

Hepatitis-A-Virus (HAV)

Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit

Der 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 werden 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), HTLV-I/-II, (Bundesgesundhbl., 41, 512, 1998), *Yersinia enterocolitica*, (Bundesgesundhbl., 42, 613, 1999), TT-Virus (Bundesgesundhbl., 43, 154–156, 2000), Hepatitis-B-Virus (HBV), (Bundesgesundhbl., 43, 240–248, 2000) und Humanes Cytomegalovirus (HCMV), (Bundesgesundhbl., 43, 653–659, 2000).

1 Wissensstand über den Erreger

1.1 Erreger-eigenschaften

Das Krankheitsbild der Hepatitis A ist bereits seit langem bekannt, jedoch wurde der Erreger, das Hepatitis-A-Virus (HAV), erst 1973 mit Hilfe der Immun-elektronenmikroskopie identifiziert [1]. HAV ist in die Familie der Picornaviridae, Genus Hepatovirus, eingruppiert. Es ist ein kleines, sphärisches, nicht umhülltes Virus mit einem Durchmesser von ca. 30 nm. Das Kapsid des Viruspartikels besteht aus jeweils 60 Kopien der viralen Strukturproteine VP₁ – VP₃. Das Genom besteht aus einer einsträngigen

RNA mit positiver Orientierung und einer Länge von ca. 7500 Basen. Das 5'-Ende des Genoms ist kovalent an ein kleines Protein (VPg) gebunden. Das Genom dient als Messenger-RNA und wird in drei Bereiche unterteilt: ein langer offener Leserahmen (ORF) wird von der nicht-kodierenden 5'-Region und der nicht-kodierenden 3'-Region flankiert. Vom ORF wird ein Polyprotein abgelesen, das proteolytisch in die reifen viralen Proteine gespalten wird. Zwei Drittel des Genoms werden für Nicht-Strukturproteine benötigt, die enzymatische und regulatorische Funktion haben. Die Translation ist durch eine „*internal ribosome entry site*“ (IRES) kontrolliert, die innerhalb der nicht-kodierenden 5'-Region liegt [2]. Bisher wurde nur ein Serotyp nachgewiesen; die Analyse von HAV-Genomsequenzen ergab bisher sechs Genotypen [3], wobei weltweit Genotyp I vorherrscht. Genotyp IV bis VI wurden nur bei Altweltaffen gefunden.

Das HAV-Partikel hat eine Sedimentationskonstante von ca. 155 S und eine Schwimmdichte von 1,325 g cm⁻³ in CsCl. In Zellkulturen und in Serum kann eine Virusfraktion mit geringerer Schwimmdichte nachgewiesen werden. Diese Fraktion lässt sich nicht durch Antikörper neutralisieren, da das Virus offensichtlich in lipidhaltige Membranen eingeschlossen ist. Erst nach Chloroformbehandlung sind auch diese Viren mit Antikörpern neutralisierbar [4, 5].

HAV ist durch eine hohe physikalische und chemische Stabilität charakterisiert. Es ist über einen großen pH-Bereich stabil (pH 3 bis pH 11) und bleibt selbst bei pH 1 nach zweistündiger Inkubation bei Raumtemperatur noch infektiös [6]. HAV ist relativ resistent gegenüber thermischer Einwirkung. Eine Abnahme

der Infektiosität von $\geq 1 \log_{10}$ TCID₅₀ wird bei zehnmütiger Exposition erst oberhalb von 55°C erreicht. In Gegenwart von 1 M MgCl₂ wird die thermische Stabilität noch erhöht, so dass bei 70°C nur eine Inaktivierung von ca. 1 bis 2 log₁₀ TCID₅₀ nach 10 min Erhitzen erreicht wird.

Mit aldehydhaltigen Desinfektionsmitteln lässt sich HAV relativ gut inaktivieren, jedoch sind Oxydationsmittel nahezu unwirksam. HAV ist auch gegenüber Detergentien resistent und wird durch Behandlung mit 1% Natriumdodecylsulfat (SDS) bei 37°C über 30 min kaum inaktiviert [7].

1.2 Infektion und Infektionskrankheit

HAV wird ganz überwiegend fäkal-oral übertragen und gelangt über den Gastrointestinaltrakt durch bisher nicht geklärte Mechanismen in die Leber, wo es in den Hepatozyten repliziert und über die Galle mit dem Stuhl ausgeschieden wird. Die Inkubationszeit beträgt durchschnittlich drei bis vier Wochen (15 bis 50 Tage). In dieser Zeit sind hohe Virustiter im Stuhl nachweisbar, die noch vor Beginn der klinischen Symptomatik bis zu 10⁹ infektiöse Partikel pro g Stuhl betragen können und erst mit dem Auftreten der ikterischen Phase deutlich absinken [8]. In der Inkubationsphase gelangt HAV auch in das Blut. Nach Untersuchungen von Bower et al. [9] ist eine Virämie bei infizierten Erwachsenen ca. 30 Tage vor Auftreten klinischer Symptome zu beobachten, und es sind in dieser Zeit 10⁴ bis 10⁵ infektiöse Einheiten/ml Blut nachzuweisen. HAV-RNA ist im Durchschnitt 95 Tage (36 bis 391 Tage) bzw. durchschnittlich bis 79 Tage nach dem Auftreten von Krankheitssymptomen nachweisbar.

In experimentell infizierten, nicht humanen Primaten wurde in Abhängigkeit von der Infektionsdosis und der Art der Anwendung eine virämische Phase von 25 bis 91 Tagen beobachtet und HAV-RNA im Durchschnitt 14,4 Tage früher nachgewiesen als anti-HAV-IgM. Die Ergebnisse belegen, dass bei der HAV-Infektion des Erwachsenen mit einer längeren virämischen Phase (bis zu 95 Tagen) gerechnet werden muss als bisher angenommen.

