

AUS DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG
PROF. DR. NORBERT AHRENS
KLINISCHE CHEMIE UND LABORATORIUMSMEDIZIN

„BACTERIAL CONTAMINATION RATES
IN EXTRACORPORAL PHOTOPHERESIS“

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Irene Pamler

2021

AUS DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG
PROF. DR. NORBERT AHRENS
KLINISCHE CHEMIE UND LABORATORIUMSMEDIZIN

„BACTERIAL CONTAMINATION RATES
IN EXTRACORPORAL PHOTOPHERESIS“

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Irene Pamler

2021

Dekan: Prof. Dr. Dirk Hellwig

1. Berichterstatter: Prof Dr. N. Ahrens
2. Berichterstatter: Prof. Dr. D. Wolff

Tag der mündlichen Prüfung: 28.01.2021

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	4
1.1. Photopherese	4
1.1.1. Allgemeines zur Photopherese.....	4
1.1.2. Ablauf der extrakorporalen Photopherese	5
1.1.3. Technische Voraussetzungen	6
1.1.4. Wirkweise der Photopherese.....	6
1.1.5. Transfusion von Blutprodukten	7
1.1.6. Sterilkontrollen in Blutprodukten.....	8
1.1.7. Sterilkontrollen in Photopheresen.....	8
2. Fragestellung	8
3. Eigene Arbeit	9
4. Diskussion der Ergebnisse.....	17
5. Zusammenfassung.....	19
6. Literaturverzeichnis	20
7. Danksagung	
8. Lebenslauf	

1. Einleitung

Die Behandlung und bestenfalls Heilung erkrankter Patienten ist eine große Herausforderung in der medizinischen Versorgung. Hierfür steht der modernen Medizin glücklicherweise eine Vielzahl von Methoden zur Verfügung, seien es Operationen, Medikamente und andere den Patienten begleitende Therapien. Stellenwert haben sowohl altbewährte Verfahren, wie zum Beispiel Antihypertensiva zur Behandlung des arteriellen Hypertonus, als auch neuere Behandlungsmöglichkeiten, wie sie zum Beispiel die Zelltherapie in Form von Stammzelltransplantation [1] oder der CAR-T-Zelltherapie bei Lymphomen [2] möglich macht.

Eine Zelltherapie, bei der es Erfahrungswerte von über 30 Jahren gibt, ist die Photopherese. Diese wird eingesetzt, um Krankheitsbilder wie das Sèzary-Syndrom, Graft-versus Host Erkrankungen oder Sklerodermie zu behandeln [3]

Bei dieser Therapie wird Blut des Patienten mittels Apherese gewonnen, mit 8-Methoxypsoralen (8-MOP) und UV-A Licht behandelt und anschließend dem Patienten retransfundiert [4].

Das bei der Photopherese entstandene Produkt sollte frei von Keimen sein, da nach Retransfusion kontaminierten Patientenblutes Infektionen auftreten könnten.

Eine solche Kontamination des Photophereseproduktes kann zum einen im Herstellungsprozess auftreten. Es kann aber auch eine bereits vorliegende Bakteriämie des Patienten ein mit Keimen kontaminiertes Photophereseprodukt erbringen.

In jedem Fall erfordert sowohl die Behandlung des Patienten als auch Handhabung des Patientenblutes höchste Sorgfalt.

1.1. Photopherese

1.1.1. Allgemeines zur Photopherese

Bereits 1500 v. Chr. wurde beschrieben, dass Hauterkrankungen wie z.B. Vitiligo mit einer Kombination aus Sonnenlicht und Kräutern behandelt wur-

den. Diese Kräuter enthielten wahrscheinlich Psoralen, das auch heute essentieller Bestandteil der Photopherese ist [5].

1987 beschrieben Edelson et. al. die extrakorporale Photopherese zur Behandlung kutaner T-Zell Lymphome [6].

Zum heutigen Zeitpunkt bestehen für verschiedene Erkrankungen die Indikation zur Photopherese [7].

Bei kutanem T-Zell-Lymphom mit Erythrodermie ist z.B. die Photopherese Erstlinientherapie. Zweitlinientherapie ist die Photopherese z.B. bei akuten oder chronischen Graft-versus-Host Erkrankungen. Für Erkrankungen wie Psoriasis, M. Crohn, atopisches Ekzem oder zellulärer Abstoßungsreaktion nach Herztransplantation kann ebenfalls eine Photopheresebehandlung sinnvoll sein.

1.1.2. Ablauf der extrakorporalen Photopherese

Patienten, bei denen eine extrakorporale Photopherese durchgeführt werden soll, werden über einen periphervenösen Zugang oder einen zentralvenösen Zugang mit Hilfe eines sterilen Einmalschlauchsystems an ein apheresetaugliches Gerät angeschlossen.

Hierbei wird das dem Patienten entnommene Vollblut zentrifugiert, wodurch die einzelnen Blutkomponenten nach ihrem spezifischen Gewicht aufgeteilt werden und somit der sogenannte Buffy Coat mit enthaltenen mononukleären Zellen in einen Sammelbeutel geleitet wird.

Die übrigen Blutbestandteile werden dem Patienten wieder zurückgeführt.

Das so entstandene Photophereseprodukt wird mit 8-MOP versehen und anschließend entweder mit Hilfe eines separaten Bestrahlungsgerätes oder mit einer im Apheresegerät integrierten Bestrahlungseinheit mit UV-A Licht behandelt.

Dieses Photophereseprodukt wird dem Patienten retransfundiert [8].

Um einen therapeutischen Effekt der Behandlung zu erzielen, müssen mehrere Photopheresebehandlungen durchgeführt werden. Je nach Erkrankung gibt es unterschiedliche Therapieprotokolle. Diese können z.B. zweimal wöchentliche Photopheresen über mehrere Monate oder länger notwendig beinhalten [7].

1.1.3. Technische Voraussetzungen

Photopheresen können mit Hilfe verschiedener apheresetauglicher Geräte durchgeführt werden. Bei sogenannten Open Offline Geräten wie Cobe Spectra (Cobe, Terumo BCT, Lakewood, CO, USA), Spectra Optia (Optia, Terumo BCT) oder Amicus (Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) ist eine separate Bestrahlungseinheit notwendig. Als Antikoagulans wird Zitronensäure (ACD-A) benutzt und in seltenen Fällen bei vermehrter Koagelbildung zusätzlich Heparin. Bei diesen Geräten sind zwei venöse Zugänge notwendig: Ein venöser Zugang, über den Blut in das Apheresegerät geleitet wird und ein weiterer venöser Zugang, über den das Blut aus dem Gerät zurück in den Patienten geleitet wird.

Bei Closed Inline Photopheresen kann UVAR XTS Therakos verwendet werden. Dieses Apheresegerät besitzt eine integrierte Bestrahlungseinheit. Bei diesem Verfahren wird Heparin als Antikoagulans verwendet. Dieses Verfahren benötigt nur einen venösen Zugang der sowohl als Entnahme- als auch Rückgabelleitung fungiert [9].

