordeeld worden.

Er dient opgemerkt te worden dat het gebruik van gestandaardiseerde panels van bacteriën die voor de transfusiegeneeskunde relevant zijn (Montag et al., 2010) aanzienlijk zou kunnen bijdragen tot geldige vergelijkingen tussen laboratoria en methoden, met inbegrip van de beoordeling van nieuwe technologieën voor het opsporen en reduceren van bacteriën in bloedcomponenten.

Kortom als men zich een ideale snelle methode voorstelt met een gevoeligheid van 1 CFU/mL kan bij een negatief resultaat enkel aangetoond worden dat het geteste staal steriel is. Als men dit op een bloedplaatjesconcentraat met een gemiddeld volume van 300 mL toepast, kan men enkel voorspellen dat de bereiding minder dan 300 CFU bevat. Deze berekening moet echter gevalideerd worden, want de bacteriën verspreiden zich niet op een homogene manier in een vloeistof, maar volgens de wet van Poisson, waardoor er een late steekproeffout kan optreden (*late sampling error*).

Deze snelle methoden hebben toch een onbetwistbaar voordeel, namelijk dat de transfusie van sterk besmette bloedcomponenten vermeden wordt. Zelfs als niet alle besmettingen en blootstellingen aan endotoxines kunnen vermeden worden, kan toch verwacht worden dat de klinische gevolgen minder erg zijn. Hun detectiedrempel ligt echter dikwijls hoger dan de methoden gebaseerd op kweek om lage niveaus van besmetting door potentieel septikemische bacteriën op te sporen.

### 3.2.3. Voorzorgsmaatregelen

Onafhankelijk van de op de producten toepasbare opsporingstesten wenden de bloedtransfusie-instellingen verschillende middelen aan om de bacteriële besmetting van bloedcomponenten te voorkomen (Montag, 2008; Wood, 2010):

- 1) een strenge donorselectie: deze omvat een medisch onderzoek vóór de donatie met uitsluiting van donoren die een risico vormen voor het overbrengen van infectieziekten en opvolging van postdonatiegegevens;
- 2) een selectie van de punctieplaats waarbij littekenzones vermeden worden;
- 3) een doeltreffende ontsmetting van de huid met daartoe geschikte oplossingen en naleving van een strenge procedure tot aan het einde van de donatie met gebruik van materiaal in een gesloten systeem;

- 4) het verwerpen van de eerste milliliters opgevangen bloed, waardoor 95 tot 98 % van de oppervlaktebacteriën verwijderd worden (afleiding): dit bloedstaal wordt gebruikt voor de kwalificatietests van de donatie. Door deze maatregel daalt de bacteriële besmettingsgraad van bloedcomponenten met 46 % (Eder et al., 2009) en het percentage septische reacties en mortaliteit ten gevolge van bacteriële infectie met 66 % (Benjamin, 2010). Er dient echter te worden opgemerkt dat deze maatregel enkel voordelen biedt ten opzichte van bacteriën van de huidflora (Yomtovian et al., 2007);
- 5) het gebruik van aferese procedures om het aantal “donorcontacten” per getransfundeerde patiënt te beperken;
- 6) de voorzorgsmaatregelen tijdens de bewerking en de bewaring van componenten met inbegrip van de controle van de integriteit van de zakjes en de eventuele steriele verbindingen en het naleven van de opslagtemperatuur in de transfusie-instelling en het ziekenhuis;
- 7) het toezicht van de omgeving.

Als al deze voorzorgsmaatregelen worden toegepast en de hygiënische omstandigheden in de bloedtransfusie-instelling worden nageleefd is het aantal van de potentieel aanwezige bacteriën aanvankelijk zeer laag. In het algemeen wordt aangenomen dat bij een besmetting vóór de donatie het bloedcomponent slechts 10 tot 100 bacteriën bevat, dit betekent voor bloedplaatjesconcentraten met een volume van ongeveer 300 mL, 0,03 tot 0,3 CFU/mL.

