

- [2] Prusiner, S. P.: Prions. In: Fields, B. N., Knipe, D. M., Howley, P. M., et al.: *Virology* (3d edition), Philadelphia: Lippincott-Raven (1996) 2901–2950.
- [3] Diringer, H.: Durchbrechen von Speziesbarrieren mit unkonventionellen Viren. *Bundesgesundhbl.* 33 (1990) 435–440.
- [4] Chesebro, B., and Fields, B. N.: Transmissible spongiform encephalopathies: a brief introduction. In: Fields, B. N., Knipe, D. M., Howley, P. M., et al.: *Virology* (3rd edition), Philadelphia: Lippincott-Raven, (1996) 2845–2849.
- [5] Büeler, H., Aguzzi, A., Sailer, A., Greiner, R. A., Augenried, P., Aguet, M., and Weissmann, C.: Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. *Cell* 93 (1993) 1339–1347.
- [6] Will, R. G., Ironside, J. W., Zeidler, M., Cousens, S. N., Estibeiro, K., Alperovitch, A., Poser, S., Pocchiari, M., Hofman, A., and Smith, P. G.: A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 347 (1996) 921–925.
- [7] Zeidler, M., Stewart, G. E., Barraclough, C. R., Bateman, D. E., Bates, D., Burn, D. J., Colchester, A. C., Durward, W., Fletcher, N. A., Hawkins, S. A., Mackenzie, J. M., and Will, R. G.: New Variant Creutzfeldt-Jacob disease: neurological features and diagnostic tests. *Lancet* 350 (1997) 903–907.
- [8] Chazot, G., Brousolle, E., Lapras, C., Blättler, T., Aguzzi, A., and Kopp, N.: New variant of Creutzfeldt-Jacob disease in a 26-year-old french man. *Lancet* 347 (1996) 1181.
- [9] Collinge, J., Sidle, K. C. L., Meads, J., Ironside, J., and Hill, A. F.: Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of »new variant« CJD. *Nature* 383 (1996) 685–90.
- [10] Bruce, M. E., Will, R. D., Ironside, J. W., McConnell, I., Drummond, D., Suttie, A., McCordle, L., Chree, A., Hope, J., Birkett, C., Cousens, S., Fraser, H., and Bostock, C. J.: Transmissions to mice indicate that »new variant« CJD is caused by the BSE agent. *Nature* 389 (1997) 498–501.
- [11] Hill, A. F., Desbruslais, M., Joiner, S., Sidle, K. T. S., Gowland, I., and Collinge, J.: The same prion strain causes vCJD and BSE. *Nature* 389 (1997) 448–450.
- [12] Brown, P., Preece, M. A., and Will, R. G.: »Friendly fire« in medicine: hormones, homografts, and Creutzfeldt-Jacob disease. *Lancet* 340 (1992) 24–27.
- [13] Zerr, I., Bodemer, M., Racker, S., Grosche, S., Poser, S., Kretschmar, H. A., and Weber, T.: Cerebrospinal fluid concentration of neuron-specific enolase in diagnosis of Creutzfeldt-Jacob disease. *Lancet* 345 (1995) 1609–1610.
- [14] Hsich, G., Kenney, K., Gibbs, C. J., Lee, K. H., and Harrington, M. G.: The 14-3-3 brain protein in cerebrospinal fluid as a marker for transmissible spongiform encephalopathies. *N. Engl. J. Med.* 335 (1996) 924–930.
- [15] Simon, D.: Zusammenhänge zwischen menschlichen und tierischen übertragbaren spongiformen Enzephalopathien. *RKI InfFo* 1/97 1–6.
- [16] Desinfektion und Sterilisation von chirurgischen Instrumenten bei Verdacht auf Creutzfeldt-Jacob-Erkrankungen. *Bundesgesundhbl.* 39 (1996) 282–283.
- [17] Hill, A. F., Zeidler, M., Ironside, J., and Collinge, J.: Diagnosis of new variant Creutzfeldt-Jacob disease by tonsil biopsy. *Lancet* 349 (1997) 99–100.
- [18] Richtlinien zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion (Hämotherapie). *Bundesgesundhbl.* 39 (1996) 468–489.
- [19] Löwer, J.: Creutzfeldt-Jacob-Erkrankung: Zur Diskussion um das Risiko einer Übertragung durch Blut und Blutprodukte. *Bundesgesundhbl.* 39 (1996) 284–289.
- [20] Glück, D., Elbert, G., Dengler, T., Gossrau, E., Gräßmann, W., Grimm, M., Holzberger, G., Sternberger, J., Weise, W., und Kubanek, B.: HIV-Lookback-Studie der DRK-Blutspendedienste in der BRD. *Infusionsmed.* 21 (1994) 368–375.
- [21] Ricketts, M. N., Cashman, N. R., Stratton, E. E., and ElSaadany, S.: Is Creutzfeldt-Jacob disease transmitted in blood? *Emerging Infectious Diseases* 3 (1997) 155–163.
- [22] Operskalski, E. A., and Mosley, J. W.: Pooled plasmaderivatives and Creutzfeldt-Jacob disease. *Lancet* 346 (1996) 1223.
- [23] Brown, P.: Can Creutzfeldt-Jacob disease be transmitted by transfusion? *Curr. Opin. Hematol.* 2 (1995) 472–477.
- [24] Masson, C., Delalande, I., Deslys, J. P., Hélin, D., Fallet-Bianco, C., Dormont, D., and Leys, D.: Creutzfeldt-Jacob disease after pituitary-derived human growth hormone therapy: Two cases with valine 129 homozygous genotype. *Neurology* 44 (1994) 179–180.
- [25] Créange, A., Gray, F., Cesaro, P., Adle-Bissette, H., Duvoux, C., Cherqui, D., Bell, J., Pardi, P., Gambetti, P., and Degos, J.-D.: Creutzfeldt-Jacob disease after liver transplantation. *Ann. Neurol.* 38 (1995) 269–272.
- [26] Klein, R., and Dumble, L. J.: Transmission of Creutzfeldt-Jacob disease by blood transfusion. *Lancet* 341 (1993) 768.
- [27] Esmonde, T. F. G., Will, R. G., Slattey, J. M., Knight, R., Harries-Jones, R., de Silva, R., and Matthews, W. B.: Creutzfeldt-Jacob disease and blood transfusion. *Lancet* 341 (1993) 205–207.
- [28] Wientjens, D. P. W. M., Davinipour, Z., Hofman, A., Kondo, K., Matthews, W. B., Will, R. G., and van Duijn, C. M.: Risk factors for Creutzfeldt-Jacob disease: a reanalysis of case-control studies. *Neurology* 46 (1996) 1287–1291.
- [29] Heye, N., Hensen, S., and Müller, N.: Creutzfeldt-Jacob disease and blood transfusion. *Lancet* 343 (1994) 298–299.
- [30] WHO Report of a WHO consultation on medicinal and other products in relation to human and animal transmissible spongiform encephalopathies. *WHO/EMC/ZOO/97.3-WHO/BLG/97.2* (1997).

