UNIVERSITÄT ZU LÜBECK

Aus dem

Institut für Transfusionsmedizin

Direktor: Prof. Dr. med. Siegfried Görg

Universität zu Lübeck

Die Relevanz des Hepatitis-E-Virus in der Transfusionsmedizin

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Universität zu Lübeck

- Aus der Sektion Medizin -

Vorgelegt von

Nele Maxi Sommer-Strunck geb. Sommer

aus Bad Oldesloe

Lübeck 2025

1. Berichterstatter:	PD Dr. med. David Juhl
Ko-Betreuer:	Prof. Dr. med. Jan Rupp
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. med. Jan Kramer

Tag der mündlichen Prüfung: 25.11.2025

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 28.11.2025

- Promotionskommission der Sektion Medizin –

In der nachfolgenden Arbeit werden personenbezogene Bezeichnungen, die sich auf männliche, weibliche und diverse Personen beziehen, in der männlichen Form aufgeführt. Es wird darauf hingewiesen, dass die Verwendung der männlichen Form als geschlechtsunabhängig verstanden werden soll.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis 4

Abkürzungsverzeichnis 7

1 Einleitung 8

1.1 Geschichte des Hepatitis-E-Virus (HEV) 8

1.2 Morphologie und Genom 9

1.3 Verbreitung 11

1.4 Übertragungswege und klinisches Bild 12

1.5 Bedeutung des HEV in der Transfusionsmedizin 17

1.6 Umgang mit HEV am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (UKSH). 21

2 Fragestellung 23

3 Material und Methoden 24

3.1 Mögliche Spendeformen 24

3.1.1 Vollblutspende zur Fraktionierung 24

3.1.2 Präparative Hämapherese 25

3.2 Material 27

3.2.1 NUP der Spender 27

3.2.2 EDTA-Plasma-Blutspenderpools 27

3.2.3 Nachuntersuchungsproben der Empfänger 28

3.2.4 Tests und Geräte 28

3.2.5 Verbrauchsmaterialien 29

3.2.6 EDV-Systeme 29

3.3 Methoden 29

3.3.1 NAT zum Nachweis von HEV-RNA 29

3.3.2 Spender-Rückverfolgungsverfahren 30

3.3.3 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) zum Nachweis HEV-spezifischer Antikörper 30

3.3.4 Gen-Sequenzierung 32

3.3.5 HEV-RNA-Quantifizierung 32

3.3.6 Bestimmung der ALT-Werte 32

3.4 Vorgehen 33

4 Ergebnisse 38

4.1 Geleistete Spenden im Betrachtungszeitraum 38

4.2 Ergebnisse Spender 39

4.2.1 HEV-RNA positive Spenden 39

4.2.2 ELISA der Spender 40

4.2.3 NAT-Quantifizierung der Spender 40
4.2.4 ALT-Bestimmung der Spender 42
4.3 Hergestellte Blutprodukte 44
4.4 Empfänger von HEV-RNA positiven Blutprodukten 44
4.5 Ergebnisse Empfänger eines HEV-RNA positiven Blutproduktes 46
4.5.1 HEV-NAT der Empfänger 46
4.5.2 ELISA der Empfänger 46
4.5.3 Ergebnisse Empfänger 1-3 – Infektion unwahrscheinlich 48
4.5.4 Ergebnisse Empfänger 4-7 – Infektion unklar 49
4.6 Sequenzierung der Spender – Empfänger – Paare 50
4.7 Fallberichte der HEV-RNA positiven Empfänger 50
4.7.1 Ergebnisse Empfänger 8 – HEV-Infektion nach Transfusion eines HEV-RNA positiven EK 50
4.7.2 Ergebnisse Empfänger 9 – HEV-Infektion nach Transfusion eines HEV-RNA positiven PTK 52

