

## PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK / REVIEW ARTICLE

# PATOGEN REDUKCE KREVNÍCH SLOŽEK PATHOGEN REDUCTION OF BLOOD COMPONENTS

**Dominik Kutáč<sup>1,2</sup>, Miloš Bohoněk<sup>1,3</sup>, Jan M. Horáček<sup>2,4</sup>✉**

<sup>1</sup> Oddělení hematologie a krevní transfuze, Ústřední vojenská nemocnice – Vojenská fakultní nemocnice Praha, Česká republika

<sup>2</sup> Katedra vojenského vnitřního lékařství a vojenské hygieny, Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity obrany, Hradec Králové, Česká republika

<sup>3</sup> Fakulta biomedicínského inženýrství, České vysoké učení technické v Praze, Česká republika

<sup>4</sup> IV. interní hematologická klinika, Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Hradec Králové, Česká republika

Přijato 17. listopadu 2021.

Akceptováno 8. prosince 2021.

Zveřejněno 4. března 2022.

### Souhrn

Nově se objevující, ale i stávající a známé infekční hrozby představují stálou výzvu v oblasti zajištění bezpečnosti krve a krevní transfuze. Kromě bezpříspěvkového dárcovství a pečlivého výběru dárců krve a jejích složek, robustních postupů laboratorního screeningu představuje významnou doplňující alternativu ve zvýšení bezpečnosti transfuzních přípravků tzv. patogen redukce. Tento stručný přehledový článek shrnuje informace o principu a použití patogen redukčních technologií v transfuzním lékařství a také nejnovější výzkumy týkající se jejich možného budoucího použití.

*Klíčová slova: PRT; patogen redukce; patogen inaktivace*

### Summary

Emerging, as well as existing and known infectious threats represent a constant challenge in ensuring blood safety and blood transfusions. In addition to non-contributory donations and careful selection of blood donors and its components, robust laboratory screening procedures represent a significant complementary alternative in increasing the safety of transfusion products, the so-called pathogen reduction. This brief review article summarizes information on the principle and application of pathogen reduction technologies in transfusion medicine, as well as the latest research on their possible future application.

*Key words: PRT; pathogen reduction; pathogen inactivation*

**Zkratky:** PRT – patogen redukční technologie; GvHD – reakce štěpu proti hostiteli; PCR – polymerázová řetězová reakce; NAT – Nucleic Acid Test; CE – označení o evropské shodě; UV (A, B, C) – ultrafialové záření a jeho druh;

✉ Univerzita obrany, Fakulta vojenského zdravotnictví, Katedra vojenského vnitřního lékařství a vojenské hygieny, Třebešská 1575, 500 01 Hradec Králové, Česká republika  
jan.horacek@unob.cz

FFP – čerstvě zmražená plazma; HAV, HBV, HCV, HEV – druhy infekčních hepatitid; HIV – virus lidské imunitní nedostatečnosti; DNA/RNA – deoxyribonukleová/ribonukleová kyselina; CFU – kolonie formující jednotka; CPs – kryokonzervované trombocyty

## Úvod

Důraz na bezpečnost transfuzních přípravků stran krví přenosných infekcí je jedním ze základních imperativů transfuzní praxe. Nově se objevující patogeny staví tuto problematiku na první místo (1-5). Patogen redukční technologie (PRT) představují posun ve zvýšení bezpečnosti transfuzních přípravků od reaktivního přístupu k proaktivnímu. Komerčně dostupné technologie jsou efektivním nástrojem k inaktivaci virů, bakterií a parazitů, současně inaktivují reziduální leukocyty v transfuzních přípravcích. Výsledkem je snížení rizika bakteriální, parazitární, či virové kontaminace, ale současně rizika GvHD reakce u příjemce a snižují i hladinu cytokinů způsobujících nehemolytické potransfuzní reakce. Jedná se o perspektivní metodu, která může mj. nahradit ozařování transfuzních přípravků, prodloužit jejich skladování nebo zkrátit karanténu (6-11).

