

# Humanes Cytomegalievirus (HCMV)

## Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit

Der Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit und Soziale Sicherung gibt als nationales Beratungsgremium Stellungnahmen zu neuartigen Erregern ab, bewertet neue Erkenntnisse zu bekannten Erregern und erarbeitet entsprechende Empfehlungen für die Fachöffentlichkeit. Diese Serie von Stellungnahmen zu einzelnen Erregern wurde als Zusammenfassung des aktuellen Wissensstandes veröffentlicht, speziell unter transfusionsmedizinisch relevanten Aspekten (Bundesgesundhbl., 41, 53, 1998).

Frühere Beiträge befassten sich mit der *Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung*, dem *Parvovirus B19* und dem *GB-Virus Typ C* (Hepatitis-G-Virus), (Bundesgesundheitsbl. 41, 78–90, 1998), *HTLV-I/-II*, (Bundesgesundheitsbl. 41, 512, 1998), *Yersinia enterocolitica*, (Bundesgesundheitsbl. 42, 613, 1999), *TT-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 43, 154–156, 2000), *Hepatitis-B-Virus (HBV)* (Bundesgesundheitsbl. 43, 240–248, 2000), *Humanes Cytomegalovirus (HCMV)*, (Bundesgesundheitsbl. 43, 653–659, 2000), *Hepatitis-A-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 44, 844–850, 2001), *Treponema pallidum* (Bundesgesundheitsbl. 45, 818–826, 2002), *Hepatitis-C-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 46, 712–722, 2003), *Humanes Immunschwächevirus (HIV)* (Bundesgesundheitsbl. 47, 83–95, 2004), *Arboviren – durch Arthropoden übertragbare Viren* (Bundesgesundheitsbl. 47, 910–918, 2004), *Coxiella burnetii – Erreger des Q-(query) Fiebers* (Bundesgesundheitsbl. 48, 814–821, 2005), *Variante Creutzfeldt-*

*Jakob-Krankheit* (Bundesgesundheitsbl. 48, 1082–1090, 2005), *Influenzaviren* (Bundesgesundheitsbl. 50, 1184–1191, 2007), *Arbobakterien (über Arthropoden übertragbare Bakterien)* (Bundesgesundheitsbl. 50, 1192–1207, 2007) *Hepatitis-E-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 51, 90–97, 2008), *Malaria* (Bundesgesundheitsbl. 52, 236–249, 2008), *Arboprotzoen* (Bundesgesundheitsbl. 52, 123–146, 2009), *Parvovirus B19* (Bundesgesundheitsbl. im Druck) und *Orthopockenviren: Infektionen des Menschen* (Bundesgesundheitsbl. im Druck.)

### 1. Wissensstand über den Erreger

#### 1.1 Erregerereigenschaften

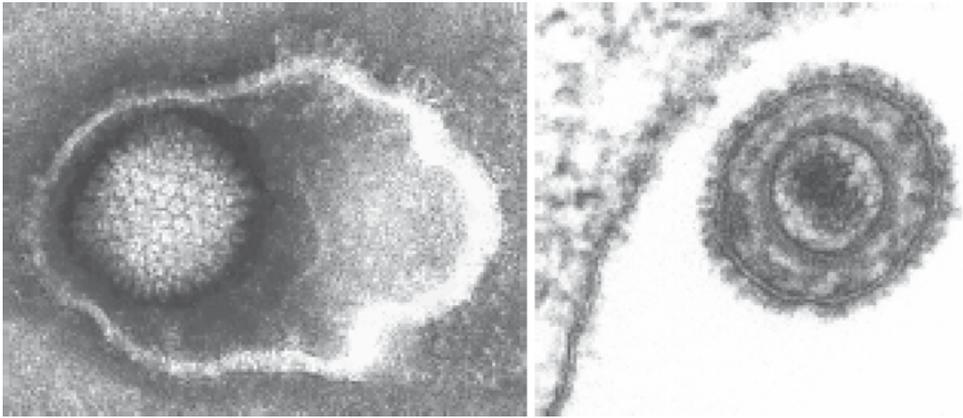
Das humane Cytomegalievirus (HCMV), in der neueren Literatur auch als humanes Herpesvirus Typ 5 (HHV-5) bezeichnet, gehört zusammen mit animalen CMV zur Familie der Herpesviridae, Subfamilie Betaherpesviridae, Genus Cytomegalievirus. Es wurde 1956 erstmals isoliert. Der Name leitet sich von der Eigenschaft ab, zur Vergrößerung der infizierten Zelle (Cytomegalie) zu führen und charakteristische Einschlusskörperchen zu induzieren. Im Blut ist es vorwiegend zellassoziert, vor allem in Granulozyten und Makrophagen. HCMV enthält als Genom eine doppelsträngige DNA mit einer Größe von ca. 230.000 Basenpaaren. Das Genom ist von einem ikosaedrischen Kapsid (100–110 nm Durchmesser, 162 Kapsomere)

umschlossen. Zwischen Kapsid und Virushülle befindet sich eine als Tegument bezeichnete Proteinschicht. Die Virushülle leitet sich von zellulären Membranen ab. In die Lipiddoppelmembran sind mindestens acht verschiedene virale Glykoproteine eingelagert. Das reife Viruspartikel hat einen Durchmesser von 150–200 nm (■ **Abb. 1**). Wie alle Herpesviren ist HCMV empfindlich gegen niedrigen pH, Lipidlösungsmittel und Hitze. Bei 37°C nimmt die HCMV-Infektiosität nach 60 min um ungefähr die Hälfte ab. Es ist auch bei –20°C relativ instabil. Zur Erhaltung der Infektiosität sollte es bei mindestens –70°C gelagert werden.

Man unterscheidet bei Herpesviren (a) den lytischen Infektionszyklus und (b) die Latenz. Die Latenz besteht lebenslang. Charakteristika der Betaherpesviren, wie zum Beispiel auch bei HHV 6 und HHV 7, sind die ausgeprägt hohe Wirtsspezifität, der langsame Vermehrungszyklus und die Ausbreitung von Zelle zu Zelle in der Zellkultur auch in Gegenwart von neutralisierenden Antikörpern.

Die lytische Infektion von Zellen lässt sich anhand von Proteinexpressionsmustern und der Vermehrung der Nukleinsäure verfolgen. Die sogenannten sehr frühen (*immediate early*, IE) Proteine sind für die Regulation der frühen (*early*, E) und darüber hinaus auch für die späten (*late*, L) Proteine zuständig.

Nach Adsorption des Virus mit Hilfe der viralen Glykoproteine an die Zielzelle fusioniert die Virushülle mit der Zellmembran, das Kapsid wird



**Abb. 1** ▶ Elektronenmikroskopische Aufnahmen von HCMV-Partikeln.

**Linkes Bild:** Negativkontrastierung: auf der dilatierten Virushülle sind teilweise die Oberflächenproteine (Glykoprotein) sichtbar. Das Kontrastmittel ist in das Viruspartikel eingedrungen (Deformierung der Lipidhülle), und im Innern ist das Nukleokapsid mit seinen Untereinheiten zu erkennen.

**Rechtes Bild:** Ultradünnschnitt durch ein Viruspartikel. Im Innern des Virion ist die Nukleinsäure (DNA) stark mit dem Kontrastmittel angefärbt. Zwischen Kapsid und Virushülle erkennt man die Proteinschicht des Teguments. Auf der Lipiddoppelmembran ist der dichte Saum der Glykoproteine zu erkennen.

von der Zelle aufgenommen, zum Kern transportiert und das Genom dort freigesetzt. Im Zellkern erfolgt anschließend die Transkription der IE-Proteine mit Hilfe der RNA-Polymerase II der Wirtszelle, wobei Tegumentproteine des infizierenden Viruspartikels als Transaktivatoren für die IE-Gene wirken.

Die IE-Proteine regulieren die weiteren Schritte der Virusvermehrung und greifen auch in die Regulation der Zelle ein, unter anderem in die Expression und den Transport der HLA-Antigene (MHC Klasse-I-Proteine) zum Proteasom. IE-Proteine (vor allem das Phosphoprotein pp65) können als frühe Marker der Virusinfektion in Zellen verwendet werden. Zu den frühen E-Proteinen gehört die HCMV-kodierte DNA-Polymerase, deren Aktivität in Zusammenwirken mit viralen Nukleotidkinasen mit Hilfe von antiviralen Substanzen spezifisch gehemmt werden kann.

Die Synthese der Strukturproteine (L-Proteine) wird über die E-Proteine reguliert. Das Zusammensetzen der viralen Kapside erfolgt im Zellkern; Ausschleusung und Umhüllung der Viren erfolgen an der inneren Kernmembran (möglicherweise auch an anderen zellulären Membranen). HCMV zeigt eine ausgeprägte Zellassoziation [1].

Untersuchungen mit monoklonalen Antikörpern weisen auf Unterschiede von Virusstämmen und -isolaten hin. Neuere Untersuchungen unter

Verwendung von primären Isolaten und den korrespondierenden Seren der Patienten zeigen, dass isolatspezifische neutralisierende Antikörper gebildet werden. Ob hier, wie bei anderen Virusfamilien, die Variabilität von Antigenen die Hauptursache ist oder serologische Subtypen vorhanden sind, ist unklar [2].

## 1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Bei Immunkompetenten verlaufen die meisten HCMV-Infektionen asymptomatisch oder mit leichten, wenig charakteristischen Symptomen. HCMV gelangt über Schleimhautkontakte oder parenteral (über zellhaltige Blutkomponenten, durch Stammzell-/ Organtransplantation) in den Organismus und kann zu einer generellen Infektion mit Organbeteiligung wie Enzephalitis, Retinitis, Hepatitis, Nephritis, Splenomegalie und Colitis führen. Das Virus kann transplazentar sowie über zervikale, vaginale Sekrete und Muttermilch auf den Fötus bzw. das Kind (peri- und postnatale Infektion) übertragen werden. Außerdem ist HCMV sexuell über zervikale Sekrete, Ejakulat oder über Speichel übertragbar [3, 4, 5, 6].

