

Stellungnahme des Arbeitskreises Blut

Bei der 31. Sitzung des Arbeitskreises Blut am 2. Dezember 1998 wurde folgende Stellungnahme (S3) verabschiedet:

Parvovirus B19

1. Wissensstand über den Erreger

1.1 Erregereigenschaften

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

Parvoviren sind nicht-umhüllte, isometrische Viren mit einem Durchmesser von 18-26 nm. Die Partikel sind aus 60 Kopien des Kapsidproteins aufgebaut und enthalten einsträngige DNA positiver und negativer Polarität. Das B19-Genom hat eine Länge von 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. DNA-Stränge mit positiver und negativer Polarität sind in den Virionen gleich häufig verteilt.

Replikation: Während der Replikation können mindestens 9 sich überlappende mRNA-Transkripte nachgewiesen werden, die alle am gleichen Promoter (P6) initiieren. Es gibt zwei Gruppen von mRNA, die für die Virusstrukturproteine VP1 und VP2 sowie die beiden Proteine mit 11 kDa und 7,5 kDa kodieren, jedoch nur eine mRNA-Spezies, die für das Nicht-Strukturprotein NS1 mit einem Molekulargewicht von 77 kDa kodiert.

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

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

In B19-infizierten Zellen ist NS1 im Kern lokalisiert und möglicherweise an der Regulation der Parvovirus-DNA-Synthese beteiligt. Über die biologische Funktion der 7.5 kDa- und 11 kDa-Proteine ist bisher nichts bekannt.

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

Das P-Antigen findet man auf Erythroblasten und Megakaryozyten sowie auf Endothelzellen und fetalen Myokardzellen.

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

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

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

1.2 Infektion und Infektionskrankheit

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

Die Mehrzahl der B19-Virusinfektionen verläuft klinisch asymptomatisch. Das Auftreten von B19-spezifischen IgG-Antikörpern weist auf eine durchgemachte B19-Virusinfektion hin. Der Nachweis von spezifischem IgM oder Virus-DNA durch Hybridisierung zeigt eine bestehende oder kürzlich abgelaufene Infektion an. Mit der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) oder anderen Nukleinsäure-Amplifikations-Techniken (NAT) kann teilweise über Monate zirkulierende B19-DNA nachgewiesen werden (z.B. 4 Monate: Zanella A et al. 1995). Interpretationen dieser Resultate und Schlüsse auf Krankheitsbilder sind daher schwierig. Eine Vielzahl klinischer Erkrankungen ist B19-Virus-bedingt.

Tabelle: Krankheitsbilder

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

Erythema infectiosum (Ringelröteln, Morbus quintus, engl. *Fifth Disease*)
Das Krankheitsbild (fleckiger makulopapulöser Ausschlag, an den Wangen beginnend und sich hauptsächlich auf exponierte Teile der Extremitäten ausbreitend)

[Differentialdiagnose: Röteln und Enterovirusinfektionen] wird durch Antigen-Antikörperkomplexbildung und Ablagerung in Haut und Gelenken hervorgerufen. Bei Kindern beobachtet man meist leichtes Fieber und Unwohlsein. Im Erwachsenenalter sind rheumatische Komplikationen häufig (Entzündungen der Gelenke vergleichbar der rheumatischen Arthritis).

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

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

Hydrops fetalis und kongenitale Infektionen

Parvovirus B19-Infektionen bei nicht-immunen schwangeren Frauen können zur Übertragung des Virus auf den Fetus führen (Schneider und Weitzel, 1990). 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 (Hall et al. 1990; Rodis et al. 1990). Am besten sind die Infektionen im mittleren Trimenon untersucht. Beim Fetus ist im wesentlichen die Leber (Erythrozytenproduktion) und teilweise das Herz (fetale Myokardzellen exprimieren das P-Antigen) produktiv befallen. Unbehandelte Anämie und Herzversagen führen zu massiven Ödemen des Hydrops und Fruchttod *in utero* oder kurz nach der Geburt. Kongenitale Infektionen können zu persistierenden Infektionen führen. Eine Therapie ist durch *in utero* Transfusion möglich, wobei bei behandelten Neugeborenen Virus im Knochenmark, nicht aber in der Zirkulation nachweisbar war und Krankheitsbilder wie erythroide Hypoplasie (Diamond-Blackfan Anämie) oder erythroide Dysplasie beobachtet wurden.