Ein direkter zytopathogener Effekt von HAV in den Hepatozyten ist nicht bekannt. Die Pathogenese der hepatozellulären Schädigung ist unklar. Diskutiert werden vor allem zellvermittelte (CD8⁺ T-Lymphozyten, NK-Zellen), immunologische Mechanismen [10]. Aufgrund experimenteller Daten bei Schimpanzen liegt das Virus bereits unmittelbar nach dem Erscheinen der humoralen Immunantwort und parallel zum Auftreten der Krankheitssymptome in der Form von Antigen-Antikörperkomplexen vor [11]. Es gibt keine direkten Hinweise, dass zirkulierende Immunkomplexe an der hepatozellulären Schädigung beteiligt sind [10].

Bei Kindern verläuft die HAV-Infektion meist asymptomatisch oder symptomarm. Demgegenüber tritt bei 70 bis 80% der Erwachsenen eine klinisch symptomatische Hepatitis auf, und etwa 2% der über 50-Jährigen zeigen Symptome einer schweren Erkrankung bis zur fulminanten Hepatitis. Zu Beginn der Erkrankung können neben häufigen Symptomen wie Abgeschlagenheit, Müdigkeit, Appetitlosigkeit, Übelkeit, Erbrechen auch lumbosakrale Myalgien, Arthralgien, Kopfschmerzen, Pruritus, Diarrhöen und uncharakteristische abdominale Beschwerden auftreten. Ein bis zwei Wochen nach diesem Stadium des allgemeinen Unwohlseins folgen bei etwa 50% der Patienten eine Transaminasenerhöhung, Ikterus, Dunkelfärbung des Urins und Hellfärbung des Stuhls. Normalerweise bilden sich die klinischen Zeichen und Symptome innerhalb von zwei bis drei Wochen zurück. Gelegentlich werden protrahierte oder rezidivierende Verläufe beobachtet, diese sind jedoch klinisch meist mild und heilen immer aus. Selten kann die HAV-Infektion auch primär cholestatisch verlaufen mit über Monate anhaltendem Ikterus und Pruritus bei nur mäßig erhöhten Transaminasen.

Die HAV-Infektion wird nie chronisch. Auch bei immundefizienten Patienten wird HAV eliminiert. Die Infektion mit HAV führt weder zu einer Leberzirrhose noch zur Entwicklung eines hepatozellulären Karzinoms. Ein langfristig asymptomatischer Trägerstatus ist nicht bekannt.

Für HAV ist der Mensch ein natürlicher Wirt. Verschiedene Primaten, wie Schimpansen, Eulenaffen und Marmosets, können mit HAV infiziert werden.

1.3 Epidemiologie

Seroepidemiologische Untersuchungen zeigen, dass HAV weltweit verbreitet ist. Die Antikörperprävalenz steigt mit dem Alter an und erreicht in Ländern mit einem niedrigen Hygienestandard nahezu 100%. In diesen Ländern erfolgt die HAV-Infektion in der Regel in den ersten fünf Lebensjahren.

Die Centers for Disease Control and Prevention (CDC) berichteten 1999 für die USA 16 919 HAV-Infektionen und nahmen an, dass es jährlich ca. 1,4 Mio HAV-Infektionen weltweit gibt [12].

In Deutschland sind nahezu ein Drittel der gemeldeten viralen Hepatitiden auf HAV zurückzuführen. 1998 wurden 3856 Erkrankungen gemeldet, was einer Inzidenz von 4,7 Erkrankungen pro 100 000 Einwohnern entspricht [13]. In Deutschland – wie auch in anderen Ländern mit einem hohen Hygienestandard – beobachtet man eine ausgeprägte Altersabhängigkeit [14]. Während in den Altersklassen der 18- bis 20-Jährigen nur etwa 7% HAV-Antikörper aufweisen, steigt die Prävalenz bei den 20- bis 30-Jährigen auf 15% und erhöht sich bei den 30- bis 40-Jährigen auf ca. 20%. In älteren Jahrgängen (40- bis 50-Jährige) nimmt die Prävalenz deutlich auf ca. 40% zu und steigt bei den 50- bis 60-Jährigen auf ca. 65%, um dann bei den 60- bis 80-Jährigen über 80% zu erreichen. Die höheren Prävalenzen bei den Älteren sind möglicherweise auf die hygienischen Verhältnisse in Deutschland in der Kriegs- und Nachkriegszeit zurückzuführen, während die HAV-Infektionen bei den Jüngeren teilweise auf Reisen in Endemiegebiete zurückzuführen sind. Häufige Ursache sind dabei Übertragungen durch HAV-kontaminierte Lebensmittel (z. B. Muscheln oder mit HAV-kontaminiertem Wasser gewaschene Nahrungsmittel wie z. B. Salate, Obst)

oder durch Trinkwasser. Die hohe Stabilität gegenüber Umwelteinflüssen begünstigt die fäkal-orale Übertragung, da das Virus z. B. in Wasser lange infektiös sein kann und bei Düngung mit menschlichen Exkrementen eine Übertragung durch Feldfrüchte erfolgen kann.

1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

Die Anzucht des Virus z. B. aus Stuhl ist schwierig und eignet sich nicht als Routinemethode zum Nachweis einer HAV-Infektion. Die überwiegende Anzahl von Virusisolaten wurde erst nach mehreren Passagen erhalten. In nur wenigen Virus-Zellsystemen kann ein zytopathogener Effekt (CPE) beobachtet werden. Wenn eine Anzucht in Zellkulturen gelingt, so führt dies in der Regel zu einer persistierenden Infektion ohne CPE (z. B. primäre Nierenzellkulturen Grüner Meerkatzen; fötale Rhesus-Nierenzellen; humane Hepatomzellen). In Zellkulturen ohne CPE kann HAV durch Immunfluoreszenz, durch Hybridisierung oder durch Antigencaptureteste nachgewiesen werden. Lemon et al. [15] beschrieben einen Radioimmunofocusassay zum quantitativen Nachweis von HAV in Zellkultur.

Der Virusnachweis kann elektronenmikroskopisch (Stuhl), durch Antigenachweis (RIA, ELISA) oder durch RNA-Nachweis mittels Hybridisierung oder PCR erfolgen. Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT) haben in den letzten Jahren zunehmende Bedeutung erlangt, da HAV-RNA auch in der asymptomatischen Frühphase der Infektion nachweisbar ist [9]; ein Referenzpräparat zur Validierung der NAT steht zur Verfügung [16]. Eine akute oder kürzlich abgelaufene HAV-Infektion wird durch den spezifischen IgM-Nachweis erkannt.

