

Smernice za preprečevanje prenosa CMV s transfuzijo krvnih komponent

Guidelines for the prevention of CMV transmission by transfusion of blood components

Marko Cukjati,¹ Vladan Rajić,² Darja Paro Panjan,³ Tanja Premru Sršen,⁴ Irena Štucin Gantar,⁴ Mojca Grošelj Grenc,⁵ Urška Rahne Potokar,⁶ Samo Zver⁷

¹ Oddelek za preskrbo s krvjo, Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, Štajmerjeva 6, 1000 Ljubljana

² Klinični oddelek za otroško hematologijo in onkologijo, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Bohoričeva 20, 1525 Ljubljana

³ Klinični oddelek za neonatologijo, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Bohoričeva 20, 1525 Ljubljana

⁴ Klinični oddelek za perinatologijo, Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Štajmerjeva 3, 1525 Ljubljana

⁵ Klinični oddelek za otroško kirurgijo in intenzivno terapijo, Kirurška klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Bohoričeva 20, 1525 Ljubljana

Izvleček

Humani citomegalovirus se prenaša z neposrednim stikom in iatrogeno, s transfuzijo krvnih komponent in presaditvijo tkiv ali organov. Po primarni, večinoma asimptomatski okužbi, ostane v telesu v latentni obliki v CD34 + krvotvornih matičnih celicah kostnega mozga in v monocitih v periferni krvi. Pri bolnikih z oslabljenim imunskim sistemom lahko pride do simptomatske CMV-okužbe ali virusne reaktivacije s pojavom CMV-bolezni s prizadetostjo različnih organov. Preprečevanje prenosa CMV s transfuzijo krvnih komponent je pomembno pri bolnikih s povečanim tveganjem: intrauterine in neonatalne transfuzije, nosečnice, otroci z imunskimi pomanjkljivostmi, bolniki po presaditvi krvotvornih matičnih celic in organov. Najpomembnejši pristopi k preprečevanju prenosa CMV so izbira varnih krvodajalcev, serološko testiranje na prisotnost CMV-protiteles pri krvodajalcih, odstranjevanje levkocitov iz krvnih komponent, inaktiviranje patogenov in racionalna uporaba krvi. Noben od omenjenih ukrepov ne zagotavlja 100-odstotne varnosti, lahko pa se med seboj pomembno dopolnjujejo.

Abstract

Human cytomegalovirus can be transmitted by direct contact and iatrogenically by transfusion of blood components and by transplanted tissues or organs. After a primary, mostly asymptomatic infection, it remains latent in the body in CD34 + hematopoietic stem cells of the bone marrow and in peripheral blood monocytes. Symptomatic CMV infection or viral reactivation with involvement of different organs can develop in immunocompromised patients. Prevention of CMV transmission by transfusion of blood components is important in patients at increased risk: intrauterine and neonatal transfusions, pregnant women, children with immune deficiency, patients with hemopoietic progenitor stem cell and organ transplants. The most important approaches to the prevention of CMV transmission are a selection of safe donors, serological testing for CMV antibodies, leukodepletion, pathogen inactivation, and rational use of blood. None of these measures are 100 % efficient, but they can complement each other.

⁶ Oddelek za diagnostične storitve, Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, Štajmerjeva 6, 1000 Ljubljana

⁷ Klinični oddelek za hematologijo, Interne klinike, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška 7, 1525 Ljubljana

Korespondenca/ Correspondence:

mag. Marko Cukjati, dr. med., Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, Štajmerjeva 6, 1000 Ljubljana, E-pošta: marko.cukjati@ztm.si, tel.: +386 1 5438116

Ključne besede:

citomegalovirus, krvne komponente, testiranje, odstranjevanje levkocitov, inaktiviranje patogenov, preprečevanje prenosa

Key words:

cytomegalovirus, blood components, testing, leukodepletion, pathogen inactivation, transmission prevention

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2013; 82: 367–77

Prispelo: 13. maj 2013,
Sprejeto: 30. maj 2013

Priporočila so bila obravnavana in sprejeta na rednem letnem strokovnem sestanku Združenja hematologov Slovenije in Združenja za transfuzijsko medicino Slovenije v Laškem, 19. in 20. 10. 2012.

Uvod

Humani citomegalovirus je dvovijačni DNA-virus z lipidno ovojnico iz skupine herpesvirusov (HHV-5) in je specifičen za človeka. Prenaša se z neposrednim stikom in iatrogeno, s transfuzijo krvnih komponent in presaditvijo tkiv ali organov. Primarna okužba pogosto poteka brez simptomov, pojav protiteles (serokonverzija) pa je edini pokazatelj prebolele okužbe. Redko se lahko ob primarni okužbi pojavi blaga oblika »mononukleoznega sindroma«. V otroštvu se virus najpogosteje prenaša s slino, v odraslem obdobju pa navadno s spolnim stikom. Po primarni okužbi virus ostane v telesu v latentni obliki v CD34 + hemopoetskih progenitornih (krvotvornih matičnih celicah, KMC) celicah v kostnem mozgu in monocitih v periferni krvi.^{1,2} Občasno reaktiviranje, ko se virus pojavi v krvi, vzdržuje doživljenjsko imunost in titer specifičnih protiteles (Slika 1).

Prevalenca CMV-seropozitivnih v slovenski populaciji je odvisna od socialnih, ekonomskih in higienskih razmer. Če so slabe, je prevalenca okrog 80–90 %, če primerne, pa 40–70 %.³ Med 25.211 slovenskimi krvodajalci, ki so bili testirani na Zavodu RS za transfuzijsko medicino, je bilo pozitivnih 17.175 (68 %). Ocenjeni odstotek serokonverzij v odrasli populaciji je 0,2–1,2 % letno.^{4,5}

Pri bolnikih z oslabiljenim imunskim sistemom lahko pride do simptomatske CMV-okužbe ali virusne reaktivacije, kjer lahko virusno breme v krvi dokažemo, CMV-prizadetosti organov ni. Če pa CMV-virus prizadane telesni organ, govorimo o CMV-bolezni. Najpogostejša sta intersticijska pljučnica in hepatitis, lahko pa gre tudi za encefalitis, retinitis, enteritis ali prizadetost kostnega mozga s posledično trombocitopenijo, levkopenijo in anemijo.

