



CMV in Plasma

Dr. Marijke Weber-Schehl

- Nachweis von HCMV in Plasma
- Ergebnisse Spenderscreening
- CMV und Plasmaprodukte



**Richtlinien zur Gewinnung
von Blut und Blutbestandteilen
und zur Anwendung von Blutprodukten
(Hämotherapie)**

Aufgestellt gemäß §§ 12a u. 18 Transfusionsgesetz von der Bundesärztekammer
im Einvernehmen mit dem Paul-Ehrlich-Institut

Zweite Richtlinienanpassung 2010

in der vom Vorstand der Bundesärztekammer am 16.04.2010 verabschiedeten Fassung. Das
Einvernehmen des Paul-Ehrlich-Instituts wurde am 04.05.2010 hergestellt.

Strategie

Vermeidung von CMV-Infektionen durch Blutprodukte

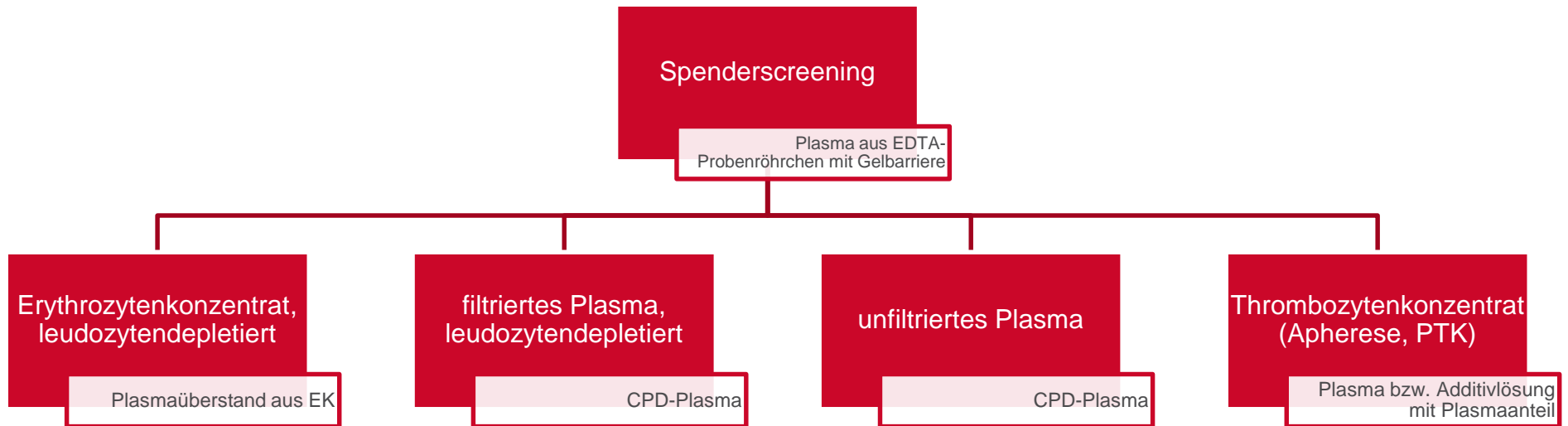
- Reduktion zell-assoziiierter Viren durch Leukozytendepletion
- CMV-DNA-NAT zum Nachweis freier Cytomegalie-Viren im Plasma von Blutspenden

Nachweis von HCMV mittels PCR

	Screening	Screening	Produkttestung
Probenvolumen	0,1 ml EDTA-Plasma	1,0 ml EDTA-Plasma	9,6 ml CPD-Plasma
Testpool	96er Miniplasmapool	8er Miniplasmapool	Einzelprobenentestung
Probenvorbereitung	autoX-System (GFE Blut)	autoX-System (GFE Blut)	autoX-System (GFE Blut)
Virusanreicherung mittels Zentrifugation	ja	ja	ja
CMV-NAT	In-house NAT (manuell)*	In-house NAT (manuell)*	In-house NAT (manuell)*
Thermocycler	ABI7500	ABI7500	ABI7500
95% Nachweisgrenze pro Einzelspende	1.000 IU/ml	100 IU/ml	10 IU/ml

*Ziemann et al (2007): Transfusion 47:1972-82

Nachweis von CMV-DNA in den hergestellten Produkten



Auswertung CMV-NAT-Screening

(08.11.2010 – 30.09.2017)

