

Metoda inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych z zastosowaniem UVC

Elżbieta Lachert 

Zakład Transfuzjologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

Lachert E. Pathogen inactivation method using ultraviolet C light. JTM 2019; 12 (3): 83–87. DOI: 10.5603/JTM.2019.0005.

Należy cytować wersję pierwotną.

Streszczenie

Metody inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w składnikach krwi przeznaczonych do przetoczenia zaczęto wdrażać do rutynowej pracy placówek służby krwi w wielu krajach od końca lat 90 ubiegłego stulecia. Opracowano metodę chemiczną — solvent detergent — oraz metody oparte na reakcjach fotochemicznych i fotodynamicznych, takie jak: metoda z błękitem metylenowym, metoda z chlorowodorkiem amotosalenu oraz metoda z ryboflawiną. Składniki krwi poddane inaktywacji wyżej wymienionymi metodami, pomimo zastosowania procesu usuwania związków chemicznych (wyjątek stanowi metoda z ryboflawiną), zawierają śladowe ilości związków chemicznych. W związku z tym podjęto próby opracowania takiej metody inaktywacji, która nie wymagałaby dodawania związków chemicznych, a zastosowania jedynie promieniowania o odpowiedniej długości fali. Przykładem metody, w której zastosowano tylko UVC, bez dodawania związku fotouczulającego, jest system Theraflex UV Platelets, opracowany w celu inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w koncentratkach krwinek płytkowych (KKP). W systemie Therflex UV zastosowano promieniowanie o długość fali 254 nm, które nie jest absorbowane przez białka, dlatego też nie ma konieczności wykonywania konwencjonalnych testów toksyczności. Metoda jest skuteczna w stosunku do istotnych klinicznie bakterii G (+) i G (–) oraz wirusów i pierwotniaków. W badaniach klinicznych stwierdzono zmniejszone odzyskanie krwinek płytkowych poddanych inaktywacji metodą z UVC i skrócony czas ich przeżycia w organizmie biorcy.

Słowa kluczowe: inaktywacja czynników chorobotwórczych, naświetlanie UVC, koncentrat krwinek płytkowych

J. Transf. Med. 2019; 12: 77–82

Wstęp

Metody inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w składnikach krwi przeznaczonych do przetoczenia zaczęto wdrażać do rutynowej pracy placówek służby krwi w wielu krajach od końca lat 90. ubiegłego stulecia. Początkowo, opracowując metody inaktywacji w składnikach krwi, korzystano z doświadczenia zdobytego podczas opracowywania metod inaktywacji czynników zakaźnych

w procesie frakcjonowania osocza. Opracowaną w 1985 roku metodę rozpuszczalnik/detergent (SD), stosowaną w celu zmniejszenia ryzyka przeniesienia biologicznych czynników chorobotwórczych wraz z przetaczanymi produktami krwipochodnymi, poddano modyfikacji i od 1991 roku zastosowano także w odniesieniu do osocza przeznaczonego do użytku klinicznego. W tym samym czasie opracowano metodę z błękitem metylenowym, ograniczającą ryzyko przeniesienia czynników zakaźnych w osoczu [1, 2].

Adres do korespondencji: dr n. farm. Elżbieta Lachert, Zakład Transfuzjologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, ul. I. Gandhi 14, 02–776 Warszawa, tel.: 22 349 63 82, faks: 22 349 63 76, e-mail: elachert@ihit.waw.pl

Tabela 1. Metody inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w składnikach krwi

System	Theraflex MB Plasma	Intercept	Mirasol PRT	Theraflex UV-Platelets
Składnik krwi	Osocze	Osocze, KKP	Osocze, KKP	KKP, osocze?
CE (rok)	2000	KKP: 2002 osocze: 2006	KKP: 2007 osocze: 2008	KKP: 2009
Fotouczulacz	Błękit metylenowy	Chlorowodorek amotosalenu	Ryboflawina	Brak fotouczulacza
Fotoprodukty	Azur A, B, C; tionona	Dimery S-59	Lumichrom, lumiflawina i ich pochodne	Brak
Warunki inaktywacji	Światło widzialne 180 J/cm ²	UVA 3 J/cm ²	UV 6,24 J/cm ²	UVC 0,2 J/cm ²
Dodatkowe etapy	Plasmaflex, Bluflex	CAD	Nie dotyczy	Nie dotyczy