Do okužbe ploda pri primarni okužbi noseče matere pride v 40 %, pri reaktiviranju virusa v nosečnosti pa pri 0,2–1,8 % plodov. Prirojena citomegalija je ob rojstvu simptomatska le pri 10–15 % novorojenčkov. Znaki prirojene CMV-okužbe ob rojstvu so največkrat: petehije, povečana jetra in vranica, zlatenica, mikrocefalija, nenormalni nevrološki simptomi, trombocitopenija, za-

stoj rasti ploda, cerebralne kalcifikacije in horiorretinitis. Med okuženimi otroki, ki so ob rojstvu brez simptomov, pa ima pozne zaplete okužbe do 15 %. Največkrat se kažejo kot motnje v umskem in gibalnem razvoju ter napredujoča zaznavna naglušnost.⁶

Prenos CMV s krvnimi komponentami

CMV se lahko prenaša s transfuzijo krvnih komponent, presajanjem krvotvornih matičnih celic (KMC) in organov. Virus se v latentni fazi v periferni krvi nahaja predvsem v monocitih.^{1,2} CMV DNA je prisotna tudi pri 7–55 % zdravih seronegativnih oseb^{1,7} okužba s CMV po transfuziji pa se lahko razvije tako pri CMV-pozitivnih kot tudi negativnih prejemnikih. Pri CMV-pozitivnih prejemnikih lahko pride do okužbe z drugim sevom virusa ali za ponovnim aktiviranjem lastnega virusa. Pri tem igra pomembno vlogo imunomodulatorni učinek krvi.

Vzorci supernatanta odvzete polne krvi CMV-pozitivnih dajalcev so bili sprva vsi negativni, po 3–4 tednih hranjenja pa pozitivni pri 70 % vzorcev, kar je verjetno posledica postopnega sproščanja CMV iz levkocitov med hranjenjem.⁸ Prehodna viremija je pogosto prisotna v fazi akutne okužbe pred serokonverzijo.⁹ Kljub prisotnosti virusa v plazmi, prenos s plazemskimi komponentami ni dokazan. 21 CMV-seronegativnih bolnikov po presaditvi KMC, ki so v postopku izmenjalne plazmafereze prejeli povprečno 47,6 enot plazme, so spremljali 100 dni po plazmaferezi. Pri nobenem ni prišlo do okužbe s CMV.¹⁰

Priporočilo

Preprečevanje prenosa CMV s transfuzijo krvnih komponent je še zlasti pomembno pri bolnikih, pri katerih je dojemljivost za okužbo večja oz. je verjetnost za težji potek okužbe večja. Najpomembnejši pristopi k preprečevanju prenosa CMV so izbira varnih krvodajalcev, serološko testiranje na prisotnost CMV-protiteles, odstranjevanje levkocitov iz krvnih komponent, inaktiviranje patogenov in racionalna uporaba krvi. Nobeden od omenjenih ukrepov ne zagota-

vlja 100-odstotne varnosti, lahko pa se med seboj dopolnjujejo.

Posebni ukrepi za preprečevanje prenosa CMV so potrebni pri celičnih krvnih komponentah. Mednje uvrščamo eritrocitne, trombocitne in granulocitne pripravke.

CMV-testiranje

CMV lahko ugotavljamo z neposrednim dokazovanjem virusa ali posredno s CMV-specifičnimi protitelesi. Neposredno lahko virus dokažemo z določanjem specifičnega antigena pp 65, s celičnimi kulturami in z ugotavljanjem virusnih nukleinskih kislin z metodami NAT (*angl.* Nucleic Acid Testing). Za dokazovanje okužbe pri bolnikih z visokim tveganjem so primernejši testi, ki dokažejo prisotnost virusa in dajejo tudi informacijo o virusnem bremenu. Učinkovitost testiranja z metodami NAT je zaradi majhne količine CMV v periferni krvi v latentni fazi zelo odvisna od uporabljene metode testiranja. Pri seropozitivnih krvodajalcih je bil rezultat testiranja z NAT pozitiven le v 71 %.¹ Po drugi strani pa je bilo testiranje pozitivno pri 14 % vzorcev periferne krvi seronegativnih krvodajalcev oziroma v 55 % pri testiranju z monociti obogatenih vzorcev.¹ Zaradi večjega števila lažno pozitivnih in negativnih rezultatov testiranja z NAT in težav pri tolmačenju kliničnega pomena pozitivnega rezultata, NAT CMV ne upo-

rabljamo v sklopu obveznega presejalnega testiranja krvodajalcev.^{1,11-14} Testiranje NAT CMV je tudi metoda izbire pri aktivnem iskanju CMV-reaktivacije ali bolezni pri imunokompromitiranih hematoloških bolnikih. Zaradi praviloma izrazite imunske zavore izvidov seroloških CMV-testiranj praviloma ne moremo uporabiti klinično. Določanje antigena pp65 je zaradi slabše občutljivosti in kasnejšega pojava pri nižjih virusnih bremenih manj primerna metoda ugotavljanja CMV-statusa krvodajalcev z latentno okužbo.

Kot presejalno testiranje za krvodajalce je primernejše serološko testiranje, ki ostane pozitivno po preboleli okužbi praviloma vse življenje (Slika 1). S hkratnim določanjem protiteles IgM in IgG se učinkovitost testa za ugotavljanje subklinične akutne faze okužbe poveča. Večina danes dostopnih komercialnih testov za določanje CMV IgG/IgM protiteles ima specifičnost, ki je večja od 97 % in občutljivost vsaj 94 %. Krvodajalci s svežo okužbo in slabim protitelesnim odzivom (tj. z nizkimi titri protiteles) predstavljajo tveganje za prenos CMV kljub serološkemu testiranju.

