



UPPSALA
UNIVERSITET

Institutionen för kvinnor och barns hälsa

Biomedicinska analytikerprogrammet

Examensarbete 15 hp

**Pan Genera Detection-test, a new bacterial detection systems for
durability extension of
platelets**

Iman Ali

Handledare: Carin Rickeskär

Transfusionsmedicin enheten Gävle Blodcentral

2013

ABSTRACT

Platelets are blood cells that important for transfusion and blood coagulation. Patients will get transfusion with manufactured platelets if they have platelet disorder or extensive blood loss. Platelets isolated from 5 buffy-coats by different ways at a blood center are usable for about 5 days. The sustainability of platelets could be extended by various methods. The previously used method in Gävle BLC was the bacterial culture method using aerobic and anaerobic bottles, which took 5 days to receive an answer. Therefore, this project used Pan Genera Detection (PGD) test as an alternative method to extend the sustainability of platelets. The PGD Test is a rapid method that only takes about 30 minutes. This study showed that PGD the test yielded good results to reduced costs compared with the old method. The durability was extended by 36 h and the analysis runs in routine now at Gävle blood center.

Finally, this project has shown that PGD-test is a cheaper, faster and safer approach for patient health compared to the old method, the bacterial culture method.

KEYWORDS

Platelets concentrates, PGD-test, Conjugated Gold, Bacterial contamination, Rapid test

INTRODUKTION

Vid blödning eller olika hematologiska sjukdomar används trombocyter för att öka antal blodplättar i blodet och upphöra blodförlusten. Vid blodkoagulation är trombocyter de viktigaste celler än andra blodceller. Trombocyter är skivformade celler som saknar cellkärna. Dessa celler cirkulerar i blodet ungefär 10 dagar och därefter förstörs de i mjälten. Trombocytkoncentrat innehåller blodplättar och är en viktig blodkomponent vid blodtransfusion [1].

Trombocyter har stor betydelse vid tidiga skeden i primära hemostasen. Där binds de aktiverade trombocyterna till von Willebrand-faktorn och andra receptorer som hjälper till med koagulationen. Personer som har brist på von Willebrand-faktorn drabbas av sjukdomen trombocytopeni [2].

Andra patienter som behöver trombocyter är patienter med trauma och patienter som är drabbade av olika cancer sjukdomar, speciellt efter strålning eller cytostatika behandling. Dosis trombocyt som patienterna får är individuellt anpassad. Detta bestäms av ansvarig läkaren. För patienter med trauma beställs några transfusions kit beroende på hur stor blödningen är. Transfusions kit består av 4 påsar erythrocyter, 4 påsar tinade plasma och 1 påse trombocyter. Normalt kan en trauma patient få flera transfusions kit och det betyder att det beställs flera trombocyter. I varje påse trombocyt finns det ungefär 250 till 400 ml trombocyter och tillsatسلösning. Andra patienter som barn eller nyfödda barn kan behöva max 1 påse trombocyter som också bestäms av ansvarig läkare. De flesta patienter med olika cancer sjukdomar kan behöva ungefär 1-2 påsar trombocyter. Patienter med anemi sjukdomar kan behöva fler än 3 påsar.

Trombocyter tillhör till blodceller och samtidigt är involverade i neuroinflammatoriska sjukdomar som Alzheimers Disease. Trombocyterna har en enzym aktivitet som kan generera amyloid-beta peptider. Därför räknas trombocyterna som en biomarkör för AD sjukdomen. De äldre patienter som vistas på äldreboende och har inte möjlighet att komma till sjukhus kan få trombocyter levererade till äldreboendet. Trombocyterna transfunderas av legitimerad sjuksköterska till patienten med AD sjukdom [3].

Blodplättar har tre olika faser under transfusionsprocessen. Dessa faser är adhesion, aggregation och aktivering. Vid adhesion fästs trombocyter på skadan och breder ut sig. Sedan aggregerar de med varandra, detta betyder att de ändrar formen beroende på hur stor skadan är. Vid aktivering medverkar olika faktorer vilka sätter igång koagulationen [4].

