



AF BIOANALYTIKER BITTE SKRIVER  
BLODBANKEN  
ROSKILDE SYGEHUS

# Anvendelse af leucocytdepleterede blodkomponenter

Gør vi det godt nok i Danmark?

Siden slutningen af 1990'erne er der i mange lande – deriblandt en del europæiske – taget beslutning om at leucocytdeplettere (filtrere) blodprodukter, for at mindske transfusionsrisikoen, bl.a. i forbindelse med variant Creutzfeldt-Jakob Disease (vCJD).

I Danmark har Dansk Selskab for Klinisk Immunologi (DSKI) lavet anbefalinger for, hvilke patientgrupper der bør transfunderes med leucocytdepleterede blodprodukter (LDB) i stedet for at indføre national leucocytdepletering. Anbefalingerne gælder bl.a. patienter med livslangt transfusionsbehov, kandidater til alle former for transplantation, gravide, børn under 3 mdr. og patienter med akutte myeloide leukæmier.

Spørgsmålet er, om vi gør det godt nok?

I denne artikel gennemgår jeg de fordele, leucocytdepletering giver. Jeg beskriver to eksempler, hvor det ikke er endeligt bevist, at LDB gør en forskel, og endelig vurderer jeg, om de danske regler er tilstrækkelige.

## Fra fuldblod til blodkomponentterapi

Efter i mange år at have anvendt fuldblod til transfusion af patienter begyndte man i Danmark i starten af 1980'erne at anvende blodkomponentterapi.

Dette er kendetegnet ved, at man, i stedet for at give patienten fuldblod, som indeholder både erythrocytter,

plasma og trombocytter og leucocytter, deler blodet op i forskellige komponenter og transfunderer med præcis dén komponent, patienten har brug for. Holdbarheden for de enkelte delprodukter er bedre end i fuldblod, og man undgår at tilføre patienten unødvendige komponenter.

Ved hjælp af adhæsionsfiltre er det muligt at fjerne leucocytter fra erythrocyt-suspensioner (SAGM), så indholdet pr. portion er  $<1 \times 10^6$ .

Man fremstiller i dag rutinemæssigt ved centrifugering af donorblod følgende komponenter (se også faktaboks side 16)

<u>SAG-M</u>	leucocytstal $<1.2 \times 10^9$ / enhed	holdbar i 35 dage ved 4°
<u>Leucocytdepleteret SAG-M</u>	leucocytstal $< 1 \times 10^6$ pr. portion	holdbar i 35 dage ved 4°
<u>Frisk Frosset Plasma (FFP)</u>		holdbart 2 år ved -30°
<u>Trombocyt-pools</u>		holdbart 5-7 dage ved 22°

Blodprodukter er lægemidler, og derfor sorterer blodbankerne i Danmark under Lægemiddelstyrelsen. Blodbankerne udfører en omfattende kontrol af kvaliteten, så indholdet af de enkelte produkter opfylder de krav, der stilles.

Blodtransfusion er p.g.a. de mange fremmede celler en form for transplantation. Årsager til komplikationer herved er immunologiske reaktioner med transfunderede erythrocytter, leu-

cocytter, trombocytter og plasmaproteiner. De fremmede celler kan udløse immunrespons og antistofdannelse hos patienten.

Ved transfusion af blodkomponenter, der indeholder leucocytter, spiller vævstypeantigenerne (HLA-antigenerne) en væsentlig rolle. De vigtigste er HLA-A, B og -C. De hedder også Major Histocompatibility Complex (MHC) klasse<sup>1</sup>, og præsenterer i immunsystemet virus(peptider) for cytotoxiske T-celler. De findes på alle celler - i størst antal på leucocytterne.

Alle eksperter er enige om, at der er umiddelbare fordele ved at fjerne leucocytter fra blodkomponenterne:

## Leucocytdepletering reducerer risikoen for HLA-immunisering

Leucocytter kan virke immuniserende, da de har mange HLA-antigener på overfladen (ca.100.000 sites pr. lymfocyt), som via transfusion og graviditet giver anledning til antistofdannelse.