Priporočilo

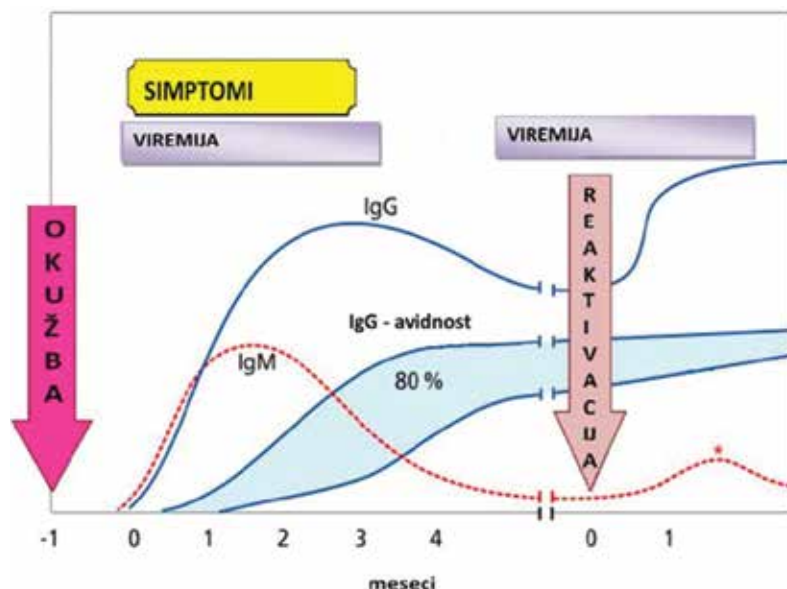
Kot presejalni test za krvodajalce je primerno določanje protiteles IgM in IgG. Kljub negativnemu rezultatu obstaja verjetnost prenosa CMV s transfuzijo od dajalca, ki je v akutni fazi bolezni oziroma ima nizek titer protiteles.

V primeru suma na prenos CMV s transfuzijo je primerno testiranje z metodami NAT, določanje protiteles IgM in testiranje avidnosti. Testiranje z metodami NAT je metoda izbire tudi pri diagnosticiranju CMV-reaktiviranja ali okužbe pri imunsko pomanjkljivih osebah.

Uporaba seronegativnih krvnih komponent

Uporaba krvnih komponent CMV-seronegativnih dajalcev je že dolgo uveljavljeni pristop za zmanjševanje tveganja za prenos CMV s transfuzijo krvnih komponent.¹⁵⁻¹⁷ Zaradi nizkih titrov protiteles ali odsotnosti

Slika 1: Titer specifičnih protiteles IgM in IgG ter avidnost protiteles IgG glede na čas od primarne okužbe oziroma reaktivacije virusa.



protiteles v akutni fazi bolezni je test lahko lažno negativen. Pri bolnikih po presaditvi KMC CMV-negativnega darovalca, ki so prejeli CMV seronegativne komponente oziroma komponente netestiranih krvodajalcev, je bila incidenca CMV-okužb 6 % oz. 37 %.¹⁸ Podobno so bolniki po presaditvi KMC, ki so prejeli CMV seronegativne komponente, v kombinaciji z intravenskim imunoglobulinom (IVIG) razvili znake okužbe v 5 % v primerjavi s 40 % pri bolnikih, ki so prejeli netestirane komponente.¹⁹ Uporaba CMV seronegativnih komponent zmanjša incidenco CMV-okužb pri bolnikih z velikim tveganjem na približno 1–3 %.^{16,17}

Serološko testiranje praviloma izvedemo ob naročilu krvne komponente. Skupni čas, potreben za zagotovitev ustrezne krvne komponente od naročila do izdaje, je od 2 ur in 45 min do 4 ur (Slika 2). Ob nujni transfuziji je testiranje smiselno samo takrat, ko je tveganje zaradi odložitve transfuzije manjše od tveganja v povezavi s prenosom CMV. Ob tem moramo upoštevati tudi druge razpoložljive ukrepe, ki so opisani v naslednjih točkah.

Priporočilo

Uporaba CMV seronegativnih krvnih komponent zmanjša tveganje za prenos CMV s transfuzijo in je eden od načinov preprečevanja okužbe pri CMV-negativnih bolnikih z večjim tveganjem. Mednje uvrščamo:

- bolnike, pri katerih načrtujemo alogenično presaditev KMC, če so CMV-negativni;
- bolnike ob alogenični presaditvi KMC, če je prejemnik CMV-negativen;
- bolnike po avtologni presaditvi KMC, če so bolniki CMV negativni;
- nosečnice.

Uporaba CMV seronegativnih krvnih komponent je potrebna pri:

- vseh intrauterinih transfuzijah;
- izmenjalnih in drugih transfuzijah novorojenčkov s porodno težo pod 1500 g;
- otrocih z imunskimi pomanjkljivostmi.

