

Hepatitis-E-Virus

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 (Bundesgesundheitsbl., 41, 53, 1998).

Frühere Beiträge befassten sich mit der *Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung*, dem *Parvovirus B19* und dem *GB-Virus Typ C* (Hepatitis-G-Virus) (Bundesgesundheitsbl. 41, 78–90, 1998), *HTLV-I/-II* (Bundesgesundheitsbl. 41, 512, 1998), *Yersinia enterocolitica* (Bundesgesundheitsbl. 42, 613, 1999), *TT-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 43, 154–156, 2000), *Hepatitis-B-Virus (HBV)* (Bundesgesundheitsbl. 43, 240–248, 2000) und *Humanes Cytomegalovirus (HCMV)* (Bundesgesundheitsbl. 43, 653–659, 2000), *Hepatitis-A-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 44, 844–850, 2001), *Treponema pallidum* (Bundesgesundheitsbl. 45, 818–826, 2002), *Hepatitis-C-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 46, 712–722, 2003), *Humanes Immunschwächevirus (HIV)* (Bundesgesundheitsbl. 47, 83–95, 2004), *Arboviren – durch Arthropoden übertragbare Viren* (Bundesgesundheitsbl. 47, 910–918, 2004), *Coxiella burnetii – Erreger des Q-(query-)Fiebers* (Bundesgesundheitsbl. 48, 814–821, 2005), *Variante Creutzfeldt-Jakob-Krankheit* (Bundesgesundheitsbl. 48, 1082–1090, 2005), *Influenzaviren* (Bundesgesundheitsbl. 50, 1184–1191,

2007), *Arbobakterien (über Arthropoden übertragbare Bakterien)* (Bundesgesundheitsbl. 50, 1192–1207, 2007) und *Malaria* (Bundesgesundheitsbl. im Druck)

1 Wissensstand über den Erreger

1.1 Erregerigenschaften

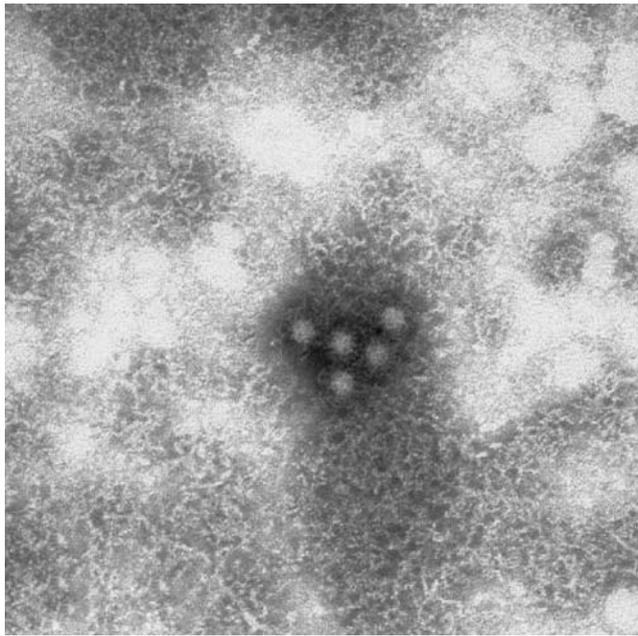
Erste Hinweise auf Hepatitis E als eigenständige, von der Hepatitis A zu unterscheidende Erkrankung ergaben sich 1980, als erstmals sensitive und spezifische Nachweissysteme für Hepatitis-A-Virus (HAV) zur Verfügung standen und Hepatitisepidemien in Indien untersucht wurden. Epidemiologische Untersuchungen hatten bis zu diesem Zeitpunkt nahegelegt, dass diese klinisch sehr ähnlich verlaufenden Hepatitiden durch einen fäkal-oral übertragbaren Erreger, das HAV, verursacht wurden. Den experimentellen Nachweis, dass ein zweites fäkal-oral übertragbares Virus, später als Hepatitis-E-Virus (HEV) bezeichnet, eine Hepatitis verursacht, lieferten 1983 die Übertragungsversuche von Balayan et al. [1]. In diesen Versuchen wurden HAV-immune Freiwillige mit Stuhlsuspensionen von Patienten mit einer Hepatitis-A-ähnlichen Erkrankung, die in Taschkent (Usbekistan) auftrat, infiziert. Aus dem Stuhl der experimentell infizierten Personen konnten sphärische, 27–30 nm große, virusähnliche Partikel isoliert werden, die im CsCl-Gradienten bei einer Dichte von 1,35 g/cm³ bandeten. Durch Immunelektronenmikroskopie (IEM) konnten diese Partikel sowohl in der prä- (ab 27. Tag nach Infektion [dpi]) als auch in der post-

klinischen Phase (45 dpi, Krankheitsbeginn etwa 36 dpi) nachgewiesen werden (■ **Abb. 1**).

IEM und die Inokulation von Affen waren bis 1990 die einzigen diagnostischen Methoden zum Nachweis von HEV und zu dessen Differenzierung von HAV-Infektionen. Reyes et al. [2] gelang 1991 die Klonierung des Genoms. Dies eröffnete die Entwicklung von diagnostischen Methoden zum serologischen und molekularen Nachweis von HEV-Infektionen. Die erste Eingruppierung des HEV erfolgte aufgrund von morphologischen Eigenschaften zur Familie der Caliciviridae. Die Sequenzanalyse legte jedoch nahe, dass sich HEV im Genomaufbau erheblich von dieser Virusfamilie unterscheidet. HEV wird daher heute als bisher einziger Vertreter in das Genus *Hepevirus* in der neuen Familie der *Hepeviridae* eingeordnet.

HEV ist ein kleines, nicht umhülltes, ikosaedrisches Virus mit einem Durchmesser von etwa 32–34 nm. Das Kapsid des Virus ist vermutlich nur aus einem einzigen Protein aufgebaut. Das Genom mit einer Größe von etwa 7,2 kb ist einsträngig und hat Plusstrang-Orientierung. Es wird flankiert von nichtkodierenden Regionen, ist am 3'-Ende polyadenyliert und trägt am 5'-Ende ein m⁷G-Cap. Das Genom selbst kodiert für 3 überlappende offene Leserahmen (ORF 1–3). Bei den Hepeviren kodiert der am 3'-Ende gelegene ORF 2 mit einer Größe von etwa 2 kb für das Kapsidprotein. Insbesondere wegen dieser Eigenschaft erfolgte die Abgrenzung von den Caliciviren, bei welchen die für das Kapsid kodierende

Abb. 1 ► **Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Immunaggregates von HEV, isoliert aus der Galle eines experimentell infizierten Makaken. Das infektiöse HEV wurde aus dem Stuhl eines an HEV Erkrankten isoliert, und die Affen wurden oral infiziert. Für die Aufnahme danken wir Dr. Bärbel Hauröder, Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr Koblenz**



Sequenz am 5'-Ende des Genoms lokalisiert ist. ORF 1 mit einer Größe von etwa 5 kb ist am 5'-Ende lokalisiert und kodiert für die Nicht-Strukturproteine, die an der RNA-Replikation beteiligt sind: RNA-abhängige RNA-Polymerase, Guanlyl- und Methyl-Transferasen, Helikase und eine papainähnliche Protease. ORF 3 mit einer Größe von 372 Basen überlappt am 3'-Ende mit den ersten 331 Basen von ORF 2, am 5'-Ende mit ORF 1 und kodiert für ein kleines immunogenes Phosphoprotein mit einer Größe von höchstens 123 Aminosäuren.