5 Diskussion 54
5.1 Wie ist die Prävalenz von HEV-RNA? 54
5.2 Seroprävalenz von HEV 57
5.3 Weisen HEV-RNA positive Spender einen erhöhten ALT-Wert auf? 58
5.4 Sind Anti-HEV-Antikörper oder die ALT als Surrogatmarker für eine akute Infektion mit HEV und damit für ein Screening geeignet? 58
5.5 Welche Größenordnung haben die HEV-RNA-Konzentrationen bei asymptomatischen Blutspendern? 60
5.6 Wie häufig wurden in der Vergangenheit Patienten, die am UKSH Transfusionen erhalten haben, durch eine Transfusion mit HEV infiziert? 60
5.7 Wie war der Verlauf dieser Infektionen, und welche Konsequenzen können daraus für das Screeningprocedere gezogen werden? 62
5.8 Lässt sich näherungsweise eine infektiöse Dosis ermitteln, unterhalb derer keine Transfusions-assoziierten HEV-Infektionen zu erwarten bzw. unwahrscheinlich sind? 64
5.9 Sollte im Folgenden die Poolgröße, in der im UKSH getestet wird, verändert werden? 69

6 Zusammenfassung 72

7 Literaturverzeichnis 74

8 Anhang 85
8.1 Abbildungsverzeichnis 85
8.2 Tabellenverzeichnis 86

8.3 Abstract für den Jahreskongress der deutschen Gesellschaft für Immunhämatologie und Transfusionsmedizin (DGTI) vom 11. - 13.09.2024 in Düsseldorf 88

8.4 Poster für den Jahreskongress der deutschen Gesellschaft für Immunhämatologie und Transfusionsmedizin (DGTI) vom 11. - 13.09.2024 in Düsseldorf 90

8.5 Ethikvotum 91

8.6 Eidesstattliche Versicherung 92

9 Danksagung 93

10 Lebenslauf ..... Fehler! Textmarke nicht definiert.

Abkürzungsverzeichnis

ALT	Alanin-Aminotransferase
AMG	Arzneimittelgesetz
AST	Aspartat-Aminotransferase
ATK	Apherese-Thrombozytenkonzentrat(e)
cDNA	engl. complementary desoxyribonucleic acid (komplementäre Desoxyribonukleinsäure)
EK	Erythrozytenkonzentrat(e)
ELISA	engl. enzyme-linked immunosorbent assay(s)
FFP	engl. fresh frozen plasma (gefrorenes Frischplasma/Frischplasmen)
γGT	gamma-Glutamyltransferase
HAV	Hepatitis A Virus
HBV	Hepatitis B Virus
HCV	Hepatitis C Virus
HEV	Hepatitis E Virus
HIV	Humanes Immundefizienz Virus
HVR	Hypervariable Region
IfSG	Infektionsschutzgesetz
Ig	Immunglobulin
NAT	Nukleinsäureamplifikationstest
NUP	Nachuntersuchungsprobe(n)
ORF	engl. open reading frame (offene Leserahmen)
PCR	engl. polymerase chain reaction (Polymerasekettenreaktion)
PEI	Paul Ehrlich Institut
PTK	Pool-Thrombozytenkonzentrat(e)
RNA	engl. ribonucleic acid (Ribonukleinsäure)
RT	Reverse Transkriptase
TFG	Transfusionsgesetz
TK	Thrombozytenkonzentrat(e)
UKSH	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein

1 Einleitung

1.1 Geschichte des Hepatitis-E-Virus (HEV)

Bereits Ende des 18. Jahrhunderts beschrieb der deutsche Arzt Friedrich Kercksig in seinem Artikel „Von einer epidemischen Gelbsucht“ eine mutmaßliche HEV-Epidemie im Sauerland mit typischen Symptomen einer Infektion mit HEV Genotyp 1 oder Genotyp 2:

> *„Die Gelbsucht befiel nur Erwachsene. Kinder blieben in dieser Epidemie gänzlich verschont.“*
>
> *„(Die Erkrankung) war nicht leicht tödlich… Es starben nur ein Mann, und dieser nur durch die verkehrte Behandlung eines Quacksalbers…“*
>
> *„… und zwey Frauen, die während der Geburt abortirten“*
>
> *„Schwangeren Frauen war (die Erkrankung) am gefährlichsten, vorzüglich, wenn sie während derselben abortirten. Fünf schwangere Frauen wurden … von der Gelbsucht befallen, …zwei wurden glücklich von der Krankheit befreit, drey abortirten, wovon nur eine wieder hergestellt wurde.“ [61]*

Zum ersten Mal in der jüngeren Geschichte beschrieben, wurde das damals noch unbekannte HEV im Winter 1955/56, als in Delhi knapp 30.000 Menschen an einer schwerwiegenden infektiösen Hepatitis erkrankten. [107]