Uporaba krvnih komponent z odstranjenimi levkociti

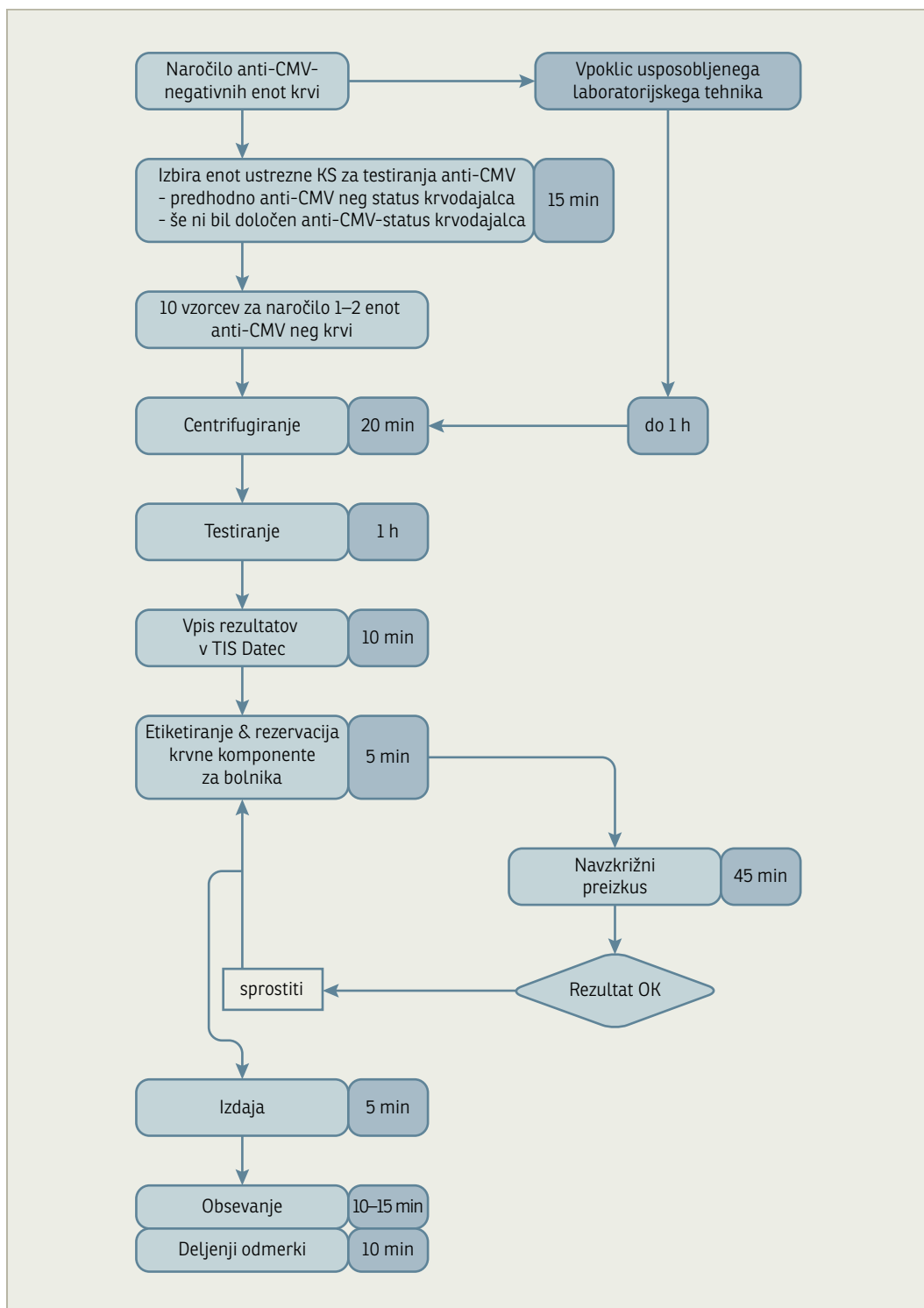
V skladu s strokovnimi priporočili in z zakonodajo mora krvna komponenta z odstranjenimi levkociti vsebovati manj kot 1×10^6 levkocitov.^{20,21} Ta pogoj mora izpolnjevati vsaj 90 % testiranih enot. Mejna vrednost je bila določena eksperimentalno glede na verjetnost HLA-aloinmunizacije po transfuziji. Stopnja levkoredukcije, potrebna za preprečevanje prenosa CMV, ni opredeljena. Čeprav levkoredukcija za 3–4 log zmanjša virusno breme v trombocitnih in eritrocitnih komponentah, s tem ne zagotovimo popolne odsotnosti virusa.²² Pri seropozitivnih osebah je približno 0,2 % levkocitov v periferni krvi latentno okuženih.¹⁶ Po odstranjevanju levkocitov s filtriranjem ostane v krvi manj kot 0,1–0,01 virusnih kopij na ml pripravka²³ oziroma manj kot 1000 latentno okuženih levkocitov.

Poleg zmanjševanja virusnega bremena je odstranjevanje levkocitov povezano tudi z zmanjševanjem imunomodulatornega učinka transfuzije krvnih komponent.²⁴ Pomembna je zlasti imunosupresivna komponenta imunomodulacije, ki je lahko povezana z večjo verjetnostjo reaktiviranja endogenega CMV v prejemniku. Raziskave na živalskih modelih so potrdile pomembno vlogo alogenične stimulacije pri reaktiviranju latentnega CMV-virusa.²⁵ Prav tako so ugotovili reaktiviranje CMV v mieloidni celični liniji po alogenični stimulaciji krvotvornih matičnih celic v periferni krvi *in vitro*.²⁶

S pranjem v fiziološki raztopini iz eritrocitnih komponent odstranimo približno 90 % levkocitov, kar pomeni 10^7 – 10^8 preostalih levkocitov na enoto. Več raziskav pri novorojenčkih je pokazalo, da je pranje slabo učinkovito pri preprečevanju prenosa CMV (stopnja prenosa CMV po pranju 1,5–15 %).

S kombinacijo postopkov zamrzovanja in odmrzovanja eritrocitov s pranjem zmanjšamo število levkocitov za 94–98 %. Stopnja prenosa CMV pri bolnikih na dializi in bolnikih po presaditvi krvotvornih matičnih celic, ki so prejeli predhodno zamrznjene eritrocitne komponente, je bila 0,8 %, kar je

Slika 2: Diagram poteka postopkov pri zagotavljanju eritrocitnih krvnih komponent CMV-seronegativnih krvodajalcev. Skupni čas testiranja je približno 1 ura in 45 min. Zunaj rednega delovnega časa se lahko ta čas podaljša do 1 ure, kolikor je potrebno za vpoklic laboratorijskega osebja iz službe stalne pripravljenosti. Skupni čas od naročila do izdaje (vključno s predtransfuzijskim testiranjem) je lahko do 4 ure.



primerljivo kot pri uporabi seronegativnih komponent.¹⁶

Med različnimi tehnikami odstranjevanja levkocitov je najpomembnejše filtriranje. Že uporaba prvih generacij filtrov s stopnjo levkoredukcije 2–3 log je učinkovito zmanjšala verjetnost prenosa CMV.^{27,28} Odstranjevanje levkocitov učinkovito zmanjša

pogostost prenosa CMV s transfuzijo pri neonatalnih bolnikih, bolnikih z akutno levkemijo in po presaditvi KMC.^{16,17} Filtri tretje generacije odstranijo z mehanizmom neposredne vezave in posredno preko aktiviranih trombocitov celo več kot 4 log levkocitov. Sodobni filtri so še posebej učinkoviti pri odstranjevanju monocitov, ki so glavni no-

silci latentnega CMV-virusa. Sodobne naprave za aferezo omogočajo s kombinacijo centrifugiranja in elutricije selektivno zbiranje trombocitov, ne da bi jih bilo potrebno dodatno filtrirati. Najučinkovitejše je filtriranje v prvih 24 urah po odvzemu; levkociti se namreč odstranijo, še preden sprostijo v okolni medij citokine, fragmente celične membrane in znotrajcelične viruse.

Na ZTM smo leta 2009 prešli na odstranjevanje levkocitov iz vseh eritrocitnih in trombocitnih krvnih komponent. Krvne komponente, ki jih pripravimo iz odvzete polne krvi, filtriramo z visokozmogljivimi filtri tretje generacije. V postopkih zbiranj posameznih krvnih komponent z aferezami je že samo po sebi dovolj selektivno, zato filtracija teh komponent ni vedno potrebna. V letu 2011 smo v sklopu rednih mesečnih kontrol kakovosti eritrocitnih in trombocitnih komponent testirali 685 vzorcev, od tega je bilo pri 670 vzorcev (97,8 %) število levkocitov manjše od 1×10^6 (Tabela 1).