## Bezpečnostní opatření ke snížení rizika patogenní kontaminace transfuzních přípravků

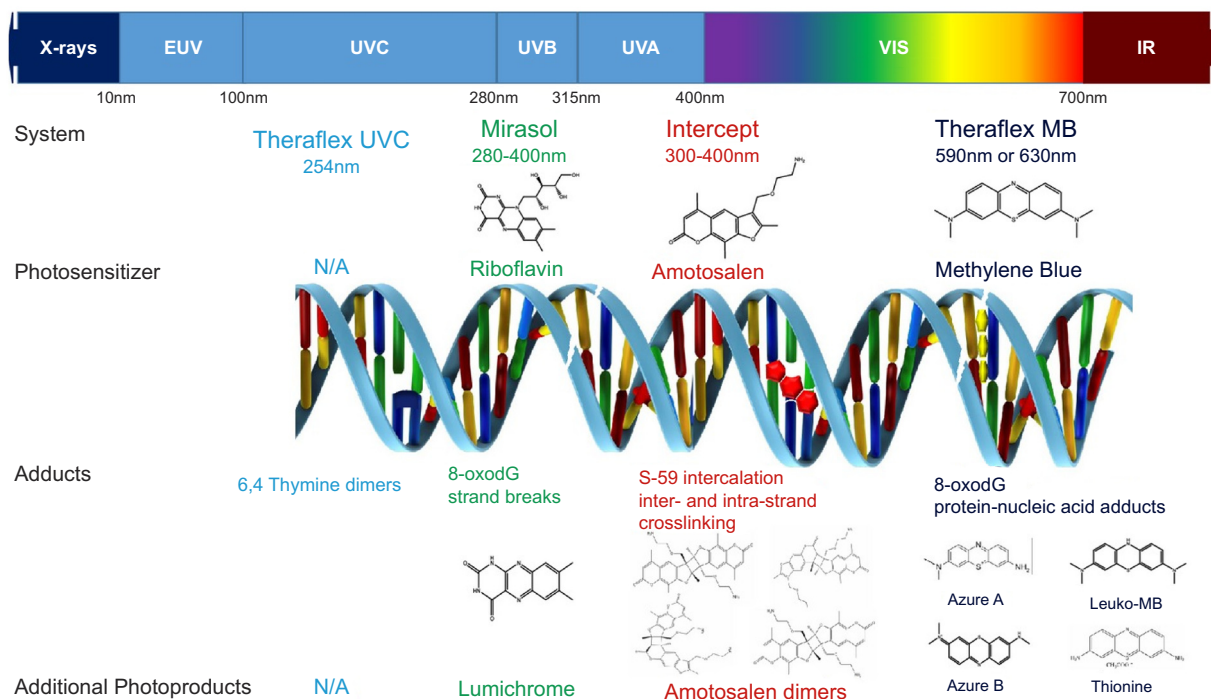
Bezpečnost transfuzních přípravků se opírá o soubor bezpečnostních opatření od bezpříspěvkového dárce krve a jejích složek, důsledného vyšetření a posouzení způsobilosti dárce před každým odběrem, a robustním laboratorním screeningem. Součástí bezpečných postupů výroby transfuzních přípravků je důsledná desinfekce místa odběru i tzv. look-back postupy, které spočívají v hlášení zjištěných reaktivit a likvidaci přípravků daného dárce, či došetření přípravku nebo příjemce transfuzního přípravku (12). U některých typů přípravků je pak možné bezpečnost dále zvýšit použitím patogen redukce. I přes všechna tato opatření riziko přenosu infekce transfuzními přípravky stále zůstává, kdy jedním z důvodů je tzv. imunologické okno, které se zejména u sérologických testů pohybuje v řádu týdnů až měsíců, v případě vyšetření metodami NAT (Nucleic Acid Test) lze zkrátit na dny (13, 14).

## Užití PRT

První patogen redukční technologie byla popsána v roce 1991 pro čerstvě zmraženou plazmu (FFP) (15). Komerční PRT k ošetření trombocytů na bázi amotosalenu/UVA záření bylo uvedeno na trh s CE certifikací v roce 2002 (Intercept Blood System, Cerus Corporation, USA), stejná společnost vyvinula v roce 2006 též zařízení k ošetření FFP. V roce 2015 obdržela CE certifikaci pro PRT plné krve metoda užívající riboflavin/UV (Mirasol Pathogen Reduction Technology, Terumo BCT, USA). Od té doby se objevily další technologie pro PRT krevních destiček, plazmy (6,16). PRT užívají chemických fotoaktivních činidel a/nebo ultrafialové záření (UV), jejichž působením dochází k destrukci nukleových kyselin mikroorganismu případných mikroorganismů a reziduálních buněk v krevních složkách. Tyto patogen redukční technologie se pokoušejí najít správnou rovnováhu mezi zničením patogenu a kvalitou buněk (6, 7). PRT by měla být maximálně účinná, širokospektrá, netoxická a s nízkým vlivem na parametry výsledného produktu v cenově přijatelná. V řadě míst a zemí se zavádí PRT, protože výhody bezpečnosti takto ošetřených přípravků převažují nad určitým vlivem PRT na jejich některé kvalitativní parametry a cenu (6, 17, 18).