Aufgrund phylogenetischer Analysen werden die bisher untersuchten Isolate in 4 verschiedene Genotypen unterteilt, die weltweit unterschiedliche Verbreitungen aufweisen [3]. Für den Genotyp 1 stellt das Burma-Isolat den Prototyp dar, für den Genotyp 2 das Mexiko-Isolat, für den Genotyp 3 das USA-Isolat und für den Genotyp 4 das chinesische Isolat. Die verschiedenen Genotypen werden des Weiteren in genetische Subtypen gruppiert. Serologisch scheint HEV sich einheitlich zu verhalten, wie Neutralisationsversuche in der Zellkultur und Schutzversuche mit verschiedenen Genotypen in Infektionsversuchen zeigen [4].

Verschiedene Studien belegen, dass HEV in Hepatozytenkulturen von Menschen oder Makaken repliziert. Dazu wurden Zellkulturen mit HEV aus Stuhl-

suspensionen infiziert. Emerson et al. [5] konnten in solchen In-vitro-Untersuchungen zeigen, dass nach einstündiger Hitzebehandlung bei 45–50 °C etwa die Hälfte und bei 56 °C nahezu die gesamte HEV-Infektiosität inaktiviert wurde. Des Weiteren konnten die Autoren zeigen, dass verschiedene HEV-Isolate zwar unterschiedliche Hitzestabilität aufwiesen, alle untersuchten Isolate jedoch sensitiv gegenüber einer Behandlung für 1 h bei 60 °C waren. Im Gegensatz dazu konnte HAV bei 60 °C für 60 Minuten nur zur Hälfte inaktiviert werden und verlor seine Infektiosität erst durch eine Hitzebehandlung bei 66 °C. Nach diesen Erkenntnissen ist HEV hitzeempfindlicher als HAV [5]. Tanaka et al. [6] ergänzten die Untersuchungen zur Thermostabilität von HEV mit zellkulturadaptierten HEV. Erhitzen von HEV auf 90 °C für eine Minute bzw. für 10 Minuten auf 70 °C inaktivierte HEV vollständig, und eine Behandlung von Virussuspensionen bei 56 °C für 30 Minuten reduzierte den Titer im Vergleich zu einer Behandlung bei 25 °C.

1.2 Infektion und Infektionskrankheiten

HEV-Infektionen verlaufen vergleichbar zur Hepatitis A. Die akute HEV-Infektion verläuft in der Regel selbstlimitierend mit einer niedrigen Todesrate, die jedoch

höher ist (0,5%–4%) als die bei der HAV-Infektion (ca. 0,2%) [7]. Das Hepatitis-E-Virus wird in der Regel fäkal-oral übertragen und über den Stuhl für 3–4 Wochen ausgeschieden. Mit der PCR konnte in einzelnen Patienten eine Ausscheidungsdauer von bis zu 120 Tagen beobachtet werden [8]. Es wird angenommen, dass sich HEV zuerst im Intestinaltrakt vermehrt und anschließend über die Blutbahn in die Leber gelangt. Die Replikation des Virus findet dort im Zytoplasma von Hepatozyten statt. Virus wird dann über die Galle in den Stuhl und in das Blut ausgeschieden. Die Inkubationsphase, gemessen am Anstieg der Transaminasen, kann zwischen 3 und 8 Wochen liegen. Über den Stuhl wird das Virus in der akuten Inkubationsphase bis in die späte Phase in hohen Mengen ausgeschieden [1]. Experimentelle orale Infektionen von Menschen zeigten, dass eine Virämie zwischen dem 22. und 28. dpi erstmals nachweisbar war, etwa eine Woche vor Auftreten von Symptomen [1, 9]. Krankheitssymptome traten dann zwischen dem 30. und 36. dpi auf. Der Gipfel der Transaminasen wurde etwa zeitgleich mit dem Auftreten der ersten Antikörper beobachtet. Histologisch werden in der Leber fokale Nekrosen und Apoptose von Zellen gefunden. Es besteht Unklarheit darüber, ob die beobachteten Veränderungen durch das Virus selbst oder durch die Immunantwort hervorgerufen werden, da nur geringe Inflammationen nachgewiesen werden konnten [10]. Vergleichbare Infektionsverläufe wurden auch in experimentellen Übertragungen von HEV auf Primaten beobachtet [11, 12].

Vergleichbar zur Hepatitis A kann man in der akuten HEV-Infektion, etwa zum Zeitpunkt des Auftretens von Krankheitssymptomen, eine IgM- und IgG-Antwort messen.

HEV-Infektionen während der Schwangerschaft verlaufen zu einem hohen Prozentsatz fulminant, begleitet von einer hohen Mortalität von ca. 20%, bei Männern und nicht schwangeren Frauen liegt die Mortalität bei 0,5%–4% [7, 10, 13, 14]. Neben dem fulminanten Leberversagen, das besonders bei Schwangeren im dritten Trimenon beobachtet wird, treten Enzephalopathien und disseminierte intravaskuläre Verbrauchskoagulation auf.

In den vergangenen Jahren wurde zunehmend über HEV-Infektionen berichtet, die subklinisch verlaufen [15, 16]. Als Infektionsmarker können erhöhte Transaminasen auftreten. In dieser Phase ist in einem hohen Prozentsatz der Probanden HEV-Genom im Blut nachweisbar. Etwa zeitgleich beobachtet man einen Anstieg der HEV-spezifischen IgM- und IgG-Antikörperantwort. Übertragungen von HEV durch nicht inaktivierte Blutprodukte von solchen Spendern wurden aus verschiedenen Ländern berichtet [17, 18, 19, 20, 21].