Odstranjevanje levkocitov ima tudi druge ugodne učinke na varnost krvnih komponent, kot so zmanjšanje aloimunizacij in nehemolitičnih vročinskih reakcij ob transfuziji. Uvedba obveznega odstranjevanja levkocitov iz vseh krvnih komponent je v primerjavi z zagotavljanjem CMV-seronegativnih komponent učinkovitejši pristop z vidika razpoložljivosti komponent, časa za pripravo in manjše verjetnosti napak.

Po Priporočilih Sveta Evrope so celične komponente z odstranjenimi levkociti varen nadomestek CMV-seronegativnih komponent, če te niso na voljo. Tudi nekatere nacionalne smernice menijo, da so komponente z odstranjenimi levkociti učinkovita alternativa CMV-negativnim komponentam.²⁹

Priporočilo

Krvne komponente z odstranjenimi levkociti so učinkovita alternativa CMV-seronegativnim komponentam za preprečevanje prenosa CMV pri bolnikih z večjim tveganjem. Odločitev o bolj ustrezni komponenti je odvisna tudi od razpoložljivosti komponente oz. nujnosti transfuzije.

Z odstranjevanjem levkocitov se zadovoljivo zmanjša tveganje za prenos CMV, razen pri posameznih bolnikih, ki jih posebej

obravnavamo v naslednjih točkah. Priporočilo velja tudi za bolnike po presaditvi krvotvornih matičnih celic, presaditvi organov in za bolnike z imunsko pomanjkljivostjo.

Po primarni okužbi je virus v krvi prisoten v celičnih in plazemskih sestavinah do pojava serokonverzije 6–8 tednov po okužbi.^{30,31} CMV DNA je bila prisotna v plazmi pri 44 % krvodajalcev, ki so postali seropozitivni od zadnjega darovanja krvi, tj. pri 0,13 % vseh testiranih enot.³¹ CMV DNA so ugotavljali do 269 dni po primarni okužbi. Ko virusa v krvi ne moremo več dokazati, izginejo tudi protitelesa IgM, pojavijo pa se protitelesa IgG.³² V obdobju do serokonverzije se lahko kljub odstranjevanju levkocitov CMV prenese s krvnimi komponentami, bodisi kot prosti virus v plazmi ali v preostalih levkocitih.

Priporočilo

Pomemben ukrep, s katerim učinkovito zmanjšamo tveganje za prenos CMV od krvodajalca s primarno okužbo v obdobju pred serokonverzijo, je zavrnitev krvodajalcev z znaki akutne virusne okužbe v anamnezi. Ker primarna okužba pri zdravih osebah pogosto poteka brez simptomov, je to le delna rešitev težave.

Inaktiviranje patogenov v krvnih komponentah

V klinični uporabi so različne tehnike za inaktivacijo patogenov v trombocitnih in plazemskih komponentah. Temeljijo na nepovratnem uničevanju DNA s kombinacijo fotosenzibilizatorja in UV-žarkov ali samo UV-žarkov. Učinkovito se inaktivira tudi CMV s stopnjo redukcije, večjo do 5,9 log, kar omogoča opustitev CMV-testiranja.³³

V razvoju so sistemi za inaktiviranje polne krvi oz. eritrocitov. Uvedba univerzalnega inaktiviranja vseh krvnih komponent bi omogočila opustitev nekaterih drugih ukrepov za zmanjševanje tveganja za prenos nalezljivih bolezni s transfuzijo, hkrati pa povečala varnost krvnih komponent tudi z vidika novih in porajajočih se nalezljivih bolezni. Inaktiviranje patogenov v krvnih komponentah ima tudi druge ugodne učin-

ke, kot sta daljši rok uporabnosti trombocitnih komponent in opustitev obsevanja gama za preprečevanje reakcije presadka proti gostitelju (GVHD) po transfuziji.

V Sloveniji smo pričeli s tehniko soralskega fotoinaktiviranja patogenov v trombocitnih komponentah leta 2009. V letu 2011 smo na ta način obdelali 93 % trombocitov pridobljenih iz polne krvi in 90 % afereznih trombocitnih komponent. Preostale komponente smo izdali zaradi nujnih naročil v neinaktivirani obliki.

Priporočilo

Krvne komponente, ki so obdelane s tehniko virusne inaktivacije, so tudi z vidika prenosa CMV bolj varne kot filtrirane ali seronegativne komponente. Uvajanje tehnologije inaktiviranja na vse krvne komponente lahko izboljša razpoložljivost in varnost krvnih komponent.

Bolniki po presaditvi KMC

V veliki randomizirani prospektivni klinični raziskavi, v kateri so primerjali učinkovitost serološkega testiranja in filtriranja pri preprečevanju prenosa CMV, ni bilo statistično značilne razlike v pojavnosti CMV okužbe med 21. in 100. dnem po presaditvi KMC in tudi ne v preživetju obeh skupin bolnikov.³⁴ Prav tako ni značilnih razlik v pogostosti okužb s CMV med bolniki, ki so prejeli seronegativne in filtrirane komponente, ter bolniki, ki so prejeli samo filtrirane komponente.³⁵

Metaanaliza 9 raziskav, v katere je bilo vključenih skupaj 879 bolnikov po alogenični ali avtologni presaditvi KMC in bolnikov z levkemijo, je prišlo do CMV-okužbe

pri zgolj treh bolnikih (0,5 %) od skupaj 554 bolnikov, ki so prejeli CMV-seronegativne in filtrirane pripravke, v primerjavi z dvema bolnikoma (0,8 %) od skupaj 252, ki so prejeli le CMV-seronegativne nefiltrirane komponente.³⁶ Vsi trije bolniki s CMV okužbo so prejeli transfuzijo krvnih komponent, ki so bile filtrirane ob bolnikovi postelji, kjer nadzor nad kakovostjo filtrirane komponente ni bil mogoč.³⁴

Tako uporaba krvnih komponent z odstranjenimi levkociti kot krvnih komponent CMV-seronegativnih dajalcev učinkovito zmanjša tveganje za prenos CMV na 1,5 do 3 % pri bolnikih po presaditvi KMC.³⁷

Spremljanje CMV-statusa bolnika s testiranjem NAT in zgodnje predbolezensko zdravljenje učinkovito zmanjšata umrljivost zaradi CMV-okužbe oziroma bolezni pri prejemnikih KMC.