V případě virové nebo parazitární nákazy stačí jediný organismus k vzniku infekce, ale musí mít funkční nukleovou kyselinu. To znamená, že množství funkčních nukleových kyselin v transfuzním přípravku může odrážet největší možnou infekční nálož. Jestliže tedy PRT může eliminovat nejvyšší množství nukleové kyseliny patogenu a navíc i s bezpečnou rezervou, tak tato metoda může být použita k zajištění bezpečnosti daného transfuzního přípravku. Pokud množství nukleové kyseliny patogenu překoná bezpečnostní rezervu dané PRT, tak by PRT měla být doplněna vyšetřováním PCR minipoolů takto ošetřených transfuzních přípravků. U bakterií, které mohou proliferovat v transfuzních přípravcích po odběru, musí být úroveň PRT dostatečná k redukci maximálního počtu namnožených bakterií v přípravku. Z toho tedy vyplývá, že je důležité dodržet maximální možný čas mezi odběrem a ošetřením přípravku, aby nedošlo k přílišné proliferaci bakterií, které by PRT nedokázala ošetřit (19, 20). Pro každý patogen je potřeba mít stanoveno maximální množství nukleové kyseliny tohoto agens zjištěnou u asymptomatických nosičů infekce (21). PCR testování je tedy nutné v případě vysoce infekčních agens nebo při rezistenci na PRT (HAV, Parvovirus-B19). Bohužel většina PRT nedokáže úplně zničit bakteriální spory a také jsou méně účinné na viry bez lipidového obalu (6). Zavedením PRT by mohlo dojít i k odstranění plošného

sérologického testování každého odběru, čímž by došlo k zjednodušení vyšetřovacího algoritmu, pokrytí širokého spektra patogenů a snížení finanční náročnosti (v ČR je povinná u dárců krve a krevních složek jen infekční sérologie HIV, HBV, HCV a Syfilis) (22).



Mundt JM, Rouse L, Van den Bossche J, Goodrich RP. Chemical and biological mechanisms of pathogen reduction technologies. *Photochem Photobiol.* 2014 Sep-Oct;90(5):957-64.

**Obrázek 1.** Princip PRT metodou Theraflex-UV, Mirasol, Intercept a Theraflex-MB.

## Metody PRT

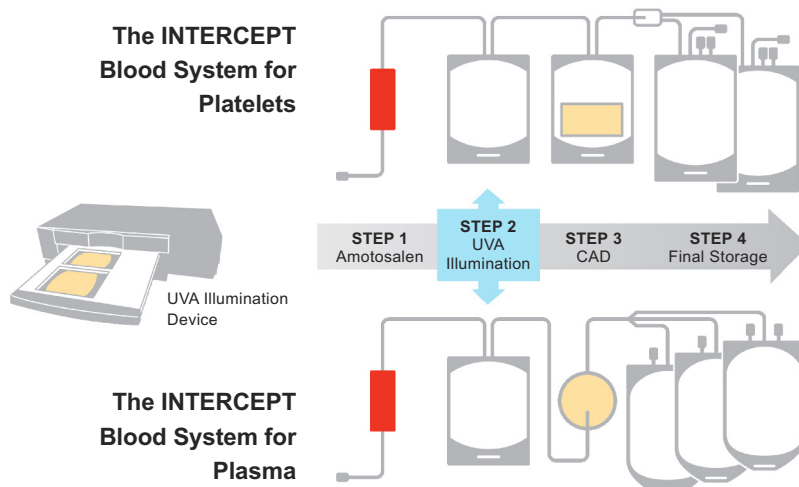
Pro rutinní použití jsou na trhu k dispozici tyto metody PRT od třech výrobců: 1/ amotosalen/UVA (Intercept® Blood System, Cerus), 2/ riboflavin/UVA-UVC (Mirasol® PRT, TerumoBCT), 3/ UVC (Theraflex®-UV, Macopharma) a viditelné světlo/methylenová modř (Theraflex®-MB, Macopharma).

### 1/ Intercept® Blood System

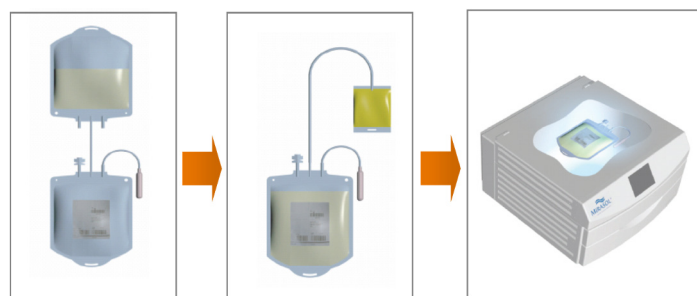
Jako fotoaktivní látka je použit syntetický psoralen (amotosalen), který po navázání na nukleovou kyselinu a pouze po aktivaci UVA zářením 300–400 nm a dávkou 3 J/cm<sup>2</sup> zesiluje DNA/RNA fotochemickou reakcí (23,24). Tato metoda je certifikovaná k ošetření plazmy a trombocytů.