## Parvovirus B19

### 1 Wissensstand über den Erreger

#### 1.1 Erregerigenschaften

Das Parvovirus B19 gehört zur Familie Parvoviridae, Subfamilie Parvovirinae, Genus Erythrovirus. Die Subfamilie der Parvovirinae besteht aus drei Genera: Parvovirus, Erythrovirus und Dependovirus. Das Parvovirus B19, ein krankmachender Erreger beim Menschen, ist der einzige Vertreter des Genus Erythrovirus.

Parvoviren sind nicht-umhüllte, isometrische Viren mit einem Durchmesser von 18 bis 26 nm. Die Partikel sind aus 60 Kopien des Kapsidproteins aufgebaut und enthalten einsträngige DNA positiver und negativer Polarität. Das B19-Genom hat eine Länge von 5596 Nukleotiden (nt). Die kodierende Sequenz von 4830 nt ist rechts und links von terminalen repetitiven Sequenzen mit einer Länge von je 383 nt eingegrenzt. DNA-Stränge mit positi-

ver und negativer Polarität sind in den Virionen gleich häufig verteilt.

**Replikation:** Während der Replikation können mindestens neun sich überlappende mRNA-Transkripte nachgewiesen werden, die alle am gleichen Promoter (P6) initiieren. Es gibt zwei Gruppen von mRNA, die für die Virusstrukturproteine VP1 und VP2 sowie die beiden Proteine mit 11 kDa und 7,5 kDa kodieren, jedoch nur eine mRNA-Spezies, die für das Nicht-Strukturprotein NS1 mit einem Molekulargewicht von 77 kDa kodiert.

**Strukturproteine:** Die beiden Strukturproteine VP1 und VP2 (Kapsidproteine) werden von der 3'-terminalen Hälfte des Genoms kodiert. Das Hauptstrukturprotein VP2 (58 kDa) unterscheidet sich von VP1 (84 kDa) durch eine Verkürzung des Leserahmens um 226 (227) Aminosäuren. Wie alle Parvoviren enthält B19 60 Kopien des Kapsidproteins. Viruspräparationen enthalten 95–96 % VP2 und 4–5 % VP1.

**Nicht-Struktur-Proteine (NS1):** Zwischen den NS1-Proteinen verschiedener Parvoviren besteht eine hohe Homologie; konservierte Bereiche zeigen eine signifikante Homologie zum T-Antigen von Polyomaviren und zum E1-Protein von Papillomviren.

In B19-infizierten Zellen ist NS1 im Kern lokalisiert und möglicherweise an der Regulation der Parvovirus-DNA-Synthese beteiligt. Über die biologische Funktion der 7,5 kDa- und 11 kDa-Proteine ist bisher nichts bekannt.

**Wirtszellbereich:** B19 hat einen engen Wirtszellbereich mit einem ausgeprägten Tropismus zu sich teilenden humanen erythroiden Zellen in der späten Phase des Zellzyklus. Der zelluläre Rezeptor ist das Blutgruppe-P-Antigen (Globosid, Tetrahexoseceramid). Personen mit dem seltenen p-Phänotyp sind natürlicherweise resistent gegenüber B19-Virusinfektionen. Die Anwesenheit von P-Antigen in verschiedenen Geweben spiegelt den Zelltropis-

mus des B19-Virus wieder. Das P-Antigen findet man auf Erythroblasten und Megakaryozyten sowie auf Endothelzellen und fetalen Myokardzellen.

Die Vermehrung in Endothelzellen kann die transplazentare Transmission, den Ausschlag bei Erythema infectiosum und die Vaskulitis erklären.

**In-vitro-Vermehrung:** B19-Virus vermehrt sich in Vorläuferzellen der roten Blutzellen. Die Vermehrung wurde in menschlichen Knochenmarkszellen, fetalen Leberzellen, erythroiden Zellen von Patienten mit einer Erythroleukämie, Nabelschnurzellen und peripheren Blutzellen nachgewiesen. Erythropoietin im Medium ist notwendig, um die Proliferation der erythroiden Zellen aufrechtzuerhalten.

B19-Virus vermehrt sich unter Ausbildung eines zytopathischen Effekts, der möglicherweise durch Apoptose zustande kommt.

## 1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Experimentelle Infektionen von Freiwilligen haben Erkenntnisse zu virologischen, immunologischen, hämatologischen und klinischen Befunden ergeben (Übersicht 1).

Die Mehrzahl der B19-Virusinfektionen verläuft *klinisch asymptomatisch*. Das Auftreten von B19-spezifischen IgG-Antikörpern weist auf eine durchgemachte B19-Virusinfektion hin. Der Nachweis von spezifischem IgM oder Virus-DNA durch Hybridisierung zeigt eine bestehende oder kürzlich abgelaufene Infektion an. Mit der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) oder anderen Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT) kann teilweise über Monate zirkulierende B19-DNA nachgewiesen werden (z. B. vier Monate: Zanella, A., et al. 1995 [1]). Interpretationen dieser Resultate und Schlüsse auf Krankheitsbilder sind daher schwierig. Eine Vielzahl klinischer Erkrankungen ist B19-Virus-bedingt.