In dieser hier durchgeführten Studie war die Frage, welches Gerät für welchen Patienten verwendet wurde, auch vom Zustand des peripheren Venensystems der Patienten abhängig. Waren die peripheren Venen des Patienten in einem adäquaten Zustand für ein Apherese, wurde eher ein Open Offline Gerät verwendet.

War nur eine Vene vorhanden, über die die Photopherese durchgeführt werden konnte, wurde eher das Closed Inline Gerät verwendet.

Bei nicht ausreichend peripherem Venenzustand war ein zentralvenöser Zugang notwendig, über den die Photopherese durchgeführt wurde.

1.1.4. Wirkweise der Photopherese

Photopheresen beeinflussen das Immunsystem. Die genaue Wirkweise ist trotz jahrzehntelanger klinischer Erfahrung nicht in Gänze geklärt. Folgende Effekte sind jedoch bekannt:

Im Photophereseprodukt befinden sich Lymphozyten, welche das zugegebene 8-MOP aufnehmen. Durch UV-A Bestrahlung kann eine Interkalierung in die DNA beobachtet werden, was zu einer Apoptose der aktivierten Lymphozyten führt. Hieraus resultieren eine Zunahme antiinflammatorischer Zytokine sowie eine Reduktion proinflammatorischer Zytokine. Des Weiteren kann ein Anstieg von regulatorischen T-Zellen (CD4+/CD25/ FoxP3) verzeichnet werden [8] .

Auch eine Aktivierung von Thrombozyten über die Kunststoffoberflächen spielt eine Rolle. Diese Aktivierung wird noch durch Fibrinogen, das an GPIIB/IIIA Rezeptor bindet, verstärkt. Diese Thrombozyten können über P-Selectin (CD62P) weitere Monozyten aktivieren, die so zu unreifen antigenpräsentierenden dendritischen Zellen werden. Nach Reinfusion phagozytieren diese unreifen dendritischen Zellen lymphatische Zellen, was zu einer Reifung der dendritischen Zellen und einer weiteren Antigenpräsentation führt [10].

Des Weiteren wird das vor Photopherese erhöhte TNF α und IL-6 Niveau nach Reinfusion des Photophereseproduktes reduziert. Mehr CD36+ Makrophagen werden nach der Therapie gefunden. Das Ungleichgewicht von Th1/Th2 Zellen, wie es z.B. beim Sèzary Syndrom vorliegt, wird wieder ausgeglichen. Interessanterweise werden bei anderen Erkrankungen, wie zum Beispiel der Graft-versus-Host-Erkrankung, durch die Photopherese andere Effekte erzielt. Th2 Helferzellen, IL-4, IL-10 sowie TGF- β liegen vermehrt vor, wohingegen es im Rahmen der Reduktion von IL-12, IL-1, Interferon α und TNF α zu vermehrter Apoptose mononukleärer Zellen kam [3].

Diese genannten Mechanismen sind Teil des immunmodulierenden Effekts, die zusammenspielen und somit den Therapieerfolg der Photopherese mitverantworten.

1.1.5. Transfusion von Blutprodukten

Diverse Krankheitsbilder können eine Transfusion von Blutprodukten notwendig machen, sei es bei akutem Blutverlust oder bei Stammzelltransplantation und anschließender Versorgung bis eine körpereigene Blutbildung wiederhergestellt ist.

Die notwendigen Blutproduktgaben bergen aber natürlich auch Risiken, wie zum Beispiel die potentielle Übertragung von Viren oder Bakterien. Das Risiko sich z.B. durch Blutproduktübertragung mit HIV, HBV oder HCV trotz Nukleinsäure Amplifikationstests (NAT) zu infizieren wird in Industriestaaten mit $<1:1000000$ [11] angegeben.

1.1.6. Sterilkontrollen in Blutprodukten

Ein anderes potentielles Keimübertragungsrisiko ist die Kontamination von Blutprodukten während des Herstellungsprozesses.

Bis zur Einführung des sog. Predonation Samplings und verbesserter Desinfektionsmaßnahmen betrug die Kontaminationsrate von Blutprodukten gesunder Spender 1-2% [12]. Das Predonation Sampling, welches den Verwurf der ersten ca. 30ml des gespendeten Blutes beschreibt, konnte dieses Risiko auf 0,03% reduzieren [13].

Vergleicht man dies mit autologen Stammzelltransplantaten und somit mit Blutprodukten von Spendern mit einer hämatologischen Grunderkrankung, können Kontaminationsraten von 4,5% vorliegen [14].

1.1.7. Sterilkontrollen in Photopheresen

Das am Ende der Photopheresebehandlung transfundierte Blut – das Photophereseprodukt - sollte frei von Krankheitserregern sein.

Dieses Photophereseprodukt kann jedoch während der Behandlungsschritte kontaminiert werden.

Es kann aber auch eine bislang klinisch inapparente Bakteriämie bei diesen teils schwerst erkrankten Patienten vorliegen.

Daten zu Sterilkontrollen in Photopheresen existierten jedoch bisher nicht.

2. Fragestellung

In dieser Arbeit wird untersucht, inwieweit Photophereseprodukte und Patientenblut, das bereits vor der Photopheresetherapie abgenommen wurde, durch Krankheitserreger kontaminiert sind.

Es wird des Weiteren beurteilt, ob in diesem Zusammenhang die Verwendung unterschiedlicher Geräte (Inline oder Offline Geräte) oder unterschiedliche venöse Zugänge (peripherer oder zentralvenöser Zugang) eine Rolle spielen.





Die statistische Auswertung erfolgte mit Microsoft Excel und R.

Blutkulturen wurden in aeroben und anaeroben Blutkulturflaschen über einen Zeitraum von 7 Tagen inkubiert. Bei positiver Blutkultur wurden diese isoliert und massenspektrometrisch differenziert.

3. Eigene Arbeit

Publiziert wurde diese Arbeit in der Zeitschrift Transfusion [15] .

Bacterial contamination rates in extracorporeal photopheresis

Irene Pamler,^{1,†} Eva Richter,^{1,†} James A. Hutchinson ,² Viola Hähnel ,¹ Ernst Holler,³ André Gessner,⁴ Ralph Burkhardt ,¹ and Norbert Ahrens ^{1,5}

BACKGROUND: Extracorporeal photopheresis (ECP) is an immunosuppressive treatment that involves leukocyte apheresis, psoralen and UV light treatment, and subsequent reinfusion. Patients treated with ECP are usually immunosuppressed. Bacterial contamination therefore poses a much unwanted risk, but incidence data are lacking.

PATIENTS AND METHODS: We screened all 1922 consecutive ECP procedures scheduled within a roughly 3-year period for eligibility. Those with missing data on ECP method (inline or offline) or type of venous access (peripheral or central) were excluded. ECPs with complete aerobic and anaerobic microbial testing of baseline patient blood samples ($n = 1637$) and of ECP cell concentrates ($n = 1814$) were included in the analysis.

