

# Hepatitis-B-Virus (HBV)

## Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit<sup>1</sup>

**D**er Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit 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 wird 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) (Bundesgesundhbl., 41, 78–90, 1998) und HTLV-I/II (Bundesgesundhbl., 41, 512, 1998) sowie *Yersinia enterocolitica* (Bundesgesundhbl., 42, 613, 1999) und TT-Virus (Bundesgesundhbl., 43, 154–156).

### 1 Wissensstand über den Erreger

#### 1.1 Erregerigenschaften

HBV ist der Prototyp der Virusfamilie Hepadnaviridae, Genus Orthohepadnaviridae. Ähnliche Viren werden bei Primaten, Waldmurmeltieren und Ziesel gefunden, entfernter verwandte Viren (Genus Avihepadnaviren) bei verschiedenen Vogelarten. Alle Mitglieder dieser Virusfamilie sind hepatotrop, nicht zytopathogen und sehr spezies-

spezifisch. Sie erzeugen persistierende Infektionen mit ausgeprägter Virämie. Orthohepadnaviren können akute und chronische Hepatitiden sowie hepatocelluläre Karzinome erzeugen.

HBV ist ein sphärisches Partikel mit einem Durchmesser von 42 bis 45 nm. Es besteht aus einem ikosaedrischen Nukleokapsid (dem Core) und einer äußeren lipidhaltigen Proteinhülle. Das Hepatitis-B-surface-Antigen (HBsAg) ist das Hauptantigen der Virushülle. Es besteht aus dem kleinen (SHBs), mittleren (MHBs) und großen HBs-Protein (LHBs) mit den Domänen S, präS<sub>2</sub> und präS<sub>1</sub> (Abb. 1).

Neben den Virionen befinden sich im Blut in rund tausendfachem Überschuss auch sphärische und filamentöse HBs-Partikel mit 22 nm Durchmesser ohne Nukleokapsid.

Das Nukleokapsid wird vom HBcAg gebildet. Dieses „Core-Partikel“ enthält neben der viralen DNA eine HBV-spezifische DNA-Polymerase und eine wirtskodierte Proteinkinase.

Eine in das Plasma sezernierte lösliche Form des HBc-Proteins wird als HBe-Protein (HBeAg) bezeichnet.

HBV kommt in mindestens sechs Genotypen (A–F) mit geographisch unterschiedlicher Verteilung vor. Daneben weist das HBsAg in der S-Domäne die Subtypdeterminanten *d* oder *y* sowie *w1-4* oder *r* auf. In hochvirämischen Patienten ist HBV wenig variabel, unter

Immenselektion entwickelt es jedoch eine hohe Variabilität.

Das virale Genom ist ein zirkuläres, partiell doppelsträngiges DNA-Molekül mit einer Größe von ca. 3200 Basen. Es enthält am 5'-Ende des kodierenden Stranges (Minusstrang) kovalent gebunden die virale DNA-Polymerase als Proteinprimer für dessen Synthese, am 5'-Ende des Plusstranges einen RNA-Primer. Die Synthese des Minusstranges erfolgt durch reverse Transkription der prägenomischen HBV-RNA.

HBV kann durch lipidlösende, organische Lösungsmittel oder durch Hitze über 60°C inaktiviert werden. Da die Hüllproteine des Virus kovalent vernetzt sind und relativ wenig Lipid enthalten, ist HBV stabiler als andere umhüllte Viren [1, 2].

<sup>1</sup>Dieses Papier wurde fertig gestellt am 22.9.1999 und vom Arbeitskreis Blut am 16.11.1999 verabschiedet. Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergruppe „Bewertung Blut-assoziiertes Krankheitsereger“ des Arbeitskreises Blut: Prof. Dr. Reinhard Burger, Prof. Dr. Wolfram Gerlich, Prof. Dr. Lutz Gürtler, Dr. Margarethe Heiden, Dr. Walter Hitzler, Prof. Dr. Bernd Jansen, Prof. Dr. Volker Kretschmer, Dr. Hans Lefèvre, Prof. Dr. Johannes Löwer, Prof. Dr. Wolf-Dieter Ludwig, Dr. Thomas Montag-Lessing, PD Dr. Rainer Neumann, Dr. Arnold Paessens, Prof. Dr. Georg Pauli, Prof. Dr. Rainer Seitz, Dipl. Med. Uwe Schlenkrich, Dr. Edgar Werner, Dr. Hannelore Willkommen.