1.3 Epidemiologie

Parvovirus B19 ist weltweit verbreitet. In den entwickelten Ländern haben 2-10% der Kinder unter 5 Jahren eine Infektion durchgemacht, Personen über 20 Jahre zeigen in 40-60%, über 70-Jährige in über 85% Antikörper gegen B19. Untersuchungen bei Blutspendern weisen eine 60%ige Durchseuchungsrate nach.

B19-Infektionen werden in Regionen mit gemäßigttem Klima (Europa) hauptsächlich im Spätwinter bis Frühsommer beobachtet. Epidemien treten mit einer Periodizität von etwa 4-5 Jahren auf.

1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

1. Antikörper-Nachweis: Kommerzielle Teste zum Nachweis von IgG- oder IgM-Antikörpern im Serum werden als ELISA oder Immunfluoreszenzteste von verschiedenen Firmen angeboten. Überwiegend werden rekombinante Antigene (VP2 und VP1, Baculovirus-System) in den Testen eingesetzt. Für die Bestätigung positiver Befunde stehen Western Blot-Teste zur Verfügung, die ebenfalls mit rekombinanten Antigenen ausgerüstet sind.

Die Anwesenheit von IgG-Antikörpern weist auf eine überstandene Infektion und Immunität hin. IgM-Antikörper zeigen eine bestehende oder kürzlich überstandene Infektion an. Nach den Aussagen verschiedener Laboratorien sind Spezifität und Sensitivität dieser Testsysteme bisher nicht ausreichend. Es besteht Bedarf an Verbesserung.

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

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

3. Viruspartikel-Nachweis: Immunelektronenmikroskopie.

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

2. Blut und Plasmaspender

2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

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

Bei Testung von Blutspendern auf B19-DNA mit der PCR in Schottland war in der saisonalen Phase der B19-Infektion in einem von ca. 300 Blutspendern B19-DNA nachgewiesen worden; Yoto et al. (1995b) 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 (McOmish et al. 1993; Schwarz 1994; Tsuijimura et al. 1995; Browse et al. 1997).

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

2.2. Definition von Ausschlußkriterien

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

2.3 Spendertestung und Aussagekraft

Die Testung des Spenders oder der Spenden auf Parovirus B19 ist in der Richtlinie für Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion (Hämotherapie) (Bundesgesundhbl. 12/96) sowie in den Empfehlungen des Europarates und der WHO zu Blut und Blutzubereitungen (BANz. Nr. 70a vom 12. April 1996) nicht vorgeschrieben.

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

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

2.4 Spenderbefragung

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

2.5 Spenderinformation und -beratung

entfällt

3. Empfänger

3.1 Prävalenz und Inzidenz von blutassoziierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Grundsätzlich entsprechen Prävalenz und Inzidenz der B19-Infektion bei Empfängern von Blutprodukten denen der Normalbevölkerung. Bei Patienten, die langfristig mit Gerinnungsfaktorkonzentraten behandelt wurden, Hämophilie A-Patienten, wurde von einer höheren Prävalenz von IgG-Antikörpern, vor allem bei Kindern, berichtet (Große-Bley A et al. 1994; Eis-Hübinger et al. 1996a). Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß auch mit inaktivierten Faktor VIII-Konzentraten B19 übertragen worden ist.