	Anzahl geprüfter Entnahmen	Anzahl CMV-DNA positiver Spenden	Rate CMV-DNA positiver Spenden
Vollblutspenden	1.511.543	59	0,004 %
Vollblutspenden* (Herstellung von PTK)	61.472	15	0,024 %
Thrombozytenspenden (Apheresen)	82.986	17	0,020 %
Stammzellpräparate	1.200	18	1,5 %

*Prüfung: 01/2012 – 04/2014

Nachweis von HCMV in Erythrozytenkonzentraten und Plasma (Vollblutspende)

	Plasma aus Teströhrchen	Plasmaüberstand Erythrozytenkonzentrat	Plasma, filtriert
VBL-1	+	+	+
VBL-2	+	n.d.	+
VBL-3	+	+	+
VBL-4	+	+	+
VBL-5	+	+	+
VBL-6	+	n.d.	+
VBL-7	+	n.d.	+

	Plasma aus Teströhrchen	Plasmaüberstand Erythrozytenkonzentrat	Plasma, filtriert
VBL-8	+	n.d.	+
VBL-9	+	+	n.d.
VBL-10	+	n.d.	+
VBL-11	+	n.d.	+
VBL-12	+	n.d.	+
VBL-13	+	n.d.	+
VBL-14	+	n.d.	+

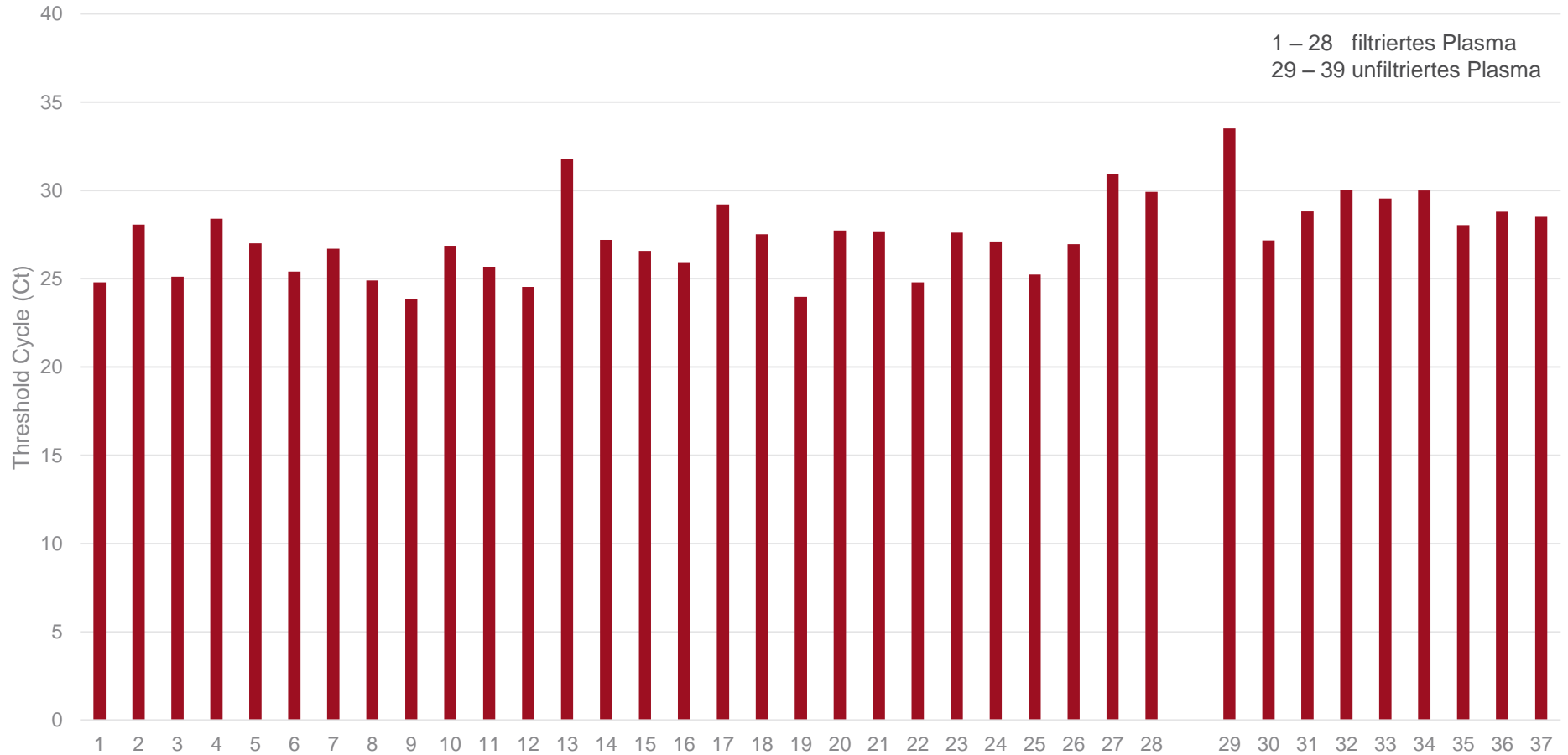
VBL = Vollblutspende, EK = Erythrozytenkonzentrat, n.d. = nicht durchgeführt