**Erythema infectiosum** (Ringelröteln, Morbus quintus, engl. *Fifth Disease*)

Das Krankheitsbild (fleckiger makulopapulöser Ausschlag, an den Wangen beginnend und sich hauptsächlich auf exponierte Teile der Extremitäten ausbreitend) (Differentialdiagnose: Röteln und Enterovirusinfektionen) wird durch Antigen-Antikörperkomplexbildung und Ablagerung in Haut und Gelenken hervorgerufen. Bei Kindern beobachtet man meist leichtes Fieber und Unwohlsein. Im Erwachsenenalter sind rheumatische Komplikationen häufig (Entzündungen der Gelenke vergleichbar der rheumatischen Arthritis).

**Transiente aplastische Krise** (engl. *transient aplastic crisis*, TAC)

Die Erkrankung tritt bei Patienten mit einer hämolytischen Anämie, verkürzter Erythrozytenüberlebenszeit, vererbbarer Sphärozytose und bei erhöhter Erythrozytenproduktion auf (Eisenmangel, akute Hämorrhagien). TAC manifestiert sich durch Anämie, Retikulozytopenie, Aplasie der roten Blutzellen; es können Knochenmarksnekrosen auftreten und der Verlauf kann letal sein; Transfusion ist eine adäquate Therapie. Die Krankheit ist

## Übersicht 1: Krankheitsbilder

- Erythema infectiosum (Ringelröteln, Morbus quintus, engl. Fifth Disease)
- Arthralgie (8 % der infizierten Kinder, 80 % bei Erwachsenen)
- Arthritis
- Aplastische Krise bei chronisch hämolytischen Erkrankungen
- Fetale Anämie
- chronische Anämie (bei immunsupprimierten Patienten und Patienten mit Leukämien)
- Hydrops fetalis
- kongenitale rote Blutzellaplasie
- Myokarditis
- Vaskulitis
- Glomerulonephritis

selbstlimitierend, und die Immunantwort schützt vor Rekurrenzen und Neuinfektion.

### *Hydrops fetalis und kongenitale Infektionen*

Parvovirus B19-Infektionen bei nicht-immunen schwangeren Frauen können zur Übertragung des Virus auf den Fetus führen [2]. Das Risiko einer Fruchtschädigung ist im ersten und zweiten Trimenon am höchsten. Es wird über Hydrops fetalis (etwa 20 %), Fruchttod (9 %) bzw. Spontanaborte (5 %) berichtet [3,4]. Am besten sind die Infektionen im mittleren Trimenon untersucht. Beim Fetus sind im wesentlichen die Leber (Erythrozytenproduktion) und teilweise das Herz (fetale Myokardzellen exprimieren das P-Antigen) produktiv befallen. Unbehandelte Anämie und Herzversagen führen zu massiven Ödemen des Hydrops und Fruchttod in utero oder kurz nach der Geburt. Kongenitale Infektionen können zu persistierenden Infektionen führen. Eine Therapie ist durch In-utero-Transfusion möglich, wobei bei behandelten Neugeborenen Virus im Knochenmark, nicht aber in der Zirkulation nachweisbar war und Krankheitsbilder wie erythroide Hypoplasie (Diamond-Blackfan Anämie) oder erythroide Dysplasie beobachtet wurden.

## 1.3 Epidemiologie

Parvovirus B19 ist weltweit verbreitet. In den entwickelten Ländern haben 2–10 % der Kinder unter fünf Jahren eine Infektion durchgemacht, Personen über 20 Jahre zeigen in 40–60 %, über 70jährige in über 85 % Antikörper gegen B19. Untersuchungen bei Blutspendern weisen eine 60%ige Durchseuchungsrate nach.

B19-Infektionen werden in Regionen mit gemäßigttem Klima (Europa) hauptsächlich im Spätwinter bis Frühsommer beobachtet. Epidemien treten mit einer Periodizität von etwa vier bis fünf Jahren auf.

Das Virus wird hauptsächlich über den Respirationstrakt übertragen.

## 1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

### 1. Antikörper-Nachweis:

Kommerzielle Tests zum Nachweis von IgG- oder IgM-Antikörpern im Serum werden als ELISA oder Immunfluoreszenzteste von ver-

schiedenen Firmen angeboten. Überwiegend werden rekombinante Antigene (VP2 und VP1, Baculovirus-System) in den Testen eingesetzt. Für die Bestätigung positiver Befunde stehen Western Blot-Teste zur Verfügung, die ebenfalls mit rekombinanten Antigenen ausgerüstet sind.

Die Anwesenheit von IgG-Antikörpern weist auf eine überstandene Infektion und Immunität hin. IgM-Antikörper zeigen eine bestehende oder kürzlich überstandene Infektion an.

*Nach den Aussagen verschiedener Laboratorien sind Spezifität und Sensitivität dieser Testsysteme bisher nicht ausreichend. Es besteht Bedarf an Verbesserung.*

### 2. Antigen-Nachweis:

Monoklonale Antikörper werden zum Nachweis von Virus und von infizierten Geweben eingesetzt, werden aber nicht kommerziell vertrieben.

In Japan soll ein passiver Hämagglutinationstest zum Antigennachweis entwickelt worden sein, der zur Erkennung hoch-virämischer Spender in der Blutbank angewendet werden kann.

### 3. Viruspartikel-Nachweis:

Immunelektronenmikroskopie.