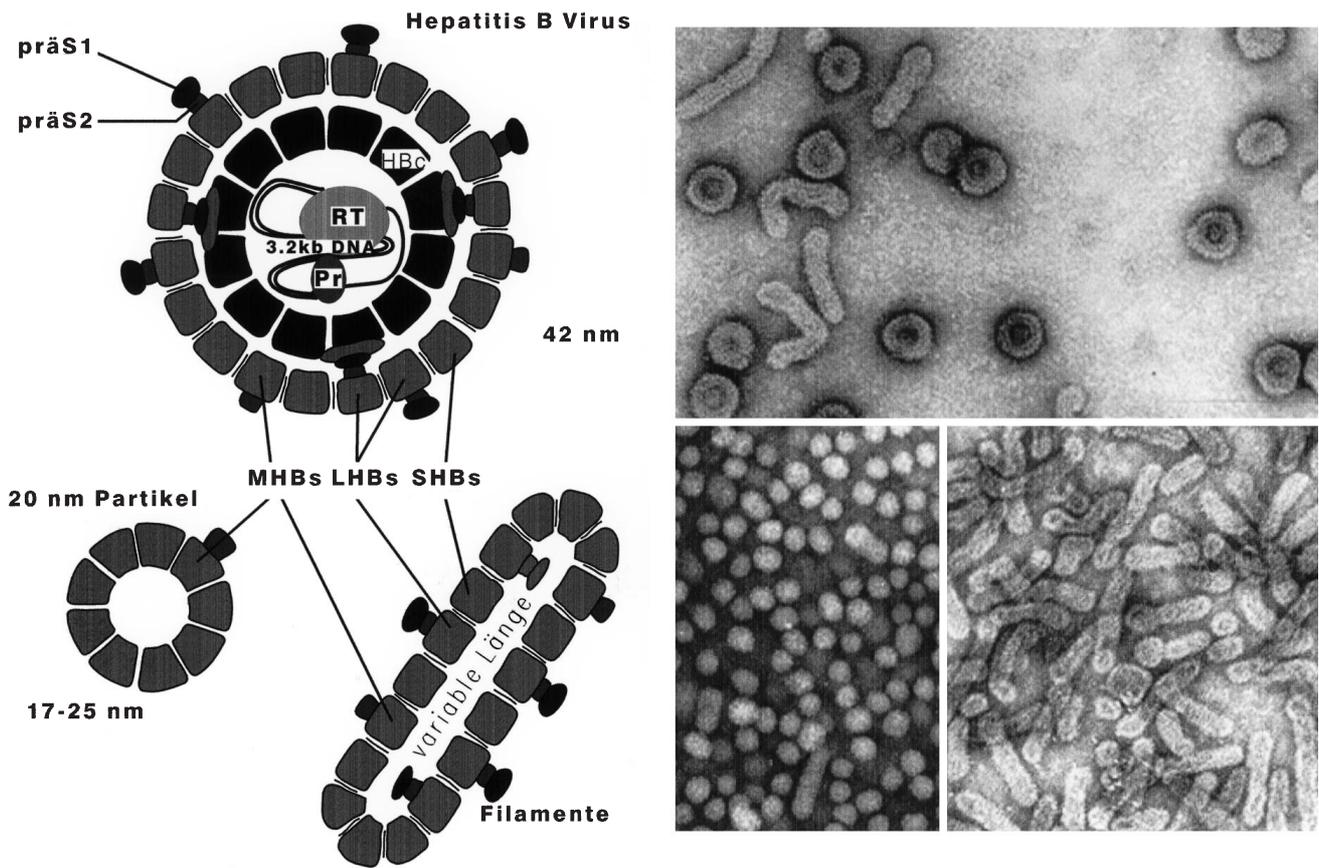


Abb. 1 ▲ Elektronenmikroskopische Aufnahme (Negativkontrast) der Hepatitis-B-Viruspartikel, der filamentösen und sphärischen HBsAg-Partikel (rechts) sowie modellhafte Darstellung der Partikelstruktur und der viralen Oberflächenproteine (LHBs, MHBs, SHBs) mit den Domänen S, präS1 und präS2. Im Inneren befindet sich das Coreprotein (HBe) sowie die virale DNA und die viruskodierte Polymerase mit Reverse Transkriptase- (RT-) und Proteinprimer- (PR-) Domäne

## 1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Ein direkter zytopathogener Effekt wie bei vielen anderen Viren ist für den Wildtyp des HBV nicht bekannt, jedoch scheinen bestimmte Varianten eine gewisse Pathogenität aufzuweisen. Die Pathogenese erfolgt im Wesentlichen durch die Immunreaktionen des infizierten Wirts. Wenn diese ausbleibt oder zu schwach ist, kommt es zu starker Virusvermehrung ohne wesentliche Symptomatik.

HBV erreicht im Blutplasma von immuntoleranten Virusträgern typischerweise Partikelzahlen von  $10^9$  bis  $10^{10}$ /ml [3], jedoch sind nicht alle Partikel infektiös. Der Infektiositätstiter von solchen Plasmen erreicht im Schimpanse bei intravenöser Verabreichung typischerweise Werte um  $10^8$ /ml. Speichel, Tränenflüssigkeit, Muttermilch, Vaginalsekrete, Sperma und Aszites-Flüssigkeit können HBV übertragen. Am wirksam-

sten ist die intravenöse Übertragung, aber auch perkutaner oder Schleimhautkontakt mit HBV-haltiger Flüssigkeit kann zur Übertragung führen. Es gibt zahlreiche HBV-Träger, die unter  $10^6$  Viruspartikel/ml aufweisen und für ihre Umgebung kaum infektiös sind [4].

Im Normalfall wird die Zahl der HBV-Partikel anhand der Zahl der HBV-DNA-Moleküle (Genom-Äquivalente) gemessen [3]. Eine Messung der infektiösen Partikel ist nicht praktikabel, da das Hepatitis-B-Virus sich nur in vivo bzw. in differenzierten primären Hepatozyten des Menschen und Schimpansen vermehrt. Über den Mechanismus der Virusaufnahme in die Leberzellen und möglicherweise andere Zellen (Leukozyten) gibt es bisher keine klaren Erkenntnisse.

Bei Erwachsenen mit einem kompetenten Immunsystem führt die Infektion bei geringer Dosis meist zu einem inapparenten Verlauf mit nachfolgender

Immunität. Bei höherer Dosis, insbesondere nach perkutaner Inokulation mit hochtitrigem Blut (serum), kommt es zu einer akuten Hepatitis B meistens mit nachfolgender Ausheilung. Die Inkubationszeit für HBV bis zum Auftreten klinischer Symptome beträgt je nach Infektionsdosis und Eintrittspforte in der Regel zwischen 45 und 180 Tagen. In der Prodromalphase bis zu vier Wochen vor Ausbruch der klinischen Erkrankung mit Gelbsucht werden oft grippeähnliche Symptome, gelegentlich Juckreiz, Exantheme oder Gelenksbeschwerden beobachtet, was vermutlich auf Immunkomplexe zurückzuführen ist. Fulminante oder tödliche Verläufe durch Lebersversagen sind selten ( $<0,1\%$ ) und meist durch Infektion mit HBe-negativen HBV-Varianten oder Superinfektion mit Hepatitis-Delta-Virus bedingt.

Bei 5 bis 10% der Patienten mit akuter Hepatitis B kommt es zu einem chronischen Verlauf. Bei Infektion von Neu-

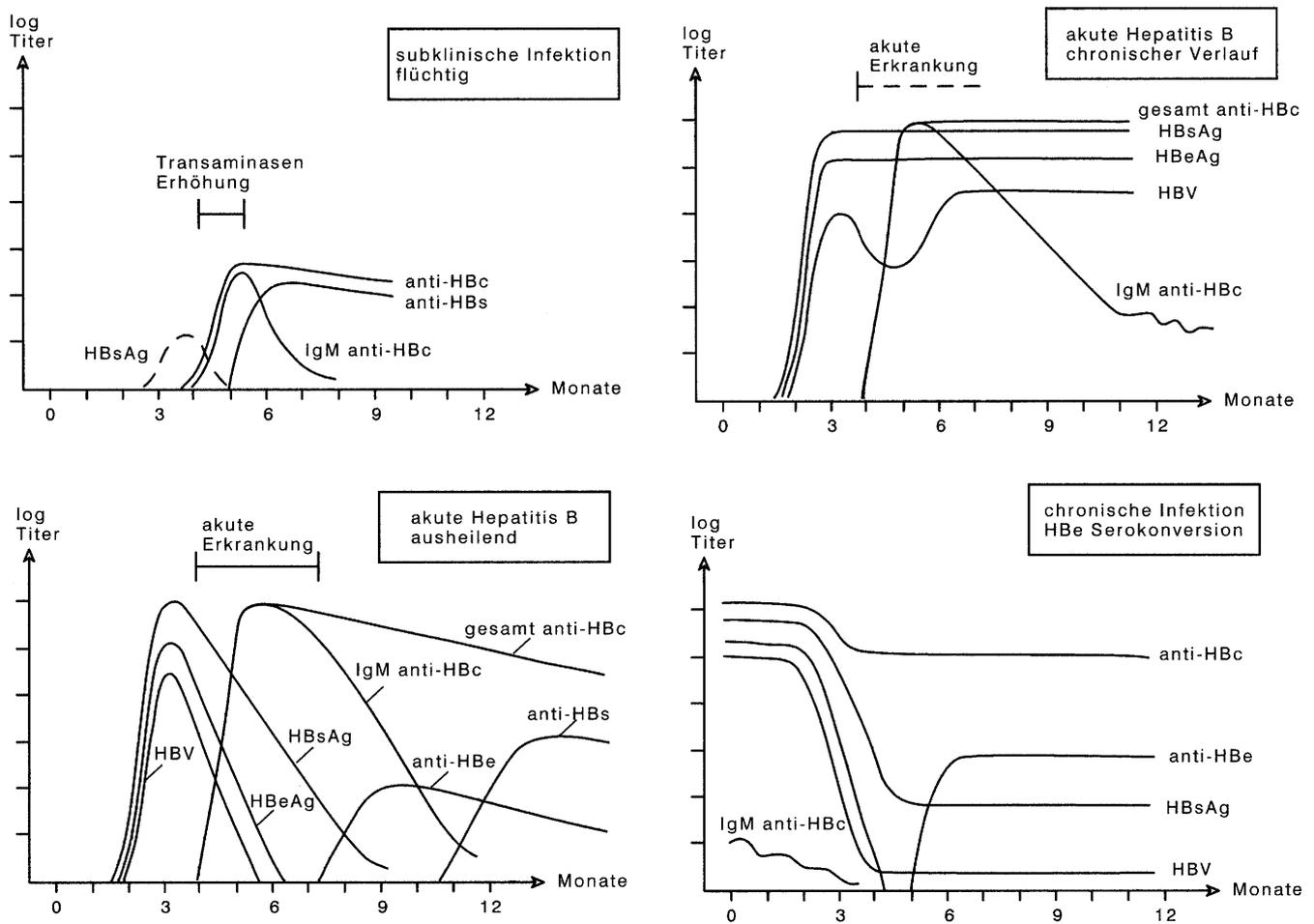


Abb.2 ▲ Schematischer Verlauf der Virusserologie bei unterschiedlichen Verlaufsformen der HBV-Infektion