Vanuit klinisch oogpunt kunnen de volgende voorzorgsmaatregelen worden toegevoegd:

- 8) de bevordering van een op klinische bewijzen steunende transfusiepraktijk;
- 9) het zoveel mogelijk beperken van de bewaartijd van bloedplaatjes, omdat het geweten is dat de bacteriële groei met de tijd toeneemt. De bloedplaatjeseenheden die sinds meer dan 4 dagen werden afgenomen vertonen een verhoogd risico van hoge gehalten aan bacteriën en dus van septische complicatie (Védy et al., 2009).

### 3.2.4. Pathogeenreductietechnieken

Het risico van bacteriële besmetting van bloedplaatjesconcentraten werd uiteindelijk op een zeer doeltreffende manier beheerst door het invoeren van de pathogeenreductietechniek (Cazenave, 2007). Het is namelijk de enige strategie die de belangrijkste risico's van klinisch significante bacteriële overdracht door bloedcomponenten kan opheffen (Müller et al., 2008; Webert et al., 2008; Goodrich et al., 2009).

Deze technieken kunnen bepaalde functies van de bloedplaatjes beschadigen (van der Meer et al., 2010) en hun recuperatie in bloed wordt verlaagd (Mc Cullough et al., 2004; Snyder et al., 2005; The Mirasol Clinical Evaluation Study Group, 2010). Hun klinische doeltreffendheid is lager in de studie van Kerkhoffs et al. (2010) en dit laatste punt wordt op dit ogenblik in andere studies opnieuw beoordeeld. Er ontbreken nog steeds gegevens met betrekking tot hun doeltreffendheid en veiligheid bij zwangere vrouwen, zoals ook met betrekking tot hun toediening aan patiënten met splenomegalie of met actieve bloeding.

De voordelen van de pathogeenreductiemethoden ten opzichte van het opsporen van bacteriën zijn al eerder door de HGR geïnventariseerd (HGR, 2008).

Goodrich et al. (2006) hebben vastgesteld dat de efficiëntie van een fotochemische pathogeenreductietechniek niet voldoende is om bloedplaatjesconcentraten tegen in lage hoeveelheid (100 CFU/concentraat) aanwezige bacteriën volledig te beveiligen. Dit werd recent bevestigd door Störmer et al. (2010) aan de hand van het gestandaardiseerd panel van bacteriën. De efficiëntie van een andere fotochemische pathogeenreductietechniek om bacteriële besmetting van bloedplaatjesconcentraten te beheersen werd nog niet aangetoond (Brecher et al., 2007 gebruiken 10-100 CFU/mL).

### 3.3. Bespreking

**Vraag 1.** Kan het opsporen van bacteriële besmetting van bloedplaatjesconcentraten de transfusieveiligheid verhogen?

Hoewel het antwoord duidelijk ja is, moet dit door het antwoord op vraag 3 genuanceerd worden.

De volgende vragen blijven open (Benjamin, 2010):

- Bereiken de bacteriën een klinisch significant niveau na een bewaarduur van 5 dagen?
- Zijn de bij de besmettingen betrokken bacteriesoorten klinisch gevaarlijk?

Het opsporen van bacteriële besmetting is in ons land trouwens sinds meerdere jaren verplicht wanneer de bloedplaatjesconcentraten gedurende zeven dagen bewaard worden, behalve als ze een pathogeenreductiemethode ondergaan (artikel 9, punt 2 van het koninklijk besluit van 1 februari 2005 tot wijziging van het koninklijk besluit van 4 april 1996 betreffende de afneming, de bereiding, de bewaring en de terhandstelling van bloed en bloedderivaten van menselijke oorsprong).

**Vraag 2.** Hoe kan het opsporen van bacteriën in ons land toegepast worden?

Zoals hierboven uiteengezet zijn er theoretisch twee aanpakken mogelijk: een trage methode door bacteriekweek of een sneltest vlak voor aflevering of transfusie.