Damals waren jedoch lediglich virale Hepatitiden bekannt, die durch das Hepatitis-A-Virus (HAV) verursacht wurden. 20 Jahre später durchgeführte Untersuchungen von tiefgefrorenen Serumproben des Ausbruchs in Delhi konnten dann jedoch HAV und das später entdeckte Hepatitis-B-Virus (HBV) als Ursache für die Hepatitis-Epidemie ausschließen. Dies ließ epidemiologisch die Vermutung zu, dass es sich um einen bislang unbekannten non-A-non-B-Hepatitiserreger handeln musste. [114]

1983 wurde das HEV dann erstmals durch den sowjetischen Virologen Mikhail Balayan mit Hilfe eines Immunelektronenmikroskops nachgewiesen. [2]

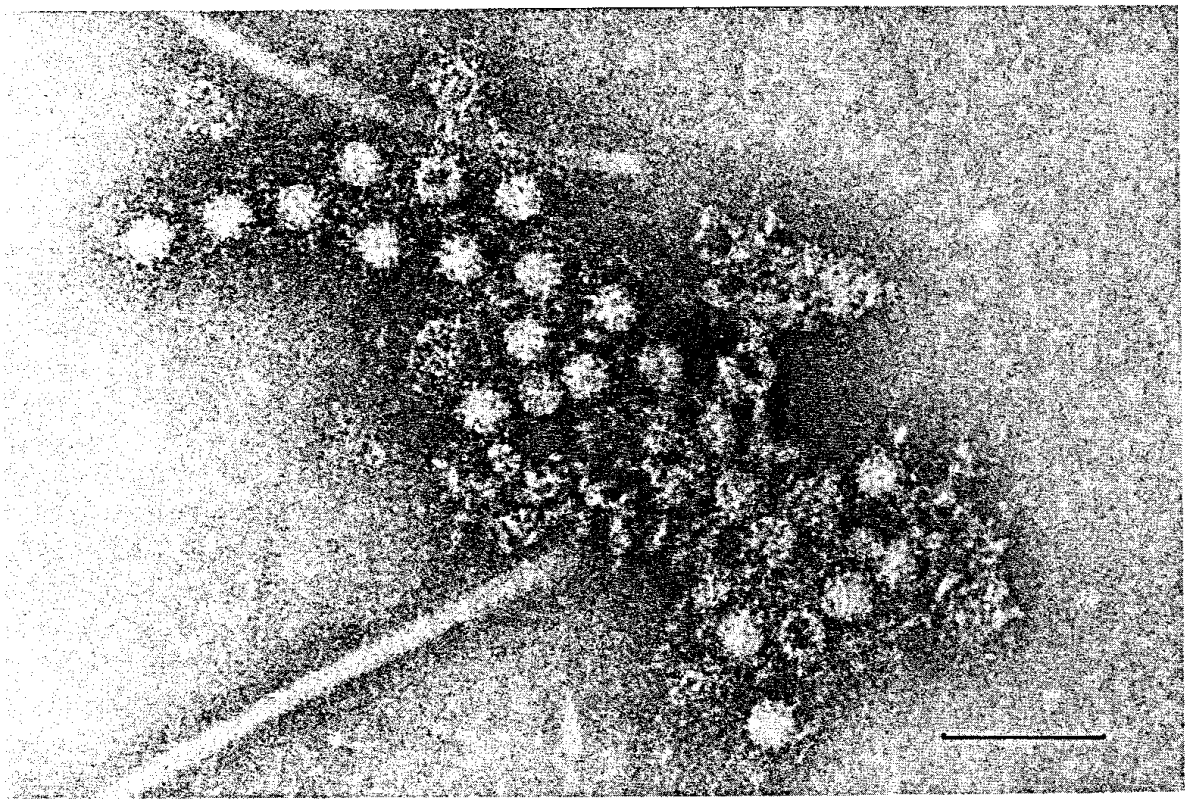

Abbildung 1: Immunaggregat virusähnlicher Partikel, gewonnen aus dem Stuhl eines experimentell infizierten Freiwilligen. Balken = 100 nm. [2]

Zunächst bezeichnete man das Virus als „enterically transmitted non-A non-B Hepatitis Virus“, bis es 1991 gelang, das Virusgenom zu klonieren und zu sequenzieren. [98] Fortan bezeichnete man den infektiösen Erreger als Hepatitis-E-Virus.

