

Humanes Immunschwäche- virus (HIV)

Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundes- ministeriums für Gesundheit und Soziale Sicherung

Der 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 werden als Zusammenfassung des aktuellen Wissensstandes veröffentlicht, speziell unter transfusionsmedizinisch relevanten Aspekten (Bundesgesundhbl. 41:53, 1998).

Frühere Beiträge befassten sich mit der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung, dem Parvovirus B19 und dem GB-Virus Typ C (Hepatitis-G-Virus) (Bundesgesundhbl 41:78-90, 1998), HTLV-I/-II (Bundesgesundhbl 41:512, 1998), *Yersinia enterocolitica* (Bundesgesundhbl 42:613, 1999), *TT-Virus* (Bundesgesundhbl 43:154-156, 2000), Hepatitis-B-Virus (HBV) (Bundesgesundhbl 43:240-248, 2000) und Humanes Cytomegalovirus (*HCMV*) (Bundesgesundhbl 43:653-659, 2000), Hepatitis-A-Virus (Bundesgesundhbl 44:844-850, 2001), *Treponema pallidum* (Bundesgesundhbl 45:818-826, 2002) und Hepatitis-C-Virus (Bundesgesundheitsbl 46:712-722, 2003).

1 Wissensstand über den Erreger

1.1 Erregerigenschaften

Das humane Immunschwächevirus (human immunodeficiency virus, HIV) gehört innerhalb der Familie der Retroviren zu den Lentiviren, während das humane T-Zell-Leukämie-Virus (HTLV) zu

den Onkoviren zählt [1]. HIV wird aufgrund von genetischen Eigenschaften und Unterschieden in den Antigenen in die Typen 1 und 2 eingeteilt (HIV-1 und HIV-2). Als SIV werden die Immunschwäche-Viren der Affen (simian immunodeficiency virus) bezeichnet. Die bisher vorliegenden epidemiologischen und molekularbiologischen Daten weisen darauf hin, dass Mitte des 20. Jahrhunderts HIV von afrikanischen Primaten auf den Menschen übertragen wurde [2].

1.1.1 HIV-1

Genomaufbau. Das Genom von HIV besteht aus 2 identischen Molekülen RNA, die im core des Viruspartikels verpackt sind. Das Genom des DNA-Provirus (s. 1.1.3) ist die doppelsträngige HIV-DNA, die nach der reversen Transkription in das menschliche Genom integriert wurde. Das Genom ist an beiden Enden von LTR- (long terminal repeat) Fragmenten flankiert. Der 5'-LTR-Region folgt das *gag*-Gen, welches für die Proteine der äußeren Kernmembran (MA, p17), des Kapsidproteins (CA, p24), des Nukleokapsids (NC, p7) und kleinere, die Nukleinsäure stabilisierende Proteine kodiert (Abb. 1). Nach 3' folgt das *pol*-Gen, welches die Enzyme Protease (PR, p12), reverse Transkriptase (RT, p51) plus RNase H (p15 bzw. p66) und die Integrase (IN, p32) kodiert. Darauf folgt das *env*-Gen, von welchem die beiden Hüll-Glykoproteine gp120 (surface protein, SU) und gp41 (transmembrane protein, TM) stammen. Im Vergleich zu den meisten anderen Retroviren kodiert das Genom von HIV für mehrere regula-

torische Proteine. Tat und Rev sind für die Replikation des HIV notwendig, die weiteren regulatorischen Proteine Nef, Vif, Vpr und Vpu sind für die Replikation in vitro nicht essenziell [1, 3]. Einen identischen Genomaufbau wie HIV-1 hat das SIVcpz, das Immunschwächevirus des Schimpansen [4].

Gruppen und Subtypen. HIV-1 wird untergliedert in die Gruppen M, N und O. Verschiedene Schimpansenviren, auch als SIV-1 bezeichnet [2, 5], lassen sich nach phylogenetischen Analysen zwischen die beim Menschen vorkommenden Gruppen N und O einordnen. HIV-1 Gruppe M wird unterteilt in die Subtypen A bis K, von denen A und D evolutionär die ältesten Viren zu sein scheinen. Subtyp B und D sind so eng miteinander verwandt, dass sie heute als Sub-Subtypen bezeichnet werden. Einzelne Subtypen leiten sich von rekombinanten Viren ab. Subtyp E beispielsweise ist nur im Hüllgen (*env*) individuell, während der übrige Genomanteil dem HIV-1 M:A entspricht, und wird heute als HIV-1 M:A/E bezeichnet [4]. Subtyp I ist ebenfalls ein rekombinantes Virus und deswegen nicht mehr in der Listung enthalten. Rekombinationen, d. h. Austausch ganzer Genbereiche an nicht selektierten Stellen, kommen in HIV-Subtyp-doppelt-infizierten Zellen häufig vor (etwa in 1 von 400 gebildeten Partikeln) [6]. Es bilden sich genetisch neue Stämme, die innerhalb des Wirtes einen Selektionsvorteil haben können, z. B. HIV-1 M:A/G

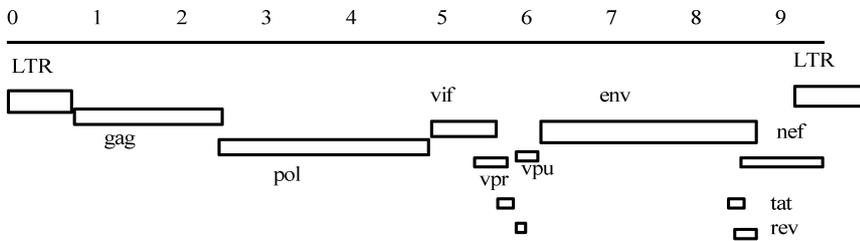


Abb. 1 ▲ **Genomaufbau von HIV-1** (LTR long terminal repeat, gag group specific antigen, pol polymerase, env envelope). Bei den Regulatorgenen werden die Proteine von tat und rev aus 2 Genbereichen zusammengesetzt, bei HIV-2 entspricht das vpu- dem vpx-Gen. Die LTR-Nukleinsäure-Sequenzen werden nicht in Protein translatiert. Das Genom besteht aus 9.200–9.600 Nukleotiden bei HIV-1 und bis zu 9.800 bei HIV-2

in Westafrika und B/C in China [5]. Rekombinanten zwischen HIV-1 Gruppe M Subtyp A und Gruppe O Subtyp I sind in Kamerun gefunden worden, nicht jedoch bisher zwischen HIV-1 und HIV-2 in Westafrika, obwohl etwa 2% der HIV-Infizierten dort Doppelinfectionen tragen. HIV-1 Gruppe-O- bzw. N-Viren werden bisher nicht in Subtypen unterteilt, da die Zahl der vollständig sequenzierten Isolate zu niedrig ist [7, 8, 9]. Für Gruppe-O-Viren ist die Einteilung in Subtypen vorgeschlagen [10].

Partikelbau. Das reife HIV-Partikel ist rund, hat einen Durchmesser von ca. 100 nm und trägt die äußere Lipidmembran als Hülle (Abb. 2). In der Hülle stecken 72 Knöpfe, die aus Trimeren des gp120-Oberflächenproteins (SU) bestehen, die über das Transmembranprotein gp41 (TM) in der Membran verankert sind [11].

Auf dem gp120 liegen konformationsabhängige neutralisierende Epitope, die im nativen Protein ausgebildet sind, im entfalteten, denaturierten Protein jedoch nicht [12]. Direkt unter der Virus-hülle findet sich die aus dem Matrixprotein (MA, p17) symmetrisch aufgebaute äußere Kapsidmembran. Das kegelförmige Kapsid ist aus dem inneren Kapsidprotein p24 (CA) aufgebaut. Je nach Schnittrichtung ist das Kapsid im elektronenmikroskopischen Bild als Kegel, Ring oder Ellipse zu erkennen (Abb. 3). Das Kapsid ist an der äußeren Kapsidmembran mit dem verjüngten Pol fixiert. Im Kapsid befinden sich 2 Moleküle viraler genomischer RNA und mehrere Moleküle RT/RNase H und IN, die an die Nukleinsäure gebunden sind [1]. Im Viruspartikel ebenfalls vorhanden sind die Peptide, die durch die Protease bei der Prozessierung der Vorläuferpro-

teine für Gag (p55) und Pol (p160) nach der Zellausschleusung des Partikels während der Partikelreifung abgespalten worden sind.

Die Reifung von HIV erfolgt nach Abschluss des Budding-Prozesses und der Freisetzung des Virus von der Zellmembran durch die Prozessierung der Gag/Pol-Vorläuferproteine. In elektronenmikroskopischen Aufnahmen kann nach Ausschleusung der Verlust der Oberflächenfortsätze (SU-Trimere) über Scherkräfte beobachtet werden [13]. Gp120-freie Partikel sind nicht mehr infektiöstüchtig.

Regulator-Proteine. Tat beschleunigt die Verfügbarkeit von viraler RNA 100fach. Tat bindet an die TAR-Region von viraler RNA, nicht von zellulärer RNA. Tat aktiviert in Trans-Position auch weitere HIV-Genome, die sich in der Zelle befinden. Tat selbst wird induziert durch Tat, aber auch durch Cytokine wie p65 und NF kappa B.

Rev ist verantwortlich für die Spleißlänge der gebildeten HIV-RNAs. Dadurch wird ermöglicht, dass die Regulatorproteine früh während des Replikationszyklus und die Strukturproteine erst spät gebildet werden.

Nef beeinflusst die Präsentation von CD4-Molekülen auf der Zelloberfläche negativ, folglich verarmt die Membran der infizierten Zelle an CD4, sodass sie von weiteren HIV nicht mehr infiziert werden kann. Ferner steigert Nef die pathogene Wirkung in vivo [3]. Das Molekül von HIV-1-Nef ist kürzer und steigert die pathogene Wirkung mehr als bei HIV-2. Weitere Regulatorproteine sind Vif – viral infectivity factor –, vpr und vpu – viral protein r bzw. u –, die einen Einfluss auf die Geschwindigkeit der HIV-Produktion ausüben [14, 15] (Übersicht 1).

1.1.2 HIV-2

HIV-2 ist am engsten verwandt mit dem SIV-2 der Mangaben-Affen in Westafrika (SIVsmm) – Abb. 2. Unter HIV-2/SIV-2 werden heute die Viren verschiedener Primaten wie der afrikanischen Grünen Meerkatze (agm), Drill (drl) und Mandrill (mnd), Mangaben (smm), Syk-Affen (syk), Colobus-Affen (gue) sowie Weißnasen-Affen (gsn) und Mona-Affen (mon) eingeordnet [5, 16, 17]. HIV-2 ist morphologisch nicht von HIV-1 zu unterscheiden [5]. Statt für das vpu-Gen kodiert das HIV-2 Genom für ein vpx. HIV-2 wird, da wesentlich weniger Isolate untersucht wurden, nicht in Gruppen, sondern bisher nur in Subtypen eingeteilt (A bis G) [4]. Wegen der ausgeprägten Unterschiede in der Antigenität der viralen Proteine und im Genomaufbau zu HIV-1 erfordert die HIV-2-Diagnostik individuelle Reagenzien. Eine NAT für die Bestimmung von HIV-2-Nukleinsäure ist bisher kommerziell nicht verfügbar. HIV-2 ist im Allgemeinen weniger pathogen als HIV-1 (s. unter 1.2).