IgM- und IgG-anti-HAV-Antikörper treten fast gleichzeitig auf und sind normalerweise bei Beginn der Symptome nachweisbar. IgM-Antikörper werden zwei bis vier Wochen nach der Infektion gebildet und bleiben etwa sechs Monate nachweisbar. IgG-Antikörper treten zeitgleich mit den IgM-Antikörpern oder mit einer Verzögerung von ein bis zwei Wochen auf und können lebenslang persistieren (s. Abb. 1).

Für die virologische Interpretation der serologischen Befunde gilt:

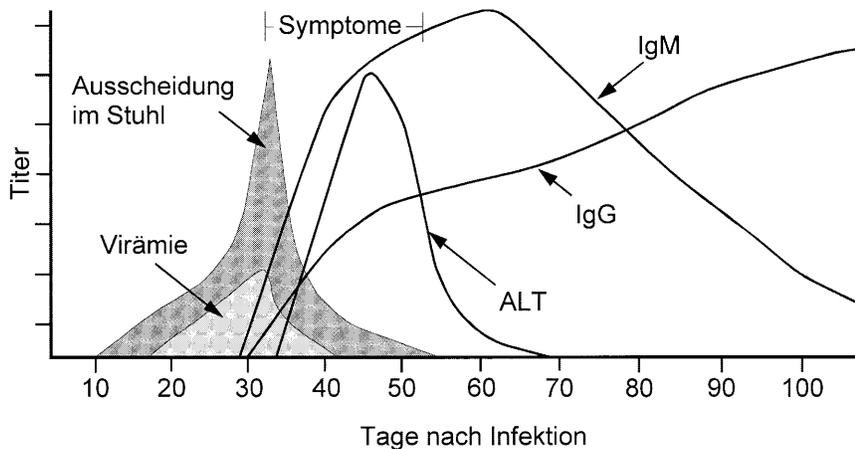


Abb. 1 ▲ Typischer Verlauf einer HAV-Infektion. Angegeben sind die Titerverläufe von Viren in Stuhl und Blut sowie der Transaminase (ALT) und der HAV-spezifischen Immunglobuline (IgM und IgG). Klinische Symptome treten mit Beginn der Immunantwort auf

- ▶ Anti-HAV-IgM-Positivität ist ein Zeichen einer akuten oder kürzlich abgelaufenen Infektion.
- ▶ HAV im Stuhl oder Serum, nachgewiesen als Virusantigen mittels EIA oder als virale RNA mittels NAT, weist auf eine akute Infektion hin.
- ▶ IgG-Antikörper im Serum bedeuten Immunität gegenüber der HAV-Infektion; sie sind nach durchgemachter Infektion, aktiver Impfung oder passiver Immunisierung durch Gabe eines Immunglobulins nachweisbar.

2 Blut- und Plasmaspender

2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Grundsätzlich entsprechen Prävalenz und Inzidenz der HAV-Infektion bei Blutspendern denen der Normalbevölkerung.

Die Prävalenz von Anti-HAV-Antikörpern als Ausdruck einer durchgemachten HAV-Infektion liegt in Deutschland, bedingt durch die Altersverteilung bei Blutspendern, bei 46,5%, wobei bei Männern weniger HAV-Antikörper (44,1%) als bei Frauen (48,7%) nachgewiesen werden [14]. Die Häufigkeit steigt von 7% bei den 18- bis 19-Jährigen bis auf 83% bei den 60- bis 69-Jährigen an. Vergleichbare Zahlen wurden bei Blutspendern aus Österreich beschrieben [17]. Innerhalb Europas wird eine Zunahme der Prävalenz von Nord nach Süd beschrieben.

Die HAV-Inzidenz beträgt nach Angaben des RKI [13] in Deutschland 4,7

Erkrankungen pro 100 000 Einwohner. Bei einer angenommenen Manifestationsrate von 50% bedeutet das, dass z. B. 1998 neun bis zehn HAV-Infektionen pro 100 000 Einwohner aufgetreten sind.

Abweichend von der Normalbevölkerung wurde bei Homosexuellen in San Francisco eine erhöhte Durchseuchung mit HAV schon in jungen Altersgruppen gefunden [18].

2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Die Ausschlusskriterien für Blutspender sind in den Richtlinien der Bundesärztekammer und des PEI geregelt [19]. Danach sollen Personen, die an einer infektiösen Hepatitis unklarer Ätiologie erkrankt sind oder waren, auf Dauer als Blutspender ausgeschlossen werden.

Bei akuter Hepatitis A ist der Spender von der Spende zurückzustellen. Auch bei Verdacht einer akuten Infektion des Spenders oder einer engen Kontaktperson ist der Spender von der Spende zurückzustellen, wenn nicht eine Immunität, nachweisbar durch die Anwesenheit von anti-HAV-IgG, vorliegt.

Eine durchgemachte Hepatitis A oder der Nachweis von Anti-HAV sind keine Ausschlusskriterien.

2.3 Spendertestung und Aussagekraft

In jeder Spende wird die Konzentration der Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (SGPT/ALT) mit der optimierten Standardmethode von 1972 bei +25°C gemessen und Spenden von Frauen mit Werten > 45 U/l und Spenden von Män-

nern mit >68 U/l von der Verwendung ausgeschlossen.

Bei Blutspendern finden sich bei 0,25 bis 0,3% der Spenden ALT-Konzentrationen oberhalb der Grenzwerte. Bei 472 Spendern mit erhöhten ALT-Werten wurden zweimal Anti-HAV-IgM-Antikörper gefunden. Das zeigt, dass für die Erhöhung der ALT nur selten eine akute HAV-Infektion die Ursache ist. Eine akute HAV-Infektion wurde mit einer Häufigkeit von 1 auf 90 000 Spenden (Schottstedt, DRK Hagen; pers. Mitteilung) nachgewiesen. Wie in 1.2 dargestellt, tritt nach Infektion HAV-RNA schon vor ALT-Erhöhung auf, so dass virämische Spenden durch die ALT-Testung häufig nicht erkannt werden.