### 2/ Mirasol® PRT

Tato technologie je založená na využití fotoaktivních vlastností riboflavinu (vitamín B2), tj. přirozeně se vyskytující, netoxické látky, v kombinaci s ultrafialovým světlem. Využívá vlnové délky UV, které se rozprostírají od 280 do 400 nm, napříč UVA, UVB a UVC spektrem a dávkou 6 J/ml u plné krve 80 J/ml (25, 26). Patogen redukce touto metodou závisí na působení volných kyslíkových radikálů, které působí zlomy DNA/RNA fotodynamickou reakcí. Jedná se o jednoduchou metodu, která je certifikovaná na ošetření čerstvé plné krve (jako jediná), plazmy a trombocytů, použitím stejné sloučeniny a stejným iluminátorem UV světla. Jedná se o velmi nenáročnou a bezpečnou technologii (27-33).



**Obrázek 2.** Intercept PRT postup: V horní části obrázku PRT trombocytů, v dolní části PRT plazmy. Krok (step) 1. přepuštění do ozařovacího setu a přidání amotosalenu, 2. UVA ozáření, 3. odstranění amotosalenu a fotoproduktů adsorbci, 4. přepuštění do skladovacího vaku (Intercept®).



**Obrázek 3.** Mirasol PRT postup: 1. přepuštění do ozařovacího setu, 2. přidání vitamínu B2, 3. ozáření UV, 4. přepuštění do skladovacího vaku (Mirasol®, není na schématu).

### 3/ Theraflex®-UV

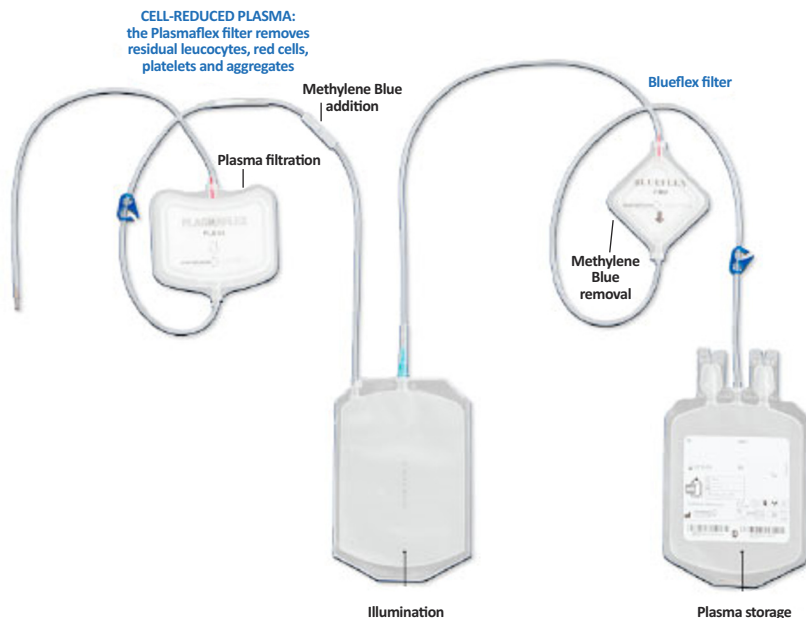
Jedná se o metodu, která pro patogen redukci nepoužívá žádnou fotoaktivní látku a spoléhá se pouze na úzkou šíři pásma UVC světla, s následnou tvorbou pyrimidinových dimerů v DNA/RNA fyzikální metodou. Metoda je certifikovaná k ošetření trombocytů.



**Obrázek 4.** Theraflex-UV PRT postup: přepuštění do ozařovacího vaku, ozáření a opětovné přepuštění do primárního vaku (Theraflex®).

#### 4/ Theraflex®-MB

Jako fotoaktivní látka je použita methylenová modř, která se pevně váže na nukleové kyseliny a dochází tak k přímému poškození DNA/RNA fotodynamickou reakcí kyslíkovými radikály, které vznikají po ozáření denním světlem. Metoda má certifikaci pouze k ošetření plazmy (6).



**Obrázek 5.** Theraflex-MB PRT postup: 1. přepuštění do filtračního vaku, 2. přidání methylenové modře (MB), 3. ozáření, 4. odstranění MB, 5. přepuštění do skladovacího vaku (Theraflex®).

#### Efektivita a bezpečnost PRT

Riziko přenosu infekce stoupá s množstvím plazmy v transfuzním přípravku, například dle Allaina (34) HBV se přenese v 31 % erytrocyty, v 50 % trombocyty a v 84 % plazmou, HEV v 25 % erytrocyty a ve 100 % plazmou. Z těchto důvodů je PRT obzvláště vhodná k ošetření přípravků erytrocytů, trombocytů a rekonvalescentní plazmy, které nemohou pro krátkou dobu expirace podstupovat karanténu nebo je nemožné přípravek testovat na přítomnost konkrétního infekčního agens. Pro zajímavost přirozenou PRT může být i délka uchování v chladu (2-6 °C), kdy logaritmičsky klesá riziko některých infekcí například HIV (35), toto může být spojeno se ztrátou viability lymfocytů nebo poklesem infekčnosti virových partikulí (36, 37).