W pierwszej dekadzie XXI wieku wysiłki naukowców zaowocowały zarówno opracowaniem nowych metod inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w składnikach krwi, jak również ulepszeniem metod dotychczas stosowanych. Firma Macopharma zmodyfikowała metodę inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych z błękitem metylenowym w osoczu, opracowując system Theraflex MB-Plasma (oznakowanie CE--2000 r.).

Chlorowodorek amotosalenu zastosowano w systemie Intercept, opracowanym w celu inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych, początkowo w KKP (oznakowanie CE-2002 r.), a następnie w osoczu (oznakowanie CE-2006 r.). Z kolei w systemie Mirasol®PRT zastosowano ryboflawinę do inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w KKP (oznakowanie CE-2007 r.) i w osoczu (oznakowanie CE-2008 r.). Wyżej wymienione systemy są stosowane rutynowo w placówkach służby krwi w celu inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w osoczu i KKP, ale nadal trwają prace mające na celu wdrożenie metod umożliwiających inaktywację biologicznych czynników chorobotwórczych w krwi pełnej i KKCz oraz prace nad metodami inaktywacji, w których nie zastosowano związków fotouczulających [3–5].

Przykładem metody, w której zastosowano tylko UVC, bez dodawania związku fotouczulającego, jest system Theraflex UV Platelets, opracowany w celu inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w KKP. Metody inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w osoczu i w KKP różnią się zastosowaną długością fali promieniowania, wszystkie wymagają jednak zastosowania związku

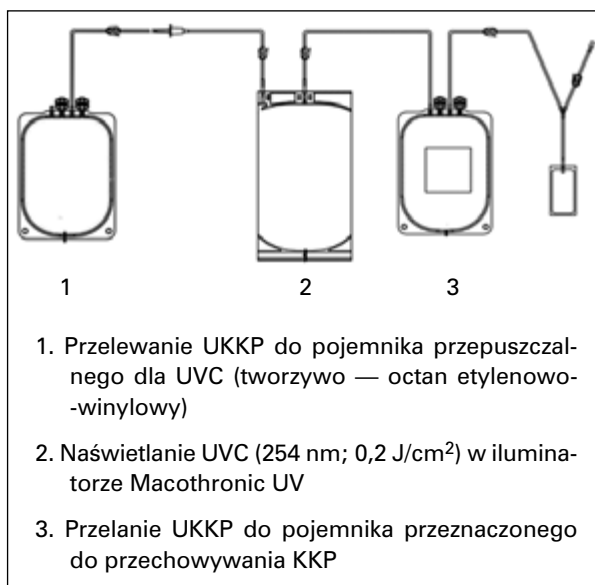
chemicznego, który razem z produktami jego reakcji należy usunąć po zakończeniu procesu. Wyjątek stanowi ryboflawina, która nie wymaga usuwania, ponieważ zarówno sama ryboflawina, jak i jej fotoprodukty występują fizjologicznie w organizmie człowieka (tab. 1).

Pomimo wprowadzenia etapu usuwania fotoproduktów ich śladowe ilości nadal jednak pozostają w przetaczanych składnikach krwi, stwarzając ryzyko wystąpienia niepożądanych reakcji przetoczeniowych [6]. W związku z tym podjęto próby opracowania takiej metody inaktywacji, która nie wymagałaby dodawania związków chemicznych, a zastosowania jedynie promieniowania o odpowiedniej długości fali [7].

Bakteriobójcze i wirusobójcze właściwości promieniowania UV znano od dawna, co więcej promieniowanie o długości 200–280 nm (UVC) stosowano już wcześniej w celu inaktywacji czynników chorobotwórczych w surowicy, w osoczu oraz w produktach krwiopochodnych takich, jak albumina, dożylnie immunoglobuliny oraz koncentraty czynnika VIII [8].