geborenen oder von immundefizienten Personen kommt es dagegen fast immer zur subklinischen persistierenden Infektion mit partieller Immuntoleranz und ausgeprägter Virämie. Aber auch ein gewisser Anteil immunkompetenter Erwachsener entwickelt eine persistierende HBV-Infektion ohne erkennbare Hepatitis.

Die persistierende Infektion geht im Lauf des Lebens oft in das Bild einer chronischen Hepatitis über und kann zur Leberzirrhose und zum Leberzellkarzinom führen. Die Pathogenese beruht auf der vorhandenen, aber für die Viruselimination unzureichenden zytotoxischen Immunantwort gegen HBV-Antigene. Im Gefolge der stetigen Leberzellzerstörung kommt es zu häufigen Zellteilungen und zu gehäuften Mutationen. Daneben wird die Fibrose des Lebergewebes induziert. In seltenen Fällen kommt es auch zu gefährlichen Immunkomplexerkrankungen wie Pe-

riarteritis nodosa oder Glomerulonephritis [4, 5].

### 1.3 Epidemiologie

In der Literatur werden folgende Inzidenzen von akuter Hepatitis B pro Jahr und 100 000 Einwohner berichtet:

- ▶ USA 10
- ▶ UK 1–2
- ▶ Schweden 3
- ▶ Deutschland 7
- ▶ laut WHO für Europa 20.

Da nicht alle Erkrankungen gemeldet werden und die symptomatischen HBV-Infektionen nur einen Teil aller HBV-Infektionen ausmachen, müssen die genannten Zahlen nach Meheus mit einem Faktor zwischen 4 und 30 multipliziert werden, um die echte Inzidenz an Infektionen in den einzelnen Ländern abzuschätzen [6]. So werden in den USA pro Jahr 25 000 Fälle HBV-Neuinfektionen

gemeldet. Die tatsächliche Zahl wird aber mit etwa 300 000 Neuinfektionen jährlich angenommen.

Weltweit rechnet man mit 300 Millionen chronischen HBV-Trägern und rund einer Million HBV-bedingter Todesfälle pro Jahr. In Italien gibt es rund 1,5 Mio chronisch Infizierte und etwa 9000 durch HBV verursachte Todesfälle pro Jahr. Die Inzidenz ist allerdings in den letzten 20 Jahren gesunken [7].

Anhand der in Deutschland gemeldeten HBV-Erkrankungen (rund 6000) sowie der bekannten Tatsache der unvollständigen Meldungen wurde für 1993 eine Zahl von 14 000 bis 27 000 HBV-Erkrankungen und zwischen 27 000 und 55 000 HBV-Infektionen errechnet. Die Gesamtzahl der chronischen Hepatitis-B-Virus-träger in Deutschland beträgt gegenwärtig etwa 500 000. Dies entspricht etwa 0,7 Prozent der Bevölkerung (Jilg und Palitzsch, unveröffentlicht).

## 1.4 Nachweismethoden

Der Nachweis einer aktiven HBV-Infektion erfolgt heute routinemäßig durch ELISA-Verfahren zum Nachweis des HBsAg im Serum oder Plasma. Nach Ablauf der Inkubationszeit kann sowohl die aktive Infektion als auch die überstandene Infektion durch den Antikörper gegen das Core-Antigen (anti-HBc) durch ELISA nachgewiesen werden. Anti-HBc ist daher der beste Parameter der Prävalenz von HBV-Infektionen. Natürlich erworbene oder durch Impfung erzeugte Immunität gegen HBV wird durch den Antikörper gegen HBsAg (anti-HBs) mittels ELISA nachgewiesen.

Der ebenfalls bei einigen diagnostischen Fragestellungen eingesetzte Nachweis der viralen Nukleinsäure erfolgte zunächst mittels verschiedener Nukleinsäure-Hybridisierungsverfahren. Wegen der höheren Sensitivität haben sich aber in den letzten Jahren Amplifikations-techniken zum Nachweis der viralen DNA durchgesetzt [8]. Der Verlauf der diagnostischen Parameter während der verschiedenen Formen der HBV-Infektion ist in Abb. 2 und in Tabelle 1 dargestellt.

Die gegenwärtig in Deutschland zugelassenen Teste zum Nachweis von HBsAg haben eine Nachweisgrenze von 0,01 bis 1,0 Einheiten/mL des Paul-Ehrlich-Instituts (PEI). Diese Angaben beziehen sich auf die 1987 vom PEI eingeführten Standards mit den HBsAg-Determinanten ad bzw. ay. Bezogen auf den WHO-Standard (WHO HBsAg ad) ergibt sich eine Nachweisgrenze von 0,005 bis 0,05 IE/ml, da das Verhältnis beider Standards ca. 1:2 ist, d. h. eine PEI-Einheit entspricht 0,5 internationalen Einheiten (IE). Eine Angabe der Testsensitivität in ng/mL HBsAg ist nicht möglich, da Referenzpräparate, die in ng HBsAg/mL deklariert sind [9], nicht mehr zur Verfügung stehen. Eine Umrechnung bleibt somit eine grobe Abschätzung (Angaben des PEI).

Der HBsAg-Test wird ca. sechs bis acht Wochen nach Infektion positiv. Infektiosität kann jedoch schon vorher bestehen. Jagodzinski und Mitarbeiter konnten mittels PCR 14 bis 35 Tage vor dem positiven HBsAg-Nachweis virale DNA nachweisen [10].

Der HBV-DNA-Nachweis bietet die Möglichkeit zur Quantifizierung der Infektiosität und ist ein wichtiger Parameter zur Therapie- und Verlaufskontrolle.

Der Nachweis der Nukleinsäure gelingt mitunter auch nach ausgeheilter Infektion, wenn HBsAg nicht mehr bzw. anti-HBs nachweisbar ist [11], jedoch ist die Infektiosität solcher Personen nicht erwiesen.

## 2 Blut- und Plasmaspender

### 2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Nach einer Umfrage in deutschen Blutspendeeinrichtungen durch das PEI wurden für 1995 801 HBsAg-positive Befunde auf 4 246 906 Spenden angegeben. Da nicht ausreichend zwischen Erst- und Mehrfachspendern unterschieden wurde, ist eine Angabe der Inzidenz und Prävalenz aufgrund dieser Daten nicht möglich. Bei den Angaben zur Prävalenz ist zwischen der Prävalenz von HBV-Trägern und der Prävalenz von Personen mit einem Marker früherer oder noch bestehender HBV-Infektionen zu unterscheiden. Erstere wird bei Blutspendern durch den HBsAg-Test erfasst, letztere nur durch die Kombination von Anti-HBc-Test und HBsAg-Test. Da HBsAg-positive Spender ausgeschlossen werden, sind die Prävalenz-Angaben auf der Basis des HBsAg nur für Erstspender zutreffend.