1.2 Morphologie und Genom

Bei dem HEV handelt es sich um ein Virus aus der Gruppe der unbehüllten Ribonukleinsäure-Viren mit einem ikosaedrischen Kapsid und einem Durchmesser von 27 - 34 nm. [98] Die Morphologie des HEV ähnelt im elektronischen Bild denen der Caliciviren. [2]

Das HEV-Genom besteht aus einer einzelsträngigen Ribonukleinsäure (engl. RNA) mit positiver Polarität, dessen Gesamtgröße 7.500 Basenpaare umfasst. Das Genom setzt sich aus drei offenen Leserastern (ORFs), die sich teilweise überlappen, sowie kurzen 5‘ und 3‘ nichtkodierenden Regionen zusammen. [98]

Der erste offene Leserahmen (ORF1), welcher sich an das 5‘-Ende anschließt, enthält die genetische Information für ein Vorläuferprotein, das im weiteren Verlauf proteolytisch in verschiedene Nichtstrukturproteine gespalten wird.

Das virale Capsidprotein wird vom zweiten offenen Leserahmen (ORF2) codiert. Der dritte offene Leserahmen (ORF3) liefert die Information für die Synthese eines kleinen Proteins, von dem man annimmt, dass es für die Infektiosität des Hepatitis-E-Virus eine wichtige Rolle spielt. [74]

Außerdem enthalt das Genom einen 3’poly(A)-Schwanz [87] und eine Cap-Struktur (7-Methylguanosin) am 5‘-Ende. [53] Die nichtkodierenden Regionen, der 3’poly(A)-Schwanz sowie die Cap-Struktur der RNA tragen vermutlich eine entscheidende Rolle beim Ablauf der viralen Replikation. [85, 98]

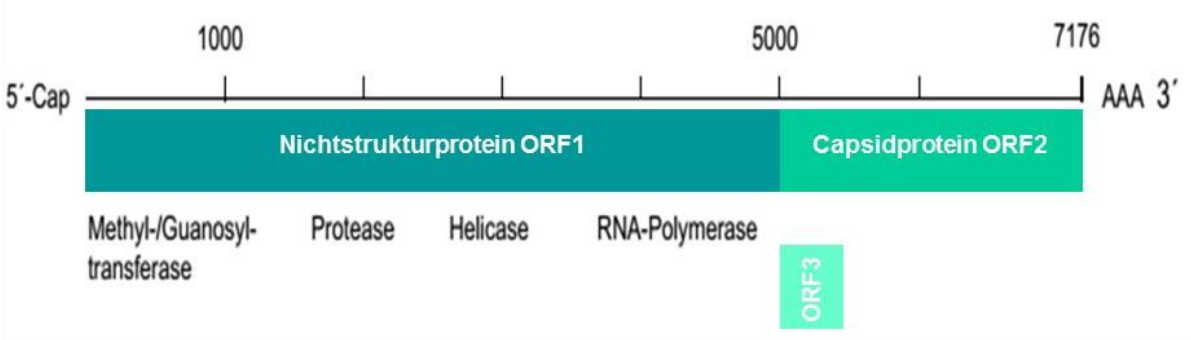

Abbildung 2: Genomorganisation des HEV (modifiziert nach [74])

Aufgrund phylogenetischer Analysen werden die bisher untersuchten Isolate in 4 verschiedene Genotypen unterteilt, die jedoch alle einen einzigen Serotyp repräsentieren und eine weltweit unterschiedliche Verbreitung aufweisen. [65]

