

# Parvovirus B19

## Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit

**D**er Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit und Soziale Sicherung 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 wurde 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), (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), *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), *Hepatitis-E-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 1, 90–97, 2008), *Malaria* (Bundesgesundheitsbl. 2, 236–249, 2008), *Arboprotzoen* (Bundesgesundheitsbl. 2, 123–146, 2009), *Humanes Cytomegalievirus (HCMV)* (Bundesgesundheitsbl. im Druck) und *Orthopockenviren: Infektionen des Menschen* (Bundesgesundheitsbl. im Druck)

### 1. Wissensstand über den Erreger

#### 1.1 Erregerereigenschaften

Das humane Parvovirus B19 (B19V) wurde 1975 durch Zufall in einem Serum mit hämagglutinierender Aktivität (Serum Nr. 19 in der Reihe B) bei der Testung von Seren entdeckt [1]. Jahre später wurde dieses Virus im Blut von Patienten mit grippalen Symptomen oder mit aplastischen Krisen nachgewiesen. 1983 gelang der Nachweis, dass dieses Virus die Ringelröteln (*Erythema infectiosum*) bei Kindern hervorruft [2].

Das Parvovirus B19 gehört zur Familie Parvoviridae, Subfamilie Parvovirinae. Die Subfamilie der Parvovirinae wird aufgrund ihrer biologischen Eigenschaften in drei Genera unterteilt: *Parvovirus*, *Erythrovirus* und *Dependovirus*. Dependoviren benötigen für ihre Vermehrung sogenannte Helferviren (Adenoviren, Herpesviren), während die autonomen Parvoviren (Genera *Parvovirus* und *Erythrovirus*) sich selbständig vermehren

können. Autonome Parvoviren sind bei Wirbeltieren weit verbreitet. Parvoviren, die sich nur in erythroiden Zellen (Knochenmark) vermehren, werden dem Genus *Erythrovirus* zugeordnet. Hierzu gehören das humane Parvovirus B19 und Parvoviren von Primaten [3, 4, 5].

Vom Parvovirus B19 werden drei verschiedene Genotypen unterschieden [6]. In letzter Zeit wurden beim Menschen weitere Parvoviren (PARV) identifiziert [7, 8], die sich jedoch vom Parvovirus B19 molekularbiologisch deutlich unterscheiden. So ist die Aminosäuresequenz von PARV4 in weniger als 30 % der Positionen übereinstimmend zu anderen Parvoviren, weshalb PARV4 zu einer eigenen Virusgattung (Genus) zugeordnet wird. Das kürzlich identifizierte PARV5 unterscheidet sich nur in 8–9 % der Nukleotid-Positionen von PARV4 und wird deshalb mit diesem einer gemeinsamen Viruspezies zugeordnet. Des Weiteren wurde das humane Bocavirus identifiziert [9], welches sich jedoch klar von den oben genannten Parvoviren unterscheidet und vornehmlich mit respiratorischen Infekten in Zusammenhang gebracht wird.

Parvoviren sind nicht-umhüllte, isometrische Viren mit einem Durchmesser von 18–26 nm. Die Partikel sind aus 60 Kopien des Kapsidproteins aufgebaut und enthalten einsträngige DNA positiver oder negativer Polarität. Das B19V-Genom hat eine Länge von 5.596 Nukleotiden (nt). Die kodierende Sequenz von 4.830 nt ist rechts und links von terminalen repetitiven Sequenzen mit einer Länge von je 383 nt eingegrenzt. Davon besitzen 365 Nukleotide die Sequenz eines Palindroms,

was zur Bildung einer haarnadelartigen Doppelstrang-Struktur an beiden Enden des Genoms („terminal hairpins“) führt. Beim Parvovirus B19 sind DNA-Stränge mit positiver sowie negativer Polarität in den Virionen gleich häufig verteilt.

### Replikation

Während der Vermehrung werden mindestens neun sich überlappende mRNA-Transkripte gebildet, die alle an einem Promoter (p6) initiieren [10]. Es gibt zwei Gruppen von gespleisten mRNAs, die für die Virusstrukturproteine VP1 und VP2 sowie die beiden Proteine mit 11 kDa und 7,5 kDa kodieren, jedoch nur eine ungespleiste 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 Aminosäuren. Wie bei allen Parvoviren besteht die Oberfläche von B19V aus 60 Kopien des Kapsidproteins. Viruspräparationen enthalten 95–96% VP2 und 4–5% VP1. Die Struktur leerer rekombinanter Viruspartikel wurde detailliert mittels Röntgenstrukturanalyse beschrieben [11] und infektiöse Partikel wurden mittels Kryoelektronenmikroskopie charakterisiert [12].

### 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 B19V-infizierten Zellen ist NS1 im Kern lokalisiert und an der Regulation der Genexpression sowie an der Parvovirus-DNA-Synthese beteiligt. Über die biologische Funktion der 7,5 kDa- und 11 kDa-Proteine ist bisher nichts bekannt. Das Gen für das 11 kDa-Protein ist für die Vermehrung in Zellkultur essentiell [13].

### Wirtsbereich

Parvovirus B19 ist ein humanpathogenes Virus; andere Wirte als der Mensch sind nicht bekannt.

### Wirtszellbereich

Parvovirus B19 hat einen engen Wirtszellbereich mit einem ausgeprägten Tropismus zu sich teilenden humanen erythroiden Zellen. Das Virus vermehrt sich im Knochenmark, vor allem in den sogenannten BFU-E (*erythroid burst forming units*) und CFU-E (*erythroid colony forming units*) der erythroiden Vorläuferzellen.

Der zelluläre Rezeptor ist das Blutgruppe-P-Antigen (Globosid, Tetrahexoseceramid). Personen mit dem seltenen p-Phänotyp gelten als resistent gegenüber B19V-Virusinfektionen [14]. Die Anwesenheit von P-Antigen in verschiedenen Geweben spiegelt den

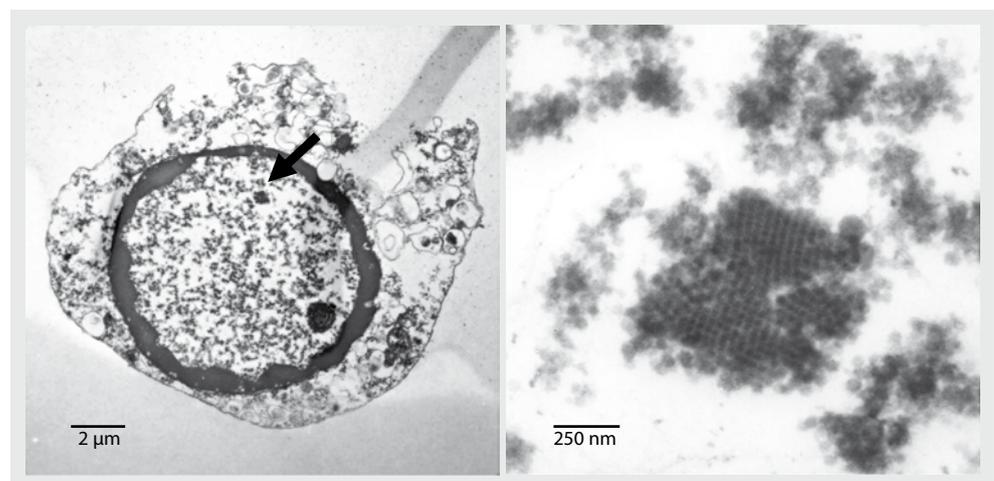
Zelltropismus des B19V nur zum Teil wieder. Das P-Antigen findet man auf Erythroblasten und Megakaryozyten sowie auf Endothelzellen und fetalen Myokardzellen. Jedoch sind nicht alle Zellen, welche das P-Antigen exprimieren, permissiv für die Virusproduktion, da die Expression der viralen Transkripte in nicht-erythroiden Zellen geblockt sein kann [15]. Möglicherweise ist auch ein weiterer Rezeptor für die Einschleusung des Virus in die Zelle notwendig [16, 17].

### In-vitro-Vermehrung

Parvovirus B19 vermehrt sich in Vorläuferzellen der roten Blutzellen. Die Vermehrung wurde in primären Kulturen von menschlichen Knochenmarkszellen, fetalen Leberzellen, Nabelschnurzellen und peripheren Blutzellen nachgewiesen. Erythropoetin im Medium ist wichtig, um die erythroide Differenzierung der Zellen zu unterstützen. Des Weiteren wurde eine begrenzte Virusreplikation auch in wenigen permanenten erythroiden leukämischen Zelllinien (JK-1 und KU812Ep6) oder in einer megakaryoblastoiden Zelllinie (UT7/Epo, UT7-EpoS1) beschrieben.

B19V vermehrt sich unter Ausbildung eines zytopathischen Effekts. Im Knochenmark werden sogenannte „Riesen-Pronormoblasten“ (*giant pronormoblasts*) beobachtet, die etwa fünfmal so groß wie Lymphozyten sind. Infizierte Zellen enthalten große Zellkerne, bei denen das Chromatin in den Randbereich verdrängt ist. Ein ähnlicher zytopathischer Effekt wird auch in

**Abb. 1** ▶ Infizierte KU812EP6-Zelle (Blümel, Boller)



Zellkulturen beobachtet. Die Viruspartikel akkumulieren in parakristallinen Feldern im Zellkern (■ Abb. 1).

## 1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Experimentelle Infektionen von Freiwilligen haben Erkenntnisse zu virologischen, immunologischen, hämatologischen und klinischen Befunden ergeben [18].

Die Mehrzahl der B19-Virusinfektionen verläuft klinisch asymptomatisch. Das Auftreten von B19V-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-Amplifikations-Techniken (NAT) kann teilweise über Monate zirkulierende B19V-DNA nachgewiesen werden, zum Beispiel vier Monate [19]. Interpretationen von positiven PCR-Befunden und Schlüsse auf Krankheitsbilder sind daher schwierig. Bei Patienten mit persistierender B19V-Infektion werden häufig Antikörper gegen NS1 gefunden [20]. In bestimmten Geweben (Haut, Leber) kann B19V-DNA mit sensitiven PCR-Techniken sogar lebenslang nachgewiesen werden. Dies bedeutet, dass die nachgewiesenen DNA-Sequenzen ein sogenanntes „Bioportfolio“ darstellen, welches DNA von allen Parvoviren anzeigt, mit denen

ein Individuum während seines Lebens infiziert wurde [21].