Nachweis von CMV in Pool-Thrombozytenkonzentraten (PTK)

	Plasma aus Teströhrchen	Pool-TK	Plasma, unfiltriert	Bemerkung
VBL-IL-1	+	+	n.d.	BC und Plasma der Spende in PTK
VBL-IL-2	+	n.d.	+	BC der Spende in PTK
VBL-IL-3	+	+	+	BC der Spende in PTK
VBL-IL-4	+	+	n.d.	BC der Spende in PTK
VBL-IL-5	+	+	+	BC der Spende in PTK
VBL-IL-6	+	n.h.	+	Keine Herstellung eines PTK
VBL-IL-7	+	negativ	+	BC der Spende in PTK-Additiv

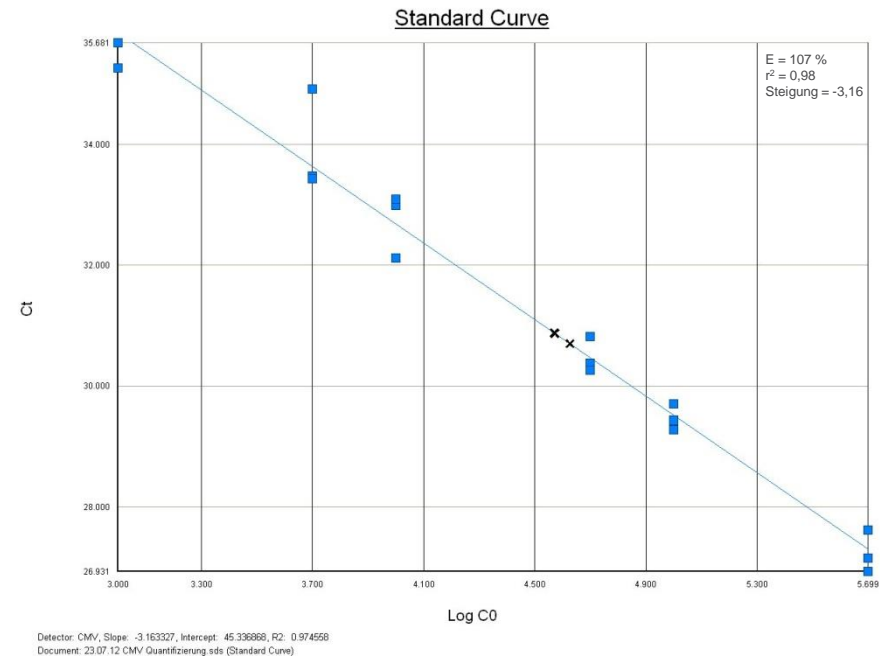
VBL-IL = Vollblut-Komponentenfiltration, BC = Buffy Coat, PTK = Pool-Thrombozytenkonzentrat, n.d. = nicht durchgeführt, n.h. = nicht hergestellt