System Theraflex UV Platelets

W systemie Theraflex UV Platelets opracowanym w wyniku współpracy Niemieckiego Czerwonego Krzyża i firmy Macopharma zastosowano wyłącznie promieniowanie UVC, dlatego biorcy KKP poddanego inaktywacji w tym systemie nie są narażeni na działanie nawet śladowych ilości związku chemicznego. Skuteczność zastosowanego w tym systemie promieniowania UV zależy zarówno od długości fali i czasu naświetlania, jak i stopnia przepuszczalności tworzywa, z którego są wykonane pojemniki do naświetlania KKP.



Rycina 1. Proces inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w KKP przy zastosowaniu systemu Therflex UV Platelets (dzięki uprzejmości firmy Macopharma)

Proces inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w KKP przy zastosowaniu systemu Therflex UV Platelets przedstawiono na rycinie 1.

System Therflex UV Platelets otrzymał oznaczenie CE w 2009 roku, nie został jednak wprowadzony jeszcze do rutynowego stosowania [9].

W systemie Therflex UV Platelets nie zastosowano związku fotouczulającego, a promieniowanie o długość fali 254 nm, które nie jest absorbowane przez białka, dlatego też nie ma konieczności wykonywania konwencjonalnych testów toksyczności. Nie należy jednak zapominać o ocenie tolerancji i potencjalnej immunogenności KKP poddanych inaktywacji metodą z promieniowaniem UVC. Pohler i wsp. przeprowadzili takie badania z zastosowaniem modelu zwierzęcego. Psom wielokrotnie przetaczano autologiczne KKP poddane procesowi inaktywacji w tym systemie i nie stwierdzono żadnych objawów nietolerancji ani obecności markerów wskazujących na aktywację układu immunologicznego [10, 11].

Zasada działania metody z zastosowaniem UVC

Promieniowanie UVC zastosowane w systemie Therflex UV Platelets jest bezpośrednio absorbowane przez kwasy nukleinowe czynników zakaźnych i leukocytów, co powoduje tworzenie cyklobutanu pirymidyny (1,3-diazyny) oraz pirymidyno pirymidonowego dimeru, tj. związków,

które blokują transkrypcję kwasów nukleinowych, a tym samym inaktywują czynniki zakaźne i leukocyty. Inaktywacja jest skuteczna, jeżeli promieniowanie UVC dociera do wszystkich warstw KKP. Udowodniono, że optymalna absorpcja UVC możliwa jest tylko w połączeniu z orbitalnym, kontrolowanym wytrząsaniem KKP. Powoduje to tworzenie cienkich warstw KKP, dzięki czemu jest dostarczana skuteczna, homogeniczna dawka promieniowania. W ostatniej wersji systemu jest to dawka 0,2 J/cm² [12].

Skuteczność metody z zastosowaniem UVC

Wyniki badań oceniających skuteczność systemu Therflex UV Platelets potwierdziły zmniejszenie o ponad 4 log zawartości istotnych klinicznie bakterii G (+) i G (-) [10, 13].

Metoda inaktywacji z promieniowaniem UVC w różnym stopniu inaktywuje wirusy. Potwierdzono skuteczną inaktywację wirusów, takich jak: wirus pęcherzykowatego zapalenia jamy ustnej (VSV, *vesicular stomatitis virus*), wirus Sindbis (*Sindbis virus*) i wirus zapalenia wątroby typu C (HCV, *hepatitis C virus*). W przypadku czynników zakaźnych, takich jak wirus wścieklizny rzekomej (PRV, *pseudorabies virus*) i wirus Zachodniego Nilu (WNV, *West Nile virus*), inaktywacja jest mniej skuteczna. Metoda z zastosowaniem UVC jest mało skuteczna w stosunku do ludzkiego wirusa upośledzenia odporności (HIV, *human immunodeficiency virus*). Nie została ona dyskwalifikowana z dalszych etapów badań, ponieważ, w odróżnieniu od innych fotochemicznych lub fotodynamicznych metod inaktywacji, system Therflex UV Platelets skutecznie inaktywuje małe, bezotoczkowe wirusy DNA/RNA, między innymi takie jak świński parwowirus (PPV, *porcine parvovirus*), zmniejszając ich liczbę średnio o 4-5 log [10, 12].