1.1.3 Infektion der menschlichen Zelle

Die ersten Schritte der Infektion einer Zelle sind durch komplexe Protein-Protein-Wechselwirkungen gekennzeichnet. Das reife HIV-Partikel bindet mit dem gp120-Protein an den CD4-Rezeptor der Wirtszelle. Wirtszellen für HIV sind somit alle CD4-positiven Zellen, wie T-Helfer-Lymphozyten, Makrophagen und Astrozyten. Nach Anheftung an das CD4-Molekül über die C4-Domäne des gp120 erfolgt eine Konformationsänderung von CD4 und gp120, die eine weitere Bindungsstelle des gp120 an den sog. Korezeptor, Chemokinrezeptor 5 (CCR5) oder Chemokinrezeptor 4 (CXCR4 oder Fusin) auf der Zelloberfläche eröffnet [18, 19]. Durch Bindung des gp120 an CD4 und den Korezeptor erfolgt eine Konformationsänderung des gp120, nachfolgend eine des gp41 [1]. Der hydrophobe N-terminale Anteil des gp41 wird auf die Zelloberfläche gestülpt, bildet einen Kanal und inseriert in die Plasmamembran der Zielzelle. Fusion von Zellmembran und Virushülle werden nachfolgend vollzogen.

Nach Verschmelzen beider Membrane befindet sich das kegelförmige Kapsid im Zytoplasma. Das Kapsid wird über ein Endosom aufgenommen, und

durch pH-Wertänderung im Phagosom wird der Kapsidininhalt ins Zytoplasma freigesetzt [20]. Im Zytoplasma erfolgt die Aktivierung der reversen Transkriptase (RT). Die HIV-RT schreibt einen HIV-RNA-Strang in DNA (komplementäre cDNA) um, gleichzeitig wird der RNA-Strang durch die Aktion der RNase H zerstört. Durch die RNA-DNA-Polymeraseaktivität der RT wird an der Einzelstrang-cDNA die Doppelstrang-DNA gebildet und gleichzeitig der zweite RNA-Strang durch die RNase H abgebaut [21]. Diese provirale DNA wird als linearer Strang oder als Ring zusammen mit der Integrase (IN) als Komplex über Nukleoporen in den Zellkern transportiert. Die Integrase fügt anschließend das provirale Genom an einer beliebigen Stelle in das Genom der humanen Wirtszelle ein. Mit der Integration ist die HIV-Infektion der Zelle abgeschlossen und eine permanente Infektion etabliert.

Das provirale Genom wird entweder als Bestandteil des Wirtszellgenoms mit diesem bei einer Zellteilung vermehrt (latente Infektion – selten), oder das Genom dient als Anheftungsregion zellulärer Polymerasen zur Synthese von viraler mRNA und genomischer RNA. Die Synthese viraler mRNA wird über Tat gesteuert und beschleunigt.

Die Anlagerung von HIV an eine CD4-Zelle dauert etwa 30 min bis 2 h, die Umschreibung der RNA in HIV-DNA etwa 6 h und die Integration weitere 6 h. Nach Integration können erste Viruspartikel nach etwa 12 h produziert werden; d. h., nach etwa 24 h können erste Nachkommenviren freigesetzt werden. Da die RT keine Proof-reading-Aktivität hat, wird bei jedem Umschreibevorgang ein Nukleotid falsch eingebaut. Bei ungehemmter HIV-Replikation werden täglich 10^8 bis 10^9 Viren umgesetzt, d. h. vom Immunsystem zerstört und von den infizierten Zellen wieder neu produziert [22, 23]. Bei einer Mutationsrate von 1 in 10^4 entstehen folglich in einem Patienten über die Zeit verschiedene Quasispezies, die, da auch Epitope für neutralisierende Antikörper betroffen sind, immer wieder dem Immunsystem entkommen und die HIV-Produktion aufrechterhalten [12]. Nicht alle Nukleotid-Austausche führen zum Austausch einer Aminosäure. Mutationen, die essenzielle Regionen von Strukturproteinen oder aktive Zentren von Enzymen betreffen, führen zu Letalmutanten von HIV.

Im Blut des Infizierten werden mit einer Halbwertszeit von 2–4 Tagen die infizierten Zellen über zytotoxische HIV-Komponenten oder durch die Immunabwehr von zytotoxischen T-Lymphozyten zerstört [24, 25]. Da auch HIV-infizierte T-Helfer-Lymphozyten lysiert werden und da gleichzeitig deren Nachbildung gehemmt ist, resultiert über die Zeit ein Mangel an T-Helfer-Lymphozyten. Für die mangelhafte Nachreifung von T-Helfer-Lymphozyten sind ebenfalls HIV-Produkte verantwortlich [3]. Ein Teil der neu gebildeten T-Helfer-Lymphozyten erreicht keine normale Funktion. Nach Jahren der Infektion führt der Schwund an T-Helfer-Lymphozyten in fast jedem Individuum zur Immunschwäche. Integriertes HIV kann in langlebigen Zellen wie einigen Makrophagen, Astrozyten oder Memory-T-Zellen über mehrere Jahre (Halbwertszeit bestimmter Zielzellen: 7 Jahre) latent überdauern und nach Aktivierung neue Viruspartikel bilden.

1.1.4 Inaktivierbarkeit und Stabilität von HIV unter Umweltbedingungen

Die Stabilität von HIV wird wesentlich über seine Lipidhülle geprägt. HIV ist stabil bei pH-Werten zwischen pH3 und

pH10 [26, 27]. Gegenüber Hitzeeinwirkung beträgt die Halbwertszeit ($t/2$) der Virus-Inaktivierung bei 56°C etwa 30 min, bei 60°C etwa 1 min und bei über 65°C weniger als 1 s. Bei niedrigeren Temperaturen ist HIV relativ stabil: Bei 20°C beträgt $t/2$ etwa 9 h, bei 4°C mehrere Monate und unter -70°C unbegrenzt. Bei -20°C findet eine geringe, aber kontinuierliche Abnahme der Infektiosität von HIV statt. Proben für forensische Zwecke sollten bei tieferer Temperatur als -20°C gelagert werden.

HIV ist gegenüber der Behandlung mit Desinfektionsmitteln empfindlich. Bereits 20% Ethanol verringert langsam den Infektionstiter, und 70% Ethanol, 50% Isopropanol, 4% Formaldehyd und starke Detergenzien wie SDS, NP-40 oder Triton X-100 ab 1% inaktivieren HIV schnell [26]. HIV-Partikel sind gegen physikalische Einflüsse wie z. B. UV-Licht, Gamma-Strahlen oder Ultraschallwellen relativ stabil [28]. Im Plasma ist die Halbwertszeit ($t/2$) für HIV etwa 2 Tage bei Körpertemperatur [22], bei 4°C beträgt sie etwa einen Monat. Folglich wird bei einer Virusmenge von 100.000 Partikeln/ml in einer bei 4°C gelagerten Blutkonserve innerhalb von 6 Wochen Laufzeit eine Reduktion um etwa 1,5 Halbwertszeiten stattfinden,

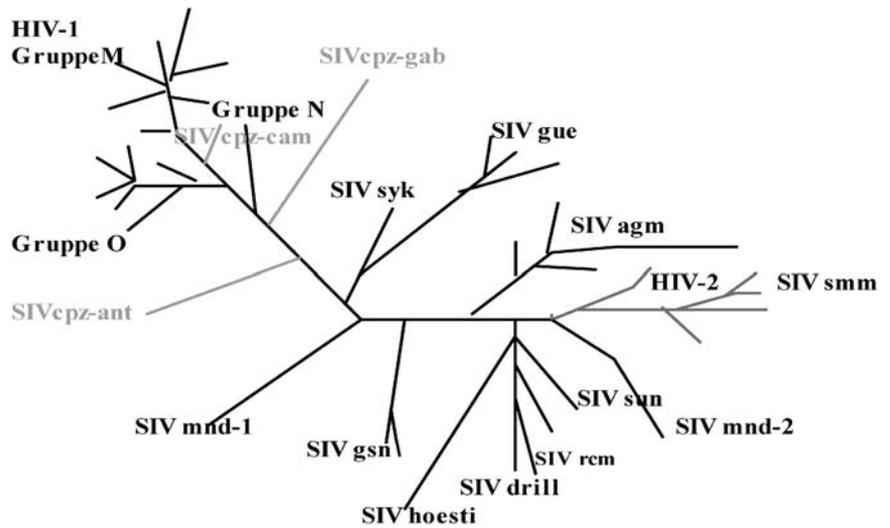


Abb. 2 ▲ Phylogenetischer Baum der Primaten-Lentiviren, die dem HIV sehr ähnlich sind. Auf der linken Seite ist HIV-1 mit den Gruppen M, N und O zu sehen. Die Verästelungen von Gruppe M und O entsprechen den Subtypen, Gruppe N besteht nicht aus Subtypen. SIV cpz cam enthält verschiedene Isolate wie US und cm 1 und 2, die von Schimpansen (cpz) aus Kamerun stammen. HIV-2 ist identisch mit den Viren der Mangaben (smm sooty mangabey monkey), besteht nach der phylogenetischen Distanz aus 6 Gruppen, wird bisher jedoch in die Subtypen A–G eingeteilt. Im Mandrill (mnd) wurden 2 verschiedene SIV gefunden. gue ist die Abkürzung für guereza colobus für Colobus-Affen, gsn (greater spot nosed monkey) für Weißnasen-Affe, drill für Drill, hoesti für die Gruppe der Hoest-Affen, rcm rote Kapfen-Mangaben, sun sun tailed monkey. Bisher hat jede Affenspezies in Westafrika ein individuelles HIV-ähnliches Retrovirus. Gorillas scheinen nicht mit Lentiviren infiziert zu sein

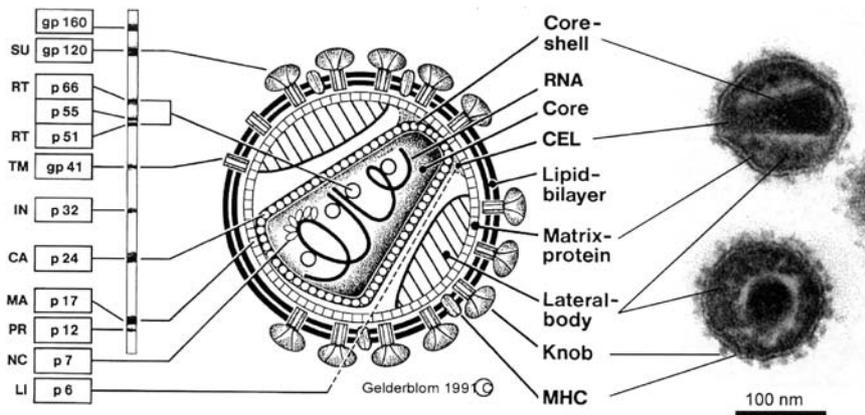


Abb. 3 ▲ Schematischer Aufbau des HIV-Partikels und entsprechendes elektronenmikroskopisches Bild auf der rechten Seite und die Banden des Immunoblots auf der linken. (gp Glykoprotein, p Protein, SU-surface protein, TM transmembrane protein, RT reverse transcriptase, IN integrase, CA capsid protein, MA matrix protein, PR protease, NC nucleic acid binding protein, L link protein. MHC sind HLA-Antigene (major histocompatibility complex). Bild von Hans Gelderblom, RKI Berlin

d. h. eine Partikelmenge von 37.500 verbleiben. Wenn eine human infektiöse Dosis (1 HID) etwa 500 HIV-Partikel beträgt, ist auch eine geringe Menge transfundiertes Blut ausreichend, um eine Infektion zu übertragen.