Om patienten lider av trombocytopeni i samband med blödning transfunderas producerade trombocyter. Trombocyt koncentrat framställs genom 3 olika sätt. Det första sättet är att isolera bara trombocytceller från donatorn och returnera andra blodceller tillbaka till kroppen, det kallas för Aferes. Det andra sättet att isolera av trombocyter är att använda plasma med rikt TC-innehåll. Plasman centrifugeras och trombocyterna separeras. Det tredje sättet kallas för buffy-coat metoden, där helblod centrifugeras och sedan separeras plasman, blod och buffy-coat som innehåller lite plasma, blod och mest trombocyter. Trombocyterna från 5 buffy-coat påsar med samma blodgrupp poolas ihop med tillsatslösning [5]. Tillsatslösning är en typ av näring för trombocyter. I detta fall används en tillsatslösning som kallas för T-SOL och det innehåller citrat, acetat och natriumklorid. Det finns andra tillsatslösningar som förutom nämnda ämnen innehåller ytterligare ämnen såsom magnesium, kalium och fosfat.citrat, acetat och natriumklorid.

TC är hållbar i 5 dagar och kan förlängas med 2 dagar ytterligare, genom bakterieodling eller Pan Genera Detection-test (PGD-test). Vid bakterieodling används aeroba och anaeroba

flaskor som innehåller blodagar och med denna metod kan bara aeroba och anaeroba bakterier detekteras. Trombocyter sätts till dessa flaskor och förvaras i BACT/ALERT 3D värmeskåp som registrerar åtkomst av aeroba och anaeroba bakterier. Sedan lämnas flaskorna över till Klinisk mikrobiologi avdelningen (KML) på Gävle sjukhus. Efter ett dygn kan KML påvisa ett larm om eventuell bakterieväxt [5].

Den andra metoden för detektion av bakterier i TC är PGD-test [6]. Med hjälp av PGD-test kan aeroba, anaeroba, grampositiva och negativa bakterier detekteras.

Denna metod är en typ av kvalitativ immunoassay som detekterar antigener på bakterier med hjälp av specifika antikroppar. De gramnegativa bakterierna har polysackarid (PLS) på cellväggen och de grampositiva bakterierna har lipoteikonsyra (LTA) på cellväggen. På LPS och LTA sitter bakterie antigener. Vid reaktion binder de specifika antikroppar från PGD-test till bakterie antigener och antikropp-antigen-komplexet bildas. Denna reaktion blir synlig genom guldmolekyler som är bundna till antikroppar [6, 10].

Ett krav på de TC som ska ingå med i PGD-test är att det ska finnas så kallade ”Swirling” i påsar. Det innebär att det finns trådaktiga vågor i påsen vid skak eller vaggning.

Tillfredställande ”Swirling” i påsen tyder på att blodplättarna är inaktiverade och ju svagare

”Swirling” är desto aktivare blir trombocyterna¹. I många länder där antal

transfusionskomplikation är hög används PGD-test som en säkerhetskontroll på trombocyter.

Man kontrollerar bakterie åtkomsten i TC direkt före transfusion [6]. PGD-test tar max 30 min och därför utförs före transfusionen men bakterieodlingen tar längre tid.

Syftet med PGD-test är att förlänga hållbarheten på TC med ytterligare 36 timmar samt att minska tiden på analysen och onödiga kostnader som tillkommer vid bakterieodling.

¹ Sväd-Nilsson AM, Åberg L. Transfusion av blodkomponenter. Blodinfo 2012:1-4.

MATERIAL OCH METOD

Inom detta projekt användes 3 olika metoder. Dessa metoder var bakterieodling, PGD-test, och bakteriepanel försök. Bakterieodlings metod är standard metoden som används på Gävle BLC för att förlänga hållbarheten på TC. Den nya metoden som är tänkt att ersätta den gamla analysen är PGD-test. En säkerhetskontroll har också gjorts för att se om några bakterier kan detekteras med PGD-test. Därför gjordes en bakterie panel försök där olika bakterier analyserades. I metod beskrivningen kan man se närmare hur proceduren för varje metod gick det till. Vid varje metod användes olika material som redovisas här nedan.