Eine Vielzahl klinischer Erkrankungen ist B19-Virus-bedingt (■ Übersicht 1). Allgemein kann mit einem etwas schwereren Krankheitsverlauf gerechnet werden, wenn die B19V-Infektion im höheren Lebensalter erfolgt. Die drei Genotypen von B19V scheinen sich im Hinblick auf die hervorgerufenen Krankheitsbilder nicht zu unterscheiden.

### 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 Anä-

mie, Retikulozytopenie, Aplasie der roten Blutzellen; es können Knochenmarksnekrosen auftreten und der Verlauf kann letal sein; Transfusion ist eine adäquate Therapie. Die Krankheit ist selbstlimitierend, und die Immunantwort schützt vor Rekurrenzen und Neuinfektion. In Einzelfällen wird eine TAC auch bei immunkompetenten Personen beobachtet [22, 23].

### Hydrops fetalis und kongenitale Infektionen

Parvovirus B19-Infektionen bei nicht-immunen schwangeren Frauen können zur Übertragung des Virus auf den Fetus führen [24, 25]. 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 [26, 27]. 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) befallen. Es kommt bereits im Fetus zur Bildung von spezifischen Antikörpern [28]. Unbehandelte Anämien und Schädigung des Herzens können zu massiven Ödemen des Fetus und Fruchttod in utero oder kurz nach der Geburt führen. Eine Therapie ist durch in-utero-Transfusion möglich, wobei bei behandelten Neugeborenen das Virus weiterhin im Knochenmark, nicht aber in der Zirkulation nachweisbar war. Auch mit Injektionen von Gammaglobulin wurden bei der Behandlung des Hydrops fetalis Erfolge erzielt [29].

Kongenitale Infektionen können zu persistierenden Infektionen führen.

### Chronische Anämie

Bei Patienten mit Beeinträchtigung des Immunsystems kann es zu einer dauerhaften Vermehrung des Virus im Knochenmark kommen. Dies führt zu einer chronischen Anämie (*pure red cell aplasia, PRCA*). Betroffen sind Patienten mit kongenitalen oder erworbenen Immundefekten (HIV-Infektion), Patienten mit lymphatischen Systemerkrankungen unter bzw. nach Chemotherapie sowie Patienten

#### Übersicht 1

#### Krankheitsbilder

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

unter iatrogener Immunsuppression (zum Beispiel nach Hochdosis-Chemotherapie, Blutstammzelltransplantationen, Organtransplantationen oder bei Behandlung von Autoimmunerkrankungen). Neben einer Unterbrechung der immunsuppressiven und/oder zytostatischen Behandlung gilt die intravenöse Gabe von Immunglobulinen, die in der Regel neutralisierende Antikörper enthalten, als Therapie der Wahl. Sehr selten kann eine PRCA auch bei Immunkompetenten auftreten. Grundsätzlich sollte bei jeder ungeklärten chronischen Anämie das Parvovirus B19 bei der Diagnostik in Betracht gezogen werden.

### Weitere Krankheitsbilder

Im Verlauf von B19V-Infektionen kann es selten zu Formen von Vaskulitis, Glomerulonephritis oder Myokarditis (zum Beispiel Pankuweit et al. [30]) kommen. Hier ist die pathogenetische Rolle des B19V immer noch nicht klar. Es ist fraglich, ob es in den betreffenden Geweben (Endothel, Myokard) überhaupt zu einer produktiven Virusvermehrung kommt oder ob sekundäre Mechanismen (zum Beispiel Antigen/Antikörperkomplexe) eine Rolle spielen. Des Weiteren wurden auch schwer verlaufende Fälle von Enzephalitis und akutem Herzversagen in Assoziation mit einer akuten B19V-Infektion beschrieben, ohne dass die ätiologische Rolle des Virus bekannt ist.

### 1.3 Epidemiologie

Parvovirus B19 ist weltweit verbreitet. Nach einer neuen Studie haben in Deutschland 10–20 % der Kinder unter drei Jahren eine Infektion durchgemacht, 10–19 Jahre alte Personen zeigten in 66 % und über 65-Jährige in 75 % Antikörper gegen B19V [31, 32]. B19V-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 Speichel beziehungsweise über Tröpfcheninfektion übertragen.

Fast alle derzeit charakterisierten Virusproben werden dem Genotyp 1 zugeordnet. Genotyp 2 wird sporadisch in Europa, den USA und Südamerika gefunden [33, 34, 35, 36, 37, 38]. Eine Studie an Hautbiopsien zeigte, dass Genotyp 2 in Finnland bis zu den 1940er Jahren weit verbreitet war. Über 40 % der B19V-DNA-positiven Proben enthielten Genotyp 2. Dagegen wird dieser Genotyp in Biopsien aus jüngeren Patienten nur noch ganz selten gefunden [21].

Genotyp 3 scheint vor allem in der nord- bzw. westafrikanischen Region verbreitet zu sein [39], wurde aber auch in Proben aus Frankreich identifiziert [6].

### 1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

#### Antikörper-Nachweis

Kommerzielle Tests zum Nachweis von IgG- oder IgM-Antikörpern im Serum gegen B19V werden als ELISA oder Immunfluoreszenztests von verschiedenen Firmen angeboten. Überwiegend werden rekombinante Antigene (VP2 und VP1 aus Baculovirus oder E. coli-System) in den Tests eingesetzt. Für die Bestätigung positiver Befunde stehen Immunoblot-Tests 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.

#### Antigen-Nachweis

Monoklonale Antikörper sind für Forschungszwecke kommerziell erhältlich und können zum Nachweis von Virus und von infizierten Geweben eingesetzt werden.

B19-Viruspartikel haben hämagglutinierende Eigenschaften. Es wurden passive Hämagglutinationstests zum Antigennachweis entwickelt und zur Erkennung hoch-virämischer Spender in Blutbanken angewandt [40, 41]. Der Hämagglutinationstest zeigt nur hochvirämische Proben an (ab ca.  $10^8$ – $10^9$  Genomäquivalente/mL), außerdem wird er negativ, sobald im Patienten Antikörper gebildet werden, da die Antikörper mit

der Hämagglutination interferieren. Der Hämagglutinationstest ist daher prinzipiell nur zur Erkennung hochvirämischer Proben aus der Antikörper-negativen Fensterphase geeignet.

#### Viruspartikel-Nachweis

Die Identifizierung von Parvoviren im Elektronenmikroskop ist wegen der geringen Partikelgröße schwierig. Es werden nur hochvirämische Proben detektiert. In solchen Fällen ist die Identifizierung mittels Immunelektronenmikroskopie prinzipiell möglich, aber schwierig.

#### Genom-Nachweis

Der Dot-Blot eignet sich zum Nachweis von B19V-DNA in der virämischen Phase. Die PCR erlaubt einen sensitiven Nachweis von B19V-DNA. Zudem wurden quantitative PCR-Methoden etabliert, die eine genaue Bestimmung der B19V-DNA-Konzentration erlauben. Bei der Etablierung des internationalen WHO-Standards für B19V-DNA bestimmten die teilnehmenden Labors ein Verhältnis zwischen Internationalen Einheiten (IU) und Genomäquivalenten (geq) von 1:0,6 bis 1:0,8 [42]. Hochtitrige Proben (ab  $10^6$  IU/mL) weisen auf ein akutes Infektionsgeschehen hin, während niedrigtitrige Proben (bis  $10^4$  IU/mL) in der späteren Phase von akuten Infektionen oder bei chronischen Infektionen gefunden werden. Im Serum bzw. im Plasma kann B19V-DNA für 6 Monate bis mehrere Jahre nach einer akuten Infektion nachweisbar sein, in bestimmten Geweben (zum Beispiel Haut, Leber) sogar lebenslang.

## 2. Blut und Plasmaspender

### 2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Grundsätzlich entsprechen Prävalenz und Inzidenz der B19V-Infektion bei Blutspendern denen der Allgemeinbevölkerung. Personen über 20 Jahre zeigen in 40–60 %, über 70-Jährige in mehr als 85 % Antikörper gegen B19V. Untersuchungen bei Blutspendern weisen im Durchschnitt eine 60 %ige Durchseuchung nach. Die Prävalenz in

Europa ist leicht unterschiedlich. In den skandinavischen Ländern (Finnland) wird eine etwas höhere Prävalenz als in anderen europäischen Ländern beobachtet [43].

Da bei den 18- bis 30-jährigen Blutspendern eine Durchseuchung von nur 40–60 % vorliegt, besteht immer ein Risiko, dass Blutspender zum Zeitpunkt der Spende eine Primärinfektion durchmachen. Ausgehend von den dokumentierten Infektionsraten bei B19V-negativen Frauen bzw. bei Schwangeren, kann man schätzen, dass bis zu 0,5–1 % der Blutspender im Jahr neu infiziert werden [44].