1.3 Epidemiologie

Die akute Hepatitis E ist weltweit eine sehr häufige Ursache fäkal-oral erworbener Hepatitis. HEV als Verursacher dieser Erkrankung galt lange als humanspezifischer Erreger. Bei der Verbreitung des Erregers unterscheidet man Regionen, in denen HEV endemisch vorkommt, und solche, in denen Infektionen sporadisch auftreten [22]. Als Hauptendemiegebiete werden dabei Südost- und Zentralasien, der Mittlere Osten, Afrika und Zentralamerika angesehen. In diesen Regionen wurden in den vergangenen Jahrzehnten ausgeprägte Epidemien beobachtet, die häufig durch verunreinigtes Trinkwasser hervorgerufen wurden, jedoch wird auch über isolierte, sporadische Fälle von HEV-Infektionen berichtet.

Akute Hepatitis-E-Erkrankungen traten in den industrialisierten Ländern Europas und Amerikas in der Regel nur bei Reisenden auf, die sich zuvor in Endemiegebieten aufgehalten hatten. In den letzten Jahren häufen sich jedoch Berichte, dass sporadische HEV-Infektionen auch in Nichtendemiegebieten, d. h. in Industrieländern, auftreten und dabei kein Zusammenhang mit Reisen in klassische Endemiegebiete besteht [23, 24].

Die meisten der fulminanten HEV-Infektionen in Asien und Afrika werden durch den Genotyp 1 hervorgerufen, während in Mexiko, Ägypten, Nigeria und Namibia der Genotyp 2 vorherrscht. Der Genotyp 3 wird sowohl in Asien, Amerika, Europa als auch in Neuseeland beobachtet. Der kürzlich neu beschriebene Genotyp 4 wurde bisher hauptsächlich in Asien gefunden [3, 25]. Nach

den bisherigen Erkenntnissen wurden die Genotypen 1 und 2 hauptsächlich bei Erkrankungen des Menschen in den entsprechenden Endemiegebieten gefunden. Die Genotypen 3 und 4 hingegen wurden sowohl bei Menschen als auch bei Tieren, insbesondere Haus- und Wildschweinen, nachgewiesen [25].

Als Quelle der Infektionserreger für den Menschen in den Industriestaaten werden Tiere, insbesondere Schweine, angesehen. Die Hepatitis E wird daher zunehmend als Zoonose betrachtet. In den USA gelang 1997 erstmals der Nachweis von HEV in einem Schwein [26]. Schweine weisen in nahezu allen Regionen der Welt eine hohe Durchseuchung mit HEV auf [22]. Dies konnte durch serologische, virologische und molekulare Nachweismethoden belegt werden. Die enge Verwandtschaft von Isolaten aus Menschen und Schweinen in den jeweiligen Regionen konnte zudem durch phylogenetische Analysen der Virusgenome gezeigt werden.

Experimentelle Infektionen von Primaten mit Schweine-HEV und von Schweinen mit humanen Isolaten unterstützen die Hypothese, dass Hepatitis E eine Zoonose ist [27]. Neben Schweinen wurde HEV in verschiedenen anderen Spezies wie Ratten, Hunden und Vögeln nachgewiesen. Welche Rolle diese Spezies bei der Übertragung auf den Menschen spielt, ist bisher unklar.

Sporadische Ausbrüche von HEV-Infektionen wurden in Japan auf den Verzehr von ungenügend gegartem oder rohem Fleisch von Schweinen, Hirschen oder Wildschweinen zurückgeführt [28]. Diese Annahme wird durch Untersuchungen von Feagins et al. [29] unterstützt, die in den USA infektiöses HEV aus im Handel befindlichen Schweinelebern isolieren konnten.

In verschiedenen europäischen Ländern wurden Untersuchungen zur Prävalenz von HEV-Infektionen sowohl bei Menschen als auch bei Schweinen durchgeführt. Untersuchungen in Spanien zeigen, dass HEV in den Schweinepopulationen weit verbreitet und ein altersabhängiger Anstieg der Seroprävalenz zu beobachten ist [30]. In der Altersgruppe von 8–12 Wochen konnte HEV zudem durch die NAT/PCR im Kot der Tiere nachgewiesen werden. Vergleichbare Ergebnisse

wurden auch bei der Untersuchung von Schweinepopulationen in den Niederlanden festgestellt, wobei in einem hohen Prozentsatz der Mastbetriebe HEV-Genom im Kot nachweisbar war [31]. Eine enge Verwandtschaft von humanen und Schweine-HEV wurde auch aus dem Vereinigten Königreich berichtet [32, 33].

Insgesamt liegen aus Europa nur wenige Untersuchungen zur Prävalenz der HEV-Infektion beim Menschen vor, dabei wird aus Schweden eine hohe Antikörperprävalenz mit etwa 13% und eine niedrigere aus Frankreich und Spanien (etwa 3%) berichtet [34, 35]. In verschiedenen Studien wurde festgestellt, dass in den Industrieländern Personen mit engem Kontakt zu Schweinen wie Schweinezüchter oder Tierhändler im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung eine höhere Seroprävalenz aufwiesen [36, 37], was darauf hindeutet, dass Schweine als Überträger von HEV auf den Menschen angesehen werden können.

Untersuchungen von städtischen Abwässern in verschiedenen Industrieländern ergaben, dass sowohl in Barcelona (Spanien), in Nancy (Frankreich) und in Washington, DC (USA), HEV-Genom nachgewiesen werden konnte, was darauf hinweist, dass Infektionen mit HEV in diesen Ländern möglicherweise häufig subklinisch verlaufen und nicht erkannt werden, da gleichzeitig keine klinischen HEV-Infektionen beobachtet werden [38]. Inwieweit HEV in industrialisierten Ländern durch nicht genügend gereinigte Abwässer übertragen werden kann, ist unklar.

Für Deutschland liegen nur wenige Informationen zur Prävalenz und Inzidenz von HEV-Infektionen vor. Es wurde lange diskutiert, dass eine akute Hepatitis E nur bei Rückkehrern aus Endemiegebieten auftrat [39]. Neuere Untersuchungen belegen, dass HEV-Infektionen auch in Deutschland erworben werden und zu akuten Krankheitsverläufen führen können [40, 41]. Die aufgrund der Einführung der Meldepflicht für Hepatitis-E-Erkrankungen im Rahmen des Infektionsschutzgesetzes (IfSG) erhaltenen Daten belegen, dass etwa die Hälfte der gemeldeten Hepatitis-E-Fälle in Deutschland erworben wurde und kein Zusammenhang mit Reisen in Endemiegebiete bestand (■ **Tabelle 1**).

Tabelle 1

Meldungen von Hepatitis-E-Virus-Erkrankungen nach IfSG (Quelle: RKI)

In Deutschland gemeldete HEV-Fälle		
Jahr	Insgesamt	In Deutschland erworben
2001	31	11
2002	17	7
2003	33	10
2004	53	21
2005	54	23
2006	51	23

Die wenigen bisher in Deutschland phylogenetisch untersuchten HEV bestätigen die enge Verwandtschaft mit Schweineisolat, die auch in vielen anderen europäischen Ländern beobachtet wird [41].