Material för trombocyt odling var aerob och anaerob odlingsflaska, injektionstork och remiss till KML.

Material för PGD-test bestod av PGD kit (som innehåller PGD platta, Verax Biomedical, L07338, United Kingdom, Reagens 1,2 och 3, Verax Biomedical, L07169 United Kingdom och kontroller, Verax Biomedical, L07246, United Kingdom), microfugrör, engångspipett, rulltång och protokoll för PGD bakterietest.

Vid bakterie panel försöket användes PGD-kit (som innehåller PGD platta, Verax Biomedical, L07338, United Kingdom, Reagens 1,2 och 3, Verax Biomedical, L07169 United Kingdom och kontroller, Verax Biomedical, L07246, United Kingdom), engångspipett och ett kit med olika bakterie innehåll (som bestod av 1 ml *Bacillus thuringiensis*, 1 ml *Staphylococcus aureus*, 1 ml *Escherichia coli*, 1 ml *Staphylococcus dysgalactiae*, 1 ml Negativ, 1 ml *Klebsiella pneumoniae*, 1 ml *High Staphylococcus aureus*, 1 ml *Low Staphylococcus epidermis*, 1 ml *Enterobacter aerogenes*, 1 ml Negativ, 1 ml *Pseudomonas aeruginosa* och 1 ml *High Escherichia coli*, Zeptomatrix corporation, L310367, Unites States Of America, New York).

Bakterieodling

Bakterieodlingen utfördes på trombocyter som hade passerat dag 1-3 efter produktion och som hade ett godkänt Swirling. För att utföra analysen användes provtagningspåsen som vanligtvis är kopplad till trombocypåsen. Tio ml av trombocyter fördes över till provtagningspåsen och slangen svetsades av på mitten. En plastpeang användes för att hindra flöde av trombocyterna tillbaka till ursprungliga påsen som uppstår. All yta där analysen utfördes spritades med desinfektionsmedel. Händerna spritades med desinfektionsmedel och handskar användes. Kapsylen som fanns på de aeroba samt anaeroba flaskorna togs bort. Gummimembranet på flaskorna desinfekterades med injektionstork. En del av trombocyterna, ca 5 ml, i provtagningspåsen överfördes till aeroba flaskan med hjälp av kanylen som var kopplad till provtagningspåsen. De resterande 5 ml av trombocyterna överfördes till den anaeroba flaskan på samma sätt. Dessa flaskor innehåller blodagar som är ett näringsämne för bakterier. KML remissen fylldes i och märktes med samma nummer på trombocypåsen. En kopia av KML remissen sparades och flaskorna lämnades till KML för vidare analys. Sedan förlängdes hållbarheten med ytterligare 2 dagar.

PGD-test

PGD -test utfördes på trombocyterna som hade passerat femte dagen efter produktion. Vid PGD test användes PGD kit som innehöll mikrofugrör, pipett, PGD platta, reagens 1, reagens 2, reagens 3 och kontroller. Med hjälp av en rulltång fördes all trombocyt som fanns i slangsnutt till trombocypåsen och blandade påsen försiktigt, detta gjordes bara en gång för att förhindra trombocytaktivering. Därefter svetsades 10 cm av slangsnutten och slanginnehållet överfördes till ett märkt rör genom en segmentöppnare. Det pipetterades 500 µl av trombocyt till mikrofugröret. Det tillsattes 8 droppar av reagens 1 till mikrofugröret och

