



## LabTOPs

Wissenswertes aus der Laboratoriumsmedizin

10. Ausgabe – Juni 2011

Redaktion: Dr. med. Maria Shipkova

Zentralinstitut für Klinische Chemie  
und Laboratoriumsmedizin

Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. E. Wieland

### Indikation zur Transfusion CMV-getesteter Blutprodukte (Gastbeitrag)

Dr. med. Beate Luz

Zentralinstitut für Transfusionsmedizin und Blutspendedienst

### Diagnostik der Nächtlichen Paroxysmalen Hämoglobinurie (PNH)

Dr. rer. nat. Corinne Klett

Zentralinstitut für Klinische Chemie  
und Laboratoriumsmedizin

### Indikation zur Transfusion CMV-getesteter Blutprodukte

Die Indikation zur Transfusion CMV-getesteter Blutprodukte wurde 2009 in den Querschnitts-Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten (4. Auflage) neu bewertet. Der Arbeitskreis Blut hat in seiner Stellungnahme (Bundesgesundheitsbl. 2010 53:973-983) ein klares Votum gegen die Herstellung und Transfusion CMV-getesteter Blutprodukte abgegeben. Auf dieser Grundlage erfolgte 2010 die entsprechende Änderung in den Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie), (Richtlinienanpassung 2010).

Das humane Cytomegalievirus (HCMV) wird in der neueren Literatur auch als Herpesvirus Typ 5 (HHV-5) bezeichnet. Es gehört zur Familie der Herpesviridae und wurde 1956 erstmals isoliert. Im Blut ist das Cytomegalievirus hauptsächlich zellassoziiert, vor allem in Granulozyten und Makrophagen, zu finden. Das HCMV ist empfindlich gegen niedrigen pH, Lipidlösungsmittel, Hitze und Kälte. Bereits bei  $-20^{\circ}\text{C}$  ist es relativ instabil.

Das Virus kann außer über die üblichen Infektionswege auch iatrogen durch zelluläre Blutkomponenten sowie Organ- und Stammzelltransplantate übertragen werden. Bei Immunkompetenten verlaufen die meisten HCMV-Infektionen asymptomatisch oder mit leichten, wenig charakteristischen Symptomen. Bei Feten, Frühgeborenen, Patienten mit angeborenem oder erworbenem Immundefekt (AIDS), Organ- und Stammzelltransplantierten kann es jedoch zu schweren Erkrankungsverläufen mit Organbeteiligung wie Enzephalitis, Retinitis, Hepatitis, Nephritis, Splenomegalie und Colitis kommen. In den 1960er Jahren wurden erstmals bei Patienten nach Operationen und in den Folgejahren bei den oben genannten gefährdeten Patientengruppen transfusionsassoziierte CMV-Infektionen beschrieben. Dabei handelte es sich immer um Folgen der Transfusion zellhaltiger Blutkomponenten.

#### Transfusionsassoziierte CMV-Infektionen nach Übertragung von gefrorenem Frischplasma wurden bisher nicht beobachtet.

HCMV wird vermutlich als latentes Virus mit Blutleukozyten (Monozyten) und hämatopoetischen Progenitorzellen von CMV-seropositiven Blutspendern übertragen. Zur Prävention transfusionsassoziiierter CMV-Infektionen wurden daher in der Vergangenheit bei den oben genannten Risikogruppen ausschließlich zelluläre Blutkomponenten von CMV-seronegativen Spendern transfundiert.

Die Antikörperprävalenz bei Blutspendern liegt in Deutschland altersabhängig zwischen 37% und 65%. Die jährliche Serokonversionsrate liegt je nach Quelle zwischen 0,8% und 1,2%. Während der Fensterphase von bis zu acht Wochen zwischen Infektionszeitpunkt und Serokonversion kann jedoch durch die bereits bestehende Virämie HCMV von asymptomatischen, seronegativen Blutspendern übertragen werden. Das erklärt die verbleibende Anzahl von transfusionsassoziierten CMV-Infektionen auch bei Auswahl seronegativer Spender.