RESULTS: A test for microbial contamination was positive for 1.82% of the cell concentrates, with central venous access was the most significant risk factor for the contamination (odds ratio = 19). Patient blood samples were positive in 3.85% of cases, but no patients became septic. *Staphylococcus* spp. were most abundant, and products with bacterial contamination did not cause side effects after reinfusion. There were no significant differences in contamination rates between inline and offline ECP.

CONCLUSION: These findings stress the importance of sterile procedures and the benefits of using peripheral over central venous access for reducing the risk of bacterial contamination in ECP.

Extracorporeal photopheresis (ECP) is a therapeutic procedure consisting of leukocyte apheresis, treatment of the collected cells with 8-methoxypsoralen (8-MOP), ultraviolet A (UVA) light irradiation, and subsequent binding of 8-MOP with DNA, and subsequent reinfusion of treated product back to the patient without storage.¹ This therapy adds to transplantation tolerance or in autoimmune diseases and is typically applied for patients that are refractory to first line therapy and that are often subject to a complex immunosuppressive regimen.²

The required medical devices are available as combined equipment with apheresis and UVA irradiation in a single machine (inline ECP), or as separate devices (offline ECP). The latter requires that the user connects the leukapheresis bag with the UV irradiation bag, as the former is not UVA permeable. The components may be connected prior to the procedure (closed ECP), or during the procedure while the patient is connected (open ECP, sometimes classified differently by regulatory authorities). Possible combinations of these are closed inline, closed offline, and

From the ¹Institute for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, the ²Department of Surgery, the ³Department of Hematology and Oncology, and the ⁴Institute of Clinical Microbiology and Hygiene, University Hospital Regensburg, Regensburg, and ⁵Institute for Laboratory Diagnostics, Microbiology, and the Transfusion Medicine, Sozialstiftung Bamberg, Germany.

Address reprint requests to: Norbert Ahrens, University Hospital Regensburg, Institute for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine Franz-Josef-Strauss-Allee, 11 93053 Regensburg, Germany; e-mail: norbert.ahrens@ukr.de.

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

[†]These authors contributed equally to this project and should be considered co-first authors.

Received for publication December 6, 2019; revision received February 27, 2020, and accepted March 1, 2020.

doi:10.1111/trf.15801

© 2020 The Authors. *Transfusion* published by Wiley Periodicals, Inc. on behalf of AABB.

TRANSFUSION 2020;60;1260–1266

open offline ECP. Apart from this, both ECP types require connections to apply 8-MOP.

To start with ECP, leukapheresis requires access to peripheral veins or a central venous catheter (CVC). Peripheral venous access used to cause bacterial contamination in 1–2% of healthy blood donors until the advent of pre-donation sampling, a preventive measure that introduced a bag to the tubing system for the initial 15–30 mL of the donation process.^{3,4} This in combination with improved skin disinfection lowered the rate of microbial contamination to approximately 0.03%.^{5,6} In autologous stem cell transplant (ASCT), on the other hand, bacterial contamination rates of up to 4.5% are still common.^{7,8} The affected patients are treated under antibiotic protection, as there is sufficient time between donation and reinfusion to obtain diagnostic test results.⁹ In ECP, however, bacterial contamination typically remains undetected, because the ECP product is quickly reinfused without bacterial testing. Undetected bacteria could, in principal, have severe consequences. Up to now, data on bacterial contamination rates in ECP are lacking. Therefore, we retrospectively collected and analyzed data from sterility testing of ECP procedures performed at our institution to get to know the incidence of bacterial contamination in ECP patients and products.

PATIENTS, MATERIALS, AND METHODS

Patients

A total of 1922 ECP procedures scheduled at our hospital from September 26, 2012 through August 31, 2015 were screened for eligibility (Table 1). Most of the patients (79%) had suffered graft-versus-host disease (GvHD) after autologous stem cell transplantation and received treatment on the basis of their clinical symptoms for several weeks to several months. Patients with other conditions like cutaneous autoimmune diseases were usually treated for longer periods. Treatment frequencies were adjusted to clinical needs. Treatments that met eligibility criteria were included in the analysis as outlined in Fig. 1.

ECP treatment protocol

Treatment was carried out as either closed inline or open offline ECP as described above.¹⁰ Closed inline photopheresis can be administered with a single needle and was therefore preferentially but not exclusively used for patients with limited venous access. Other patients received offline ECP.

Photopheresis was carried out as described previously.¹⁰ Briefly, standardized open offline ECP and closed inline ECP procedures were used.¹¹ Open offline ECP was performed with the Cobe Spectra (Cobe, Terumo BCT), Spectra Optia (Optia, Terumo BCT) or the Amicus (Fresenius Kabi) device using acid citrate dextrose (ACD-A) for anticoagulation. Heparin was additionally used if clotting was observed. Patients received calcium as required. ECP

TABLE 1. Patient characteristics

Patients*	68
Sex (male [%] / female [%])	57,4%/42,6%
Age [years]	53 (2–73)
Diagnoses*	
Acute GvHD	29
Chronic GvHD	25
Sézary's disease	4
Atopy	1
Scleroderma	4
Psoriasis	1
Crohn's disease	1
Bronchiolitis obliterans following lung transplantation	3
Number of treatments per patient	19 (1–136)
Total number of completed treatments	1868
Closed inline ECP (Uvar XTS)	25.3%
Open offline ECP (Cobe)	71.7%
Open offline ECP (Optia)	1.9%
Open offline ECP (Amicus)	0.8%
Missing data on method	0.2%

Numbers represent median value with range in parentheses unless otherwise indicated.
* Total number.

was delivered via a central or peripheral venous access depending on the condition of the patient's veins.

Required connections in open offline ECP were between patient and apheresis tubing set, for sampling and 8-MOP application, to the UV irradiation bag, and back to the patient. Transfusion sets with 200 µm filters were used for the latter.

Closed inline ECP was performed with the Uvar XTS (Therakos). There were no connection steps apart from venous punctation and sampling with 8-MOP addition.

Sterility testing

Blood samples for sterility testing were taken from the peripheral or central venous line before the start of apheresis. Samples from the cell concentrates were taken before 8-MOP addition and UV illumination at the bedside, as closed inline ECP does not allow removal of the bag. Treatments and sampling were performed in controlled environment equipped with H13 filtered ventilation. Aerobic and anaerobic culture bottles (BD Bactec Standard Anaerobic/F and Aerob/F, respectively) were incubated for 7 days at 30–32°C with a sample volume of 3–5 mL and 7–10 mL, respectively. Positive cultures were isolated and differentiated by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI TOF, Bruker Daltonik GmbH Life Sciences) mass spectrometry, and antibiotic resistance testing was performed using the BD Phoenix system.

Statistical analysis

Data was collected in Microsoft Excel 2010, and R was used to calculate statistical significance using the Wilson score interval with continuity correction using its built-in prop.test function.