centrifugerades i 5 min vid 10000 RCF. Reagens 1 har en grön färg och innehåller olika ämnen som metanol och tensider vilka har olika funktion på trombocyter. Metanol fungerar som ett fixeringsmedium och fixerar trombocytcellerna för att hålla de inaktiverade. När blodplättarna är inaktiverade aggregerar de inte med varandra och formen på celler ändras inte. Det andra ämnet som finns i reagens 1 är tensider. Tensider sätter sig runt om trombocytcellen och hindrar cellen från att bli ödematös och spricka. I reagens 1 finns det även konserveringsmedel såsom Proclin®300. När reagens 1 tillsattes blev lösningsfärgen grön. Efter centrifugeringen hälldes ut supernatanten. Åtta droppar av reagens 2 tillsattes till pelletten som fanns i microfugröret. Pelletten löstes upp i reagenset genom att sönderdela fragmenten med engångspipett. Lösningsfärgen ändrades till blå. Reagens 2 innehåller NaOH, H₂O, Tensider och konserveringsmedlet natrium azide. NaOH är ett basiskt ämne vilket påverkar antikrop-antigen komplexet och skalar av reaktionen för att synliggöra den på PGD-plattan. Natrium azide har en tillväxthämmare effekt som hindrar bakterietillväxt i reagenset. Sedan droppades 4 droppar av reagens 3 och mixades med vortex. Lösningen bytte färg till svagt gul. Reagens 3 innehåller Tricine buffert, antikoagulans, protein (bovine, mouse, rabbit) och konserveringsmedlen Proclin®300 och Natrium azide. Tricine buffert har en neutraliserings funktion som neutraliserar lösningen som blir basiskt vid tillsättning av reagens 2. Antikoagulanter och andra proteiner fungerar som antikroppar inom denna analys. Samma princip utfördes på kontrollerna. Den positiva kontrollen innehåller olika antigener som finns på kända bakterier och den negativa kontrollen innehåller inga bakterier. Innehållet i denna kontroll är inte riktig känd. När lösningarna var klara hälldes de i nedsänkningen i mitten på PGD-plattan för respektive rör. Reaktionen sker på PGD-plattan vilket består av en kudde där det finns konjugerade guld och specifika antikroppar. Kudden i PGD-plattan förhindrar lösningen att gå genom, utan att lösning vandrar lateralt och sprids över hela området. De specifika antikropparna är riktade mot antigener som finns på LPS och LTA.

Antikropparna är fria, torkade och märkta med guld molekyler som synliggör antikropp-antigen komplexet vid reaktion av antikroppar och antigener.

Plattorna inkuberades 20 min i rumstemperatur. För att fuktigheten inte ska vara lägre än 20 % användes ett lämpligt lock på PGD plattorna under inkubationstiden. Efter 20 minuter antecknades resultatet på PGD-test protokoll.

Bakteriepanel försök

För att utföra bakterie-panel försöket användes samma material som vid PGD-test metoden.

Däremot behövdes inga TC eftersom analysen skulle utföras på bakterieprover. Hela proceduren genomfördes under ett dragskåp, detta för att minska kontaminationen. I dragskåpet tillsattes 8 droppar av reagens 1 och blandades försiktigt genom att vända det stängda röret 3 gånger upp och ner. Detta gjordes med alla tolv bakterierören. Sedan centrifugerades alla rör under 5 min vid 10000 RCF. Efter centrifugeringen hölls supernatanten bort i slask och det droppades 8 droppar av reagens 2 och sönderdelade pelleten med engångspipett. Efter detta steg tillsattes 3 droppar av reagens 3 och vortexades. Till slut hölls lösningen i nedsänkningen på tillhörande PGD-plattan. Resultatet antecknades efter 20 min.

Det gjordes en kostnadsberäkning av hur mycket det skiljer sig att använda PGD metod jämfört med bakterieodling.

För att kostnadsberäkna PGD-test gjordes en kalkylering av hur mycket materialen kostar. I beräkningen ingick även personalkostnad, moms och utbildning. Ett PGD-test kostade 250 kronor och med material kostnader blev slutliga kostnaden 300 kronor. Det testades 41 trombocyter och kostnaden för hållbarhet förlängning av 41 trombocyter blev 12300 kronor.