Rekening houdend met alle verschillende aspecten, met inbegrip van de bevoorrading voor de patiënten, is de potentiële verbetering van de microbiële veiligheid van bloedplaatjesconcentraten voor beide strategieën vergelijkbaar (Montag, 2008). Elke strategie heeft zijn voor- en nadelen: de winst van beide is vergelijkbaar, wat betekent dat ze gelijkwaardig kunnen gebruikt worden (met uitzondering van methoden met geringe gevoeligheid).

Toch moet worden opgemerkt dat in het specifieke geval van moleculaire methoden, meerdere van deze methoden als nadeel hebben dat ze dode bacteriën kunnen detecteren die in deze context geen klinische betekenis hebben.

Als de Belgische transfusie-instellingen de gewoonte hebben de kweekmethode te gebruiken (Bosly et al., 2007) zal het invoeren van sneltests echter moeilijk op te lossen logistieke problemen veroorzaken, waaronder het aanzienlijke aantal vals positieve, onbepaalde en niet-bevestigde resultaten (Wood, 2010), de praktische organisatie, de bevoorradingsproblemen en de verdeling van de verantwoordelijkheden tussen de bloedtransfusie-instelling en de verzorgingsinstelling.

**Vraag 3.** Wat zijn de voor- en nadelen van het opsporen van bacteriële besmetting ten opzichte van de pathogeenreductietechnieken?

De huidige gepubliceerde gegevens suggereren dat de bacteriële opsporing via de beschikbare methoden een vals gevoel van veiligheid kan scheppen. Het is namelijk bekend dat de aanpak via het opsporen, ongeacht de gekozen methode, een efficiëntie vertoont die afneemt naarmate de bacteriële besmettingsgraad daalt. Daarentegen is de pathogeenreductie des te efficiënter hoe lager de besmettingsgraad (Goodrich et al., 2009; Rood et al., 2011).

Men mag bovendien niet uit het oog verliezen dat, om een werkelijk voordeel te betekenen voor de patiënt, de combinatie van de ingevoerde procedures om besmette bloedcomponenten te beperken ook vergezeld moet gaan van inspanningen voor het bevorderen van een beter aangepaste op bewijzen steunende klinische praktijk, met als doel een betere identificatie en beheer van transfusionele sepsis, alsook de rapportering van transfusiereacties om een werkelijk voordeel aan de patiënt te verstrekken (Wood, 2010).

Kortom, hoewel betere criteria voor donorselectie toegepast worden en de gebruikte opsporingstests een duidelijke verlaging van de risico's van infectieoverdracht door transfusie, onder andere de bacteriële besmetting, toelaten toch kan een pathogeen agens omwille van verschillende redenen nog aan de opsporing ontsnappen en zo de ontvanger besmetten. De vensterperiode, de onvoldoende gevoeligheid van sommige tests en het opduiken van nieuwe pathogene agentia zijn de belangrijkste voorbeelden. In geval van opkomst van een nieuw pathogeen agens moet uiteraard de reductiegraad worden nagekeken. De pathogeenreductie toegepast op bloedcomponenten kan een oplossing bieden voor deze drie aandachtspunten, zoals dit al voor plasma-afgeleide geneesmiddelen gebeurt (Stramer et al., 2009; AuBuchon, 2010). De gebruikte technieken veroorzaken nochtans een metabole verslechtering van de bloedplaatjes waarvan de gevolgen nog onvoldoende gekend zijn. Deze zullen in het licht van nieuwe beschikbare publicaties opnieuw geëvalueerd worden.