Priporočilo

Pri vseh bolnikih po presaditvi KMC so krvne komponente z odstranjenimi levkociti ustrezno nadomestilo za CMV-negativne komponente ne glede na CMV-status dajalca oz. prejemnika.

Tudi pri bolnikih, ki so predvideni za zdravljenje s presaditvijo KMC, je uporaba krvnih komponent z odstranjenimi levkociti zadosten ukrep.

Redno spremljanje CMV-statusa bolnika med presaditvijo KMC in po njej z odkrivanjem DNK CMV s PCR omogoča zgodnje diagnosticiranje reaktivacije CMV oz. primarne okužbe s CMV in posledično učinkovito predbolezensko zdravljenje okužbe.

Tabela 1: Število levkocitov v eritrocitnih in trombocitnih krvnih komponentah, pripravljenih na ZTM v letu 2011 (rezultati rednih mesečnih kontrol kakovosti).

Krvna komponenta	N	Število levkocitov x 10 ⁶ na enoto (min–max)	Število (%) neustreznih*
eritrociti	444	0,16 (0–4,7)	9 (2,0 %)
trombociti afereza	121	0,15 (0–4,2)	5 (4,1 %)
trombociti zlitje	120	0,1 (0–1,2)	1 (0,8 %)

*Neustrezne so enote z več kot 1×10^6 levkociti. Merilo ustreznosti mora izpolnjevati vsaj 90 % testiranih enot.

Bolniki po presaditvi organov

Med organi, ki jih pogosto presadimo, so okužbi s CMV najbolj izpostavljena pljuča. Močno imunosupresivno zdravljenje tveganje za okužbo še poveča. Največje tveganje za prenos CMV s presaditvijo je pri bolnikih, ki so CMV-seronegativni in prejmejo organ CMV-seropozitivnega dajalca (enako velja tudi za bolnike, ki jih zdravimo z alogensko presaditvijo KMC). Glede na prekuženost populacije je takšnih primerov do 25 % vseh presaditev. Tveganje za CMV-okužbo po presaditvi je odvisno od vrste presajenega organa: od največjega do najmanjšega tveganja si sledijo presaditve pljuč, tankega črevesa, trebušne slinavke, ledvic, jeter in srca. Z učinkovito profilakso ima prenos CMV s presaditvijo manjši pomen kot nekoč.³⁸ Delež bolnikov s serokonverzijo po presaditvi je manjši od 1 % na leto. Pri otrocih je okužba s CMV najpogostejši infekcijski zaplet po presaditvi organov in je pomemben vzrok umrljivosti v prvem letu po presaditvi.³⁹ Raziskav, v katerih bi primerjali povezanost med krvnimi komponentami in okužbami CMV, ni.

Priporočilo

Pri bolnikih po presaditvi organov je priporočljiva uporaba krvnih komponent z odstranjenimi levkociti.

Nosečnost

V nosečnosti lahko pride do primarne okužbe ali reaktiviranja virusa. CMV je najpogostejši povzročitelj prirojenih okužb v razvitem svetu⁴⁰ s celo do 20-odstotno smrtnostjo. Ocenjujejo, da povzroči do 12 % vseh primerov senzorinevralne izgube sluha in 10 % primerov cerebralne paralize. Tveganje za prenos virusa skozi posteljico je med reaktiviranjem približno 1 %, v primeru primarne okužbe pa do 40 %.⁴¹ Ob visoki stopnji prekuženosti v populaciji to pomeni, da je v svetu približno 30–50 % prirojenih okužb posledica reaktiviranja CMV. Reaktiviranje virusa lahko pri CMV-pozitivnih nosečnicah sproži imunomodulatorni učinek transfuzije.¹⁵ Primarna okužba pogostejše povzroči prirojeni CMV brez simptomov kot samo reaktiviranje. Približno 90 % prirojenih okužb ploda ne povzroča simptomov. Primarna okužba poveča verjetnost splava, mrtvorodenosti in hidropsa ploda.

Ker je imunomodulatorni učinek transfuzije povezan z levkociti v transfundiranih komponentah, je tudi pri CMV-pozitivnih nosečnicah smiselna uporaba filtriranih krvnih komponent.

Priporočilo

Vse noseče ženske naj prejemajo le CMV-seronegativne komponente, ne glede na njihov CMV-status. V primeru nujnih stanj, ko bi odlašanje s transfuzijo zaradi testiranja

Tabela 2: Indikacije za preprečevanje prenosa CMV s transfuzijo in izbira primernih eritrocitnih in trombocitnih komponent.

Skupina bolnikov	Komponente z odstranjenimi levkociti	CMV-seronegativni dajalci
bolniki po presaditvi KMC	+	
predvidena presaditev KMC	+	
bolniki po presaditvi organov	+	
nosečnice	+	+
intrauterine transfuzije	+	+
nedonošenčki < 1500 g	+	+
imunokompromitirani novorojenčki	+	+
ostali novorojenčki	+	
transfuzije granulocitov		+

ogrožalo nosečnico, lahko uporabimo krvne komponente z odstranjenimi levkociti.

Priporočilo za uporabo CMV seronegativnih komponent ne velja za transfuzijo ob porodu.

Intrauterine transfuzije

Zaradi možnih težkih zapletov prirojene CMV-okužbe je njeno preprečevanje zelo pomembno. Čeprav prisotnost specifičnih CMV-protiteles pri materi pred zanositvijo do neke mere zaščiti plod,⁴² so preventivni ukrepi potrebni ne glede na CMV-status matere. Za intrauterine transfuzije moramo poleg specifičnih zahtev glede antigenske skladnosti in starosti eritrocitnih komponent zagotoviti tudi največjo možno varnost glede prenosa CMV in drugih levkotropnih virusov.⁴³

Priporočilo

Za intrauterine transfuzije uporabljamo CMV-seronegativne krvne komponente z odstranjenimi levkociti.

z izjemo urgentnih primerov, ko časovna izvedba testiranja ni mogoče.

V primeru urgentne transfuzije, ko časovna izvedba testiranja ni mogoča, za transfuzijo uporabimo izključno krvne komponente z odstranjenimi levkociti.

Za vse vse ostale novorojenčke zadošča uporaba krvnih komponent z odstranjenimi levkociti.

Granulocitne transfuzije

Kljub temu, da nekatere novejša raziskave niso dokazale povezanosti med statusom CMV darovalca in incidenco reaktiviranja CMV oz. CMV bolezni pri prejemniku granulocitov^{46,47} pri zdravljenju s transfuzijami pripravkov granulocitov, upoštevamo skladnost CMV med prejemnikom in darovalcem.