>Betrachtet man die Frequenz des B19-DNA-Nachweises bei Blutspendern (s. 2.1.), müßten Spenden, die infektiöses B19 enthalten, relativ oft auftreten. Es müßten deshalb bei der Anwendung zellulärer Blutkomponenten oder Plasma (FFP) Virusübertragungen beobachtet werden. Fallberichte sind jedoch selten publiziert worden (s. 3 Publikationen zitiert in Schwarz 1994; Zanella A et al. 1995). 1995/1996 sind keine Meldungen über Verdachtsfälle einer B19-Infektion im Zusammenhang mit der Gabe zellulärer Präparate oder FFP im Paul-Ehrlich-Institut (PEI) eingegangen.:

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

Eine Kontamination von Plasma, das nach dem S/D-Verfahren hergestellt wurde, ist nicht auszuschließen. Die Inaktivierung wird in Plasmapools von ca. 500 l vorgenommen, und es ist zu erwarten, dass je nach epidemiologischer Lage die Pools teilweise kontaminiert sind. Das S/D-Verfahren kann Viren ohne lipidhaltige Virushülle nicht inaktivieren. Es kann allerdings davon ausgegangen werden, dass

die im Pool immer vorhandenen Antikörper ausreichend sind, um die durch eine oder mehrere infektiöse Spenden eingetragenen Erreger zu neutralisieren. Es gibt keine Meldungen über den Verdacht der B19-Übertragung durch MB- oder SD-Plasma in den Jahren 1995/96 an das PEI. Eine Kontamination von Gerinnungspräparaten mit B19 ist durch B19-DNA-Nachweis in verschiedenen Gerinnungspräparaten gezeigt worden (Morfini M et al. 1992; Lefrère JJ et al. 1994; Untersuchungen PEI).

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

Auch in Immunglobulin-Präparaten, IVIG und IMIG, ist teilweise B19-DNA nachgewiesen worden (Saldanha et al. 1996 und Untersuchungen im PEI). Es scheint jedoch keine Infektiosität zu bestehen. Der Gehalt an B19-Antikörpern mit neutralisierenden Eigenschaften könnte dafür verantwortlich sein. Immunglobuline wurden erfolgreich für die Therapie der akuten B19-Infektion eingesetzt (Young 1996). B19-Übertragungen durch Immunglobuline sind bisher nicht belegt. :

Es liegen Berichte vor über den Nachweis von B19-DNA in Albumin-Präparaten in gentechnisch hergestellten Gerinnungspräparaten, die mit Human-Albumin stabilisiert wurden (Saldanha et al. 1996; Eis-Hübinger et al. 1996b). Eine Bewertung dieser Befunde ist schwierig. Es gibt Hinweise darauf, dass ein B19-DNA-Nachweis im Albumin nicht mit einer Infektiosität des Präparates korreliert. Wäre dies der Fall, wäre bei der hohen Dosierung von Albumin zu erwarten, dass B19-Infektionen im Zusammenhang mit einer Albumin-Infusion schon beobachtet worden wären. Fallberichte über eine B19-Infektion sind jedoch bisher weder publiziert noch an das PEI gemeldet worden. Gleiche Sicherheit hinsichtlich B19 ist von Präparaten anzunehmen, die Albumin als Stabilisator enthalten, wenn das verwendete Albumin den Anforderungen des Arzneibuches (DAB 10) entspricht.

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

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

Es scheint Einzelfälle zu geben, bei denen dies nicht zutrifft: so haben Kerr et al. (1995) zwei Fälle beschrieben, in denen trotz Anwesenheit von IgG-Antikörpern B19-DNA über einen langen Zeitraum nachweisbar blieb (Beobachtungszeitraum 57 Monate). Bei diesen Patienten bestand keine klinische Symptomatik. Diese Ergebnisse stellen die bisherige Meinung in Frage, daß Viruspersistenz und -reaktivierung nur bei gestörter immunologischer Abwehrlage vorkommen kann.

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

Immunität ausreichend sein sollte, um den Patienten vor einer erneuten Infektion zu bewahren.