#### 4. REFERENTIES

- AFSSAPS. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Rapport annuel Hémovigilance 2009. Saint-Denis: AFSSAPS; 2010.
- AuBuchon JP. Current status of pathogen inactivation methods. ISBT Science Series 2010;5:125-33.
- Benjamin RJ, Wagner SJ. The residual risk of sepsis: modelling the effect of concentration on bacterial detection in two-bottle culture system and an estimation of false negative culture rates. Transfusion 2007;47:1381-9.
- Benjamin RJ. Bacterial contamination of platelets: Clinical significant levels of bacteria detected despite culture screening during platelet manufacture. ISBT Berlin: presentation at Fenwal satellite meeting; 2010.
- Bosly A, Muylle L, Noens L, Pietersz R, Heim D, Hübner R, et al. Guidelines for the transfusion of platelets. Acta Clinica Belgica 2007;62:36-47.
- Brecher ME, Hay SN. Bacterial contamination of blood components. Clin Microbiol Rev 2005;18:195-204.
- Burkhardt J, Wittmann G, Howe J, Michel P, Schramm W, Weinauer F. Klebsiella pneumoniae in platelet concentrates - a case report [abstract]. Transf Med Hemother 2005;32(Suppl 1):64.
- Cazenave JP. Les bactéries: je dépiste ou j'inactive ? Transfusion Clinique et Biologique 2007;14:81-5.
- Cheung KC, Di Berardino M, Schade-Kampmann G, Hebeisen M, Pierzchalski A, Bocsi J, et al. Microfluidic impedance-based flow cytometry. Cytometry A. 2010;77:648-66.
- De Korte D, Curvers J, de Kort WL, Hoekstra T, van der Poel CL, Beckers EA, et al. Effects of skin disinfection method, deviation bag, and bacterial screening on clinical safety of platelet transfusions in the Netherlands. Transfusion 2006;46:476-85.
- Dreier J, Vollmer T, Kleesiek K. Novel flow cytometry-based screening for bacterial contamination of donor platelet preparations compared with other rapid screening methods. Clin Chem 2009;55:1492-502.
- Eder AF, Kennedy JM, Dy BA, Notary EP, Weiss JW, Fang CT, et al. Bacterial screening of apheresis platelets and the residual risk of septic transfusion reactions: the American Red Cross experience (2004-2006). Transfusion 2007;47:1134-42.
- Eder AF, Kennedy JM, Dy BA, Notary EP, Skeate R, Bachowski G, et al. Limiting and detecting bacterial contamination of apheresis platelets: inlet-line diversion and increased culture volume improve component safety. Transfusion 2009;49:1554-63.
- EFS. Établissement Français du Sang. Rapport d'activité 2008. Paris: EFS; 2009.
- FAGG. Federaal Agentschap voor Geneesmiddelen en Gezondheidsproducten. Hemovigilantie in België. Jaarverslag 2006. Brussel: FAGG; 2007.
- FAGG. Federaal Agentschap voor Geneesmiddelen en Gezondheidsproducten. Hemovigilantie in België. Jaarverslag 2007. Brussel: FAGG; 2008.
- FAGG. Federaal Agentschap voor Geneesmiddelen en Gezondheidsproducten. Hemovigilantie in België. Jaarverslag 2008. Brussel: FAGG; 2010.