Det fanns också andra kostnader som personalkostnader, moms och utbildning. Dessa kostnader summerades till 12300 kronor och blev 15000 kronor.

Det gjordes också en kostnadsberäkning för bakterieodlingsmetoden. I

bakterieodlingsmetoden användes aeroba och anaeroba flaskor som varje flaska kostar 163 kronor. Material kostnader var 29 kronor. Dessa material finns på blodcentralen och används i rutin. Eftersom att det användes 2 flaskor vid bakterieodlingsmetoden blev kostnaden för en trombocytodling 384 kronor inklusive materialkostnader.

Varje månad odlades ungefär 90 TC och summan på det blev 35000 kronor.

Dessa beräkningar gjordes av Vårdenhets chef Monica Arkenström på Gävle sjukhus.

RESULTAT

Resultat ifrån de PGD-testade trombocyter antecknades i ett protokoll som sparades i en pärm på blodcentralen.

Under denna studie har man gjort PGD-test på 41 TC under 1 månad. Det fanns inga falskt positiva resultat. Resultat av kontrollerna gav det förväntade resultatet. Positiva kontrollen visade positivt resultat på PGD-plattan och den negativa kontrollen visade negativt resultat på PGD-plattan.

Vid bakteriepanel försöket fanns det 2 negativa rör som visade negativa resultat. De gramnegativa bakterier som detekterades var *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* och *Pseudomonas aeruginosa*. De andra bakterier som *Bacillus thuringiensis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus dysgalactiae* och *Staphylococcus epidermis* var grampositiva bakterier och hade ett rosafärgat streck på PGD-plattan.

Vissa av bakterier var mera reaktiva än andra bakterier och dessa var High Staphylococcus aureus och High Escherichia coli. Dessa bakterier hade 2 mörka rosa färgade streck på PGD-plattan.

Det slutliga resultatet med PGD-test stämde med det som personalen förväntade sig och därför börjades PGD-test och köras i rutin den 16:e mars. Och från detta datum tills idag har 41 TC blivit PGD-testade. Detta kostade totalt 12300 kr. Inklusivt kostnader som utbildning, moms, lokal och utrustning blev slutliga summan för PGD-test 15000 kr.

DISKUSSION

Bakteriedetektion inför eventuell hållbarhets-förlängning på TC är bland de viktigaste analyserna på Gävle BLC när det gäller trombocyt-komponenter. När bakterieodlingen används tar det fem dagar innan resultatet var klart och personalen på Gävle BLC förlängde hållbarheten på TC direkt efter avslutad bakterieodling. TC lämnades till patienter utan att resultatet var klart vilket innebär en risk för patienterna om TC hade transfunderats till patienter och analys resultatet senare visade sig vara positivt. Lyckligtvis har det inte inträffat en sådan situation hittills, eftersom att kontaminationsrisken är låg.

Vid bakterieodling får man oftast falsk positiva svar och i dessa fall analyseras den kontaminerade TC vidare på Klinisk Mikrobiologi Laboratorium (KML) [9]. Om TC inte fanns kvar och har redan transfunderats till patienten, används flaskan istället för vidare analys. Det falsk positiva resultatet beror på olika felkällor som låg sterilitet vid utförandet vilket orsakar bakteriekontamination.

PGD-test metoden som har redan ersätt bakterieodlingen har incidensen av falskt positivt svar på 1:2 000 -1:3 000, medan vid bakterieodling hade man fler falsk positiva svar [10]. Fördelen med PGD-test är det är en snabb procedur som tar max 30 min. Efter godkänt resultat kan hållbarheten för TC förlängas med 36 timmar.

När det gäller hållbarhets förlängning går Gävle BLC efter valideringar som tidigare utförts på Umeå BLC. Umeå BLC använder också PGD-test för hållbarhet förlängning. Den producerande företaget Biomedical Verax som ansvarar för PGD-test har bestämt att hållbarheten kan förlängs med 24 timmar². De har ett annat syfte med PGD-test och det är att kunna detektera bakterier med PGD-test metod före transfusion av TC. Det är en säkerhetskontroll som utförs på varje TC som ska transfunderas. Detta görs inte på Gävle BLC och det är inte heller syftet med att utföra PGD-test. Eftersom att kontaminationsrisken är väldigt lågt på Gävle BLC och sällan har en transfusionskomplikation uppstått, används PGD-test bara med syftet att förlänga hållbarheten.