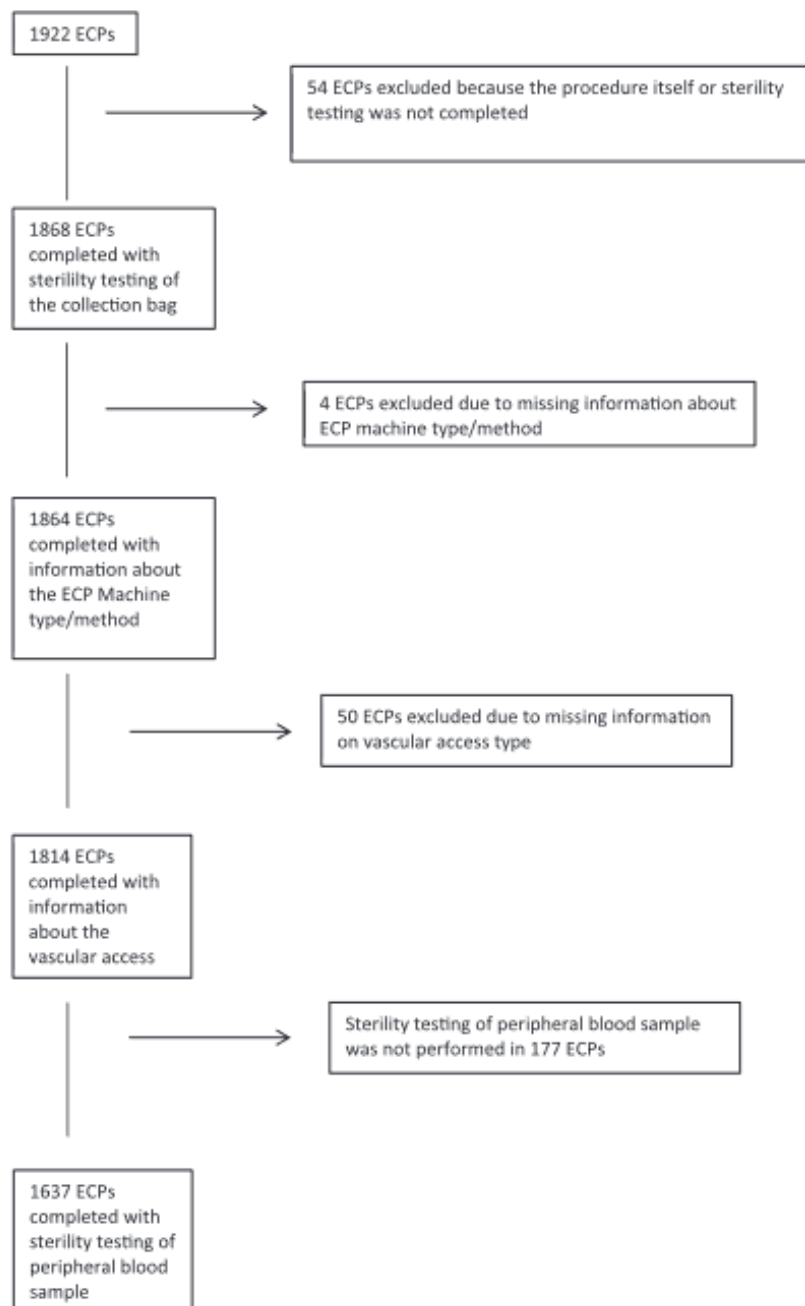


Fig. 1. Patient recruitment and causes of drop out.

RESULTS

Bacterial contamination rate

Complete information on the ECP method (online or offline), type of vascular access (central or peripheral), and

bacterial contamination rate (sterility testing) was available for 1814 ECP cell concentrates. We identified a positive microbial test results in a total of 33 ECP cell concentrates (1.82%). Central venous access, which was required in 20%

of the ECP procedures, was more frequently associated with bacterial contamination of ECP cell concentrates (7.38% positive) than peripheral access (0.41% positive, Table 2, $p < 2.2 \times 10^{-16}$, odds ratio 19). Patient blood samples collected before the start of the procedure were available in 1637 cases. From these, 63 tested positive, with significant differences between central and peripheral venous access (Table 2, $p = 0.0026$, odds ratio 2.3).

Overall, we found 73 cases of 1637 treatments, in which sterility testing was positive either in cell concentrates and/or patient blood samples. The rate of overlap between procedures with positive ECP cell concentrates and positive patient blood sample was low (16 of 73, 22%). In an additional 10 procedures, only the cell concentrate was positive (14%), and in another 47 instances, only the patient blood sample was positive (64%).

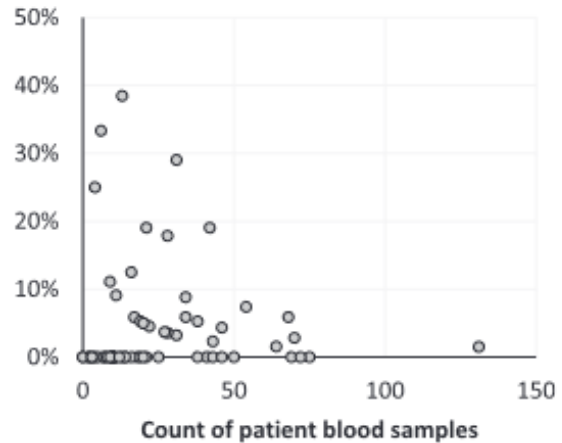
Patient blood samples had a significantly higher contamination rate than samples from cell concentrates (3.85% of 1637 vs. 1.82% of 1814 respectively, $p = 0.00044$). Contamination proportions in patients' blood and in cell concentrates were not equally distributed. The frequency of positive samples for patients' blood and for cell concentrate samples was unequally distributed (Fig. 2). Patients with fewer ECP treatments tended to have more frequent unsterile findings.

Of note, we did not detect significant differences between inline and offline ECP with regard to bacterial detection rates in ECP cell concentrates or patient blood samples ($p = 0.068$ and $p = 1$, respectively, Table 2). In addition, none of the bacterially contaminated products caused adverse events upon reinfusion.

Bacterial species distribution

Samples testing positive for microbiological contamination exhibited a large and heterogeneous variety of germs. The majority of the identified bacteria or fungus belong to the human skin flora, mouth flora, and/or intestinal flora: *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*, *Acinetobacter Iwoffii*, *Actinomyces odontolyticus*, *Staphylococcus capitis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hominis*, *Citrobacter freundii*, *Candida guilliermondii*, *Enterobacter cloacae*, *Prevotella bivia*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Staphylococcus haemolyticus*,

A. Patients with unsterile blood samples



B. Patients with unsterile cell concentrates

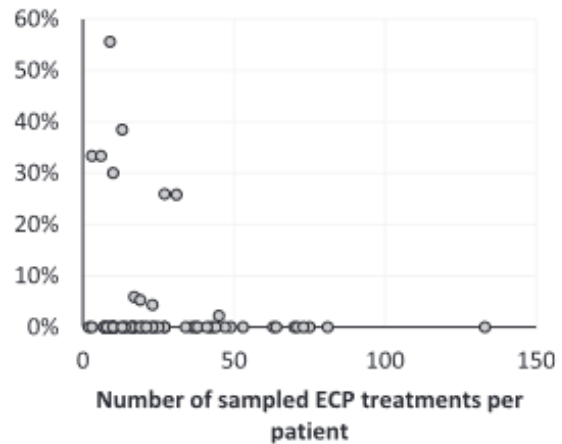


Fig. 2. Proportion of unsterile samples from peripheral or central venous blood (A) or from ECP cell concentrates (B) per patient.