Wichtiger sind die Angaben zur Inzidenz. Durch die Untersuchung von Mehrfachspendern auf HBsAg erhält man gewisse Hinweise auf die Inzidenz neu erworbener HBV-Infektionen. Diese Hinweise sind jedoch sehr ungenau,

da HBsAg in der großen Mehrzahl der Infizierten mit voll funktionfähigem Immunsystem nur vorübergehend vorliegt. Schreiber et al. ermitteln aus der bekannten mittleren Dauer der HBs-Antigenämie bei ausheilender akuter Hepatitis B einen Korrekturfaktor von 2,4, mit dem schon wieder HBsAg-negativ gewordene Spender berücksichtigt werden sollen. Sie erhielten so in den USA für die Jahre 1991 bis 1993 ein rechnerisches Restrisiko für HBsAg-negative Blutspenden mit HBV-Infektiosität von 1:63 000 [12]. Stramer et al. ermittelten mit einem etwas modifizierten Rechenmodell für 1996/7 1:77 500 [13]. Glück et al. ermittelten 1996 43 HBsAg-Serokonversionen in 2 850 820 Spenden. Unter Verwendung der Rechenmethode von Schreiber errechnet sich daraus ein Restrisiko von 1:232 044 pro Spender [14]. Nach ähnlichen Schätzungen soll das Restrisiko in Frankreich 1:112 000 [15], in Australien 1:350 000 [16] betragen. Für die genannten Abschätzungen der HBV-Inzidenz bei Blutspendern ist zu berücksichtigen, dass die Phase der nachweisbaren HBs-Antigenämie bei inapparenten Infektionen vermutlich deutlich kürzer ist und so der Korrekturfaktor höher sein müsste. Andererseits mag die Phase der tatsächlichen Infektiosität ebenfalls sehr viel kürzer sein als angenommen. Genauere Daten wären durch die Erfassung der anti-HBc-Serokonversion zu erheben, da dieser Antikörper nach üblicher Auffassung jahrelang, meist lebenslang, besteht. Neueste Beobachtung zeigen jedoch,

Tabelle 1  
Diagnostische Parameter bei der Hepatitis-B-Infektion

Marker	Infektionsstadium		
	Akut	Chronisch	ausgeheilt
HBV-DNA	früh +/spät –	+(-)	-(+)
HbsAg	+	+	-
HBeAg	früh +/spät –	+/-	-
anti-HBc-IgM	++	-/+	-
anti-HBc-gesamt	+	+	+(+)
anti-HBe	früh -/spät +	-/+	-/(+)
anti-HBs	-	-(+)	+(+)
ALT	+++	+, wechselnd –	

Seltene Befunde in Klammern

dass bei asymptomatischer Infektion eine durch PCR nachweisbare kurzzeitige Virämie (ohne HBsAg) nicht immer in einer anti-HBc, sondern eher in einer anti-HBs-Serokonversion resultiert (Lefèvre, pers. Mitt.). Anti-HBs kann wiederum nach symptomatischer Infektion oftmals fehlen und wurde daher bislang nicht als Marker für Prävalenz und Inzidenz verwendet. Ein zutreffendes Bild der Inzidenz von HBV-Infektionen in Blutspendern könnte also nur durch den kombinierten Einsatz der Parameter HBsAg, HBV DNA, anti-HBc und anti-HBs prospektiv festgestellt werden.

Die von Caspari ermittelte Prävalenz des anti-HBc von 3 bis 5% bei Spendern des DRK deutet indirekt auf eine wesentlich höhere Inzidenz von HBV-Infektionen hin [17]. Aufgrund dieser Zahlen müssten unerkannte HBV-Infektionen bei rund 50 000 bis 100 000 der insgesamt 2 000 000 Spender in Deutschland stattgefunden haben. Nimmt man an, dass diese vorwiegend während des Erwachsenenalters im Verlauf von zehn bis 50 Jahren erfolgt sind, ergäbe sich für die letzten Jahrzehnte eine Inzidenz zwischen 1:200 bis 1:2000 im Jahr.

1997 betrug dagegen die HBV-Inzidenz auf der Basis des HBsAg-Tests (mit all den genannten Unsicherheiten) bei den DRK-Spendediensten 1:43 478, die Prävalenz von HBsAg-Trägern 1:495. Die entsprechenden Zahlen für die Inzidenz liegen in den USA mit 1:26 316 etwas höher, die der HBsAg-Prävalenz dagegen mit 1:730 niedriger. In verschiedenen europäischen Ländern liegt nach Angaben der EPFA die HBsAg-detektierte Inzidenz zwischen 1:22 000 und 1:2 000 000. Das daraus zu errechnende Restrisiko hängt von den Spendeintervallen und der Art der Produkte ab.

## 2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Der Ausschluss von der Blutspende wird durch die Richtlinien der Ärztekammer und des PEI geregelt. Nach der zz. gültigen Richtlinie sind Personen von der Blutspende für fünf Jahre zurückzustellen, bei denen eine HBV-Infektion nachgewiesen wurde bzw. die eine Hepatitis B durchgemacht haben. Solche Personen sind danach nur dann zur Blutspende geeignet, wenn alle virologischen Kriterien sicher eine erloschene Kontagiosität anzeigen. Als wesentliches Kriterium kann das gemeinsame Vorliegen folgen-

der Befunde gelten: HBsAg negativ, SGPT (ALT) normal, HBV-DNA mit einem empfindlichen NAT negativ und >100 IU/L anti-HBs).

## 2.3 Spendertesting und Aussagekraft

Die Spendertesting ist durch die unter 2.2. genannten Richtlinien geregelt.

Jede Spende ist demnach mit einem zugelassenen Test auf HBsAg zu prüfen und muss negativ sein.

Außerdem ist die Konzentration der Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (SGPT) zu messen; der Grenzwert von 45 U/l bei Frauen und 68 U/l bei Männern nach der optimierten Standardmethode von 1972 bei 25°C darf nicht überschritten werden.

Die Testung auf HBsAg ist eine empfindliche Methode zur Erkennung infektiöser Spender.

Eine zusätzliche Auslese von anti-HBc-positiven Spendern wird seit langem in einigen Ländern als Surrogat-Test für HCV und HIV durchgeführt, nicht aber in Deutschland. Mit diesem Test könnten theoretisch auch solche HBV-tragenden Individuen identifiziert werden, die nicht (mehr) HBsAg-positiv sind. In der Tat sind rund 30% der nur anti-HBc-positiven Personen HBV-DNA positiv, wenn höchst empfindliche Nachweistekniken angewendet werden, jedoch haben viele dieser Personen Merkmale, die sie von der Blutspende ausschließen würden (Leberkrankheit, HCV-, HIV-Infektion) [18]. Zudem ist die Infektiosität solchen Bluts nur in Ausnahmefällen beobachtet worden [19].

In Deutschland wird die Einführung der anti-HBc-Testung erneut diskutiert. Angesichts der existierenden Forderung, Personen frühestens fünf Jahre nach Überstehen einer akuten Hepatitis B wieder als Spender zuzulassen, stellt sich die Frage, ob nicht auch nach dem Vorliegen von überstandenen unbemerkten HBV-Infektionen mittels des anti-HBc-Tests gesucht werden müsste. Jedoch ist bei ausheilender asymptomatischer HBV-Infektion das Ausmaß und die Dauer der HBs-Antigenämie und Virämie viel geringer und somit vermutlich auch der Befall der Leber mit latenten HBV-Genomen. Diese sind wiederum für Fortbestehen der potenziellen Infektiosität notwendig. Oft führen solche Infektionen nicht zur Bildung von anti-HBc (s. o.).