- Goodrich RP, Edrich RA, Goodrich LL, Scott CA, Manica KJ, Hlavinka DJ, et al. The Antiviral and Antibacterial Properties of Riboflavin and Light: Applications To Blood Safety and Transfusion Medicine. Chapter 5. In: Silva E, Edwards AM, editors. Flavins. Photochemistry and Photobiology. Cambridge: RSC Publishing; 2006. p. 83-113.
- Goodrich RP, Gilmour D, Hovenga N, Keil SD. A laboratory comparison of pathogen reduction technology treatment and culture of platelet products for addressing bacterial contamination concerns. *Transfusion* 2009;49:1205-16.
- Heltberg O, Skov F, Gerner-Smidt P, Kolmos HJ, Dybkjaer E, Gutschik E, et al. Nosocomial epidemic of *Serratia marcescens* septicaemia ascribed to contaminated blood transfusion bags. *Transfusion* 1993;33:221-7.
- HGR. Hoge Gezondheidsraad. Indicatierichtlijn voor de toediening van bloedplaatjes. Advies nr. 8068. Brussel: HGR; 2005.
- HGR. Hoge Gezondheidsraad. Pathogeenreductie van bloedplaatjesconcentraten. Advies nr. 8390. Brussel: HGR; 2008.
- Hogman CF, Fritz H, Sandberg L. Post-transfusion *Serratia marcescens* septicemia. *Transfusion* 1993;33:189-91.
- Jacobs MR, Good CE, Lazarus HM, Yomtovian RA. Relationship between bacterial load, species virulence, and transfusion reaction with transfusion of bacterially contaminated platelets. *Clin Infect Dis* 2008;46:1214-20.
- Karo O, Wahl A, Nicol SB, Brachert J, Lambrecht B, Spengler HP, et al. Bacteria detection by flow Cytometry. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:947-53.
- Kerkhoffs JL, van Putten WL, Novotny VM, Te Boekhorst PA, Schipperus MR, Zwaginga JJ, et al. Clinical effectiveness of leucoreduced, pooled donor platelet concentrates, stored in plasma or additive solution with and without pathogen reduction. *Br J Haematol* 2010;150:209-17.
- Kovalenko V, Levin AE, inventors; Immunetics, Inc., assignee. Rapid peptidoglycan-based assay for detection of bacterial contamination. United States patent application 2010/0227353 A1. 2010 Sep 9.
- Larsen CP, Ezligini F, Hermansen NO, Kjeldsen-Kragh EJ. Six years' experience of using the BacT/ALERT system to screen all platelet concentrates, and additional testing of outdated platelet concentrates to estimate the frequency of false-negative results. *Vox Sang* 2005;88:93-7.
- McCullough T, Vesole DH, Benjamin RJ, et al. Therapeutic efficacy and safety of platelets treated with a photochemical process for pathogen inactivation: the SPRINT Trial. *Blood* 2004;104:1534-41.
- Montag T. Strategies of bacteria screening in cellular blood components. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:926-32.
- Montag-Lessing T, Stoermer M, Hanschmann K-M. Report on the International Validation Study on Bacteria Standards (Transfusion-Relevant Bacterial Strain Panel) and Proposal for a validation study for enlargement of the transfusion-relevant bacterial strain panel. Geneva:WHO-Expert Committee on Biological Standardization; 2010. WHO/BS/10.2154. [accessed 2011 February 23.] Available from: [http://www.who.int/biologicals/expert\\_committee/WHO\\_BS10.2154\\_Bacteria\\_Study\\_2.pdf](http://www.who.int/biologicals/expert_committee/WHO_BS10.2154_Bacteria_Study_2.pdf)
- Montag T, Störmer M, Schurig U, Brachert J, Bubenzer M, Sicker U, et al. Probleme der mikrobiellen Sicherheit bei neuartigen Therapien. *Die Quadratur des Kreises. Bundesgesundheitsbl* 2010;53:45-51.
- Morel P, Deschaseaux M, Bertrand X, Naegelen C, Talon D. Transfusion-transmitted bacterial infection: residual risk and perspectives of prevention. *Transfus Clin Biol* 2003;10:192-200.
- Motoyama Y, Yamaguchi N, Matsumoto M, Kagami N, Tani Y. Rapid and sensitive detection of viable bacteria in contaminated platelet concentrates using a newly developed bioimaging system. *Transfusion* 2008;48:2364-9.
- Müller TH, Mohr H, Montag T. Methods for the detection of bacterial contamination in blood products. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:933-46.
- Murphy WG, Foley M, Doherty C, Tierney G, Kinsella A, Salami A, et al. Screening platelet concentrates for bacterial contamination: low numbers of bacteria and slow growth in