	ECP products			Patient blood		
	Percent positive	95% CI	n	Percent positive	95% CI	n
(A)						
Offline ECP	2.18%	(1.50–3.13%)	[30/1378]	3.93%	(2.94–5.22%)	[48/1220]
Inline ECP	0.69%	(0.18–2.17%)	[3/436]	3.60%	(2.10–6.00%)	[15/417]
(B)						
Peripheral access	0.41%	(0.17–0.95%)	[6/1448]	3.11%	(2.27–4.23%)	[41/1319]
Central venous access	7.38%	(5.00–10.68%)	[27/366]	6.92%	(4.49–10.44%)	[22/318]

* Detection rates refer to different sample populations.

TABLE 3. Bacterial species in ECP cell concentrates and in patients' blood

	Closed inline ECP*	Open offline ECP*	Patient's blood†
Peripheral venous access			
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	—	4	13
<i>Staphylococcus aureus</i>	—	1	13
<i>Prevotella bivia</i>	—	1	1
<i>Propionibacterium acnes</i>	—	—	1
Spore	—	—	1
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	—	—	1
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	—	—	1
<i>Staphylococcus capitis</i>	—	—	2
<i>Micrococcus luteus</i>	—	—	2
<i>Staphylococcus hominis</i>	—	—	1
<i>Bacillus altitudinis</i>	—	—	1
<i>Bacillus pumilus</i>	—	—	1
<i>Bacillus subtilis</i>	—	—	1
<i>Citrobacter freundii</i>	—	—	1
<i>Haemophilus parainfluenza</i>	—	—	1
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	—	—	3
<i>Staphylococcus simulans</i>	—	—	1
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	—	—	1
Central venous access			
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	12	11
<i>Staphylococcus capitis</i>	—	7	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	—	1	1
<i>Enterococcus faecium</i>	—	2	—
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	—	1	1
<i>Micrococcus luteus</i>	—	—	1
<i>Staphylococcus hominis</i>	—	—	1
<i>Candida guilliermondii</i>	—	—	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	—	—	1
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	—	1	—

* Data from 1814 procedures.
† Data from 1637 procedures.

Staphylococcus simulans, *Staphylococcus lugdunensis*, *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Capnocytophaga ochracea*.

In addition, some species are environmental bacteria that can be found in soil, air, and/or water: Spores, *Micrococcus luteus*, *Bacillus pumilus* (resistant to UV light), *Candida guilliermondii*, *Enterobacter cloacae*, and *Pseudomonas aeruginosa*. Interestingly, *Bacillus altitudinis* is a germ which was first isolated from cryogenic tubes used for collecting air samples from high altitudes.¹²

Five patient blood samples contained two different bacteria (*Acinetobacter lwoffii* and *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus simulans* and *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus lugdunensis* and *Staphylococcus capitis*, *Prevotella bivia* and *Haemophilus parainfluenza*). In one of these cases, the cell concentrate also tested positive, but only for one bacterial species (*Prevotella bivia*).

The distribution of detected bacterial species separated by ECP system type is shown in Table 3.

DISCUSSION

In this large retrospective study, we found an overall microbial contamination rate of 1.82% in the cell concentrates of extracorporeal photopheresis. This figure is comparable to that of apheresis procedures for the collection of other blood components, such as platelets and hematopoietic stem cells.

Bacterial contamination rates in platelet concentrates from healthy donors reportedly range from 0.01 to 0.2%.¹³ The frequency of positive culture tests that failed in confirmation testing is usually higher, i.e., 0.11 to 0.72%.^{5,14,15} Negative confirmation testing can occur due to inappropriate diagnostic techniques and may reflect contamination with low numbers of bacteria in the inoculum or with bacteria that require special growth conditions. We did not distinguish between these factors and included all positive findings. Thus, the initial positive frequencies are technically closer to those observed in our patients.

Bacterial contamination rates in hematopoietic stem cell apheresis range from 0.2 to 24%, averaging about 3%.¹⁶ Higher frequencies in patients may be caused by additional handling steps during the procedure. These include disinfection as well as the diversion of the first milliliters after venipuncture for predonation sampling which, however, has been shown to substantially decrease the contamination rate.¹⁷ The type of venous access used is another difference between healthy blood donors and patients undergoing apheresis. In our study, a central venous catheter (CVC) was required in 20% of ECP procedures, and CVC use was associated with a 19-fold higher risk for cell concentrate contamination. Though none of the patients became obviously septic at the time of treatment, these findings illustrate the risk of bacteremia in patients with a central venous line.

Microbial contamination risk was not evenly distributed among the patients. We found a subgroup of patients with a high frequency of contaminations up to a maximum of 56% of the cell concentrates. Patients with high contamination rates had a comparable low treatment number, e.g., because of uncontrollable grade IV graft-versus-host disease. In addition, central venous catheter contamination contributed to positive findings. Bacterial contamination in these patients indicates therefore at least in part the severity of the underlying disease.

Bacterial contamination may be impacted by the type of centrifugation. Recently intermittent flow with the Amicus (Fresenius Kabi) was shown to be disadvantageous in platelet apheresis compared to continuous flow apheresis using the Trima (Terumo BCT).^{18,19} This disfavors inline ECP that uses intermittent flow technique. On the other hand, the buffy coat layer of bacteria is unknown. Bacteria could distribute freely in plasma, or they could sediment together with red blood cells and platelets. Intermittent flow apheresis using the Latham bowl technique as in Therakos devices, in contrast to the technique used within the Amicus, collects less selected

cell suspensions in general,^{10,20} though there are exceptions to this.²¹ Inferior collection ability of inline ECP could translate to a reduced bacterial enrichment. In addition, this method processes lower blood volumes, thus further decreasing the possibility of contamination in bacteremic patients.

Higher collection ability of offline ECP methods translates to successful single day treatments.²² Inline ECP, in contrast, requires treatments on two adjacent days.

In our study, no significant differences were observed between microbial contamination in inline and offline ECP. Patients were not randomized and preferentially treated offline, if a central venous access was available. Central venous lines, in contrast to venous canula, are handled in a sterile way. However, this is more than outweighed by the risk from inapparent catheter infections. The contamination risk was thus increased in offline ECP in our study.