Durch die in Deutschland vorgeschriebene Leukozytendepletion wird eine Abreicherung der zellständigen latenten Cytomegalieviren und damit eine Verringerung des Risikos einer transfusionsassoziierten CMV-Infektion bei Risikopatienten um ca. 90% erreicht. Der Sicherheitsgewinn durch die Leukozytendepletion ist damit der Auswahl HCMV-seronegativer, nicht leukozytendepletierter Blutkomponenten äquivalent. Eine Kombination beider Methoden bringt keinen weiteren Vorteil. **Das Risiko einer HCMV-Übertragung kann sich nach Ansicht des Arbeitskreises Blut sogar um bis zu 50% erhöhen, wenn ausschließlich aus der Subpopulation „HCMV-seronegativ“ ausgewählt wird.** Denn bei einer CMV-Serokonversionsrate von 0,55% pro Jahr wird gerade unter diesen ein kleiner Anteil virämischer Spender sein, die sich in der serologischen Fensterphase befinden.

Lediglich bei Granulozytenpräparaten wird - wegen des hohen Anteils mononukleärer Zellen - die Auswahl von CMV-seronegativen Blutspendern für CMV-seronegative Empfänger noch empfohlen. **Bei allen leukozyten-depletierten zellulären Blutprodukten wird die Auswahl CMV-seronegativer Blutspender – auch für die genannten Risikogruppen - zur Vermeidung einer CMV-Infektion nicht mehr empfohlen (Richtlinien) bzw. für nicht sinnvoll (Arbeitskreis Blut) erklärt.** Laut Arbeitskreis Blut entfällt damit auch die Notwendigkeit der Klärung des HCMV-Spenderstatus.

In Absprache mit der Transfusionskommission des Klinikums Stuttgart wird das Zentralinstitut für Transfusionsmedizin und Blutspendedienst aus diesem Grund zukünftig routinemäßig keine Anti-CMV-Testung bei den Blutspendern mehr vornehmen. Die Anforderung von CMV-seronegativen getesteten Spenden muss dann im Einzelfall begründet werden. Die Begründung für die Abweichung von den Richtlinien sollte in der Krankenakte dokumentiert werden. Verdachtsfälle einer transfusionsassoziierten CMV-Infektion sind wie bisher an das Paul-Ehrlich-Institut zu melden. Dabei müssen die üblichen Meldewege über das Zentralinstitut für

Transfusionsmedizin und Blutspendedienst eingehalten werden.

Literatur:

1. Humanes Cytomegalievirus (HCMV) - Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit, Bundesgesundheitsbl 2010-53:973-083

2. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie), Gesamtnovelle 2005 mit Richtlinienanpassung 2010. Aufgestellt gemäß Transfusionsgesetz von der Bundesärztekammer im Einvernehmen mit dem Paul-Ehrlich-Institut

3. Querschnitts-Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten, 4. überarbeitete Auflage.

Herausgegeben von der Bundesärztekammer auf Empfehlung ihres wissenschaftlichen Beirats.

## Diagnostik der Nächtlichen Paroxysmalen Hämoglobinurie (PNH)

Die PNH ist eine erworbene korpuskuläre hämolytische Anämie, die chronisch in Schüben verläuft und bei der ein klonaler Defekt blutbildender Stammzellen zugrunde liegt. Ursache dafür ist eine Genmutation, die sich in einer Knochenmarkshypoplasie und einer damit verbundenen peripheren Panzytopenie äußert. Die betroffenen Zellen können den Glykosyl-Phosphatidyl-Inositol-(GPI)-Anker nicht bilden, der für die Verankerung von Proteinen in der Membran von Erythrozyten und Leukozyten notwendig ist. Bei Patienten mit PNH fehlen auf den von der atypischen Stammzelle abstammenden hämatopoetischen Zellen die GPI-verankerten Moleküle. Das Fehlen dieser Proteine an der Oberfläche der Erythrozyten (CD55, CD58, CD59) verursacht eine verminderte Resistenz gegenüber Komplement-vermittelter Lyse, was eine gesteigerte intravasale Hämolyse nach sich zieht. Diese kann klinisch inapparent verlaufen. Die Häufigkeit der PNH liegt bei ca. 1 : 100.000.

### Klinische Symptome:

Die Symptome der PNH sind auf Grund der chronischen, intravaskulären Hämolyse vielfältig:

- Anämie (u.U. bis zur Transfusionsabhängigkeit)
- Venöse Thrombosen (Lungenembolie, tiefe Venenthrombose, hepatische/Pfortaderthrombose, abdominelle Ischämie)
- Arterielle Thrombosen (Schlaganfall, transitorische ischämische Attacke, Myokardinfarkt)
- Schmerzen (abdominelle Schmerzen, Kopfschmerzen)

- Hämoglobinurie (nur bei max. 1/3 der Patienten)
- Chronische Niereninsuffizienz
- Fatigue / eingeschränkte Lebensqualität
- Pulmonale Hypertonie
- Unklare (Pan-)zytopenie / Knochenmarksaplasie