Pilotażowe badania wykazały, że system wykorzystujący promieniowanie UVC skutecznie inaktywuje wewnątrzerytrocytarnego pierwotniaka — *Babesia divergens* — o ponad 6,0 log [14]. Stopień redukcji istotnych klinicznie bakterii, wirusów i pierwotniaków przedstawiono w tabeli 2.

System Therflex UV Platelets skutecznie inaktywuje także leukocyty. Stwierdzono, że zastosowanie nawet połowy rutynowej dawki energii (0,1 J/cm²) całkowicie hamuje zdolność proliferacyjną jednojądrzastych komórek w mieszanej hodowli limfocytów (MLC). Można zatem założyć, że zastosowanie promieniowania UVC zapobiega proliferacji limfocytów T odpowiedzialnych za

Tabela 2. Skuteczność metody inaktywacji z zastosowaniem promieniowania UVC

Bakterie	Stopień redukcji (log10)	Wirusy	Stopień redukcji (log10)
<i>Escherichia coli</i>	≥ 4,4	HIV-1	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	≥ 4,8	Kaczy HBV	≥ 2,8
<i>Staphylococcus aureus</i>	≥ 4,8	HCV	≥ 5,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	> 4,8	H5N1	≥ 5,1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	> 4,5	PRV	2–3
<i>C. perfringens</i>	≥ 4,7	Wirus Sindbis (model dla HCV)	≥ 5,3
<i>Enterobacter cloacae</i>	≥ 4,3	PPV (model dla parvo B19)	5,0
<i>Propionibacterium acnes</i>	4,5	HSV	≥ 2,8
Pierwotniaki	Stopień redukcji (log10)	WNV	3,5–4,0
<i>Trypanosoma cruzi</i>	> 6	EMCV	4,0–5,0
<i>Leishmania infantum</i>	> 6,0	VSV	≥ 6,3
<i>Babesia divergens</i>	> 6	Parvo B19	≥ 4,0
<i>Plasmodium falciparum</i>	≥ 4,9		

rozwięnięcie poprzetoczeniowej choroby przeszczep przeciw gospodarzowi (TA-GvHD, *Transfusion Associated Graft versus Host Disease*).

Wyniki badań *in vitro* potwierdzono w badaniach *in vivo* z zastosowaniem mysiego modelu ksenogenicznego przeszczepu. U myszy, którym przetaczano ludzkie limfocyty poddane wcześniej inaktywacji z UVC, nie stwierdzono obecności ludzkich limfocytów [15–17]. Promieniowanie UVC w dawce 0,1 J/cm² wystarczająco zabezpiecza komórki prezentujące antygen przed ich stymulacją komórkami allogenicznymi, a więc prawdopodobnie metoda z zastosowaniem takiego promieniowania może skutecznie zabezpieczać także przed alloimmunizacją antygenami.

Stwierdzono, że nawet po zastosowaniu promieniowania UVC w dawce 0,1 J/cm² (połowa dawki rutynowo stosowanej) następuje znaczące obniżenie stężenia cytokin w KKP (IL-1β i IL-6) oraz zahamowanie syntezy IL-8, cytokiny wydzielającej się w trakcie przechowywania, co znacznie ogranicza ryzyko wystąpienia niehemolitycznych, gorączkowych reakcji poprzetoczeniowych (FNHTR, *Febrile Non Hemolytic Transfusion Reaction*). Należy jednak pamiętać, że chociaż UVC obniża, a nawet hamuje syntezę cytokin pochodzących z leukocytów, to może powodować większe wydzielanie chemokin pochodzących z płytek krwi, między innymi takich jak CCL5 (RANTES).