### 4. Genom-Nachweis:

Der Dot-Blot eignet sich zum Nachweis von B19-Virus in der virämischen Phase (Titration). Die PCR erlaubt einen sensitiven Nachweis von B19-DNA. Bei Untersuchungen mit der PCR wurde gezeigt, daß in Einzelfällen B19-DNA noch Monate nach der akuten Infektion in Serum/Plasma nachweisbar ist.

## 2 Blut und Plasmaspender

### 2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Grundsätzlich entsprechen Prävalenz und Inzidenz der B19-Infektion bei Blutspendern denen der Normalbevölkerung.

Bei Testung von Blutspendern auf B19-DNA mit der PCR in Schottland war in der saisona-

len Phase der B19-Infektion in einem von ca. 300 Blutspendern B19-DNA nachgewiesen worden; Yoto et al. [5] berichteten von einer Häufigkeit von 1:167 Spenden. Außerhalb dieser Zeit sollte mit einer Häufigkeit von 1:10 000 bis 1:50 000 gerechnet werden [6–9].

Die in der Literatur dargestellten Ergebnisse über die Häufigkeit des B19-Nachweises bei Blutspendern sind meist nicht direkt miteinander zu vergleichen, da Tests unterschiedlicher Sensitivität (*Immunodiffusion, Gegenstrom-elektrophorese, Dot-Blot, PCR*) für die Erhebung der Daten verwendet wurden.

## 2.2 Definition von Ausschlußkriterien

Es gibt keine spezifischen Ausschlußkriterien (s. auch 2.4).

## 2.3 Spenderfeststellung und Aussagekraft

Die Feststellung des Spenders oder der Spenden auf Parvovirus B19 ist in der Richtlinie für Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion (Hämotherapie) [Bundesgesundhbl. 38, 12 (1996) 468–489] sowie in den Empfehlungen des Europarates und der WHO zu Blut und Blutzubereitungen (BANz, Nr. 70 a vom 12. April 1996) nicht vorgeschrieben.

Mit Feststellung auf IgG-Antikörper könnte der Anteil der immunen Spender erfaßt werden. Die Suche nach virämischen Spendern würde jedoch nur durch Nachweis des Virusgenoms (z. B. durch NAT) möglich sein.

In Japan wird erwogen, einen Antigen-Test auf der Basis der passiven Hämagglutination für das Screenen von Spenden einzuführen. Die Anwendung eines solchen Testes würde die Kontamination von Spenden mit B19 nicht verhindern, könnte aber die Erkennung hochvirämischer Spenden ermöglichen (Information bei internem Gespräch mit einer Delegation des japanischen Gesundheitsministeriums 1996 im Paul-Ehrlich-Institut).

## 2.4 Spenderbefragung

Da die B19-Infektion zu einem großen Teil asymptomatisch verläuft und eine hohe Virusbelastung (bis zu  $10^{11}$  Genomäquivalente/ml) in der subklinischen Phase auftreten kann, ist durch die Spenderbefragung die Erkennung von infizierten Spendern kaum möglich. Es ist daher auch ein Sicherheitsgewinn für Plasma durch Quarantänelagerung kaum zu erwarten oder nur dann gegeben, wenn die Infektion im gegebenen Zeitraum klinisch manifest geworden war, vom Spender als Erkrankung erkannt und bei der Befragung angegeben wird.

## 2.5 Spenderinformation und -beratung

Entfällt

## 3 Empfänger

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

Grundsätzlich entsprechen Prävalenz und Inzidenz der B19-Infektion bei Empfängern von

Blutprodukten denen der Normalbevölkerung. Bei Patienten, die langfristig mit Gerinnungsfaktorkonzentraten behandelt wurden, Hämophilie-A-Patienten, wurde von einer höheren Prävalenz von IgG-Antikörpern, vor allem bei Kindern, berichtet [10, 11]. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß auch mit inaktivierten Faktor-VIII-Konzentraten B19 übertragen worden ist.

Betrachtet man die Frequenz des B19-DNA-Nachweises bei Blutspendern (s. 2.1), müßten Spenden, die infektiöses B19 enthalten, relativ oft auftreten. Es müßten deshalb bei der Anwendung zellulärer Blutkomponenten oder Plasma (FFP) Virusübertragungen beobachtet werden. Fallberichte sind jedoch selten publiziert worden (s. drei Publikationen zitiert in [1, 7]). 1995/1996 sind keine Meldungen über Verdachtsfälle einer B19-Infektion im Zusammenhang mit der Gabe zellulärer Präparate oder FFP im Paul-Ehrlich-Institut (PEI) eingegangen.

Prinzipiell sollte eine B19-Übertragung auch nach Anwendung von mit dem Methylenblau(MB)/Licht-Verfahren inaktiviertem Plasma auftreten können. Es wurde gezeigt, daß das MB/Licht-Verfahren keine oder eine nur geringe Wirksamkeit zur Inaktivierung von Parvovirus hat. Eine Kontamination des Plasmas würde somit durch das Verfahren nicht oder nicht vollständig beseitigt werden können.

Eine Kontamination von Plasma, das nach dem S/D-Verfahren hergestellt wurde, ist nicht auszuschließen. Die Inaktivierung wird in Plasmapools von ca. 500 l vorgenommen, und es ist zu erwarten, daß je nach epidemiologischer Lage die Pools teilweise kontaminiert sind. Das S/D-Verfahren kann Viren ohne lipidhaltige Virushülle nicht inaktivieren. Es kann allerdings davon ausgegangen werden, daß die im Pool immer vorhandenen Antikörper ausreichend sind, um die durch eine oder mehrere infektiöse Spenden eingetragenen Erreger zu neutralisieren. Es gibt keine Meldungen über den Verdacht der B19-Übertragung durch MB- oder SD-Plasma in den Jahren 1995/96 an das PEI.

Eine Kontamination von Gerinnungspräparaten mit B19 ist durch B19-DNA-Nachweis in verschiedenen Gerinnungspräparaten gezeigt worden [12, 13; Untersuchungen PEI].