Eine theoretische Sicherheitslücke besteht auch beim fresh frozen plasma, das sechs Monate in Quarantäne gelagert wird. Eine Nachtestung auf anti-HBc würde zwischenzeitliche HBV-Infektionen vermutlich erkennen, der HBsAg-Test dagegen kaum. Das Ausmaß des Sicherheitsgewinns durch die anti-HBc-Testung ist jedoch nicht bekannt und möglicherweise sehr gering. Auch die immer noch relativ hohe Unspezifität der Tests spricht gegen eine Einführung.

Die Einführung des Nachweises von HBV-DNA mit einer geeigneten Technologie wie z. B. der PCR in Kleinpools oder gar für Einzelspenden wird immer wieder diskutiert. Hiermit könnten HBV-Varianten mit stark veränderten HBsAg-Sequenzen bei chronisch infizierten Spendern erkannt werden [20, 21]. Solche Methoden könnten nach Untersuchungen von Schreiber [12] und Nübling die frühe diagnostische Lücke vor Erscheinen des HBsAg von vermuteten 57 Tagen auf 32 Tage verringern. Es zeigte sich aber, dass die Zahl der HBV-Genome pro mL Serum zu diesem Zeitpunkt sehr niedrig ist und eine Sensitivität von 100 Genomen pro mL nötig wäre, um die diagnostische Lücke wesentlich zu verkürzen. Auch die späte Phase nach Verschwinden des HBsAg und HBsAg-negative HBV-Träger könnten nur durch einen sehr empfindlichen HBV-DNA-Nachweis erkannt werden [12].

Bisherige Erfahrungen an rund 3 Millionen Spenden zeigen, dass in Deutschland HBV-DNA-positive aber HBsAg-negative Spender sehr selten sind [22]. Der DRK-Blutspendedienst Nordrhein-Westfalen fand unter 2 Millionen HBsAg-negativen Spenden 16 mit HBV-DNA (Nachweisgrenze ca. 1500 HBV-Genome/ml). Bei fünf davon blieb der Befund unklar. Bei neun dieser Spender bildete sich später anti-HBs, aber nur bei dreien anti-HBc. Bei zwei Spendern waren anti-HBc und anti-HBs von Anfang an positiv (Lefèvre, pers. Mitt.).

Möglicherweise würde eine noch empfindlichere Testung die Zahl positiver Blutspenden erhöhen. Ein quantitatives Referenzpräparat der WHO für HBV-DNA mit einer bekannten Zahl von HBV-Genomen/mL steht seit November 1999 zur Verfügung. Im Gegensatz zu früheren Ringversuchen [3, 23]

wurde im WHO-Ringversuch mit diesem Material eine hervorragende qualitative und quantitative Übereinstimmung mit verschiedenen Messmethoden gefunden (Saldanha, pers. Mitt.).

## 2.4 Spenderbefragung

Aus den in Absatz 3 der unter 2.2 genannten Richtlinien genannten Ausschlusskriterien von der Blutspende (siehe 2.2) ergibt sich die Notwendigkeit einer ausführlichen Spenderbefragung.

## 2.5 Spenderinformation

Entsprechend den Empfehlungen des Arbeitskreises Blut [24, 25] wird von Spendern, bei denen HBsAg in verschiedenen Testsystemen reaktiv gefunden wurde, eine zweite Blutprobe des Spenders angefordert und untersucht. Wird der Befund bestätigt bzw. werden andere Hinweise auf das Vorliegen der Infektion mit HBV (HBeAg, Anti-HBc, HBV-DNA) festgestellt, werden der Spender und der von ihm angegebene Hausarzt über den Befund unterrichtet. Eventuell weitergehende Diagnostik und Behandlung obliegt dem Hausarzt. Der Spender wird vom Blutspendedienst darüber schriftlich aufgeklärt, dass er als Blutspender ungeeignet ist. Eine solche Person ist für eine erneute Blutspende nur dann geeignet, wenn eine ausheilende Infektion festgestellt wurde, virologische Kriterien sicher eine erloschene Kontagiosität anzeigen und fünf Jahre seit dem Nachweis der HBV-Infektion bzw. einer durchgemachten Hepatitis B vergangen sind. (s. o.).

## 3 Empfänger

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

1995 bis 1997 sind an das PEI 347 HBV-Infektionen im Zusammenhang mit der Gabe von Blutkomponenten gemeldet worden, für die der Verdacht bestand, dass die Infektion durch das Präparat verursacht war. Nur in 14 dieser Fälle (4%) wurde durch die Nachtestung ein potenziell infektiöser Spender identifiziert. Ähnliche Zahlen wurden im Rahmen eines Stufenplanverfahrens für die Jahre 1990 bis 1995 angegeben, wo bei 434 Empfängern von Blutkomponenten

eine HBV-Infektion festgestellt wurde, aber nur in 19 Fällen ein infizierter Spender erfasst wurde.

Soldan et al. [26] fanden von 1991 bis 1997 in England und Wales nur bei 24 von 4185 gemeldeten transfusionsassoziierten Hepatitis-B-Fällen tatsächlich Hinweise auf eine Übertragung durch die Spende, d. h. bei 1,4 pro 1 Million Spenden. Bei den 14 identifizierten Spendern waren drei frisch und elf chronisch infiziert. In den meisten Fällen muss eine vorbestehende HBV-Infektion des Empfängers oder eine andere Infektionsquelle angenommen werden. Ob tatsächlich nur eine so geringe Rate von HBV-Übertragungen vorlag oder die Diagnostik nicht vollständig war, lässt sich retrospektiv nicht klären.

Das Restrisiko kann ersatzweise auch aus der Inzidenz von Serokonversionen und der Dauer der diagnostischen Lücken bestimmt werden, jedoch sind auch diese Angaben unsicher (siehe 2.1).

Die Übertragung von HBV durch Blutprodukte ist ein sehr seltenes Ereignis. 1994 war es in Deutschland durch zwei Chargen eines Gerinnungspäparats in insgesamt 35 Fällen zu einer HBV-Übertragung gekommen. Die Identität des Virus in Präparat und Patienten wurde durch Sequenzierung gesichert. Als Ursache für die Kontamination des Produkts wurde ein Fehler bei der Hitze-Inaktivierung festgestellt. Das Ausgangsmaterial dieser Chargen war nur schwach belastet, so dass die HBV-DNA nur nach Anreicherung zuverlässig in der PCR nachweisbar war. Es handelte sich um ein typisches Wildtypvirus, das durch den HBsAg-Test hätte erkannt werden müssen, falls die Nachweisgrenze überschritten worden wäre (Thomsen, pers. Mitt.).

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

In der Regel schützt anti-HBs – nach überstandener Infektion oder Impfung – vor Erkrankung oder persistenter Infektion. Bei nicht immunen Personen verläuft die Infektion wie unter 1.2 beschrieben [4, 5]. Escape-(Flucht-)Varianten des HBV mit stark veränderter HBs-Antigenität sind bei bereits infizierten Personen unter Selektion mit anti-HBs vielfach beschrieben worden, scheinen sich aber bislang nicht horizontal auszubreiten [27].