1.3 Verbreitung

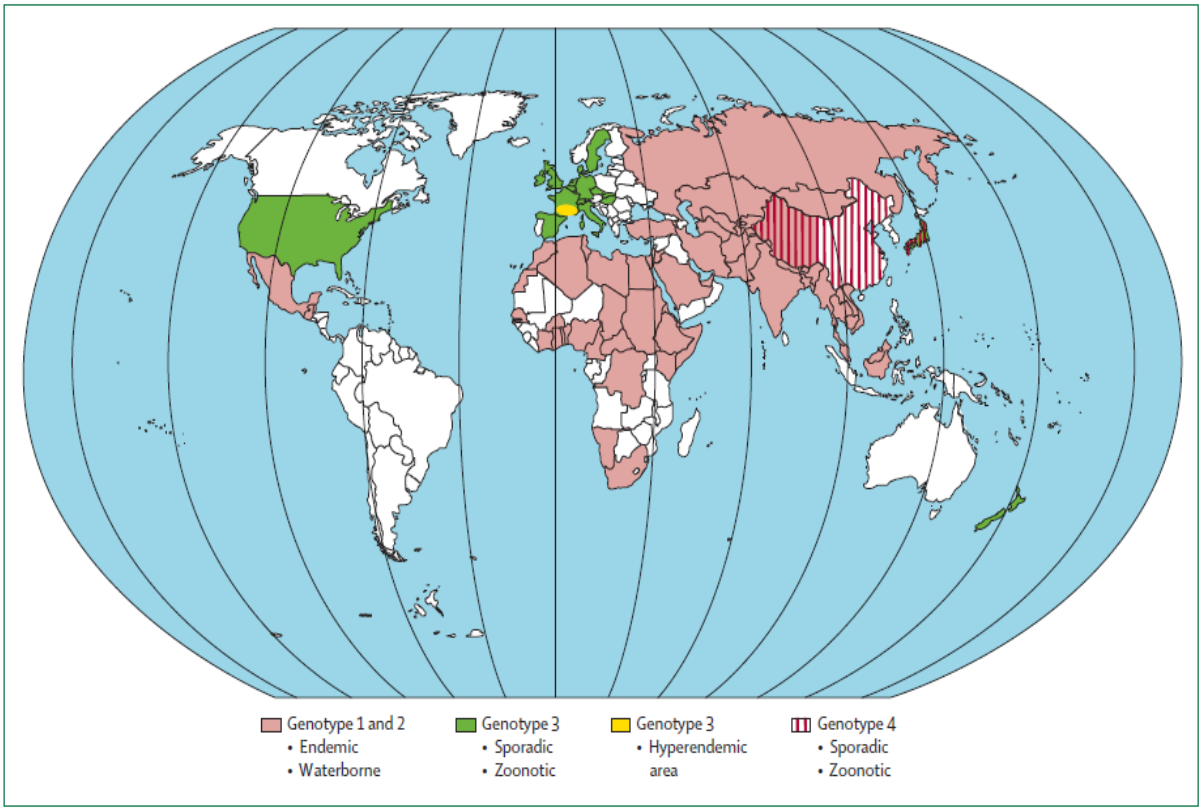

Abbildung 3: weltweite Verteilung klinischer Fälle einer HEV-Infektion [54]

Die Genotypen unterscheiden sich sowohl in ihre geographischen Verbreitung, als auch in den Spezies, die infiziert werden.

Der Genotyp 1 wurde bisher nur im Menschen gefunden und zirkuliert vor allem in den tropischen und subtropischen Ländern Asiens und Afrikas. Auch Genotyp 2 ist auf den Menschen beschränkt, sein Hauptverbreitungsgebiet ist Mexiko sowie West- und Südafrika. Die beiden Genotypen 3 und 4 infizieren vor allem Schweine, aber auch andere Säugetiere und den Menschen, letzteren wohl im Rahmen einer klassischen Zoonose. Infektionen mit Genotyp 3 werden weltweit gefunden. Genotyp 4 spielt vor allem in Ost- und Südostasien eine Rolle als Erreger bei sporadischen Fällen von Hepatitiden, ebenfalls mit Reservoir im Schwein. [78, 84]