Die Herstellungsverfahren für Gerinnungspräparate sind gegenwärtig nicht in der Lage, eine B19-Kontamination mit Sicherheit auszuschließen, und es ist daher davon auszugehen, daß auch bei Präparaten, die einer Hitzebehandlung unterzogen werden, eine Kontamination mit infektiösen Erregern möglich ist. Es sind Einzelfallberichte der B19-Übertragung durch Gerinnungsfaktoren publiziert worden, jedoch sind Meldungen über den Verdacht einer B19-Infektion im Zusammenhang mit der Gabe von Gerinnungsfaktoren selten. 1995/96 sind im PEI keine Meldungen eingegangen.

Auch in Immunglobulin-Präparaten, IVIG und IMIG, ist teilweise B19-DNA nachgewiesen worden [14; Untersuchungen im PEI]. Es

scheint jedoch keine Infektiosität zu bestehen. Der Gehalt an B19-Antikörpern mit neutralisierenden Eigenschaften könnte dafür verantwortlich sein. Immunglobuline wurden erfolgreich für die Therapie der akuten B19-Infektion eingesetzt [15]. B19-Übertragungen durch Immunglobuline sind bisher nicht belegt.

Es liegen Berichte vor über den Nachweis von B19-DNA in Albumin-Präparaten in gentechnisch hergestellten Gerinnungspräparaten, die mit Human-Albumin stabilisiert wurden [11, 14]. Eine Bewertung dieser Befunde ist schwierig. Es gibt Hinweise darauf, daß ein B19-DNA-Nachweis im Albumin nicht mit einer Infektiosität des Präparates korreliert. Wäre dies der Fall, wäre bei der hohen Dosierung von Albumin zu erwarten, daß B19-Infektionen im Zusammenhang mit einer Albumin-Infusion schon beobachtet worden wären. Fallberichte über eine B19-Infektion sind jedoch bisher weder publiziert noch an das PEI gemeldet worden. Gleiche Sicherheit hinsichtlich B19 ist von Präparaten anzunehmen, die Albumin als Stabilisator enthalten, wenn das verwendete Albumin den Anforderungen des Arzneibuches (DAB 10) entspricht.

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

Eine durchgemachte Infektion führt zur Bildung von IgG-Antikörpern und Immunität. IgG-Antikörper haben neutralisierende Aktivität.

Es scheint Einzelfälle zu geben, bei denen dies nicht zutrifft: so haben Kerr et al. [16] zwei Fälle beschrieben, in denen trotz Anwesenheit von IgG-Antikörpern B19-DNA über einen langen Zeitraum nachweisbar blieb (Beobachtungszeitraum 57 Monate). Bei diesen Patienten bestand keine klinische Symptomatik. Diese Ergebnisse stellen die bisherige Meinung in Frage, daß Viruspersistenz und -reaktivierung nur bei gestörter immunologischer Abwehrlage vorkommen kann.

Bisher nicht untersucht ist die Frage, ob ein Patient, bei dem IgG-Antikörper gegen B19 nachgewiesen werden können, bei intravenöser Applikation eines gegebenenfalls kontaminierten Präparates vor einer Infektion geschützt ist. Die Tatsache, daß nur sehr selten eine B19-Infektion nach Applikation von Gerinnungspräparaten berichtet wird, weist darauf hin, daß eine erworbene Immunität ausreichend sein sollte, um den Patienten vor einer erneuten Infektion zu bewahren.

### 3.3 Schwere und Verlauf der Erkrankung

Einzelheiten sind bereits unter 1.2 wiedergegeben. Persistierende Infektionen und Erkrankungen mit teilweise schweren Krankheitsbildern werden von Patienten mit Immundefizienz, z. B. HIV-Infizierten, berichtet [17].

In zwei Fällen wurde von einer Infektion immunkompetenter hämphiler Patienten mit schwerer, teilweise lebensbedrohlicher Symptomatik [18, 19] berichtet.

Allgemein muß mit einem schwereren Krankheitsverlauf gerechnet werden, wenn die B19-Infektion im höheren Lebensalter erfolgt.

### 3.4 Therapie- und Prophylaxemöglichkeiten

**Impfstoff:** Es gibt Projekte zur Entwicklung eines Impfstoffs. Ein Impfstoff wird aber in absehbarer Zeit nicht zur Verfügung stehen.

Versuche mit experimentellen Vakzinen weisen darauf hin, daß das Verhältnis der Proteinbausteine VP1 und VP2 einen wesentlichen Einfluß auf die Bildung neutralisierender Antikörper im Tierversuch hat. Ein Immunogen, das  $\geq 25\%$  VP1 enthält, induzierte neutralisierende Antikörper [20].

**Passive Immunisierung:** Es gibt kein spezifisches Immunglobulin, das mit der Indikation zur Behandlung einer akuten oder persistierenden B19-Infektion zugelassen ist.

Aufgrund der hohen Durchseuchung mit Parvovirus B19 enthalten kommerzielle Immunglobulinpräparate neutralisierende Antikörper. Es sind Fallberichte publiziert worden, bei denen durch Behandlung mit Immunglobulin eine B19-Infektion erfolgreich behandelt werden konnte.

### 3.5 Übertragbarkeit

Eine B19-Infektion erfolgt über den Respirationsstrakt bei engem persönlichen Kontakt.

### 3.6 Häufigkeit und Menge der Applikation von Blutprodukten

Eine B19-Kontamination zellulärer Blutkomponenten ist möglich. Eine Belastung von Plasmaderivaten mit Parvovirus B19 ist nach gegenwärtigen Erkenntnissen besonders bei Gerinnungsfaktoren-Konzentraten (Faktor VIII, IX, PPSB) nicht auszuschließen. Da insbesondere bei Patienten mit Hämophilie A oder B Gerinnungsfaktoren häufig appliziert werden müssen, ist diese Patientengruppe einem besonderen Risiko ausgesetzt.