Kontaminationsrisken på Gävle BLC är lågt pga. noga tvättning av punktion stället vid blodtappning. Vid blodtappning tvättas punktionsstället 3 gånger med desinfektionsmedel. En annan orsak till låg kontaminationsrisk är att första bloddroppen går till provtagningspåsen vid blodtappning. Därför blir helblodet fritt från kontaminationer.

En fördel med PGD-test är att analysen inte behövs utföras så tidigt som tre dagar efter tappning som vid bakterieodling utan PGD-test kan genomföras när som helst innan hållbarheten för TC går ut.

Hittills har man inte sett någon nackdel med denna metod. Det finns en risk att andra bakterier som inte detekteras med denna metod kan finnas i TC. De bakterier som inte kan detekteras kan kanske dyka upp som transfusionskomplikation. Under denna situation blir undersökningen djupare och då får man hjälp ifrån KML och läkare.

Det finns tre olika studier kring PGD-test. Dessa studier visar att det finns en stor kontaminationsrisk och antal transfusionskomplikationer är hög. Kontaminationsrisken beror på att de bakterier som normalt finns som normalflora på huden följer med blodet till

² Corbett Dooren J. Rapid blood test cleared. Wall street journal 2007;19:1

blodpåsen vid blodtappning. Det kan orsaka bakterietillväxt i blodpåsarna men med PGD-test har man i dessa studier lyckats påvisa en bakteriekontamination. Genom PGD -test innan transfusion kan man därför minska antalet transfusionskomplikationer^{3, 4, 5}.

PGD-test minskat har även minskat antal transfusionskomplikationer i USA och detta betyder mycket vid diagnostik och blodtransfusion. PGD-test utförs inte bara på TC utan även på andra blodkomponenter såsom plasma och erythrocyter.

När resultatet antecknas på protokollen, skrivs även andra kommentarer. Ibland tar det längre tid än 20 min för vissa TC för att reagera. Det kan bero på luftfuktigheten i laboratoriet. Ju fuktigare det är desto snabbare sker reaktionen. Luftfuktigheten ska vara 20 % för att reaktionen ska ske inom det tidsintervallet som producenten har gett, alltså 20 min. Om luftfuktigheten är mer än 20 % tar det längre tid att detektera eventuella bakterier.

Bakteriepanel försöket utfördes för att kontrollera om PGD-test fungerar som det ska och om det kan detektera bakterier. Bakterie panelen beställdes från Fenwall och de bakterier som användes var kända. Denna analys utfördes i dragskåp för att minska kontaminationsrisken. Efter avslutad analys kunde man se att vissa preparat som hade hög bakterie innehåll var mera reaktiva än de andra. Det visades 2 mörka rosa färgade streck på PGD-plattan. Dessa bakterier var *High Staphylococcus aureus* och *High Escherichia coli*.

När man ser närmare på kostnadsberäkningen kommer man fram till att det är mycket billigare och använda PGD-test för bakteriedetektion inför hållbarhets-förlängning.

Bakterieodlingen kostade 35000 kr per månad om man hade analyserat 90 TC. Eftersom bakterieodling utfördes på alla TC var detta en hög kostnad för Gävle BLC. Vid PGD-test

³ La Verda D, Salls B, Gregory L, Hornbaker N. Development of Antibodies to Detect Rare Viridans Group Streptococci for a Rapid Test for Bacterial Contamination in Platelets. AABB Annual Meeting 2012: 1-3.

⁴ La Verda D, Salls B, Gregory L, Hornbaker N, Best N. Expanded Breadth of Gram negative Reactivity for a Rapid Test for Bacteria in Platelets. Verax Biomedical Incorporated 2012: 1-3.