1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

Bisher gelang es nicht, HEV für diagnostische Untersuchungen routinemäßig in Zellkulturen anzuzüchten. Bevor molekulare Nachweismethoden etabliert waren, wurde der Virusnachweis im Stuhl über Elektronenmikroskopie (EM) und Immun-EM geführt.

Ein sicherer Nachweis von HEV erfolgt heute mit der PCR in der akuten Phase aus Stuhl oder Blut. Die Nukleinsäurenachweisverfahren und die Sequenzanalyse der Amplifikate haben jedoch gezeigt, dass eine Vielzahl genetischer HEV-Varianten existiert. Die Sensitivität der PCR ist daher abhängig von der Übereinstimmung der Primer mit dem zu untersuchenden Isolat. Inwieweit sich Real-Time-PCR- und Nested-PCR-Systeme für den Nachweis aller 4 bisher bekannten Genotypen in einem Analyseschritt eignen, muss weiter geprüft werden [42, 43, 44]. Der Nachweis der viralen RNA bestätigt das Vorliegen einer aktiven HEV-Infektion.

Inwieweit sich Antigennachweissysteme zur Ermittlung einer Virämie eignen, kann nur durch die Weiterentwicklung experimenteller Antigennachweissysteme geklärt werden [45].

Die serologischen Nachweismethoden stellen zur Diagnose einer HEV-Infektion

immer noch die Methode der Wahl dar. Zum Nachweis von IgG- bzw. IgM-Antikörpern stehen kommerzielle Antikörpernachweissysteme (ELISA) zur Verfügung, die auf der Grundlage von gentechnisch exprimierten ORF2- und ORF3-Proteinen oder synthetischen Peptiden hergestellt werden. Zur Bestätigung von reaktiven Seren können Immunoblots auf der Basis rekombinanter Proteine eingesetzt werden.

Beim Erstnachweis von HEV-Antikörpern und Vorliegen von eindeutigen klinischen Symptomen einer Hepatitis ist eine HEV-Infektion wahrscheinlich, wenn die Hepatitiden A, B und C ausgeschlossen sind. Zur Absicherung sollte 8–10 Tage später eine zweite Probenahme erfolgen, um den Antikörperanstieg zu belegen. In etwa 90 % der akuten HEV-Infektionen können 1–4 Wochen nach Auftreten der klinischen Symptome IgM-Antikörper nachgewiesen werden. Drei Monate nach Krankheitsbeginn sind diese IgM-Antikörper in der Regel nicht mehr nachweisbar. Neuere Untersuchungen zeigen jedoch, dass anti-HEV-IgA-Antikörper möglicherweise einen verlässlichen Nachweis einer akuten HEV-Infektion ermöglichen [24, 46].

Die Forderung, dass der Aufenthalt in einem HEV-Endemiegebiet eines der Kriterien für die Verdachtsdiagnose Hepatitis E ist, kann nach heutigem Kenntnisstand nicht weiter aufrechterhalten werden. Untersuchungen zur Verbreitung von HEV in Nichtendemiegebieten legen nahe, dass HEV-Infektionen insbesondere in Industrieländern asymptomatisch oder subklinisch verlaufen können.

2 Blut- und Plasmaspender

2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Daten zur Prävalenz von HEV-Infektionen bei Blut- und Plasmaspendern bzw. in der Allgemeinbevölkerung liegen für Deutschland nicht vor. In Japan, einem Land, in dem nur über sporadische HEV-Fälle berichtet wird, wurden Untersuchungen von 6700 Blutspendern mit erhöhten Transaminasen durchgeführt [16]. In 7,1 % der Untersuchten konnten HEV-spezifische Antikörper bestimmt werden.

In insgesamt 9 (0,13 % der untersuchten Proben) dieser Blutspender konnte HEV-RNA nachgewiesen werden, wobei 6 dieser Spender auch anti-HEV-IgM- und/oder -IgA-Antikörper aufwiesen. Drei Spender waren nur HEV-Genom-positiv. Die Autoren schließen daraus, dass in Japan als einem Land mit einer vergleichsweise niedrigen Anzahl berichteter akuter HEV-Infektionen mehr subklinische HEV-Infektionen als erwartet auftreten. Es ist jedoch davon auszugehen, dass die Prävalenz in dem Spenderkollektiv vergleichbar der der Gesamtbevölkerung ist. Diese Ergebnisse bestätigen zurückliegende Berichte aus Japan, dass HEV mittels PCR bei Blutspendern nachgewiesen wurde [47]. Inwieweit sich Antigennachweissysteme zur Ermittlung einer Virämie eignen, kann nur durch die Weiterentwicklung experimenteller Antigennachweissysteme geklärt werden [45]. Untersuchungen von Blutspendern in HEV-Endemiegebieten wie Indien lassen vermuten, dass in solchen Ländern ein erhöhtes Risiko der transfusionsvermittelten Übertragung von HEV besteht [48].

Untersuchungen von kleinen Stichproben von Blutspendern in den Niederlanden ergaben, dass 0,4 % der Spenden HEV-antikörperpositiv waren [49], in Spanien hingegen 2,8 % der untersuchten Spenden [34]. In Frankreich wurde eine Prävalenz von 3,2 % bei den Blutspendern ermittelt, wobei dort in den vergangenen Jahren lediglich 20–30 autochthone HEV-Fälle jährlich gemeldet wurden [35].

In einer multizentrischen Studie wurden 1993 Daten zur Prävalenz von HEV-Infektionen in Deutschland erhoben [50]. Die damals ermittelte Prävalenz von 0,5 % HEV-antikörperpositiven Spenden ist möglicherweise zu niedrig, da die Sensitivität der Teste mittlerweile verbessert wurde. Die für Deutschland gemeldete Anzahl von autochthonen Hepatitis-E-Erkrankungen ist vergleichbar zu Frankreich, sodass nicht ausgeschlossen ist, dass die HEV-Seroprävalenz in Deutschland ähnlich wie in Frankreich ist.

2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Zur Ermittlung der Ausschlusskriterien für Blutspender gelten die Richtlinien der

Bundesärztekammer und des PEI [51, 52]. Personen, die an einer infektiösen Hepatitis unklarer Ätiologie erkrankt sind oder waren, sollen auf Dauer als Blutspender ausgeschlossen werden. In diesen Richtlinien wird die HEV-Infektion jedoch nicht explizit geregelt. Bei Vorliegen einer akuten Hepatitis E oder Verdacht darauf muss der Spender von der Spende zurückgestellt werden. Dies gilt auch bei Verdacht auf eine akute Infektion bei einer engen Kontaktperson des Spenders. Eine durchgemachte Hepatitis E oder der Nachweis einer durchgemachten HEV-Infektion durch Bestimmung der Anti-HEV-IgG-Antikörper sind keine Ausschlusskriterien. Diese Empfehlung entspricht dem Vorgehen bei Personen, bei denen eine HAV-Infektion ausgeheilt ist [53].