Die Inkubationszeit beträgt vier bis acht Wochen. In dieser Phase kommt es zu einer Virämie, wobei auch hier der

überwiegende Teil der Viren zellassoziiert ist. Die zellassoziierte Virusreplikation kann in unterschiedlichen Zelltypen (zum Beispiel epithelialen Zellen, Endothelzellen, verschiedenen Parenchymzellen, mononukleären Zellen des Blutes) erfolgen [7]. Weiterhin werden duktale Epithelien der Speicheldrüsen von HCMV befallen, jedoch auch Niereneithelien und Drüsenzellen der Genitalorgane [8]. Während der Virämie wird HCMV über die oben genannten Körperflüssigkeiten ausgeschieden. Jede Person mit einer HCMV-Infektion – auch einer asymptomatischen – kann das Virus übertragen.

Vergleichbar mit anderen Herpesviren geht die primäre Infektion mit HCMV, die asymptomatisch verlaufen, oder bei Risikopatienten schwere Krankheitsverläufe auslösen kann (siehe unten), in den Zustand der Latenz über. Als zelluläre Latenzorte (Reservoir) im Blut und Knochenmark werden diskutiert:

- CD34-positive hämatopoetische Progenitorzellen
- CD33-positive hämatopoetische Progenitorzellen
- Monozyten
- Dendritische Zellen
- Neutrophile Granulozyten
- Makrophagen [9, 10, 11, 12, 13, 14]

Roback et al. gewannen sechs bis acht Wochen nach CMV-Infektion von

Mäusen Leukozyten, die sie in eine granulozytenreiche bzw. monozytenreiche Fraktion aufteilen. Beide Fraktionen wurden CMV-naiven Mäusen transfundiert. Nur die Monozyten übertragen in Abhängigkeit der applizierten Zellmenge in 35–50 % CMV [13]. Inwieweit die Ergebnisse auf den Menschen übertragen werden können, bleibt zu untersuchen.

Prinzipiell muss man zwischen einer HCMV-Infektion und einer HCMV-Erkrankung differenzieren. Schädigungen von Geweben und Organen werden sowohl durch direkte zytotoxische Wirkungen von HCMV durch Induktion zytotoxischer T-Lymphozyten und  $\gamma$ -Interferon-Produktion durch spezifische CD4-Lymphozyten und natürliche Killerzellen als auch durch indirekte, HCMV-induzierte immunpathologische Phänomene (zum Beispiel Immunsuppression, Bildung proinflammatorischer Zytokine) verursacht [6, 7].

Die Inzidenz der kongenitalen HCMV-Infektion liegt zwischen 0,3 % und 1,2 % [1]. Damit stellt die HCMV-Übertragung die häufigste kongenitale Infektion dar. Kongenitale Infektionen resultieren zumeist aus einer primären Infektion der Mutter während der Schwangerschaft mit einer intrauterinen Transmissionsrate von 40–50 %. Weiterhin können bereits präkonzeptionell HCMV-seropositive Mütter mit einem weiteren HCMV-Stamm infiziert werden (maternale Sekundärinfektion) mit einer Infektionsrate von 1 % der Neugeborenen seropositiver Mütter [1]. Etwa 7–10 % der infizierten Kinder entwickeln Symptome einer HCMV-Erkrankung mit zum Beispiel Ptechien, Ikterus, Hepatosplenomegalie, Chorioretinitis und zum Teil bleibenden neurologischen Störungen (zum Beispiel geistige Retardierung, Schwerhörigkeit bis zur Taubheit, motorische Defizite), an deren Folgen etwa 10 % der Erkrankten versterben [4, 6]. Ein weiterer Infektionsweg ist die Muttermilch-assoziierte postnatale HCMV-Transmission, die zum Beispiel bei 35–40 % der Frühgeborenen seropositiver Mütter auftritt, die bezüglich einer HCMV-Erkrankung wesentlich stärker als Reifgeborene gefährdet sind [1, 15, 16]. Durch Einfrieren der Muttermilch bei ca. –20 °C für mindestens 24 Stunden kann durch die kältebedingte Minderung der

Infektiosität eine deutliche Verringerung der Transmissionsrate erreicht werden [17, 18]. Die Infektion bleibt bei Reifgeborenen meist symptomlos.

Wichtige pathogenetische Mechanismen für das Auftreten einer HCMV-Erkrankung bei Empfängern von Gewebe- oder Organtransplantaten sind einerseits eine Neuinfektion bei fehlender Immunität und/oder Immunsuppression und andererseits Reaktivierung des latenten Virus bei vorbestehender HCMV-Infektion des Empfängers [6]. Die Reaktivierung von HCMV kann ausgelöst oder verstärkt werden, unter anderem durch Interaktionen mit anderen Viren (zum Beispiel humanes Herpesvirus 6, HHV-6) oder eine gesteigerte Produktion von Zytokinen bis hin zum „cytokine storm“ während bakterieller Infektionen, einer *Graft-versus-host disease* (GVHD) oder Behandlung mit antilymphozytären Antikörpern. Dementsprechend gelten als Risikofaktoren für das Auftreten einer HCMV-Erkrankung neben Serostatus sowie Art und Intensität der immunsuppressiven Behandlung auch interkurrente bakterielle und fungale Infektionen, Auftreten einer Hepatitis nach Lebertransplantation oder GVHD nach allogener Stammzelltransplantation [6, 7]. Auch die Art des transplantierten Organs beeinflusst die Entwicklung einer HCMV-Erkrankung (Risiko am höchsten nach Lungen-, geringer nach Herz-/Leber- und am geringsten nach Nierentransplantation). Während bei Empfängern von allogenen Stammzelltransplantaten HCMV-Pneumonie und seltener gastrointestinale Ulzera sowie Retinitis die wichtigsten Manifestationen der HCMV-Erkrankung sind [19], führt die HCMV-Erkrankung nach Transplantation solider Organe von HCMV-seropositiven Spendern zumeist zu einer Schädigung des transplantierten Organs (zum Beispiel Hepatitis nach Lebertransplantation und Pneumonie nach Lungentransplantation) [6].

Infolge immunmodulatorischer Effekte der Glykoproteine besitzt HCMV bei transplantierten Patienten darüber hinaus pathogenetische Bedeutung für akute oder chronische Abstoßungsreaktionen und auf Grund der durch HCMV ausgelösten Immunsuppression für das Auftreten

bakterieller und fungaler Superinfektionen bzw. opportunistischer Infektionen sowie Epstein-Barr-assoziiierter lymphoproliferativer Erkrankungen („*posttransplantation lymphoproliferative disorders*“; PT-LPD) [7].

HIV-infizierte Personen sind sehr häufig seropositiv für HCMV und erkranken meist als Folge einer Reaktivierung des latenten Virus bei fortschreitender Immunsuppression und nur selten im Rahmen einer primären Infektion. Das Auftreten einer HCMV-Erkrankung korreliert mit dem Schweregrad der Immunschwäche, wobei insbesondere Patienten mit einem Abfall der CD4-positiven T-Lymphozyten auf <50–100/μl betroffen sind. Im Vordergrund der durch HCMV ausgelösten direkten zytotoxischen Wirkungen bei HIV-Infizierten steht die meistens einseitig beginnende, später auch beidseitig auftretende HCMV-Retinitis, die zur Erblindung führen kann. Nach Einführung der „Highly Active Antiretroviral Therapy“ (HAART) mit Protease-Inhibitoren und Hemmstoffen der HIV-Reversen-Transkriptase ist die HCMV-Retinitis selten geworden. Gleichzeitig wurde jedoch unter HAART ein Auftreten intraokulärer Entzündungen beobachtet, die als Antwort des Immunsystems auf persistierende virale Proteine in HCMV-Läsionen der Retina interpretiert wurden [20]. Andere Krankheitsmanifestationen (zum Beispiel Gastroenteritis, Colitis, Pneumonie, Meningoenzephalitis, Polyradikulopathie) sind seltener.

Bei Patienten, die wegen einer malignen Grunderkrankung eine (Poly-) Chemotherapie und/oder Bestrahlung erhalten, kommt es häufig zu einer passageren Störung der zellulären Immunität, die jedoch meistens nicht zu einer HCMV-Erkrankung als Folge einer primären oder sekundären Infektion führt [21].

### 1.3 Epidemiologie

Die Prävalenz spezifischer Antikörper gegen das ubiquitär vorkommende HCMV weist eine große Variationsbreite in Abhängigkeit vom sozioökonomischen Standard eines Landes auf [22]. Generell ist die Prävalenz in den Industriestaaten

Amerikas, Westeuropas und Australiens niedriger als in den Ländern der Dritten Welt. Für viele Länder in Afrika und Asien wird die Prävalenz HCMV-spezifischer Antikörper im Erwachsenenalter mit bis zu 100 % angegeben, während sie in den Industriestaaten zwischen 40 und 70 % liegt [23].

Die Durchseuchung nimmt mit dem Lebensalter zu und erreicht bis zum sechsten Lebensjahr zwischen 5 und 30 %. Die Durchseuchung der Bevölkerung von Industriestaaten erfolgt zweiphasig: Ein erster Gipfel, verursacht vorwiegend durch Schmierinfektionen, wird in den ersten zwei bis drei Lebensjahren beobachtet, ein zweiter Gipfel in der Jugend und im jungen Erwachsenenalter etwa zwischen 16 und 30 Jahren, verursacht durch Sexualkontakte [24]. Der Anteil der Seropositiven steigt danach mit zunehmendem Lebensalter bis auf 50–70 % an [25].

Nach der Infektion kann HCMV über einen längeren Zeitraum passager über Urin oder Speichel ausgeschieden werden. Die Reaktivierung von latenten Infektionen kann zur sporadischen Virusausscheidung führen. Die neonatal erworbene HCMV-Infektion führt zur stärkeren und längeren chronischen Virusausscheidung als eine spätere Infektion.