## OM SCANDIATRANSPANT

Scandiatransplant er en nordisk organisation for udveksling af organer. Organisationen dækker en befolkning på 24,5 millioner indbyggere i fem lande; Danmark, Finland, Island, Norge og Sverige.

Scandiatransplant inkluderer et samarbejde mellem alle 12 nordiske transplantationscentre og otte klinisk immunologiske afdelinger.

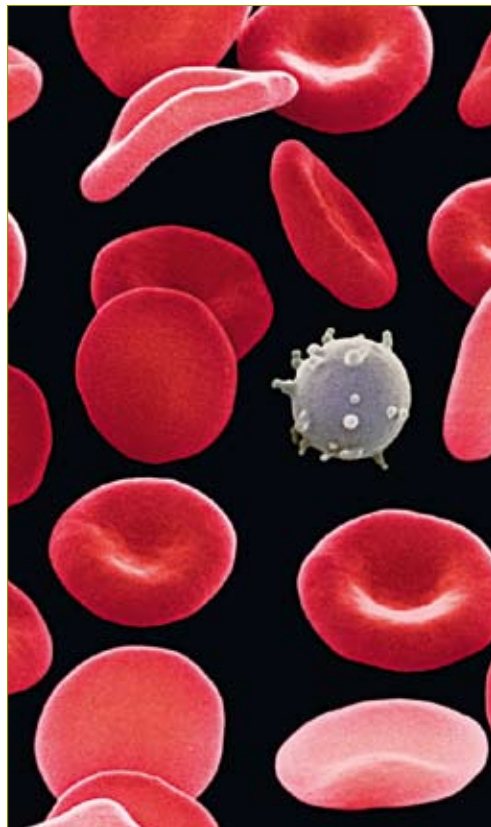


Foto: Scanpix



## ARTIKEL SOM EKSAMENS-PROJEKT

Bioanalytiker Bitte Skrivers artikel er skrevet som eksamensopgave på valgmodulet Klinisk Immunologi ved den Sundhedsfaglige Diplomuddannelse, CVU Øresund.

De studerende har skullet udforme deres eksamensopgave som en statusartikel til dbios fagblad ud fra fagbladets retningslinjer for faglige artikler. Opgaven er en diskussion af en problemstilling, der har afsæt i en konkret bioanalytikerfaglig praksis.

Modulet Klinisk Immunologi er et internetbaseret deltidsmodul, hvor de fleste har gået på arbejde ved siden af studiet. Også i de 14 dage, der var afsat til opgaveskrivning.

Dette er hos potentielle transplantationspatienter et stort problem, da ca. 28 % af patienter (Scandiatransplant, 2004), der ventede på et organ i Skandinavien, havde dannet HLA-antistoffer. Immuniseringen vanskeliggør at finde et egnet organ.

### Leucocytedepletering reducerer risikoen for Graft-Versus-Host-Disease (GVHD)

Ved GVHD er det immunkompetente T-lymfocytter i donorblodet, der reagerer mod patienten. For at eliminere risikoen for GVHD hos f.eks. transplanterede patienter gamma-bestråler man leucocytedepleterede blodprodukter, ødelægger derved DNA'et og undgår 'afstødning'.

I England viste undersøgelser en reduktion af GVHD, efter at de gik over til national leucocytedepletering.<sup>20</sup>

### Leucocytedepletering reducerer risikoen for dannelse af multispecifikke antistoffer ved trombocytr transfusion

Trombocytpools er fremstillet ud fra buffycoats, som ud over trombocytter indeholder 80 % af de leucocytter, der er fjernet ved SAG-M-fremstilling. Der indgår buffycoat fra 3-4 donorer med samme ABO-type i én trombocytpool. Disse pools indeholder dermed mange forskellige leucocytter (HLA-antigener) og kan ved transfusion føre til dannelse

af multispecifikke antistoffer hos de i forvejen dårlige patienter med trombocytopeni.