### Indikation für eine gezielte PNH-Diagnostik:

Aufgrund der vielfältigen, unterschiedlichen Symptomatik und der Seltenheit dieser Erkrankung ist eine gezielte PNH-Diagnostik bei Patienten mit unklarer Anämie bzw. Thrombose nur sinnvoll, wenn folgende Voraussetzungen erfüllt sind:

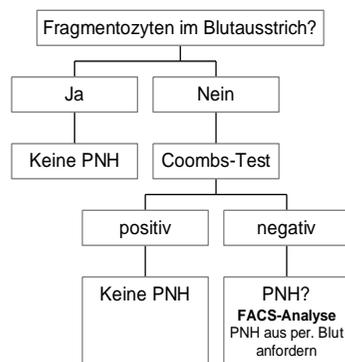
- Hb erniedrigt
- LDH und Bilirubin erhöht
- **Keine Fragmentozyten** im Blutausstrich
- **Negativer Coombs-Test**
- Freies Hämoglobin erhöht (vor allem bei Hämolyse-Schub)
- evtl. Retikulozytenzahl erhöht
- evtl. Leukozytopenie/Thrombopenie (vor allem bei Verdacht auf MDS oder aplastische Anämie)
- evtl. Kreatinin erhöht

**Ein positiver Coombs-Test und Fragmentozyten im Blutausstrich schließen eine PNH aus!**

### Differentialdiagnose der PNH:

Die häufigste Form der Hämolyse ist die AIHA (autoimmun-hämolytische Anämie), die aber in 97% der Fälle, im Gegensatz zur PNH, Coombs-positiv ist und Fragmentozyten aufweist. Weitere Erkrankungen mit Hämolyse wie TTP (thrombotisch-thrombozytopenische Purpura), HUS (hämolytisch-urämisches Syndrom), DIC (disseminated intravascular coagulation) und das HELLP-Syndrom (Hemolysis, elevated liver enzyme levels, low platelet count) sind wie die PNH zwar Coombs-negativ, weisen aber im Gegensatz zur PNH Fragmentozyten im Blutausstrich auf.

### Labordiagnostisches Vorgehen bei V. a. PNH:



### FACS-Analytik (Flow Cytometry) bei PNH:

- Wird aus **peripherem Blut** (2,7 ml EDTA-Blut) durchgeführt. Knochenmark ist für die PNH-Diagnostik nicht geeignet!
- **telefonische Voranmeldung (278-34828 oder -34823) erforderlich**

Bei der FACS-Analytik/Immunphänotypisierung werden die PNH-relevanten Antigene auf den Erythrozyten und Leukozyten untersucht, um die Zellklone mit Defizienz der GPI-Proteine zu erkennen und zu quantifizieren. Hierbei werden routinemäßig zwei Zellreihen (Granulozyten und Erythrozyten) auf ihre Expression unterschiedlicher GPI-Marker (CD55, CD59, CD24, CD66, CD14) untersucht. Zusätzlich werden die Granulozyten und Monozyten auf ihre Bindungsfähigkeit an FLAER, einem bakteriellen Aerolysin, untersucht. Dieses Molekül kann von GPI-defizienten Zellen nicht gebunden werden.

Anhand der Messergebnisse kann man drei Arten von Zelltypen unterscheiden:

- **Typ I Zellen:** Die untersuchte Zellreihe weist eine physiologische GPI-Expression auf (kein Nachweis einer PNH)
- **Typ II Zellen:** Die untersuchte Zellreihe beinhaltet einen Zellklon mit reduzierter GPI-Expression
- **Typ III Zellen:** Die untersuchte Zellreihe beinhaltet einen Zellklon mit komplett fehlender GPI-Expression

Die **Nachweisgrenze** für eine GPI-defiziente Zellpopulation liegt in der Routineuntersuchung bei ca. 1%. In der Regel finden sich bei einer PNH zeitgleich sowohl bei Erythrozyten als auch bei Granulozyten und Monozyten GPI-defiziente Zellklone.

Literatur:

M. J. Borowitz et al.: Guidelines for the Diagnosis and Monitoring of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria and related Disorders by Flow Cytometry. Cytometry Part B 2010; 78B: 211-230.

J. Schubert et al.: Paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie (PNH). Leitlinie der DGHO, Mai 2011.

Die Zusammenstellung aller Inhalte wurde mit Sorgfalt vorgenommen. Eine Haftung, auch für eventuelle Fehler kann nicht übernommen werden.