## 4 Blutprodukte

### 4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Untersuchungen verschiedener Gruppen zur Häufigkeit von Blutspenden in der virämischen Phase einer B19-Infektion haben in Abhängigkeit von Methode und Zeitpunkt der Untersuchung eine Rate von 1 : 170 bis 1 : 50 000 ergeben. Die Untersuchung von Plasmapools [14] bestätigt die relativ hohe Häufigkeit: 64/75 Pools (87 %) von fünf Herstellern enthielten B19-DNA. Im PEI (Angabe Mitte 1996) waren 39 Pools untersucht worden und 35 davon waren B19-DNA positiv. Ebenso wie Saldanha und Minor [14], die in 3/12 Albumin-, 7/7 Faktor VIII-, 3/15 IVIG-, 3/4 IMIG-Präparaten B19-DNA nachgewiesen hatten, war bei den Untersuchungen im PEI in 8/12 Produkten B19-DNA nachweisbar gewesen. Dieser relativ hohen Rate des B19-DNA-Nachweises in Produkten steht eine relativ selten berichtete Übertragung des Virus gegenüber.

Zum Virus-Nachweis ist momentan nur der DNA-Nachweis geeignet, und es wird dafür überwiegend die NAT eingesetzt. Es existieren keine zuverlässigen serologischen Methoden zum Nachweis des Virusantigens; die Virusisolierung ist schwierig und für die Bestätigung positiver Ergebnisse mit der NAT momentan nicht oder nur eingeschränkt verwendbar.

### 4.2 Möglichkeiten der Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

Es liegen bisher nicht viele aussagefähige Studien mit Parvovirus vor. Parvovirus wird bei der Fraktionierung durch Verteilung in nicht-weiterverarbeitete Fraktionen teilweise entfernt. Thermische Behandlungen reduzieren den Virusgehalt, wobei der Grad der Inaktivierung von den gewählten Bedingungen abhängig ist. Aus Untersuchungen mit animalen Parvoviren muß geschlossen werden, daß gegenwärtig keine Methode verfügbar ist, die Parvovirus zuverlässig entfernen oder inaktivieren könnte.

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

Die Testung der Abtrennung oder Inaktivierung von B19 im Verlauf der Produktion von Plasmaderivaten ist nicht direkt mit B19 zu untersuchen, da die Kultivierung des Virus zu große Schwierigkeiten bereitet. Für die Untersuchungen werden daher tierische Parvoviren eingesetzt: im Leitfaden (CPMP/268/95 »Virus Validation Studies: the design, contribution and interpretation of studies validating the inactivation and removal of viruses«) werden als mögliche Modellviren alle bisher für diesen Zweck verwendeten Viren aufgeführt: canines, murines, bovines, porcines Parvovirus. Es scheint Antikörper gegen bovines Parvovirus in Humanserum oder Kreuzreaktivität zwischen dem humanen und bovinen Parvovirus zu geben, so daß bei Verwendung von bovinem Parvovirus für Virus-Validierungsstudien das Plasma zuvor auf Eignung zu prüfen ist.

Animale Parvoviren eignen sich für Virus-Validierungsstudien, da sie sich in Zellkultursystemen nachweisen und dort zu hohen Titern züchten lassen. Es gibt bisher wenig Untersuchungen über die Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit verschiedenen Modellviren und dem humanen Parvovirus B19.

Es gibt weiterhin bisher zu wenig Daten über den B19-DNA-Gehalt in Plasmaderivaten in Abhängigkeit von der Art des Produktes und des Herstellungsverfahrens, die allgemeine Schlußfolgerungen auch auf die Aussagefähigkeit der mit den Modellviren erhaltenen Daten erlauben. Hier wird dringender Forschungsbedarf gesehen.

Forschungsbedarf besteht auch bei der Bestimmung des für die Sicherheit von Immunglobulinen und SD-Plasmas notwendigen Antikörpergehaltes. Für die Testung auf Antikörper stehen kommerzielle Tests zur Verfügung. Es ist bisher nicht bekannt, welcher Gehalt an neutralisierenden Antikörpern Schutz vor einer Infektion bedeutet. Es ist daher gegenwärtig keine Aussage darüber möglich, welcher

Antikörper titer, z. B. gemessen im ELISA, erforderlich und zu fordern ist.

## 5 Bewertung

Parvovirus B19 ist in Deutschland endemisch. Die Durchseuchung ist bei Personen über 20 Jahre 40–60 %. Sie wird für Blutspender mit ca. 60 % angegeben. Es ist selten, aber nicht auszuschließen, daß eine Spende in der virämischen Phase ohne klinische Symptomatik erfolgt.

Infektionen mit Parvovirus B19 verlaufen in der Regel harmlos. Schwere Verläufe treten nur selten und vor allem bei immunsupprimierten Patienten auf. Es gibt keine Meldung über Verdachtsfälle der B19-Übertragung bei der Anwendung von Blutkomponenten oder Plasmaderivaten (mit »möglicher oder wahrscheinlicher Kausalität«) an das PEI in den Jahren 1995/96.

Um verlässlichere Daten zur Übertragbarkeit zu erhalten, sollten die Ärzte nochmals eingehend auf die Problematik hingewiesen und aufgefordert werden, ihre Patienten dahingehend zu beobachten und bei Verdacht auf eine B19-Übertragung durch Blutkomponenten oder Plasmaderivate Meldung zu erstatten. Hierzu soll auf der Grundlage des vorliegenden Papieres eine Übersichtsarbeit in »Infusionstherapie und Transfusionsmedizin« veröffentlicht werden.

Wenn es der behandelnde Arzt bei der Therapie mit Blut-Komponenten in besonderen Fällen (z. B. bei Schwangeren im 1. und 2. Trimenon, bei HIV-Infizierten, bei Patienten nach Hochdosis-Chemotherapie mit Stammzelltransplantation) für erforderlich hält, die mit einer möglichen Übertragung verbundenen Risiken zu vermeiden, ist eine derzeit praktikable Möglichkeit, Blut-Komponenten von Spendern zu verwenden, die IgG-Antikörper gegen B19 aufweisen.