Bei der Primärinfektion kommt es zu einer kurzen hochvirämischen Phase (bis  $10^{13}$  Viruspartikel/mL). Mit Einsetzen der humoralen Immunantwort fällt der Virustiter im Blut rasch auf weniger als  $10^6$  geq/mL ab. Niedrige Virustiter werden in den folgenden Monaten (bis zu 12 Monate) beobachtet. In einer Studie an japanischen Blutspendern wurden niedrigvirämische Titer bis 3 Jahre nach Infektion beobachtet [45]. Es ist fraglich, ob niedrigvirämische Spenden, welche bereits virusspezifische Antikörper enthalten, infektiös sind. In einer kürzlich erschienenen Studie [46] fielen die DNA-Spiegel innerhalb der ersten drei Monate unter  $10^3$  geq/mL ab, persistierten jedoch für einen Zeitraum von mindestens sechs Monaten. In dieser Studie mit Spenden aus Deutschland und Österreich aus den Jahren 2004 bis 2006 lag der mittlere Anteil der hochtitrigen Spenden ( $>10^5$  geq/mL) bei 12,7 pro 100.000 Spenden und der Anteil der Spenden mit  $<10^5$  geq/mL bei 261,5 pro 100.000 Spenden im Jahr. Diese Anteile decken sich in etwa mit einer früheren Untersuchung an Plasmaspendern [47], in der hochvirämische Spenden aus der akuten Phase ( $\geq 10^7$  geq/mL) in 1 von 480 Fällen und niedrigvirämische Spenden in 1 von 8000 Fällen beobachtet wurden. Es existiert inzwischen eine Vielzahl von Untersuchungen zur B19V-Prävalenz in Spenderpopulationen aus verschiedenen Ländern, die sich mehr oder weniger mit den oben Genannten decken. Ein direkter Vergleich solcher epidemiologischer Studien ist aber häufig nicht möglich, da sich die Sensitivität der Testmethoden (Gegenstromelektrophorese, Dot-Blot,

verschiedene PCR-Methoden) oft unterscheidet und saisonal sowie örtlich begrenzte Ausbrüche das Ergebnis beeinflussen können. Bei Testung von Blutspendern auf B19V-DNA mit der PCR in Schottland war in der saisonalen Phase der B19V-Infektion in einem von ca. 300 Blutspendern B19V-DNA nachgewiesen worden; Yoto und Mitarbeiter [48] 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 [49, 50, 51]. Bei der Fa. CSL-Behring wurden in den letzten 7 Jahren (Beginn 2000) ca. 31 Mio. Spenden (vornehmlich aus den USA und Deutschland) untersucht und eine Häufigkeit von 1:6.200 B19V-DNA ( $\geq 2 \times 10^6$  geq/mL) in den Spenden identifiziert (Gröner, unpubliziert).

Der Anteil der varianten Genotypen 2 und 3 im Spenderkollektiv scheint derzeit sehr gering. In einer kürzlichen Studie wurde in Proben aus den Jahren 2005 bis 2007 nur in einer von 232 hochvirämischen Plasmaspenden Genotyp 2 identifiziert [52]. Die Prävalenz von Genotyp 3 scheint gegenwärtig in der europäischen Bevölkerung ebenfalls gering, allerdings muss beachtet werden, dass die derzeit kommerziell verfügbaren NAT-Systeme Genotyp 3 nicht sicher und Genotyp 2 auch nur teilweise detektieren. Genotyp 3 wurde in einer Plasmaspende in den USA identifiziert.

DNA von den anderen humanen Parvoviren PARV4 wird häufig in Plasmapools gefunden (14 % der getesteten Pools), im Gegensatz zu Bocaviren, deren DNA in keinem von 167 getesteten Pools gefunden wurde [53].

### 2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Derzeit sind keine spezifischen Ausschlusskriterien festgelegt (s. auch 2.4).

### 2.3 Spendertestung und Aussagekraft

Die Testung des Spenders oder der Spenden auf Parvovirus B19 ist in den Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)

sowie in Empfehlungen des Europarates sowie der WHO zu Blut und Blutzubereitungen nicht vorgeschrieben. Plasmaspenden, die zur Produktion von gepooltem virusinaktiviertem Plasma oder zur Herstellung von anti-D-Immunglobulinpräparaten vorgesehen sind, werden auf den B19V-DNA-Gehalt vorgetestet, um eine Überschreitung des im Europäischen Arzneibuch geforderten Grenzwertes von als  $10^4$  IU B19V-DNA per mL zu vermeiden.

Mit Testung auf IgG-Antikörper kann der Anteil der immunen Spender erfasst werden. Ein Ausschluss von Spendern mit IgG-Antikörpern von der Spende ist nicht wünschenswert, da solche Spenden mit hoher Wahrscheinlichkeit kein infektiöses B19V übertragen (s. 3.2) und die Antikörper in den Spenden ein wichtiger Bestandteil von Immunglobulinprodukten sind. Theoretisch könnte ein Antikörpertest bei in Quarantäne gelagerten Spenden zur Aufdeckung von virämischen Spenden eingesetzt werden. In der Praxis hat sich jedoch zum B19V-Nachweis die Testung mit Nukleinsäurenachweissystemen (NAT) gegenüber dem Hämagglutinationstest durchgesetzt.

Die Suche nach virämischen Spenden erfolgt üblicherweise durch den Nachweis des Virusgenoms (zum Beispiel durch NAT). Wegen den fallweise extrem hohen DNA-Konzentrationen in der Einzelspende sind effektive Maßnahmen zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen wichtig. Im Falle eines positiv getesteten Minipools kann dann durch weitere Testung die hochvirämische Einzelspende identifiziert werden. Die Einführung eines WHO-Standards für B19V-DNA in den letzten Jahren hat die Vergleichbarkeit der NAT-Ergebnisse erheblich verbessert [42, 54]. Da die seltenen Genotypen 2 und 3 derselben Viruspezies zugeordnet werden und wahrscheinlich eine ähnliche Pathogenität zeigen, wurde vom Europäischen Direktorat für die Qualität von Arzneimitteln (EDQM) gefordert, dass auch diese seltenen Genotypen bei einer NAT miterfasst werden [55].

Bei hochvirämischen Spenden muss von einer Infektiosität ausgegangen werden, während die Infektiosität niedrigvirämischer Blutspenden,

welche gleichzeitig B19V-spezifische Antikörper enthalten, fraglich ist. Wahrscheinlich liegen bei diesen anti-B19V-haltigen Blutspenden die Viruspartikel als neutralisierte Antigen-Antikörperkomplexe vor.

Der Hämagglutinationstest wurde in Blutbanken in Japan und Deutschland erprobt [40, 41, 56]. Prinzipiell eignet er sich zur Detektion hochvirämischer Spenden, seine Sensitivität ist jedoch auf hohe Konzentrationen von  $\geq 10^8$  Genomäquivalente/mL begrenzt. Bereits geringe Mengen von Antikörpern führen zu einer Hemmung der Hämagglutination, weshalb Proben mit Antikörpern und/oder mittleren oder niedrigen DNA-Spiegeln nicht erkannt werden. Deshalb können auch nur Einzelspenden (und keine Minipools) mit dieser Methode geprüft werden. Übertragungen mit B19V durch antikörperhaltiges SD-Plasma mit einer Konzentration von  $10^7$  Genomäquivalente/mL sind beschrieben [57]. Daher besteht eine gewisse Unsicherheit, ob der HA-Test tatsächlich sämtliche infektiöse Spenden erkennt. Derzeit wird in den meisten Einrichtungen die NAT gegenüber dem HA-Test vorgezogen. Im letzten Jahr wurde ein verbesserter ELISA zum Nachweis von Virusantigen erprobt. Dieser Test zeigt weniger Interferenzen mit B19V-spezifischen Antikörpern, die Sensitivität ist jedoch auch auf  $\geq 10^8$  Genome/mL begrenzt. Der Antigen-Test sollte alle 3 Genotypen von Parvovirus B19 erkennen [58].

## 2.4 Spenderbefragung

Da die B19V-Infektion selbst bei hoher Virusbelastung (bis zu  $10^{13}$  geq/mL) zu einem großen Teil asymptomatisch verläuft, ist die Spenderbefragung zur Erkennung von infizierten Spendern nicht sinnvoll.

## 2.5 Spenderinformation und -beratung

Entfällt.

## 3. Empfänger

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

Betrachtet man die hohe Frequenz des B19V-DNA-Nachweises bei Blutspendern (s. 2.1) sowie den Anteil noch nicht infizierter Personen in der Empfängerpopulation, müssten Infektionen durch zelluläre Blutprodukte oder Plasma (FFP) relativ oft auftreten. Fallberichte sind jedoch extrem selten publiziert worden (s. drei Publikationen zitiert in [19, 59]). Seit 2004 sind keine Meldungen über Verdachtsfälle einer B19V-Infektion im Zusammenhang mit der Gabe zellulärer Präparate oder FFP im Paul-Ehrlich-Institut (PEI) eingegangen, obwohl in einer früheren Publikation dieser Arbeitsgruppe darauf hingewiesen wurde, die Möglichkeit von B19V-Infektionen zu berücksichtigen [60]. Wahrscheinlich wird eine B19V-Infektion durch zelluläre Blutprodukte so gut wie nie klinisch erkannt, da eine B19V-Infektion im Rahmen einer Transfusion klinisch ohne spezifische Symptome auftritt. Die Symptomatik einer Anämie bzw. Thrombozytopenie oder Leukopenie ist im Kontext einer Transfusion sowieso häufig gegeben. Des Weiteren verhindert die Gabe von Erythrozyten *per se* bereits effektiv die mögliche Ausbildung einer durch B19V hervorgerufenen aplastischen Krise. B19-IgG positive Präparate, die bei multiplen Transfusionen fallweise zusätzlich verabreicht werden, tragen möglicherweise zur Unterdrückung der Infektion bzw. der klinischen Symptome bei.

In einer retrospektiven Studie aus USA [61] wurden aus insgesamt 12.529 getesteten Blutspenden 24 Fälle identifiziert, bei denen B19V-DNA positive Blutkomponenten an suszeptible Empfänger verabreicht worden waren. Alle Spenden waren nicht hochbelastet ( $< 10^6$  IU-B19V-DNA/mL) und enthielten gleichzeitig virusspezifisches Ig. In allen 24 Fällen kam es zu keiner Infektion (Serokonversion) der Empfänger. Auch in einer deutschen Studie wurden keine

Komplikationen durch B19V nach der Verabreichung von niedrigvirämischen Blutkomponenten beobachtet [62].

Übertragungen durch gepooltes Plasma, welches nach dem Solvenz-Detergenz-Verfahren hergestellt wurde (SD-Plasma), wurden beschrieben [63, 64, 65]. Zwar enthält gepooltes Plasma allgemein relativ konstante B19V-spezifische Antikörperspiegel von ca. 40 IU B19V-Antikörper per mL [66], jedoch reichen diese Spiegel nicht aus, um hochtitrige Viruskontaminationen vollständig zu neutralisieren. In der Studie in den USA wurden Übertragungen durch SD-Plasma, welches mehr als  $10^7$  Genome/mL enthielt, beobachtet, wohingegen Plasma mit  $10^{3,5}$  Genomen/mL keine Übertragungen zeigte [63, 65]. Als Reaktion auf diese Berichte wurde von der FDA sowie im Europäischen Arzneibuch ein Limit von nicht mehr als  $10^4$  IU B19V-DNA für das SD-Plasma vorgeschrieben.