Die Überlebensfähigkeit des HIV-Partikels innerhalb von weißen Blutzellen ist unklar. Es ist davon auszugehen, dass HIV in Lymphozyten rascher inaktiviert wird als im Plasma, sodass eine Halbwertszeit von wenigen Tagen bei Raumtemperatur, jedoch von Wochen bei 4°C anzunehmen ist. In dendritischen Zellen kann HIV für Wochen infektionstüchtig bleiben. In lyophilisiertem Plasma oder Faktorenkonzentrat in Gegenwart hoher Proteinkonzentrationen bleibt HIV bei Raumtemperatur für Jahre infektiösfähig.

1.2 Infektion und Infektionskrankheit

HIV kann über die intakte Schleimhaut, ekzematös veränderte oder verletzte Haut bzw. Schleimhaut und durch parenterale Inokulation in den Organismus eindringen. Bei der Übertragung durch Geschlechtsverkehr lagert sich HIV zuerst an dendritische Zellen, z. B. Langerhans-Zellen, oder an Makrophagen/Monozyten an, und es findet eine präferenzielle Vermehrung von CCR-5 als Korezeptor nutzenden Viren (R5) statt, wie an M-Zellen der Mukosa beschrieben [29]. Bei Exposition der Blutzellen ist eine direkte Infektion von T-Helfer-Lymphozyten möglich, sodass R5- und X4-Viren übertragen werden.

Eine human infektiöse Dosis (1 HID) entspricht etwa 100 bis 1.000 HIV-Partikeln, wobei die Infektion über die Schleimhaut eine höhere Dosis erfordert als die über die Blutbahn. Die größte Zahl von HIV-Neuinfektionen betrifft immer noch sexuell übertragene Infektionen. Ein weiterer epidemiologisch relevanter Weg sind parenteral applizierte Drogen und auch das Schnupfen von Drogen mit Epistaxis.

HIV lässt sich nach Infektion im regionalen lymphatischen Gewebe innerhalb von 1–2 Tagen nachweisen, in den regionalen Lymphknoten innerhalb von 5–6 Tagen und im ganzen Körper verteilt, einschließlich des Nervensystems, innerhalb von 10–14 Tagen. Innerhalb des Organismus können verschiedene Kompartimente unterschieden werden, deren HIV-Konzentrationen nicht miteinander korrelieren. HIV-relevante Kompartimente sind Blut, Zerebrospinal-System und Genital-System wie Ejakulat bzw. Vaginalsekret [30, 31].

Eine Übertragung von HIV über Blut oder Organe einschließlich Knochen ist etwa ab dem 5.–6. Tag nach Infektion des Spenders möglich. Die mäterno-fetale Übertragung ist ab der 12. Schwangerschaftswoche nachgewiesen, findet aber im Wesentlichen (>90%) im letzten Trimenon, vor allem kurz vor oder unter der Geburt statt [32]. HIV kann über Muttermilch übertragen werden [33].

Mit Beginn der humoralen Immunantwort gegen HIV nach 3–4 Wochen ist bei der Mehrzahl der Infizierten eine kli-

nische Symptomatik [3, 34] mit Fieber, Lymphknotenschwellung, Müdigkeit, Abgeschlagenheit, kleinfleckigem, wenig erhabenem Hautexanthem und gastrointestinalen Symptomen zu beobachten. Diese Symptome sind unspezifisch und kommen auch bei anderen Viruserkrankungen wie Mononukleose oder Influenza vor. Eine akute Neuropathie ist im Akutstadium häufig. Die Krankheitssymptome halten 2–4 Wochen an. Es folgt in der Regel eine jahrelange asymptomatische Phase.

Am Anfang der Infektion werden Virustiter im Blut von 10^5 bis zu 10^9 (Abb. 4), in Ausnahmefällen bis zu 10^{14} Genomkopien/ml erreicht [34], dementsprechend sind diese Blutspenden hochinfektiös. Während der asymptomatischen Phase kann der Virustiter bis unter $<10^2$ Genomkopien/ml absinken; auch in dieser Phase sind infizierte Personen und ihr Blut infektiös. Ab der 2. Woche lässt sich über die NAT HIV-DNA in Blut-Lymphozyten nachweisen als Korrelat dafür, dass CD4-T-Lymphozyten als Zielzellen von HIV provirale DNA tragen. Das Blut von HIV-infizierten LTNP (long term non progressors), die keine messbare Virämie aufweist, ist über die provirale HIV-DNA-Analyse positiv, wenn die Lymphozyten angereichert werden [35, 36].

Mit dem zum jetzigen Zeitpunkt (2003) in Deutschland zugelassenen HIV-Antikörper-Suchtesten lassen sich abhängig von Immunantwort und verwendetem Test ab etwa der 3. Woche nach Infektion, normalerweise nach 4–5 Wochen, und bei verzögerter Immunantwort nach 8 Wochen, im Plasma HIV-spezifische Antikörper nachweisen (s. unter 1.4). Zu Beginn der Infektion sind die Antikörper-Titer niedrigtitrig und hauptsächlich gegen p24 und die Oberflächenglykoproteine gp120 und gp41 gerichtet. In der Folge, meist innerhalb von 1–3 Wochen, bilden sich hochavide Antikörper gegen alle HIV-Proteine. Gegen sehr viele der Epitope von HIV-Proteinen wird auch eine spezifische T-Zell-Antwort induziert.

Die frühe Immunantwort beinhaltet häufig IgM-Antikörper, die über Monate persistieren können [3]. Ein Teil der Antikörper hat neutralisierende Kapazität, sei es, dass sie gegen gp120, gp41 oder p24/p17 des infizierenden Virus gerichtet sind. Die hauptneutralisierende Aktivität findet sich in Antikörpern, die ge-

gen den V₃-loop des gp120 gerichtet sind. Sie sind stammspezifisch und können die sich im Organismus eines Individuums ausbildenden Quasispezies von HIV dauerhaft nicht ausreichend eliminieren [12, 37]. Unter dem Eliminationsdruck des Immunsystems werden Viren mit variablem V₃-loop selektioniert. Der V₃-loop ist die Region des gp120-Proteins, in der sehr viele Aminosäuren-Austausche stattfinden (hypervariabel). Eine serologische Subtyp-Differenzierung ist nicht möglich, sie kann jedoch über subtypspezifische Aminosäuren-Sequenzen aus der C₂V₃-Region erfolgen [4].

Mit zunehmender Immunschwäche verfällt die Immunabwehr, und opportunistische Infektionen und Neoplasien treten auf. Typisch für die HIV-Infektion ist ein Verlauf mit Phasen des Wohlergehens, gefolgt von Phasen der Krankheit. Im Laufe der Infektion werden die Krankheitsphasen häufiger und länger [38]. Ohne Therapie verläuft die HIV-Infektion immer tödlich. Die Zeit bis zum Auftreten einer sichtbaren Immunschwäche ist mit 2–25 Jahren (Abb. 4) und länger variabel.

Häufig auftretende opportunistische Infektionserreger sind *Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium parvum*, *Pneumocystis carinii*, *Mycobacterium tuberculosis* und atypische Mykobakterien, *Salmonella* sp, Pneumokokken, das humane Polyomavirus JC-Virus, Zytomegalievirus und Herpes-simplex-Virus. Typische Neoplasien unter HIV sind Kaposi-Sarkom mit dem humanen Herpesvirus Typ 8, Non-Hodgkin-Lymphome und über humanes Papillomvirus-induzierte Penis- und Zervixkarzinome. Bei Jahre dauernder HIV-Infektion beginnt der Marasmus, der nicht therapierte Patienten äußerlich prägt [3]. Eine gleichzeitige Infektion mit Hepatitis-C-Virus führt zur schnelleren Progression der Krankheit [39, 40]. Ein Teil der HIV-infizierten Patienten entwickelt typische atrophe Hautveränderungen, die als seborrhoisches Ekzem in der Literatur beschrieben wurde und die das Infektionsgeschehen äußerlich erkennbar macht. Ebenfalls zu einem frühen Zeitpunkt erkennbar sind Veränderungen an der Mundschleimhaut mit Retraktion der Gingiva und tiefen paradontotischen Prozessen und am lateralen Rand der Zunge die Haarleukoplakie.

Die WHO und CDC haben entsprechend dem klinischen Bild und der CD4-

Zellzahl die HIV-Infektion in Stadien eingeteilt, die von A₁–C₃ reichen [41]. A heißt asymptomatisch, B bedeutet geringe Symptome bis AIDS-related complex und C AIDS-definierende Erkrankung. Im Stadium 1 liegt die CD₄-Zellzahl über 500, in 2 zwischen 499 und 200 und in 3 unter 200 pro µl Blut.

1.3 Epidemiologie

Die Ausbreitung von HIV hat nach heutigen Erkenntnissen etwa mit Ende des 2. Weltkrieges begonnen. In den frühen 70er-Jahren war HIV-1 bereits in ganz Afrika [42] und in Nordamerika seit 1968 [43], wenn auch mit sehr niedriger Prävalenz, und seit Mitte der 80er-Jahre weltweit verbreitet. Die HIV-Prävalenz ist in einzelnen Regionen der Erde unterschiedlich: Die höchste Prävalenz findet sich, wie für eine sexuell übertragbare Krankheit typisch, in Städten. In Zentralafrika werden Prävalenzen von 30% erreicht, beide Geschlechter sind etwa gleich stark betroffen. In nordamerikanischen Städten wurden je nach untersuchter Population Prävalenzen im Bereich von 1–5% und in Deutschland in Frankfurt/Main und Berlin (westliche Stadtteile) von etwa 0,5% erreicht. In ländlichen Regionen ist die Prävalenz zum Teil viel niedriger. In Deutschland herrscht noch ein historisch bedingtes West-Ost-Gefälle.

Deutschland. Die Zahl der HIV-Neuinfektionen ist in Deutschland in den Jahren von 1995–2000 annähernd konstant geblieben und steigt seit 2001 langsam an. Etwa ein Viertel der Neuinfizierten sind Frauen. Nach den Berechnungen des Robert Koch-Instituts leben derzeit etwa 39.000 HIV-Infizierte in Deutschland, darunter 9.000 Frauen und 400 Kinder. Die Zahl der Infizierten mit dem Vollbild AIDS wird auf 5.000 geschätzt. Unter den HIV-Infizierten stammen etwa 37% aus den Großstädten Frankfurt/Main, Berlin, München, Düsseldorf, Köln und Hamburg, weitere 55% aus den westlichen Bundesländern außerhalb der Großstädte und 8% aus den östlichen Bundesländern.

