

Inaktivacija patogenov v humani plazmi z riboflavinom in UV žarki: vpliv postopka na koagulacijski faktor VIII

Pathogen reduction in human plasma treated with Riboflavin and UV light: impact on coagulation factor VIII

Ana Milojkovič,¹ Marko Cukjati,¹ Dragoslav Domanović²

¹ Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, Štajmerjeva 6, Ljubljana

² European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), Stockholm, Sweden

Korespondenca/ Correspondence:

Ana Milojkovič, dr. med.,
specializantka transf.
med.

Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, Štajmerjeva 6, Ljubljana
email: ana.milojkovic@ztrm.si
tel. 01/5438-372

Ključne besede:

inaktivacija patogenov,
tehnologija Mirasol,
riboflavin, sveža
zmrznjena plazma, faktor
VIII

Key words:

pathogen reduction,
Mirasol technology,
riboflavin, fresh frozen
plasma, F VIII

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2012;
81 supl 2: II-281-8

Izvleček

Izhodišča: Pri inaktivaciji patogenov v krvi in krvnih pripravkih pričakujemo učinkovito neselektivno zmanjšanje števila patogenov, ki so sposobni replikacije, hkrati pa učinkovito ohranjanje kakovosti celic in beljakovin. Inaktivacija patogenov v humani plazmi s kombinacijo riboflavina (vitamina B₂) in UV žarkov temelji na nepovratni oksidativni poškodbi nukleinskih kislin. S tem je onemogočena nadaljnja replikacija morebiti prisotnih virusov, bakterij ali parazitov. Cilj naše raziskave je bil preveriti vpliv postopka inaktivacije na aktivnost koagulacijskega faktorja VIII (FVIII) v sveže zmrznjeni plazmi (SZP).

Metode: Testirali smo 30 enot SZP, pripravljenih iz odvzete polne krvi. Z zlivanjem po dveh enot sveže plazme enake krvne skupine ABo in ločevanjem zlitij ponovno na dva dela smo pripravili 15 parov sveže plazme (30 enot). V paru sta bili testna (FP), namenjena fotoinaktivaciji, in kontrolna (KP) enota. V FP smo dodali 35 mL riboflavina (500 µM) in jo obsevali z UV žarki (6,24 J/mL) z aparatom MIRASOL (Caridian BCT Biotechnologies, ZDA). V KP smo dodali 35 mL fiziološke raztopine, da smo dosegli enako stopnjo redčenja.

Po končani inaktivaciji smo iz vseh FP in KP enot odvzeli vzorce (1,5 mL) in jih zamrznili pri temperaturi -80 °C. FP in KP enote smo v 6 urah od odvzema zamrznili in shranili pri temperaturi -30 °C.

Po enem mesecu hranjenja smo vzorce odmrznili in primerjali koncentracijo FVIII v FP in KP enoti.

Rezultati: Mediana koncentracije FVIII v inaktivirani plazmi je bila 0,84 IE/mL (0,59–0,92 IE/mL), mediana odstotka retence FVIII je bila 68 % (59–78 %). Povprečni čas inaktivacije je bil 3 minute in 9 sekund ± 22 sekund.

Zaključek: Rezultati so pokazali, da proces inaktivacije patogenov z uporabo MIRASOL tehnologije vpliva na koncentracijo F VIII v plazmi. Zmanjšanje koncentracije FVIII v inaktiviranih enotah SZP je v skladu s priporočili in je primerljivo z zmanjšanjem koncentracije FVIII pri drugih načinih inaktivacije.

Abstract

Background: Pathogen reduction system is expected to effectively reduce pathogen load of blood components while simultaneously maintaining the quality of cells and proteins. Pathogen reduction in human plasma treated with a combination of riboflavin (vitamin B₂) and UV light is based on irreversible, oxydative damage of nucleic acids. In this way it prevents further replication of viruses, bacteria and parasites eventually present in the plasma. The aim of our study was to evaluate the influence of photo-inactivation process on the coagulation factor VIII (FVIII) present in plasma.