Priporočilo

Za CMV-negativne bolnike uporabljamo CMV-seronegativne granulocitne komponente.

Neonatalne transfuzije

Čeprav je pri imunskem odzivu novorojenčka še veliko neznank in je drugačen kot pri odraslem, pa donošeni in zdravi novorojenčki običajno ne zbolijo za hudo obliko CMV-okužbe po morebitni okužbi s CMV preko krvnih pripravkov. Z uporabo novejših filtrov ni jasnih dokazov, da bi bila uporaba seronegativnih pripravkov v kombinaciji z odstranjenimi levkociti boljša od filtracije same.⁴⁴ Večina nacionalnih smernic (evropske, ameriške in kanadske) svetuje uporabo krvnih komponent CMV- negativnih dajalcev za nedonošenčke in novorojenčke z nizko porodno težo (pod 1500 g) in za bolne, pri katerih obstaja sum na prirojeno imunsko pomanjkljivost.^{37,45}

Priporočilo

CMV-seronegativne komponente z odstranjenimi levkociti uporabljamo pri nedonošenčkih s porodno težo pod 1500 g in bolnih novorojenčkih, pri katerih obstaja sum na prirojeno imunsko pomanjkljivost,

Zaključek

CMV povzroča klinično pomembno okužbo pri ogroženih bolnikih. Prenaša se lahko v levkocitih s transfuzijo krvnih komponent. Odstranjevanje levkocitov iz krvnih komponent in uporaba krvnih komponent seronegativnih dajalcev sta primerljivo učinkovita načina preprečevanja prenosa CMV s transfuzijo. V primeru najbolj ogroženih bolnikov je smiselna kombinacija obeh pristopov. Različne tehnike inaktivacije patogenov v krvnih komponentah lahko dodatno prispevajo k večji varnosti in povečajo razpoložljivost komponent. Zaradi širokega spektra delovanja bodo v prihodnosti nedvomno igrale pomembno vlogo.

Literatura

- Larsson S, Soederberg-Naucleer C, Wang FZ, Moeller E. Cytomegalovirus DNA can be detected in peripheral blood mononuclear cells from all seropositive and most seronegative healthy blood donors over time. *Transfusion* 1998; 38: 271–8.
- Sinclair J. Human cytomegalovirus: Latency and reactivation in the myeloid lineage. *Journal of Clinical Virology* 2008; 1: 180–5.
- Koren S, Meško Meglič K, Jeverica S. Herpesvirusi. In: Poljak M, Petrovec M, eds. *Medicinska virologija*. Ljubljana: Medicinski razgledi; 2011. p. 15–30.
- Roback JD, Drew WL, Laycock ME, Todd D, Hillyer CD, Busch MP. CMV DNA is rarely detected in healthy blood donors using validated PCR assays. *Transfusion* 2003; 43: 314–21.
- Hecker M, Qiu D, Marquardt K, Bein G, Hackstein H. Continuous cytomegalovirus seroconversion in a large group of healthy blood donors. *Vox Sang* 2004; 86: 41–4.
- Leung AK, Sauve RS, Davies HD. Congenital cytomegalovirus infection. *J Natl Med Assoc* 2003; 95: 213–8.
- Smith KL, Kulski JK, Cobain T, Dunstan RA. Detection of cytomegalovirus in blood donors by the polymerase chain reaction. *Transfusion* 1993; 33: 497–503.
- James DJ, Sikotra S, Sivakumaran M, Wood JK, Revill JA, Bullen V, Myint S. The presence of free infectious cytomegalovirus (CMV) in the plasma of donated CMV-seropositive blood and platelets. *Transfus Med* 1997; 7: 123–6.
- Drew WL, Tegtmeier G, Alter HJ, Laycock ME, Miner RC, Busch MP. Frequency and duration of plasma CMV viremia in seroconverting blood donors and recipients. *Transfusion* 2003; 43: 309–13.
- Bowden RA, Sayers M. The risk of transmitting cytomegalovirus infection by fresh frozen plasma. *Transfusion* 1990; 30: 762–3.
- Bitsch A, Kirchner H, Dupke R, Bein G. Failure to detect human cytomegalovirus DNA in peripheral blood leukocytes of healthy blood donors by the polymerase chain reaction. *Transfusion* 1992; 32: 612–7.
- Urushibara N, Kwon KW, Takahashi TA, Sekiguchi S. Human cytomegalovirus DNA is not detectable with nested double polymerase chain reaction in healthy blood donors. *Vox Sang* 1995; 68: 9–14.
- Zhang LJ, Hanff P, Rutherford C, Churchill WH, Crumacker CS. Detection of human cytomegalovirus DNA, RNA, and antibody in normal donor blood. *J Infect Dis* 1995; 171: 1002–6.
- Stramer SL, Wend U, Candotti D, Foster GA, Hollinger FB, Dodd RY, et al. Nucleic acid testing to detect HBV infection in blood donors. *N Engl J Med* 2011; 364: 236–47.
- Sayers MH, Anderson KC, Goodnough LT, Kurtz SR, Lane TA, Pisciotto P, Silberstein LE. Reducing the risk for transfusion-transmitted cytomegalovirus infection. *Ann Int Med* 1992; 116: 55–62.
- Hillyer CD, Emmens RK, Zago-Novaretti M, Berkman EM. Methods for the reduction of transfusion-transmitted cytomegalovirus infection: filtration versus the use of seronegative donor units. *Transfusion* 1994; 34: 929–34.
- Goldman M, Delage G. The role of leukodepletion in the control of transfusion-transmitted disease. *Transfus Med Rev* 1995; 9: 9–19.
- Miller WJ, McCullough J, Balfour HH Jr, Haaker RJ, Ramsey NK, Goldman A, et al. Prevention of cytomegalovirus infection following bone marrow transplantation: a randomised trial of blood product screening. *Bone Marrow Transplant* 1991; 7: 227–34.
- Foot AB, Pamphilon D, Caul EO, Roome AP, Hunt LP, Cornish JM, Oakhill A. Cytomegalovirus infection in recipients of related and unrelated donor bone marrow transplants: no evidence of increased incidence in patients receiving unrelated donor grafts. *Br J Haematol* 1998; 102: 671–7.
- Component monographs. In: *Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components*. 16th ed. Strasbourg: European Directorate for the quality of Medicines & HealthCare; 2011. p. 225–34.
- Pravilnik o zbiranju, pripravi, shranjevanju, razdeljevanju in prevozu krvi in komponent krvi 2007. Ur l RS 9/07
- Dumont LJ, Luka J, VandenBroeke T, Whitley P, Ambruso DR, Elfath MD. The effect of leucocyte-reduction method on the amount of human cytomegalovirus in blood products: a comparison of apheresis and filtration methods. *Blood* 2001; 97: 3640–7.
- Pennington J, Garner SF, Sutherland J, Williamson LM. Residual subset population analysis in WBC-reduced blood components using real-time PCR quantitation of specific mRNA. *Transfusion* 2001; 41: 1591–600.
- Buddeberg F, Schimmer BB, Spahn DR. Transfusion-transmissible infections and transfusion-related immunomodulation. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2008; 22: 503–17.
- Cheung KS, and Lang DJ. Transmission and activation of cytomegalovirus with blood transfusion: a mouse model. *J Infect Dis* 1977; 135: 841–845.
- Söderberg-Naucleer C, Fish KN, Nelson JA. Reactivation of latent human cytomegalovirus by allogeneic stimulations of blood cells from healthy donors. *Cell* 1997; 91: 119–26.
- Eisenfeld L, Silver H, McLaughlin J, Klevjer-Anderson P, Mayo D, Anderson J, et al. Prevention of transfusion-associated cytomegalovirus infection in neonatal patients by the removal of white cells from blood. *Transfusion* 1992; 32: 205–9.
- Gilbert GL, Hayes K, Hudson IL, James J. Prevention of transfusion-acquired cytomegalovirus infection in infants by blood filtration to remove leucocytes. Neonatal Cytomegalovirus Infection Study Group. *Lancet* 1989; 1, 1228–31.
- British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Guidelines on the clinical use of leucocyte-depleted blood components. *Transfus Med* 1998; 8: 59–71.
- Drew WL, Roback JD. Prevention of transfusion-transmitted cytomegalovirus: reactivation of the debate? *Transfusion* 2007; 47: 1955–8.
- Ziemann M, Krueger S, Maier AB, Unmack A, Goerg S, Hennig H. High prevalence of cytomegalovirus DNA in plasma samples of blood donors