2.3 Spendertestung und Aussagekraft

Eine Spendertestung auf HEV-Genom mit der PCR oder über Antikörpernachweis (IgM bzw. IgA als frühe Infektionsmarker) ist prinzipiell möglich. Nach den bisher vorliegenden Erkenntnissen zur Epidemiologie der HEV-Infektion in Deutschland wird eine Spendertestung auf Virusgenom von HEV oder auf HEV-spezifische Antikörper als nicht notwendig angesehen.

2.4 Spenderbefragung

Die spendewillige Person wird in der Anamnese vor jeder Spende entsprechend den Richtlinien der Bundesärztekammer und des PEI nach Hepatitis befragt. Eine ausgeheilte Hepatitis E in der Vorgeschichte ist kein Grund für einen generellen Spenderausschluss.

2.5 Spenderinformation und -beratung

Da keine spezielle Untersuchung auf HEV-Marker erfolgt, braucht auch keine HEV-spezifische Spenderinformation zu erfolgen. Gibt es Hinweise auf eine Hepatitis unklarer Genese, so kann auf HEV mithilfe von serologischen oder molekularen Methoden untersucht werden.

3 Empfänger

3.1 Prävalenz und Inzidenz von blutassoziierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Zur Prävalenz und Inzidenz von HEV-Infektionen liegen für Deutschland weder spender- noch empfängerspezifische Informationen vor. Man kann jedoch davon ausgehen, dass in diesen Kollektiven eine Prävalenz für Antikörper gegen HEV vorliegt, die derjenigen in der Allgemeinbevölkerung entspricht, wie sie auch für andere europäische Länder beschrieben worden ist.

Untersuchungen vor allem in Japan legen nahe, dass Übertragungen von HEV durch Bluttransfusionen beobachtet werden. Retrospektive Erhebungen vor allem von Transfusionsempfängern, die nach der Transfusion erhöhte Transaminasenwerte oder auch eine fulminante Hepatitis aufwiesen, zeigten, dass ein Teil dieser Patienten durch die Transfusion eine HEV-Infektion erworben hatte [19, 34, 48].

Kürzlich wurden auch HEV-Übertragungen durch Transfusionen aus Europa gemeldet [20, 21]. Hämodialysepatienten scheinen ein erhöhtes Infektionsrisiko zu haben [54]. Inwieweit dies auf die Gabe von Blutprodukten zurückzuführen ist oder andere Ursachen hat, ist unklar. In der Literatur sind nur wenige Untersuchungen von Hämophiliepatienten berichtet worden [49, 55, 56]; in keiner dieser Untersuchungen gab es Hinweise auf ein erkennbares Übertragungsrisiko von HEV durch Gerinnungsfaktoren.

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

Es liegen keine Erkenntnisse zur Durchseuchung der Empfänger von Blut und Blutprodukten in Deutschland vor.

3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Die Berichte über HEV-Infektionen durch kontaminierte Blutprodukte legen nahe, dass der Krankheitsverlauf vergleichbar

dem der natürlichen HEV-Infektion ist [19]. Eine persistierende Infektion nach Transfusion wurde bei einem T-Lymphompatienten, der zusätzlich unter Chemotherapie stand, berichtet [57].

3.4 Therapie und Prophylaxe

Untersuchungen zur Möglichkeit der passiven Immunisierung wurden berichtet [58], und die Gabe von Anti-HEV-Immunglobulinpräparaten als Postexpositionsprophylaxe insbesondere an Schwangere wird diskutiert.

Die Impfstoffentwicklung wurde bisher dadurch erschwert, dass HEV in Zellkulturen schwer zu vermehren war und dadurch keine Impfstoffe auf der Basis von inaktivierten Viren oder apathogenen Isolaten zur Verfügung standen. Der Schwerpunkt der Entwicklung von Impfstoffen lag daher auf der DNA-Technologie oder auf rekombinanten Proteinen [59, 60, 61, 62, 63]. Einer der DNA-Impfstoffkandidaten ist zurzeit in der Phase II der klinischen Prüfung [63].

3.5 Übertragbarkeit

Retrospektive Untersuchungen von Arankalle und Chobe [17, 48] lassen vermuten, dass in Regionen, in denen HEV endemisch ist, es durch Bluttransfusionen übertragen werden kann. Über transfusionsassoziierte HEV-Übertragungen wurde aus Saudi-Arabien berichtet, einem Land, in dem HEV endemisch vorkommt [18]. Erste Berichte aus Japan, das nicht als HEV-Endemiegebiet eingestuft wird, über transfusionsassoziierte HEV-Infektionen erfolgten etwa zeitgleich [19, 54]. In einem Fall konnte gezeigt werden, dass durch die Transfusion von FFP eine Übertragung erfolgte, jedoch nicht durch das entsprechende Erythrozytenkonzentrat des gleichen Spenders [19].

Kürzlich wurde über transfusionsassoziierte HEV-Übertragungen auch in Europa berichtet, einer Region, in der akute Hepatitis E nur sporadisch auftritt. Im Vereinigten Königreich wurde ein Patient durch ein Erythrozytenkonzentrat, das geringe Mengen an Plasma des Spenders enthielt, infiziert, jedoch nicht ein weiterer Patient, der ein Thrombozytenkonzentrat aus der gleichen Spende erhalten hatte

[20]. Ebenfalls durch ein Erythrozytenkonzentrat wurde in Frankreich ein Kind mit HEV infiziert [21]. Sowohl der Spender im Vereinigten Königreich als auch der in Frankreich hatten ihre HEV-Infektion im jeweiligen Heimatland erworben. Beide Blutspender waren zum Zeitpunkt der Spende HEV-RNA positiv, hatten aber keine nachweisbare Erhöhung der Transaminasen.

Wie aus den wenigen genauer untersuchten HEV-Übertragungsfällen zu schließen ist, kann HEV durch nicht inaktivierte Blutkomponenten übertragen werden. Es ist zu vermuten, dass dies insbesondere in der Virämiephase (etwa 20–50 Tage nach Infektion) durch zellfreies Virus im Plasma erfolgt.

3.6 Häufigkeit der Applikation sowie Art und Menge der Blutprodukte

Aus den wenigen berichteten Übertragungsfällen kann kein Rückschluss auf ein erhöhtes Risiko einer HEV-Infektion durch häufige Behandlung mit nicht inaktivierten Blutkomponenten geschlossen werden, obwohl mehrere der betroffenen Patienten multitransfundiert wurden.

4 Blutprodukte

4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Bisher gibt es keine Untersuchungen zur Belastung des Ausgangsmaterials durch HEV; prinzipiell wäre eine Untersuchung in diesen Materialien auf HEV-Genom durch NAT möglich.