2.4 Spenderbefragung

Vor jeder Spende wird entsprechend den Richtlinien der Bundesärztekammer und des PEI die spendewillige Person nach Hepatitis in der Anamnese gefragt. Eine Hepatitis A in der Vorgeschichte ist generell kein Spenderhindernis [19].

2.5 Spenderinformation und -beratung

Spender, bei denen eine den Grenzwert überschreitende Konzentration der SGPT/ALT nachweisbar ist, werden über den Befund unterrichtet, und es wird eine gründliche Nachuntersuchung durch den Hausarzt empfohlen.

Gibt es Hinweise auf eine frische HAV-Infektion, wird dieser spezielle Befund außer dem Spender nach Vorlegen einer Einverständniserklärung auch dem Hausarzt mitgeteilt. Eine weitergehende Diagnostik und Behandlung obliegt dem Hausarzt.

3 Empfänger

3.1 Prävalenz und Inzidenz von blutassoziierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Untersuchungen zur Prävalenz von anti-HAV-Antikörpern in Hämophilen in Frankreich [20] sowie in Holland und Spanien [21, 22] haben keine erhöhte Inzidenz der HAV-Infektion bei Hämophilie-A- oder -B-Patienten im Vergleich zu den nicht mit Gerinnungsfaktoren behandelten Personen der Kontrollgrup-

pen erkennen lassen. HAV-Übertragungen mit einzelnen Chargen hochgereinigter Gerinnungspräparate sind jedoch beschrieben worden (s. 3.5).

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

Eine durchgemachte Hepatitis A führt zu einer lebenslangen Immunität. In Ländern mit niedriger HAV-Prävalenz (z. B. Deutschland, Skandinavien, Schweiz, USA) haben die verbesserten hygienischen Verhältnisse zu einem deutlichen Rückgang der Immunität geführt. Von 1977 bis 1992 sank die Hepatitis-A-Durchseuchung in Deutschland bei den 20- bis 29-Jährigen von 32,4 auf 13,5% und bei den 50- bis 59-Jährigen von 91,6% auf 76,9% [23]. Hieraus resultiert für Erwachsene ein höheres Risiko, eine HAV-Infektion z. B. auf Reisen zu erwerben (s. 1.3).

3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Der Krankheitsverlauf ist im Wesentlichen abhängig vom Alter des Patienten und einer eventuell vorliegenden chronischen Lebererkrankung. Auswertungen einer HAV-Epidemie in den USA ergaben, dass Komplikationen und Todesfälle in der Gruppe der Patienten älter als 40 Jahre gehäuft auftraten [24]. Nach Daten der CDC, die zwischen 1983 und 1988 381 Todesfälle bei insgesamt 115 551 Patienten mit HAV-Infektion in den USA ermittelten, liegt die Rate von tödlichen Verläufen in der Gruppe der Fünf- bis 14-Jährigen bei 0,004%, in der Gruppe der über 49-Jährigen jedoch bei 2,7% [25].

Das Risiko schwerer oder sogar letaler Verläufe einer HAV-Infektion bei Patienten mit vorbestehender chronischer Lebererkrankung wird kontrovers diskutiert [26, 27]. Die Daten der CDC [25] zeigen, dass sowohl Patienten mit einer chronischen Hepatitis B (7%) als auch solche mit mutmaßlicher Hepatitis C (28%) bei Superinfektion mit HAV relativ oft an Leberversagen verstarben. Demgegenüber fanden Vento et al. [28] nur bei einem von zehn Patienten mit chronischer Hepatitis B einen schweren (nicht tödlichen) Verlauf der akuten Hepatitis A, dagegen bei sieben von 17 chronischen Hepatitis-C-Patienten einen fulminanten, meist tödlichen Verlauf [29].

3.4 Therapie und Prophylaxe

Gemäß den Empfehlungen der Ständigen Impfkommision (STIKO) am Robert Koch-Institut sollen Personen mit einem erhöhten Risiko der HAV-Exposition (Personal von medizinischen Einrichtungen, Laboratorien, Kindertagesstätten sowie Reisende in Regionen mit hoher HAV-Prävalenz u. a.) geimpft werden.

Bei einer aktuellen Exposition von Personen, für die Hepatitis A ein besonderes Risiko darstellt, kann zeitgleich mit der ersten Impfung ein Immunglobulin-Präparat gegeben werden [30].

3.5 Übertragbarkeit

Anfang der 90er Jahre kam es zur Übertragung von HAV durch Faktor-VIII-Präparate und wahrscheinlich auch durch ein Faktor-IX-Präparat, die alle ausschließlich mit dem S/D-Verfahren inaktiviert worden waren [31, 32, 33, 34, 35, 36, 37]. Es gelang, HAV im Plasma-Pool, dem daraus hergestellten Faktor-VIII-Präparat und in Patienten nachzuweisen [38]. Da sich das Virus in den Patienten nur in einer einzigen Base von dem des Präparates unterschied, wurde gefolgert, dass das kontaminierte Präparat die Ursache der Infektion war.

Weitere sechs HAV-Übertragungsfälle durch Faktor-VIII-Präparate traten 1997 [39] in Deutschland auf sowie vier Fälle in Norwegen im Jahr 1999. HAV wurde mit der PCR im Plasmapool, im Präparat und im Serum von vier der sechs Patienten nachgewiesen. Zum Nachweis des Übertragungsweges wurden Sequenzen aus zwei unterschiedlichen Bereichen des Genoms untersucht und vollständige Identität festgestellt. Die Untersuchungen beweisen eindeutig, dass die verabreichte Charge des Faktor-VIII-Präparates die Ursache für die Infektionen war. Durch quantitative Untersuchung der Kontamination in Ausgangsmaterial und Faktor-VIII-Präparat konnte außerdem gezeigt werden, dass schon eine geringe HAV-Belastung im Pool (6×10^2 Genome/ml) zu einer Kontamination des Präparates (2×10^2 Genome/ml) führte, die ausreichend war, um eine Infektion im Empfänger hervorzurufen [39]. Alle HAV-Übertragungen waren von Präparaten verursacht worden, die ausschließlich mit den S/D-Verfahren inaktiviert worden waren und keine Verfahrensschritte enthielten, die zur Inakti-

vierung oder Entfernung von HAV wirksam waren. Solche Präparate sind seitdem in Deutschland nicht mehr auf dem Markt. Die Übertragungsergebnisse machten deutlich, dass HAV mit Plasma-derivaten übertragbar ist.