Methods: We have tested 30 units of fresh frozen plasma (FFP), obtained by processing single-

Prispelo: 23. mar. 2012,
Sprejeto: 8. jul. 2012

* V času nastajanja članka je bil Dragoslav Domanović zaposlen na Zavodu Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, Štajmerjeva 6, Ljubljana

donor whole blood. We have pooled two units of fresh plasma, identical ABO blood groups, and by dividing them got 15 pairs of fresh frozen plasma (30 units). One pair included a test unit, which will be photo-inactivated (FP) and a control unit (KP). We added 35 ml of riboflavin (500 µM) in the treated unit (FP) and illuminated it with UV light (6.24 J/ml) on the Mirasol Illuminator (Caridian BCT Biotechnologies; USA). In order to obtain equal dilution, we added 35 ml of saline into the control unit.

After illumination, we took samples (1.5 ml aliquots) from FP and KP and froze them at -80 °C. Control and treated plasma bags were frozen simultaneously at -30 °C.

After one month, samples were thawed and concentration of F VIII in FP and KP units were compared.

Results: Median value FVIII in the treated plasma was 0.84 IE/ml (0.59–0.92 IE/ml). Median percent recovery was 68 % (59–78 %). Average inactivation time was 3 minutes and 9 seconds ± 22 seconds .

Conclusion: The study results showed that the pathogen reduction process using Mirasol technology affects the concentration of F VIII in plasma. FVIII concentration in the treated units is consistent with the recommendations and is comparable to the concentration of FVIII after treatment with other inactivation methods.

Uvod

Transfuzija sveže zmrznjene plazme (SZP) je potrebna pri zdravljenju koagulopatij različne etiologije, trombotične trombocitopenične purpure in hipofibrinogenemije.¹ Podobno kot ostale krvne komponente je tudi transfuzija SZP povezana z različnimi neželenimi učinki, kot so alergične in anafilaktične reakcije, akutne poškodbe pljuč ob transfuziji, hemolitične reakcije in prenos nalezljivih bolezni. Z ukrepi na področju ozaveščanja potencialnih krvodajalcev, izborom varnih krvodajalcev, obveznim testiranjem vsake enote odvzete krvi in racionalno uporabo krvnih komponent se je verjetnost prenosa nalezljivih bolezni s transfuzijo bistveno zmanjšala. Kljub številnim ukrepom tveganja za prenos nalezljivih bolezni ne moremo povsem izničiti. Pojavljajo se tudi nove prenosljive bolezni, ki se s sodobnimi prevoznimi sredstvi hitro širijo in so vedno manj geografsko omejene.

Inaktivacija patogenov, ki se v zadnjih letih vedno bolj uveljavlja na področju transfuzijske medicine, predstavlja pomembno dopolnitev ukrepom, s katerimi preprečujemo prenos bolezni s transfuzijo. Zaradi neselektivnega delovanja na širok spekter različnih patogenov, ki se prenašajo s transfuzijo krvnih komponent, lahko učinkovito zmanjšamo verjetnost prenosa različnih znanih in neznanih patogenov. Danes je na voljo več različnih načinov inaktivacije patogenov v trombocitnih in plazemskih

komponentah z uporabo topil/detergentov ali s fotoinaktivacijo z metilenskim modrilom, riboflavinom in psoraleni. Tehnologija fotoinaktivacije trombocitov in plazme z riboflavinom, MIRASOL™ (Caridian BCT Biotechnologies, ZDA), temelji na kombinaciji riboflavina (45–85 µM) in UV žarkov (265–370 nm), ki sprožijo nepovratne spremembe nukleinskih kislin, predvsem v področju gvanina. Riboflavin (vitamin B2) je planarna molekula, ki se veže na nukleinske kisline in se aktivira pod vplivom UV žarkov. S posredovanjem prenosa elektronov in z ustvarjanjem prostih kisikovih radikalov modificira purinsko bazo gvanin, kar poškoduje nukleinske kisline in onemogoča virusno replikacijo.^{2,3} Po fotoinaktivaciji se nukleinske kisline ne morejo več pomnoževati in prepisovati v proteine. Prednost tega sistema je uporaba riboflavina kot fotosenzibilizatorja, saj je ta naravno prisoten v telesu in v obliki prekursorja za flavin mononukleotid (FMN) in flavin adenin dinukleotid (FAD) sodeluje pri prenosu elektronov v presnovnih procesih.² Kot vodotopen vitamin se hitro izloča skozi ledvice in se v telesu ne kopiči. Prav tako so v telesu naravno prisotni razgradni produkti riboflavina (lumikrom, lumiflavin, 2'ketoriboflavin, 4'ketoriboflavin in formilmetilflavin), ki nastajajo tudi med fotoinaktivacijo.^{3,4} Opravljenih je bilo več raziskav, ki so pokazale, da uporaba riboflavina in UV žarkov uspešno inaktivira viruse,² bak-

terije², parazite⁵⁻⁷ in levkocite⁸ v plazmi in trombocitih.