Trombocytpools vil i Danmark overvejende være leucocytedepleterede. Filteret kan være en integreret del af opsamlingsposen, så arbejdsbyrden ved fremstilling ikke er anderledes end ved ikke-filtrerede pools.

Da leucocytter er mere immunogene sammen med trombocytter end sammen med erythrocytter,<sup>7</sup> mener jeg, at det er et rigtigt valg at filtrere trombocytpools.

### Leucocytedepletering mindsker tilfælde af Febrile Non-Hemolytic-Transfusion-Reactions (FNHTR)

Den mest almindelige komplikation i forbindelse med transfusion er den såkaldte FNHTR.

Som navnet siger, er det ikke en hæmolytisk reaktion med erythrocytdestruktion til følge, men en febril reaktion med kulderystelser og måske lidt rødme eller udslæt.

Årsagen menes at være patientens HLA-antistoffer, der reagerer med HLA-antigener på overfladen af donors monocytter, granulocytter og lymfocytter. En anden forklaring kan være, at leucocytter under opbevaring udskiller cytokiner, som ved infusion menes at kunne fremkalde feber hos patienten<sup>21</sup>. Aktivering af komplement (FVa), som forårsager frigivelse af interleukiner i

patientens makrofager og monocytter, kan fremkalde rødme og udslæt.

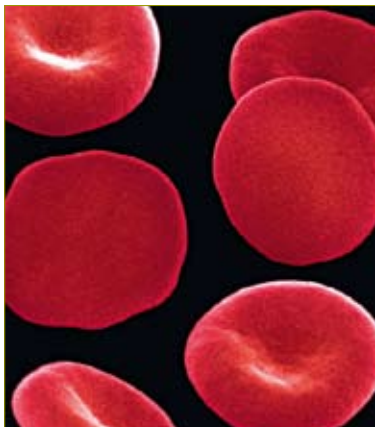
Ved den såkaldte *prestorage-metode*, hvor man filtrerer blodkomponenten lige efter fraktionering, fjerner man leucocytterne, før de undergår apoptosis eller necrosis. Dette menes at være den mest effektive metode til depletering<sup>18,19</sup>. Filtreres blodet efter at have været opbevaret nogle dage ved 4<sup>o</sup> - dette kaldes *post-storage* - vil der kunne frigives nedbrydningsprodukter.

HLA-antigener er normalt ikke rigt repræsenteret på erythrocytter (40-550 antigen-sites) og udgør derfor ikke noget problem ved transfusion af SAG-M, men hos personer med visse vævstyper - bl.a. HLA-B7, B 17 og A28 - forekommer der mange flere HLA-antigener på erythrocytterne end hos andre. Hos personer, der er HLA-B7 og har haft mononucleose, udtrykkes B7 meget stærkt<sup>16</sup>. I serologien påviser vi bl.a. anti-Bg<sup>a</sup> (B7) Anti-Bg<sup>c</sup> (A28), som er leucocytantistoffer, der typisk reagerer svagt med erythrocytter fra donorer, der har HLA-B7 eller A-28-antigen.

Man kunne måske forestille sig, at de patienter, der får FNHTR efter transfusion af SAG-M blod, har fået blod fra donorer, der netop er HLA-B7, B17 eller A28, og der derved har været lidt 'ekstra' HLA-antigener.

Nogle blodbanker undersøger i forbindelse med FNHTR, om patienterne





●  
●

SAG-M

Erythrocytter opløst i Saltvand-Adenin-Glucose og Manitol

80 % af leucocyterne er fjernet

Leucocytdepleteret SAG-M

Ved hjælp af adhæsionsfilter fjernes de fleste leucocyter

FFP

Frisk Frosset Plasma. Indeholder koagulationsfaktorer

Thrombocyt pools

Koncentrat af trombocytter fremstillet ud fra buffy-coat

Buffy-coat

Restprodukt indeh. trombocytter og 80 % af leucocyterne  
Bruges til fremstilling af Thrombocyt pools.