Patogen redukce je považována za „robustní“, pokud je používána přesně dle schválených postupů, které byly stanoveny na základě monitorovaných validačních studií. V transfuzních přípravcích lze dosáhnout úrovně patogen redukce ve výši 4 logaritmu a efektivní redukci 100-1000 CFU patogenu. Je však třeba zdůraznit, že je neustále nutné zdokonalování a vývoj nových PRT, protože zatím neexistuje 100% účinnost těchto technologií (14). Kromě toho, dosud ani nelze, dle dostupných informací, stanovit přesnou úroveň PRT pro jednotlivé patogeny nutné k prevenci infekce. Na druhou stranu se ale ukazuje, že přenos infekce je možný i u NAT negativních přípravků, proto optimálním řešením bezpečnosti transfuzních přípravků je kombinace sofistikovaného laboratorního screeningu a PRT (38).

Při ošetření plazmy metodami PRT je potřeba počítat s tím, že důsledkem je snížení aktivity F VIII o 20-30 %, aktivita ostatních koagulačních faktorů klesá méně (39). Interceptem a Mirasolem ošetřené trombocyty skladované po dobu 5 dní při standardní teplotě 20-24 °C se blíží limitu FDA 67% recovery (tj. výtěžnost) čerstvě odebraných trombocytů (40, 41). Při PRT ošetření plné krve dochází ke ztrátě životnosti erytrocytů s vyšší dávkou UV záření a tím i ke zkrácení expirace. Takto ošetřené plné krve nebo z ní vyrobených erytrocytů (42-46).



Ve většině testů nebyla pozorována žádná toxicita při nejvyšších testovaných dávkách PRT. Podobná bezpečnost PRT byla pozorována pro karcinogenitu a genotoxicitu (47). Žádná studie neprokázala tvorbu nových antigenů po aplikaci PRT Intercept a Mirasol (6, 31, 48-50).

### **Nové možnosti využití PRT**

Bylo provedeno několik studií k vyhodnocení dopadu PRT na kryokonzervované trombocyty (CPs). V nedávné studii byl zkoumán dopad PRT Mirasol na kryokonzervované trombocyty (ÚVN Praha). Předběžné výsledky ukazují lepší hemostatickou aktivitu tohoto produktu in vitro s menšími morfologickými změnami než u PRT neošetřených CPs. Zdá se, že CP léčené PRT (PRT-CPs) jsou více metabolicky aktivované než PRT neošetřené CPs, nicméně jejich funkce se nezdá být narušena. Na druhé straně výskyt agregátů v PRT-CPs pravděpodobně vyžaduje další výzkum nebo úpravu výroby CPs. Proto PRT-CPs by měly být podávány brzy po rozmrazení s následnou aktivní hemovigilancí (51).

Mezi další studie PRT-CPs patří použití systému Theraflex UV a použití systému Intercept. Ošetření PRT metodou Theraflex může zvýšit náchylnost trombocytů k poškození způsobenému během kryokonzervace, ale toto se výrazněji projevuje během skladování po rozmrazení při pokojové teplotě, kde byly pozorovány významné agregáty během 1 hodiny po rozmrazení (52). CPs ošetřené metodou Intercept se zdály být o něco náchylnější k rozpadu po rozmrazení než konvenční CPs, zejména v testech v den 1 po rozmrazení, ale tyto rozdíly byly malé ve srovnání s dramatickými účinky samotné kryokonzervace (53). V této studii nebyly pozorovány žádné agregáty. Na základě těchto interních studií očekáváme, že se PRT-CPs v blízké budoucnosti brzy objeví jako bezpečný transfuzní přípravek.

Nově byla provedena studie i na použití PRT Theraflex UV k ošetření trombocytů skladovaných v chladu (2-6 °C). Skladování trombocytů ošetřených UVC za studena snižovalo zrychlení glykolytického metabolismu vyvolaného PRT, ale vedlo k dalším fenotypovým změnám ve srovnání s PRT neošetřenými trombocyty. Je proto potřeba dalších prací k objasnění na klinickou účinnost tohoto přípravku (54).

Nyní v době šíření COVID-19 infekce se začala celosvětově masivně připravovat rekonvalescentní plazma a k jejímu rychlému použití pro pacienty bylo potřeba zkrátit karanténu této speciální klinické plazmy, která za normálních podmínek trvá 6 měsíců. Proto zde nalezla PRT využití v masivním měřítku a při jejím využití bylo možno karanténu rekonvalescentní plazmy úplně vypustit (55).

Nedávná studie popisující vliv PRT na kryokonzervaci erytrocytů (ÚVN Praha) prokázala, že erytrocyty získané z plné krve ošetřené Mirasolem lze rozmrazit, rekonstituovat a uchovávat pro nouzové použití po dobu 7 dní. To poskytuje dodatečnou ochranu před infekčními hrozbami pro skladované erytrocyty (56).