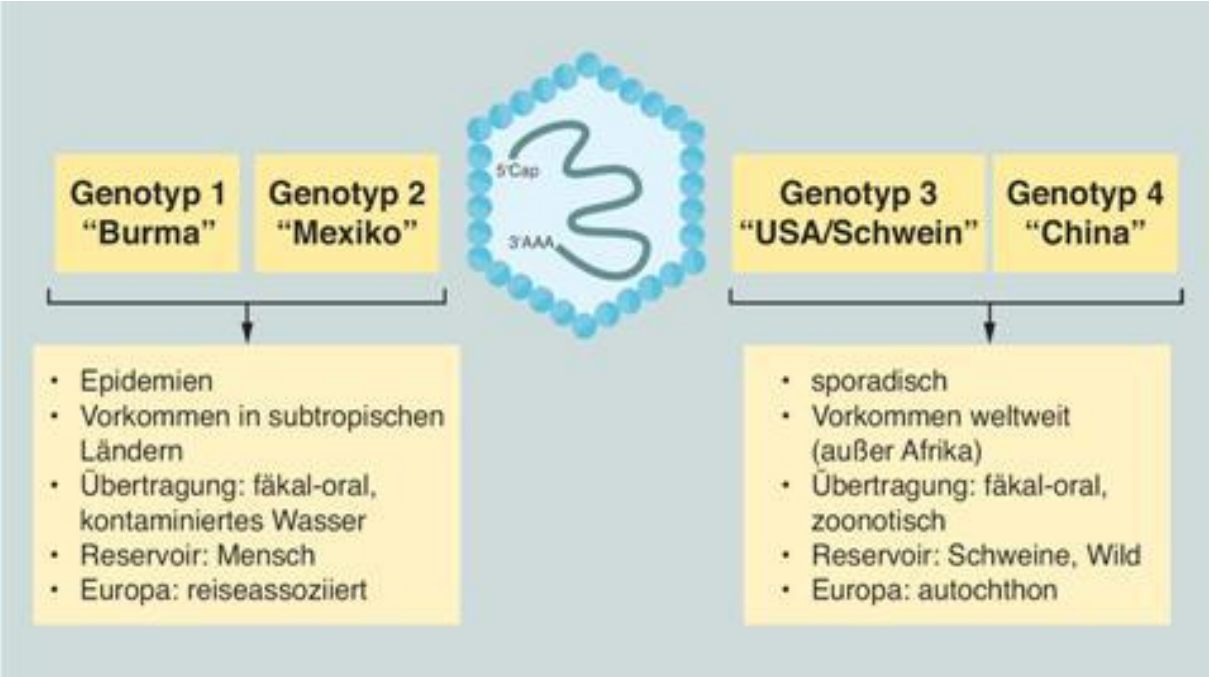

Abbildung 4: HEV-Genotypen – Übertragungswege und Infektionsquellen [6]

1.4 Übertragungswege und klinisches Bild

HEV-Infektionen galten lange Zeit als eine typische fäkal-orale Infektion der Entwicklungsländer, die aufgrund der dortigen schlechten hygienischen Bedingungen Verbreitung fanden. So ist die fäkal-orale Transmission von HEV der Genotypen 1 und 2 über kontaminiertes Trinkwasser dort eine der Hauptursachen für akute Hepatitiden.

Die Mortalität bei Epidemien reicht dabei von 0,2 % bis 4,0 % und erreicht 10 % bis 25 % bei schwangeren Frauen. [41, 46] Die erhöhte Mortalität zeigt sich hauptsächlich im dritten Trimester und wird durch akutes Leberversagen und perinatale Komplikationen wie beispielsweise Eklampsie oder Blutungen verursacht. [103]

Chronische HEV-Infektionen verursacht durch Genotyp 1 oder 2 wurden bisher noch nicht berichtet. [54]

Der in Deutschland derzeit verbreitete Genotyp 3 ist hingegen für zoonotische Infektionen durch Verzehr kontaminierter Lebensmittel verantwortlich. [112] Insbesondere schlecht gegartes bzw. rohes Fleisch kann dabei HEV übertragen. So konnte beispielsweise aus Wurst, die rohe Schweineleber enthält („Figatellu"), HEV-RNA isoliert werden und im Nachhinein für die HEV-Infektion dreier Familienmitglieder verantwortlich gemacht werden. [14]

Bezüglich geschlechtsspezifischer Unterschiede fand man in einer jüngeren Studie einen signifikant größeren Anteil an männlichen HEV-RNA-positiven Spendern im Vergleich zur gesamten Spenderpopulation, der nicht durch die übliche Tendenz eines männlichen Blutspenderüberschusses zu erklären war. [83]

Interessanterweise zeigte eine Studie in Bulgarien dazu, dass die Prävalenz kurz zurückliegender oder bestehender Infektionen (IgM- oder HEV-RNA-positiv) bei Männern doppelt so hoch war, obwohl die Prävalenz früherer HEV-Infektionen (IgG-positiv, IgM-negativ, HEV-RNA-negativ) bei Männern und Frauen ähnlich war. [37]

Genotyp 3 verursacht im Gegensatz zu Genotypen 1 und 2 auch chronische Infektionen. Diese sind definiert als Persistenz von HEV-RNA bei Patienten im Serum oder Stuhl für 6 Monate oder länger. [54] Dies tritt vor allem bei immunsupprimierten Patienten auf.