Die Impfung von regelmäßigen Empfängern von Blut- und Blutprodukten ist von der Ständigen Impfkommission am Robert Koch-Institut (STIKO) empfohlen worden [28]. Der Impferfolg ist bei hohem HBV-Infektionsrisiko zu kontrollieren. Alle zehn Jahre soll eine Auffrischimpfung erfolgen bzw. dann, wenn der anti-HBs-Titer unter 50 IU/L gefallen ist.

## 3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Der Krankheitsverlauf ist abhängig von der Infektionsdosis, vom Infektionsweg und von einer eventuell vorliegenden Grunderkrankung oder Immunsuppression.

Das Risiko der Chronizität hängt vom Alter ab. Koinfektionen mit HCV und HBV führen oft langfristig zu Zirrhose, Leberversagen oder Leberkrebs. Infektionen bei der Geburt führen fast immer zur Chronizität, im Kindesalter nimmt die Persistenzrate stetig ab und erreicht im jungen Erwachsenenalter Werte von ca. 5 bis 10%. Hohe Infektionsdosen und intravenöse Verabreichung begünstigen die Persistenz des Virus.

Die Entwicklung schwerwiegender Spätfolgen, meist in höherem Lebensalter, hängt von der Mitwirkung anderer Faktoren ab. In Deutschland ist das Risiko für HBV-Träger, durch Leberversagen oder Leberkrebs vorzeitig zu sterben, auf etwa 10% zu schätzen. Ein Hauptproblem ist die Infektiosität der Virusträger für andere, speziell in medizinischen Berufen.

Fulminante Verläufe sind insgesamt selten, treten aber gehäuft bei Koinfektionen mit Hepatitis-Delta-Viren oder Hepatitis-C-Viren auf. Auch frische Infektionen mit HBeAg-negativen HBV-Varianten sind gelegentlich mit einem häufigeren Auftreten von fulminanten Verläufen assoziiert.

## 3.4 Therapiemöglichkeiten und Prophylaxe

Interferon-Alpha ist derzeit das einzige zugelassene Präparat zur Behandlung der chronischen Hepatitis B. Es hat einen nachweisbaren Effekt auf die Virusreplikation, aber auch eine immunmodulatorische Wirkung. Ein Langzeiteffekt mit Elimination der HBV-DNA aus

der Leber kann allerdings nur für etwa ein Drittel der behandelten Patienten nachgewiesen werden.

Weitere Therapieansätze beinhalten die Therapie mit anderen Immunmodulatoren, PräS-Antigen-haltigen HBs-Impfstoffen und Zytokinen. Viel versprechend sind Ergebnisse mit Nukleosidanaloga. Hier ist als bereits erprobte Substanz Lamivudine zu nennen. Diese Substanz reduziert die Konzentration der im Blut zirkulierenden Hepatitis-B-Viren, ist gut oral verträglich und führt in einigen Fällen auch zum Verlust des HBeAg. Meistens kommt es aber zu einem Wiederanstieg der Virämie nach Absetzen der Therapie. Gegen eine Dauertherapie mit Lamivudine spricht, dass sich wie bei allen Nukleosidanaloga eine Resistenz entwickelt [29]. Bei Famciclovir treten noch häufiger Resistenzen auf.

Wichtigste und erfolgreichste präventive Maßnahme bleibt die aktive Impfung mit HBsAg. Gemäß Empfehlung der STIKO vom März 1998 soll bei allen Säuglingen innerhalb der ersten drei Lebensmonate mit der Impfung begonnen werden. Daneben sollen alle Jugendlichen zwischen elf und 18 Jahren geimpft werden. Zusätzlich empfiehlt die STIKO Personengruppen mit besonderem Risiko zu impfen, darunter auch „Patienten mit häufiger Übertragung von Blut und Blutbestandteilen (Hämophile), Patienten vor ausgedehnten chirurgischen Eingriffen (z. B. vor Operationen unter Verwendung der Herz-Lungen-Maschine)“ [28].

Die Einführung der HBV-Impfung in Taiwan hat bereits jetzt zu einer statistisch signifikanten Senkung der Häufigkeit des hepatozellulären Karzinoms bei Kindern geführt [30]. Ein Problem der Impfung bleiben die Nonresponder oder Lowresponder mit  $<10$  IU/L anti-HBs, deren Anteil bei fortgeschrittenem Alter, Obesitas, Rauchern oder immuninsuffizienten Patienten hoch ist.

Die passive Immunisierung mit hochtitrigem Hepatitis-B-spezifischem Immunglobulin (HBIG) hat vor allem eine Bedeutung für die postexpositionelle Prophylaxe und bei HBV-infizierten Empfängern einer transplantierten Leber. Die STIKO empfiehlt ausdrücklich die passiv-aktive Impfung von Neugeborenen HBsAg-positiver Mütter. Die passive Prophylaxe sollte immer – außer bei immundefizienten Personen – mit der aktiven Impfung kombiniert werden.

### 3.5 Übertragbarkeit

Die Übertragbarkeit im Zusammenleben ist praktisch immer nur durch engen Kontakt, Blutspuren und Hautverletzungen, insbesondere aber durch sexuelle Kontakte gegeben. Dies erfordert zumeist hohe Virustiter über  $10^6$ /ml, wie sie in der Regel nur bei HBeAg-positiven HBV-Trägern gegeben sind [31, 32, 33]. Bei größeren Eintrittspforten, z. B. bei Operationen, kann durch Chirurgen, die HBV-Träger ohne nachweisbares HBeAg sind, HBV übertragen werden [32]. Auch HBeAg-negative Mütter übertragen zu 5% HBV auf ihr Neugeborenes.

Bei Bluttransfusionen sollten bereits geringste Virustiter aufgrund der intravenösen Applikation und des sehr großen Volumens ausreichen, um eine Infektion zu setzen.

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

Vor Einführung eines hocheffizienten HBsAg-Screenings war praktisch jeder Patient, der häufig Blutprodukte benötigte, bald infiziert oder immun. Seit der Einführung empfindlicher HBsAg-Tests hat die Zahl der HBV-Infektionen stark abgenommen. Einen weiteren Beitrag hierzu leistet die Virusinaktivierung von Plasmaproteinpräparaten, die allerdings schwierig für HBV zu validieren ist und in seltenen Einzelfällen versagt hat.

## 4 Blutprodukt

### 4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Während der Inkubationszeit und bei persistierenden HBV-Infektionen können im Blut über  $10^8$  pro ml infektiöse Partikel vorhanden sein. Die Spender sind hierbei HBsAg positiv und werden durch die Spenderuntersuchung erfasst. In der HBsAg-negativen Frühphase sind Titer  $<10^6$ /ml zu erwarten [10].

HBsAg-Varianten mit negativer Reaktion im ELISA sind beschrieben worden [20, 21]. Sie sind sehr selten und für die Ausbreitung der HBV-Infektion ohne Bedeutung.

Als Maßnahme zur Vermeidung der HBV-Kontamination des Ausgangsmaterials für Plasmaderivate ist die Testung der Einzelspenden auf HBsAg und die

Wiederholung der Prüfung am Pool vorgeschrieben. Die Prüfung des Herstellers am Plasma-Pool wird für jedes einzelne Präparat im Rahmen der Chargenprüfung in einem unabhängigen Prüflabor wiederholt. Hierbei hat das National Institute of Biological Standardization and Control von 1986 bis 1994 in neun von 9300 Plasmapools HBsAg gefunden und die Präparate nicht freigegeben [34]. Die Diskrepanz zwischen negativem Vortest in der Einzelspende und positivem Test im hoch verdünnten Pool wurde durch stark verbesserte Tests bei der Nachprüfung erklärt. Seit 1994 wurden im PEI unter bisher (Mai 1999) insgesamt 16 851 getesteten Plasma-Pools keiner mit HBsAg gefunden.