3.3 Schwere und Verlauf der Erkrankung

Einzelheiten sind bereits unter 1.2 wiedergegeben. Persistierende Infektionen und Erkrankungen mit teilweise schweren Krankheitsbildern werden von Patienten mit Immundefizienz, z.B. HIV-Infizierten, berichtet (Frickhofen et al. 1990).

In zwei Fällen wurde von einer Infektion immunkompetenter hämophiler Patienten mit schwerer, teilweise lebensbedrohlicher Symptomatik (Yee et al. 1995, 1996) berichtet.

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

3.4 Therapie- und Prophylaxemöglichkeiten

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

Versuche mit experimentellen Vakzinen weisen darauf hin, dass das Verhältnis der Proteinbausteine VP1 und VP2 einen wesentlichen Einfluss auf die Bildung neutralisierender Antikörper im Tierversuch hat. Ein Immunogen, das mindestens 25% VP1 enthielt, induzierte neutralisierende Antikörper (Tsao et al. 1996).

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

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

3.5 Übertragbarkeit

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

3.6 Häufigkeit und Menge der Applikation von Blutprodukten

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

4. Blutprodukte

4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Untersuchungen verschiedener Gruppen zur Häufigkeit von Blutspenden in der virämischen Phase einer B19-Infektion haben in Abhängigkeit von Methode und Zeitpunkt der Untersuchung eine Rate von 1 : 170 bis 1 : 50.000 ergeben. Die Untersuchung von Plasmapools (Saldanha et al. 1996) bestätigt die relativ hohe Häufigkeit: 64/75 Pools (87%) von 5 Herstellern enthielten B19-DNA. Im PEI (Angaben Mitte 1996) waren 39 Pools untersucht worden und 35 davon waren B19-DNA positiv. Ebenso wie Saldanha und Minor, die in 3/12 Albumin-, 7/7 Faktor VIII-, 3/15 IVIG-, 3/4 IMIG-Präparaten B19-DNA nachgewiesen hatten, war bei den Untersuchungen im PEI in 8/12 Produkten B19-DNA nachweisbar gewesen. Dieser relativ hohen Rate des B19-DNA-Nachweises in Produkten steht eine relativ selten berichtete Übertragung des Virus gegenüber.

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

4.2 Möglichkeiten der Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

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

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

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

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

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

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

5. Bewertung

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

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

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

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

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

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

Es besteht Forschungsbedarf hinsichtlich der Entwicklung wirksamer Methoden zur Eliminierung/Inaktivierung von B19 und der Charakterisierung dieser Methoden durch Modellviren, sowie in der Entwicklung von Impfstoffen. Diese Forschungen sind mit Nachdruck zu fordern.

Dieses Papier wurde vom Arbeitskreis Blut am 16.04.1997 verabschiedet. Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergruppe "Bewertung Blut-assoziiertes Krankheitserreger" des Arbeitskreises Blut:

Prof. Dr. Reinhard Burger, Prof. Dr. Wolfram Gerlich, Prof. Dr. Lutz Gürtler, Dr. Margarethe Heiden, Prof. Dr. Volker Kretschmer, Dr. Hans Lefèvre, PD Dr. Johannes Löwer, Dr. Thomas Montag-Lessing, PD Dr. Rainer Neumann, Prof. Dr. Georg Pauli, Prof. Dr. Rainer Seitz, Dipl.-Med. Uwe Schlenkrich, Dr. Edgar Werner, Dr. Hannelore Willkommen

Literatur

Bansal GP, Hatfield JA, Dunn FE, Kramer AA, Brady F, Riggin CH, Collett MS, Yoshimoto K, Kajigava S and Young NS (1993). Candidate recombinant vaccine for human B19 Parvovirus. *JID* 167, 1034-1044.

Brown KE and Young NS (1995). Parvovirus B19 infection and hematopoiesis. *Blood Reviews* 9, 176-182.