Bei Hämophilie-A-Patienten, die langfristig mit Gerinnungsfaktorkonzentrationen behandelt wurden, wurde von einer höheren Prävalenz von B19V-Antikörpern, vor allem bei Kindern, berichtet [67, 68]. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass auch mit virusinaktivierten Faktor-VIII-Konzentrat B19V übertragen worden ist. Übertragungen sind bei Empfängern von Gerinnungsfaktoren (FVIII, FIX, PPSB) und Fibrinkleber eindeutig dokumentiert [69]. In einzelnen Fällen wurde die Übertragung von B19V durch Gerinnungsfaktoren mittels DNA-Sequenzanalyse belegt [70, 71]. Es gibt wenige Berichte, in denen Übertragung von B19V durch Immunglobuline vermutet wird. Hier wurde aber die Übertragungskette nie nachgewiesen.

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

Eine durchgemachte Infektion führt zur Bildung von IgG-Antikörpern und Immunität. IgG-Antikörper, insbesondere gegen lineare Epitope von VP1 sowie Konformationsepitope von VP2 haben neutralisierende Aktivität [72, 73].

Antikörper aus der Rekonvaleszenzphase einer Infektion mit Genotyp 1

besitzen eine kreuzneutralisierende Aktivität gegen die anderen Genotypen [36, 74]. Allerdings deutet eine Studie an Leberbiopsaten darauf hin, dass ein Patient im Laufe seines Lebens auch von mehreren Genotypen infiziert werden kann [75], da in der Leber B19V-DNA von zwei Genotypen nachgewiesen werden konnte.

Die Bildung von Antikörpern führt zu einer Verminderung der Virus DNA-Konzentration im Blut. Allerdings können DNA-Titer im Blut für 6 bis 12 Monate persistieren. Kerr et al. [76] haben zwei Fälle beschrieben, in denen trotz Anwesenheit von IgG-Antikörpern B19V-DNA über einen langen Zeitraum von 57 Monaten nachweisbar blieb. 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. Untersuchungen aus den letzten Jahren [41, 46] zeigen, dass niedrige Spiegel von Virus-DNA bei gleichzeitiger Anwesenheit von Antikörpern im Blut von asymptomatischen Spendern für 6 bis 12 Monate persistieren können. In einer kürzlich erschienenen Studie wurden niedrige B19V-DNA-Spiegel mit einer sensitiven Methode sogar bei bis zu 1 % aller Blutspender nachgewiesen [77], was zeigt, dass das B19V nach Ablauf der Primärinfektion nicht immer vollständig eliminiert wird.

Bisher nicht untersucht ist die Frage, ob ein Patient, bei dem IgG-Antikörper gegen B19V nachgewiesen werden können, bei intravenöser Applikation eines gegebenenfalls kontaminierten Präparates vor einer Infektion geschützt ist. Dass nur sehr selten eine B19V-Infektion nach Applikation von Gerinnungspräparaten berichtet wird, weist aber darauf hin, dass eine erworbene Immunität ausreichend sein sollte, um den Patienten vor einer erneuten oder zumindest vor einer symptomatischen Infektion zu bewahren. In einer retrospektiven Studie [61] wurden zwei hochbelastete Spenden identifiziert ( $>10^7$  geq/mL), die an nicht-suszeptible (IgG positive) Empfänger verabreicht worden waren. Hier kam es zu einem vierfachen Anstieg des IgG-Spiegels im Patienten, wobei nicht klar ist, inwieweit

die im Empfängerblut (transient) nachgewiesene Virus-DNA lediglich das Inokulum oder vorübergehend replizierendes Virus widerspiegelt.

### 3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Einzelheiten zum klinischen Verlauf der B19V-Infektion sind bereits unter 1.2 wiedergegeben.

Betrachtet man die nahezu vollständigen Durchseuchungsraten bei jungen Kindern, welche mit Gerinnungsfaktoren behandelt wurden [78] und die seltenen Fallberichte von Übertragungen, so scheint es, dass die Blutprodukt-assoziierte Infektion der immunkompetenten Kinder häufig asymptomatisch und daher unerkannt verläuft oder mit einer unspezifischen Symptomatik (Fieber, gripptaler Infekt) einhergeht, welche nicht als B19V-Infektion diagnostiziert wird.

Auch wenn bei der B19V-Infektion schwere Symptome vornehmlich im Zusammenhang mit bestehenden Grunderkrankungen oder iatrogenen Immunsuppression beobachtet werden, so gibt es doch wenige Fälle einer Infektion immunkompetenter hämophiler Patienten mit schwerer, teilweise lebensbedrohlicher Symptomatik [79, 80]. In **■ Tabelle 1** sind Fälle von B19V-Infektionen nach Gabe von Blutprodukten zusammengefasst. Jedoch ist nicht in allen dieser Fälle die B19-Übertragung durch Blutprodukte mittels DNA-Sequenzierung eindeutig nachgewiesen.

Insgesamt entspricht die klinische Symptomatik der Blutprodukt-assoziierten Infektion der natürlichen Infektion. Erhöhtes Infektionsrisiko scheint bei seronegativen Patienten zu bestehen, die zum ersten Mal mit plasmatischen Gerinnungsfaktoren behandelt werden, da die Patienten noch empfänglich für eine B19V-Infektion sind.

Eine epidemiologische Studie an über 700 Hämophilie-Patienten [81] zeigt eine gewisse Assoziation der B19V-Seropositivität mit verminderter Beweglichkeit der Gelenke. Inwieweit hier aber ein direkter Zusammenhang mit der B19V-Infektion besteht, ist nicht klar.

## 3.4 Therapie und Prophylaxe

### Impfstoff

Es gibt Projekte zur Entwicklung eines Impfstoffs. Hier werden mit rekombinanter DNA-Technologie produzierte leere Viruspartikel als Immunogen verwendet. 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 enthielt, induzierte neutralisierende Antikörper [82]. Erste klinische Prüfungen wurden unternommen und schienen erfolgversprechend [83]. Jedoch wird die Weiterentwicklung eines Impfstoffs zurzeit von Seiten der Impfstoffhersteller nicht vorangetrieben. Ein Impfstoff wird daher in absehbarer Zukunft nicht zur Verfügung stehen.

### Passive Immunisierung und Behandlung mit Antikörpern

Die Möglichkeit der passiven Immunisierung mit Antikörperpräparaten scheint prinzipiell gegeben, wurde bislang aber nicht untersucht. Aufgrund der hohen Durchseuchung mit B19V enthalten Immunglobulinpräparate, welche aus großen Plasmapools hergestellt werden, generell neutralisierende Antikörper. Es sind sehr viele Fallberichte publiziert worden, bei denen durch Gabe von Immunglobulin eine akute oder chronische B19V-Infektion erfolgreich behandelt werden konnte. Dennoch gibt es derzeit keine Immunglobulinpräparate, die speziell zur Behandlung einer akuten oder persistierenden B19V-Infektion zugelassen sind.

## 3.5 Übertragbarkeit

Eine B19V-Infektion erfolgt üblicherweise über den Speichel beziehungsweise über Tröpfcheninfektion bei engem persönlichen Kontakt. Die Häufigkeit der Übertragungen durch Blutspenden und Blutprodukte ist in 3.1 beschrieben.

Tabelle 1

Fälle von Plasmaprodukt-assoziierten B19V-Infektionen					
Produkt	Virusinaktivierungsverfahren	Patient (Geschlecht, Alter in Jahren)	Grunderkrankung	Symptomatik	Referenz
FIX	Trockenhitze	w, 39	Hämophilie B (Überträgerin)	Exanthem, Arthralgie 19d nach Infusion	[101]
		m, 11	Hämophilie B	Exanthem, Arthralgie, 35d nach Infusion	
		m, 20	Hämophilie B	Exanthem, Fieber, 12d nach Infusion	
FVIII	SD	m, 11	Hämophilie A	hypoplastische Anämie	[102]
FVIII	Trockenhitze	m, 33	milde Hämophilie A, nicht steroidale Immunsuppression, Sulfasalazin	Hepatomegalie, Panzytopenie hohes Fieber, Exanthem	[79]
FVIII	SD bzw. Pasteurisierung	m, 11	milde Hämophilie A, steroidale Immunsuppression	Fieber 12 d nach Infusion, Somnolenz, Verwirrtheit Panzytopenie, Zytolyse in der Leber	[80]
FIX	SD	f, 31	Hämophilie B (Überträgerin)	Fieber, Exanthem, Arthralgie, Lymphadenopathie, 21d nach Infusion	[103]
FVIII	SD	m, 7	milde Hämophilie A	Aplastische Krise 16 d nach Infusion	[104]
Fibrinkleber	Trockenhitze	f, 3 Fälle (35-42)	Zervixkarzinom, Ovarialkarzinom, Myom	Fieber, Leukopenie, Erythroblastopenie 6–11 Tage nach Anwendung	[105]
Plasma	SD	f, 36	Myasthenia gravis	Exanthem, Arthralgie 14d nach Infusion	[64]
Fibrinkleber	Pasteurisierung	m, 4 Fälle w, 2 Fälle >20	Lungenkrebs	Retikulozytopenie	[106]
FVIII	Trockenhitze	m, 5	Hämophilie A	asymptomatisch	[70]
FEIBA	„Vapor Heat“	m, 1	Hämophilie A	asymptomatisch	[70]
FVIII	SD	m, 47	milde Hämophilie A	Fieber, Arthralgie 7d nach Infusion	[71]

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

Eine B19V-Kontamination zellulärer Blutkomponenten ist möglich.

Eine Belastung von Plasmaderivaten mit B19V ist nach gegenwärtigen Erkenntnissen besonders bei Gerinnungspräparaten (Faktor VIII, IX, PPSB) und Fibrinkleber nicht auszuschließen. Da insbesondere bei Patienten mit Hämophilie A oder B Gerinnungsfaktoren häufig appliziert werden müssen, ist diese Patientengruppe einem besonderen Risiko ausgesetzt. Insgesamt haben Hämophiliepatienten, die in der Vergangenheit mit hohen Dosen plasmatischer Gerinnungsfaktoren

behandelt wurden, ein erhöhtes Risiko für eine B19V-Infektion [81].