Europa. HIV-1-Gruppe-M-Subtypen haben eine unterschiedliche regionale Verbreitung. In der westlichen Welt ist die Infektion mit HIV-1 M:B prädominant. Die Prävalenz von HIV-1-Subtypen und auch von HIV-2 in den verschiedenen europäischen Ländern spiegelt die historische Verbindung dieser Staaten zu den entsprechenden Endemiegebieten in Afrika wider [5, 6]. In Belgien ist die Hälfte der Infektionen durch HIV-1 M:A verursacht, in England und Frankreich sind alle Subtypen zu finden, und in Portugal und Frankreich ist neben HIV-1 M:B auch HIV-2

Übersicht 1

Übersicht über die HIV-Proteine und ihre Funktion

Gag	p24	Kapsid-Protein (CA)	Aufbau des kegelförmigen Kapsids
	p17	Matrix-Protein (MA)	Aufbau der äußeren Kapsid-Membran
	p6, p7	Nucleoprotein	Stabilisierung der HIV-RNA
Pol	p10	Protease (PR)	Spaltung des Gag-Pol-Vorläufer-Proteins
	p51	Reverse Transcriptase (RT)	Freisetzung der Struktur-Proteine und Enzyme
	p15 (66)	RNAse H	Umschreibung der HIV-RNA in DNA
Env	p32	Integrase (IN)	Abbau der als template dienenden RNA
	gp120	Oberflächenprotein (SU)	Einbau der proviralen DNA ins Genom
	gp41	Transmembranprotein (TM)	Anheftung an CD4-Rezeptor
Tat	p14	Transaktivator-Protein	Verankerung von gp120, Fusion
Rev	p19	RNA-splicing-Regulator	Regelung der Proteinsynthese über RNA
Nef	p27	Negativ Regulating Factor	Regelung der mRNA-Länge
Vif	p23	viral infectivity protein	Beeinflussung der HIV-Replikation
Vpr	p15	virus protein r	Beschleunigung der HIV-Freisetzung
Vpu	p16	virus protein u	Erleichterung der Virussythese
Vpx	p15	virus protein x	Erleichterung der Virusfreisetzung (HIV-1)
Tev	p26	Tat/Rev Protein	Erhöhung der Infektiosität (HIV-2)
			Aktivität wie Tat und Rev

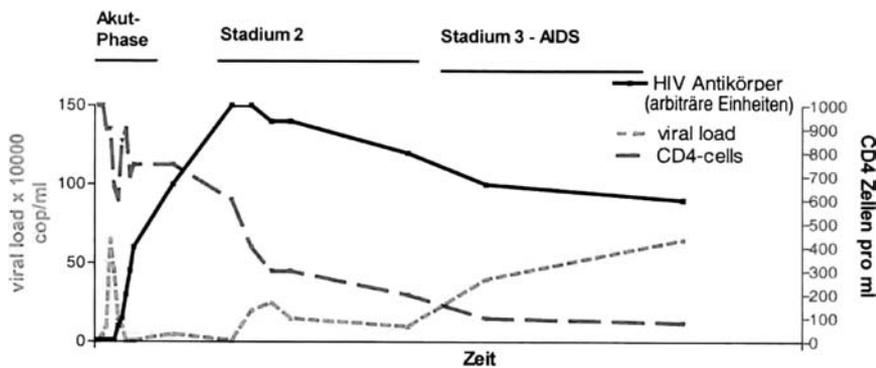


Abb. 4 ▲ Schematische Darstellung des zeitlichen Verlaufes einer unbehandelten HIV-Infektion. Der Maßstab ist anfangs Wochen (Akut-Phase), dann Monate und schließlich Jahre (Stadium 2 und 3). Das Wesentliche an der Virämie ist das Undulieren nach anfänglichem hohen Gipfel der HIV-Vermehrung. Die CD4-Zellen fallen über die Zeit ab, auch wenn immer wieder Phasen der Erholung vorkommen. HIV-Antikörper bleiben lebenslang messbar, die wesentliche Abnahme in Stadium 2 und 3 erfolgt über den Verlust der core-Antikörper (p55, p24 und p17). Die Gesamtzeit vom Viruseintritt bis zum Auftreten von AIDS kann ohne Therapie 2–25 Jahre betragen

prävalent [44]. Ungewöhnlich für Europa war das Auftreten einer HIV-1 M:F Epidemie in Rumänien.

Afrika. In Afrika zirkulieren alle HIV-1 Gruppe-M- und -O-Subtypen und HIV-2, letzteres insbesondere in Guinea-Bissau, Senegal und angrenzenden Staaten, in Angola und Mocambique. Im Süden Afrikas herrscht HIV-1 M:C vor, im Westen Afrikas HIV-1 M:A und das rekombinante HIV-1 M:A/G und in Äthiopien HIV-1 M:C. Zentralafrika beherrscht alle Subtypen, und in Ländern, die an den Golf von Guinea angrenzen, treten ebenfalls HIV-1 Gruppe-O- und -N-Viren auf [5]. Die HIV-Prävalenz kann in ländlichen Regionen von Zentralafrika nur wenige Promille erreichen.

Asien. In Asien spiegelt die HIV-Verbreitung die Kontakte mit Afrika und Nordamerika wider. In Thailand wurde HIV-1 M:A/E durch heterosexuellen Geschlechtsverkehr und HIV-1 M:B in der Population der Drogenkonsumenten (spezifischer Subtyp Bt) verbreitet. Im westlichen Indien hat die Epidemie von HIV-2 vom ehemals portugiesischen Goa aus begonnen [45], die HIV-1-Epidemie von ostafrikanischen Rückkehrern aus, im Wesentlichen durch HIV-1 M:C. In China findet sich HIV-1 M:A, B, C und A/E, wobei sich ein eigener rekombinanter M:B/C-Subtyp schneller als die anderen Subtypen ausbreitet [6].

Australien. In Australien ist im Wesentlichen nur HIV-1 M:B verbreitet.

Amerika. Innerhalb Südamerikas ist die höchste Prävalenz in Brasilien und Guyana zu finden. Neben HIV-1 M:B (und speziell dem brasilianischen Subtyp Bb) sind HIV-1 M:A, A/E und F dort und in den Nachbarländern verbreitet.

Da der Motor der HIV-Verbreitung der Sexualverkehr ist, lässt sich HIV aus der menschlichen Population nur durch eine effektive Impfung eliminieren. Ein wirksamer Impfstoff steht nicht zur Verfügung und wird wegen der Heterogenität der Virus-Gruppen und Subtypen auch innerhalb der nächsten Dekade nicht hergestellt werden können. Auch eine DNA-Vakzine hat bisher im Menschen keinen Durchbruch zur Generierung einer postvazinalen Immunität zur Verhinderung der HIV-Infektionsübertragung gebracht [46, 47]. Daher sind Aufklärung über die Übertragungswege und Anwendung geeigneter Präventionsmaßnahmen momentan die einzige Interventionsmöglichkeit.

1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

Grundsätzlich können 2 Formen des Nachweises unterschieden werden: Antikörper- und Virusnachweis. Das Virus kann etwa 11 Tage nach Infektion im Blut über die NAT nachgewiesen werden, in zellgebundener oder in freier Form.

1.4.1 Antikörper

Zum Nachweis einer HIV-Infektion werden Antikörpersuchtests mit anschlie-

ßender Bestätigung des Testergebnisses verwendet. Die heute in Deutschland auf dem Markt befindlichen Antikörpersuchteste erkennen Antikörper, die gegen alle bekannten HIV-1 Gruppe M, N und O und HIV-2 gebildet werden. Neben dem ELISA – enzyme linked immunosorbent assay – werden auch Partikelagglutinationsteste verwendet. ELISA-Tests enthalten Antigen von HIV-1 M, vorzugsweise HIV-1 M:B, Gruppe O und HIV-2, wobei die besondere Präferenz auf Bereitstellung von Antigenen aus der konstanten Region von gp120 und vom N-terminalen Abschnitt des gp41 gelegt wird. Herstellerspezifisch finden sich zusätzlich Antigene aus der reversen Transkriptase und aus dem p24-Protein [48, 49]. Abhängig von der Immunantwort und dem Antikörpertiter kann eine Infektion bereits nach 3 Wochen, meist jedoch nach 4–5 Wochen nachgewiesen werden. In bisher 8 Menschen ließen sich trotz jahrelang bestehender Infektion in den USA keine Antikörper nachweisen [50], wobei allerdings unklar ist, ob in den Jahren vor Durchführung der Testung nachweisbare Antikörper vorhanden gewesen sind. Die in dieser Studie verwendeten Tests der 1. und 2. Herstellungsgeneration sind in Deutschland nicht mehr marktfähig.

Da der ELISA wegen des Nachweises auch geringer Antikörpermengen auf höchste Sensitivität eingestellt ist, kommen falsch positive Resultate vor; vor allem wenn Immunkomplexe im Serum vorhanden sind und wenn Infektionen mit Erregern ablaufen, die gemeinsame Epitope mit HIV haben oder zu einer unspezifischen Stimulierung des Immunsystems führen.

Als Bestätigungstest ist in Deutschland der Westernblot (Immunoblot) eingeführt [51, 52], der heute in der Frühphase der HIV-Infektion eine geringere Sensitivität als der ELISA haben kann. Für die Bewertung des Untersuchungsergebnisses wurden Kriterien entwickelt: Nach Übereinkunft in Deutschland muss für den positiven HIV-1-Antikörpernachweis neben 2 der Glykoproteine gp160, gp120 und gp41 eine Bande aus dem gag- oder pol-Bereich vorhanden sein, bei HIV-2 zwei der Glykoproteine gp130, gp105 und gp36. Normalerweise werden durch die Antikörper in einem HIV-positiven Serum 5–8 Westernblot-Banden angefärbt. In der Frühphase der Infektion werden nur einzelne

Banden angefärbt, deren Zahl und Intensität innerhalb von 14 Tagen deutlich zunimmt. Einzelne Hersteller bieten Blotstreifen mit rekombinanten Proteinen an; damit lassen sich HIV-1- und HIV-2-Infektionen gleichzeitig nachweisen bzw. differenzieren. Auf dem Westernblot-Streifen vorhandene Kontrollbanden überwachen die Testdurchführung und erleichtern die Ablesung.

Nur wenn die o. g. Kriterien für einen positiven Westernblot vorliegen, kann ein bestätigt positives Ergebnis dem einsendenden Arzt mitgeteilt werden. Da die Mitteilung eines positiven HIV-Befundes für den Infizierten weitreichende Konsequenzen hat, besteht die Empfehlung, bei einem positiven Resultat in der Erstuntersuchung eine zweite, unabhängig genomene Blutprobe zu untersuchen. Nur wenn auch in dieser Probe HIV-Antikörper nachgewiesen werden, darf ein Spender über den positiven HIV-Status informiert werden. Der positiv identifizierte Spender muss einem erfahrenen Therapeuten zur weiteren Betreuung zugeführt werden [53].

1.4.2 Virusnachweis

Das p24-Protein bildet das innere Kapsid. Pro Viruspartikel sind etwa 2.000 p24-Moleküle vorhanden [54]. Der Nachweis erfolgt mit einer Kombination von polyklonalen bzw. monoklonalen Antikörpern nach dem Prinzip des Sandwich-ELISA und erlaubt, bei einer Sensitivität von 10 pg/ml etwa 10^5 Partikel zu erkennen.

Etwa 60–80% der Serokonversionen verlaufen ohne nachweisbare p24-Antigenämie [55]. Im Verlauf der Infektion kann p24 frei oder an Partikel gebunden im Plasma vorhanden sein und erreicht bei AIDS-Patienten teilweise hohe Spiegel. Es besteht keine direkte Korrelation zwischen der im Plasma über den Genomnachweis gemessenen Partikelzahl und dem p24-Antigengehalt, da p24 ohne Virus von infizierten Zellen abgeschilfert wird. Für die Bestimmung von p24-Protein stehen singuläre Antigentests und Kombinations-tests, zusammen mit der Testung von HIV-Antikörpern, zur Verfügung (sog. 4. Herstellungsgeneration). Auch ein reaktives p24-Antigentestergebnis muss abgeklärt werden. Geeignete Tests sind Blocking/Neutralisationstest oder die NAT. Über die meisten HIV-1-p24-Anti-

gen-Tests wird auch HIV-2-p25-Antigen erkannt, allerdings mit verminderter Sensitivität.

Die Untersuchung von Blutspenden auf p24-Protein zusätzlich zu den HIV-Antikörpern ist in Deutschland nicht eingeführt [56].