### 1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

Zur Diagnostik einer CMV-Infektion stehen der direkte Virusnachweis durch Zellkultur, Antigennachweise des Virus, der Nachweis von CMV-DNA, der Nachweis von IgM- und IgG-Antikörpern bzw. der Nachweis von T-Zell-Antworten gegen CMV zur Verfügung, die je nach Fragestellung eingesetzt werden können [zusammenfassend: 26, 27]. Die primäre Diagnostik einer HCMV-Infektion kann durch den Antigen-Nachweis (pp65), zum Beispiel in Leukozyten im Blut, Speichel und Urin sowie mittels Virusisolierung oder Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT) vor der Serokonversion erfolgen [24, 25]. Die Serokonversion wird durch den Nachweis von HCMV-spezifischen IgM- und/oder IgG-Antikörpern im Serum festgestellt. Dafür stehen sowohl

ELISA als auch Immunfluoreszenzteste zur Verfügung.

Die Diagnostik der Infektion erfolgt serologisch über den IgM- und den IgG-Titeranstieg, gemessen in zwei im Abstand von ca. zwei Wochen entnommenen Serumproben. Die Domäne der serologischen Tests liegt in der Definition des Serostatus [28]. Die Reaktivierung (oder Sekundärinfektion) kann serologisch durch Nachweis eines signifikanten Titeranstiegs HCMV-spezifischer Antikörper festgestellt werden. Weiterhin kann durch die Aviditätsbestimmung der IgG-Antikörper zwischen einer primären Infektion (niedrige Avidität bei Bindung gegen multivalentes Antigen) und einer sekundären Infektion (hohe Avidität) unterschieden werden. Der Immunoblot wird als Goldstandard zur Bestätigung von IgM-Antikörpern im Serum betrachtet [29, 30].

Bei Transplantationspatienten wird zum Monitoring der Reaktivierung der quantitative Nachweis von pp65-Antigen in neutrophilen Granulozyten, neuerdings vermehrt der quantitative HCMV-DNA-Nachweis aus Vollblut oder Plasma, durchgeführt. Bei einer HCMV-Enzephalitis kann HCMV-DNA im Liquor nachweisbar sein. Bei Langzeittherapie mit antiviralen Substanzen (zum Beispiel bei AIDS-Patienten mit Retinitis) kann in begründeten Einzelfällen die Bestimmung der Sensitivität der Viren gegenüber den eingesetzten Arzneimitteln *in vitro* oder durch genotypische Resistenzbestimmung mittels Sequenzierung sinnvoll sein.

Zukünftig können Microarrays eine Ergänzung der HCMV-Diagnostik darstellen [31].

## 2. Blut- und Plasmaspender

### 2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Die Antikörperprävalenz bei Blutspendern liegt in Deutschland und anderen europäischen Ländern altersabhängig zwischen 37 und 65 %. Bei Blutspendern in Düsseldorf nahm die HCMV-Prävalenz von ca. 33 % bei den 18- bis 23-Jährigen bis auf etwa 73 % bei den 61- bis 65-Jährigen zu [32]. In Ländern der Dritten Welt kann die Prävalenz bis zu 100 % erreichen [33,

34]. Die jährliche Inzidenz liegt in unseren Breiten bei 0,8 %–1,2 % [35, 36, 37, 38]. In einer Gruppe von Thrombozytapheresependern in den USA wurden niedrigere Inzidenzraten registriert. Die Autoren sehen die Ursache vor allem in der strengen Auswahl von Spendern, speziell für die Herstellung von Zytapheresen, die weniger Risiken für eine HCMV-Infektion haben sollen [39].

### 2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Derzeit sind keine spezifischen Ausschlusskriterien festgelegt. Bei klinischer Symptomatik erfolgt eine Rückstellung von der Blutspende.

### 2.3 Spendertestung und Aussagekraft

Eine serologische Testung auf Antikörper gegen HCMV kann aus folgenden Gründen nicht mehr empfohlen werden:

- Hoher Durchseuchungsgrad der Spender- und Empfängerpopulation
- Geringe Gefahr für immunkompetente Empfänger
- Vorgeschriebene Leukozytendepletion mit Entfernung der zellassoziierten HCMV

Vor der Ära der Leukozytendepletion von Erythro- und Thrombozytenkonzentraten wurden für Risikopatienten HCMV-seronegative Spender ausgewählt. Präparate von HCMV-Antikörper positiven Spendern wurden für diese spezielle Patientengruppe nicht eingesetzt. Mit Einführung der generellen Leukozytenentfernung ist das HCMV-assoziierte Transfusionsrisiko auf das gleiche Niveau wie bei der ausschließlichen Verwendung HCMV-seronegativer Präparate ohne Leukozytendepletion gesenkt worden.

Der Einsatz von leukozytendepletierten **und** HCMV-seronegativen Erythrozyten- bzw. Thrombozytenkonzentraten kann das relative Risiko der transfusionsassoziierten HCMV-Infektion vergrößern. Unter den HCMV-serologisch negativen Spendern ist ein Anteil von virämischen Spendern. Die Wahrscheinlichkeit, eine unerkannt virämische Spende zur Transfusion zu

verwenden ist größer, wenn die Spende nur aus der Spendersubpopulation „HCMV-seronegativ“ ausgewählt wird im Vergleich zur Auswahl aus der Grundgesamtheit aller Spender (HCMV-seronegativ + HCMV-seropositiv + HCMV-Serostatus unbekannt) [40]. Dabei wird davon ausgegangen, dass von leukozytendepletierten HCMV-seropositiven Präparaten praktisch kein Infektionsrisiko ausgeht [38]

Bei Blutkomponenten, die nicht leukozytendepletiert werden können (zum Beispiel Granulozyten- bzw. Lymphozytenkonzentrate) sollen bei HCMV-seronegativen Patienten Spenden von HCMV-seronegativen Spendern verwendet werden. Die Herstellung dieser Präparate von zusätzlich mit einer sensitiven NAT auf HCMV-Genom-Abwesenheit getesteten Spendern ist für Hochrisikopatienten wünschenswert.

## 2.4 Spenderbefragung

Auf Grund der fehlenden HCMV-spezifischen Symptomatik bzw. der in häufigen Fällen symptomlosen Verläufe dieser Virusinfektion ist eine gezielte Spenderbefragung nicht sinnvoll.

## 2.5 Spenderinformation und -beratung

Sollte es im Rahmen der in Sonderfällen durchgeführten HCMV-Spendertestung zum serologischen Nachweis einer HCMV-Infektion kommen, ist keine Spenderinformation notwendig. Angesichts der hohen Durchseuchung und der fehlenden Konsequenzen für Immunkompetente ist eine spezifische Beratung nicht vorgesehen.

## 3. Empfänger

### 3.1 Prävalenz und Inzidenz von blutassozierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Die altersabhängige Prävalenz einer HCMV-Infektion kann in Europa bis ca. 70% betragen. Nach Weber und Doerr [34] ist die Seroprävalenz bei polytransfundierte Patienten

und intravenös Drogenabhängigen gegenüber der Allgemeinbevölkerung nicht erhöht. Literaturangaben nach Einführung der generellen Leukozytendepletion von Erythro- und Thrombozytenkonzentraten sind mit Ausnahme von Transplantatempfängern und einiger spezieller Patientenkollektive für Europa nicht bekannt.

### 3.2 Abwehrlage (Resistenz, vorhandene Immunität, Immunreaktivität, Alter, exogene Faktoren)

Die zelluläre Immunantwort spielt nach heutigem Wissensstand die wesentliche Rolle bei der Virus-Eliminierung und der Besserung der klinischen Symptome. Welche Bedeutung die humorale Antwort für den Infektionsverlauf hat, ist unklar. Wiederholte Infektionen können bei Personen mit erhöhter HCMV-Exposition, wie zum Beispiel bei promiskuitivem Verhalten, Krankenhausaufenthalten, Pflege erkrankter Kinder und ähnlichem auftreten. Bei diesen Individuen wurden mit molekularbiologischen Methoden teilweise mehrere HCMV-Stämme nachgewiesen. Nach van der Meer et al. [5] können autologe virusneutralisierende Antikörper zu einer beschleunigten Viruseliminierung beziehungsweise zur Verhinderung der Virusdissemination beitragen.

Schwere Krankheitsverläufe nach HCMV-Infektion treten fast ausschließlich bei Patienten mit gestörter zellulärer Immunität auf. Dies unterstreicht die Bedeutung der Verhinderung einer primären Infektion bzw. der Reaktivierung des latenten Virus bei dieser Patientengruppe. Unmittelbar nach einer primären Infektion verhindern zunächst unspezifische Mechanismen (zum Beispiel natürliche Killerzellen, Interferon) die Ausbreitung von HCMV [41]. Die spezifische Immunantwort, vermittelt durch MHC-I-restringierte CD8-positive zytotoxische T-Lymphozyten, aber auch MHC-II-restringierte T-Helfer-Lymphozyten, ist verantwortlich für die frühe Kontrolle der HCMV-Infektion und die Entwicklung einer langfristig vorhandenen protektiven Immunität [5]. Wichtiges Zielantigen für zytotoxische T-Lymphozyten sind das Tegument

Phosphoprotein pp65 und die Epitope seiner Spaltprodukte. Gegen IE-Proteine gerichtete CD8-positive T-Lymphozyten sind für die Verhinderung einer HCMV-Erkrankung verantwortlich. Weitere, für die Immunantwort wichtige Antigene sind zum Beispiel pp150 und das Glykoprotein B [42, 43]. Bis zu 25% aller peripheren CD8-positiven T-Zellen können in die permanente Unterdrückung der viralen Replikation involviert sein. CD4-positive T-Lymphozyten sind essentiell für die Induktion, die Vermehrung und den Erhalt von „memory cells“ [44]. Die immunmodulierenden Eigenschaften von HCMV, wie zum Beispiel die Herabregulation von MHC-I auf der Oberfläche infizierter Zellen, verhindern das Erkennen durch zytotoxische T-Lymphozyten und begünstigen die lebenslange Persistenz der Viren.

### 3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Die primäre Infektion mit HCMV bei gesunden, immunkompetenten Individuen verläuft zumeist asymptomatisch. Wenn Symptome auftreten, manifestieren sie sich gegebenenfalls in Form eines Grippe- oder Mononukleose-ähnlichen Krankheitsbildes mit Fieber, relativer oder absoluter Lymphozytose und/oder Pharyngitis, Lymphadenopathie, Hepatosplenomegalie und leichter Erhöhung der Transaminasen [4]. Demgegenüber kann die primäre Infektion oder Reaktivierung des latenten Virus bei kongenital infizierten Frühgeborenen oder immunsupprimierten Patienten, insbesondere bei Empfängern von allogenen Stammzelltransplantaten und HIV-Infizierten, zu schwer verlaufenden bis tödlichen Krankheitsbildern führen [45, 46]. Weitere Risikogruppen sind beispielsweise schwangere Frauen und stillende Mütter im Hinblick auf die Übertragung der Infektion auf das Kind [8, 21, 41, 48]. Durch die vorgeschriebene Leukozytendepletion zellulärer Blutkomponenten wird das HCMV-Übertragungsrisiko minimiert.