Die meisten Fälle wurden von Empfängern solider Organtransplantate berichtet. [34, 35, 39, 55, 58] Darüber hinaus gab es einzelne Fälle bei Personen, die mit dem humanen Immundefizienz-Virus (HIV) infiziert waren [15, 60] und hämatologischen Patienten, die eine Chemotherapie erhalten hatten. [79, 99]

Im Falle einer akuten HEV-Infektion beginnt während einer Inkubationszeit von 2 – 6 Wochen [57] die virämische Phase, in der HEV-RNA unmittelbar vor Einsetzen der klinischen Symptome in Stuhl und Blut nachgewiesen werden kann. Den Höhepunkt erreicht die Virämie während der Inkubationszeit und in der frühen akuten Phase der Erkrankung. [16] Diese Phase dauert normalerweise 4 bis 6 Wochen, [57] kann bei protrahiertem Verlauf aber auch bis zu 112 Wochen persistieren. [77] Die meisten Infektionen mit dem Genotyp 3 verlaufen jedoch klinisch inapparent.

Daher fühlen sich akut infizierte und virämische Blutspender gesund und werden auch nicht als infiziert erkannt. Sie erscheinen zur Blutspende und es ist ihnen möglich Blut zu spenden, während sie virämisch sind. So konnten Häufigkeiten virämischer Spenden von bis zu 1:726 [45] in mehreren europäischen Ländern mittels Nukleinsäureamplifikationstest (NAT) nachgewiesen werden.

Die Rate einzelner HEV-RNA-positiver Spender schwankt deutlich von 1:8416 in Österreich [30] über 1:3333 in Spanien [92] bis zu 1:726 in den Niederlanden [45]. Weitere Studien aus Asien ergaben eine HEV-Virämie von 0,07 % (30 Blutspender von 44816 Blutspendern) in China [38] und 0,3 % (5 Blutspender von 3185 Blutspendern) in Japan. [32]

Land	HEV-RNA positive Spenden	Quelle
Niederlande	1:726 (0,1%)	[45]
Deutschland	1:1240 (0,08%)	[107]
Frankreich	1:2218 (0,05%)	[33]
Dänemark	1:2331 0,04%)	[42]
England	1:2848 (0,04%)	[44]
Spanien	1:3333 (0,03%)	[91]
Deutschland	1:4525 (0,02%)	[4]
Schweden	1:7986 (0,01%)	[4]
Österreich	1:8416 (0,01%)	[30]

Tabelle 1: Prävalenz HEV-RNA positiver Blutspender in verschiedenen Ländern

Die verschiedenen Ergebnisse, die sogar innerhalb der Länder variieren, werden dabei jedoch von der Nachweisgrenze des jeweils angewendeten Assays beeinflusst. Darüber hinaus werden Blutspenden auf HEV-RNA häufig anhand „Pools“, bestehend aus mehreren Einzelspenden, getestet. Die Größe der Spendenpools variiert in den einzelnen Untersuchungen und beeinflusst ebenfalls die Nachweisgrenze und somit die Prävalenz von HEV-RNA.

Der erste Antikörper, der bei einer symptomatischen HEV-Infektion nach einer Inkubationszeit von 2 – 6 Wochen auftritt, ist das Anti-HEV-Immunglobulin M (IgM) in Woche 4, welches innerhalb von 3 bis sechs Monaten wieder abfällt. Es lassen sich jedoch nicht regelhaft bei jeder HEV-Virämie auch Anti-HEV-IgM nachweisen. [83]

Gefolgt wird das IgM vom Anti-HEV-Immunglobulin G (IgG) in Woche 5 [9], welches deutlich länger nachweisbar ist und bis zu 15 Jahre persistieren kann. [16, 56]

Eine Studie aus Deutschland zeigte dann in einigen asymptomatischen Fällen die gleiche Dynamik von Anti-HEV-Antikörpern wie bei symptomatischen Fällen, während bei anderen asymptomatischen Fällen die Antikörperspiegel kontinuierlich sanken und schnell auf ein nicht mehr nachweisbares Niveau abfielen. [108]