Uspešnost inaktivacije, izražena v logaritmičnih zmanjšanju koncentracije patogenov, je predvsem učinkovita za viruse z maščobno ovojnico, in sicer za virus človeške imunске pomanjkljivosti (HIV), virus hepatitisa C (HCV), virus hepatitisa B (HBV), citomegalovirus (CMV), virus Zahodnega Nila (WNV), virusa chikungunia in rabies od 2,1 log do 6,3 log. Deluje tudi na viruse brez maščobne ovojnice in je edina metoda inaktivacije, ki učinkuje tudi na virus hepatitisa A (HAV) s stopnjo redukcije 1,8 log in na parvovirus B19 za $\geq 5,1$ log. Deluje tudi na parazite od 3,2 do 5,0 log. Inaktivacija bakterij kaže 98-odstotno učinkovitost. Učinkovito inaktivira tudi limfocite T, in sicer za > 6 log.² Postopki inaktivacije, ki so na voljo, vplivajo na raven faktorjev strjevanja krvi in inhibitorjev koagulacije. Vpliv inaktivacije na posamezne faktorje strjevanja se med postopki razlikuje. Podatki kažejo, da

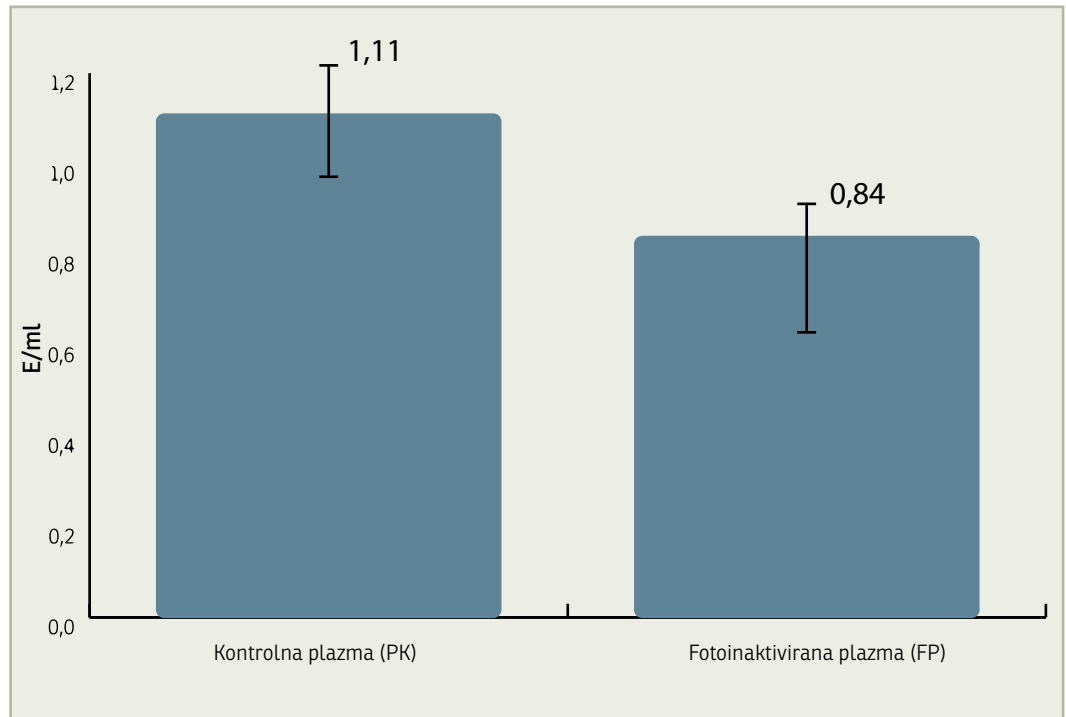
sta fibrinogen in FVIII najbolj občutljiva na postopek inaktivacije.⁹ Aktivnost FVIII je odvisna predvsem od pogojev odvzema polne krvi, shranjevanja pred predelavo in samih postopkov predelave in zamrzovanja. Podatkov o učinkovitosti sistema inaktivacije z riboflavinom v slovenskem okolju še nimamo. Določanje aktivnosti FVIII je del standardnega nabora laboratorijskih testov končne kontrole kakovosti SZP. V skladu z normativi mora biti povprečna aktivnost FVIII po odmrzovanju v SZP vsaj 0,7 IE / mL in v inaktivirani SZP vsaj 0,5 IE / mL.¹⁰ Namen našega dela je bil proučiti vpliv fotoinaktivacije z riboflavinom na aktivnost faktorja VIII v SZP.