## 4. Blutprodukte

### 4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Beachtet man, dass eine hochtitrige Einzelspende bis zu  $10^{13}$  geq/mL enthalten kann, so führt die Kontamination eines Plasmapools aus 10.000 Spenden mit nur einer hochtitrigen Spende zu einer Belastung von  $10^8$  geq/mL im Plasmapool. Untersuchungen an Plasmapools, bei denen das Ausgangsmaterial in Bezug auf B19V nicht vorgetestet war, zeigen auch, dass 60% aller Plasmapools B19V-DNA

enthielten und hiervon 35% mit  $10^6$ – $10^8$  Genomen/mL hoch-kontaminiert waren [47, 66].

Solche hohen Viruskontaminationen werden durch die üblichen Proteinreinigungsverfahren, wie sie bei Plasmaprodukten zum Einsatz kommen, nicht ausreichend entfernt. Kontaminationen mit B19V wurden durch B19V-DNA-Nachweis in allen Plasmaprodukten (Gerinnungsfaktoren, Immunglobulinen, Albumin etc.) gezeigt [47, 66, 84]. Die höchsten Kontaminationsraten fand man in Gerinnungspräparaten: 50–90% der getesteten Produktchargen waren DNA-positiv mit Maximalwerten von bis zu  $10^7$  geq/mL, während die maximalen Kontaminationen bei Immunglobulinen

(bis zu  $10^4$  geq/mL) und Albumin (bis zu  $10^3$  geq/mL) wegen den zusätzlichen Aufreinigungsschritten geringer waren [66, 84].

Als Reaktion auf die hohen Kontaminationsraten der Ausgangsmaterialien und Endprodukte haben viele Hersteller auf freiwilliger Basis in den letzten Jahren ein sogenanntes „Hochtiter-Screening“ eingeführt. Hierbei werden durch einen geeigneten Testalgorithmus an Minipools hochtitrige Einzelspenden identifiziert und ausgesondert, so dass die maximale Belastung der Plasmapools auf  $10^3$ - $10^4$  geq/mL gesenkt werden kann. Vom Industrieverband PPTA wurde ein Grenzwert von nicht mehr als  $10^5$  Genomen/mL vorgeschlagen. Dieses Hochtiter-Screening scheint geeignet, die Kontaminationsraten der Plasmapools erheblich zu senken, mit maximalen Konzentrationen von nicht mehr als  $10^4$  Genomen/mL im Plasmapool. Die Absenkung der Kontamination des Ausgangsmaterials führt auch zu einer Absenkung der Kontamination der Endprodukte, wenn auch nicht alle Blutprodukte nach Einführung des Hochtiter-Screenings komplett DNA-negativ getestet werden [47, 85] (Blümel, unveröffentlichte Daten). Inwieweit ein Infektionsrisiko bei solchen Plasmaprodukten weiterhin besteht, bleibt abzuwarten.

Ein kürzlich etablierter *In-vitro*-Neutralisationstest zeigte, dass die in Plasmapools üblicherweise vorhandenen B19V-spezifischen Antikörper eine effektiv neutralisierende Aktivität besitzen [86].

### 4.2 Möglichkeiten der Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

Zurzeit werden verschiedene Methoden zur Pathogeninaktivierung in Blutkomponenten eingeführt. Verfahren mit Psoralenderivaten (Amotosalen + UV-Behandlung) zeigen eine effektive Inaktivierung von B19V [87], nicht aber von anderen unbehüllten Viren wie Enteroviren. Mit Riboflavin wurde eine effektive Inaktivierung des porcinen Parvovirus gezeigt [88], was vermuten lässt, dass B19V ebenfalls inaktiviert wird. Es wurde weiterhin gezeigt, dass das

Methylenblau/Licht-Verfahren keine oder eine nur geringe Wirksamkeit hinsichtlich Inaktivierung von animalen Parvoviren hat, allerdings kann man eine deutliche Schädigung der B19V-DNA nachweisen.

Insgesamt existieren also Methoden, die zur effektiven Inaktivierung von Parvovirus B19 in Blutkomponenten prinzipiell geeignet scheinen. Da die experimentellen Verfahren zur Bestimmung der Inaktivierungskapazität aber aufgrund ihrer technischen Limitierungen nur einen Nachweis der Kapazität von bis zu 5–6 log-Stufen zulassen, bleibt ungewiss, ob die Inaktivierungskapazität ausreicht, um auch hohe Virusbelastungen, wie sie in einer Einzelspende auftreten können ( $10^{13}$  geq/mL), vollständig zu inaktivieren. Außerdem kann die Inaktivierungskapazität von spezifischen Anwendungsbedingungen abhängen, weshalb eine produktspezifische Untersuchung in jedem Fall ratsam ist.

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

Es liegen bisher wenige aussagefähige Studien mit Parvovirus B19 vor. Die Testung der Abtrennung oder Inaktivierung von B19V im Verlauf der Produktion von Plasmaderivaten ist nicht direkt mit B19V zu untersuchen, da die Kultivierung des Virus große Schwierigkeiten bereitet. Für die Untersuchungen werden daher üblicherweise 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 und porcines Parvovirus. Es scheint Antikörper gegen bovines Parvovirus in Humanserum oder Antikörper mit Kreuzreaktivität zwischen dem humanen und bovinen Parvovirus zu geben, da BPV in humanem Plasma inaktiviert werden kann. Daher ist bei Verwendung von bovinem Parvovirus das Plasma bzw. das entsprechende Produktintermediat zuvor auf Eignung zu prüfen.

Erst in letzter Zeit wurden wenige Zellkultursysteme entwickelt, mit denen sich die Inaktivierung von B19V bei der Herstellung von Plasmaprodukten direkt untersuchen lässt. Es zeigte sich, dass B19V bei der Pasteurisierung von Albumin (10h bei 60°C) schnell inaktiviert wird, während animale Parvoviren diese Prozedur weitgehend unbeschadet überstehen [89, 90]. Bei der Herstellung einiger Gerinnungsfaktörpräparate und Immunglobulinpräparate wird ebenfalls eine Pasteurisierung für 10h bei 60°C angewandt und in vielen Fällen auch eine effektive Inaktivierung von B19V beobachtet (Gröner et al., unveröffentlicht). Allerdings führen hier die zugegebenen Stabilisatoren zu einer Verzögerung in der Inaktivierungskinetik, und es gibt auch Produkte, bei denen die Pasteurisierung nicht effektiv ist (Gröner et al., unveröffentlicht) [91]. Bei der Erhitzung kommt es zu einer Zerstörung der B19-Viruskapside [70], während die B19V-DNA unbeschadet bleibt und aus den geöffneten Kapsiden ausgestoßen wird [92].

Andere Hitzeverfahren scheinen B19V zumindest teilweise zu inaktivieren. Beim sogenannten Dampfverfahren (*vapour heat*) wird das Zwischenprodukt bei verminderter Restfeuchte mit heißem Dampf bei 60°C und/oder bis 80°C für 1–10h behandelt. In bestimmten Fällen wurde hier auch eine effektive B19V-Inaktivierung gezeigt [93]. Allerdings ist wegen der produktspezifischen Produktionsbedingungen und Effekte auch hier eine spezifische Untersuchung des Herstellungsverfahrens im Einzelfall geboten.

Beim sogenannten Trockenhitzeverfahren (100°C für 30min oder 80°C für 72h) wurde ebenfalls eine partielle Inaktivierung von B19V beschrieben. Hier hängt die Inaktivierung aber sehr stark vom Restfeuchtegehalt ab, der zwischen 0,3 und 2% schwanken kann. Während bei hohen Restfeuchten (1–2%) B19V signifikant schneller als porcines Parvovirus inaktiviert wird, scheinen beide Viren bei niedrigen Restfeuchten gleich stabil [94, 95, 96].

Neben hoher Temperatur führen auch niedrige pH-Werte zu einer effektiven Inaktivierung von B19V, wenn weitere

Bedingungen wie geeignete Temperatur und Inaktivierungszeit eingehalten werden [97]. Auch hier zeigte sich B19V wesentlich labiler als animale Parvoviren.

Als weiteres Inaktivierungsverfahren für B19V wurde die Bestrahlung, insbesondere die UV C-Bestrahlung, als effektives Verfahren beschrieben [98, 99]. Plasmaprodukte mit diesem Virusinaktivierungsverfahren befinden sich noch im Entwicklungsstadium.

Neben den oben genannten Inaktivierungsverfahren kann B19V auch durch spezielle Virusfilter (Nanofiltration) abgetrennt werden. Da Parvoviruspartikel aber sehr klein sind, besteht hier eine gewisse Limitierung der Einsatzmöglichkeit solcher Filter. Eine Filtration von hochmolekularen Gerinnungsfaktoren wie Fibrinogen oder von-Willebrand-Faktor-haltigen Komplexen scheint derzeit nicht realisierbar. Bei kleinen Molekülen wie Faktor IX, Antithrombin oder sogar noch IgG und PPSB werden diese Filter teilweise eingesetzt. Allerdings hängt auch hier die Effektivität von den exakten Produktionsbedingungen ab, und häufig finden sich in Spiking-Experimenten Restmengen von Virus im Filtrat. In manchen Fällen mussten zwei Filter hintereinandergeschaltet werden, um eine effektive Virusreduktion von mehr als 4 log-Stufen zu erreichen.

In den wenigen Übertragungsfällen, bei denen die zugrunde liegenden Plasmapools (nachträglich) auf B19V-DNA getestet wurden, wurden immer hochkontaminierte Pools ( $\geq 10^7$  Genome/mL) als Ausgangsmaterial identifiziert [70, 71]. In einem Übertragungsfall durch ein Produkt, welches mit SD zur Virusinaktivierung behandelt worden war, wurde die inokulierte Menge an Genomäquivalenten mit  $10^4$  Genomen bestimmt [71]. Selbst eine Hitzebehandlung (Trockenhitze, STIM-Verfahren) reichte in einigen Fällen nicht aus, um das Infektionsrisiko durch Plasmaprodukte aus hochbelasteten Plasmapools vollständig zu eliminieren [70]. Erst kürzlich wurde von der US-amerikanischen Behörde FDA eine Empfehlung herausgegeben, den Gehalt an B19V-DNA in den Plasmapools zur

Herstellung von Plasmaprodukten auf  $10^4$  IU/mL zu begrenzen [100].