HBsAg wurde bei Erstspendern des DRK Nordrhein-Westfalen in 0,2% gefunden, bei Wiederholungsspendern nur zu 0,02% in drei Jahren (s. o.). Insgesamt ist das Restrisiko für die Übertragung von HBV durch Blut und Blutkomponenten nicht genau bekannt, aber vermutlich sehr gering.

### 4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

HBV ist ein sehr stabiler Infektionserreger, der zu seiner Inaktivierung besondere Maßnahmen erfordert. Bei der Herstellung von Plasmaderivaten werden verschiedene Hitzebehandlungen (z. B. Pasteurisierung über zehn Stunden bei  $60^\circ\text{C}$ ), das Solvent/Detergent-Verfahren sowie die Inaktivierung mit  $\beta$ -Propiolakton angewendet. Das S/D-Verfahren führt zu einer Desintegration der Lipidhülle und auch zur Inaktivierung von HBV [35]. Nach einer Untersuchung von Wieding und Mitarbeiter kann das S/D-Verfahren eine HBV-haltige Lösung um mehr als  $10^5$ – $10^6$  Schimpansen-infektiöse Dosen (CID) reduzieren [36]. Aufgrund der klinischen Erfahrung geht man davon aus, dass auch die anderen Verfahren HBV zuverlässig inaktivieren können. Wegen der problematischen Validierung der HBV-Inaktivierung sollte die HBV-Last eines Plasma-Pools für die Herstellung von Plasmaproteinpräparaten einen Wert von 100 HBV-Partikeln pro ml nicht überschreiten, sofern entsprechende Untersuchungen auf HBV-DNA durchgeführt werden.

Eine Abtrennung von HBV durch Filtration ist möglich, erfordert jedoch

eine sehr genaue Prüfung, da die Effektivität sehr stark von der Art der Filter und den Filtrationsbedingungen abhängt. Die Filtration wird gegenwärtig als Ergänzung zu anderen Maßnahmen eingesetzt.

Bei zellulären Blutkomponenten ist eine Inaktivierung noch nicht möglich, es werden aber zz. verschiedene Methoden erforscht [37, 38, 39].

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

Verfahren zur Eliminierung oder Inaktivierung von Viren können bisher nicht auf ihre Effektivität hinsichtlich HBV untersucht werden. Noch immer steht kein geeignetes Vermehrungssystem zur Verfügung, das für solche Untersuchungen eingesetzt werden könnte. HBV infiziert *in vitro* nur sehr mangelhaft primäre humane Hepatozytenkulturen. Es gibt zz. auch keine Antwort auf die Frage, welche Modellviren für HBV geeignet wären. Der europäische Leitfaden zur Virusinaktivierung stellt entsprechend fest, dass es kein praktikables Testsystem für HBV-Validierungsstudien gibt [40].

Als Modellviren für HBV werden das Enten-(Duck-)Hepatitis-B-Virus (DHBV) und das Waldmurmeltier-(Woodchuck-)Hepatitis-B-Virus (WHV) diskutiert. Das WHV ist dem HBV recht ähnlich, aber das Waldmurmeltier ist als Tiermodell für die Validierung von Virusinaktivierungen im Allgemeinen zu aufwendig. Das DHBV der Ente kann in embryonierten Enteneiern oder in primären Entenhepatozyten vermehrt und titriert werden, was jedoch in jedem Fall die Haltung von DHBV-freien Enten erfordert [41]. DHBV ähnelt in seiner Genomorganisation und Replikationsstrategie dem HBV. In der Primärstruktur der Proteine und den Übertragungswegen sind die beiden Viren jedoch sehr unterschiedlich. So wird DHBV fast ausschließlich vertikal übertragen, und es hat keine stabilisierenden Disulfidbindungen in den Hüllproteinen. Eine Extrapolation der Daten von DHBV auf HBV bedarf daher eingehender Überprüfung.

Eine quantitative PCR-Testung auf HBV-DNA kann für die Validierung einer physikalischen Virusentfernung (z. B. durch Nanofiltration oder Präzipa-

tion) sowie von Inaktivierungsverfahren, die die DNA zerstören, hilfreich sein. Andererseits wird die Infektiosität von HBV durch Pasteurisierung oder SD-Behandlung zerstört, es lassen sich aber mittels PCR weiterhin HBV-Genome im so behandelten Produkt nachweisen. Die Aussagekraft einer solchen Testung in Bezug auf die Reduktion des Infektionsrisikos ist also für einige Verfahren nicht gegeben.

## 5 Bewertung

HBV ist in Deutschland aufgrund der großen Zahl von chronischen Trägern und des erheblichen Zuzugs von Personengruppen mit einer hohen HBV-Prävalenz weiterhin ein wesentliches Problem der Gesundheitspolitik, zumal die Übertragung durch sexuelle und sonstige enge Kontakte schwer zu verhindern ist. Die vor kurzem weltweit begonnene Impfung der Kinder kann vermutlich langfristig HBV eradizieren, jedoch wird dies noch Jahrzehnte dauern. Bis dahin gilt es, weiterhin zuverlässig HBV-Übertragungen durch Blutprodukte zu verhindern, da die Infektionsfolgen häufig sehr schwerwiegend sind und eine dauerhaft erfolgreiche Therapie nicht in Sicht ist.

Die gegenwärtig durchgeführte hochempfindliche HBsAg-Testung erfasst HBV-Träger unter den Spendern sehr zuverlässig. HBsAg-negative HBV-Varianten haben sich bislang nicht als wesentliches Problem erwiesen. Sachgemäß hergestellte Plasmaderivate sind bezüglich HBV als sicher zu betrachten. Bei nicht inaktivierten Blutprodukten aus Spenden deutscher Herkunft liegt das Restrisiko einer HBV-Übertragung nach aktueller Einschätzung unter 1:100.000. Die bei einigen Blutspendediensten freiwillig durchgeführte Testung auf HBV-DNA mittels Nukleinsäure-Amplifikation hat nur zu wenigen zusätzlich identifizierten HBV-positiven Vollblutspendern geführt. Sie erscheint daher für die Einzelspende von zellulären Produkten nicht vordringlich zu sein. Sie könnte hingegen für die Testung von Plasma-Pools von Nutzen sein. Die Testung von Spendern auf anti-HBc kann ebenfalls einige wenige zusätzliche HBV-Träger erkennen, jedoch gibt es hierzu keine Zahlenangaben. Indirekte epidemiologische Hinweise lassen vermuten, dass die meisten inapparenten

HBV-Infektionen nicht mit einer für die Blutspende wesentlichen Virämie verbunden sind. In Anbetracht dieses Kenntnisstandes erscheint auch die Einführung der anti-HBc-Testung nicht erforderlich. Eine gesundheitspolitisch sinnvolle Maßnahme wäre es, allen Blut- und Plasmaspendern die Hepatitis-B-Impfung zu ermöglichen. Dies würde Neuinfektionen der Spender mit HBV weitgehend verhindern, teure zusätzliche Screening-Maßnahmen überflüssig machen und den Spendern selbst nützen.