Tabela 1: Aktivnost FVIII v kontrolni in obdelani plazmi in odstotek ohranjene aktivnosti v obdelani plazmi po končani inaktivaciji z uporabo riboflavina in UV žarkov.

Št. vzorca	Kontrolna plazma (PK) FVIII (E/ml)	Fotoinaktivirana plazma (FP) FVIII (E/ml)	Odstotek retence (%)
1	0.88	0.45	51.14
2	1.02	0.79	77.45
3	1.18	0.92	77.97
4	1.02	0.53	51.96
5	1.01	0.58	57.43
6	1.59	0.97	61.01
7	1.15	0.68	59.13
8	0.87	0.59	67.82
9	1.06	0.84	79.25
10	1.11	0.88	79.28
11	1.12	0.85	75.89
12	1.39	0.91	65.47
13	1.49	1.06	71.14
14	0.91	0.62	68.13
15	1.22	0.94	77.05
Me+CI	1.11 (1,01–1,22)	0.84 (0,59–0,92)	68.01(59–78)

Me–mediana, CI–interval zaupanja

Slika 1: Mediana z intervalom zaupanja za aktivnost faktorja VIII (IE/ml) v kontrolni plazmi (PK) in fotoinaktivirani plazmi (FP).



Material in metode dela

Zbiranje, predelava in priprava enot plazme

V študijo smo vključili 30 enot SZP, pripravljene iz odvzete polne krvi. V pripravo so bile vključene enote polne krvi krvodajalcev krvnih skupin A (12 enot), B (8 enot), o (6 enot) in AB (4 enote). Polno kri smo odvzeli v sistem četvornih TT (top and top) vrečk z 63 mL ohranitvene raztopine CPD (citrat fosfat dekstroza) in z vgrajenim levkocitnim filtrom ob uporabi mešalnih tehnic Optimix II (Baxter). Povprečna prostornina odvzete polne krvi je bila 447 ± 10 mL. V 8 urah od odvzema smo kri centrifugirali s centrifugo, Cryofuge 6000i (Heraeus,) 10 minut pri pospešku $4998 \times g$. Nato smo plazmo prelili v satelitno vrečko s pomočjo naprave za avtomatsko pripravo krvnih komponent CompoMat G5 (Fresenius Kabi). Povprečni volumen tako pripravljenih enot plazme je bil 262 ± 15 mL.

Po dve enoti pripravljene plazme iste krvne skupine smo najprej zlili skupaj in potem ločili na dva enaka dela v funkcionalno zaprt sistem s pomočjo vrečk za prelivanje in sistema za sterilno povezovanje plastičnih cevk Terumo TSCD (Terumo). Na ta način smo dobili 15 parov zlitih enot plazme,

pri katerih je bila ena enota kontrolna (KP), druga enota istega zlitja pa je bila namenjena fotoinaktivaciji (FP).

Vse pripravljene enote plazme so izpolnjevale naslednja vhodna merila za sistem fotoinaktivacije Mirasol (Caridian BCT Biotechnologies): volumen enote plazme 170–360 mL, koncentracija trombocitov $\leq 2,1 \times 10^6$ celic/mL, število eritrocitov $\leq 15 \times 10^9$ RBC/L, število levkocitov $\leq 1 \times 10^9$ WBC/L.