**Obrázek 6.** Vložení plazmy s přidaným riboflavinem do ozařovače Mirasol v ÚVN Praha.

## **Použití PRT v České republice**

Jako první PRT technologie v České republice byl zaveden systém Intercept v ÚHKT Praha, kde je již několik let úspěšně používána k ošetření trombocytů a plazmy. V letech 2017-2018 byly v ÚVN Praha provedeny výše popsané in vitro komparativní studie popisující vliv patogen redukce (Mirasol) na kryokonzervované trombocyty a erytrocyty, přístroj Mirasol byl zapůjčen a sety dodány na základě grantu US Army. K určitému rozšíření PRT došlo v ČR v roce 2020 v souvislosti s pandemií COVID-19, kdy PRT se začala na některých pracovištích používat k ošetření rekonvalescentní plazmy (kromě ÚHKT Praha byl pořízen systém Mirasol v ÚVN Praha, FN Brno a Nemocnici České Budějovice) (55).

## **Závěr**

Nově se objevující, ale i stávající infekční hrozby představují stálou výzvu v co nejlepším zajištění bezpečnosti transfuzních přípravků vznikajících zpracováním jednotlivých krevních složek. Patogen redukční technologie představují výrazný posun ve zvýšení bezpečnosti transfuzních přípravků. PRT by se mohla určitě vyplatit v případě ohrožení novým nebo rychle se šířícím krevně přenosným patogenem, kdy by cenová efektivita byla příznivá v kontextu zvýšení bezpečnosti krve a krevních složek anebo při výrobě přípravků s dlouhou skladovací dobou, typicky kryokonzervované erytrocyty a trombocyty. V současné době jsme svědky značného pokroku při zavádění patogen bezpečných a účinných čerstvých a kryokonzervovaných transfuzních přípravků. Další výzkum kombinace kryokonzervace a PRT dle medicíny založené na důkazech povede k tomu, že tyto produkty budou brzy dostupné pro širší užití v transfuzní medicíně.

## **Financování**

Práce byla podpořena Ministerstvem obrany České republiky “Dlouhodobým záměrem rozvoje organizace – Klinické obory” Fakulty vojenského zdravotnictví Hradec Králové Univerzity obrany.

## **Funding**

This work was supported by the Ministry of Defence of the Czech Republic “Long Term Development Plan – Clinical Fields” of the Faculty of Military Health Sciences Hradec Kralove, University of Defence, Czech Republic.

## **Conflict of interest**

Authors state no conflict of interests.

## **Adherence to Ethical Standards**

This article does not contain any studies involving animals performed by any of the authors.

## **References**

1. Burnouf T, Radosevich M. Reducing the risk of infection from plasma products: specific preventative strategies. *Blood Rev.* 2000;14:94-110.
2. Ticehurst JR, Pisanic N, Forman MS, et al. Probable transmission of hepatitis E virus (HEV) via transfusion in the United States. *Transfusion.* 2019;59:1024-34.
3. Dalton HR, Seghatchian J. Hepatitis E virus: emerging from the shadows in developed countries. *Transfus Apher Sci.* 2016;55:271-4.
4. Busch MP, Kleinman SH, Nemo GJ. Current and emerging infectious risks of blood transfusions. *J Am Med Assoc.* 2003;289:959-62.
5. Burnouf T, Seghatchian J. Ebola virus convalescent blood products: where we are now and where we may need to go. *Transfus Apher Sci.* 2014;51:120-5.
6. Prowse CV. Component pathogen inactivation: a critical review. *Vox Sang.* 2013 Apr;104(3):183-99.