4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

Untersuchungen zur Abtrennung und Inaktivierung von HEV in Blutprodukten fehlen. In den vergangenen Jahren wurden animale Caliciviren wie das feline Calicivirus (FeCV) als Modellviren für die Validierung von Inaktivierungsverfahren eingesetzt. Inwieweit diese Modellsysteme die Stabilität des HEV widerspiegeln, ist unklar.

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

Generell sind die Möglichkeiten zur Inaktivierung bzw. Abtrennung von nicht-behüllten Viren bei der Herstellung von Plasmaprodukten stärker begrenzt als für behüllte Viren. Die Abschätzung der Kapazität von Verfahren zur Inaktivierung bzw. Entfernung von HEV stützt sich derzeit auf die Erfahrung mit nicht-behüllten Modellviren aus anderen Virusgruppen, insbesondere mit dem Felinen Calicivirus (FeCV). Untersuchungen mit HEV selbst liegen nur in sehr begrenztem Umfang vor, da die Kultur mit adaptierten HEV-Isolaten schwierig ist und Zellsystemsysteme nur in begrenztem Umfang zur Verfügung stehen. Ob sich diese Systeme zur Validierung von Produktionsschritten bei der Herstellung von Blutprodukten eignen, muss überprüft werden.

In den vergangenen Jahren wurden Untersuchungen zur Thermostabilität von HEV durchgeführt. Im Vergleich zu HAV erwies sich HEV als thermolabiler [5]. Allerdings wurde in diesen Versuchen keine genaue Kinetik der Inaktivierung dargestellt, und es wurden auch keine Stabilisatoren verwendet, wie sie bei der Produktion von Gerinnungsfaktoren zur Anwendung kommen.

Vorläufige Studien zeigen eine effektive Inaktivierung des FeCV bei 60 °C in flüssiger Phase unter Anwesenheit solcher Stabilisatoren (Blümel, unpubliziert; Gröner, unpubliziert). Inwieweit FeCV die Hitzestabilität von HEV widerspiegelt, ist jedoch unbekannt. Die Stabilität von FeCV und HEV bei Verfahren mit trockener Hitze ist ebenfalls unbekannt.

Die Stabilität bei niedrigen pH-Werten (pH 3,7–4,2), wie sie bei der Produktion von Antikörperpräparaten zur Anwendung kommen, ist ebenfalls nicht bekannt. Eine Übertragung der Inaktivierungsdaten von anderen unbehüllten Viren ist schwierig. HAV und tierische Parvoviren sind unter diesen Bedingungen üblicherweise stabil.

Bei Filtrationsverfahren (Virusfilter, Nanofilter) kann man annehmen, dass diese HEV effektiv aus dem Produkt entfernen, wenn für die Filter gezeigt wurde,

dass kleinere Viren wie HAV oder Parvoviren entfernt werden. Solche Filter werden oft bei der Produktion von Faktor IX oder teilweise bei der Produktion von Immunglobulinpräparaten eingesetzt. Bei der Filtration komplexer Gerinnungsfaktoren werden jedoch häufig nur Filter mittlerer Porenweite von 35–50 nm verwendet. Hier ist die Rückhaltung von HEV oder Caliciviren begrenzt und kann stark von spezifischen Filtern oder Produktionsbedingungen abhängen. Dies sollte im Einzelfall abgeklärt werden.

Das Risiko einer Übertragung von HEV durch Plasmaproducte wird derzeit als gering eingeschätzt, da bei den meisten Produkten (mit Ausnahme von SD-behandeltem Plasma) Verfahrensschritte eingeführt wurden, welche eine zumindest partielle Effektivität zur Inaktivierung oder Entfernung von HEV vermuten lassen. Eine genauere Bewertung des Risikos ist derzeit aber nicht möglich, da wichtige Daten zur Epidemiologie, zur Belastung der Plasmapools mit HEV, zur Prävalenz von Antikörpern in Plasmaspenden bzw. in Plasmapools und zur Inaktivierung/Entfernung von HEV während der Herstellung nicht vorliegen. Eine produktspezifische Untersuchung der Herstellungsverfahren zur Inaktivierung/Entfernung von HEV ist in den Fällen erforderlich, in denen die vorliegenden Daten mit nicht-behüllten Modellviren nicht eindeutig auf HEV übertragbar sind.

Die Effektivität der Inaktivierungsverfahren, die für Plasma und zelluläre Blutprodukte entwickelt wurden (Behandlung mit Amotosalen, Riboflavin oder Methyleneblau), ist gegenwärtig nicht bekannt. Ein Risiko der Übertragung von HEV durch Blutkomponenten ist demzufolge nicht generell auszuschließen.

5 Bewertung

Die Hepatitis E wurde lange Zeit als reiseassoziierte Erkrankung angesehen; heute ist jedoch bewiesen, dass HEV-Infektionen nicht nur in den klassischen Endemiegebieten mit niedrigem Hygienestandard, sondern auch in Industrieländern auftreten. In den klassischen Endemiegebieten wurden vor allem die HEV-Genotypen 1 und 2 gefunden. Die Übertragung erfolgt fäkal-oral über kontaminiertes Wasser

und über Nahrung. In den Nichtendemiegebieten beobachtet man hauptsächlich sporadische HEV-Erkrankungen mit den Genotypen 3 und 4. Das Reservoir für diese beiden Genotypen sind Tiere, hauptsächlich Schweine. Nach heutigem Kenntnisstand sind die Schweinepopulationen weltweit stark mit HEV durchseucht, und man findet in den Industriestaaten bei Menschen mit HEV-Infektionen und bei Schweinen phylogenetisch eng verwandte Viren. Obwohl in den Industriestaaten nur niedrige Zahlen an autochthonen humanen HEV-Infektionen gemeldet werden, ist die Durchseuchung, gemessen an der Seroprävalenz, vergleichsweise hoch und erreicht z. B. in Schweden etwa 13 %.

Diese Befunde lassen vermuten, dass ein erheblicher Prozentsatz an HEV-Infektionen in den Industriestaaten subklinisch verläuft und diese Infektionen nur durch den Nachweis von HEV-Genom bzw. durch die Serokonversion nachgewiesen werden können. Es hat sich jedoch gezeigt, dass nicht nur Personen in der Inkubations- und der klinischen Phase einer Hepatitis E, sondern auch subklinisch infizierte Personen eine HEV-Virämie aufweisen und das Virus auch durch Blutspenden solcher Personen übertragen werden kann.