Demgegenüber besteht für HCMV-seropositive Empfänger von autologen oder allogenen Stammzelltransplantaten

bzw. Organtransplantaten und für Reifgeborene kein erhöhtes Risiko, an einer durch Transfusion übertragenen HCMV-Infektion zu erkranken (Übersichten in: [8, 49]).

### 3.4 Therapie und Prophylaxe

Generell wird zwischen der Prävention einer HCMV-Infektion bzw. -Erkrankung und der Behandlung einer manifesten HCMV-Erkrankung unterschieden. Die Prävention umfasst prophylaktische und die Virusreplikation supprimierende Maßnahmen. Während prophylaktische Maßnahmen bei Patienten begonnen werden, bei denen Virus und Erkrankung nicht nachweisbar sind, beziehen sich definitionsgemäß suppressive Maßnahmen (auch als „pre-emptive treatment“ bezeichnet) auf Patienten, bei denen eine HCMV-Infektion mit Virusreplikation, nicht jedoch eine manifeste Erkrankung nachweisbar ist. Als präventive Maßnahmen kommen die Gabe von intravenös applizierbaren Immunglobulinen (IVIg) oder HCMV-spezifischem Immunglobulin nur in Einzelfällen in Betracht [45, 46]. Studien, die die Wirksamkeit der IVIg belegen, sind auf Grund unterschiedlicher HCMV-Prophylaxeregimes nur eingeschränkt vergleichbar [47]. Im Rahmen von Stammzelltransplantationen wird die Gabe von IVIg zur Prävention der HCMV-Infektion heute nicht mehr empfohlen [49]. Publierte Maßnahmen, die Übertragung von HCMV durch zelluläre Blutkomponenten zu vermeiden, sind die Transfusion leukozytendepletierter oder HCMV-seronegativer Blutkomponenten, die Applikation antiviral wirksamer Substanzen sowie eine adaptierte zelluläre Immuntherapie [6, 43, 44, 50, 51, 52]. Obwohl die klinische Bedeutung einer wirksamen Prävention der HCMV-Erkrankung (siehe 3.3) auf Grund der hohen Morbidität und Mortalität einer HCMV-Erkrankung bei den oben genannten Risikogruppen unumstritten ist, herrscht bis heute kein Konsens hinsichtlich der optimalen präventiven Maßnahmen. Bei Transplantation solider Organe setzt sich die Prophylaxe mit antiviralen Substanzen durch [53, 54, 55]. Die präventiven Maßnahmen sollten

sich in jedem Fall an der Intensität der Immunsuppression, dem Risiko der Reaktivierung einer latenten HCMV-Infektion und der Verträglichkeit der antiviralen Substanzen orientieren [6, 7, 51].

Als antiviral wirksame Substanzen für die Prävention einer HCMV-Infektion bzw. Behandlung einer manifesten Erkrankung stehen derzeit die Nukleosidanaloga Ganciclovir, Valganciclovir und Cidofovir sowie das Pyrophosphatanalogon Foscarnet-Natrium zur Verfügung. Alle diese Substanzen hemmen die HCMV-DNA-Polymerase und somit die HCMV-Replikation. Sie müssen zur Erreichung therapeutischer Plasmakonzentrationen intravenös verabreicht werden und können zum Teil schwerwiegende organspezifische unerwünschte Arzneimittelwirkungen auslösen (Ganciclovir: Myelotoxizität mit vorwiegend Neutro-, seltener Thrombopenie und bei langfristiger Verabreichung auch Anämie; Cidofovir: dosisabhängige Nephrotoxizität; Foscarnet-Natrium: Einschränkung der Nierenfunktion, Elektrolytverschiebungen). Oral kann Valganciclovir verabreicht werden. Die genannten Substanzen verlangsamen die Vermehrung von HCMV und können die klinische Symptomatik unterdrücken, jedoch die Viren nicht eliminieren. Durch die pre-emptive Gabe von Ganciclovir ist die Spätmanifestation der HCMV-Erkrankung (>100 Tage nach Transplantation) gegenüber der Erkrankung in den ersten 100 Tagen nach Transplantation zu einem größeren Problem geworden [56]. Der Einsatz des monoklonalen Antikörpers Alemtuzumab gegen CD52-positive Zellen im Rahmen des immunsuppressiven Regimes kann zu HCMV-Reaktivierungen führen, die durch die prophylaktische Gabe von geeigneten Virostatika verhindert werden können [57].

Eine ausführliche Darstellung der etablierten präventiven Maßnahmen und der aktuellen Behandlungsstrategien bei bekannten Risikogruppen für eine HCMV-Erkrankung (das heißt Säuglinge mit kongenitaler HCMV-Infektion, Transplantationspatienten und HIV-infizierte Patienten) findet sich bei de Jong et al. [6], in den publizierten Ergebnissen der

kanadischen Konsensuskonferenz zu HCMV sowie bei Schleiss [58].

Die Entwicklung von Impfstoffen ist auch unter ökonomischen Aspekten hinsichtlich der Folgekosten von HCMV-Erkrankungen von hoher Priorität. Eine Vakzine ist auf Grund des latenten Infektionszyklus und stammspezifischer Variationen, mangelnder Induktion eines Impfschutzes sowie Problemen bei klinischen Studien bisher noch nicht praxisreif [1, 59, 60, 61].

Die adoptive Immuntherapie mit HCMV-spezifischen CD8-positiven zytotoxischen T-Zellen entwickelte sich in den letzten Jahren zunehmend als nebenwirkungsarme und gegenüber den mit vielen Nebenwirkungen belasteten Virostatika zusätzliche Therapieoption bei HCMV-Reaktivierungen [6, 51, 52, 62]. Prinzipiell wird eine beim Spender bestehende Immunität (aktivierte T-Zellen und „memory cells“) gegen ein bestimmtes Pathogen direkt dem Empfänger durch Transfusion übertragen. Eine Zusammenfassung der Meilensteine der adoptiven Immuntherapie haben die Arbeitsgruppen von van den Bosch et al. bzw. Moss und Rickinson publiziert [43, 44]. Voraussetzung ist eine ex vivo-Expansion von HCMV-spezifischen zytotoxischen T-Zellen bzw. CD4-positiven T-Helferzellen des seropositiven Stammzellspenders durch Restimulation mit HCMV-Epitopen. Es existieren eine Vielzahl von Protokollen zur ex vivo-Expansion der virusspezifischen T-Lymphozytenlinien [62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69]. Nachteil ist neben dem Zeitbedarf eine verhältnismäßig geringe Überlebenszeit der vermehrten Zellen durch Generierung eines proapoptischen Moleküls (CD95) bei der Vermehrung. Die Selektion antigenspezifischer T-Zellen des Spenders durch HLA-Tetramere ermöglicht die Gewinnung ausreichender Zellzahlen für eine direkte Infusion [69, 70, 71, 72, 73]. Die Vermeidung der Stimulation mit vitalen Viren durch Ersatz durch mit Viruslysate (zum Beispiel pp65 Peptid oder Peptidgemische) gepulste autologe dendritische Zellen vermindert eine ungewollte Virusexposition des Empfängers [69]. Die gleichzeitige Isolation von CD4- und CD8-positiven T-Lymphozyten durch Verfahren, welche

anhand der sezernierten Zytokine die Zellpopulationen erkennen, steht kurz vor der klinischen Anwendung [43, 44].

Für die Therapie primärer HCMV-Infektionen des Empfängers bei HCMV-Seronegativität des Spenders wäre eine Vakzination des Spenders zur Generierung von HCMV-spezifischen T-Lymphozyten denkbar, ein Verfahren, welches erst am Anfang steht [43, 63].

Wenn die Expansion virusspezifischer T-Lymphozyten bei HCMV-naiven Transplantatspendern nicht möglich ist, könnten nach ersten Forschungsergebnissen eventuell autologe T-Zellen nach Transfer von Genen, die T-Zellrezeptoren für die gewünschten viralen Peptide kodieren, als Basis für HCMV-spezifische T-Zelllinien dienen [44].

Die adoptive Immuntherapie ermöglicht vor allem nach Stammzelltransplantation die schnelle Rekonstitution der zellulären Abwehr gegen HCMV, um so mehr, da einige Transplantationsprotokolle eine T-Zelldepletion (zum Beispiel bei haploidenter Transplantation) beinhalten. Einige Studien konnten die Effizienz in der Therapie und die Vermeidung des Auftretens von HCMV-Erkrankungen nachweisen [62, 63, 67, 71, 74]. Die Gabe von virusspezifischen Spender-T-Lymphozyten einige Wochen nach Transplantation senkt zusätzlich das Risiko des Auftretens einer GVHD, ohne dass die Ursachen dafür bisher bekannt sind [44, 75]. Unklar ist derzeit, ob antigenspezifische T<sub>4</sub>- oder T<sub>8</sub>-Lymphozyten oder beide Zellpopulationen gemeinsam appliziert werden sollten [76].

Es wurden zwischenzeitlich nach Identifikation neuer molekularer Targets therapeutische Optionen mit geringerem Nebenwirkungsspektrum entwickelt, wie zum Beispiel Marabivir, ein Inhibitor der Proteinkinase UL97 [77, 78, 79].