»»

har dannet HLA-antistoffer. FNHTR indrapporteres ikke til Dansk Registrering af Transfusionsrisici (DART), hvorfor der ikke foreligger statistik over problemet.

Efter 2 febrile reaktioner – og anden årsag er udelukket – vælges efter anbefaling fra DSKI – at give leucocytdepleterede blodprodukter for at undgå yderligere ubehag for patienten og evt. risiko for dannelse af antistoffer.

I mange andre europæiske lande, hvor der er taget nationale beslutninger om at filtrere alt donorblod for at mindske transfusionsrisikoen, har man set et fald i NHFTR på op til 50 %<sup>10</sup>.

### Leucocytdepletering mindsker risikoen for cytomegalo-overførsel (CMV)

Visse virus kan overføres med leucocyterne. Overførsel af CMV er en risiko, man må overveje i forbindelse med transfusion til immunsupprimerede patienter (eks. leukæmi, knoglemarvs- og organtransplanterede, gravide og børn under 3 måneder m.v.). Man ved, at CMV findes i det perifere blod i leucocytternes kerner som et stort dobbeltstregnet DNA-molekyle, og risikoen for overførsel af CMV kan i hvert fald mindskes ved anvendelse af LDB, men ikke fjernes helt. Filtrene fjerner ikke cellefrit CMV og CMV fra nedbrudte leucocyter. Grænsen for at undgå CMV-overførsel er sat til  $< 5 \times 10^6$  leucocyter/portion – den præcise grænse kendes ikke.

Forekomsten af CMV-positive bloddonorer er høj (i Canada 50-80 %)<sup>12</sup>, men de kliniske symptomer på infektion hos normalt immunkompetente patienter er forholdsvis milde. Det har vist sig, at det er lige så godt at transfundere LDB, som det er at anvende CMV-negative donorer<sup>3,13</sup>.

Andre leucocytassocierede virus, som nogle mener at kunne fjernes ved depletering, er Epstein-Barr-virus

(EBV)<sup>5</sup>, human herpes-virus<sup>9</sup> og Chlamydia pneumonia.<sup>8</sup>

### Leucocytdepletering mindsker måske risikoen for immunsupprimering

Hvorvidt der ses færre infektioner hos opererede patienter, hvis de får LDB, er stadig til diskussion. Nogle forskere mener at kunne påvise en forskel i antallet af infektioner. Andre at det ikke er tilfældet. Specielt er det beskrevet, at hjerteopererede patienter kan have fordel af at få LDB<sup>22</sup> – måske fordi de får så store mængder blod, og fordi patienternes inflammatoriske responsesystem, som i forvejen er aktiveret, reagerer på de frigjorte cytokiner.<sup>6</sup>

Hvis det kan dokumenteres, at patienter får færre infektioner ved brug af LDB, kan man opnå færre indlæggelsesdage og dermed spare penge, som eventuelt kunne bruges til at leucocytdeplere blodkomponenter. Kortere indlæggelsestider kunne desuden reducere ventelisterne.

Det ser ud som om, man kan mindske risikoen for transfusions-associerede sepsis-reaktioner, da man ved depletering også fjerner leucocyter, som har fagocyteret bakterier.<sup>1</sup>

### Kan leucocytdepletering fjerne vCJD?

I England indførte man i 1999 national leucocytdepletering efter tilfælde af variant Creutzfeldt Jakob Disease (vCJD). Egentlig foreligger der kun ét tilfælde, hvor man med sikkerhed mener at have overført vCJD via blodtransfusion,<sup>15</sup> og da virus er et prion, som sandsynligvis ikke fjernes ved filtrering, er det tvivlsomt, om leucocytdepleteringen har haft en effekt. Der er nu kommet filtre på markedet, som også kan fjerne prioner, men jeg har i min litteraturgennemgang ikke set noget beskrevet, som kunne anbefale brugen

af dem. Ved brug af filtre fjernes for mange erythrocytter, og filtrene fra den ene producent (Pall) fjernede tilmed for meget FIX fra plasma.<sup>17</sup>

Danmark valgte i forbindelse med tilfældene af vCJD i England i stedet at udelukke bloddonorer, som havde boet i England i mere end ½ år fra 1980-96 og dermed kunne være blevet smittet.