Nachweis CMV-DNA in Frischplasma

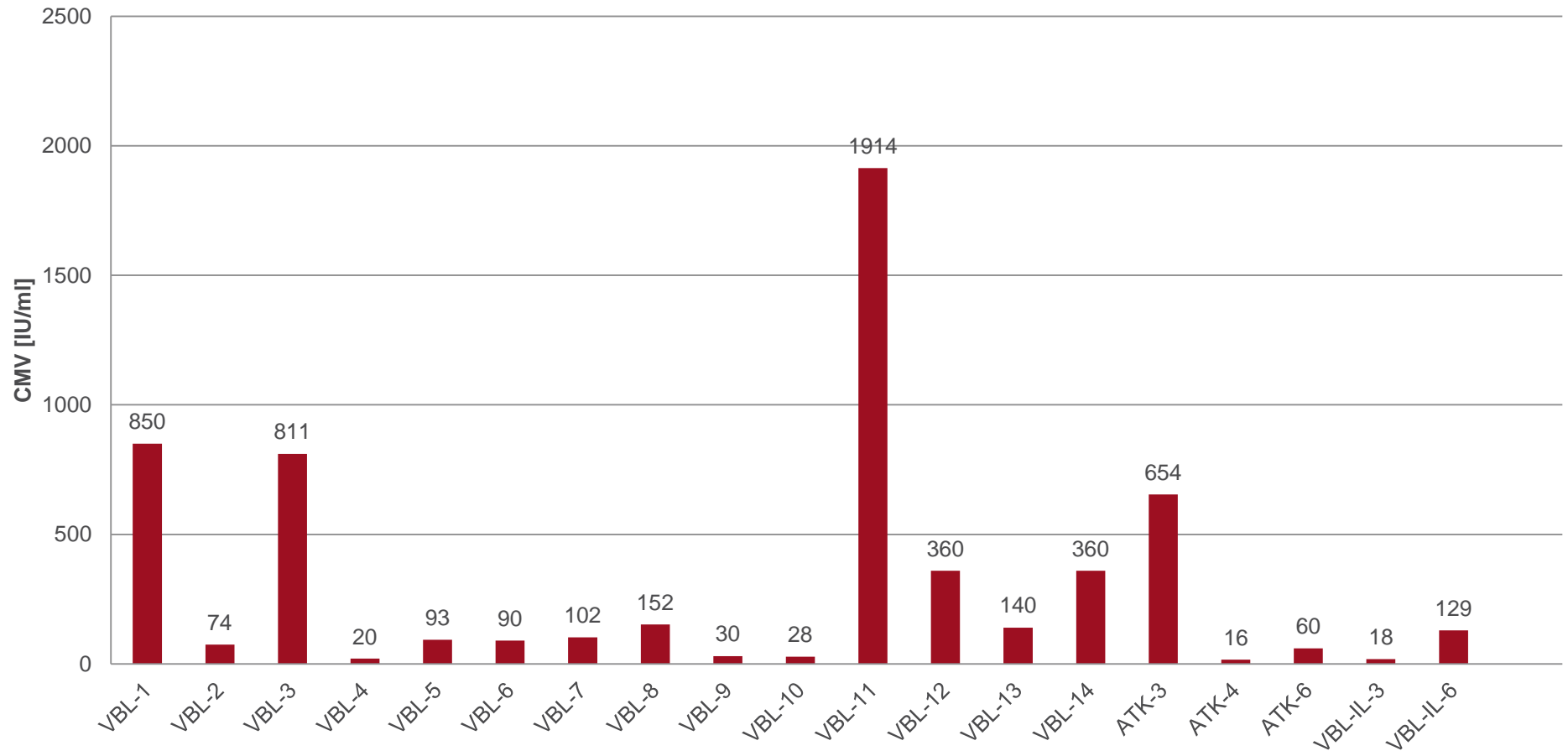


Bestimmung der Viruslast

- quantitative Real-time PCR (qPCR)
- Standardkurve aus WHO-Standard
09/162 (1x10E03 bis 5x10E05 IU/ml)
- Bestimmung der Viruskonzentration aus
5 bzw. 10 ml CPD-Plasma, pelletiert
Testung mit jeweils drei Replika