Inaktivacija patogenov

Vrečko s plazmo za fotoinaktivacijo smo sterilno povezali s sistemom za fotoinaktivacijo (Mirasol Plasma Illumination/Storage set, Caridian) in vanj prelili plazmo ter dodali 35 mL ($17,5 \mu\text{mol}$) raztopine riboflavina, da se doseže končna koncentracija v plazmi okrog $60 \mu\text{M}$. Iz vrečke s plazmo za obsevanje smo odstranili zrak in jo namestili v napravo za obsevanje (Mirasol Illuminator, Caridian). Naprava zagotavlja enakomerno odmerjanje UV žarkov valovne dolžine 285 do 365 nm v skupni količini $6,24 \text{ J/mL}$ ob linearnem mešanju vsebine vrečke s frekvenco 120 ciklov na minuto. Po zaključenem postopku obsevanja, ki je v povprečju trajal $3 \text{ min } 9 \text{ sek} \pm 22 \text{ sekund}$, smo inaktivirano plazmo pretočili v vrečko za shranjevanje.

KP nismo inaktivirali. Da bi dosegli enako stopnjo razredčitve, smo v KP dodali 35 mL fiziološke raztopine.

Vzorčenje in shranjevanje enot plazme

Po končani inaktivaciji smo iz kontrolnih in inaktiviranih enot plazme odvzeli po 1,5 mL vzorca in jih zamrznili v kriovialah pri temperaturi - 80 °C. Vse vrečke s plazmo smo zamrznili na napravi za hitro zamrzovanje plazme.

Po enem mesecu hranjenja smo vzorce plazme odmrznili v vodni kopeli pri + 37 °C in določili aktivnost FVIII v njih.

Testiranje vzorcev

Aktivnost F VIII smo določili s preiskusom na osnovi kromogenega substrata z reagenčnim kompletom ELECTRACHROME™ Factor VIII, HemosIL™ (Instrumentation Laboratory, IL) na napravi ACL 9000 proizvajalca Instrumentation Laboratory (IL) v specializiranem laboratoriju Hematološke klinike Kliničnega centra v Ljubljani.

Statistična obdelava podatkov

Glede na asimetrično porazdelitev rezultatov in velikost vzorca smo aktivnosti faktorja VIII prikazali kot mediano z intervalom zaupanja. Za inaktivirano skupino vzorcev smo izračunali še delež ohranjene (preostale) aktivnosti FVIII po inaktivaciji glede na vrednost v kontrolni skupini.

Rezultati

Mediana izmerjene aktivnosti FVIII v kontrolni skupini je bila 1,11 IE/mL (1,01–1,22 IE/mL) in v inaktivirani skupini pa 0,84 IE/mL (0,59–0,92 IE/ml) (Slika 1). Aktivnost

F VIII po inaktivaciji je bila 68 % (59–78 %) aktivnosti FVIII kontrolne plazme (Tabela 1).

Razpravljanje

V minulih desetletjih smo veliko storili na področju preprečevanja prenosa nalezljivih bolezni s transfuzijo krvnih komponent: izobraževanje in izbor varnih krvodajalcev, priprava punkcijskega mesta za odvzem krvi, preusmerjanja začetnih mililitrov krvi v epruvete za laboratorijsko testiranje, presejalno testiranje na sifilis, hepatitis B, C in HIV, sledljivost in odpoklic krvnih komponent, karantena zamrznjene plazme.¹¹ Preostalo tveganje za prenos bolezni s transfuzijo krvnih komponent, za katere se izvaja presejalno testiranje, je $1:10^7$ za HIV, $1:5 \times 10^7$ za HCV in $1:1,2 \times 10^6$ za HBV.¹² Upoštevati je potrebno tudi možnost bakterijske kontaminacije, prenosa parazitov in nove okužbe, ki v kombinaciji z globalizacijo, vse boljše komunikacijo in potovanji, predstavljajo značilno tveganje pri zdravljenju s krvnimi komponentami.¹³ Še posebej veliko tveganje predstavlja pojav novega povzročitelja bolezni s podaljšanim latentnim obdobjem inkubacije, ko lahko okuženi krvodajalci brez simptomov okužbe darujejo kri.