Cohen B (1995). Parvovirus B19: An expanding spectrum of disease. *BMJ* 311, 1549-1551.

Duthie SJ and Walkinshaw SA (1995). Parvovirus associated fetal hydrops: reversal of pregnancy induced proteinuric hypertension by in utero fetal transfusion. *Br J Obstet Gynaecol* 102, 1011-1013.

Eis-Hübinger AM, Oldenburg J, Brackmann HH, Matz B and Schneweis KE (1996a). The prevalence of antibody to Parvovirus B19 to hemophiliacs and in the general population. *Zbl. Bakt.* 284, 232-240.

Eis-Hübinger AM, Sasowski U, Brackmann HH, Kaiser R, Matz B and Schneweis KE (1996b). Parvovirus B19 DNA is frequently present in recombinant coagulation factor VIII products. *Thrombosis and Haemostasis* 76, 1120.

Fairley CK, Smoleniec JS, Caul OE and Miller E (1995). Observational study of effect of intrauterine transfusions on outcome of fetal hydrops after Parvovirus B19 infection. *Lancet* 346, 18 November, 1335-1337.

Frickhofen N, Abkowitz JL, Safford M, Berry JM, Antunez-de-Mayolo J, Astrow A, Cohen R and Halperin I et al. (1990). Persistent B19 Parvovirus infection in patients infected with Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1): a treatable cause of anemia in AIDS. *Annals of Internal Medicine* 113, 926-933.

Gerike E, Schwarz TF, Roggendorf M, Schreier E, Hottenträger B, Dittmann S and Deinhardt F (1991). Zur Bedeutung und Diagnostik von Parvovirus B19-Infektionen in Ostdeutschland. *Z Klin Med* 46 (11), 813-815.

Große-Bley A, Eis-Hübinger A, Kaiser R, Oldenburg J, Brackmann HH et al. (1994). Serological and virological markers of human parvovirus B19 infection in sera of hemophiliacs. *Thrombosis and Haemostasis* 72(4): 503-507.

Hall SM, Cohen BJ, Mortimer PP, Anderson MJ, Pattison JR, Shirley JA and Peto TEA (1990). Prospective study of human parvovirus (B19) infection in pregnancy. *Br Med J* 300, 1166-1170.

Jobanputra P, Davidson F, Graham S, O'Neill H, Simmonds P and Yap PL (1995). High frequency of Parvovirus B19 in patients tested for rheumatoid factor. *BMJ* 311, 1542.

Kerr JR (1996). Parvovirus B19 infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 15, 10-29.

Kerr JR and Boyd N (1996). Autoantibodies following Parvovirus B19 infection. *Br Soc Study Infect* 32, 41-47.

Kerr JR, Coyle PV, DeLeys RJ and Patterson CC (1996). Follow-up study of clinical and immunological findings in patients presenting with acute Parvovirus B19 infection. *J Med Virol* 48, 68-75.

Kerr JR, Curran MD, Moore JE, Coyle PV and Ferguson WP (1995). Persistent Parvovirus B19 infection. *Lancet* 345, 1118.

Langnas AN, Markin RS, Cattral MS and Naides SJ (1995). Parvovirus B19 as a possible causative agent of fulminant liver failure and associated aplastic anemia. *Hepatology* 22 (6), 1661-1664.

Lefrère J-J, Marotti, M and Thauvin M (1994). B19 parvovirus DNA in solvent/detergent-treated anti-hemophilia concentrates. *Lancet* 343, 211-212.

McOmish F, Yap PL, Jordan A, Hart H, Cohen BJ and 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.

Morfini M, Longo G, Rossi Ferrini P, Azzi A, Zakrewskaya C et al. (1992). Hypoplastic anemia in a hemophiliac first infused with a Solvent/Detergent treated factor VIII concentrate: the role of human B19 parvovirus. *Amer J Hematol* 39: 149-150.