Ocena integralności błony komórkowej, podobnie jak oznaczanie markerów apoptozy i ocena zdolności do proliferacji, jest badaniem oceniającym żywotność krwinek białych. Pohler i wsp. stwierdzili upośledzenie błony komórkowej leukocytów

w trzecim dniu przechowywania KKP w preparatach poddanych zarówno działaniu promieniowania gamma, jaki i UVC. W 7. dniu przechowywania w grupie KKP poddanych działaniu UVC stwierdzono całkowite upośledzenie błony komórkowej leukocytów, podczas gdy w grupie kontrolnej oraz w grupie KKP poddanych działaniu promieniowania gamma upośledzenie wynosiło zaledwie 20%. Nie stwierdzono różnic w upośledzeniu błon komórkowych leukocytów niezależnie od zastosowanej dawki promieniowania UVC, co sugeruje, że uszkodzenia mogą być równie silne przy zastosowaniu dawki niższej [14, 18–20].

Jakość KKP poddanych procesowi inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych w systemie Theraflex UV Platelets oraz badania kliniczne

Promieniowanie UVC nie tylko powoduje uszkodzenia kwasów nukleinowych czynników zakaźnych i leukocytów, ale także wpływa na własności funkcjonalne krwinek płytkowych i białek osocza. Stwierdzono, że promieniowanie UVC przerywa mostki S-S w glikoproteinie GPIIb/IIIa, białka receptorowego, należącego do rodziny integryn, które uczestniczą w procesach adhezji i agregacji krwinek płytkowych. Liczba opublikowanych prac na temat oceny jakości krwinek płytkowych inaktywowanych w systemie Therflex UV Platelets jest niewielka. W badaniu prowadzonym przez pracowników Niemieckiego Czerwonego Krzyża w KKP poddanych inaktywacji metodą z zastosowaniem promieniowania UVC stwierdzono

nieznacznie zwiększoną aktywność metaboliczną (większe zużycie glukozy i zwiększone nagromadzenie mleczanu) oraz niewielką aktywację (wyższa ekspresja antygenu CD 62) w porównaniu z KKP grupy kontrolnej.

W badaniach Bashir i wsp. potwierdzono zwiększoną aktywność metaboliczną, ale nie stwierdzono różnicy w stopniu aktywacji. Ekspresja antygenu CD 62P i ilości mikrocząstek utrzymywały się na tym samym poziomie przez 7 dni przechowywania. Aktywacja GP IIb/IIIa po zastosowaniu UVC jest spowodowana zmniejszeniem liczby dwusiarczkowych wiązań regulujących układ konformacyjny integrzyn. W badaniach stwierdzono jedynie umiarkowany wzrost wolnych grup tiolowych spowodowany rozerwaniem siarczkowych wiązań w GP IIb/IIIa w wyniku zastosowania promieniowania UVC.

System Therflex UV Platelets jest w trakcie kolejnych faz badań klinicznych. Pierwsza faza badań klinicznych wykazała, że poddane inaktywacji autologiczne KKP były dobrze tolerowane przez biorców.

Nie stwierdzono tworzenia przeciwciał przeciwko inaktywowanym krwinkom płytkowym. Stwierdzono tylko zmniejszone odzyskanie krwinek płytkowych i skrócony czas ich przeżycia w organizmie biorcy [21, 22].

Podsumowanie

Metoda z zastosowaniem UVC, podobnie jak pozostałe metody inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych, posiada zarówno zalety, jak i pewne ograniczenia.

Niewątpliwą zaletą metody z UVC jest brak konieczności dodawania związku fotocuczulającego, co powoduje, że biorca poddanych inaktywacji KKP nie jest narażony na działanie nawet śladowych ilości związku chemicznego. Metoda z UVC skutecznie inaktywuje istotne klinicznie bakterie G(+) i G(-) oraz skutecznie inaktywuje małe bezotoczkowe wirusy. Ponadto zmniejsza ryzyko przeniesienia pierwotniaków, takich jak *Trypanosoma cruzi* i *Leishmania infantum*, oraz skutecznie inaktywuje wewnątrzerytrocytarnego pierwotniaka — *Babesia divergens*. Metoda z UVC skutecznie inaktywuje leukocyty, w tym limfocyty T odpowiedzialne za TA-GvHD. Zatem, w przypadku konieczności przygotowania KKP dla pacjentów z grupy ryzyka rozwinięcia TA-GvHD, KKP poddane inaktywacji biologicznych czynników chorobotwórczych metodą z UVC, nie musi być dodatkowo poddawane procesowi napromieniania przy zastosowaniu radiatorów. Jednocześnie, wyniki badań pilotażowych

wskazują, że zastosowanie UVC nie tylko hamuje syntezę cytokin, ale także zabezpiecza biorców przed alloimmunizacją antygenami.