### 3.5 Übertragbarkeit

Für Stammzelltransplantationspatienten lag das Gesamtrisiko für eine HCMV-Infektion in den 80er Jahren bei Verabreichung von Blutkomponenten ohne Berücksichtigung des CMV-Antikörperstatus und ohne Leuko-

zytenreduktion im Bereich von 30–60 % [80, 81]. Eine HCMV-Übertragung auf seronegative Empfänger vor Einführung der Leukozytendepletion durch seropositives Blut wurde in 0,4–4 % der Empfänger beschrieben. Daraus folgt, dass die Infektion von der Mehrheit der seropositiven Spender nicht übertragen wird [8, 48, 82]. Durch HCMV-seronegative zelluläre Blutkomponenten wurde das Risiko einer HCMV-Infektion bei der Verabreichung nicht leukozytenreduzierter Blutkomponenten reduziert [83, 84]. Die generelle Verwendung von leukozytendepletierten Blutkomponenten hat das Risiko ebenfalls gesenkt. Spikingexperimente zeigen, bezogen auf die zelluläre HCMV-DNA, eine Reduktion in leukozytendepletierten Blutkomponenten um ca. 3 log-Stufen [84, 85].

### 3.6 Häufigkeit der Applikation sowie Art und Menge der Blutprodukte

Preiksaitis und Mitarbeiter [86] haben für zelluläre Blutprodukte gezeigt, dass nach Transfusion serokonvertierte Empfänger eine höhere Zahl von Einheiten ( $50 \pm 38,9$ ) erhalten hatten als nicht serokonvertierte Patienten ( $23,7 \pm 15,3$ ). Nicht nur die Menge der Blutprodukte, sondern auch die Grunderkrankung des Patienten beeinflussen das Infektionsrisiko [87].

In einer Studie haben Nichols et al. je appliziertem leukozytendepletiertem Erythrozytenkonzentrat eine Risikoerhöhung von 32 % gegenüber dem Basisrisiko für eine HCMV-Infektion und keine Risikoerhöhung bei durch Apherese hergestellten leukozytendepletierten Thrombozytenkonzentraten gefunden [88]. Die Studienergebnisse sind auf Grund der angewandten Berechnungsmethoden nicht unumstritten [89]. Ronghe und Mitarbeiter konnten keinen Unterschied bezüglich der HCMV-Serokonversionsrate bei Patienten von allogenen Stammzelltransplantaten, die entweder durch Apherese hergestellte leukozytendepletierte Thrombozytenkonzentrate oder HCMV-seronegative, nicht leukozytendepletierte Thrombozytenkonzentrate erhielten,

finden. Die Erythrozytensubstitution erfolgte mit nicht leukozytendepletierten, HCMV-seronegativen Erythrozytenkonzentraten [90].

Roback und Mitarbeiter untersuchten an Mäusen die minimale infektiöse Dosis zur Übertragung einer CMV-Infektion. Bei einer Applikation von  $10^4$  Leukozyten pro 25 g Mausgewicht oder weniger wurde keine CMV-Übertragung beobachtet. Er schloss, dass die äquivalente Dosis beim Menschen bei  $4 \times 10^5$  Leukozyten/kg Körpergewicht liegen müsste. Damit würde bei Einhaltung der Grenze von  $5 \times 10^6$  Leukozyten/Präparat eine HCMV-Übertragung verhindert werden können [13].

Für therapeutisches Plasma sind bisher unabhängig von einer Leukozytendepletion oder Pathogeninaktivierung keine HCMV-Übertragungen beschrieben worden [91, 92].

Eine Übertragung von HCMV durch Plasmaderivate (zum Beispiel Gerinnungsfaktoren, Immunglobuline, Albumin) ist auf Grund der Produktionsverfahren nicht zu erwarten.

## 4. Blutprodukte

### 4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Nach Untersuchungen von Weber et al. [93] sind etwa 2–12 % der anti-HCMV-positiven Blutspender infektiös. Nach Sivakumaran et al. [94] konnten freie Viruspartikel im Blut HCMV-seropositiver Blutspender gefunden werden, insbesondere wenn die Proben länger standen und dadurch Zellen geschädigt wurden.

HCMV ist überwiegend zellassoziiert. Es wird geschätzt, dass 0,2 % der im peripheren Blut vorhandenen Leukozyten eines HCMV-Antikörper positiven Spenders latent infiziert sind, also HCMV-Genom enthalten. Mit sensitiven PCR-Methoden konnte die Arbeitsgruppe von Larsson bei allen serologisch positiven Spendern HCMV-Genom nachweisen [95]. Ein Antigennachweis für aktive Virusreplikation hingegen gelang bei etwa 6 % der untersuchten Personen eines allerdings kleinen Blutspenderkollektivs [96].

Neue Untersuchungen mit zum Teil verbesserten Techniken modifizieren die bisherigen Erkenntnisse. Im Zeitraum zwischen Infektion und erstmals nachweisbaren HCMV-Antikörpern (sechs bis acht Wochen) wird nach übereinstimmenden Untersuchungen eine Virämie beobachtet [38, 91, 97, 98, 99]. Während einer Serokonversion wurde die Wahrscheinlichkeit einer Virämie mit ca. 1% angegeben. Ein HCMV-DNA-Nachweis gelingt in Leukozyten nach der Serokonversion nur selten [100]. Eine aktuelle Studie von Ziemann und Mitarbeitern mit einer sehr sensitiven PCR konnte in 44% der von Serokonvertierten untersuchten Plasmen HCMV-DNA, zum Teil bis zu einem Jahr nach Serokonversion nachweisen. Von 68 Spendern war eine Probe vor Serokonversion verfügbar. In zwei Fällen (2,9%) konnte im Plasma 68 bzw. 98 Tage vor der ersten seropositiven Probe HCMV-DNA detektiert werden („window phase donation“). Bei 450 seit mehr als einem Jahr seropositiven Spendern konnte in keinem Fall HCMV-DNA im Plasma gefunden werden [38]. Dieses Ergebnis ist mit Resultaten anderer Untersuchungen vergleichbar [97, 99, 101]. Unter Berücksichtigung der Kalkulationen von Roback [13] bezüglich der minimalen infektiösen Dosis, der geringen Wahrscheinlichkeit, ein Jahr oder später nach Serokonversion noch HCMV-infizierte Zellen bei symptomlosen Blutspendern nachzuweisen und der Effizienz der eingesetzten Leukozytenfilter, sollte das Risiko einer HCMV-Übertragung durch mindestens 12 Monate HCMV-Antikörper positive Spender äußerst gering sein.

Für Plasma zur Fraktionierung ist eine Testung auf HCMV nicht notwendig (siehe 3.6). Für zellhaltige Produkte ist in Einzelfällen eine Testung angezeigt. Als Testmethoden bieten sich die oben (siehe 1.4) genannten Verfahren/Methoden an. NAT-Methoden sind derzeit noch nicht vergleichbar und ihre Qualität sollte nach der Etablierung von Standards in Ringversuchen überprüft werden [102].

### 4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

Die Verwendung von nicht leukozytendepletierten Blutprodukten aus HCMV-seronegativem Ausgangsmaterial reduziert die Infektionsinzidenz auf 1–4% bei HCMV-seronegativen Knochenmarks- und Organempfängern. Die Ergebnisse von Studien zur Äquivalenz der Leukozytenreduktion bzw. der Applikation von seronegativem Blut sind zwar widersprüchlich, jedoch zeigt die Bewertung aller Resultate, dass die Leukozytenelimination der Verwendung HCMV-seronegativer, nicht leukozytendepletierter Blutkomponenten äquivalent ist [40, 41, 87, 88, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110]. Weder durch Leukozytendepletion noch durch ausschließliche Verwendung von HCMV-Antikörper-negativen Blutkomponenten ist die Virämie während der Präserokonversionsphase zu kontrollieren, die eine wesentliche Ursache für die nach wie vor in geringem Umfang zu registrierenden transfusionsassoziierten HCMV-Infektionen ist [111].

Die Leukozytendepletion für Erythrozyten- und Thrombozyten-präparate ist in Deutschland vorgeschrieben. Damit entfällt die Notwendigkeit der Klärung des HCMV-Spenderstatus bis auf Sonderfälle von nicht leukozytendepletierbaren zellulären Blutkomponenten. Die Auswahl ausschließlich HCMV-seronegativer Spender mit ihrem höheren relativen Anteil virämischer Spender verglichen mit der Gesamtspenderpopulation kann zudem das Risiko einer HCMV-Übertragung erhöhen (siehe auch 2.3).

HCMV-Übertragungen durch therapeutisches Plasma sind bisher nicht bekannt. Das ist vielleicht auf Instabilität des Virus bei Kälte um  $-20^{\circ}\text{C}$  zurückzuführen, worauf auch Erfahrungen mit eingefrorener Muttermilch hinweisen [17, 18].

Verschiedene Pathogeninaktivierungsverfahren inaktivieren nach übereinstimmenden Studienergebnissen HCMV zuverlässig [112, 113, 114, 115]. Da HCMV zu den mit einer Lipidhülle umhüllten Viren gehört, führen alle

Verfahren, die die Lipidhülle angreifen (zum Beispiel S/D-Verfahren), zu einer Inaktivierung von HCMV. Ebenso wird HCMV durch Hitzebehandlung (zum Beispiel Pasteurisierung) inaktiviert. Es gibt weiterhin Filter, die das 150–200 nm große HCMV zurückhalten und zur Herstellung von Plasmaderivaten eingesetzt werden können. Eine HCMV-Übertragung durch Plasmaderivate kann nach jetzigem Kenntnisstand ausgeschlossen werden.

### 4.3 Praktikabilität und Validierbarkeit der Verfahren zur Elimination/Inaktivierung von Infektionserregern

Auf die Bedeutung der Leukozytendepletion für die Sicherheit zellulärer Komponenten wurde bereits unter 4.2 eingegangen. HCMV kann nicht direkt zum experimentellen Nachweis der Virussicherheit der Plasmaderivate eingesetzt werden, da es nicht in hohen Titern in Zellkultur zu züchten und nur schwierig zu titrieren ist. Antikörper im Plasma würden außerdem mit dem Virus reagieren und die Ergebnisse beeinträchtigen. Deshalb werden zur Untersuchung der Verfahren animale Herpesviren als Modellviren verwendet [112, 116, 117]. Das am häufigsten verwendete Virus ist das Pseudorabies-Virus (Herpesvirus des Schweins). Es ist in seinen Eigenschaften, zum Beispiel Thermolabilität und Empfindlichkeit gegenüber Lipidlösungsmitteln und extremen pH-Werten, vergleichbar mit HCMV.