- contaminated units mandate an alternative approach to produce safety. *Vox Sang* 2008;95:13-9.
- Nussbaumer W, Allersdorfer D, Grabmer C, Rheinschmidt M, Lin L, Schönitzer D, et al. Prevention of transfusion of platelet components contaminated with low levels of bacteria: a comparison of bacteria culture and pathogen inactivation methods. *Transfusion* 2007;47:1125-33.
  - Palavecino EL, Yomtovian RA, Jacobs MR. Detecting bacterial contamination in platelet products. *Clin Lab* 2006;52:443-56.
  - Palavecino EL, Yomtovian RA, Jacobs MR. Bacterial contamination of platelets. *Transf Apher Sci* 2010;42:71-82.
  - Prowse C. Zero tolerance. *Transfusion* 2007;47:1106-9.
  - Rao PL, Strausbaugh LJ, Liedtke LA, Srinivasan A, Kuehnert MJ. Bacterial infections associated with blood transfusion: experience and perspective of infectious diseases consultants. *Transfusion* 2007;47:1206-11.
  - Ribault S, Harper K, Grave L, Lafontaine C, Nannini P, Raimondo A, et al. Rapid screening method for detection of bacteria in platelet concentrates. *J Clin Microbiol* 2004;42:1903-8.
  - Rieder R, Zavizion B. Monitoring the physiologic stress response: a novel biophysical approach for the rapid detection of bacteria in platelet concentrates. *Transfusion* 2008;48:2596-605.
  - Rieder R, Zhao Z, Nittayajarn A, Zavizion B. Direct detection of the bacterial stress response in intact samples of platelets by differential impedance. *Transfusion* 2011;51:*in press*.
  - Rood IG, Pettersson A, Savelkoul PH, de Korte D. Development of a reverse transcription-polymerase chain reaction assay for eubacterial RNA detection in platelet concentrates. *Transfusion* 2010;50:1352-8.
  - Rood IGH, Pettersson A, Savelkoul PHM, de Korte D. Performance and suitability of polymerase chain reaction for early detection of bacteria in platelet concentrates. *Transfusion* 2011;51:*in press*.
  - Rotman B, Cote MA. Application of a real-time biosensor to detect bacteria in platelet concentrates. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;300:197-200.
  - Saranwong S, Ezuki S, Kawabata K, Kawano S, Ohto H. A noninvasive near infrared system for detection of platelet components contaminated with bacteria. *Transfusion* 2010;50:178-84.
  - Schmidt M, Karakassopoulos A, Burkhart J, Deitenbeck R, Asmus J, Müller TH, et al. Comparison of three bacterial detection methods under routine conditions. *Vox Sang* 2007;92:15-21.
  - Schrezenmeier H, Walther-Wenke G, Müller TH, Weinauer F, Younis A, Holland-Letz T, et al. Bacterial contamination of platelet concentrates: results of a prospective multicenter study comparing pooled whole blood-derived platelets and apheresis platelets. *Transfusion* 2007;47:644-52.
  - Snyder E, McCullough J, Slichter S, et al. Clinical safety of platelets photochemically treated with amotosalen HCl and ultraviolet A light for pathogen inactivation: the SPRINT trial. *Transfusion* 2005;45:1864-75.
  - Stramer SL, Hollinger FB, Katz LM, Kleinman S, Metzger PS, Gregory KR, et al. Emerging infectious disease agents and their potential threat to transfusion safety. *Transfusion* 2009;49(Suppl 2):1S-29S.
  - Störmer M, Brachert J, Gathof B, Goodrich R, Keil S, Marschner S, et al. Blood-Transfusion-Bacteria-Standards as a Tool for Development and Validation of Bacteria Screening Methods and Pathogen Reduction Technology in Platelet Concentrates [poster]. XXXI International Congress of the ISBT. Berlin, 26 June - 1 July 2010.
  - Taylor C (ed.), Cohen H, Mold D, Jones H, et al. on behalf of the Serious Hazards of Transfusion (SHOT) Steering Group: The 2009 Annual SHOT Report; 2010 [accessed 2010 October 4]. Available from: <http://www.shotuk.org/wp-content/uploads/2010/07/SHOT2009.pdf>
  - Te Boekhorst PA, Beckers EA, Vos MC, Vermeij H, van Rhenen DJ. Clinical significance of bacteriologic screening in platelet concentrates. *Transfusion* 2005;45:514-9.