Quantifizierung CMV-positiver Plasmen



Identifizierung CMV-NAT positiver Apheresespender

	ID-10	ID-12	ID-14
CMV-NAT (Screening)	positiv	positiv	positiv
CMV-NAT (Produkt)	positiv	positiv	positiv
CMV IgM	negativ	24	negativ
CMV IgG	1:15.000	1:4.200	1:38.000
Avidität	99	37	91
CMV-NAT (Vorspende)	negativ	negativ	negativ
CMV IgM/IgG (Vorspende)	positiv (Stammdaten)	negativ	negativ/positiv -/1:7.500

Identifizierung CMV-NAT positiver Spenden

	ID-1	ID-2	ID-3	ID-4	ID-5	ID-6	ID-7	ID-8
CMV-NAT (Screening)	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv
CMV-NAT (Produkt)	positiv	n.a.	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv
CMV IgM	35	negativ	33	25	28	15	24	35
CMV IgG	1:370	1:25.000	1:7.100	negativ	1:370	1:11.000	1:3.100	1:3.600
CMV-NAT (2. Blutprobe)	positiv	n.a.	n.a.	positiv	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
CMV IgM/IgG	28/1:4.600	n.a.	n.a.	29/1:1.500	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
CMV-NAT (Vorspende – Produkt)	negativ	n.a.	n.a.	negativ	negativ	negativ	n.a.	n.a.
CMV IgM/IgG (Vorspende)	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	neg/1:2.200	negativ	n.a.

n.a. = nicht verfügbar

Serologie CMV-DNA positiver Spenden (Screening)

CMV –DNA positive Spenden (n=55)

IgM/IgG negativ	IgM positiv / IgG negativ	IgM/IgG positiv	IgM negativ / IgG positiv
0	2 (3,6 %)	44 (80 %)	9 (16,4 %)

Identifizierung einer Fensterphasenspende – Rückverfolgung mit positiver NU-Probe

Spende- datum	Produkt	MP-NAT (Screening)	ID-NAT (NU)	ID-NAT (10 ml Plasma)	anti-CMV IgM (Titer)	anti-CMV IgG (Titer)	Zeit zur letzten seronegativen Spende (Tage)
09.07.13	ATK	positiv	n.d.	positiv	positiv (98,8 IU/ml)	positiv (30,8 IU/ml)	19
20.06.13	ATK*	negativ	negativ	positiv	negativ	negativ	0

* Transfusion von 2 Thrombozytenkonzentraten: **Kein** Hinweis auf eine transfusionsbedingte CMV-Infektion

n.d. = nicht durchgeführt, ATK = Thrombozytenkonzentrat (Apherese)

Therapeutisches Frischplasma

Stellungnahme des Arbeitskreises Blut des Bundesministerium für Gesundheit (2017)

Blutspendedienst
des Bayerischen Roten Kreuzes



Für therapeutisches Plasma sind bisher unabhängig von einer Leukozytendepletion oder Pathogeninaktivierung keine HCMV-Übertragungen beschrieben worden. Das ist möglicherweise auf Instabilität des Virus bei Lagerungstemperaturen um -20°C zurückzuführen, ...

Eine Übertragung von HCMV durch therapeutisches Frischplasma ist nicht bekannt.

Plasmaderivate

Stellungnahme des Arbeitskreises Blut des Bundesministerium für Gesundheit (2017)

Bei der Herstellung von Plasmaderivaten wird durch die Herstellungsverfahren HCMV zuverlässig inaktiviert.

- Inaktivierung durch Verfahren, die die Lipidhülle angreifen (z.B. S/D-Verfahren)
- Hitzebehandlung (z.B. Pasteurisierung)
- Filtration

Eine HCMV-Übertragung durch Plasmaderivate (z.B. Gerinnungsfaktoren, Immunglobuline, Albumin) kann nach jetzigem Kenntnisstand ausgeschlossen werden.



Zusammenfassung

- Das HCMV-Spenderscreening identifiziert CMV-PCR positive Blutspender (0,02 %).
- Blut- und Plasmaproducte virämischer Spender weisen, unabhängig von der Filtration zur Leukozytendepletion, freie Cytomegalieviren im Plasma auf.
- Für therapeutisches Plasma ist keine Übertragung von HCMV beschrieben.
- Für Plasmaderivate (z.B. Gerinnungsfaktoren, Immunglobuline, Albumin) ist eine Übertragung auf Grund der eingesetzten Virusinaktivierungs-/eliminierungsverfahren ausgeschlossen.



Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!