Anfang der 80er Jahre gab es auch einige Berichte zur Übertragung von HAV nach Bluttransfusionen [40, 41, 42, 43, 44]. In den letzten Jahren wurden keine Verdachtsfälle der HAV-Übertragung durch Anwendung von Blutkomponenten an das PEI gemeldet.

3.6 Häufigkeit der Applikation sowie Art und Menge der Blutprodukte

Es gibt kein allgemeines Risiko der Übertragung von HAV durch Blut oder Plasmaderivate. Die Übertragungsergebnisse waren immer auf bestimmte Chargen beschränkt und durch Produkte hervorgerufen worden, bei deren Herstellung kein wirksames Verfahren zur Inaktivierung von HAV angewendet worden war.

Es ist heute davon auszugehen, dass das Risiko der HAV-Übertragung durch Gerinnungspräparate durch Verbesserung der Herstellungsverfahren (zusätzliche Inaktivierung durch Hitze) deutlich reduziert wurde. Albumin, das auch einer Hitzeinaktivierung unterzogen wird, ist als sicher anzusehen. Antikörper gegen HAV in den Produkten, z. B. bei Immunglobulin-Präparaten und S/D-Plasma, unterstützen deren Sicherheit.

4 Blutprodukte

4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Aufgrund der Beobachtung, dass HAV bereits zwei Wochen vor Krankheitsbeginn im Blut nachweisbar ist und kurz vor der klinischen Manifestation der Infektion die höchsten Virustiter [23] erreicht, ist die Spenderbefragung und die routinemäßige Messung der ALT-Spiegel nicht ausreichend, um virämische Spenden sicher zu erkennen und deren Verarbeitung zu verhindern. Bereits 1983 berichteten Hollinger et al. [44] von einer HAV-kontaminierten Plasmaspende ohne serologischen Befund.

Basierend auf Schimpansenversuchen wird der Virustiter in der virämischen Phase mit 10^5 infektiöse Viren/ml

angegeben [45]. Bower et al. [9] machen gleiche Angaben für Patienten. Lemon et al. [5] gehen sogar von einer Belastung von 10^7 infektiösen Viren pro ml aus. HAV-RNA ist durchschnittlich 95 Tage nachweisbar, ca. zehn Wochen nach Auftreten von Krankheitssymptomen. In Einzelfällen wird eine Virämie über mehrere Monate angenommen, wobei HAV dann mit Antikörpern komplexiert vorliegt [46].

HAV kann durch NAT im Plasma nachgewiesen werden. Auch der serologische Antigennachweis ist möglich, aber zu wenig sensitiv, um auch geringe Kontaminationen zu erfassen. Chudy et al. [39] haben nachgewiesen, dass schon eine sehr geringe Kontamination im Pool (6×10^2 Genome/ml) unter bestimmten Bedingungen zu einer Kontamination des Produktes führen kann (s. 3.1). Die Einführung einer ausreichend sensitiven NAT für die Testung von Plasmapools ist daher sinnvoll.

Aufgrund nahezu fehlender Berichte über HAV-Infektionen nach Applikation zellulärer Komponenten oder Transfusion von Plasma (Einzelpräparate) ist davon auszugehen, dass die unbemerkte HAV-Infektion des Spenders sehr selten auftritt. Die Testung der Spender auf HAV wird deshalb in der Blutspende nicht vorgeschrieben.

4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

HAV verfügt über eine hohe Säureresistenz und Temperaturstabilität. Das Virus lässt sich somit zwischen pH 3 und 11 kaum inaktivieren, so dass die Inkubation bei niedrigem pH, wie sie bei der Herstellung von Gerinnungsfaktoren oder Immunglobulinen angewendet werden kann, keine Wirksamkeit hinsichtlich Inaktivierung von HAV hat.

HAV kann durch Hitzebehandlung inaktiviert werden, wobei die Wirksamkeit dieser Methode von den gewählten Bedingungen abhängt und keine Schlussfolgerungen von einem auf ein anderes Verfahren möglich sind. Wird die Hitzebehandlung in wässriger Lösung angewendet (Pasteurisierung: zehn Stunden, 60°C), ist der Zusatz von Stabilisatoren (z. B. Zucker) notwendig, um das Produkt, z. B. Gerinnungsfaktoren, zu schützen. Auch HAV wird durch diese Zusätze stabilisiert, so dass durch Pas-

teurisierung teilweise nur eine Reduktion der Infektiosität von HAV in der Größenordnung von 3 bis $5 \log_{10}$ erreicht wird [47, 48, 49, 50, 51, 52]. Wirksam zur HAV-Inaktivierung ist auch die Hitzebehandlung eines auf ca. 7% Restfeuchte eingestellten Lyophilisats (zehn Stunden bei 60°C , bzw. Kombination von zehn Stunden 60°C und zwei Stunden 80°C [53] sowie die Trockenhitzebehandlung (Restfeuchte $\geq 1\%$) über 30 min bei 100°C [54] oder 72 Stunden bei 80°C [55].

Da HAV nicht über eine lipidhaltige Virushülle verfügt, ist das Solvent/Detergens-Verfahren [56], das zur Inaktivierung umhüllter Viren wie HIV, HBV und HCV sehr effektiv ist, vollkommen unwirksam.