Oprócz wyżej wymienionych zalet metodę charakteryzują także pewne ograniczenia, takie jak: mała skuteczność w stosunku do HIV (tylko 1 log) oraz zwiększone wydzielanie chemokin pochodzących z krwinek płytkowych.

Piśmiennictwo

- Hellstern P, Sachse H, Schwinn H, et al. Manufacture and in vitro characterization of a solvent/detergent-treated human plasma. *Vox Sang.* 1992; 63(3): 178–185, doi: [10.1111/j.1423-0410.1992.tb05097.x](https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.1992.tb05097.x), indexed in Pubmed: 1448962.
- Mohr H, Lambrecht B, Selz A. Photodynamic virus inactivation of blood components. *Immunol Invest.* 1995; 24(1-2): 73–85, indexed in Pubmed: 7713607.
- Prowse CV. Component pathogen inactivation: a critical review. *Vox Sang.* 2013; 104(3): 183–199, doi: [10.1111/j.1423-0410.2012.01662.x](https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.2012.01662.x), indexed in Pubmed: 23134556.
- Schlenke P. Pathogen inactivation technologies for cellular blood components: an update. *Transfus Med Hemother.* 2014; 41(4): 309–325, doi: [10.1159/000365646](https://doi.org/10.1159/000365646), indexed in Pubmed: 25254027.
- Heiden M, Seitz R. Pathogen inactivation - regulators aspects. *ISBT Science Series.* 2010; 5(n1): 279–281, doi: [10.1111/j.1751-2824.2010.01382.x](https://doi.org/10.1111/j.1751-2824.2010.01382.x).
- Nubret K, Delhoume M, Orsel I, et al. Anaphylactic shock to fresh-frozen plasma inactivated with methylene blue. *Transfusion.* 2011; 51(1): 125–128, doi: [10.1111/j.1537-2995.2010.02800.x](https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2010.02800.x), indexed in Pubmed: 20667044.
- Hart H, Reid K, Hart W. Inactivation of viruses during ultraviolet light treatment of human intravenous immunoglobulin and albumin. *Vox Sang.* 1993; 64(2): 82–88, doi: [10.1111/j.1423-0410.1993.tb02523.x](https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.1993.tb02523.x), indexed in Pubmed: 8384394.
- Seghatchian J, Tolksdorf F. Characteristics of the THERAFLEX UV-Platelets pathogen inactivation system - an update. *Transfus Apher Sci.* 2012; 46(2): 221–229, doi: [10.1016/j.transci.2012.01.008](https://doi.org/10.1016/j.transci.2012.01.008), indexed in Pubmed: 22365926.
- Seltsam A, Müller TH. UVC Irradiation for Pathogen Reduction of Platelet Concentrates and Plasma. *Transfus Med Hemother.* 2011; 38(1): 43–54, doi: [10.1159/000323845](https://doi.org/10.1159/000323845), indexed in Pubmed: 21779205.
- Pohler P, Lehmann J, Veneruso V, et al. Evaluation of the tolerability and immunogenicity of ultraviolet C-irradiated autologous platelets in a dog model. *Transfusion.* 2012; 52(11): 2414–2426, doi: [10.1111/j.1537-2995.2012.03583.x](https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2012.03583.x), indexed in Pubmed: 22404822.
- Mohr H, Steil L, Gravemann U, et al. A novel approach to pathogen reduction in platelet concentrates using short-wave ultraviolet light. *Transfusion.* 2009; 49(12): 2612–2624, doi: [10.1111/j.1537-2995.2009.02334.x](https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2009.02334.x), indexed in Pubmed: 19682340.
- Walther-Wenke G, Doerner R, Montag Th, et al. Working party on Bacteria Safety in Transfusion Medicine of the Advisory Board of the German Ministry of Health (Arbeitskreis Blut), Berlin, Germany. Bacterial contamination of platelet concentrates prepared by different methods: results of standardized sterility testing in Germany. *Vox Sang.* 2006; 90(3): 177–182, doi: [10.1111/j.1423-0410.2006.00753.x](https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.2006.00753.x), indexed in Pubmed: 16507017.