In Deutschland ist das Risiko der Übertragung von HEV durch Blutprodukte nicht hinreichend untersucht. Es fehlen Daten zur Prävalenz von HEV-Infektionen in der Bevölkerung, im Blutspenderkollektiv und bei Personen, die ein erhöhtes Expositionsrisiko für HEV aufweisen, wie Tierärzte, Schweinezüchter, Schweinemäster, Schlachter und Beschäftigte in Zerlegebetrieben. Zudem gibt es für Deutschland keine Informationen zur Prävalenz und Inzidenz von HEV im Reservoir Tier, insbesondere in Schweinepopulationen. Der derzeitige Kenntnisstand reicht nicht aus, um die Notwendigkeit der Testung von Blutspendern auf HEV-Genom oder HEV-Antikörper beurteilen zu können. Nach klinischen Erfahrungen scheinen bei der derzeitigen epidemiologischen Lage diese Untersuchungen nicht notwendig zu sein. Es besteht jedoch hoher Forschungsbedarf, insbesondere zur Gewinnung epidemiologischer Daten und in Hinsicht auf gezielte Look-Back-Untersuchungen von Transfusionsempfängern

und den zugehörigen Spendern auf Hinweise einer transfusionsassoziierten HEV-Infektion.

Dieses Papier wurde am 22.6.2007 fertiggestellt und vom Arbeitskreis Blut am 1.10.2007 verabschiedet. Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergruppe „Bewertung Blut-assoziiierter Krankheitserreger“ des Arbeitskreises Blut:

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

6 Literatur

1. Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, et al. (1983) Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. *Intervirology* 20:23–31
2. Reyes GR, Yarbough PO, Tam AW, et al. (1991) Hepatitis E virus (HEV): the novel agent responsible for enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. *Gastroenterol Jpn* 26 (Suppl 3):142–147
3. Lu L, Li C, Hagedorn CH (2006) Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences. Genetic diversity, subtypes and zoonosis. *Rev Med Virol* 16:5–36
4. Emerson SU, Purcell RH (2001) Recombinant vaccines for Hepatitis E. *Trends Mol Med* 7:462–466
5. Emerson SU, Arankalle VA, Purcell RH (2005) Thermal stability of hepatitis E virus. *J Infect Dis* 192:930–933
6. Tanaka T, Takahashi M, Kusano E, Okamoto H (2007) Development and evaluation of an efficient cell-culture system for Hepatitis E virus. *J Gen Virol* 88:903–911
7. Previsani N, Lavanchy D (2001) Hepatitis E – WHO/CDS/CRS/EDC/2001.12. Geneva: World Health Organisation, Department of Communicable Disease Surveillance and Response, http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/HepatitisE_who_cds_crs_edc_2001_12.pdf
8. Nanda SK, Ansari IH, Acharya SK, et al. (1995) Protracted viremia during acute sporadic hepatitis E virus infection. *Gastroenterology* 108:225–230
9. Chauhan A, Jameel S, Dilawari JB, et al. (1993) Hepatitis E virus transmission to a volunteer. *Lancet* 341:149–150
10. Emerson SU, Purcell RH (2007) Hepatitis E Virus. In: David M. Knipe, et al. (eds) *Fields Virology*, 5th edn. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, p 78
11. Purcell RH, Emerson SU (2001) Animal models of hepatitis A and E. *ILAR J* 42:161–177
12. Zhang J, Ge SX, Huang GY, et al. (2003) Evaluation of antibody-based and nucleic acid-based assays for diagnosis of hepatitis E virus infection in a rhesus monkey model. *J Med Virol* 71:518–526

13. Hussaini SH, Skidmore SJ, Richardson P, et al. (1997) Severe hepatitis E infection during pregnancy. *J Viral Hepat* 4:51–54
14. Jilani N, Das BC, Husain SA, et al. (2007) Hepatitis E virus infection and fulminant hepatic failure during pregnancy. *J Gastroenterol Hepatol* 22:676–682
15. Mitsui T, Tsukamoto Y, Suzuki S, et al. (2005) Serological and molecular studies on subclinical hepatitis E virus infection using periodic serum samples obtained from healthy individuals. *J Med Virol* 76(4):526–533
16. Gotanda Y, Iwata A, Ohnuma H, et al. (2007) Ongoing subclinical infection of hepatitis E virus among blood donors with an elevated alanine aminotransferase level in Japan. *J Med Virol* 79:734–742
17. Arankalle VA, Chobe LP (2000) Retrospective analysis of blood transfusion recipients: Evidence for post-transfusion hepatitis E. *Vox Sang* 79:72–74
18. Khuroo MS, Kamili S, Yatoo GN (2004) Hepatitis E virus infection may be transmitted through blood transfusions in an endemic area. *J Gastroenterol Hepatol* 19:778–784
19. Matsubayashi K, Nagaoka Y, Sakata H, et al. (2004) Transfusion-transmitted hepatitis E caused by apparently indigenous hepatitis E virus strain in Hokkaido, Japan. *Transfusion* 44(6):934–940
20. Boxall E, Herborn A, Kochethu G, et al. (2006) Transfusion-transmitted hepatitis E in a “nonhy-perendemic” country. *Transfus Med* 16:79–83
21. Colson P, Coze C, Gallian P, et al. (2007) Transfusion-associated hepatitis E, France. *Emerg Infect Dis* 13:648–649
22. Meng XJ, Dea S, Engle RE, et al. (1999) Prevalence of antibodies to the hepatitis E virus in pigs from countries where hepatitis E is common or is rare in the human population. *J Med Virol* 59:297–302
23. Peron JM, Mansuy JM, Izopet J, Vinel JP (2006) Hepatitis E virus: an emerging disease. *Sante* 16(4):239–243
24. Herremans M, Duizer E, Jusic E, Koopmans MP (2007) Detection of hepatitis E virus-specific immunoglobulin A in patients infected with hepatitis E virus genotype 1 or 3. *Clin Vaccine Immunol* 14:276–280
25. Okamoto H (2007) Genetic variability and evolution of hepatitis E virus. *Virus Res* 127(2):216–228
26. Meng XJ, Purcell RH, Halbur PG, et al. (1997) A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 9860–9865
27. Meng XJ (2000) Novel strains of hepatitis E virus identified from humans and other animal species: is hepatitis E a zoonosis? *J Hepatol* 33(5):842–845
28. Matsuda H, Okada K, Takahashi K, Mishiro S (2003) Severe hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from a wild boar. *J Infect Dis* 188(6):944
29. Feagins AR, Opriessnig T, Guenette DK, et al. (2007) Detection and characterization of infectious Hepatitis E virus from commercial pig livers sold in local grocery stores in the USA. *J Gen Virol* 88(Pt 3): 912–917
30. Seminati C, Mateu E, Peralta B, et al. (2007) Distribution of hepatitis E virus infection and its prevalence in pigs on commercial farms in Spain. *Vet J* (2007 Feb 3 Epub ahead of print)
31. Rutjes SA, Lodder WJ, Bouwknegt M, de Roda Husman AM (2007) Increased hepatitis E virus prevalence on Dutch pig farms from 33 to 55 % by using appropriate internal quality controls for RT-PCR. *J Virol Methods* 143(1):112–116