Der Nachweis einer HIV-Infektion kann mittels Nukleinsäure-Amplifikations-Technik (NAT) über den Nachweis der proviralen DNA aus Zellen oder des viralen RNA-Genoms aus Plasma erfolgen. Für Untersuchungen der Virusmenge und von Blutspenden wird die RNA aus dem Viruspartikel des Plasmas isoliert. Der Genomnachweis kann entweder über die direkte Amplifikation von definierten Zielsequenzen oder über den Einsatz von Sonden mit anschließenden Signal-Amplifikationsverfahren erfolgen. Mit der NAT lassen sich je nach Ausgangsmaterial und Ansatz zwischen 5 und 100 Nukleinsäurekopien (bzw. Genomäquivalente) pro ml in der Einzelspende nachweisen [36]. Für die Quantifizierung steht ein WHO-Standard zur Verfügung [57].

Die NAT über kommerziell erhältliche Tests ist mit Primern, die stringent an HIV-1 M:B Nukleinsäure binden, entwickelt worden, deswegen werden Stämme von HIV-1 M:B mit der höchsten Sensitivität nachgewiesen. Je weiter eine Nukleinsäure-Sequenz von HIV-1 M:B abweicht, desto geringer wird die Sensitivität. Je nach Test und Zielsequenz, z. B. *gag*, werden nur HIV-1 der Gruppe M oder auch z. B. *pol*-IN HIV-1 der Gruppe M, N und O nachgewiesen [58, 59].

Für das Testen von Blutspenden mit der NAT sind in Deutschland derzeit nur Tests von 2 Herstellern auf dem Markt. In mehreren Blutspendediensten und bei Herstellern von Plasmaderivaten sind seit 1996 eigene Testverfahren zur Amplifikation von HIV entwickelt worden (sog. home made oder in house assays), die, da HIV durch Ultrazentrifugation konzentriert wird, auch für die Pooltestung gut geeignet sind [60]. Für den HIV-2-Nachweis ist kein kommerzieller NAT vorhanden. HIV-2-Infektionen können daher bisher nur über laboreigene Tests abgeklärt werden, z. B. über die PCR (Polymerase-Kettenreaktion), wenn nicht die serologische Analyse dafür ausreichend ist.

Kommerziell verfügbare HIV-NAT für die Analyse von HIV über Nukleinsäure sind derzeit: LCR – ligase chain re-

action –, NASBA – nucleic acid sequence based amplification –, PCR – polymerase chain reaction –, TMA – transcription mediated amplification – und b-DNA SAA – branched DNA signal amplification assay.

2 Blut- und Plasmaspender

2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Städtische Kollektive haben eine höhere Prävalenz von HIV als ländliche, und weibliche Spender sind weniger häufig infiziert als männliche [61]. Die Anzahl der HIV-Serokonversionen unter Mehrfach-Blutspendern lag 2001 bei 1 in 185.000, mit einem Schwankungsbereich von 1 in 130.000 bis 1 in 270.000 [62]. HIV-Übertragungen durch Blut oder zelluläre Blutprodukte wie Erythrozyten- oder Thrombozytenkonzentrate sind selten, da die HIV-Antikörpertests infizierte Blutspenden erfassen, wenn sie nicht in der Frühphase der Infektion vor Serokonversion, der so genannten Fensterphase, abgenommen wurden. Unter Berücksichtigung der Testung auf Anti-HIV-1/-2 wurde aus den infektionsepidemiologischen Daten für die letzten Jahre eine Restwahrscheinlichkeit der HIV-Übertragung von etwa 1 in 1,5 Millionen errechnet – Bereich: 1:700.000 bis 1:2,6 Millionen. Die Einführung der HIV-1-NAT zum 1.5.2004, die von einem Großteil der Spendedienste bereits jetzt auf freiwilliger Basis durchgeführt wird, wird durch Verkürzung des diagnostischen Fensters zu einer weiteren Reduktion des Risikos führen. Die niedrige Inzidenz wurde nicht nur durch die erhebliche Verbesserung der obligatorischen Tests erreicht, sondern besonders durch Ausschluss von Spendern, die ein Risiko für den Erwerb der HIV-Infektion haben.

Plasmapherese-Spender unterliegen den gleichen Auswahlkriterien wie Blutspender. Aus Plasma hergestellte Produkte (Arzneimittel) werden obligatorisch mindestens 2 Verfahren zur Abtrennung oder Inaktivierung von Viren, einem Abreicherungsverfahren für Viren und zusätzlich einem Inaktivierungsverfahren oder 2 unterschiedlichen Inaktivierungsverfahren unterzogen. Als Folge ist mit aus Plasma hergestellten Produkten seit 1990/91 keine HIV-Infektion mehr übertragen worden.

Nach dem Bericht von EuroHIV [63], der auf selektionierten Meldedaten beruht, liegt die HIV-Prävalenz bei Blutspendern in Deutschland im Jahr 1999 bei 1 in 100.000. Im Vergleich mit Nachbarländern liegt diese Zahl für England bei 0,7, Frankreich bei 1,8, Spanien bei 4,9, Italien bei 4,8, Russland bei 4,9 und der Ukraine bei 63,9. Nach aktuellen Analysen war die Anzahl der HIV-Serokonversionen in Mehrfachblutspendern 1999 und 2000 in Deutschland für Vollblutspender 0,6 bzw. 0,4 Serokonversionen pro 100.000 Vollblut- bzw. Plasmapheresespenden [64].

2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Der Ausschluss von der Blutspende ist in den Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) geregelt [65]. Ausschlusskriterien für die Zulassung zur Blutspende, besonders unter dem Aspekt des Risikos eines HIV-Erwerbs, sind eingehend in diesen Richtlinien definiert worden. Darunter fallen u. a. Personen, bei denen eine HIV-, HCV-, oder HTLV-I/-II-Infektion nachgewiesen wurde, sowie Personen, die einer Gruppe mit einem gegenüber der Allgemeinbevölkerung deutlich erhöhten Risiko für eine HBV-, HCV- oder HIV-Infektion angehören oder dieser zugeordnet werden müssen (z. B. homo- und bisexuelle Männer, Drogenabhängige, männliche und weibliche Prostituierte, Häftlinge).

2.3 Spendertestung und Aussagekraft

2.3.1 HIV-Antikörpertest

Alle in Europa auf dem Markt befindlichen Tests auf Infektionsmarker unterliegen seit Juni 2000 der In-vitro-Diagnostika-Richtlinie [66], die im Dezember 2001 in das nationale Medizinproduktegesetz aufgenommen wurde. In Deutschland verwendete Tests erkennen alle bekannten HIV-1-Gruppen und -Subtypen und HIV-2. Ein reaktiver Suchtest muss einem Bestätigungstest unterzogen werden, eine zweite Blutabnahme ist bei positivem Ausfall zur Verifizierung der HIV-Infektion unbedingt erforderlich (s. unter 1.4.1). Bis zur Abklärung des Ergebnisses wird die Spende ausgesondert und ggf. für weitere Untersuchungen asserviert. Der Spender wird

bis zur Abklärung gesperrt [53]. Nach den bisher vorliegenden Erkenntnissen ist die überwiegende Anzahl der reaktiven Suchteste bei Blutspendern unspezifisch (falsch reaktiv) und nicht auf eine HIV-Infektion zurückzuführen, sondern hat andere Ursachen, z. B. vorhandene Immunkomplexe (s. unter 1.4.1).

2.3.2 Nachweis von HIV

Durch Einsatz der NAT kann das diagnostische Fenster, das mit dem Antikörpernachweis zwischen 3 und 6 Wochen beträgt, verkürzt werden. Abhängig von der Höhe der Virämie, der Sensitivität des verwendeten Verfahrens und dem infizierenden HIV kann eine Infektion durchschnittlich bereits nach 11 Tagen nachgewiesen werden. Einschränkend muss betont werden, dass nur HIV-1 Gruppe M-Viren bisher über die kommerziell erhältlichen NAT ausreichend sensitiv nachgewiesen werden (s. unter 1.4.2). Der Einsatz der NAT ist dennoch indiziert, da >90% der in Deutschland beobachteten Serokonversionen durch HIV-1 M:B verursacht sind und alle durch zelluläre Blutkomponenten bedingten HIV-Übertragungen der letzten 5 Jahre über die NAT erkannt und verhindert worden wären [67].

Aufgrund der hohen Kosten der NAT und der derzeit niedrigen Inzidenz in Blutspenden ist der finanzielle Aufwand für das zusätzliche Eliminieren einer HIV-infektiösen, aber HIV-Antikörper-negativen Spende hoch. Der Aufwand beträgt geschätzt etwa 7,5 Millionen EUR pro entdeckter und eliminierter HIV-infektiöser Spende und wird in Deutschland ab 1.5.2004 – um den Sicherheitsaspekten gerecht zu werden – vom Gesundheitswesen getragen [67].

Von einer bestätigt HIV-positiven Spende sollten Plasma und Lymphozyten isoliert und tiefer als -20°C eingefroren werden, damit dieses Material für die Abklärung von Übertragungen durch frühere Spenden auf Empfänger zur Verfügung steht. Über die Nukleinsäure-Sequenz-Analyse in verschiedenen variablen Genomabschnitten kann der ursächliche Zusammenhang der HIV-Übertragung abgeklärt werden [53].

2.4 Spenderbefragung

Für die Spenderbefragung gibt es niedergelegte Vorschriften [65]. Die Frage

nach homosexueller Aktivität muss entsprechend einem Urteil des Bundesgerichtshofs von 1991 gestellt werden [68]. Die HIV-spezifischen Fragen ordnen sich in den Katalog der übrigen Fragen ein, sodass die persönliche Sphäre des Befragten nicht unnötig berührt wird. Für Rückfragen und Erklärungen muss ein Arzt zur Verfügung stehen.

2.5 Spenderinformation und -beratung

Das Vorgehen der Information des Spenders bei positivem HIV-Befund ist im Look-Back-Verfahren des AK Blut geregelt [53]. HIV-infizierte Spender werden an den Hausarzt oder ein spezialisiertes Zentrum zur weiteren Betreuung überwiesen und der Hausarzt über das Ergebnis der Testung informiert. Der Spender wird vom Blutspendedienst schriftlich aufgeklärt, dass er auf Lebenszeit als Blut-, Plasma- und Organspender ungeeignet ist. Er muss darauf hingewiesen werden, dass er über ungeschützten Sexualverkehr die Infektion weitergeben kann. Bei Spenderinnen im fortpflanzungsfähigen Alter sollte der Hinweis auf die mögliche Mutter-Kind-Übertragung gegeben werden. Über eine geeignete antiretrovirale Chemotherapie kann die Symptomatik der HIV-Infektion zumindest für einige Jahre beherrscht werden (s. auch 3.4), darauf sollten HIV-infizierte Spender hingewiesen werden.

Die Abklärung der möglichen Infektionsquelle des Spenders liegt im allgemeinen infektionsepidemiologischen Interesse. Es sollte im Gespräch mit dem Spender versucht werden, die Infektionsquelle zu identifizieren, vor allem um weitere HIV-Infektionen zu verhindern. Nach § 7 Infektionsschutzgesetz [69] besteht für neu identifizierte HIV-Infizierte eine nicht namentliche Meldepflicht.

3 Empfänger

3.1 Prävalenz und Inzidenz von blutassoziierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Bis zur Einführung der obligatorischen Testung auf HIV-Antikörper im Mai bzw. Oktober 1985 wurden durch Blutspenden etwa 200 Transfusionsempfänger infiziert [70]. Durch die Verwendung von nicht virusinaktivierten Gerin-

nungspräparaten kam es bis Mitte der 80er-Jahre zur HIV-Infektion von etwa 1.380 Hämophilen. Mit der Einführung von Antikörpersuchtesten und Inaktivierungsverfahren für HIV und Hepatitisviren bei der Herstellung von Plasmaprodukten sank die Anzahl solcher Übertragungen erheblich. Seit 1990 ist es zu keiner HIV-Übertragung durch Gerinnungspräparate gekommen. Nach den Meldungen an das Paul-Ehrlich-Institut fanden in den letzten 5 Jahren insgesamt 4 HIV-Übertragungen durch zelluläre Blutkomponenten statt.