- in connection with seroconversion. *Transfusion* 2007; 47: 1972–83.
32. Ziemann M, Unmack A, Steppat D, Juhl D, Goerg S, Hennig H. The natural course of primary cytomegalovirus infection in blood donors. *Transfus Med* 2010; 99: 24–33.
 33. Irsch J, Lin L. Pathogen inactivation of platelet and plasma blood components for transfusion using the Intercept blood system. *Transfus Med Hemother* 2011; 38: 19–31.
 34. Bowden RA, Slichter SJ, Sayers M, Weisdorf D, Cays M, Schoch G, et al. A comparison of filtered leukocyte-reduced and cytomegalovirus (CMV) seronegative blood products for the prevention of transfusion-associated CMV infection after marrow transplant. *Blood* 1995; 86: 3598–603.
 35. Ljungman P, Larsson K, Kumlien G, Aschan J, Barkholt L, Gustafsson-Jernberg A, et al. Leukocyte depleted, unscreened blood products give a low risk for CMV infection and disease in CMV seronegative allogeneic stem cell transplant recipients with seronegative stem cell donors. *Scand J Infect Dis* 2002; 34: 347–50.
 36. Pamphilon DH, Rider JR, Barbara JAJ, Williamson LM. Prevention of transfusion-transmitted cytomegalovirus infection. *Transfus Med* 1999; 9: 115–123.
 37. Vamvakas EC. Is white blood cell reduction equivalent to antibody screening in preventing transmission of cytomegalovirus by transfusion? A review of the literature and meta-analysis. *Transfus Med Rev* 2005; 19: 181–99.
 38. Mitsani D, Nguyen MH, Kwak EJ, Silveira FP, Vadnekar A, Pilewski J, et al. Cytomegalovirus disease among donor-positive/recipient-negative lung transplant recipients in the era of valganciclovir prophylaxis. *J Heart Lung Transplant* 2010; 29: 1014–20.
 39. Danziger-Isakov L A, Worley S, Michaels MG, Arigain S, Aurora P, Ballmann M, et al. The Risk, Prevention, and Outcome of Cytomegalovirus After Pediatric Lung Transplantation. *Transplantation* 2009; 87: 1541–8.
 40. Luck S, Sharland M. Congenital cytomegalovirus: new progress in an old disease. *Paediatr Child Health* 2009; 19: 178–84.
 41. Stagno S, Pass RF, Cloud G, Britt WJ, Henderson RE, Walton PD, et al. Primary cytomegalovirus in pregnancy. Incidence, transmission to fetus, and clinical outcome. *JAMA* 1986; 256: 1904–8.
 42. Fowler KB, Stagno S, Pass RF, Britt WJ, Boll TJ, Alford CA. The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. *N Engl J Med* 1992; 326: 663–7.
 43. Moise KJ, Jr. In: Barrs VA, Lockwood CJ, eds: UpToDate. Intrauterine fetal transfusion of red blood cells. [citirano 16.10.2012]. Dosegljivo na : <http://www.uptodate.com/contents/intrauterine-fetal-transfusion-of-red-blood-cells>.
 44. Triulzi DJ, Dzik WH. Leukocyte-Reduced Blood Components: Laboratory and Clinical Aspects. In: Simon TL, Snyder EL, Stowell CP, Strauss RG, Solheim BG, Petrides M, eds. *Rossi's Principles of Transfusion Medicine*, 4th Edition. Wiley-Blackwell; 2009. p.
 45. Gibson BE, Todd A, Roberts I, Pamphilon D, Rodeck C, Bolton-Maggs P, et al.; British Committee for Standards in Haematology Transfusion Task Force: Writing group. Transfusion guidelines for neonates and older children. *Br J Haematol*. 2004 Feb; 124: 433–53.
 46. Vij R, DiPersio JF, Venkatraman P, Trinkaus K, Goodnough LT, Brown RA, et al. Donor CMV serostatus has no impact on CMV viremia or disease when prophylactic granulocyte transfusions are given following allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* 2003; 101: 2067–9.
 47. Nichols GW, Price T, Boeckh M. Cytomegalovirus infections in cancer patients receiving granulocyte transfusions. *Blood* 2002; 99: 2483–4.