The difference in microbial contamination rates between ECP cell concentrates (1.82%) and patient blood samples (3.85%) might be explained by the fact that the latter samples were collected before apheresis and, thus, had the same effect as predonation sampling. In addition, the apheresis technology itself could have contributed to bacterial depletion to some degree as described above.

We found 24 different bacterial species with *Staphylococcus* spp. being most abundant. Most of the bacteria we detected were part of human skin flora. These may indicate a contamination by the handling steps. However, these may also indicate that patients for ECP with skin diseases cannot be disinfected successfully with standard procedures. Contamination with the same bacterial type in bag and patient supports this explanation.

The type of bacterial contamination is of relevance from a clinical point of view, as antibiotic susceptibility depends in part on the species. From a technical point of view, there is no contamination that can be regarded as acceptable. There are no commensal bacteria in cell suspensions.

Regardless of the cause of microbial contamination, it is highly unwanted. Patients referred for ECP are usually severely immunosuppressed like in solid organ transplantation or graft-versus-host disease. Their risk for septic complications is therefore increased. On the other side, bacterial contamination of ECP is questionable for two reasons. First, ECP cell concentrates are not stored but reinfused immediately after UV treatment, thus eliminating the chances for bacterial replication. Second, 8-MOP injection with subsequent UV light exposure acts like a pathogen inactivation that reduces bacterial growth potential by several log units.²³ Thus, it can be assumed that any relevant bacterial replication potential is effectively reduced in ECP treatment.

Pathogen inactivation by ECP, however, is speculative. It is therefore mandatory to avoid contamination as much as possible. Disinfection before venipuncture or central line connection was done following a standardized protocol in this study. Patients in need of ECP frequently have skin conditions that are prone to bacterial infections as illustrated by the findings of this study. Thus, effective skin disinfection

techniques such as those defined for whole blood donation should also be used in ECP.²⁴ In addition, the presented data do clearly favor peripheral access for ECP, as contamination by central venous access is by far the most significant risk for bacterial contamination.

This study is the first to evaluate bacterial contamination in ECP cell suspension bags and in ECP patients. Sterility sampling was scheduled for every treatment within the study period, and all patients were considered for inclusion. Most patients and treatments could be included, but drop-outs could have impacted the results to some degree. Data have also to be interpreted with caution, as patient and treatment factors with potential impact on contamination, such as venous access and therefore type of ECP, were chosen on a clinical basis and not according to this study. Though it is not possible to conclude on ECP types, it seems reasonable to recognize the contamination risk for ECP in general, especially for patients with central venous access.

The relevance of these findings is unclear, as ECP comprises always pathogen inactivation and cell suspensions would not be stored. This disfavors bacterial testing. The clinical relevance, however, is unclear, and clinical follow up was helpful. In addition, the clinical relevance of inapparently contaminated catheters in these frequently immunosuppressed patients calls for further studies.

ACKNOWLEDGMENTS

Support for this work was funded by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG, German Research Foundation), project ID B13 – TRR221 given to AG and EH.

We would like to thank the team of operators and physicians who conducted the photopheresis procedures for their help, support, and excellent handling of the whole ECP process.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have disclosed no conflicts of interest.

REFERENCES

1. Schneiderman J. Extracorporeal photopheresis: cellular therapy for the treatment of acute and chronic graft-versus-host disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2017;2017: 639-44.
2. Schwartz J, Padmanabhan A, Aqui N, et al. Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice—evidence-based approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: The Seventh Special Issue. *J Clin Apher* 2016;31: 149-338.
3. Chassaigne M, Vassort-Bruneau C, Allouch P, et al. Reduction of bacterial load by predonation sampling. *Transfus Apher Sci* 2001;24:253.

4. Liunbruno GM, Catalano I, Piccinini V, et al. Reduction of the risk of bacterial contamination of blood components through diversion of the first part of the donation of blood and blood components. *Blood Transfus* 2009;7:86-93.
5. Walther-Wenke G, Wirsing von König CH, Däubener W, et al. Monitoring bacterial contamination of blood components in Germany: effect of contamination reduction measures. *Vox Sang* 2011;100:359-66.
6. Hilmyer CD, Josephson CD, Blajchman MA, et al. Bacterial contamination of blood components: risks, strategies, and regulation: joint ASH and AABB educational session in transfusion medicine. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2003;1:575-89.
7. Schwella N, Zimmermann R, Heuft HG, et al. Microbiologic contamination of peripheral blood stem cell autografts. *Vox Sang* 1994;67:32-5.
8. Kozłowska-Skrzypczak M, Bembnista E, Kubiak A, et al. Microbial contamination of peripheral blood and bone marrow hematopoietic cell products and environmental contamination in a stem cell bank: a single-center report. *Transplant Proc* 2014;46:2873-6.
9. Klein MA, Kadidlo D, McCullough J, et al. Microbial contamination of hematopoietic stem cell products: incidence and clinical sequelae. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006;12:1142-9.
10. Brosig A, Hähnel V, Orsó E, et al. Technical comparison of four different extracorporeal photopheresis systems. *Transfusion* 2016;56:2510-9.
11. Ahrens N, Geissler EK, Witt V, et al. European reflections on new indications for extracorporeal photopheresis in solid organ transplantation. *Transplantation* 2018;102:1279-83.
12. Shivaji S, Chaturvedi P, Suresh K, et al. *Bacillus aerius* sp. nov., *Bacillus aerophilus* sp. nov., *Bacillus stratosphericus* sp. nov. and *Bacillus altitudinis* sp. nov., isolated from cryogenic tubes used for collecting air samples from high altitudes. *Int J Syst Evol Microbiol* 2006;56:1465-73.
13. Prax M, Bekeredjian-Ding I, Krut O. Microbiological screening of platelet concentrates in Europe. *Transfus Med Hemother* 2019;46:76-86.
14. Schrezenmeier H, Walther-Wenke G, Müller TH, et al. Bacterial contamination of platelet concentrates: results of a prospective multicenter study comparing pooled whole blood-derived platelets and apheresis platelets. *Transfusion* 2007;47:644-52.
15. Vuk T, Barišić M, Hećimović A, et al. Bacterial contamination of blood products at the Croatian Institute of Transfusion Medicine: results of eleven-year monitoring. *Transfus Med* 2012;22:432-9.
16. Störmer M, Wood EM, Schurig U, et al. Bacterial safety of cell-based therapeutic preparations, focusing on haematopoietic progenitor cells. *Vox Sang* 2014;106:285-96.
17. Satake M, Mitani T, Oikawa S, et al. Frequency of bacterial contamination of platelet concentrates before and after introduction of diversion method in Japan. *Transfusion* 2009;49:2152-7.
18. Bravo M, Shaz BH, Kamel H, et al. Detection of bacterial contamination in apheresis platelets: is apheresis technology a factor? *Transfusion* 2015;55:2113-22.
19. Eder AF, Dy BA, DeMerse B, et al. Apheresis technology correlates with bacterial contamination of platelets and reported septic transfusion reactions. *Transfusion* 2017;57:2969-76.
20. Bueno JL, Alonso R, Gonzalez-Santillana C, et al. A paired trial comparing mononuclear cell collection in two machines for further inactivation through an inline or offline extracorporeal photopheresis procedure. *Transfusion* 2019;59:340-6.
21. Piccirillo N, Putzulu R, Massini G, et al. Inline extracorporeal photopheresis: evaluation of cell collection efficiency. *Transfusion* 2019;59:3714-20.
22. Cid J, Carbasse G, Suarez-Lledo M, et al. Efficacy and safety of one-day offline extracorporeal photopheresis schedule processing one total blood volume for treating patients with graft-versus-host disease. *Transfusion* 2019;59:2636-42.
23. Schlenke P. Pathogen inactivation technologies for cellular blood components: an update. *Transfus Med Hemother* 2014;41:309-25.
24. McDonald C, McGuane S, Thomas J, et al. A novel rapid and effective donor arm disinfection method. *Transfusion* 2010;50:53-8. □