Wie bei HIV-infizierten Spendern sind auch beim HIV-infizierten Empfänger Lymphozyten und Plasma zu asservieren [53], um ggf. die Infektionsquelle mit molekularen Methoden abklären zu können.

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

Eine protektive Immunität gegen HIV gibt es nicht. Bei bestehender Infektion mit HIV-1 M:B kann der Infizierte mit einem anderen HIV-1 M:B Stamm jederzeit superinfiziert werden [37]. Eine HIV-2-Infektion schützt nicht vor einer Infektion mit HIV-1 und umgekehrt [71]. Inwieweit Mutationen ($\Delta 32$ -Deletion, Mutationen) im CCR5-Gen eine parenterale Infektion behindern, ist unklar [29]. In Deutschland trägt etwa 1% der Bevölkerung diese Mutation, somit ist sie infektionsepidemiologisch irrelevant. Epidemiologische Untersuchungen weisen darauf hin, dass für eine sexuelle HIV-Übertragung auf eine Person, die homozygot für die Deletion im CCR5-Gen ist, eine höhere HIV-Dosis notwendig sein kann. Innerhalb der ersten Jahre scheint der Krankheitsverlauf bei Personen, die heterozygot für die $\Delta 32$ -Mutationen sind, verlangsamt. Je älter ein Patient zum Zeitpunkt der Infektion ist, desto höher ist das Risiko, frühzeitig eine Immunschwäche zu entwickeln [72, 73].

3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Die Infektion mit HIV verläuft immer chronisch und endet tödlich, es sei denn, die Symptomatik kann über eine antiretrovirale Therapie verzögert bzw. für Jahre unterdrückt werden. Bei unbehandelten HIV-1-Infektionen treten im Mit-

tel AIDS-definierende Symptome nach ca. 10 Jahren, mit einem Bereich von 2–25 Jahren, auf. Durch HIV-2 induziertes AIDS wird mit einem Mittel von 15 Jahren manifest. Durch die antiretrovirale Chemotherapie gelingt es, die symptomfreie oder -arme Phase über viele Jahre zu verlängern.

3.4 Therapie und Prophylaxe

Seit 1987 ist ein erheblicher Fortschritt in der Therapie der HIV-Infektion erreicht worden. Eingesetzt werden dazu Medikamente mit unterschiedlichem Wirkungsspektrum [nukleosidische (NRTI), nukleotidische (NTRTI) und nicht nukleosidische (NNRTI) reverse Transkriptasehemmer, kombiniert mit Proteasehemmern (PRI)] oder zusätzlich einem Fusionsinhibitor, die in der Tabelle 1 zusammengefasst sind.

Nach Gabe und Wirkung der Antiretroviralien kann sich die Funktion des Immunsystems erholen und folglich die klinische Symptomatik verschwinden

oder sich verbessern. Eine Elimination des HIV aus dem Körper des Infizierten durch Therapie ist nicht möglich. Die Kombination von NRTI und PRI soll die Resistenzentwicklung von HIV im Patienten so lange wie möglich hinauszögern. Die besten therapeutischen Langzeitresultate sind zu erreichen, wenn mit der Therapie begonnen wird, bevor Zeichen einer Immunschwäche ausgeprägt sind, d. h. wenn die CD4-Zellzahl etwa um 500/ μ l und die Virusmenge zwischen 10.000 und 20.000 Genomäquivalenten/ml liegt [73]. In Einzelfällen ist es indiziert, früh nach Infektionseintritt, d. h. bereits vor oder zu Beginn der Seroconversion, mit der Therapie zu beginnen. Auch bei einer Frühtherapie ist zu bedenken, dass bereits Medikamentenresistente Viren übertragen werden [75]. Nebenwirkungen: Auch wenn eine Kombination von 3 Medikamenten teils sehr gut die HIV-Replikation unterdrückt, ist die Einnahme mit Nebenwirkungen verbunden, die die Lebensqualität erheblich einschränken können. Ferner interferie-

Tabelle 1
Derzeit verfügbare Medikamente zur HIV-Therapie, die in Kombination gegeben werden

Substanz	Handelsname
Nukleosid Reverse Transkriptase Inhibitoren (NRTI)	
Azidothymidin – Zidovudin	Retrovir
Staduvodin	Zerit
Didanosin	Videx
Zalcitabin	Hivid
Lamivudin	Epivir
Abacavir	Ziagen
Nicht Nukleosid Reverse Transkriptase Inhibitoren (NNRTI)	
Efavirenz	Sustiva
Nevirapin	Viramune
Delavirdine	Rescriptor – derzeit in Deutschland nicht zugelassen
Nukleotid Reverse Transkriptase Inhibitor (NTRTI)	
Tenofovir	Viread
Protease Inhibitoren (PRI)	
Saquinavir	Fortovase
Indinavir	Crixivan
Ritonavir	Norvir
Lopinavir+Ritonavir	Kaletra
Nelfinavir	Viracept
Fusionsinhibitor	
Enfuvirtide (T20)	Fuzeon (Zulassung in USA im Mai 2003) [74]

ren antiretrovirale Medikamente teils miteinander und mit anderen Medikamenten, sodass Spezialkenntnisse für die Verordnungs erforderlich sind.

Eine optimale Therapie ist gegenwärtig nur bei Infektionen mit HIV-1 M:B und den Viren der Gruppe M möglich. Zu berücksichtigen ist, dass einzelne HIV-1 Gruppe-M-Subtypen, HIV-1 Gruppe O und HIV-2 bereits natürliche Resistenzen gegen NNRTI und PRI aufweisen. Es ist in Einzelfällen indiziert, vor Beginn einer Therapie, insbesondere bei Serokonvertieren aus Risikobereichen, eine HIV-Resistenzbestimmung durchzuführen [75].

Die Entwicklung weiterer Medikamente ist notwendig, um der zunehmenden Resistenzentwicklung entgegenzuwirken. Besonders die Entwicklung von Chemotherapeutika, welche die ersten Schritte der Infektion hemmen (Fusionsinhibitoren bzw. Korezeptorantagonisten) [74] oder die weitere virale Funktionen betreffen, wie z. B. die Integrase (Integrasehemmer) [76], sind in klinischer Prüfung.

Unter antiretroviraler Kombinationstherapie können sich die Symptome der Immunschwäche teils bessern und kann ein fast normaler Gesundheitszustand erreicht werden. Die gewonnene Lebensqualität kann durch die Medikamentennebenwirkungen eingeschränkt werden. Typische Veränderungen am Körper unter Therapie sind Lipodystrophie, vor allem Abbau des Bichat-Fettpfropfes und des subkutanen Fettes der Extremitäten, Einlagerung von umbilikalem und nuchalem Fett. Häufige Nebenwirkungen sind Diarrhöen, Schlafstörungen, Konzentrationsschwächen und mangelnde Gewichtszunahme trotz ausreichender Nahrungszufuhr, ferner Diabetes, Anämie und neurologische Affektionen [3].

Eine adjuvante Immuntherapie durch Interleukine, z. B. Interleukin 2, oder therapeutische Vakzine, hat bisher nicht zu einem sichtbaren klinischen Erfolg geführt [77, 78].

3.5 Übertragbarkeit

HIV wird übertragen durch Körperflüssigkeiten wie Blut, Plasma bzw. Serum, Genitalsekrete und transplantierte Organe wie Niere, Knochen, Cornea u. a. Übertragungen über künstliche Insemination sind vorgekommen. Übertragun-

gen über Speichel und Bissverletzungen wurden in Einzelfällen berichtet. Benetzung frischer Wunden mit frischem Blut bei offener Hautverletzung kann ausnahmsweise zur HIV-Übertragung führen. HIV wird weder über Aerosole noch soziale Kontakte, Stiche von Arthropoden, noch über Nahrungsmittel und Wasser übertragen.

3.6 Häufigkeit der Applikation sowie Art und Menge der Blutprodukte

Im Wesentlichen haben Faktor-VIII- und -IX- (PPSB) Präparate von 1979–1989 zur HIV-Übertragung geführt. Antithrombin III (AT III) und i.m.-Immunglobulin haben HIV auch vor Einführen spezieller Verfahrensschritte zur Abreicherung und Inaktivierung von Viren nicht übertragen. Durch Gabe von Albumin sind keine Übertragungen von HIV vorgekommen.

In den vergangenen 12 Jahren wurden in Deutschland nur einzelne HIV-Übertragungen durch Blutkomponenten gemeldet. Wenn eine human infektiöse Dosis (1 HID entspricht etwa 100–1.000 HIV-Partikeln) in der applizierten Menge der Blutkomponente vorhanden ist, wird HIV übertragen. Es gibt einen Hinweis, dass bei sofortigem Therapiebeginn eine HIV-Infektion im Einzelfall verhindert werden kann [79].

Plasmakomponenten sind aufgrund von Spenderselektion, Spendentestung und Einsatz physikalischer und chemischer Verfahrensschritte zur Abreicherung und Inaktivierung bei der Herstellung der Produkte HIV-sicher. Für Transfusionen von Erythrozyten-, Granulozyten- oder Thrombozytenpräparaten, die aus Blut hergestellt wurden, das vor einer HIV-Antikörper-Serokonversion gewonnen wurde, besteht das Restrisiko einer HIV-Übertragung, welches aktuell bei etwa 1 in 1,5 Millionen liegt (s. 2.1). HIV-Übertragungen durch gefrorenes Frischplasma (GFP) sind seit Einführung der obligatorischen Quarantänelagerung nicht mehr berichtet worden [80].

4 Blutprodukte

4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Bedingt durch Spenderselektion, Quarantäne und Testung der Spenden auf

HIV-Antikörper ist die theoretische Belastung von Plasmapools zur Herstellung von Plasmaprodukten heute sehr gering (s. auch Prävalenz und Inzidenz von HIV bei Blutspendern unter 1.3 und 2.1). Dieses Restrisiko wird durch den Einsatz der NAT für die Testung – im Pool oder als Einzelspende – weiter abgesenkt.

4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

Die Herstellung und Reinigung von Einzelproteinen aus Plasma ist nicht ausreichend, um HIV vollkommen abzutrennen. Seit der konsequenten Umsetzung des Einsatzes von validierten Viruseliminierungs- und Inaktivierungsverfahren für die Herstellung von Plasmaprodukten sind keine HIV-Infektionen durch Plasmaprodukte mehr berichtet worden. Folglich ist die theoretische Abtrennung/Abreicherung einschließlich der Inaktivierung auch praktisch effizient. Beide Verfahren müssen wegen der weiteren Möglichkeit einer Kontamination mit HIV oder anderer transfusionsrelevanter Viren beibehalten werden.