Prva med novonastajajočimi okužbami, ki je imela katastrofalne posledice na varnost transfuzije, je bil virus humane imunodeficiencie (HIV), ki je v 80. letih prejšnjega stoletja popolnoma spremenil razmišljanje in koncept o varni transfuzij. Po različnih ocenah je bilo namreč v letih od 1985 do 1993 v Evropi približno 6000 primerov okužb s HIV preko transfuzije.¹⁴ Pojav novih prenosov okužb s povzročitelji, kot so West Nile Virus (WNV) in virus chikungunia, kažejo, da so potencialne nevarnosti za oskrbo s krvjo nenehno prisotne.

Tabela 2: Odstotek retence faktorja VIII po inaktivaciji plazme z uporabo riboflavina in UV žarkov med objavljenimi študijami.

Študija	Način priprave plazme	Odstotek retence (%) ± SD
Hornsey V. in sodelavci ¹⁷	iz polne krvi	68,5 ± 3,3
Smith J. in Rock G. ¹⁸	afereza	75 ± 16
Larrea L. in sodelavci ¹⁹	iz polne krvi	81 ± 9

V tej luči sedanji »reaktivni« pristop k zagotavljanju varne krvi ne zadošča¹⁵, temveč je potreben bolj »proaktiven« pristop, kakršen je inaktivacija patogenov. Vse tehnologije inaktivacije patogenov v plazmi v manjši meri okvarijo tudi kompleksne plazemske beljakovine, med njimi tudi F VIII. Glavni izziv pri uvajanju novih tehnologij na področju inaktivacije plazme je, kako učinkovito in selektivno inaktivirati širok nabor različnih patogenov in hkrati ohraniti klinično učinkovitost plazme.

Pred uvedbo nove tehnologije inaktivacije plazme je potrebno izvesti validacijo, ki vključuje določanje aktivnosti FVIII v inaktivirani plazmi. Menimo, da je sistem Mirasol zaradi uporabe netoksičnih spojin in enostavne izvedbe eden od boljših pristopov inaktivacije, ki so trenutno na voljo. Zmanjšanje F VIII po inaktivaciji je bilo v primerjavi z neinaktivirano plazmo v predpisanih mejah. Mediana aktivnosti F VIII za inaktivirano plazmo v naši raziskavi je bila 0,84 IE/ml (0,59–0,92 IE/ml), ob mediani deleža ohranjene (preostale) aktivnosti 68 % (51–79 %).

Pri eni od fotoinaktiviranih enot SZP je bila aktivnost FVIII po inaktivaciji nižja od priporočene, in sicer 0,45 IE/ml (Tabela 1). Pri tej enoti plazme je bila tudi v kontrolni enoti aktivnost faktorja sorazmerno nizka, in sicer 0,88 IE/ml. Ker je bila to prva enota plazme, ki smo jo inaktivirali, je možno, da je prišlo do napake pri izvedbi postopka ali odvzemu vzorca. Koncentracija FVIII pri vseh ostalih inaktiviranih enotah plazme je bila v skladu s Priporočili Sveta Evrope za svežo zmrznjeno plazmo, in sicer nad 50 IE /100 mL.¹⁰

Naši izsledki so tudi v skladu z Britanskimi smernicami, ki predpisujejo aktivnost FVIII v SZP po fotoinaktivaciji z metilenskim modrilom (MB) in svetlobo najmanj 0,5 IE/mL, pri čemer mora pogoj izpolnjevati vsaj 75 % testiranih enot.¹⁶

Odstotek ohranjene (preostale) aktivnosti FVIII v plazmi naše študije je primerljiv z rezultati drugih študij.¹⁷⁻¹⁹(Tabela 2)

Omenjene študije beležijo tudi značilno znižanje fibrinogena, čeprav so vrednosti v skladu s Priporočili Sveta Evrope, in sicer

odstotek retence ≥ 60 % svežih enot plazme.¹⁰

V obsežnejših raziskavah so pokazali, da so drugi faktorji koagulacije po fotoinaktivaciji z riboflavinom dobro ohranjeni. V študiji ki so je izvedli Hornsey s sodelavci, je bila vrednost celokupnih proteinov popolnoma ohranjena; aktivnost faktorjev V, VII, IX in X je bila 79–80 %. Faktor XI je bil občutljivejši na postopek inaktivacije in je obdržal 67 % aktivnosti. Aktivnost von Willebrandovega faktorja, ADAMTS 13 in vrednosti antikoagulacijskih faktorjev (proteina C, α 2 antiplazmina, antitrombina III in proteina S) je bila dobro ohranjena.¹⁷