## 5. Bewertung

HCMV-Infektionen weisen bei gesunden, immunkompetenten Personen eine geringe Pathogenität auf und rufen, wenn überhaupt, nur leichte Krankheitssymptome hervor. HCMV führt zu latenten (persistierenden) Infektionen, wobei Rezidive mit Virusvermehrung auftreten können (mit und ohne Symptomatik). Schwere HCMV-bedingte Erkrankungen werden jedoch gehäuft bei Immungeschwächten und Immuninkompetenten beobachtet. Obwohl eine antivirale Chemotherapie

und in einigen Fällen eine adoptive Immuntherapie möglich ist, sollte eine Übertragung von HCMV durch Blutkomponenten für bestimmte Empfängergruppen so weit wie möglich vermieden werden. Zu diesen zählen Schwangere und Frühgeborene, alle Personen mit einer erworbenen oder einer genetisch bedingten Immunschwäche sowie Personen, bei denen aus therapeutischen Gründen eine massive Immunsuppression mit signifikanter T-Zellzahlverminderung vorliegt (zum Beispiel Stammzelltransplantierte, (homologe) Transplantatempfänger). Als erfolgreiche Maßnahme zur Minimierung des Risikos einer transfusionsassoziierten HCMV-Infektion hat sich die Entfernung bzw. Reduzierung von Leukozyten durch Filtration (Leukozytendepletion) erwiesen. Die Leukozytendepletion ist nicht wirksam bei virämischen Spendern in der Serokonversionsphase, weil das Virus noch nicht vollständig zellassoziiert ist.

Bei Verwendung leukozytendepletierter zellulärer Blutprodukte ist eine Auswahl seronegativer Spender nicht mehr sinnvoll. Die Selektion von HCMV-Antikörper seronegativen Spendern könnte vielmehr das Risiko einer HCMV-Übertragung erhöhen. Der Grund ist, dass bei akut infizierten, noch seronegativen Individuen eine nicht zellgebundene Virämie vorliegen kann.

Bei der Applikation von nicht leukozytendepletierbaren zellulären Blutkomponenten, zum Beispiel Granulozyten- bzw. Lymphozytenkonzentraten, sollten Spenden von Spendern ohne HCMV-Antikörper verwendet werden. Wenn möglich, sollte in diesen Fällen die HCMV-Antikörper-Untersuchung durch eine HCMV-NAT ergänzt werden. Bezüglich des Einsatzes der HCMV-NAT besteht besonderer Forschungsbedarf zur Etablierung von Schwellenwerten und nationalen bzw. internationalen Standards.

Eine Übertragung von HCMV durch therapeutisches Frischplasma oder Plasmaderivate (zum Beispiel Gerinnungsfaktoren, Immunglobuline, Albumin) ist nicht zu erwarten.

Dieses Papier wurde fertig gestellt am 01.04.2009 und vom Arbeitskreis

Blut am 07.06.2010 verabschiedet. Es ersetzt die Arbeit vom 21.03.2000 (Bundesgesundheitsbl 43, 653–659, 2000). Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergruppe „Bewertung Blut-assoziiierter Krankheitserreger“ des Arbeitskreises Blut:

Dr. Volkmar Schottstedt, Dr. Johannes Blümel, Prof. Dr. Reinhard Burger, Prof. Dr. Christian Drost, Dr. Albrecht Gröner, Prof. Dr. Lutz Gürtler, Dr. Margarethe Heiden, Prof. Dr. Martin Hildebrandt, Prof. Dr. Dr. Bernd Jansen, Dr. Thomas Montag-Lessing, Dr. Ruth Offergeld, Prof. Dr. Georg Pauli, Prof. Dr. Rainer Seitz, Dr. Uwe Schlenkrich, Dr. Johanna Strobel, Dr. Hannelore Willkommen, Prof. Dr. Carl-Heinz Wirsing von König

## Literatur

- Hambrecht K, Jahn G (2007). Humanes Cytomegalovirus und kongenitale Infektion. Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 50:1379–1392
- Klein M, Schoppel K, Amvrosiadis N, Mach M (1999). Strain-specific neutralization of human cytomegalovirus isolates by human sera. J Virol 73:878–886
- Fields BN, Knipe DM, Howley PM (editors) (1995). Virology. Third edition. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, New York
- Mandell GL et al. (editors) (1995). Principles and practice of infectious diseases. Fourth Edition. Churchill Livingstone, New York
- Van der Meer JTM, Drew WL, Bowden RA, Galasso GJ, Griffiths PD, Jabs DA, Katlama C, Spector SA, Whitley RJ (1996). Summary of the international consensus symposium on advances in the diagnosis, treatment and prophylaxis of cytomegalovirus infection. Antiviral Res 32:119–140
- De Jong MD, Galasso GJ, Gazzard B, Griffiths PD, Jabs DA, Kern ER, Spector SA (1998). Summary of the II. international symposium on cytomegalovirus. Antiviral Res 39:141–162
- Fishman JA, Rubin RH (1998). Infection in organ-transplant recipients. N Engl J Med 338:1741–1751
- Petz LD, Swisher SN (editors) (1996). Clinical Practice of Transfusion Medicine. Third Edition. Churchill Livingstone, New York
- Taylor-Wiedeman J, Sissons JG, Borysiewicz LK, Sinclair JH (1991). Monocytes are a major site of persistence of human cytomegalovirus in peripheral blood mononuclear cells. J Gen Virol 72: 2059–2064
- Movassagh M, Gozlan J, Senechal B, Baillou C, Petit JC, Lemoine FM (1996). Direct infection of CD34+ progenitor cells by human cytomegalovirus: Evidence for inhibition of hematopoiesis and viral replication. Blood 88:1277–1283
- Zhuravskaya T, Maciejewski JP, Netski DM, Bruening E, Mackintosh FR, St Jeor S (1997). Spread of human cytomegalovirus (HCMV) after infection of human hematopoietic progenitor cells: model of HCMV latency. Blood 90:2482–2491
- Larsson S, Soderberg-Naucler C, Moller E (1998). Productive cytomegalovirus (CMV) infection exclusively in CD13-positive peripheral blood mononuclear cells from CMV-infected individuals: implications for prevention of CMV transmission. Transplantation 65:411–415
- Roback JD, Su L, Zimring JC, Hillyer CD (2007). Transfusion-transmitted cytomegalovirus: Lessons from a murin model. Transf Med Rev 21:26–36
- Bolovan-Fritts CA, Mocarski ES, Wiedemann JA. (1999). Peripheral blood CD14(+) cells from healthy subjects carry a circular conformation of latent cytomegalovirus genome. Blood 93: 394–398
- Meier J, Lienicke U, Tschirch E, Krüger DH, Wauer RR, Prösch S (2005). Human cytomegalovirus reactivation during lactation and mother-to-child transmission in preterm infants. J Clin Microbiol 43:1318–1324
- Trincado DE, Rawlinson WD (2001). Congenital and perinatal infections with cytomegalovirus. J Paed Child Health 37:187–192
- Maschmann J, Hamprecht K, Weissbrich B, Dietz K, Jahn G, Speer CP (2006). Freeze-thawing of breast milk does not prevent cytomegalovirus transmission to a preterm infant. Arch. Dis Child Fetal Neonatal Ed 91:F288–290
- Lee CH, Enright A, Benitz WE, Madan A (2007). Postnatal cytomegalovirus infection from frozen breast milk in preterm, low birth weight infants. Pediatr Infect Dis J 26:276
- Stocchi R, Ward KN, Fanin R, Bacarani M, Apperley JF (1999). Management of human cytomegalovirus infection and disease after allogeneic bone marrow transplantation. Haematologica 84:71–79
- Jacobson MA, Zegans M, Pavan PR, O'Donnell JJ, Sattler F, Rao N, Owens S, Pollard R (1997). Cytomegalovirus retinitis after initiation of highly active antiretroviral therapy. Lancet 349:1443–1445
- Przepiorka D, LeParc GF, Werch J, Lichtiger B (1996). Prevention of transfusion-associated cytomegalovirus infection. Am J Clin Pathol 106: 163–169
- Krech U (1973). Complement-fixing antibodies against cytomegalovirus in different parts of the world. Bull World Health Organ 49:103–106
- Lamberson HV, Dock NL (1992). Prevention of transfusion-transmitted cytomegalovirus infection Transfusion 32:196–198
- Staras SA, Flanders WD, Dollard SC, Pass RF, McGowan JE, Cannon MJ (2008). Influence of sexual activity on cytomegalovirus seroprevalence in the United States, 1988 – 1994. Sex Transm Dis 35: 472–479
- Mocarski ES Jr. (1994). Cytomegaloviruses. In: RG Webster and A Granoff (eds.): Encyclopedia of Virology. Volume 1. London: Academic Press, pp. 292
- Reimer K, Meisel H (1996). Humanes Zytomegalievirus. In: T. Porstmann (Hrsg.): Virusdiagnostik. Diagnostische Bibliothek, Band 1. Berlin/Wien: Blackwell Wissenschafts-Verlag, pp. 258
- Haller OA, Mertens T (Hrsg.) (1999). Zytomegalievirus (CMV). In: Diagnostik und Therapie von Viruskrankheiten. Leitlinien der Gesellschaft für Virologie. München/Jena: Urban & Fischer, pp. 235
- Preiksaitis JK, Brennan DC, Fishman J, Allen U (2005). Canadian society of transplantation consensus workshop on cytomegalovirus management in solid organ transplantation final report. Am J Transplant 5:218–227
- Subramanian V (2008). Distinguishing primary CMV infection from reactivation of latent infection. Dig Dis Sci 53:140