Es gibt bei der Herstellung von Plasmaprodukten gegenwärtig keine Methode, die eine Kontamination der Präparate sicher verhindern kann. Untersuchungen von Plasmaderivaten auf B19-DNA zeigen, daß das Virusgenom insbesondere in Gerinnungsfaktor-Konzentraten nachweisbar ist. Es fehlen genauere Untersuchungen, die Schlußfolgerungen zulassen

- über eine Korrelation zwischen Anwesenheit von B19-DNA und Infektiosität,
- auf die Abhängigkeit des B19-DNA-Gehaltes im Präparat vom Herstellungsverfahren,
- auf den für bestimmte Präparate (Immunglobuline, SD-inaktiviertes Plasma) zu fordernden Antikörpergehalt.

Es besteht Forschungsbedarf hinsichtlich der Entwicklung wirksamer Methoden zur Eliminierung/Inaktivierung von B19 und der Charakterisierung dieser Methoden durch Modellviren, sowie in der Entwicklung von Impfstoffen.

Diese Forschungen sind mit Nachdruck zu fordern.

Dieses Papier wurde vom Arbeitskreis Blut am 16. 4. 1997 verabschiedet. Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergruppe »Bewertung Blut-assoziiertes Krankheitsreger« des Arbeitskreises Blut: Prof. Dr. Reinhard Burger, Prof. Dr. Wolfram Gerlich, Prof. Dr. Lutz Gürtler, Dr. Margarethe Heiden, Prof. Dr. Volker Kretschmer, Dr. Hans Lefèvre, PD Dr. Johannes Löwer, Dr. Thomas Montag-Lessing, PD Dr. Rainer Neumann, Prof. Dr. Georg Pauli, Prof. Dr. Rainer Seitz, Dipl.-Med. Uwe Schlenkrich, Dr. Edgar Werner, Dr. Hannelore Willkommen.