Inaktivacija z riboflavinom ima v primerjavi s tehnologijo inaktivacije plazme s topilom in detergentom (SD plazma), ki se od vseh najdlje uporablja, kar nekaj prednosti. Zaradi nižje koncentracije proteina S in inhibitorjev plazmina ob transfuziji SD plazme pogosteje prihaja do tromboemboličnih zapletov,²⁰ še zlasti pri presaditvi jeter zaradi znižanja vrednosti α 2 antiplazmina.²¹ Glede na to, da postopek inaktivacije plazme z riboflavinom inaktivira tudi dajalčeve levkocite, je metoda učinkovita tudi pri preprečevanju akutne transfuzijske okvare pljuč (TRALI), febrilnih nehemolitičnih transfuzijskih reakcij in s transfuzijo povezane reakcije presadka proti gostitelju.⁸

V navedenih študijah so pokazali, da se vrednost beljakovin v SZP ohrani zaradi sorazmerno kratkega časa zamrzovanja. Po Priporočilih Sveta Evrope lahko SZP hranimo do tri leta pri temperaturi - 25 °C.¹⁰ V obsežni raziskavi je Bimm s sodelavci²² dokazal, da vrednosti beljakovin v SZP, inaktivirani z riboflavinom, tudi po dveh letih hranjenja ustreza zahtevanim merilom. Prav tako je Ettinger s sodelavi dokazal, da je po odtajanju SZP, inaktivaciji in ponovnem zamrzovanju aktivnost koagulacijskih proteinov ustreza do dve leti.²³

Vse navedeno poenostavi logistiko in omogoča inaktivacijo že obstoječe SZP v ustanovah. Dodatna prednost je tudi v tem, da glede na naravno prisotnost in dobro znan toksikološki profil riboflavina ni potrebno odstranjevati po inaktivaciji, kar značilno poenostavi postopek in zniža izgubo plazme med postopkom.

Zaključek

Inaktivacija patogenov v krvnih komponentah je proaktivni pristop pri preprečevanju prenosa nalezljivih bolezni s transfuzijo. Glavni cilj sistemov za inaktivacijo je neselektivna inaktivacija patogenov ob ohranjenosti kakovosti celic in plazemskih sestavin. V naši raziskavi smo pokazali, da je odstotek preostalega (ohranjenega) FVIII v plazmi, inaktivirani z riboflavinom, v skladu z vrednostmi v priporočilih Sveta Evrope in primerljiv z izsledki v literaturi.

Za poglobljeno oceno vpliva inaktivacije na kakovost plazme bi bilo potrebno preveriti aktivnost tudi nekaterih drugih faktorjev strjevanja krvi, predvsem faktorja IX in fibrinogena.

Zahvala

Avtorica se zahvaljuje asist. dr. Tadeju Pajiću in sodelavcem v Specializiranem hematološkem laboratoriju kliničnega oddelka za hematologijo, Interna klinika, UKC Ljubljana, ki so izvedli analizo vzorcev in določanje aktivnosti faktorja VIII. Zahvaljuje se tudi vsem sodelavcem na Zavodu za transfuzijsko medicino, ki so sodelovali v postopku testiranja.