Für die Abtrennung von Viren wurden spezielle Filter entwickelt (Millipore, USA; Pall, USA; Asahi Chemicals, Japan). Da die Größe von HAV (ca. 30 nm) schon im Größenbereich von Gerinnungsfaktoren (z. B. Faktor VIII) oder Immunglobulinen liegt, ist diese Technik nur unter bestimmten Bedingungen zur Abtrennung von HAV wirksam, z. B. wenn aufgrund der Produkteigenschaften Filter mit einer ausreichend geringen Porengröße verwendet werden können (z. B. Faktor IX) oder wenn, wie im Falle der Immunglobuline, das möglicherweise vorhandene Virus komplexiert mit Antikörpern vorliegt und deshalb auch mit Filtern höherer Porengröße abgetrennt werden kann.

Die Entfernung von HAV ist auch durch chromatographische Prozessschritte denkbar. So wurde von Roberts et al. [57] die effektive Abtrennung von HAV durch eine Metallchelatsäule beschrieben. Die Validierung von verschiedenen chromatographischen Reinigungsschritten durch Adcock et al. [47] verdeutlicht aber, dass die Chromatographie nicht generell geeignet ist, Viren abzutrennen. Sie stellt vielmehr ein Verfahren dar, das für bestimmte Viren und in Abhängigkeit von der Prozessführung zur Reduktion der Virusbelastung, gegebenenfalls auch HAV, beitragen kann.

In der Literatur wird die Inaktivierung von HAV durch UV-Behandlung beschrieben [58, 59]. Für die Herstellung von Plasmapräparaten findet das Verfahren gegenwärtig jedoch keine Anwendung.

Es wird immer wieder diskutiert, ob im Plasmapool vorhandene neutralisierende Antikörper gegen HAV für die Si-

cherheit der Präparate von Bedeutung sind. Aus Untersuchungen im Zusammenhang mit der Übertragung von HAV durch ausschließlich mit dem S/D-Verfahren inaktivierte Faktor-VIII-Konzentrate muss aber geschlossen werden, dass Antikörper gegen HAV nur dann für die Produktsicherheit von Bedeutung sind, wenn sie im Produkt selbst vorhanden sind. Das trifft für Immunglobuline und S/D-Plasma zu, nicht aber für Gerinnungsfaktoren, die in der Regel hoch gereinigt und frei von Antikörpern sind. Inwieweit die Verteilung und Entfernung von HAV bei der Herstellung von Gerinnungsfaktoren oder anderen Produkten durch Reaktion mit den im Plasma vorhandenen Antikörpern beeinflusst wird, ist durch die bisher vorliegenden Untersuchungen der Herstellungsverfahren nicht geklärt.

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

Zur Validierung der verschiedenen Verfahren auf ihre Wirksamkeit zur Entfernung/Inaktivierung von HAV stehen heute an Zellkultur adaptierte HAV-Stämme zur Verfügung, die zytopathogen sind und somit gut für die Überprüfung der Verfahren eingesetzt werden können.

Die Anwendung von HAV ist eingeschränkt, wenn neutralisierende Antikörper im Ausgangsmaterial des zu untersuchenden Prozessschrittes vorhanden sind, die die Ergebnisse beeinträchtigen können. So ist z. B. eine Untersuchung der Verfahren zur Herstellung von Immunglobulinen nicht mit HAV möglich, und es wird deshalb in der relevanten Leitlinie des CPMP [60] vorgeschlagen, andere stabile nicht umhüllte Viren, z. B. SV-40, für die Untersuchungen einzusetzen.

Die Verfahrensvalidierung mit HAV ist für Gerinnungspräparate vorgeschrieben und HAV sollte, wenn auch nicht in den Leitlinien direkt gefordert, auch für die Untersuchung der Herstellungsverfahren für Albumine eingesetzt werden.

HAV ist aufgrund seiner Eigenschaften innerhalb der Virusfamilie Picornaviridae als einziger Vertreter in den Genus Hepatovirus eingruppiert worden. Andere Picornaviren wie z. B. Poliovirus (Genus Enterovirus), equines

Rhinovirus Typ 1 (ERV-1, Genus Rhinovirus) oder das Enzephalomyokarditis Virus (EMCV, Genus Cardiovirus) unterscheiden sich zum Teil erheblich in ihren physikochemischen Eigenschaften (Thermostabilität, pH-Stabilität) von HAV, wie von verschiedenen Gruppen mit experimentellen Daten belegt wurde [48, 49, 50, 52]. Ihr Einsatz sollte daher auf Fälle beschränkt bleiben, bei denen HAV nicht angewendet werden kann und aufgrund des zu erwartenden Mechanismus der Entfernung/Inaktivierung eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit HAV angenommen werden kann oder belegt ist.

5 Bewertung

Aufgrund nahezu völlig fehlender Berichte über HAV-Infektionen nach Applikation zellulärer Komponenten oder Transfusion von Plasma (Einzelpreparate) ist davon auszugehen, dass die unbemerkte HAV-Infektion eines Spenders sehr selten auftritt. Die generelle Testung der Spender auf HAV wird deshalb in der Blutspende nicht vorgeschrieben.

In den 90er Jahren sind einzelne Übertragungen von HAV durch Faktor-VIII-Präparate festgestellt worden. Sie waren durch Präparate verursacht, die nach einem Verfahren hergestellt worden waren, das keinen für HAV wirksamen Inaktivierungsschritt enthielt. Die Situation ist durch die Aufnahme der Hitzeinaktivierung in die Herstellungsverfahren für Gerinnungspräparate, insbesondere Faktor-VIII-Konzentrate, deutlich verbessert worden. Antikörper gegen HAV in den Produkten, z. B. bei Immunglobulin-Präparaten und S/D-Plasma, unterstützen deren Sicherheit. Insgesamt kann heute das Risiko der HAV-Übertragung durch Plasmaderivate als sehr gering angesehen werden.

Für die Inzidenz der HAV-Infektion in Deutschland ist die Reise in endemische Gebiete innerhalb und außerhalb Europas von großer Bedeutung. Somit kommt der Impfung als Reiseprophylaxe eine besondere Bedeutung zu. Die Impfung ist auch zu empfehlen für Personen, die durch ihre Arbeit in klinischen Einrichtungen, Laboratorien, Kindereinrichtungen etc. einem erhöhten Risiko ausgesetzt sind, sowie für Patienten mit chronischen Erkrankungen, wie z. B. Hämophile.