- The Mirasol Clinical Evaluation Study Group. A randomized controlled clinical trial evaluating the performance and safety of platelets treated with MIRASOL pathogen reduction technology. *Transfusion* 2010;50:2362-75.
- Trampuz A, Salzmann S, Antheaume J, Daniels AU. Microcalorimetry: a novel method for detection of microbial contamination in platelet products. *Transfusion* 2007;47:1643-50.
- Traore AN, Delage G, McCombie N, Robillard P, Heddle NM, Hyson C, et al. Clinical and laboratory practices in investigation of suspected transfusion-transmitted bacterial infection: a survey of Canadian hospitals. *Vox Sang* 2009;96:157-9.
- van der Meer PF, Kerkhoffs J-L, Curvers J, Scharenberg J, de Korte D, Brand A, et al. In vitro comparison of platelet storage in plasma and in four platelet additive solutions, and the effect of pathogen reduction: a proposal for an in vitro rating system. *Vox Sang* 2010;98:517-24.
- Védy D, Robert D, Gasparini D, Canellini G, Waldvogel S, Tissot JD. Bacterial contamination of platelet concentrates: pathogen detection and inactivation methods. *Hematol Rev* 2009;1:e5[22-8].
- Vollmer T, Hinse D, Kleesiek K, Dreier J. The Pan Genera Detection Immunoassay: a Novel Point-of-Issue Method for Detection of Bacterial Contamination in Platelet Concentrates. *J Clin Microbiol* 2010;48:3475-81.
- Vollmer T, Engemann J, Kleesiek K, Dreier J. Bacterial screening by flow cytometry offers potential for extension of platelet storage: results of 14 months of active surveillance. *Transfusion Medicine* 2011;21:*in press*.
- Wagner SJ. Transfusion-transmitted bacterial infection: risks, sources and interventions. *Vox Sang* 2004;86:157-63.
- Walther-Wenke G, Doerner R, Montag T, Greiss O, Hornei B, Knels R, et al. Bacterial contamination of platelet concentrates prepared by different methods: results of standardised sterility testing in Germany. *Vox Sang* 2006;980:177-82.
- Webert KE, Csetri CM, Hannon J, Lin Y, Pavenski K, Pendergrast JM, et al. Proceedings of a consensus conference: pathogen inactivation - making decisions about new technologies. *Transfus Med Rev* 2008;22:1-34.
- Wood E. Blood safety: bacterial screening of blood products. *ISBT Science Series* 2010;5:46-51.
- Yazer MH, Stapor D, Triulzi DJ. Use of the RQI test for bacterial screening of whole blood platelets. *Am J Clin Pathol* 2010;133:564-8.
- Yomtovian RA, Palavecino EL, Dysktra AH, Downes KA, Morrissey AM, Bajaksouzian S, et al. Evolution of surveillance methods for detection of bacterial contamination of platelets in a university hospital, 1991 through 2004. *Transfusion* 2006;46:719-30.
- Yomtovian R, Tomasulo P, Jacobs MR. Platelet bacterial contamination: assessing progress and identifying quandaries in a rapidly evolving field. *Transfusion* 2007;47:1340-6.

## 5. SAMENSTELLING VAN DE WERKGROEP

Al de deskundigen hebben op persoonlijke titel aan de werkgroep deelgenomen. De namen van de deskundigen van de HGR worden met een asterisk \* aangeduid.