Det, mener jeg, var en rigtig beslutning, da det stadig er en hypotese, om man fjerner vCVJ ved filtrering.

### Diskussion og konklusion

Der er en stor økonomisk byrde forbundet med depletering. Adhæsionsfiltrene er dyre, og der går mange personaltimer til at producere og kvalitetssikre produkterne. Dette skal sammenholdes med, at 5-19 % af erythrocyterne går tabt under processen.<sup>11,4</sup>

Set i lyset af den konstante mangel på donorblod i Danmark ville erythrocyttabet i forbindelse med en generel deplektion kunne blive et problem.

Skulle man fokusere på andre områder, hvor man kunne forbedre transfusionssikkerheden for en måske mindre udgift, kunne det være:

*Transfusions-related-acute-lung-injury (TRALI)*, hvor HLA-antistoffer i donorplasma angriber patientens lungevæv (endothel) – ved konsekvent at anvende plasma fra mandlige donorer, som ikke har dannet HLA-antistoffer.

*Bakteriel infektion af trombocytter* kunne undgås ved at udtage dyrkninger fra produkterne.

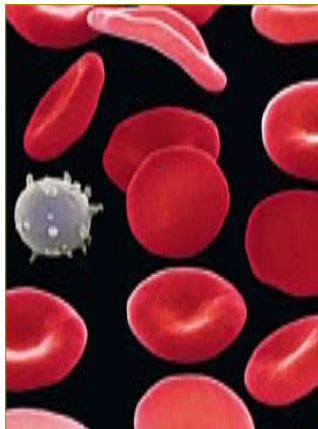
*Forkert prøvemærkning* – kræver en opstramning på de biokemiske afdelinger.

*Mistransfusion* – måske bedre identitetssikring ved hjælp af en chip i patientarmbånd.

I nogle dele af Danmark er der lavet uddannelsesprogrammer for sygeplejer-



I en tappet blodportion er der ca.:  
250 ml plasma  
150 milliarder blodplader  
3.5 milliarder hvide blodlegemer  
2 tusinde milliarder røde blodlegemer.



## LITTERATURLISTE

1. Barrett, BB et al.: Strategies for the avoidance of bacterial contamination of blood components (1993)
2. Blodforsyningsloven 1.5.2005
3. Bowden et al.: Transfusion-transmitted cytomegalus infection (1995)
4. Carson, JL et al.: Will we ever know if leucoreduction of red blood cells should be performed? (2004)
5. Dzik, S et al.: Leucocytereduction of blood components: Public policy and new Technology
6. Fergusson, D et al.: Transfusion of leukoreduced red blood cells may decrease postoperative infections (2004)
7. Hébert, PC et al.: Clinical outcomes following institution of the Canadian universal leucoreduction program for red blood cell transfusion (2003)
8. Hideaki Ikejima et al.: Depletion a Resident Chlamydia pneumonia through Leucoreduction by Filtration of blood for transfusion (2005)
9. Hladik, W: Transmission of human herpesvirus 8 by blood transfusion (2006)
10. Ibojje, J: Limited efficacy of universal leucodepletion in reducing the incidence of febrile nonhaemolytic reactions in red cell transfusion (2002)
11. Kraiden et al.: Detection of Cytomegalovirus in Blood donors by PCR using the Digene SHARP Signal system assay: Effects of sample preparation and detection Methodology.
12. Karger et al.: In-line filtration (2002)
13. Ljungman et al.: Leucocyte-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. (2002)
14. Ljungman, Per: Risk of Cytomegalovirus transmission by blood products to immunocompromised and means for reduction. (2004)
15. Llewelyn, CA et al.: Possible transmission of Creutzfeldt Jakob Disease by blood transfusion (2004)
16. Morton, JA et al.: Increase in strength of red cell Bg-antigen following mononucleosis. (1977)
17. Prowse, C: Prion removal filters (2006)
18. Smith, JD and Leitman, SF: Filtration of RBC-units: Effect of storage time and temperature on filter performance. (2000)
19. Vamvacas, EC: The case against universal white blood cell reduction (2006)
20. Van de Watering, L: What has universal leucoreduction given us? Evidence from clinical trials? (2004)
21. Wadhwa, M et al.: Cytokine accumulation in stored red cell concentrates: effect on buffy-coat removal and leucoreduction. (2000)
22. Wallis, JP et al.: Effect on WBC reduction of transfused RBC's on postoperative infections rates in cardiac surgery. (2002)