#### Literatur:

- [1] Zanella, A., Rossi, F., Cesana, C., Foresti, A., and Nador, F., et al.: Transfusion-transmitted human parvovirus B19 infection in a thalassemic patient. *Transfusion* 35 (1995) 769–772.
- [2] Schneider, J., und Weitzel, H. (Hrsg.): *Erkrankungen in der Schwangerschaft: Ein Leitfaden mit Therapieempfehlungen für Klinik und Praxis*. Stuttgart: Wiss. Verlagsgesellschaft 1990.
- [3] Hall, S. M., Cohen, B. J., Mortimer, P. P., Anderson, M. J., Pattison, J. R., Shirley, J. A., and Peto, T. E. A.: Prospective study of human parvovirus (B19) infection in pregnancy. *Br. Med. J.* 300 (1990) 1166–1170.
- [4] Rodis, J. F., Quinn, D. L., Gary jr., G. W., and Anderson, L. J.: Management and outcomes of pregnancies complicated by human B19 parvovirus infection: a prospective study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 163, 4 (1990) 1168–1171.
- [5] Yoto, Y., Kudoh, T., Haseyama, K., Suzuki, N., Matsunaga, Y., and Chiba, S.: Large-scale screening for human Parvovirus B19 DNA in clinical specimens by dot blot hybridization and polymerase chain reaction. *J. Med. Virol.* 47 (1995) 438–441.
- [6] McOmish, F., Yap, P. L., Jordan, A., Hart, H., Cohen, B. J., and Simmonds, P.: Detection of parvovirus B19 in donated blood: a model system for screening by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 31 (1993) 323–328.
- [7] Schwarz, T. F.: Übertragung von Parvovirus B19 durch Blut und Blutkomponenten. *Transfusionsther. Transfusionsmed.* 21 (suppl1) (1994) 27–31.
- [8] Tsujimura, M., Matsushita, K., Shiraki, H., Sato, H., Okochi, K., and Maeda, Y.: Human Parvovirus B19 infection in blood donors. *Vox Sang* 69 (1995) 206–212.
- [9] Prowse, C., Ludham, C. A., and Yap, P. L.: Human parvovirus B19 and blood products. *Vox Sang* 72 (1997) 1–10.
- [10] Große-Bley, A., Eis-Hübinger, A., Kaiser, R., Oldenburg, J., and Brackmann, H. H., et al.: Serological and virological markers of human parvovirus B19 infection in sera of hemophiliacs. *Thrombosis and Haemostasis* 72, 4 (1994) 503–507.
- [11] Eis-Hübinger, A. M., Oldenburg, J., Brackmann, H. H., Matz, B., and Schneewis, K. E.: The prevalence of antibody to Parvovirus B19 to hemophiliacs and in the general population. *Zbl. Bakt.* 284, (1996a) 232–240.
- [12] Morfini, M., Longo, G., Rossi Ferrini, P., Azzi, A., and Zakrewskaya, C., et al.: Hypoplastic anemia in a hemophilic first infused with a Solvent/Detergent treated factor VIII concentrate: the role of human B19 parvovirus. *Amer. J. Hematol.* 39 (1992) 149–150.
- [13] Lefrère, J.-J., Marotti, M., and Thauvin, M.: B19 parvovirus DNA in solvent/detergent-treated anti-hemophilia concentrates. *Lancet* 343 (1994) 211–212.
- [14] Eis-Hübinger, A. M., Sasowski, U., Brackmann, H. H., Kaiser, R., Matz, B., and Schneewis, K. E.: Parvovirus B19 DNA is frequently present in recombinant coagulation factor VIII products. *Thrombosis and Haemostasis* 76 (1996b) 1120.
- [15] Saldanha, J., and Minor, P.: Detection of human parvovirus B19 DNA in plasma pools and blood products derived from these pools: implications for efficiency and consistency of removal of B19 DNA during manufacture. *Brit. J. Haematol.* 93 (1996) 714–719.
- [16] Young, N. S.: Parvovirus infection and its treatment. *Clin. Exp. Immunol.* 104 (1996) 26–30.
- [17] Kerr, J. R., Curran, M. D., Moore, J. E., Coye, P. V., and Ferguson, W. P.: Persistent Parvovirus B19 infection. *Lancet* 345 (1995) 1118.
- [18] Frickhofen, N., Abkowitz, J. L., Safford, M., Berry, J. M., Antunez-de-Mayolo, J., Astrow, A., Cohen, R., and Halperin, I., et al.: Persistent B19 Parvovirus infection in patients infected with Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1): a treatable cause of anemia in AIDS. *Annals of Internal Medicine* 113 (1990) 926–933.
- [19] Yee, T. T., Lee, C. A., and Pasi, K. J.: Life-threatening parvovirus B19 infection in immunocompetent haemophilia. *Lancet* 345 (1995) 794–795.
- [20] Yee, T. T., Cohen, B. J., Pasi, K. J., and Lee, C. A.: Transmission of symptomatic Parvovirus B19 infection by clotting factor concentrate. *Br. J. Haematol.* 93 (1996) 457–459.
- [21] Tsao, E. I., Mason, M. R., Cacciuto, M. A., Bowen, S. H., and Folea-Waaserman, G.: Production of Parvovirus B19 Vaccine on Insect Cells Co-Infected with Double Baculoviruses. *Biotech. Bioengin.* 49 (1996) 130–138.
- [22] Fairley, C. K., Smoleniec, J. S., Caul, O. E., and Miller, E.: Observational study of effect of intrauterine transfusions on outcome of fetal hydrops after Parvovirus B19 infection. *Lancet* 346 (1995) 1335–1337.
- [23] Gerike, E., Schwarz, T. F., Roggendorf, M., Schreier, E., Hottenrager, B., Dittmann, S., and Deinhardt, F.: Zur Bedeutung und Diagnostik von Parvovirus B19-Infektionen in Ostdeutschland. *Z. Klin. Med.* 46, 11 (1991) 813–815.
- [24] Jobanputra, P., Davidson, F., Graham, S., O'Neill, H., Simmonds, P., and Yap, P. L.: High frequency of Parvovirus B19 in patients tested for rheumatoid factor. *BMJ* 311 (1995) 1542.
- [25] Kerr, J. R., and Boyd, N.: Autoantibodies following Parvovirus B19 infection. *Br. Soc. Study Infect.* 32 (1996) 41–47.
- [26] Kerr, J. R., Coyle, P. V., DeLeys, R. J., and Patterson, C. C.: Follow-up study of clinical and immunological findings in patients presenting with acute Parvovirus B19 infection. *J. Med. Virol.* 48 (1996) 68–75.
- [27] Kerr, J. R.: Parvovirus B19 infection. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 15 (1996) 10–29.
- [28] Langnas, A. N., Markin, R. S., Cattral, M. S., and Naides, S. J.: Parvovirus B19 as a possible causative agent of fulminant liver failure and associated aplastic anemia. *Hepatology* 22, 6 (1995) 1661–1664.
- [29] Von Poblitzki, A., Gigler, A., Lang, B., Wolf, H., and Modrow, S.: Antibodies to Parvovirus B19 NS-1 protein in infected individuals. *J. Gen. Virol.* 76 (1995) 519–527.
- [30] Von Poblitzki, A., Hemauer, A., Gigler, A., Puchhammer-Stöckl, E., Heinz, F. X., Pont, J., Laczika, K., Wolf, H., and Modrow, S.: Antibodies to the nonstructural protein of parvovirus B19 in persistently infected patients: implications for pathogenesis. *J. Infect. Dis.* 172 (1995) 1356–1359.
- [31] Sasaki, T., Murai, C., Muryoi, T., Takahashi, Y., Munakata, Y., Sugamura, K., and Abe, K.: Persistent Infection of human Parvovirus B19 in a normal subject. *Lancet* 346 (1995) 851.
- [32] Sato, H., Takakura, F., Kojima, E., Fukada, K., Okochi, K., and Maeda, Y.: Screening of blood donors for human Parvovirus B19. *Lancet* 346 (1995) 1237–1238.
- [33] Schwarz, T. F., Serke, S., von Brun, A., Hottenrager, B., Huhn, D., Deinhardt, F., and Roggendorf, M.: Heat stability of Parvovirus B19: Kinetics of inactivation. *Zbl. Bakt.* 277 (1992) 219–223.
- [34] Williams, et al.: Transmission of human Parvovirus B19 by coagulation factor concentrates. *Vox Sang* 58 (1990) 177–181.
- [35] Yoto, Y., Kudoh, T., Haseyama, K., Suzuki, N., and Chiba, S.: Human parvovirus B19 infection associated with acute hepatitis. *Lancet* 347 (1996) 868–869.
- [36] Yoto, Y., Kudoh, T., Haseyama, K., Suzuki, N., Oda, T., Katoh, T., Takahashi, T., Sekiguchi, S., and Chiba, S.: Incidence of human Parvovirus B19 DNA detection in blood donors. *Brit. J. Haematol.* 91 (1995) 1017–1018.

#### Weiterführende Literatur:

- Bansal, G. P., Hatfield, J. A., Dunn, F. E., Kramer, A. A., Brady, F., Riggan, C. H., Collett, M. S., Yoshimoto, K., Kajigava, S., and Young, N. S.: Candidate recombinant vaccine for human B19 Parvovirus. *JID* 167 (1993) 1034–1044.
- Brown, K. E., and Young, N. S.: Parvovirus B19 infection and hematopoiesis. *Blood Reviews* 9 (1995) 176–182.
- Cohen, B.: Parvovirus B19: An expanding spectrum of disease. *BMJ* 311 (1995) 1549–1551.
- Duthie, S. J., and Walkinshaw, S. A.: Parvovirus associated fetal hydrops: reversal of pregnancy induced proteinuric hypertension by in utero