7. Fast LD, DiLeone G, Marschner S. Inactivation of human white blood cells in platelet products after pathogen reduction technology treatment in comparison to gamma irradiation. *Transfusion*. 2011 Jul;51(7):1397-404.
8. Fast LD, Dileone G, Li J, et al. Functional inactivation of white blood cells by Mirasol treatment. *Transfusion*. 2006 Apr;46(4):642-8.
9. Corash L, Lin L. Novel processes for inactivation of leukocytes to prevent transfusion-associated graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant*. 2004 Jan;33(1):1-7.
10. Fast LD, DiLeone G, Cardarelli G, et al. Mirasol PRT treatment of donor white blood cells prevents the development of xenogeneic graft-versus-host disease in Rag2-/-gamma c-/- double knockout mice. *Transfusion*. 2006 Sep;46(9):1553-60.
11. Goodrich RP, et al., Chapter 5: "The Antiviral and Antibacterial Properties of Riboflavin and Light: Applications to Blood Safety and Transfusion Medicine." *Flavins: Photochemistry and Photobiology*, vol. 6, 2006, Royal Society of Chemistry; Cambridge, United Kingdom. E Silva and AM Edwards, editors.
12. World Health Organization Recommendations for the production, quality control and regulation of plasma for fractionation. Geneva: World Health Organization; 2005<http://www.who.int/bloodproducts2005>.
13. Burnouf T, Barro L, Nebie Q, et al. Viral safety of human platelet lysate for cell therapy and regenerative medicine: moving forward, yes, but without forgetting the past. *Transfus Apher Sci*. 2019;58:102674.
14. Bohonek M, Kutac D, Acker JP, et al. Optimizing the supply of whole blood-derived bioproducts through the combined implementation of cryopreservation and pathogen reduction technologies and practices: An overview. *Transfus Apher Sci*. 2020 Apr;59(2):102754.
15. Horowitz B, Bonomo R, Prince AM, et al. Solvent/detergent-treated plasma: a virus-inactivated substitute for fresh frozen plasma. *Blood*. 1992 Feb 1;79(3):826-31.
16. Prowse CV: Pathogen inactivation of blood components. *Transfus Alternat Transfus Med*. 2008; 10:139–146
17. Council of Europe, European Committee (Partial Agreement) on Blood Transfusion (CD-P-TS), Symposium on Implementation of Pathogen Reduction Technologies for Blood Components September 2010 Executive Summary available at: [http://www.edqm.eu/medias/fichiers/Executive\\_Summary\\_Pathogen\\_Reduction.pdf](http://www.edqm.eu/medias/fichiers/Executive_Summary_Pathogen_Reduction.pdf) Accessed 5th November 2011
18. Corash L. Pathogen reduction technology: methods, status of clinical trials, and future prospects. *Curr Hematol Rep*. 2003 Nov;2(6):495-502.
19. Benjamin RJ, Braschler T, Weingand T, et al. Hemovigilance monitoring of platelet septic reactions with effective bacterial protection systems. *Transfusion*. 2017 Dec;57(12):2946-2957.
20. Schmidt M, Hourfar MK, Sireis W, et al. Evaluation of the effectiveness of a pathogen inactivation technology against clinically relevant transfusion-transmitted bacterial strains. *Transfusion*. 2015 Sep;55(9):2104-12.
21. Dodd RY, Foster GA, Stramer SL. Keeping Blood Transfusion Safe from West Nile Virus: American Red Cross Experience, 2003 to 2012. *Transfus Med Rev*. 2015 Jul;29(3):153-61.
22. Snyder EL, Stramer SL, Benjamin RJ. The safety of the blood supply--time to raise the bar. *N Engl J Med*. 2015 May 14;372(20):1882-5.
23. Wollowitz S: Targeting DNA and RNA in pathogens: mode of action of amotosalen HCl. *Transfus Med Hemother*. 2004; 31(Suppl 1):11-16.
24. Marschner S, Fast LD, Baldwin WM 3rd, et al. White blood cell inactivation after treatment with riboflavin and ultraviolet light. *Transfusion*. 2010 Nov;50(11):2489-98.
25. Kumar V, Lockerbie O, Keil SD, et al. Riboflavin and UV-light based pathogen reduction: extent and consequence of DNA damage at the molecular level. *Photochem Photobiol*. 2004 Jul-Aug;80:15-21.
26. Picker SM, Steisel A, Gathof BS. Cell integrity and mitochondrial function after Mirasol-PRT treatment for pathogen reduction of apheresis-derived platelets: Results of a three-arm in vitro study. *Transfus Apher Sci*. 2009 Apr;40(2):79-85.
27. 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 Nov;50(11):2362-75.
28. Picker SM, Tauszig ME, Gathof BS. Cell quality of apheresis-derived platelets treated with riboflavin-ultraviolet light after resuspension in platelet additive solution. *Transfusion*. 2012 Mar;52(3):510-6.
29. Picker SM, Steisel A, Gathof BS. Effects of Mirasol PRT treatment on storage lesion development in plasma-stored apheresis-derived platelets compared to untreated and irradiated units. *Transfusion*. 2008 Aug;48(8):1685-92.
30. Perez-Pujol S, Tonda R, Lozano M, et al. Effects of a new pathogen-reduction technology (Mirasol PRT) on functional aspects of platelet concentrates. *Transfusion*. 2005 Jun;45(6):911-9.