4. Diskussion der Ergebnisse

In dieser Arbeit wurden erstmalig im Rahmen einer retrospektiven Studie die Kontaminationsraten von Photophereseprodukten sowie Patientenblut vor Beginn der extrakorporalen Photopherese untersucht. Des Weiteren wurde untersucht, ob ein Unterschied in der Kontaminationsrate besteht, je nachdem, welcher venöse Zugang benutzt wurde, und ob die Verwendung unterschiedlicher Apheresegeräte eine Rolle spielt.

Die Kontaminationsrate der Photophereseprodukte belief sich auf 1,82%. Diese Kontaminationsrate war Kontaminationsraten autologer Stammzellapheresate ähnlich, welche sich auf 0,2% bis 24%, durchschnittlich ca. 3%, belaufen [16].

In 20% der Fälle war im Rahmen dieser Studie ein zentralvenöser Zugang notwendig. Dies war mit einem 19fach höheren Risiko für eine Kontamination mit Krankheitserregern assoziiert als ein periphervenöser Zugang.

Des Weiteren wurde bei Patienten, die insgesamt nur wenige Photopheresebehandlungen erhielten, eine Kontaminationsrate der Photophereseprodukte von bis zu 56% gefunden. Die niedrige Behandlungsfrequenz lag z.B. an einer unkontrollierbaren Graft-versus-Host Erkrankung Grad IV und dem vorzeitigen Abbruch der Therapie. Dies läßt einen Zusammenhang zwischen der Schwere der Erkrankung und eines kontaminierten Photophereseproduktes vermuten.

Die verwendeten Geräte, Open Offline oder Closed Inline Geräte, wiesen keine Unterschiede in den bakteriellen Kontaminationsraten auf.

Jedoch könnte bei Photopheresen die Verwendung unterschiedlicher Geräte trotzdem eine Rolle spielen und zwar aus folgendem Grund:

Bei der Herstellung von Apheresethrombozytenkonzentrate war die verwendete Technik ein relevanter Unterschied. Bei Geräten, die mittels intermittierenden Fluss Thrombozyten apheresierten, lagen höhere Kontaminationsraten der Thrombozytenkonzentrate vor als bei Geräten, die mit kontinuierlichen Fluss arbeiteten [17,18].

Closed Inline Geräte, wie die UVAR XTS, sind mit einer sog. Latham Bowl ausgestattet, welche mittels intermittierenden Fluss Zellen sammelt. Bei Open

Offline Geräten werden in der Regel unter kontinuierlicher Zentrifugation Zellen gesammelt.

Dieser Unterschied konnte in dieser Studie nicht gezeigt werden, jedoch lagen für die Thrombozytenkonzentrate deutlich mehr Daten vor als dies in dieser Studie der Fall war.

Es bestand ein Unterschied zwischen den Kontaminationsraten des Patientenblutes, das vor Photopheresebeginn abgenommen wurde und den Kontaminationsraten der Photophereseprodukte (3,82% versus. 1,82%).

Eine Erklärung hierfür ist, dass die Abnahme von Patientenblut vor Therapiebeginn wie ein Predonation Sampling fungiert und somit auch den gleichen Effekt hat wie dieses.

Auch kann die Apherese selbst Krankheitserreger im Photopheresprodukt reduzieren, wenn Bakterien mit Erythrozyten sedimentieren und somit nicht in das Photophereseprodukt übergehen.

Die Unterschiede von 1,82% und 3,82% können sich auch aus der Tatsache heraus ergeben, dass es mehr Daten bezüglich Sterilkontrollen in Photophereseprodukten als in Patientenblut vor Photopherese gab.

Vierundzwanzig unterschiedliche Krankheitserreger wurden gefunden. Davon waren *Staphylococcus species* der häufigste Fund. Die meisten Erreger konnten der Hautflora zugeordnet werden und implizieren somit eine Kontamination während der Arbeitsschritte. Da viele Patienten eine Hauterkrankung aufwiesen, kann dies aber auch ein Hinweis darauf sein, dass sich die Desinfektion der erkrankten Haut als schwierig darstellt.

Des Weiteren lässt sich über die Relevanz eines Keimnachweises im Photophereseprodukt streiten, da Photophereseprodukte ohne Lagerungszeit direkt wieder retransfundiert werden.

Zusätzlich sind die 8-Methoxysporalenapplikation und UV-A Bestrahlung einer Pathogeninaktivierung zuträglich und reduzieren bakterielles Wachstum um mehrere Logstufen [19].

Das Risiko für relevantes bakterielles Wachstum ist somit auf Grund der technischen Durchführung der extrakorporalen Photopherese reduziert.

Unabhängig davon sind Krankheitserreger in Blutprodukten nicht zu akzeptieren.

Patienten, die mittels Photopherese behandelt werden, erhalten, in der Regel, eine immunsuppressive Therapie.

Krankheitserreger, die transfundiert würden, könnten somit in dieser Kombination eine schwere Reaktion im Sinne einer Sepsis auslösen.

Keiner, der in dieser Studie untersuchten Patienten, zeigte zum Behandlungszeitpunkt Zeichen einer Sepsis, jedoch besteht trotzdem das Risiko, das sich eine bereits vorhandene Bakteriämie im weiteren Verlauf noch als klinisch relevant herausstellen könnte.

5. Zusammenfassung

In dieser retrospektiven Studie wurden bakterielle Kontaminationsraten im Rahmen der extrakorporalen Photopherese untersucht.

Die unterschiedlichen Kontaminationsraten der Photophereseprodukte sowie des Patientenblutes, das vor der Therapie abgenommen wurde, kann auf den Predonation Sampling Effekt zurückgeführt werden.

Die Gesamtkontaminationsrate von Photophereseprodukten liegt bei 1,82% und ist somit etwas geringer als die durchschnittlichen Kontaminationsrate von autologen Stammzelltransplantaten [14].