32. Banks M, Bendall R, Grierson S, et al. (2004) Human and porcine hepatitis E virus strains, United Kingdom. *Emerg Infect Dis* 10(5):953–955
33. Dalton HR, Thuraiajah PH, Fellows HJ, et al. (2007) Autochthonous hepatitis E in southwest England. *J Viral Hepat* 14(5):304–309
34. Mateos ML, Camarero C, Lasa E, et al. (1999) Hepatitis E virus: relevance in blood donors and risk groups. *Vox Sang* 76:78–80
35. Boutrouille A, Bakkali-Kassimi L, Cruciere C, Pavo N (2007) Prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in French blood donors. *J Clin Microbiol* 45:2009–2010
36. Meng XJ, Wiseman B, Elvinger F, et al. (2002) Prevalence of antibodies to hepatitis E virus in veterinarians working with swine and in normal blood donors in the United States and other countries. *J Clin Microbiol* 40:117–122
37. Olsen B, Axelsson-Olsson D, Thelin A, Weiland O (2006) Unexpected high prevalence of IgG-antibodies to hepatitis E virus in Swedish pig farmers and controls. *Scand J Infect Dis* 38(1):55–58
38. Clemente-Casares P, Pina S, Buti M, et al. (2003) Hepatitis E Virus Epidemiology in industrialized countries. *Emerg Infect Dis* 9:448–454
39. Trautwein C, Kiral G, Tillmann HL, et al. (1995) Risk factors and prevalence of hepatitis E in German immigrants from the former Soviet Union. *J Med Virol* 45:429–434
40. Teich N, Tannapfel A, Ammon A, et al. (2003) Sporadic acute hepatitis E in Germany: an underdiagnosed phenomenon? *Z Gastroenterol* 41:419–423
41. Preiss JC, Plentz A, Engelmann E, et al. (2006) Autochthonous hepatitis E virus infection in Germany with sequence similarities to other European isolates. *Infection* 34:173–175
42. Ahn J, Rayamajhi N, Gyun Kang S, Sang Yoo H (2006) Comparison of real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction and nested or commercial reverse transcriptase-polymerase chain reaction for the detection of hepatitis E virus particle in human serum. *Diagn Microbiol Infect Dis* 56:269–274
43. Enouf V, Dos Reis G, Guthmann JP, et al. (2006) Validation of single real-time TaqMan PCR assay for the detection and quantitation of four major genotypes of hepatitis E virus in clinical specimens. *J Med Virol* 78(8):1076–1082
44. Inoue J, Takahashi M, Yazaki Y, et al. (2006) Development and validation of an improved RT-PCR assay with nested universal primers for detection of hepatitis E virus strains with significant sequence divergence. *J Virol Methods* 137:325–333
45. Zhang F, Li X, Li Z, et al. (2006) Detection of HEV antigen as a novel marker for the diagnosis of hepatitis E. *J Med Virol* 78:1441–1448
46. Tian DY, Chen Y, Xia NS (2006) Significance of serum IgA in patients with acute hepatitis E virus infection. *World J Gastroenterol* 12(24):3919–3923
47. Fukuda S, Sunaga J, Saito N, et al. (2004) Prevalence of antibodies to hepatitis E virus among Japanese blood donors: identification of three blood donors infected with a genotype 3 hepatitis E virus. *J Med Virol* 73:554–561
48. Arankalle VA, Chobe LP (1999) Hepatitis E virus: can it be transmitted parenterally? *J Viral Hepat* 6:161–164
49. Zaaijer HL, Mauser-Bunschoten EP, ten Veen JH, et al. (1995) Hepatitis E virus antibodies among patients with hemophilia, blood donors, and hepatitis patients. *J Med Virol* 46(3):244–246
50. Ritter A, Witteler H, Simpson B, et al. (1993) A multi-centre study of HEV seropositivity in random blood donors. *J Hepatol* 18 (Suppl 1):25
51. Bundesanzeiger (2005) Bekanntmachung der Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) gemäß §§ 12 und 18 des Transfusionsgesetzes (TFG) (Novelle 2005) vom 19. September 2005, Bundesanzeiger Nr. 209a, 5.11.2005
52. Bundesanzeiger (2007) Bekanntmachung der Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) gemäß §§ 12 und 18 des Transfusionsgesetzes (TFG) (Änderungen und Ergänzungen 2007) vom 17. April 2007, Bundesanzeiger Nr. 92, 19.5.2007, S 5075
53. Burger R, Gerlich W, Gürtler L, et al. (2001) Hepatitis A virus. *Infus Ther Transfus Med* 28:354–360
54. Mitsui T, Tsukamoto Y, Yamazaki C, et al. (2004) Prevalence of hepatitis E virus infection among hemodialysis patients in Japan: evidence for infection with a genotype 3 HEV by blood transfusion. *J Med Virol* 74 (4):563–572
55. Barzilai A, Schulman S, Karenyi YV, et al. (1995) Hepatitis E virus infection in hemophiliacs. *J Med Virol* 46(2):153–156
56. Buti M, Jardi R, Cotrina M, et al. (1995) Hepatitis E virus infection in acute hepatitis in Spain. *J Virol Methods* 55:49–54
57. Tamura A, Shimizu YK, Tanaka T, et al. (2007) Persistent infection of hepatitis E virus transmitted by blood transfusion in a patient with T-cell lymphoma. *Hepatol Res* 37:113–120
58. Pillot J, Turkoglu S, Dubreuil P, et al. (1995) Cross-reactive immunity against different strains of the hepatitis E virus transferable by simian and human sera. *C R Acad Sci III* 318(10):1059–1064
59. Worm HC, Wirnsberger G (2004) Hepatitis E vaccines: progress and prospects. *Drugs* 64(14):1517–1531
60. Maloney BJ, Takeda N, Suzaki Y, et al. (2005) Challenges in creating a vaccine to prevent hepatitis E. *Vaccine* 23(15):1870–1874
61. Deshmukh TM, Lole KS, Tripathy AS, Arankalle VA (2007) Immunogenicity of candidate hepatitis E virus DNA vaccine expressing complete and truncated ORF2 in mice. *Vaccine* 25:4350–4360
62. Dong C, Dai X, Meng JH (2007) The first experimental study on a candidate combined vaccine against hepatitis A and hepatitis E. *Vaccine* 25(9):1662–1668
63. Shrestha MP, Scott RM, Joshi DM, et al. (2007) Safety and efficacy of a recombinant hepatitis E vaccine. *N Engl J Med* 356(9):895–903