In Immunglobulinpräparaten, IVIG und IMIG, ist teilweise B19V-DNA nachgewiesen worden, allerdings in deutlich niedrigeren Konzentrationen als in Gerinnungsfaktoren. Hier scheint kein Infektionsrisiko zu bestehen. Der Gehalt an B19V-Antikörpern mit neutralisierenden Eigenschaften scheint dafür verantwortlich zu sein. Zudem wurden Immunglobulinpräparate erfolgreich für die Therapie der akuten B19V-Infektion eingesetzt.

Albumin gilt als sicher in Bezug auf B19V-Infektionen. Es liegen zwar Berichte über den Nachweis geringer B19V-DNA-Konzentrationen in Albumin vor, allerdings wird B19V durch die im Europäischen Arzneibuch vorgeschriebene Pasteurisierung von Albumin effektiv inaktiviert [90]. B19V-DNA wurde auch in rekombinanten Gerinnungsfaktoren nachgewiesen, welche humanes Albumin als Stabilisator enthielten [78]. Der Nachweis von B19V-DNA im Albumin spiegelt nicht infektiöses Virus wieder, da die Pasteurisierung zwar B19V inaktiviert, aber nicht die Virus-DNA eliminiert.

## 5. Bewertung

Infektionen mit Parvovirus B19 verlaufen in der Regel harmlos. Schwere Verläufe treten nur selten und vor allem bei Patienten mit gestörter Erythropoese, bei immunsupprimierten Patienten sowie bei Feten auf. Parvovirus B19 ist in Deutschland endemisch, aber nicht alle Blutspender haben die Infektion bereits in der Kindheit durchgemacht. Es ist daher nicht auszuschließen, dass virämische Spenden zur Anwendung kommen. Dennoch gibt es in Deutschland keine Meldungen von B19V-Infektionen nach Verabreichung von Blutkomponenten. Niedrigvirämische Spenden, die gleichzeitig virusspezifisches Immunglobulin enthalten, scheinen nicht infektiös, während bei hochvirämischen Spenden von einem Infektionsrisiko ausgegangen werden muss.

Wenn es bei der Therapie mit Blutkomponenten in besonderen Fällen (zum Beispiel bei B19V-Antikörper negativen Schwangeren im 1. und 2. Trimenon, bei HIV-Infizierten, bei

Patienten nach Hochdosis-Chemotherapie nach Stammzelltransplantation) für erforderlich gehalten wird, die mit einer Übertragung verbundenen Risiken zu vermeiden, gibt es die Möglichkeit, mittels NAT negativ getestete Präparate zu verwenden. Um mehr Daten zu Übertragungen zu erhalten, werden die Ärzte weiterhin auf die Problematik hingewiesen und gebeten, ihre Patienten dahingehend zu beobachten und den Verdacht auf eine B19V-Übertragung durch Blutkomponenten oder Plasmaderivate zu melden.

Bei Plasmaprodukten, insbesondere bei Gerinnungsfaktorpräparaten und bei Fibrinklebern, besteht grundsätzlich ein Infektionsrisiko, wenn hochvirämische Spenden (mehr als  $10^6$  IU/mL/Einzelspende) in die Produktion eingehen und die Verfahren zur Virusinaktivierung bzw. zur Virusentfernung begrenzt wirksam sind. Das Hochtiter-Screening reduziert erheblich die Ausgangsbelastung der Plasmapools und entsprechend auch die Belastung der Endprodukte und sollte daher konsequent für alle Plasmapools zur Fraktionierung durchgeführt werden. Hierdurch sowie durch die Implementierung eines B19V-reduzierenden Verfahrens kann das Infektionsrisiko durch Gerinnungspräparate wesentlich vermindert werden, wenn auch ein theoretisches Restrisiko nicht immer sicher ausgeschlossen werden kann.

**Forschungsbedarf.** Es besteht Forschungsbedarf hinsichtlich der Entwicklung wirksamer Methoden zur Eliminierung/Inaktivierung von B19V und der Charakterisierung dieser Methoden durch Modellviren. Da die Modellviren nicht immer das Verhalten vom B19V exakt widerspiegeln ist die Verbesserung der derzeit vorhandenen Zellkultursysteme zum Studium der Virusinaktivierung im produktspezifischen Kontext von Interesse, um möglichst genau Aussagen zum Infektionsrisiko von Plasmaprodukten zu machen.

Grundlage für eine zuverlässige Aussonderung von hochgradig kontaminierten Blut- bzw. Plasmaspenden mittels NAT ist die Weiterentwicklung von WHO-Standards im Hinblick

auf die varianten Genotypen 2 und 3. Weitere Studien zur Verbreitung und klinischen Relevanz dieser Genotypen sind wünschenswert. Forschungsbedarf besteht auch hinsichtlich des Beitrags von Immunglobulinen zur Sicherheit gegenüber Parvovirus B19.

Dieses Papier wurde am 07.10.2009 fertig gestellt und vom Arbeitskreis Blut am 07.06.2010 verabschiedet. Es ersetzt die Arbeit vom 16.04.1997 (Bundesgesundheitsbl. (1998) 2/98:83-87). 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, Prof. Dr. Martin Hildebrandt, Prof. Dr. Dr. Bernd Jansen, Dr. Thomas Montag-Lessing, Dr. Ruth Offergeld, Prof. Dr. Georg Pauli, Prof. Dr. Rainer Seitz, Dr. Uwe Schlenkrich, Dr. Volkmar Schottstedt, Dr. Johanna Strobel, Dr. Hannelore Willkommen, Prof. Dr. Carl-Heinz Wirsing von König.

## Literatur

- Cossart YE, Field AM, Cant B, Widdows D (1975) Parvovirus-like particles in human sera. *Lancet* 1(7898):72-73
- Anderson MJ, Jones SE, Fisher-Hoch SP, Lewis E, Hall SM, Bartlett CLR, Cohen BJ, Mortimer PP, Pereira MS (1983) Human parvovirus, the cause of erythema infectiosum (fifth disease)? *Lancet* 1(8338):1378
- O'Sullivan MG, Anderson DC, Fikes JD, Bain FT, Carlson CS, Green SW, Young NS, Brown KE (1994) Identification of a novel simian parvovirus in cynomolgus monkeys with severe anemia. A paradigm of human B19 parvovirus infection. *J Clin Invest* 93:1571-1576
- Yoo BC, Lee DH, Park SM, Park JW, Kim CY, Lee HS, Seo JS, Park KJ, Ryu WS (1999) A novel parvovirus isolated from Manchurian chipmunks. *Virology* 253:250-258
- Green SW, Malkovska I, O'Sullivan MG, Brown KE (2000) Rhesus and pig-tailed macaque parvoviruses: identification of two new members of the erythrovirus genus in monkeys. *Virology* 269: 105-112
- Servant A, Laperche S, Lallemand F, Marinho V, De Saint Maur G, Meritet JF, Garbarg-Chenon A (2002) Genetic diversity within human erythroviruses: identification of three genotypes. *J Virol* 76: 9124-9134
- Jones MS, Kapoor A, Lukashov VV, Simmonds P, Hecht F, Delwart E (2005) New DNA viruses identified in patients with acute viral infection syndrome. *J Virol* 79:8230-8236
- Fryer JF, Kapoor A, Minor PD, Delwart E, Baylis SA (2006) Novel parvovirus and related variant in human plasma. *Emerg Infect* 12:151-154
- Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B (2005) Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:12891-12896
- Ozawa K, Ayub J, Hao YS, Kurtzman G, Shimada T, Young N (1987) Novel transcription map for B19 (human) pathogenic parvovirus. *J Virol* 61: 2395-2406
- Kaufmann B, Simpson AA, Rossmann MG (2004) The structure of human parvovirus B19. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:11628-11633
- Kaufmann B, Chipman PR, Kostyuchenko VA, Modrow S, Rossmann MG (2008) Visualization of the externalized VP2 N termini of infectious human parvovirus B19. *J Virol* 82:7306-7312
- Zhi N, Mills IP, Lu J, Wong S, Filippone C, Brown KE (2006) Molecular and functional analyses of a human parvovirus B19 infectious clone demonstrates essential roles for NS1, VP1, and the 11-kilodalton protein in virus replication and infectivity. *J Virol* 80:5941-5950
- Brown KE, Hibbs JR, Gallinella G, Anderson SM, Lehman ED, McCarthy P, Young NS (1994) Resistance to parvovirus B19 infection due to lack of virus receptor (erythrocyte P antigen). *N Engl J Med* 330: 1192-1196
- Liu JM, Green SW, Shimada T, Young NS (1992) A block in full-length transcript maturation in cells nonpermissive for B19 parvovirus. *J Virol* 66: 4686-4692
- Weigel-Kelley KA, Yoder MC, Srivastava A (2001) Recombinant human parvovirus B19 vectors: erythrocyte P antigen is necessary but not sufficient for successful transduction of human hematopoietic cells. *J Virol* 75:4110-4116
- Weigel-Kelley KA, Yoder MC, Srivastava A (2003) Alpha5beta1 integrin as a cellular coreceptor for human parvovirus B19: requirement of functional activation of beta1 integrin for viral entry. *Blood* 102:3927-3933
- Anderson MJ, Higgins PG, Davis LR, Willman JS, Jones SE, Kidd IM, Pattison JR, Tyrrell DA (1985) Experimental parvovirus infection in humans. *J Infect Dis* 152:257-265
- Zanella A, Rossi F, Cesana C, Foresti A, Nador F, Binda AS, Lunghi G, Cappellini MD, Furione M, Sirchia G (1995) Transfusion-transmitted human parvovirus B19 infection in a thalassemic patient. *Transfusion* 35:769-777
- Hemauer A, Gigler A, Searle K, Beckenlehner K, Raab U, Broliden K, Wolf H, Enders G, Modrow S (2000) Seroprevalence of parvovirus B19 NS1-specific IgG in B19-infected and uninfected individuals and in infected pregnant women. *J Med Virol* 60:48-55
- Norja P, Hokynar K, Aaltonen LM, Chen R, Ranki A, Partio EK, Kiviluoto O, Davidkin I, Leivo T, Eis-Hübinger AM, Schneider B, Fischer HP, Tolba R, Vapalahti O, Vaheeri A, Söderlund-Venermo M, Hedman K (2006) Bioprotfolio: lifelong persistence of variant and prototypic erythrovirus DNA genomes in human tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 7450-7453
- Yetgin S, Cetin M, Ozyürek E, Aslan D, Uçkan D (2004) Parvovirus B19 infection associated with severe aplastic anemia in an immunocompetent patient. *Pediatr Hematol Oncol* 21:223-226
- Prassouli A, Papadakis V, Tsakris A, Stefanaki K, Garoufi A, Haidas S, Dracou C (2005) Classic transient erythroblastopenia of childhood with human parvovirus B19 genome detection in the blood and bone marrow. *J Pediatr Hematol Oncol* 27: 333-336
- Török TJ, Wang QJ, Gary Jr. W, Yang CF, Finch TM, Anderson LJ (1992) Prenatal diagnosis of intrauterine infection with parvovirus B19 by the polymerase chain reaction technique. *Clin Infect* 14: 149-155
- Schneider J, Weitzel H (Hrsg.) (1990) Erkrankungen in der Schwangerschaft: Ein Leitfaden mit Therapieempfehlungen für Klinik und Praxis. Stuttgart, Wiss. Verlagsgesellschaft
- Hall SM and Public Health Laboratory Service Working Party on Fifth Disease (1990) Prospective study of human parvovirus (B19) infection in pregnancy. *Br Med J* 300:1166-1170
- Rodis JF, Quinn DL, Gary GW Jr., Anderson LJ (1990) Management and outcomes of pregnancies complicated by human B19 parvovirus infection: a prospective study. *Am J Obstet Gynecol* 163: 1168-1171
- de Haan TR, Beersma MF, Claas EC, Oepkes D, Kroes AC, Walther FJ (2007) Parvovirus B19 infection in pregnancy studied by maternal viral load and immune responses. *Fetal Diagn Ther* 22:55-62
- Matsuda H, Sakaguchi K, Shibasaki T, Takahashi H, Kawakami Y, Furuya K (2005) Intrauterine therapy for parvovirus B19 infected symptomatic fetus using B19 IgG-rich high titer gammaglobulin. *J Perinat Med* 33:561-563
- Pankuweit S, Moll R, Baandrup U, Portig I, Hufnagel G, Maisch B (2003) Prevalence of parvovirus B19 genome in endomyocardial biopsy specimens. *Hum Pathol* 34:497-503
- Enders M, Weidner A, Enders G (2007) Current epidemiological aspects of human parvovirus B19 infection during pregnancy and childhood in the western part of Germany. *Epidemiol Infect* 135: 563-569
- Röhler C, Gärtner B, Sauerbrei A, Böhm S, Hotten-träger B, Raab U, Thierfelder W, Wutzler P, Modrow S (2008) Seroprevalence of parvovirus B19 in the German population. *Epidemiol Infect* 136: 1564-1575
- Nguyen QT, Wong S, Heegaard ED, Brown KE (2002) Identification and characterization of a second novel human erythrovirus variant, A6. *Virology* 301:374-380
- Hokynar K, Söderlund-Venermo M, Pesonen M, Ranki A, Kiviluoto O, Partio EK, Hedman K (2002) A new parvovirus genotype persistent in human skin. *Virology* 302:224-228
- Liefeldt L, Plentz A, Klempa B, Kershaw O, Endres AS, Raab U, Neumayer HH, Meisel H, Modrow S (2005) Recurrent high level parvovirus B19/genotype 2 viremia in a renal transplant recipient analyzed by real-time PCR for simultaneous detection of genotypes 1 to 3. *J Med Virol* 75:161-169
- Blümel J, Eis-Hübinger AM, Stühler A, Bönsch C, Gessner M, Löwer J (2005) Characterization of parvovirus B19 genotype 2 in KU812Ep6 cells. *J Virol* 79:14197-14206
- Toan NL, Duechting A, Kreamsner PG, Song le H, Ebinger M, Aberle S, Binh VQ, Duy DN, Torresi J, Kandolf R, Bock CT (2006) Phylogenetic analysis of human parvovirus B19, indicating two subgroups of genotype 1 in Vietnamese patients. *J Gen Virol* 87:2941-2949