Literatura

- Zver S, Domanovič D, Stecher A. Priporočila za uporabo in zdravljenje s svežo zmrznjeno plazmo. *Zdrav Vestn* 2012; 81: 7–15.
- Susanne M, Raymond G: Pathogen Reduction Technology Treatment of Platelets, Plasma and Whole Blood Using Riboflavin and UV Light. *Transf Med Hemother* 2011; 38: 8–18.
- Kumar V, Lockerbie O, Keil SD, Ruane PH, Platts MS, Martin CB, et. all: Riboflavin and UV-light based pathogen reduction: extent and consequence of DNA damage at the molecular level. *Photochem Photobiol* 2004; 80: 15–21.
- Hardwick CC, Herivel TR, Hernandez SC, Ruane PH, Goodrich RP: Separation, identification and quantification of riboflavin and its photoproducts in blood products using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection: a method to support pathogen reduction technology. *Photochem Photobiol* 2004; 80: 609–15.
- Tonnetti L, Proctor MC, Reddy HL, Goodrich RP, Leiby DA: Evaluation of the Mirasol pathogen reduction technology system against *Babesia microti* in apheresis platelets and plasma; *Transfusion* 2010; 50: 1019–27.
- Cardo LJ, Salata J, Mendez J, Reddy H, Goodrich R: Pathogen inactivation of *Trypanosoma cruzi* in plasma and platelet concentrates using riboflavin and ultraviolet light; *Transfus Apher Sci* 2007; 37: 131–7.
- Cardo LJ, Rentas FJ, Ketchum L, Salata J, Harman R, Melvin W et al: Pathogen inactivation of *Leishmania donovani* infantum in plasma and platelet concentrates using riboflavin and ultraviolet light. *Vox Sang* 2006; 90: 85–91.
- Fast LD, DiLeone G, Li J, Goodrich R: Functional inactivation of white blood cells by Mirasol treatment. *Transfusion* 2006; 46: 642–8.
- Rock G: A comparison of methods of pathogen inactivation of FFP. *Vox Sang* 2011; 100: 169–78.
- European committee on Blood transfusion. Guide to the preparation, use and quality management of blood components. 16th ed.; 2010: 312–20.
- Klein HG: Will blood transfusion ever be safe enough? *Jama* 2000; 284: 238–40.
- Williamson LM, Cardigan R, Prowse CV. Methylene blue-treated fresh-frozen plasma: what is its contribution to blood safety? *Transfusion* 2003; 43: 1322–9.
- Susan L. Stramer, F. Blaine Hollinger, Louis M. Katz, Steven Kleinman, Peyton S, Metzler, Kay R. Gregory et al.: Emerging infectious disease agents and their potential threat to transfusion safety. *Transfusion* 2009; 49: 1S–29S.
- Franceschi S, Dal Maso L, La Vecchia C.: Trends in incidence of AIDS associated with transfusion of blood and blood products in Europe and United States, 1985–93. *BMJ* 1995; 311: 1534–6.
- Bryant BJ, Klein HG.: Pathogen inactivation, The Definitive Safeguard for the Blood Supply. *Arch Pathol Lab Med.* 2007; 131: 719–33.
- British Committee for Standards in Haematology (BCSH). Blood Transfusion task force. Guidelines for the use of fresh frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant. *British Journal of Haematology* 2004; 126: 11–28.
- Hornsey VS, Drummond O, Morrison A, McMillan L, Mac Gregor IR, Prowse CV: Pathogen reduction of FFP using riboflavin and ultraviolet light: effect on plasma coagulation proteins. *Transfusion* 2009; 49: 2167–72.
- Smith J, Rock G.: Protein quality in Mirasol pathogen reduction technology treated, apheresis derived fresh-frozen plasma. *Transfusion* 2010; 50: 926–31.
- Larrea L, Calabuig M, Roldan V, Rivera J, Tsai HM, Vincente V, Roig R: The influence of riboflavin photochemistry on plasma coagulation factors. *Transf Apher Sci* 2009; 41: 199–204.
- Yarranton H, Lawrie AS, Purdy G, Mackie IJ, Machin SJ. Comparison of von Willebrandt factor antigen, von Willebrandt factor cleaving protease and protein S in blood components used for treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transf.med* 2004; 14: 39–44.
- DeJonge J, Groenland T, Metselaar H, Ijzermans J, vanVliet H, Visser L, et al. Fibrinolysis During Liver Transplantation is Enhanced by using Solvent/Detergent Virus-Inactivated Plasma (ESDEP®). *Anesth Analg* 2002; 94: 1127–31.
- Bihm D, Ettinger A, Buytaert-Hoefen K, Hendrix B, Maldonado-Codina G, Rock G, Giclas P, Goodrich RP: Characterisation of plasma protein activity in riboflavin and UV light-treated fresh frozen plasma during 2 years of storage at -30°C. *Vox Sang* 2010; 98: 108–15.
- Ettinger A, Miklaur MM, Hendrix B, Bihm D, Maldonado-Codina G, Goodrich RP: Protein stability of previously frozen plasma, riboflavin and UV light-treated, refrozen and stored up to 2 years at -30 °C. *Transfus Apher Sci* 2011; 44: 25–31.