Dieses Papier wurde fertiggestellt am 22.3.2001 und vom Arbeitskreis Blut am 10.5.2001 verabschiedet. Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergruppe „Bewertung Blut-assoziiertes Krankheitserreger“ 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, 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.

Literatur

1. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH (1973) Hepatitis A: detection by immune electron microscopy of a virus-like antigen associated with acute illness. *Science* 182:1026–1028
2. Funkhouser AW, Schultz DE, Lemon SM, Purcell RH, Emerson SU (1999) Hepatitis A virus translation is rate-limiting for virus replication in MRC-5 cells. *Virology* 254 (2):268–278
3. Robertson BH, Jansen RW, Khanna B et al. (1992) Genetic relatedness of hepatitis A virus strains recovered from different geographical regions. *J Gen Virol* 73:1365–1377
4. Lemon SM, Binn LN (1985) Incomplete neutralization of hepatitis A virus in vitro due to lipid-associated virions. *J Gen Virol* 66:2501–2505
5. Lemon SM, Murphy PC, Smith A, Zou J, Hammon J, Robinson S, Horowitz B (1994) Removal/neutralization of hepatitis A virus during manufacture of high purity, solvent/detergent factor VIII concentrate. *J Med Virol* 43:44–49
6. Scholz E, Heinrich U, Flehmig B (1989) Acid stability of hepatitis A virus. *J Gen Virol* 70:2481–2485
7. Beard MR, Lemon SM (1999) Hepatitis A Virus (Picornaviridae). In: Webster RG, Granoff A (eds.) *Encyclopedia of virology*. Academic Press, London, pp 631–639
8. Purcell RH, Feinstone SM, Ticehurst JR, Daemer RJ, Baroudy BM (1984) Hepatitis A Virus. In: Vyas G, Dienstag JL, Hoofnagle JH (ed) *Viral hepatitis and liver disease*. Grune & Stratton, Orlando, pp 9–21
9. Bower WA, Nainan OV, Han X, Margolis HS (2000) Duration of viremia in hepatitis A virus infection. *J Infect Dis* 182 (1):12–17
10. Koff RS (1998) Hepatitis A. *Lancet* 351:1643–1649
11. Margolis HS, Nainan OV (1990) Identification of virus components in circulating immune complexes isolated during hepatitis A virus infection. *Hepatology* 11:31–37
12. MMWR (2000) Notifiable disease/death in selected cities (weekly information). *MMWR* 48:1184
13. Robert Koch-Institut (1999) Ratgeber Infektionskrankheiten, 5. Folge: Erkrankungen an Hepatitis A. *Epid Bull* 27/99:200–203
14. Thierfelder W, Meisel H, Schreier E, Dortschy R (1999) Die Prävalenz von Antikörpern gegen Hepatitis-A-, Hepatitis-B- und Hepatitis-C-Viren in der deutschen Bevölkerung. *Gesundheitswesen* 61:110–114
15. Lemon SM, Binn LN, Marchwicki RH (1983) Radioimmunoassay for quantitation of hepatitis A virus in cell cultures. *J Clin Microbiol* 17:834–839
16. Saldanha J (1999) Sensitivity of PCR assays for the determination of hepatitis A virus RNA in plasma pools. A collaborative study. *Vox Sang* 76:163–165
17. Proding WM, Larcher C, Soelder BM, Geissler D, Dierich MP (1994) Hepatitis A in Western Austria – the epidemiological situation before the introduction of active immunisation. *Infection* 22 (1):53–55
18. Katz MH, Hsu L, Wong E, Liska S, Anderson L, Janssen RS (1997) Seroprevalence of and risk factors for hepatitis A infection among young homosexual and bisexual men. *J Inf Dis* 175:1225–1229
19. Bundesärztekammer (2000) Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie). *Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz* 43:555–589
20. Goudemand J, Parquet A, d'Oiron R et al. (1994) Hepatitis A in French hemophiliacs. *Vox Sang* 67 [Suppl 1]:9–13
21. Mauser-Bunschoten EP, Zaaier HL, van Drimmelen AA, van den Berg HM, Roosendaal G, Lelie PN (1995) Risk of hepatitis A in Dutch hemophilia patients. *Thromb Haemost* 74:616–618
22. Molina R, Lorenzo JJ, Gomez MD, Sarrion A, Haya S, Querol F, Aznar JA (1996) Seroprevalence of hepatitis A in hemophiliacs. *Sangre (Barc)* 41:363–365
23. Frösner GG (1994) Epidemiologie der Hepatitis A + E. In: Maas G, Stück B (Hrsg) *Virushepatitis A-E-Diagnose, Therapie, Prophylaxe*. Kilian, Stuttgart, S 18–24
24. Willner IR, Uhl MD, Howard SC, Williams EQ, Riely CA, Waters B (1998) Serious hepatitis A: an analysis of patients hospitalized during an urban epidemic in the United States. *Ann Intern Med* 128:111–114
25. Hadler SC (1991) Global impact of hepatitis A virus infection: Changing patterns. In: Hollinger FB et al. (eds) *Viral hepatitis and liver disease*. Williams & Wilkins, Baltimore
26. Keeffe EB (1995) Is hepatitis A more severe in patients with chronic hepatitis B and other chronic liver diseases? *Am J Gastroenterol* 90:201–205
27. Manns MP, Schüler A (1998) Risk of hepatitis A superinfection in patients with underlying liver disease. *Acta Gastroenterol Belg* 61:206–209