Poblotzki A, Gigler A, Lang B, Wolf H and Modrow S (1995). Antibodies to Parvovirus B19 NS-1 protein in infected individuals. *J Gen Virol* 76, 519-527.

Poblotzki A, Hemauer A, Gigler A, Puchhammer-Stöckl E, Heinz FX, Pont J, Laczika K, Wolf H and Modrow S (1995). Sequence variability among different parvovirus B19 isolates. *J Infect Dis* 172, 1356-1359.

Prowse C, Ludham CA, Yap PL (1997) Human parvovirus B19 and blood products. *Vox Sang* 72: 1-10.

Rodis JF, Quinn DL, Gary GW Jr and Anderson LJ (1990). Management and outcomes of pregnancies complicated by human b19 parvovirus infection: a prospective study. *Am J Obstet Gynecol* 163 (4), 1168-1171.

Saldanha J and 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. *Brit J Haematol* 93, 714-719.

Sasaki T, Murai C, Muryoi T, Takahashi Y, Munakata Y, Sugamura K and Abe K (1995). Persistent Infection of human Parvovirus B19 in a normal subject. *Lancet* 346, 23 September, 851.

- Sato H, Takakura F, Kojima E, Fukada K, Okochi K and Maeda Y (1995). Screening of blood donors for human Parvovirus B19. *Lancet* 346, 4 November, 1237-1238.
- Schneider J and Weitzel H (Eds.) (1990). *Erkrankungen in der Schwangerschaft: Ein Leitfaden mit Therapieempfehlungen für Klinik und Praxis*. Stuttgart: Wiss. Verlagsgesellschaft 1990.
- Schwarz TF (1994). Übertragung von Parvovirus B19 durch Blut und Blutkomponenten. *Transfusionsther Transfusionsmed* 21 (suppl1): 27-31.
- Schwarz TF, Serke S, von Brun A, Hottenträger B, Huhn D, Deinhardt F and Roggendorf M (1992). Heat stability of Parvovirus B19: Kinetics of inactivation. *Zbl Bakt* 277, 219-223.
- Tsao EI, Mason MR, Cacciuttolo MA, Bowen SH and Folena-Waaserman (??) G (1996). Production of Parvovirus B19 Vaccine on Insect Cells Co-Infected with Double Baculoviruses. *Biotech Bioengin* 49, 130-138.
- Tsujimura M, Matsushita K, Shiraki H, Sato H, Okochi K and Maeda Y (1995). Human Parvovirus B19 infection in blood donors. *Vox Sang* 69, 206-212.
- Williams ?? et al. (1990). Transmission of human Parvovirus B19 by coagulation factor concentrates. *Vox Sang* 58, 177-181.
- Yee TT, Cohen BJ, Pasi KJ and Lee CA (1996). Transmission of symptomatic Parvovirus B19 infection by clotting factor concentrate. *Br J Haematol* 93, 457-459.
- Yee TT, Lee CA and Pasi KJ (1995). Life-threatening parvovirus B19 infection in immunocompetent haemophilia. *Lancet* 345, 794-795.
- Yoto Y, Kudoh T, Haseyama K, Suzuki N, Matsunaga Y and 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.
- Yoto Y, Kudoh T, Haseyama K, Suzuki N, Oda T, Katoh T, Takahashi T, Sekiguchi S and Chiba S (1995). Incidence of human Parvovirus B19 DNA detection in blood donors. *Brit J Haematol* 91, 1017-1018.
- Yoto Y, Kudoh T, Haseyama K, Suzuki N, Chiba S (1996). Human Parvovirus B19 infection associated with acute hepatitis. *Lancet* 347, 868-869.
- Young NS (1996). Parvovirus infection and its treatment. *Clin Exp Immunol* 104, 26-30.
- Zanella A, Rossi F, Cesana C, Foresti A, Nador F et al. (1995). Transfusion-transmitted human parvovirus B19 infection in a thalassaemic patient. *Transfusion* 35: 769-772.