⁵ La Verda D, Salls B, Gregory L, Hornbaker N, Shinefeld L, Boudreau E. Increased Reactivity in a Rapid Test for the Detection of Bacteria in Platelets. Verax Biomedical Incorporated 2012: 1-3.

behövdes det inte PGD-test på alla TC. PGD-test kan utföras tre dagar efter produktionen och de flesta TC lämnas ut till patienter före dag 5. Därför blir antal TC för PGD-test mindre och det leder till att kostnaden blir också mindre.

När man jämför kostnaden för bakterieodlings med kostnaden för PGD-test kostnaden ser man att kostnaden har halverats nästan vid PGD-test vilket stämmer med förväntade resultat.

Trots att PGD-test utförs måste man ändå ta hänsyn till övriga krav, som ett tillfredställande Swirling test, vilket är oerhört viktigt när det gäller TC. Utan tillfredställande Swirling lämnas TC inte ut till patienterna och hållbarheten kan inte heller förlängas [6].

Under projektet har inga falsk negativa resultat detekterats vilket visar att kontaminationsrisken på Gävle blodcentral är lågt. Bakterieodling utförs bara på sex TC i veckan, dessa skickas numera till Hälsingland. Nästa mål är att utbilda all personal på sammanslutna BLC att kunna utföra PGD-test vilket minskar kostnaderna och ökar säkerhet och kvalitet på TC.

Sammanfattningsvis har man med PGD projektet åstadkommit att metoden är billigare, säkrare samt snabbare som används nu i rutin på Gävle blodcentral. Metoden ska vidarebefordras till andra blodcentraler i Gävleborg för bättre resultat över hela länet.

REFERENSER

- [1] Astermakt J, Berlin G, Billström R, Birgegård G, Enblad G, Gardulf A. Blodets sjukdomar. Hematologi 2012; 1: 220-21.
- [2] Chen H, Angerer JI, Napoleone M, Reininger AJ, Schneider SW, Wixforth A, Schneider MF, Alexander-Katz A. Hematocrit and flow rate regulate the adhesion of platelets to von Willebrand factor. Biomicrofluidics. 2013; 6: 1-13.
- [3] Gowert NS, Donner L, Chatterjee M, Eisele YS, Towhid ST, Münzer P, Walker B, Ogorek I, Borst O. Blood platelets in the progression of Alzheimer's disease. PLoS One. 2014;9:1-16.
- [4] Tapper EB, Robson SC, Malik R. Coagulopathy in cirrhosis-The role of the platelet in hemostasis. Journal of Hepatology 2012; 58: 845-1062.
- [5] van der Meer PF. Platelet concentrates, from whole blood or collected by apheresis?. Transfusion and Apheresis Science 2013; 48: 129-131.
- [6] Ramirez-Arcos S, Kou Y, Mastronardi C, Perkins H, Goldman M. Bacterial screening of outdated buffy coat platelet pools using a culture system and a rapid immunoassay. Transfusion 2011; 51:2566-72.
- [7] Harm SK, Delaney M, Charapata M, AuBuchon JP, Triulzi DJ, Yazer MH. Routine use of a rapid test to detect bacteria at the time of issue for nonleukoreduced, whole blood-derived platelets. Transfusion 2013; 53:843-50.

[8] Jacobs MR, Smith D, Heaton WA, Zantek ND, Good CE. Detection of bacterial contamination in prestorage culture-negative apheresis platelets on day of issue with the Pan Genera Detection test. *Transfusion complications* 2011; 51: 2573-82.

[9] Metteregger D, Barousch W, Nehr M, Kundi M, Zeitlinger M, Markristathis A, M.Hirschl A. Neutralization of Antimicrobial Substances in New BacT/Alert FA and FN Plus Blood Culture Bottles. *American Society for Microbiology* 2013; 51: 51534-40.

[10] 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. *Journal of clinical microbiology* 2010; 48: 3475-81.