30. Lazzarotto T, Guerra B, Lanari M, Gabrielli L, Landini MP (2008). **New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection.** *J Clin Virol* 41: 192–197
31. Petrik J (2006). Diagnostic applications of microarrays. *Transf Med* 16:233–247
32. Bringmann G (1990). Bedeutung der Zytomegalievirusinfektion in der Transfusionsmedizin. Inaugural-Dissertation, Medizinische Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
33. Kothari A, Ramachandran VG, Gupta P, Singh B, Talwar V (2002). Seroprevalence of cytomegalovirus among voluntary blood donors in Delhi, India. *J Health Popul Nutr* 20:348–351
34. Weber B, Doerr HW (1994). Diagnosis and epidemiology of transfusion-associated human cytomegalovirus infection: recent developments. *Infusionsther Transfusionsmed* 21 (Suppl 1):32–39
35. Galea G, Urbaniak SJ (1993). Cytomegalovirus studies on blood donors in north-east Scotland and a review of UK data. *Vox Sang* 64:24–30
36. Schennach H, Hessenberger G, Mayersbach P, Schönitzer D, Fuchs D (2002). **Acute cytomegalovirus infections in blood donors are indicated by increased serum neopterin concentrations.** *Med Microbiol Immunol* 191:115–118
37. Hecker M, Qiu D, Marquardt K, Bein G, Hackstein H (2004). **Continuous cytomegalovirus seroconversion in a large group of healthy blood donors.** *Vox Sang* 86:41–44
38. Ziemann M, Krueger S, Maier AB, Unmack A, Goerg S, Hennig H (2007). **High prevalence of cytomegalovirus DNA in plasma samples of blood donors in connection with seroconversion.** *Transfusion* 47: 1972–1983
39. Boeke CE, Pauly ME, Hatch-Stock H, Jackson JB (2008). CMV antibody prevalence and seroconversion in platelet pheresis donors. *J Clin Apher* 23: 63–65
40. Bundesärztekammer: Querschnitts-Leitlinien (BÄK) zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten (2008). Online-Version <http://www.bundesaeztekammer.de/page.asp?his=0.6.3288.6716>
41. Pamphilon DH, Rider JR, Barbara JA, Williamson LM (1999). **Prevention of transfusion-transmitted cytomegalovirus infection.** *Transfusion Med* 9: 115–123
42. Riddell SR, Greenberg PD (1997). T cell therapy of human CMV and EBV infection in immunocompromised hosts. *Rev Med Virol* 7:181–192
43. van den Bosch GA, Ponsaerts P, Vanham G, van Bockstaale DR, Berneman ZN, van Tendeloo VF (2006). **Cellular immunotherapy for cytomegalovirus and HIV-1 infection.** *J Immunother* 29:107–121
44. Moss P, Rickinson A (2005). Cellular immunotherapy for viral infection after HSC transplantation. *Nat Rev Immunol* 5:9–20
45. Nigro G, Adler SP, La Torre R, Best AM (2005). Passive immunization during pregnancy for congenital cytomegalovirus infection. *N Engl J Med* 353: 1350–1362
46. Aslam M, Anderson JL, Guglietti D, Cardwell D (2007). CMV-induced neonatal thrombocytopenia: a case report and review of the literature. *Am J Perinatol* 24:429–434
47. Bonaros N, Mayer B, Schachner Th, Laufer G, Kocher A (2008). CMV-hyperimmune globulin for preventing cytomegalovirus infection and disease in solid organ transplant recipients: a meta-analysis. *Clin Transplant* 22:89–97
48. Müller-Eckhardt C, Kiefel V (Hrsg.) (2004). *Transfusionsmedizin*. 3. Auflage. Springer, Berlin
49. Ljungman P, Aschan J, Lewensohn-Fuchs I, Carlens S, Larsson K, Lonnqvist B, Mattsson J, Sparrelid E, Winiarski J, Ringden O (1998). **Results of different strategies for reducing cytomegalovirus-associated mortality in allogeneic stem cell transplant recipients.** *Transplantation* 66:1330–1334
50. Vogel JU, Scholz M, Cinalt J Jr. (1997). **Treatment of cytomegalovirus diseases.** *Intervirology* 40: 357–367
51. Balfour HH Jr. (1999). *Antiviral Drugs.* *N Engl J Med* 340:1255–1268
52. Micklethwaite KP, Clancy L, Sandher U, Hansen AM, Blyth E, Antonenas V, Sartor MM, Bradstock KF, Gottlieb DJ (2008). **Prophylactic infusion of cytomegalovirus specific cytotoxic T-lymphocytes stimulated with Ad5f35pp65 gene modified dendritic cells following allogeneic haemopoietic stem cell transplantation.** *Blood* 112:3974–3981
53. Hodson EM, Jones CA, Webster AC, Strippoli GF, Barclay PG, Kable K, Vimalachandra D, Craig JC (2005). **Antiviral medications to prevent cytomegalovirus disease and early death in recipients of solid-organ transplants: a systematic review of randomised controlled trials.** *Lancet* 365: 2105–2115
54. Moreno de la Higuera Díaz M, Calvo Romero N, Sánchez-Fructuoso A, Conesa J, Marques Vidas M, Prats D, Barrientos Guzmán A (2007). **Cytomegalovirus infection in seronegative patients treated with prophylaxis: case-controlled study.** *Transplant Proc* 39:2231–2232
55. Fishman JA, Emery V, Freeman R, Pascual M, Rostaling L, Schlitt HJ, Sgarabotto D, Torre-Cisneros J, Uknis ME (2007). **Cytomegalovirus in transplantation – challenging the status quo.** *Clin Transplant* 21:149–158
56. Asano-Mori Y, Kanda Y, Oshima K, Kako S, Shinohara A, Nakasone H, Sato H, Watanabe T, Hosoya N, Izutsu K, Asai T, Motokura T, Chiba S, Kurokawa M (2008). **Clinical features of late cytomegalovirus infection after hematopoietic stem cell transplantation.** *Int J Hematol* 87:310–318
57. O'Brien S, Ravandi F, Riehl T, Wierda W, Huang X, Tarrand J, O'Neal B, Kantarjian H, Keating M (2008). **Valganciclovir prevents cytomegalovirus reactivation in patients receiving alemtuzumab-based therapy.** *Blood* 111:1816–1819
58. Schleiss MR (2008). **Congenital cytomegalovirus infection: update on management strategies.** *Curr Treat Option Neurol* 10:186–192
59. Khanna R, Diamond DJ (2006). **Human cytomegalovirus vaccine: time to look for alternative options.** *Trends Mol Med* 12:26–33
60. Steingger C (2007). **Clinical relevance of cytomegalovirus infection in patients with disorders of the immune system.** *Clin Microbiol Infect* 13:953–963
61. Adler SP (2008). **Human CMV vaccine trials: what if CMV caused a rash?** *J Clin Virol* 41:231–236
62. Einsele H, Hamprecht K (2003). **Immunotherapy of cytomegalovirus infection after stem-cell transplantation: a new option?** *Lancet* 362:1343–1344
63. Einsele H, Roosnek E, Rufer N, Sinzger C, Riegler S, Löffler J, Grigoleit U, Moris A, Rammensee HG, Kanz L, Kleihauer A, Frank F, Jahn G, Hebart H (2002). **Infusion of cytomegalovirus (CMV)-specific T cells for the treatment of CMV infection not responding to antiviral chemotherapy.** *Blood* 99: 3916–3922
64. La Rosa C, Wang Z, Lacey SF, Lalimarmo MM, Krishnan A, Longmate J, Diamond DJ (2006). **In vitro expansion of polyclonal T-cell subsets for adoptive immunotherapy by recombinant modified vaccinia Ankara.** *Exp Hematol* 34:497–507
65. Melenhorst JJ, Solomon SR, Shenoy A, Hensel NF, McCoy JP, Keyvanfar K, Barrett AJ (2006). **Robust expansion of viral antigen-specific CD4+ and CD8+ T cells for adoptive T cell therapy using gene-modified activated T cells as antigen presenting cells.** *J Immunother* 29:436–443
66. Paine A, Oelke M, Blasczyk R, Eiz-Vesper B (2007). **Expansion of human cytomegalovirus-specific T lymphocytes from unfractionated peripheral blood mononuclear cells with artificial antigen-presenting cells.** *Transfusion* 47:2143–2152
67. Micklethwaite K, Hansen A, Foster A, Snape E, Antonenas V, Sartor M, Shaw P, Bradstock K, Gottlieb D (2007). **Ex vivo expansion and prophylactic infusion of CMV-pp65 peptide-specific cytotoxic T-lymphocytes following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.** *Biol Blood Marrow Transplant* 13:707–714
68. Bao L, Sun Q, Lucas KG (2007). **Rapid generation of CMV pp65-specific T cells for immunotherapy.** *J Immunother* 30:557–561
69. Peggs K, Verfuert S, Mackinnon S (2001). **Induction of cytomegalovirus (CMV)-specific T-cell responses using dendritic cells pulsed with CMV antigen: a novel culture system free of live CMV virions.** *Blood* 97:994–1000
70. Szmania S, Galloway A, Bruornton M, Musk P, Aubert G, Arthur A, Pyle H, Hensel N, Ta N, Lamb L, Dodi T, Madrigal A, Barrett J, Henslee-Downey J, van Rhee F (2001). **Isolation and expansion of cytomegalovirus-specific cytotoxic T lymphocytes to clinical scale from a single blood draw using dendritic cells and HLA-tetramers.** *Blood* 98:505–512
71. Cobbold M, Khan N, Pourghesari B, Tauro S, McDonald D, Osman H, Assenmacher M, Billingham L, Steward C, Crawley C, Olavarria E, Goldman J, Chakraverty R, Mahendra P, Craddock C, Moss PAH (2005). **Adoptive transfer of cytomegalovirus specific CTL to stem cell transplant patients after selection by HLA-peptide tetramers.** *J Exp Med* 202: 379–386
72. Roback JD (2006). **Vaccine-enhanced donor lymphocyte infusion (veDLI).** *Hematology* 2006: 486–491
73. Sakagawa H, Azuma H, Fujihara M, Ikeda H (2006). **Clinical-scale expansion of human cytomegalovirus-specific cytotoxic T lymphocytes from peripheral blood mononuclear cells requiring single-peptide stimulation and feeder cells but not additional antigen-presenting cells.** *Transfusion* 46:516–522
74. Mackinnon S, Thomson K, Verfuert S, Peggs K, Lowdell M (2008). **Adoptive cellular therapy for cytomegalovirus infection following allogeneic stem cell transplantation using virus-specific T cells.** *Blood Cells Mol Dis* 40:63–67
75. Chalandon Y, Degermann S, Villard J, Arlettaz L, Kaiser L, Vischer S, Walter S, Heemskerk MH, van Lier RA, Helg C, Chapuis B, Roosnek E (2006). **Pretransplantation CMV-specific T cells protect recipients of T-cell-depleted grafts against CMV-related complications.** *Blood* 107:389–396
76. Einsele H, Kapp M, Grigoleit GU (2008). **CMV-specific T cell therapy.** *Blood Cells Mol Dis* 40:71–75
77. Mehta J (2008). **Cytomegalovirus: time for a re-quest?** *Blood* 111:5265–5266
78. Andrei G, de Clercq E, Snoeck R (2008). **Novel inhibitors of human CMV.** *Curr Opin Investig Drugs* 9:132–145