38. Sanabani S, Neto WK, Pereira J, Sabino EC (2006) Sequence variability of human erythroviruses present in bone marrow of Brazilian patients with various parvovirus B19-related hematological symptoms. *J Clin Microbiol* 44:604–606
39. Candotti D, Etiz N, Parsyan A, Allain JP (2004) Identification and characterization of persistent human erythrovirus infection in blood donor samples. *J Virol* 78:12169–12178
40. Sakata H, Ihara H, Sato S, Kato T, Ikeda H, Sekiguchi S (1999) Efficiency of donor screening for human parvovirus B19 by the receptor-mediated hemagglutination assay method. *Vox Sang* 77:197–203
41. Hitzler WE, Runkel S (2002) Prevalence of human parvovirus B19 in blood donors as determined by a haemagglutination assay and verified by the polymerase chain reaction. *Vox Sang* 82:18–23
42. Saldanha J, Lelie N, Yu MW, Heath A, B19 Collaborative Study Group (2002) Establishment of the first World Health Organization International Standard for human parvovirus B19 DNA nucleic acid amplification techniques. *Vox Sang* 82:24–31
43. Mossong J, Hens N, Friederichs V, Davidkin I, Broman M, Litwinska B, Siennicka J, Trzcinska A, Van Damme P, Beutels P, Vyse A, Shkedy Z, Aerts M, Massari M, Gabutti G (2008) Parvovirus B19 infection in five European countries: seroepidemiology, force of infection and maternal risk of infection. *Epidemiol Infect* 136:1059–1068
44. Brown KE, Simmonds P (2007) Parvoviruses and blood transfusion. *Transfusion* 47:1745–1750
45. Matsukura H, Shibata S, Tani Y, Shibata H, Furuta RA (2008) Persistent infection by human parvovirus B19 in qualified blood donors. *Transfusion* 48:1036–1037
46. Schmidt M, Themann A, Drexler C, Bayer M, Lanzer G, Menichetti E, Lechner S, Wessing D, Prokoph B, Allain JP, Seifried E, Hourfar MK (2007) Blood donor screening for parvovirus B19 in Germany and Austria. *Transfusion* 47:1775–1782
47. Weimer T, Streichert S, Watson C, Gröner A (2001) High-titer screening PCR: a successful strategy for reducing the parvovirus B19 load in plasma pools for fractionation. *Transfusion* 41:1500–1504
48. Yoto Y, Kudoh T, Haseyama K, Suzuki N, Matsunaga Y, Chiba S (1995) Large-scale screening for human Parvovirus B19 DNA in clinical specimens by dot blot hybridization and polymerase chain reaction. *J Med Virol* 47:438–441
49. McOmish F, Yap PL, Jordan A, Hart H, Cohen BJ, Simmonds P (1993) Detection of parvovirus B19 in donated blood: a model system for screening by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 31:323–328
50. Tsujimura M, Matsushita K, Shiraki H, Sato H, Okochi K, Maeda Y (1995) Human parvovirus B19 infection in blood donors. *Vox Sang* 69:206–212
51. Proxse C, Ludlam CA, Yap PL (1997) Human parvovirus B19 and blood products. *Vox Sang* 72:1–10
52. Koppelman MH, Rood IG, Fryer JF, Baylis SA, Cuyper HT (2007) Parvovirus B19 genotypes 1 and 2 detection with real-time polymerase chain reaction assays. *Vox Sang* 93:208–215
53. Fryer JF, Delwart E, Hecht FM, Bernardin J, Jones MS, Shah N, Baylis SA (2007) Frequent detection of the parvoviruses, PARV4 and PARV5, in plasma from blood donors and symptomatic individuals. *Transfusion* 47:1054–1061
54. Ferguson M, Heath A (2004) Report of a collaborative study to calibrate the Second International Standard for parvovirus B19 antibody. *Biologicals* 32:207–212
55. Baylis SA (2008) Standardization of nucleic acid amplification technique (NAT)-based assays for different genotypes of parvovirus B19: a meeting summary. *Vox Sang* 94:74–80
56. Wakamatsu C, Takakura F, Kojima E, Kiriya Y, Goto N, Matsumoto K, Oyama M, Sato H, Okochi K, Maeda Y (1999) Screening of blood donors for human parvovirus B19 and characterization of the results. *Vox Sang* 76:14–21
57. Doyle S, Corcoran A (2006) The immune response to parvovirus B19 exposure in previously seronegative and seropositive individuals. *J Infect* 194:154–158
58. Corcoran A, Kerr S, Elliott G, Koppelman M, Doyle S (2007) Improved detection of acute parvovirus B19 infection by immunoglobulin M EIA in combination with a novel antigen EIA. *Vox Sang* 93:216–222
59. Schwarz TF (1994) Transmission of parvovirus B19 by blood and blood components. *Transfusionsmed* 21:27–31
60. Seitz R, Ludwig WD (2000) Parvovirus B19 – Ist die Übertragung durch Blutprodukte ein klinisches und transfusionsmedizinisches Problem? *Dt Ärztebl* 97:A3271–3273 (Heft 48)
61. Kleinman SH, Glynn SA, Lee TH, Tobler LH, Schlumpf KS, Todd DS, Qiao H, Yu MY, Busch MP, National Heart, Lung, and Blood Institute Retrovirus Epidemiology Donor Study-II (NHLBI REDS-II) (2009) A linked donor-recipient study to evaluate parvovirus B19 transmission by blood component transfusion. *Blood* 114:3677–3683
62. Plentz A, Hahn J, Knöll A, Holler E, Jilg W, Modrow S (2005) Exposure of hematologic patient to parvovirus B19 as a contaminant of blood cell preparations and blood products. *Transfusion* 45:1811–1815
63. Food and Drug Administration (FDA) – Blood Products Advisory Committee (1999) Nucleic acid testing of blood donors for human parvovirus B19. <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/99/transcript/3548t1.rtf>
64. Koeningbauer UF, Eastlund T, Day JW (2000) Clinical illness due to parvovirus B19 infection after infusion of solvent/detergent-treated pooled plasma. *Transfusion* 40:1203–1206
65. Brown KE, Young NS, Alving BM, Barbosa LH (2001) Parvovirus B19: implications for transfusion medicine. Summary of a workshop. *Transfusion* 41:130–135
66. Schmidt I, Blümel J, Seitz H, Willkommen H, Löwer J (2001) Parvovirus B19 DNA in plasma pools and plasma derivatives. *Vox Sang* 81:228–235
67. Grosse-Bley A, Eis-Hübinger AM, Kaiser R, Oldenburg J, Brackmann HH, Schwarz TF, Schneeweis KE (1994) Serological and virological markers of human Parvovirus B19 infection in sera of hemophiliacs. *Thromb Haemost* 72:503–507
68. Eis-Hübinger AM, Sasowski U, Brackmann HH, Kaiser R, Matz B, Schneeweis KE (1996) Parvovirus B19 DNA is frequently present in recombinant coagulation factor VIII products. *Thromb Haemost* 76:1120
69. Santagostino E, Mannucci PM, Gringeri A, Azzi A, Morfini M, Musso R, Santoro R, Schiavoni M (1997) Transmission of parvovirus B19 by coagulation factor concentrates exposed to 100 degrees C heat after lyophilization. *Transfusion* 37:517–522
70. Blümel J, Schmidt I, Effenberger W, Seitz H, Willkommen H, Brackmann HH, Löwer J, Eis-Hübinger AM (2002) Parvovirus B19 transmission by heat-treated clotting factor concentrates. *Transfusion* 42:1473–1481
71. Wu CG, Mason B, Jong J, Erdman D, McKernan L, Oakley M, Soucie M, Evatt B, Yu MY (2005) Parvovirus B19 transmission by a high-purity factor VIII concentrate. *Transfusion* 45:1003–1010
72. Gigler A, Dorsch S, Hemauer A, Williams C, Kim S, Young NS, Zolla-Pazner S, Wolf H, Gorny MK, Modrow S (1999) Generation of neutralizing human monoclonal antibodies against parvovirus B19 proteins. *J Virol* 73:1974–1979
73. Manaresi E, Pasini P, Gallinella G, Gentilomi G, Venturoli S, Roda A, Zerbini M, Musiani M (1999) Chemiluminescence Western blot assay for the detection of immunity against parvovirus B19 VP1 and VP2 linear epitopes using a videocamera based luminograph. *J Virol Methods* 81:91–99
74. Ekman A, Hokynar K, Kakkola L, Kantola K, Hedman L, Bondén H, Gessner M, Aberham C, Norja P, Miettinen S, Hedman K, Söderlund-Venermo M (2007) Biological and immunological relations among human parvovirus B19 genotypes 1 to 3. *J Virol* 81:6927–6935
75. Schneider B, Höne A, Tolba RH, Fischer HP, Blümel J, Eis-Hübinger AM (2008) Simultaneous persistence of multiple genome variants of human parvovirus B19. *J Gen Virol* 89:164–176
76. Kerr JR, Curran MD, Moore JE, Coyle PV, Ferguson WP (1995) Persistent parvovirus B19 infection. *Lancet* 345:111
77. Kleinman SH, Glynn SA, Lee TH, Tobler L, Montalvo L, Todd D, Kiss JE, Shyamala V, Busch MP, National Heart, Lung, and Blood Institute Retrovirus Epidemiology Donor Study (REDS-II) (2007) Prevalence and quantitation of parvovirus B19 DNA levels in blood donors with a sensitive polymerase chain reaction screening assay. *Transfusion* 47:1756–1764
78. Eis-Hübinger AM, Oldenburg J, Brackmann HH, Matz B, Schneeweis KE (1996) The prevalence of antibody to Parvovirus B19 to hemophiliacs and in the general population. *Zentralbank Bakteriol* 284:232–240
79. Yee TT, Lee CA, Pasi KJ (1995) Life threatening parvovirus B19 infection in immunocompetent haemophilia. *Lancet* 345:794–795
80. Coumau E, Peynet J, Harzic M, Béal G, Castaigne S, Leverger G, Foucaud P (1996) Infection sévère à parvovirus B19 chez un enfant hémophile A immunocompétent. *Arch Pediatr* 3:35–39
81. Soucie JM, Sivak EB, Hooper WC, Evatt BL, Hollinger FB; Universal Data Collection Project Working Group (2004) Human parvovirus B19 in young male patients with hemophilia A: associations with treatment product exposure and joint range-of-motion limitation. *Transfusion* 44:1179–1185
82. Tsao EI, Mason MR, Cacciattolo MA, Bowen SH, Folen-Wasserman G (1996) Production of Parvovirus B19 Vaccine on insect cells co-infected with double baculoviruses. *Biotechnol Bioeng* 49:130–138
83. Ballou WR, Reed JL, Noble W, Young NS, Koenig S (2003) Safety and immunogenicity of a recombinant parvovirus B19 vaccine formulated with MF59C.1. *J Infect Dis* 187:675–678
84. Saldanha J, Minor P (1996) 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. *Br J Haematol* 93:714–719
85. Geng Y, Wu CG, Bhattacharyya SP, Tan D, Guo ZP, Yu MY (2007) Parvovirus B19 DNA in Factor VIII concentrates: effects of manufacturing procedures and B19 screening by nucleic acid testing. *Transfusion* 47:883–889