HIV ist labil gegenüber Hitze und Detergenzien (s. 1.1.4). Es lässt sich durch das Solvent/Detergens- (SD) Verfahren [81] mit Reagenzien wie Tri-N-Butyl-Phosphat (TNBP) und Triton X-100 bzw. Polysorbat 80 inaktivieren. Durch Pasteurisierung bei 60°C für 10 Stunden in flüssigem Medium wird HIV zuverlässig inaktiviert. Hitzeeinwirkung auf das lyophilisierte Produkt führt bei z. B. 80°C und 72 Stunden und entsprechender Restfeuchtigkeit zur HIV-Inaktivierung. Bei der Herstellung der Plasmaprodukte werden entsprechende Verfahrensschritte eingesetzt. Da die Plasmaprodukte ebenfalls labil gegenüber Hitzeeinwirkungen sind, müssen die Inaktivierungsschritte unter geeigneten, validierten Bedingungen durchgeführt werden. Das Produkt sollte optimal in seiner biologischen Aktivität und natürlichen Konformation erhalten bleiben, und gleichzeitig sollten die möglichen kontaminierenden Viren inaktiviert werden [82, 83]. Bestrahlung mit UV-Licht und Behandlung mit β -Propiolacton [28] sind bei niedriger Proteinkonzentration angewendet wirksam, wie z. B. bei der Inaktivierung von gereinigtem Immunglobulin.

Weitere Inaktivierungsverfahren wie Licht und Methylenblau, Riboflavin und Psoralen bedürfen der weiteren Evaluierung hinsichtlich Wirksamkeit, Immunogenität der denaturierten Proteine sowie Mutagenität und Karzinogenität, da diese pathogeninaktivierenden Substanzen auch an der Erbsubstanz angreifen [84, 85, 86, 87, 88, 89].

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

Der Hersteller eines Plasmaproduktes wie Gerinnungsfaktor, Immunglobulin, Albumin u. a. muss in den Zulassungsunterlagen den Nachweis erbringen, dass die bei der Herstellung angewendeten Verfahren HIV-sicher inaktivieren. Die für die europäische Arzneimittelzulassung niedergelegten Prinzipien zur Validierung der Verfahren beim Umgang mit Viren müssen dabei eingeschlossen werden [90]. Dazu gehört auch, dass mit experimentellen Daten belegt wird, dass die bei der Herstellung der einzelnen Produktchargen auftretenden Unterschiede wie Prozessbedingungen oder Zusammensetzung der Zwischenprodukte die Inaktivierung von HIV nicht beeinträchtigen. Die geforderte Kombination von mindestens 2 zur Inaktivierung/Eliminierung von HIV wirksamen Herstellungsschritten garantiert eine hohe, gleich bleibende Sicherheit des Produktes in jeder Charge. Die Validierung der verschiedenen Inaktivierungs- und Eliminierungsschritte muss mit HIV, welches in Zellkultur zu hohen Titern gezüchtet werden kann, durchgeführt werden. Da HIV-1 und HIV-2 als physikalisch-chemisch identisch angesehen werden, ist die Verwendung von HIV-1 für die Validierung eines Verfahrens ausreichend. SIV, welches eine geringere Pathogenität im Menschen hat als HIV, wird als Modellvirus nicht akzeptiert, da Unterschiede zwischen HIV und SIV nicht ausgeschlossen werden können.

5 Bewertung

HIV-1 wurde durch Blut und Blutprodukte in Deutschland nach dem heutigen Kenntnisstand seit 1979 übertragen. Mit der Einführung der Antikörpertestung in Blut- und Plasmaspenden im Jahr 1985 sind Infektionen über

Blut, Blutkomponenten und Plasma-Produkte drastisch vermindert worden. Das Restrisiko der HIV-Übertragung für Erythrozyten-, Granulozyten- und Thrombozytenkonzentrate, die derzeit keinem Virusinaktivierungs-/Eliminierungsverfahren unterzogen werden, ist bereits jetzt sehr niedrig und beträgt etwa 1 in 1,5 Millionen Spenden. Für gefrorenes Frischplasma, das der Quarantänelagerung unterliegt, ist keine HIV-Übertragung bekannt geworden. Für Plasmaprodukte, bei deren Herstellung Virusinaktivierungs-/Eliminierungsverfahren eingesetzt werden, besteht heute kein Restrisiko einer HIV-Übertragung.

Mit Einführen einer NAT auf HIV-1-Genom kann eine weitere Verringerung der Restrisiken für zelluläre Blutkomponenten erzielt werden. Hierbei wird das durch die Antikörperbildung bedingte diagnostische Fenster von etwa 21–45 Tagen auf etwa 11 Tage verkürzt, da die angehende HIV-Infektion über die NAT nachweisbar wird.

Das Einbrechen von HIV in die deutsche Bevölkerung um 1978 ist ein Beispiel, wie schnell erreichte Sicherheit auch im Blutspendesektor zusammenbrechen kann. Die für die Selektion der Spender, Inaktivierung von Plasmaprodukten und gezielte Anwendung von Blut und dessen Komponenten getroffenen Maßnahmen sollten eine Wiederholung einer Übertragung mit einem behüllten Virus in diesem Ausmaß zukünftig verhindern.

Dieses Papier wurde fertig gestellt am 27.5.2003 und vom Arbeitskreis Blut am 2.10.2003 verabschiedet. Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergruppe „Bewertung Blut-assoziiertes Krankheitserreger“ des Arbeitskreises Blut:

Dr. Johannes Blümel, Prof. Dr. Reinhard Burger, Prof. Dr. Wolfram Gerlich, Prof. Dr. Lutz Gürtler, Dr. Margarethe Heiden, Dr. Walter Hitzler, Prof. Dr. Bernd Jansen, Dr. Horst Klamm, Dr. Hans Lefèvre, Prof. Dr. Johannes Löwer, Prof. Dr. Wolf-Dieter Ludwig, Dr. Thomas Montag-Lessing, Dr. Ruth Offergeld, Dr. Arnold Paessens, Prof. Dr. Georg Pauli, Prof. Dr. Rainer Seitz, Dipl.-Med. Uwe Schlenkrich, Dr. Edgar Werner, Dr. Hannelore Willkommen.

Literatur

- Luciw PA (1996) Human immunodeficiency viruses and their replication. In: Fields BN (ed) *Virology*, 3rd edn. Lippincott-Raven, Philadelphia, pp 1881–1952
- Gao F, Bailes E, Robertson DL et al. (1999) Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes troglodytes*. *Nature* 397:436–441
- Levy JA (1998) HIV and the Pathogenesis of AIDS, 2nd edn. ASM Press, Washington
- Korber B, Kuiken C, Foley B et al. (1998) Human retroviruses and AIDS 1998. A compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences. Los Alamos National Laboratory, New Mexico
- Peeters M, Sharp PM (2000) Genetic diversity of HIV-1: the moving target. *AIDS* 14 [Suppl 3]:S129–140
- McCutchan FE (2000) Understanding the genetic diversity of HIV-1. *AIDS* 14 [Suppl 3]:S31–S44
- Gürtler LG, Hauser PH, Eberle J et al. (1994) A new subtype of human immunodeficiency virus type 1 (MVP-5180) from Cameroon. *J Virol* 68:1581–1585
- Van den Haesevelde M, Decourt JL, De Leys RJ et al. (1994) Genomic cloning and complete sequence analysis of a highly divergent African human immunodeficiency virus isolate. *J Virol* 68:1586–1596
- Simon F, Mauclère P, Roques P et al. (1998) Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O. *Nature Med* 9:1032–1037
- Yamaguchi J, Bodelle P, Kaptulé L et al. (in press) Near full-length tenomes of fifteen HIV-1 Group O isolates: evidence for group O subtypes. *AIDS Human Retroviruses*
- Gelderblom HR (1991) Assembly and morphology of HIV: potential effect of structure on viral function. *AIDS* 5:617–637
- Parren PW, Moore JP, Burton DR, Sattentau QJ (1999) The neutralizing antibody response to HIV-1: viral evasion and escape from humoral immunity. *AIDS* 13 [Suppl A]:S137–S162
- Gelderblom HR, Reupke H, Pauli G (1985) Loss of envelope antigens of HTLV-III/LAV, a factor in AIDS pathogenesis? *Lancet* 2 (8462):1016–1017
- Leonard J, Parrott C, Buckler-White AJ et al. (1989) The NF-kappa B binding sites in the human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat are not required for virus infectivity. *J Virol* 63:4919–4924
- Quinones-Mateu ME, Mas A, Lain de Lera T et al. (1998) LTR and *tat* variability of HIV-1 isolates from patients with divergent rates of disease progression. *Virus Res* 57:11–20
- Courgnaud V, Salemi M, Pourrut X et al. (2002) Characterization of a novel simian immunodeficiency virus with a *vpu* gene from greater spot-nosed monkeys (*Cercopithecus nicticans*) provides new insight into simian/human immunodeficiency virus phylogeny. *J Virol* 76:8298–8309