28. Vento S, Gerafano T, Ranzini C et al. (1998) Fulminant hepatitis associated with hepatitis A virus superinfection in patients with chronic hepatitis C. *N Eng J Med* 338 (5):286–290
29. Vento S (2000) Fulminant hepatitis associated with hepatitis A virus superinfection in patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 7 [Suppl 1]:7–8
30. Robert Koch-Institut (2000) Impffempfehlungen der Ständigen Impfkommission (STIKO) am Robert Koch-Institut. Stand: Januar 2000. *Epid Bull* 2/2000:9–20
31. Normann A, Graff J, Gerritzen A, Brackmann HH, Flehmig B (1992) Detection of hepatitis A virus RNA in commercially available factor VIII preparation. *Lancet* 340:1232–1233
32. Mannucci PM (1992) Outbreak of hepatitis A among Italian patients with haemophilia. *Lancet* 339:819
33. Peerlinck K, Vermylen J (1993) Acute hepatitis A in patients with haemophilia A. *Lancet* 341:179
34. Brackmann HH, Oldenburg J, Eis-Hübinger AM, Gerritzen A, Hammerstein U, Hanfland P (1994) Hepatitis A virus infection among the hemophilia population at the Bonn Hemophilia Center. *Vox Sang* 67:3–7
35. Mosley JW, Nowicki MJ, Kasper CK, Donegan E, Aledort LM, Hilgartner MW, Operskalski EA (1994) Hepatitis A virus transmission by blood products in the United States. *Transfusion Safety Study Group. Vox Sang* 67:24–28
36. MMWR (1996) Hepatitis A among persons with hemophilia who received clotting factor concentrate – United States, September–December 1995. *MMWR* 45:29–32
37. Richardson LC, Evatt B (2000) Risk of hepatitis A virus infection in persons with hemophilia receiving plasma-derived products. *Transfusion Med Rev* 14:64–73
38. Robertson BH, Alter MJ, Bell BP et al. (1998) Hepatitis A virus sequence detected in clotting factor concentrates associated with disease transmission. *Biologicals* 26:95–99
39. Chudy M, Budek I, Keller-Stanislawski B et al. (1999) A new cluster of hepatitis A infection in hemophiliacs traced to a contaminated plasma pool. *J Med Virol* 57:91–99
40. Seeberg S, Brandberg A, Hermodsson S, Larsson P, Lundgren S (1981) Hospital outbreak of hepatitis A secondary to blood exchange in a baby. *Lancet* 8230:1155–1156
41. Noble RC, Kane MA, Reeves SA, Roeckel I (1984) Posttransfusion hepatitis A in a neonatal intensive care unit. *JAMA* 252:2711–2715
42. Klein BS, Michaelis JA, Rytel M, Berg KG, Davis JP (1984) Nosocomial hepatitis A, a multiradial outbreak in Wisconsin. *JAMA* 252:2716–2721
43. Barbara JA, Howell DR, Briggs M, Parry JV (1982) Post-transfusion hepatitis A. *Lancet* 8274:738
44. Hollinger FB, Khan NC, Oefinger PE, Yawn DH, Schmulen AC, Dreesman GR, Melnick JL (1983) Posttransfusion hepatitis type A. *JAMA* 250:2313–2317
45. Cohen JI, Feinstone S, Purcell RH (1989) Hepatitis A virus infection in chimpanzee: duration of viremia and detection of virus in saliva and throat swabs. *J Infect Dis* 160:887–890
46. Siegl G, Weitz M, Kronauer G (1984) Stability of hepatitis A virus. *Intervirology* 22:218–226
47. Adcock WL, MacGregor A, Davies JR, Hattarki M, Anderson DA, Goss NH (1998) Chromatographic removal and heat inactivation of hepatitis A virus during manufacture of human albumin. *Biotechnol Appl Biochem* 28:85–94
48. Barrett PN, Meyer H, Wachtel I, Eibl J, Dorner F (1997) Inactivation of hepatitis A virus in plasma products by vapor heating. *Transfusion* 37:215–220
49. Biesert L, Lemon S, Suhartono H, Wang L, Rübsem H (1995) Virus validation experiments on the production process of OCTAVI SDPlus. *Blood Coagul Fibrinolysis* 6 [Suppl 2]:48–54
50. Hilfenhaus J, Nowak T (1994) Inactivation of hepatitis A virus by pasteurization and elimination of picornaviruses during manufacture of factor VIII concentrate. *Vox Sang* 67:62–66
51. Murphy P, Nowak T, Lemon SM, Hilfenhaus J (1993) Inactivation of hepatitis A virus by heat treatment in aqueous solution. *J Med Virol* 41:61–64
52. Nissen E, Koenig P, Feinstone SM, Pauli G (1996) Inactivation of hepatitis A and other enteroviruses during heat treatment (pasteurization). *Biologicals* 24 (4):339–341
53. Barrett PN, Meyer H, Wachtel I, Eibl J, Dorner F (1996) Determination of the inactivation kinetics of hepatitis A virus in human plasma products using a simple TCID₅₀ Assay. *J Med Virol* 49:1–6
54. Dichtelmüller H, Rudnick D, Breuer B et al. (1996) Improvement of virus safety of a S/D-treated factor VIII concentrate by additional dry heat treatment at 100 degrees C. *Biologicals* 24:125–130
55. Savage M, Torres J, Franks L, Masecar B, Hotta J (1998) Determination of adequate moisture content for efficient dry-heat viral inactivation in lyophilized factor VIII by loss on drying and by near infrared spectroscopy. *Biologicals* 26:119–124
56. Horowitz B, Wiebe ME, Lippin A, Stryker MH (1985) Inactivation of viruses in labile blood derivatives. I. Disruption of lipid-enveloped viruses by tri(n-butyl)phosphate detergent combinations. *Transfusion* 25 (6):516–522
57. Roberts PL (1996) Removal of parvovirus and hepatitis A virus by metal chelate affinity chromatography during the preparation of Replene: a high-purity factor IX concentrate. *Vox Sang* 71:129–130
58. Chin S, Williams B, Gottlieb P et al. (1995) Virucidal short wavelength ultraviolet light treatment of plasma and factor VIII concentrate: protection of proteins by antioxidants. *Blood* 86:4331–4336
59. Wang CH, Tschen SY, Flehmig B (1995) Antigenicity of hepatitis A virus after ultra-violet inactivation. *Vaccine* 13:835–840
60. CPMP (2001) Note for guidance on plasma-derived medicinal products (CPMP/BWP/269/95, rev.3). <http://www.eudra.org/emea.html>