13. Castro E, González LM, Rubio JM, et al. The efficacy of the ultraviolet C pathogen inactivation system in the reduction of *Babesia divergens* in pooled buffy coat platelets. *Transfusion*. 2014; 54(9): 2207–2216, doi: [10.1111/trf.12598](https://doi.org/10.1111/trf.12598), indexed in Pubmed: [24666393](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24666393/).
14. Pohler P, Müller M, Winkler C, et al. Pathogen reduction by ultraviolet C light effectively inactivates human white blood cells in platelet products. *Transfusion*. 2015; 55(2): 337–347, doi: [10.1111/trf.12836](https://doi.org/10.1111/trf.12836), indexed in Pubmed: [25134439](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25134439/).
15. Gravemann U, Pohler P, Lambrecht B, et al. Inactivation of peripheral blood mononuclear cells by UVC light using the Theraflex UV-Platelet system. *Transfus Med Hemother*. 2008; 35(suppl1): 4.
16. Jackman RP, Heitman JW, Marschner S, et al. Understanding loss of donor white blood cell immunogenicity after pathogen reduction: mechanisms of action in ultraviolet illumination and riboflavin treatment. *Transfusion*. 2009; 49(12): 2686–2699, doi: [10.1111/j.1537-2995.2009.02333.x](https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2009.02333.x), indexed in Pubmed: [19682337](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19682337/).
17. Heddle NM, Klama L, Singer J, et al. The role of the plasma from platelet concentrates in transfusion reactions. *N Engl J Med*. 1994; 331(10): 625–628, doi: [10.1056/NEJM199409083311001](https://doi.org/10.1056/NEJM199409083311001), indexed in Pubmed: [8052271](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8052271/).
18. Apolseth TO, Hervig TA, Wentzel-Larsen T, et al. Cytokine accumulation in photochemically treated and gamma-irradiated platelet concentrates during storage. *Transfusion*. 2006; 46(5): 800–810, doi: [10.1111/j.1537-2995.2006.00800.x](https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2006.00800.x), indexed in Pubmed: [16686848](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16686848/).
19. Verhaar R, Dekkers D, Cuyper IMDe, et al. UV-C irradiation disrupts platelet surface disulfide bonds and activates the platelet integrin IIb 3. *Blood*. 2008; 112(13): 4935–4939, doi: [10.1182/blood-2008-04-151043](https://doi.org/10.1182/blood-2008-04-151043).
20. Kannan M, Mohan KV, Kulkarni S, et al. Membrane array-based differential profiling of platelets during storage for 52 miRNAs associated with apoptosis. *Transfusion*. 2009; 49(7): 1443–1450, doi: [10.1111/j.1537-2995.2009.02140.x](https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2009.02140.x), indexed in Pubmed: [19389023](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19389023/).
21. Bashir S, Cookson P, Wiltshire M, et al. Pathogen inactivation of platelets using ultraviolet C light: effect on in vitro function and recovery and survival of platelets. *Transfusion*. 2013; 53(5): 990–1000, doi: [10.1111/j.1537-2995.2012.03854.x](https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2012.03854.x), indexed in Pubmed: [22905813](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22905813/).
22. Thiele T, Pohler P, Kohlmann T, et al. Tolerance of platelet concentrates treated with UVC-light only for pathogen reduction—a phase I clinical trial. *Vox Sang*. 2015; 109(1): 44–51, doi: [10.1111/vox.12247](https://doi.org/10.1111/vox.12247), indexed in Pubmed: [25754418](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25754418/).