31. Ambruso DR, Thurman G, Marschner S, Goodrich RP. Lack of antibody formation to platelet neoantigens after transfusion of riboflavin and ultraviolet light-treated platelet concentrates. *Transfusion*. 2009 Dec;49(12):2631-6.
32. Smith J, Rock G. Protein quality in Mirasol pathogen reduction technology-treated, apheresis-derived fresh-frozen plasma. *Transfusion*. 2010 Apr;50(4):926-31.
33. Hornsey VS, Drummond O, Morrison A, et al. Pathogen reduction of fresh plasma using riboflavin and ultraviolet light: effects on plasma coagulation proteins. *Transfusion*. 2009 Oct;49(10):2167-72.
34. Allain JP, Mihaljevic I, Gonzalez-Fraile MI, et al. Infectivity of blood products from donors with occult hepatitis B virus infection. *Transfusion*. 2013 Jul;53(7):1405-15.
35. Weusten J, Vermeulen M, van Drimmelen H, et al. Refinement of a viral transmission risk model for blood donations in seroconversion window phase screened by nucleic acid testing in different pool sizes and repeat test algorithms. *Transfusion*. 2011 Jan;51(1):203-15.
36. Donegan E, Lenes BA, Tomasulo PA, et al. Transmission of HIV-1 by component type and duration of shelf storage before transfusion. *Transfusion*. 1990 Nov-Dec;30(9):851-2.
37. Busch MP, Operskalski EA, Mosley JW, et al. Factors influencing human immunodeficiency virus type 1 transmission by blood transfusion. Transfusion Safety Study Group. *J Infect Dis*. 1996 Jul;174(1):26-33.
38. McCullough J, Alter HJ, Ness PM. Interpretation of pathogen load in relationship to infectivity and pathogen reduction efficacy. *Transfusion*. 2019 Mar;59(3):1132-1146.
39. Prowse C. Properties of pathogen-inactivated plasma components. *Transfus Med Rev*. 2009 Apr;23(2):124-33.
40. AuBuchon JP, Herschel L, Roger J, et al. Efficacy of apheresis platelets treated with riboflavin and ultraviolet light for pathogen reduction. *Transfusion*. 2005 Aug;45(8):1335-41.
41. Snyder E, Raife T, Lin L, et al. Recovery and life span of 111indium-radiolabeled platelets treated with pathogen inactivation with amotosalen HCl (S-59) and ultraviolet A light. *Transfusion*. 2004 Dec;44(12):1732-40.
42. Rios JA, Hambleton J, Viele M, et al. Viability of red cells prepared with S-303 pathogen inactivation treatment. *Transfusion*. 2006 Oct;46(10):1778-86.
43. Cancelas JA, Dumont LJ, Rugg N, et al. Stored red blood cell viability is maintained after treatment with a second-generation S-303 pathogen inactivation process. *Transfusion*. 2011 Nov;51(11):2367-76.
44. Cancelas JA, Rugg N, Fletcher D, et al. *In vivo* viability of stored red blood cells derived from riboflavin plus ultraviolet light-treated whole blood. *Transfusion*. 2011 Jul;51(7):1460-8.
45. Drew VJ, Barro L, Seghatchian J, et al. Towards pathogen inactivation of red blood cells and whole blood targeting viral DNA/RNA: design, technologies, and future prospects for developing countries. *Blood Transfus*. 2017 Oct;15(6):512-521.
46. Allain JP, Goodrich R. Pathogen reduction of whole blood: utility and feasibility. *Transfus Med*. 2017 Oct;27 Suppl 5:320-326.
47. Ciaravino V, McCullough T, Cimino G. The role of toxicology assessment in transfusion medicine. *Transfusion*. 2003 Oct;43(10):1481-92.
48. Marschner S, Goodrich R. Pathogen Reduction Technology Treatment of Platelets, Plasma and Whole Blood Using Riboflavin and UV Light. *Transfus Med Hemother*. 2011;38(1):8-18.
49. Lin L, Conlan MG, Tessman J, et al. Amotosalen interactions with platelet and plasma components: absence of neoantigen formation after photochemical treatment. *Transfusion*. 2005 Oct;45(10):1610-20.
50. Reddy HL, Dayan AD, Cavagnaro J, et al. Toxicity testing of a novel riboflavin-based technology for pathogen reduction and white blood cell inactivation. *Transfus Med Rev*. 2008 Apr;22(2):133-53.
51. Kutac D, Bohonek M, Landova L, et al. Pathogen reduction of frozen platelets. *Vox Sang*. 2019;114:16.
52. Waters L, Padula MP, Marks DC, et al. Cryopreservation of UVC pathogen-inactivated platelets. *Transfusion*. 2019; 59: 2093-2102.
53. Meinke S, Wikman A, Gryfelt G, et al. Cryopreservation of buffy coat-derived platelet concentrates photochemically treated with amotosalen and UVA light. *Transfusion*. 2018; 58: 2657-2668.
54. Johnson L, Cameron M, Waters L, et al. The impact of refrigerated storage of UVC pathogen inactivated platelet concentrates on in vitro platelet quality parameters. *Vox Sang*. 2019 Jan;114(1):47-56.
55. Bohonek M, Řezáč D, Holub M. Production and use of convalescent plasma in COVID-19 treatment, taking into account the experience in the Central Military Hospital Prague. *Cas Lek Cesk*. 2020 Summer;159(5):175-180.
56. Kutac D, Bohonek M, Landova L, et al. Storage of UV light and riboflavin treated RBC after cryopreservation and reconstitution in AS-3 additive solution. *Vox Sang*. 2020; 115:P-296.