86. Modrof J, Berting A, Tille B, Klotz A, Forstner C, Rieger S, Aberham C, Gessner M, Kreil TR (2008) Neutralization of human parvovirus B19 by plasma and intravenous immunoglobulins. *Transfusion* 48:178–186
87. Sawyer L, Hanson D, Castro G, Luckett W, Dubensky TW Jr., Stassinopoulos A (2007) Inactivation of parvovirus B19 in human platelet concentrates by treatment with amotosalen and ultraviolet A illumination. *Transfusion* 47:1062–1070
88. Ruane PH, Edrich R, Gampp D, Keil SD, Leonard RL, Goodrich RP (2004) Photochemical inactivation of selected viruses and bacteria in platelet concentrates using riboflavin and light. *Transfusion* 44:877–885
89. Blümel J, Schmidt I, Willkommen H, Löwer J (2002) Inactivation of parvovirus B19 during pasteurization of human serum albumin. *Transfusion* 42:1011–1018
90. Yunoki M, Tsujikawa M, Urayama T, Sasaki Y, Morita M, Tanaka H, Hattori S, Takechi K, Ikuta K (2003) Heat sensitivity of human parvovirus B19. *Vox Sang* 84:164–169
91. Hattori S, Yunoki M, Tsujikawa M, Urayama T, Tachibana Y, Yamamoto I, Yamamoto S, Ikuta K (2007) Variability of parvovirus B19 to inactivation by liquid heating in plasma products. *Vox Sang* 92:121–124
92. Mani B, Gerber M, Lieby P, Boschetti N, Kempf C, Ros C (2007) Molecular mechanism underlying B19 virus inactivation and comparison to other parvoviruses. *Transfusion* 47:1765–1774
93. Berting A, Modrof J, Unger U, Gessner M, Klotz A, Poelsler G, Kreil TR (2008) Inactivation of parvovirus B19 during STIM-4 vapor heat treatment of three coagulation factor concentrates. *Transfusion* 48:1220–1226
94. Prikhod'ko GG (2005) Dry-heat sensitivity of human B19 and porcine parvoviruses. *Transfusion* 45:1692–1693
95. Roberts J, El Hana C, Saldhana J (2006) Inactivation of parvovirus B19 and model viruses in factor VIII by dry heat treatment at 80 degrees C. *Transfusion* 46:1648–1650
96. Blümel J, Stühler A, Dichtelmüller H (2008) Kinetics of inactivating human parvovirus B19 and porcine parvovirus by dry-heat treatment. *Transfusion* 48:790
97. Boschetti N, Niederhauser J, Kempf C, Stühler A, Löwer J, Blümel J (2004) Different susceptibility of B19 virus and mice minute virus to low pH treatment. *Transfusion* 44:1079–1086
98. Caillet-Fauquet P, Draps ML, Giambattista MD, de Launoit Y, Laub R (2004) Continuous-flow UVC irradiation: a new, effective, protein activity-preserving system for inactivating bacteria and viruses, including erythrovirus B19. *J Virol Methods* 118:131–139
99. Sugawara H, Motokawa R, Abe H, Yamaguchi M, Yamada-Ohnishi Y, Hirayama J, Sakata H, Sato S, Kamo N, Ikebuchi K, Ikeda H (2001) Inactivation of parvovirus B19 in coagulation factor concentrates by UVC radiation: assessment by an in vitro infectivity assay using CFU-E derived from peripheral blood CD34+ cells. *Transfusion* 41:456–461
100. Food and Drug Agency (FDA) (2009) Guidance for Industry – Transmission by Plasma-Derived Products Nucleic Acid Testing (NAT) to Reduce the Possible Risk of Parvovirus B19. <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Blood/ucm071592.htm>
101. Lyon DJ, Chapman CS, Martin C, Brown KE, Clewley JP, Flower AJ, Mitchell VE (1989) Symptomatic parvovirus B19 infection and heat-treated factor IX concentrate. *Lancet* 1(8646):1085
102. Morfini M, Longo G, Rossi Ferrini P, Azzi A, Zakrewska C, Ciappi S, Kolumban P (1992) Hypoplastic anemia in a haemophilic first infused with a solvent/detergent treated factor VIII concentrate: the role of human B19 parvovirus. *Am J Hematol* 39:149–150
103. Yee TT, Cohen BJ, Pasi KJ, Lee CA (1996) Transmission of symptomatic parvovirus B19 infection by clotting factor concentrate. *Br J Haematol* 93:457–459
104. Matsui H, Sugimoto M, Tsuji S, Shima M, Giddings J, Yoshioka A (1999) Transient hypoplastic anemia caused by primary human parvovirus B19 infection in a previously untreated patient with hemophilia transfused with a plasma-derived, monoclonal antibody-purified factor VIII concentrate. *J Pediatr Hematol Oncol* 21:74–76
105. Hino M, Ishiko O, Honda KI, Yamane T, Ohta K, Takubo T, Tatsumi N (2000) Transmission of symptomatic parvovirus B19 infection by fibrin sealant used during surgery. *Br J Haematol* 108:194–195
106. Kawamura M, Sawafuji M, Watanabe M, Horinouchi H, Kobayashi K (2002) Frequency of transmission of human parvovirus B19 infection by fibrin sealant used during thoracic surgery. *Ann Thorac Surg* 73:1098–110