Bezugnehmend auf Kontaminationsraten hat die Verwendung bestimmter Geräte (Inline oder Offline Geräte) keine Relevanz.

Da die Verwendung eines zentralvenösen Katheters jedoch ein deutlicher Risikofaktor für eine bakterielle Kontamination im Vergleich zu einem peripheren venösen Zugang (7,38% versus 0,41%) ist, erscheint es sinnvoll auf einen zentralvenösen Katheter bei extrakorporalen Photopherese, wenn möglich zu verzichten, um das bakterielle Kontaminationsrisiko zu reduzieren.

Dies ist jedoch nicht immer möglich, weswegen die Einführung eines Predonation Sampling in der Photopherese zu diskutieren ist.

Letztendlich ist die standardisierte Desinfektion und Handhabung, egal welches venösen Zugangs, wichtig, um eine bakterielle Kontamination zu vermeiden oder zu mindestens das Risiko hierfür zu reduzieren.

6. Literaturverzeichnis

- [1] E. A. Copelan, "Hematopoietic Stem-Cell Transplantation," *N. Engl. J. Med.*, vol. 354, pp. 1813–1826, 2006.
- [2] S. J. Schuster *et al.*, "Chimeric antigen receptor T Cells in refractory B-Cell lymphomas," *N. Engl. J. Med.*, vol. 377, no. 26, pp. 2545–2554, 2017, doi: 10.1056/NEJMoa1708566.
- [3] A. Cho, C. Jantschitsch, and R. Knobler, "Extracorporeal photopheresis-An overview," *Front. Med.*, vol. 5, no. AUG, pp. 1–8, 2018, doi: 10.3389/fmed.2018.00236.
- [4] J. Schneiderman, "Extracorporeal photopheresis: Cellular therapy for the treatment of acute and chronic graft-versus-host disease," *Hematology*, vol. 2017, no. 1. pp. 639–644, 2017, doi: 10.1182/asheducation-2017.1.639.
- [5] B. Farahnik *et al.*, "The Patient's Guide to Psoriasis Treatment. Part 2: PUVA Phototherapy," *Dermatol. Ther. (Heidelb).*, vol. 6, no. 3, pp. 315–324, 2016, doi: 10.1007/s13555-016-0130-9.
- [6] R. Edelson *et al.*, "Treatment of Cutaneous T-Cell Lymphoma by Extracorporeal Photochemotherapy," *New England Journal of Medicine*, vol. 316, no. 6. pp. 297–303, 1987, doi: 10.1056/NEJM198702053160603.
- [7] A. Padmanabhan *et al.*, "Guidelines on the Use of Therapeutic Apheresis in Clinical Practice - Evidence-Based Approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: The Eighth Special Issue," *J. Clin. Apher.*, vol. 34, no. 3, pp. 171–354, 2019, doi: 10.1002/jca.21705.
- [8] N. Ahrens *et al.*, "European Reflections on New Indications for Extracorporeal Photopheresis in Solid Organ Transplantation," *Transplantation*, vol. 102, no. 8, pp. 1279–1283, 2018, doi: 10.1097/TP.0000000000002244.
- [9] A. Brosig, V. Hähnel, E. Orsó, D. Wolff, E. Holler, and N. Ahrens, "Technical comparison of four different extracorporeal photopheresis systems," *Transfusion*, vol. 56, no. 10, pp. 2510–2519, 2016, doi: 10.1111/trf.13728.
- [10] Ø. Bruserud *et al.*, "Extracorporeal photopheresis (photochemotherapy) in the

treatment of acute and chronic graft versus host disease: Immunological mechanisms and the results from clinical studies,” *Cancer Immunol. Immunother.*, vol. 63, no. 8, pp. 757–777, 2014, doi: 10.1007/s00262-014-1578-z.

- [11] S. K. Busch, Michael P., Evan M. Bloch, “Prevention of transfusion-transmitted infections Blood American Society of Hematology.” *Blood*, pp. 1854–1864, 2019, doi: org/10.1182/blood-2018-11-833996.
- [12] M. Chassaigne *et al.*, “Reduction of bacterial load by predonation sampling,” *Transfus. Apher. Sci.*, vol. 24, no. 3, p. 253, 2001, doi: 10.1016/S1473-0502(01)00066-0.
- [13] G. Walther-Wenke *et al.*, “Monitoring bacterial contamination of blood components in Germany: Effect of contamination reduction measures,” *Vox Sang.*, vol. 100, no. 4, pp. 359–366, 2011, doi: 10.1111/j.1423-0410.2010.01432.x.
- [14] N. Schwella, “Microbiologic Contamination of Peripheral Blood Stem Cell Autografts.” 1994.
- [15] I. Pamler *et al.*, “Bacterial contamination rates in extracorporeal photopheresis,” *Transfusion*, vol. 60, no. 6, pp. 1260–1266, 2020, doi: 10.1111/trf.15801.
- [16] T. Vuk *et al.*, “Bacterial contamination of blood products at the Croatian Institute of Transfusion Medicine: Results of eleven-year monitoring,” *Transfus. Med.*, vol. 22, no. 6, pp. 432–439, 2012, doi: 10.1111/j.1365-3148.2012.01190.x.
- [17] A. F. Eder *et al.*, “Apheresis technology correlates with bacterial contamination of platelets and reported septic transfusion reactions,” *Transfusion*, vol. 57, no. 12, pp. 2969–2976, 2017, doi: 10.1111/trf.14308.
- [18] M. Bravo *et al.*, “Detection of bacterial contamination in apheresis platelets: is apheresis technology a factor?,” *Transfusion*, vol. 55, no. 9, pp. 2113–2122, Sep. 2015, doi: 10.1111/trf.13107.

- [19] P. Schlenke, "Pathogen inactivation technologies for cellular blood components: an update.," *Transfus. Med. hemotherapy Off. Organ der Dtsch. Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhamatologie*, vol. 41, no. 4, pp. 309–325, Jul. 2014, doi: 10.1159/000365646.

7. Danksagung

Besonderer Dank gebührt meinem Doktorvater Prof. Dr. Norbert Ahrens. Ohne seine intensive Betreuung, sein detailliertes Fachwissen und seine Ausdauer hätte diese Arbeit nicht gelingen können.

Meinem Ehemann Wolfgang danke ich von ganzem Herzen für seine Unterstützung und Motivation. Ebenso möchte ich meinen Eltern Heidemarie und Albert danken, die mir diese Ausbildung erst ermöglicht haben.

Ein herzliches Dankeschön gilt auch meinen Kollegen Frau Dr. Dullinger, Frau Adalina Bica, Herrn Dr. Andreas Brosig, Herrn Dr. Mohrad Mohrez und Herrn Dr. Robert Offner für ihre Motivation und Unterstützung.

Dem pflegerischen Team um Christine Becke und Renate Hahnl möchte ich ebenfalls herzlich danken für Ihre Zeit und ihren Einsatz.

8. Lebenslauf

Entfällt in den Pflichtexemplaren.