79. Winston DJ, Young JA, Pullarkat V, Papanicolaou GA, Vij R, Vance E, Alangaden GJ, Chemaly RF, Petersen F, Chao N, Klein J, Sprague K, Villano SA, Boeckh M (2008). Maribavir prophylaxis for prevention of cytomegalovirus infection in allogeneic stem cell transplant recipients: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose ranging study. *Blood* 111:5403–5410
80. Meyers JD, Flournoy N, Thomas ED (1986). Risk factors for cytomegalovirus infection after human marrow transplantation. *J Infect Dis* 153:478–488
81. Cervia JS, Wenz B, Ortolano GA (2007). Leukocyte reduction's role in the attenuation of infection risks among transfusion recipients. *Clin Infect Dis* 45: 1008–1013
82. Hillyer CD, Lankford KV, Roback JD, Gillespie TW, Silberstein LE (1999). Transfusion of the HIV-seropositive patient: immunomodulation, viral reactivation and limiting exposure to EBV (HHV-4), CMV (HHV-5), and HHV-6, 7, and 8. *Transfus Med Rev* 13:1–17
83. Rubie H, Attal M, Campardou AM, Gayet-Mengelle C, Payen C, Sanguignol F, Calot JP, Charlet JP, Robert A, Huguet F (1993). Risk factors for cytomegalovirus infection in BMT recipients transfused exclusively with seronegative blood products. *Bone Marrow Transplant* 11:209–214
84. Visconti MR, Pennington J, Garner SF, Allain JP, Williamson LM (2004). Assessment of removal of human cytomegalovirus from blood components by leukocyte depletion filters using real-time quantitative PCR. *Blood* 103:1137–1139
85. Lau W, Onizuka R, Kraiden M (1998). Polymerase chain reaction based assessment of leukoreduction efficacy using a cytomegalovirus DNA transfected human T-cell line. *J Clin Virol* 11:109–116
86. Preiksaitis JK, Brown L, McKenzie M (1988). The risk of cytomegalovirus infection in seronegative transfusion recipients not receiving exogenous immunosuppression. *J Infect Dis* 157:523–529
87. Vamvakas EC (2005). 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* 19:181–199
88. Nichols WG, Price TH, Gooley T, Corey L, Boeckh M (2003). Transfusion-transmitted cytomegalovirus infection after receipt of leukoreduced blood products. *Blood* 101:4195–4200
89. Caspari G, Cassens U, Hebart H, Klüter H, Mansouri-Taleghani B, Wüllenweber J (2003). Aktuelle Aspekte zur Vermeidung von transfusionsassoziierten CMV-Übertragungen. Stellungnahme der Sektionen „Sicherheit in der Hämotherapie“ und „Transplantation und Zelltherapie“ der DGTI. *Transfus Med Hemother* 30:195–198
90. Ronghe MD, Foot ABM, Cornish JM, Steward CG, Carrington D, Goulden N, Marks DI, Oakhill A (2002). The impact of transfusion of leucodepleted platelet concentrates on cytomegalovirus disease after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 118:1124–1127
91. Roback JD (2002). CMV and blood transfusions. *Rev Med Virol* 12:211–219
92. Adler SP (1988). Data that suggest that FFP does not transmit CMV. *Transfusion* 28:604
93. Weber B, Rabenau H, Berger A, Scheuermann EH, Staszewski S, Kreuz W, Scharer I, Schoeppe W, Doerr HW (1995). Seroprevalence of HCV, HAV, HBV, HDV, HCMV and HIV in high risk groups/ Frankfurt a. M., Germany. *Zentralbl Bakteriol* 282: 102–112
94. Sivakumaran M, Hutchinson RM, Wood JK, Revill JA, Ghosh K, Myint S (1993). Removal of cytomegalovirus (CMV) infected leucocytes from CMV seropositive blood units by bedside blood filtration. *Br J Haematol* 85:232–234
95. Larsson S, Soderberg-Naucler C, Wang FZ, Moeller E (1998). Cytomegalovirus DNA can be detected in peripheral blood mononuclear cells from all seropositive and most seronegative healthy blood donors over time. *Transfusion* 38: 271–278
96. Asadullah K, Proesch S, Audring H, Buettnerova I, Volk HD, Sterry W, Doecke WD (1999). A high prevalence of cytomegalovirus antigenaemia in patients with moderate to severe chronic plaque psoriasis: An association with systemic tumour necrosis factor alpha overexpression. *Br J Dermatol* 141:94–102
97. Drew WL, Tegmeier G, Alter HJ, Laycock ME, Miner RC, Busch MP (2003). Frequency and duration of plasma CMV viremia in seroconverting blood donors and recipients. *Transfusion* 43: 309–313
98. Roback JD, Drew WL, Laycock ME, Todd D, Hillyer CD, Bush MP (2003) CMV DNA is rarely detected in healthy blood donors using validated PCR assays. *Transfusion* 43:314–321
99. Zanghellini F, Boppa SB, Emery VC, Griffiths PD, Pass RF (1999). Asymptomatic primary cytomegalovirus infection: Virologic and immunologic features. *J Infect Dis* 180:702–707
100. Glock B, Schistal E, Mayr WR (2003). CMV DNA in blood donors with IgM and IgG CMV antibodies. *Transfusion* 43:1493–1494
101. Greenlee DJ, Fan H, Lawless K, Harrison CR, Gulley ML (2002). Quantitation of CMV by real-time PCR in transfusable RBC units. *Transfusion* 42:403–408
102. Pang XL, Fox JD, Fenton JM, Miller GG, Caliendo AM, Preiksaitis JK (2009). Interlaboratory comparison of cytomegalovirus viral load assays. *Am J Transplant* 9:258–268
103. Miller WJ, McCullough J, Balfour HH Jr, Haake RJ, Ramsay NK, Goldman A, Bowman R, Kersey J (1991). Prevention of cytomegalovirus infection following bone marrow transplantation: a randomized trial of blood product screening. *Bone Marrow Transplant* 7:227–234
104. Bowden RA, Slichter SJ, Sayers M, Weisdorf D, Cays M, Schoch G, Banaji M, Haake R, Welk K, Fisher L, McCullough J, Miller W (1995). A comparison of filtered leukocyte-reduced and cytomegalovirus (CMV) seronegative blood products for the prevention of transfusion-associated CMV infection after marrow transplant. *Blood* 86: 3598–3603
105. Narvios AB, Przepiorka D, Tarrand J, Chan KW, Champlin R, Lichtiger B (1998). Transfusion support using filtered unscreened blood products for cytomegalovirus-negative allogeneic marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 22:575–577
106. Gilbert GL, Hayes K, Hudson IL, James J (1989). Prevention of transfusion-acquired cytomegalovirus infection in infants by blood filtration to remove leukocytes. *Lancet* 1:1228–1231
107. Dumont LJ, Luka J, VandenBroeke T, Whitley P, Ambruso DR, Elfath MD (2001). The effect of leukocyte-reduction method on the amount of human cytomegalovirus in blood products: a comparison of apheresis and filtration methods. *Blood* 97:3640–3647
108. Ljungman P, Larsson K, Kumlien G, Aschan J, Barkholt L, Gustafsson-Jernberg A, Lewensohn-Fuchs I, Ringden O (2002). 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* 34:347–350
109. Narvios AB, de Lima M, Shah H, Lichtiger B (2005). Transfusion of leukoreduced cellular blood components from cytomegalovirus-unscreened donors in allogeneic hematopoietic transplant recipients: analysis of 72 recipients. *Bone Marrow Transplant* 36:499–501
110. Laupacis A, Brown J, Costello B, Delage G, Freedman J, Hume H, King S, Kleinman S, Mazzulli T, Wells G (2001). Prevention of posttransfusion CMV in the era of universal WBC reduction: a consensus statement. *Transfusion* 41:560–569
111. Roback JD, Bray RA, Hillyer CD (2000). Longitudinal monitoring of WBC subsets in packed RBC units after filtration: implications for transfusion transmission of infections. *Transfusion* 40: 500–506
112. Jayaram V, Marcello J, Ohagen A, Gibaja V, Lunderville D, Horrigan J, Chapman J, Lazo A (2006). Development of models and detection methods for different forms of cytomegalovirus for the evaluation of viral inactivation agents. *Transfusion* 46:1580–1588
113. Jordan CT, Saakadze N, Newman JL, Lezhava LJ, Maier TT, Hillyer WM, Roback JD, Hillyer CD (2004). Photochemical treatment of platelet concentrates with amotosalen hydrochloride and ultraviolet A light inactivates free and latent cytomegalovirus in a murine transfusion model. *Transfusion* 44:1159–1165
114. Lin L (2001). Inactivation of cytomegalovirus in platelet concentrates using Helix technology. *Semin Hematol* 38:27–33
115. Lin L, Hanson CV, Alter HJ, Jauvin V, Bernard KA, Murthy KK, Metzger P, Corash L (2005). Inactivation of viruses in platelet concentrates by photochemical treatment with amotosalen and long-wavelength ultraviolet light. *Transfusion* 45: 580–590
116. CPMP/BWP/268/95: Note for guidance on virus validation studies: the design, contribution and interpretation of studies validating the inactivation and removal of viruses. <http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/bwp/026895en.pdf>
117. CPMP/BWP/269/95, rev. 3: Note for guidance on plasma-derived medicinal products. [http://www.bpro.or.jp/publication/pdf\\_jptrans/eu200101en.pdf](http://www.bpro.or.jp/publication/pdf_jptrans/eu200101en.pdf)