sker, hvor de modtager undervisning og efter en bestået test får en slags kørekort til at måtte give transfusionsbehandling. Da det i dag er på sengeafdelingerne, at de alvorlige transfusionsfejl sker, synes det at være et godt tiltag.

DSKI har udfærdiget nogle anbefalinger og krav til, hvilke patientgrupper der i Danmark skal transfunderes med LDB. Hvis disse anbefalinger og krav sammen med Blodforsyningsloven fra 1.5.2005 overholdes, synes jeg, at de danske patienter er godt stillet. Danmarks restriktive donorkriterier og strenge indikationer for transfusion er et stort plus. Blodtransfusion er livredende behandling, som kun skal anvendes, når der er indikation for det.

Vi skal huske på, at det stadig kun er hos en minoritet af alle patienter med transfusionsbehov, at der er en reel indikation for leucocytedepletering. Mange af disse patienter får store mængder blod og er på samme tid i risiko for både FNHTR, CMV-infektion og immunisering. Der er i forvejen medicinsk indikation for, at disse patienter får LDB - og de får det så vidt muligt! Det vil derfor være svært at måle, om patienter, som ikke er i denne risikogruppe, vil få glæde af, at vi i Danmark indførte depletering af alt donorblod.

Til gengæld synes der at være et problem omkring potentielle transplantationspatienter, som ifølge DSKI's anbefalinger altid skal have blodkomponenter med meget lavt leucocyttindhold. Når antallet af immuniserede patienter i Scandiatransplant ligger så højt som 28 % af samtlige patienter, kan det tyde på, at anbefalingen ikke altid bliver fulgt. Hvor problemet ligger, er imidlertid svært præcist at udpege.

Blodbankerne kan have vanskeligt ved at styre blodkomponentvalget, da de ikke kender patientens diagnose og sygdomsforløb. Behandlingsafdelingerne på sygehuse er måske ikke opmærksomme på, at man kan komme til at immunisere patienter i det tidlige sygdomsforløb, hvor beslutningen om evt. transplantation endnu ikke er truffet.

Endelig er vi i blodbankerne måske heller ikke gode nok til at formidle vores viden om blodkomponenter og deres anvendelse ud til klinikerne.

En årsag til det høje antal af immuniserede transplantationspatienter kan også ligge i sygehuses informationssystemer. Patienter flyttes mellem landsdelene, og vi har i landets blodbanker 4-5 forskellige edb-systemer, der for de flestes vedkommende ikke kommunikerer sammen. Hvis alle landets blodbanker havde samme edb-system, ville informationerne om patientens blodtype, irregulære antistoffer og eventuelt krav til blodkomponenter være tilgængelige overalt. Det ville spare personalet for en masse unødigt arbejde og være til fordel for patienten.

Når alt det er sagt, er det måske på sin plads at nævne, at man selvfølgelig ikke behøver at have 100 % bevis for fordelene ved leucocytedepletering, for at man kan indføre det nationalt. Måske udsætter man patienterne for en risiko, man endnu ikke kender. Men indtil der eventuelt kommer flere dokumenterede positive effekter af leucocytedepletering, synes jeg, at vi med den viden, vi har i dag, gør det godt nok herhjemme.