17. Courgnaud V, Pourrut X, Bibollet-Ruche F et al. (2001) Characterization of a novel simian immunodeficiency virus from guereza colobus monkeys (*Colobus guereza*) in Cameroon: a new lineage in the nonhuman primate lentivirus family. *J Virol* 75:857–866
18. Dean M, Carrington M, Winkler C et al. (1996) Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CRF5 structural gene. *Science* 273:1856–1862
19. Feng Y, Broder CC, Kennedy PE, Berger EA (1996) HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science* 272:872–877
20. Stein BS, Gowda SD, Lifson JD et al. (1987) pH-independent HIV entry into CD4-positive T cells via virus envelope fusion to the plasma membrane. *Cell* 49:659–668
21. Sousa R, Chung YJ, Rose JP, Wang BC (1993) Crystal structure of bacteriophage T7 RNA polymerase at 3.3 Å resolution. *Nature* 364:593–599
22. Moudgil T, Daar ES (1993) Infectious decay of human immunodeficiency virus type 1 in plasma. *J Infect Dis* 167:210–212
23. Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M et al. (1996) HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science* 271:1582–1586
24. Herbein G, van Lint C, Lovett JL, Verdin E (1998) Distinct mechanisms trigger apoptosis in human immunodeficiency virus type 1-infected and in uninfected bystander T lymphocytes. *J Virol* 72:660–670
25. Zhang YJ, Fadeel B, Hodara V, Fenyö EM (1997) Induction of apoptosis by primary HIV-1 isolates correlates with productive infection in peripheral blood mononuclear cells. *AIDS* 11:1219–1225
26. Martin LS, McDougal JS, Loskoski SL (1985) Disinfection and inactivation of the human T lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus. *J Infect Dis* 152:400–403
27. McDougal JS, Martin LS, Cort SP et al. (1985) Thermal inactivation of the acquired immunodeficiency syndrome virus, human T-lymphotropic virus-III/lymphadenopathy-associated virus, with special reference to antihemophilic factor. *J Clin Invest* 76:875–877
28. Spire B, Dormont D, Barré-Sinoussi F et al. (1985) Inactivation of lymphadenopathy-associated virus by heat, gamma rays, and ultraviolet light. *Lancet* 8422:188–189
29. Meng G, Wei X, Wu X et al. (2002) Primary intestinal epithelial cells selectively transfer R5 HIV-1 to CCR5+ cells. *Nature Med* 8:150–156
30. Liuzzi G, Chirianni A, Clementi M et al. (1996) Analysis of HIV-1 load in blood, semen and saliva: evidence of different viral compartments in a cross-sectional and longitudinal study. *AIDS* 10:F51–F56
31. Bourlet T, Cazorla C, Berthelot P et al. (2001) Compartmentalization of HIV-1 according to antiretroviral therapy: viral loads are correlated in blood and semen but poorly in blood and saliva. *AIDS* 15:284–285
32. Grosch-Wörner I, Schäfer A, Obladen M et al. (2000) An effective and safe protocol involving zidovudine and caesarean section to reduce vertical transmission of HIV-1 infection. *AIDS* 14:2903–2911
33. Gibb MD, Tess BH (1999) Interventions to reduce mother-to-child transmission of HIV infection: new developments and current controversies. *AIDS* 13 [Suppl A]:S93–S102
34. Burin des Roziers N, Sotto A, Arnaud A et al. (1995) Kinetics of detection of antibodies to HIV-1 and plasma p24 antigen during a severe primary HIV-1 infection. *AIDS* 9:528–529
35. Michael NL, Chang G, Kim JH, Bix DL (1997) Dynamics of cell-free viral burden in HIV-1-infected patients. *J Acquir Immundef Synd Hum Retrovirol* 14:237–242
36. Schockmel GA, Yerly S, Perrin L (1997) Detection of low HIV-1 RNA levels in plasma. *J Acquir Immundef Syndr Hum Retrovirol* 14:179–183
37. Altfeld M, Allen TM, Yu XG et al. (2001) HIV-1 superinfection despite broad CD8+ T-cell responses containing replication of the primary virus. *Nature* 420:434–439
38. Mocroft A, Johnson MA, Phillips AN (1996) Factors affecting survival in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *AIDS* 10:1057–1065
39. Ockenga J, Tillmann HL, Trautwein C et al. (1997) Hepatitis B and C in HIV-infected patients. Prevalence and prognostic value. *J Hepatol* 27:18–24
40. Soriano V, Rodríguez-Rosado R, García-Samaniego J (1999) Management of chronic hepatitis C in HIV-infected patients. *AIDS* 13:539–546
41. Brettle RP, Gore SM, Bird AG, McNeil AJ (1993) Clinical and epidemiological implications of the Centers for Disease Control/World Health Organization reclassification of AIDS cases. *AIDS* 7:531–539
42. Getchell JP, Hicks DR, Svinivasan A et al. (1987) Human immunodeficiency virus isolated from a serum sample collected in 1976 in Central Africa. *J Infect Dis* 156:833–837
43. Robbins KE, Lemey P, Pybus OG et al. (2003) UD Human immunodeficiency virus type 1 epidemic: date of origin, population history, and characterization of early strains. *J Virol* 77:6359–6366
44. Dehne KL, Khodakevich L, Hamers FF, Schwartländer B (1999) The HIV/AIDS epidemic in Eastern Europe: recent patterns and trends and their implications for policy-making. *AIDS* 13:741–749
45. Loeff MF van der, Aaby P (1999) Towards a better understanding of the epidemiology of HIV-2. *AIDS* 13 [Suppl A]:S69–S84
46. Schultz J, Dollenmaier G, Mölling K (2000) Update on antiviral DNA vaccine research (1998–2000). *Intervirology* 43:197–217
47. Barouch DH, Kunstman J, Kuroda MJ et al. (2002) Eventual AIDS vaccine failure in a rhesus monkey by viral escape from cytotoxic T lymphocytes. *Nature* 415:335–339
48. Gürtler L, Mühlbacher A, Michl U et al. (1998) Reduction of the diagnostic window with a new combined p24 antigen and human immunodeficiency virus antibody screening assay. *J Virol Methods* 75:27–38
49. Janssen RS, Satten GA, Stramer SL et al. (1998) New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes. *JAMA* 280:42–48
50. Sullivan PS, Schable C, Koch W et al. (1999) Persistently negative HIV-1 antibody enzyme immunoassay screening results for patients with HIV-1 infection and AIDS: serological, clinical, and virologic results. *AIDS* 13:89–96
51. DIN 58967-40 (1994) Serodiagnostik von Infektions- und Immunkrankheiten. Immunoblot (IB). Begriffe, allgemeine methodenspezifische Anforderungen. Beuth, Berlin
52. DIN 58969-41 (1994) Serodiagnostik von Infektions- und Immunkrankheiten. Immunoblot (IB): Spezielle Anforderungen für den Nachweis von Antikörpern gegen Human-Immunschwäche-Virus HIV-1 und HIV-2. Beuth, Berlin
53. AK Blut – Votum 24: Bekanntmachung des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit (2001) Verfahren zur Rückverfolgung (Look Back) (gemäß § 19 Transfusionsgesetz). Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforsch Gesundheitschutz 44:305–316
54. Bourinbaïar AS, Nagorny R, Tan X (1991) Heaviness of HIV particles in quantum relation to viral infectiousness and responsiveness to interferon. In: Andrieu JM (ed) *Viral quantitation in HIV infection*. John Libbey Eurotext, Paris, pp 41–52
55. Zaaïjer HL, v Exel-Oehlers P, Kraaijeveld T et al. (1992) Early detection of antibodies to HIV-1 by third-generation assays. *Lancet* 340:770–772
56. AK Blut – Votum 2 (1994) Bewertung des HIV-1-p24-Antigen-Test bei Blut- und Plasmaspenden. Bundesgesundheitsblatt 3:143
57. WHO-Standard, HIV-1 International Standard 97/656*
58. Triques K, Coste J, Perret JL et al. (1999) Efficiencies of four versions of the AMPLICOR HIV-1 MONITOR test for quantification of different subtypes of human immunodeficiency virus type 1. *J Clin Microbiol* 37:110–116
59. Yang C, Pieniazek D, Owen SM et al. (1999) Detection of phylogenetically diverse human immunodeficiency virus type 1 groups M and O from plasma by using highly sensitive and specific generic primers. *J Clin Microbiol* 37:2581–2586
60. Roth WK, Seifried E (2001) Reducing the residual risk of transfusion-transmitted viruses; minipools or single donations NAT? *Transfusion* 41:845–846
61. Glück D, Kubanek B, Maurer C, Petersen N (1998) Seroconversion of HIV, HCV and HBV in blood donors in 1996 – risk of virus transmission by blood products in Germany. *Infus Ther Transfus Med* 25:82–84
62. Offergeld R, Stark K, Hamouda O (2003) Infektionen bei Blutspendern. Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitschutz 46:775–779
63. EuroHIV (2000) HIV/AIDS Surveillance in Europe. European Centre for the Epidemiological Monitoring of AIDS. Mid year report, N°63, 2001. Institut de Veille Sanitaire, 12 rue du Val d’Osne, FR-94415 Saint-Maurice

64. Stark K, Werner E, Seeger E et al. (2002) Infections with HIV, HBV, HCV among blood donors in Germany 1998 and 1999. *Infusionsther Transfusionsmed* 29:305–307
65. Bundesärztekammer und Paul-Ehrlich-Institut. a) Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie). *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitschutz* 2000, 43:555–589; b) Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) vom Juli 2000 – Neuformulierungen und Kommentare 2001. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitschutz* 2001, 44:1240–1242
66. Richtlinie 98/79/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 27. Oktober 1998 über In-vitro-Diagnostika. *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften* vom 7.12.1998, L 331/1–37
67. Bekanntmachung des Paul-Ehrlich-Instituts vom 6. Mai 2003 über die Zulassung und Registrierung von Arzneimitteln. Verminderung des Risikos von HIV-1-Infektionen durch zelluläre Blutprodukte und gefrorenes Frischplasma. *BAnz Nr. 103* vom 5.6.2003, S 12269
68. Steffen K, Kullman R, Macke M et al. *Bundesgerichtshof-Urteil VI ZR 178/90*. Verkündet 30. April 1991
69. Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz – IfSG) vom 20. Juli 2000
70. Schramm W, Rommel F, Kopel A, Puchta R (2000) Todesursachen und AIDS-Erkrankungen Hämophiler in Deutschland (Umfrageergebnisse 1998). In: Scharer I, Schramm W (Hrsg) 29. Hämophilie-Symposium Hamburg 1998. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, pp 7–18
71. Norrgren H, Andersson S, Biague AJ et al. (1999) Trends and interaction of HIV-1 and HIV-2 in Guinea-Bissau, West Africa: no protection of HIV-2 against HIV-1 infection. *AIDS* 13:701–707
72. Rosenberg PS, Goedert JJ, Biggar RJ (1994) Effect of age at seroconversion on the natural AIDS incubation distribution. Multicenter Hemophilia Cohort Study and the International Registry of Seroconverters. *AIDS* 8:803–810
73. Rosenberg ES, Altfeld M, Poon SH et al. (2000) Immune control of HIV-1 after early treatment of acute infection. *Nature* 407:523–526
74. Wei X, Decker JM, Liu H et al. (2002) Emergence of resistant human immunodeficiency virus type 1 in patients receiving fusion inhibitor (T-20) monotherapy. *Antimicrob Agents Chemother* 46:1896–1905
75. Duwe S, Brunn M, Altmann D et al. (2001) Frequency of genotypic and phenotypic drug-resistant HIV-1 among therapy-naive patients of the German Seroconverter Study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 26:266–273
76. Pluyms W, Pais G, van Maele B et al. (2002) Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 integration by diketo derivatives. *Antimicrob Agents Chemother* 46:3292–3297
77. Blanco J, Cabrera C, Jou A et al. (1999) Chemokine and chemokine receptor expression after combined anti-HIV-1 interleukin-2 therapy. *AIDS* 13:547–555
78. Goebel FD, Mannhalter JW, Belshe RB et al. (1999) Recombinant gp160 as a therapeutic vaccine for HIV infection: results of a large randomized, controlled trial. *AIDS* 13:1461–1468
79. Katzenstein TL, Dickmeiss E, Aladdin H et al. (2000) Failure to develop HIV infection after receipt of HIV-contaminated blood and postexposure prophylaxis. *Ann Intern Med* 133:31–34
80. Bekanntmachung über die Zulassung und Registrierung von Arzneimitteln (Abwehr von Arzneimitteln, Stufe II – Blutzubereitungen aus Blut oder Plasma vom Menschen gem. § 4 Abs. 2 AMG)* vom 29. November 1993, *Bundesanzeiger* vom 15.12.1993 (*Bekanntmachung vom 30. Juli 1993, *BAnz S 7870*)
81. Horowitz B, Wiebe ME, Lippin A, Stryker MH (1985) Inactivation of viruses in labile blood derivatives. Disruption of lipid-enveloped viruses by tri(n-butyl) phosphate detergent combination. *Transfusion* 25:516–522
82. Schimpf K, Brackmann HH, Kreuz W et al. (1989) Absence of anti-human immunodeficiency virus types 1 and 2 seroconversion after the treatment of hemophilia A or von Willebrand's disease with pasteurized factor VIII concentrate. *N Engl J Med* 321:1148–1152
83. Prince AM, Horowitz B, Brotman B (1986) Sterilization of hepatitis and HTLV-III viruses by exposure to TRI(n-butyl)phosphate and sodium cholate. *Lancet* 1:706–709
84. Hanson CV, Riggs JL, Lennette EH (1978) Photochemical inactivation of DNA and RNA viruses by psoralen derivatives. *J Gen Virol* 40:345–358
85. Alter HJ, Creagan RP, Morel PA et al. (1988) Photochemical decontamination of blood components containing hepatitis B and non-A, non-B virus. *Lancet* 1:1446–1450
86. Bachmann B, Knuver-Hopf J, Lambrecht B, Mohr H (1995) Target structures for HIV-1 inactivation by methylene blue and light. *J Med Virol* 47:172–178
87. Corash L (2000) Inactivation of viruses, bacteria, protozoa and leukocytes in platelet and red cell concentrates. *Vox Sang* 78:205–210
88. Wagner SJ, Skripchenko A, Pugh J et al. (2001) Duck hepatitis B photoinactivation by dimethylblue in RBC suspension. *Transfusion* 41:1145–1158
89. Purmal A, Valeri R, Dzik W et al. (2002) Process of the preparation of pathogen-inactivated RBC concentrates by using PEN110 chemistry: preclinical studies. *Transfusion* 42:139–145
90. Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP) Note for guidance on virus validation studies: the design, contribution and interpretation of studies validating the inactivation and removal of viruses. CPMP/BWP/268/95, final version, February 29, 1996, London