## Literatur

1. Ganem D (1996) **Hepadnaviridae: the viruses and their replication**. In: Fields BN et al. (eds) *Virology* 3rd edn. Lippincott Raven, Philadelphia, pp 2703–2737
2. Kann M, Gerlich WH (1998) **Hepatitis B**. In: *Microbiology and Microbial Infections*, 9th edn, Vol. 1. Topley & Wilson, Arnold, London, pp 745–773
3. Heermann KH, Gerlich WH, Chudy M, Schaefer S, Thomssen R, Eurohep Pathobiology Group (1999) **Quantitative determination of hepatitis B virus DNA in two international reference plasmas**. *J Clin Microbiol* 37:68–73
4. Hollinger FB (1996) **Hepatitis B virus**. In: Fields BN et al. (eds) *Virology*, 3rd edn. Lippincott Raven, Philadelphia, pp 2738–2808
5. Dusheiko G (1999) **Hepatitis B**. In: Bircher J et al. (eds) *Oxford Textbook of Clinical Hepatology*, 2nd edn, Vol. 1. Oxford Medical Publications, Oxford, pp 876–896
6. Meheus A (1995) **Risk of hepatitis A in adolescence and young adulthood**. *Vaccine* 13 [Suppl. 1]:31–34
7. Crovari P (1995) **Epidemiology of viral hepatitis B in Italy**. *Vaccine* 13 [Suppl. 1]:26–30
8. Gerlich WH, Thomssen R (1999) **Structure, replication and laboratory diagnosis of hepatitis virus**. In: Bircher et al. (eds) *Oxford Textbook of Clinical Hepatology*, 2nd edn, Vol. 1. Oxford Medical Publications, Oxford, pp 828–870
9. Gerlich WH, Thomssen R (1975) **Standardized detection of hepatitis B surface antigen: determination of its serum concentration in weight units per volume**. *Develop Biol Standard* 30:78–87
10. Jagodzinski L et al. (1994) **Detection of hepatitis B viral sequences in early HBV infection**. *Transfusion* 34:37
11. Rehermann B, Ferrari C, Pasquinelli C, Chisari FV (1996) **The hepatitis B virus persists for decades after patient's recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response**. *Nat Med* 2 (10):1104–1108

12. Schreiber GB et al. (1996) **The risk of transfusion-transmitted viral infections.** *N Engl J Med* 334:1685
13. Stramer SL, Aberle-Grasse J, Dodd RY (1998) **HIV, HBV and HCV incidence and prevalence rates in US whole blood donors.** *Transfusion* 38 [Suppl]:81
14. Glück D, Kubanek B, Maurer C, Petersen N (1998) **Seroconversion of HIV, HCV and HBV in blood donors in 1998 – Risk of transmission by blood products in Germany.** *Infusionsther Transfusionsmed* 25:82–84
15. Courouce AM, Pillonel J (1996) **Estimation du risque de transmission des virus des Hépatites B et C et des rétrovirus humains par transfusion de dérivés sanguins labiles.** *Transfus Clin Biol* 1:13–18
16. Whyte GS, Savoia HF (1997) **The risk of transmitting HCV, HBV or HIV by blood transfusion in Victoria.** *Med J Aust* 166:584–586
17. Caspari G et al. (1989) **Unsatisfactory specificity and sensitivity of six enzyme immunoassays.** *J Clin Microbiol* 27:2067–2072
18. Jilg W (1995) **Individuals with antibodies against hepatitis B core antigen as the only serological marker for hepatitis B infection: high percentage of carriers of hepatitis B and C virus.** *J Hepatol* 23:14–20
19. Saraswat S et al. (1996) **Post-transfusion hepatitis type B following multiple transfusions of HBsAg-negative blood.** *J Hepatol* 25 (5):639–643
20. Jongerius JM et al. (1998) **New hepatitis B virus mutant form in a blood donor that is undetectable in several hepatitis B surface antigen screening assays.** *Transfusion* 38 (1):56–59
21. Grethe S, Monazahian M, Thomssen R (1998) **Characterization of unusual escape variants of hepatitis B virus isolated from a hepatitis B surface antigen-negative subject.** *J Virol* 72 (9):7692–7696
22. Caspari G, Gerlich WH (1998) **Highly sensitive detection of virus genomes in transfusion medicine.** *Infusionsther Transfusionsmed* 25:74–81
23. Quint WGV, Heijtkink RA, Schirm J, Gerlich WH, Niesters HGM (1995) **Reliability of methods for hepatitis B virus DNA detection.** *J Clin Microbiol* 33:225–228
24. **Empfehlungen der Ad-hoc-Kommission des Arbeitskreises Blut zum Rückverfolgungsverfahren (look back) für Einzelspender- und Kleinpool-Blutpräparate** (1994) *Bundesgesundheitsbl* 1994:512–514
25. **Empfehlungen zum Vorgehen bei reaktiven Screeningtesten auf HIV- oder HCV-Antikörper bzw. HBV-surface Antigen bei Blut- und Plasmaspenden** (1995) *Bundesgesundheitsbl* 1995:369–372
26. Soldan K, Ramsay M, Collins M (1999) **Acute hepatitis B infection associated with blood transfusion in England and Wales, 1991–7: review of database.** *Med J* 318:7176–7195
27. Wilson JN, Nokes DJ, Carman WF (1998) **Current status of HBV vaccine escape variants – a mathematical model of their epidemiology.** *J Viral Hepat* 5 (2):25–30
28. **Mitteilungen der Ständigen Impfkommission am Robert Koch-Institut (1998) Empfehlungen. Stand: März 1998.** *Epid Bull* 15/98:101–112
29. Lai CL et al. (1998) **A one-year trial of lamivudine for chronic hepatitis B.** *Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. N Engl J Med* 339 (2):61–68
30. Chang MH et al. (1997) **Universal hepatitis B vaccination in Taiwan and the incidence of hepatocellular carcinoma in children.** *Taiwan Childhood Hepatoma Study Group. N Engl J Med* 336 (26):1855–1859
31. Repp R et al. (1994) **Risk of hepatitis B virus transmission in school.** *The Lancet* 344:960–961
32. Heptonstall J (1997) **Transmission of hepatitis B to patients from four infected surgeons without hepatitis B e antigen.** *N Engl J Med* 336:178
33. Caspari G, Gerlich WH (1998) **Mandatory hepatitis B virus testing for doctors.** *Lancet* 352:991
34. Ferguson M et al. (1996) **Testing plasma pools for markers of viral contamination: the UK experience.** *Vox Sang* 71 (2):21–26
35. Horowitz B et al. (1998) **Virus inactivation by solvent/detergent treatment and the manufacture of SC-plasma.** *Vox Sang* 74 [Suppl. 1]:203–206
36. Wieding JU, Hellstern P, Köhler M (1993) **Inactivation of viruses in fresh-frozen plasma.** *Ann Hematol* 67 (6):259–266
37. Sloand EM (1997) **Viral risks associated with blood transfusion.** *Photochem Photobiol* 65:1685
38. Chin S et al. (1997) **Virucidal treatment of blood protein products with UVC radiation.** *Photochem Photobiol* 65 (3):432–435
39. Eble BE, Corash L (1996) **Photochemical inactivation of duck hepatitis B virus in human platelet concentrates: a model of surrogate human hepatitis B virus infectivity.** *Transfusion* 36 (5):406–418
40. CPMP (1995) *BWP/269 95, S 15*
41. Deva AK et al. (1996) **Establishment of an in-use testing method for evaluating disinfection of surgical instruments using the duck hepatitis B model.** *J Hosp Infect* 33 (2):119–130