De volgende deskundigen hebben hun medewerking verleend bij het opstellen van het advies:

BENOIT Yves	pediatrische hemato-onkologie	UGent
DAUBE George*	microbiologie van de voeding	ULg
DENEYS Véronique*	transfusie	Service du Sang, Croix Rouge de Belgique; UCL
FERRANT Augustin*	klinische hematologie	UCL
LAMBERMONT Micheline*	transfusie	ULB; Service du Sang, Croix Rouge de Belgique
MATHYS Esther	bloed en bloedderivaten, virologie	WIV

MUYLLE Ludo*	bloed, weefsels en cellen	UA; UZA; FAGG
PEERLINCK Kathelijne	stollings- en bloedvatenziekten	KUL
SELLESLAG Dominik	interne geneeskunde, hematologie	AZBrugge
SIMON Anne*	medische microbiologie	UCL
SZABO Bertrand	transfusie	Cliniques Reine Astrid Malmédy
THOMAS Isabelle*	virologie	WIV
VAN DER LINDEN Philippe	anesthesiologie	CHU Brugman

De volgende personen werden gehoord:

COENE José	transfusie	Dienst voor het Bloed, Rode Kruis – Vlaanderen
------------	------------	--

Het voorzitterschap werd verzekerd door Mevrouw Véronique DENEYS en het wetenschappelijk secretariaat door Roland HÜBNER.

## Over de Hoge Gezondheidsraad (HGR)

De Hoge Gezondheidsraad is een federale dienst die deel uitmaakt van de FOD Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu. Hij werd opgericht in 1849 en geeft wetenschappelijke adviezen i.v.m. de volksgezondheid aan de ministers van volksgezondheid en van leefmilieu, aan hun administraties en aan enkele agentschappen. Hij doet dit op vraag of op eigen initiatief. De HGR neemt geen beleidsbeslissingen, noch voert hij ze uit, maar hij probeert het beleid inzake volksgezondheid de weg te wijzen op basis van de recentste wetenschappelijk kennis.

Naast een intern secretariaat van een 25-tal medewerkers, doet de Raad beroep op een uitgebreid netwerk van meer dan 500 experten (universiteitsprofessoren, medewerkers van wetenschappelijke instellingen), waarvan er 200 tot expert van de Raad zijn benoemd; de experts komen in multidisciplinaire werkgroepen samen om de adviezen uit te werken.

Als officieel orgaan vindt de Hoge Gezondheidsraad het van fundamenteel belang de neutraliteit en onpartijdigheid te garanderen van de wetenschappelijke adviezen die hij aflevert. Daartoe heeft hij zich voorzien van een structuur, regels en procedures die toelaten doeltreffend tegemoet te komen aan deze behoeften bij iedere stap van het tot stand komen van de adviezen. De sleutelmomenten hierin zijn de voorafgaande analyse van de aanvraag, de aanduiding van de deskundigen voor de werkgroepen, het instellen van een systeem van beheer van mogelijke belangenconflicten (gebaseerd op belangenverklaringen, onderzoek van mogelijke belangenconflicten, en een referentiecomité) en de uiteindelijke validatie van de adviezen door het College (eindbeslissingorgaan). Dit coherent geheel moet toelaten adviezen af te leveren die gesteund zijn op de hoogst mogelijke beschikbare wetenschappelijke expertise binnen de grootst mogelijke onpartijdigheid.

De adviezen van de werkgroepen worden voorgelegd aan het College. Na validatie worden ze overgemaakt aan de aanvrager en aan de minister van volksgezondheid en worden de openbare adviezen gepubliceerd op de website ([www.hgr-css.be](http://www.hgr-css.be)). Daarnaast wordt een aantal onder hen gecommuniceerd naar de pers en naar doelgroepen onder de beroepsbeoefenaars in de gezondheidssector.

De HGR is ook een actieve partner binnen het in opbouw zijnde EuSANH netwerk (European Science Advisory Network for Health), dat de bedoeling heeft adviezen uit te werken op Europees niveau.

Indien U op de hoogte wil blijven van de activiteiten en publicaties van de HGR kan U zich abonneren op een mailing-list en/of een RSS-feed via volgende link: <http://www.hgr-css.be/rss>