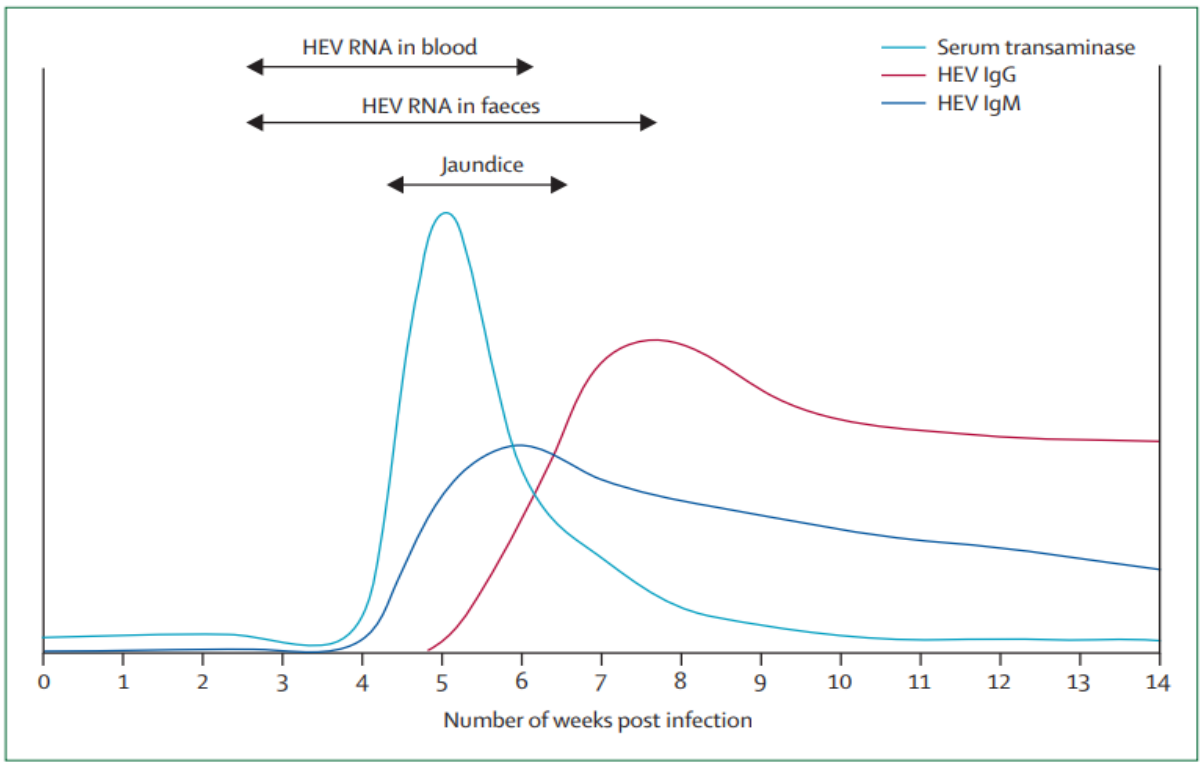

Abbildung 5: schematische Darstellung einer HEV-Infektion [16]

Die Seroprävalenz von Anti-HEV-IgG bei Blutspendern variiert dabei geographisch sehr stark und reicht von 0,4% in den Niederlanden bis 52,2% in Frankreich.

Country	n	Seroprevalence, %	Method	Year
Japan	12,600	3.4	ELISA (in-house*, Cosmic corporation**)	2010
Denmark	461	20.6	ELISA* (in-house)	2008
Switzerland	550	4.9	ELISA* (MP Biomedicals)	2011
The Netherlands	1,275	0.4	ELISA* (Abbott, Diagnostic Biotechnology), Westernblot**	1993
Germany	336	5.94	Western blot (Mikrogen*), ELISA (MP Biomedicals**)	2012
Germany	1,019	6.8	ELISA* (Mikrogen), Western blot** (Mikrogen)	2013
Germany	116	15.5	Western blot* (Mikrogen)	2011
England/Wales	262	10.0	ELISA* (Wantai), NAT*** (in-house)	2011
Scotland	1,559	4.7	ELISA* (Wantai)	2013
France	1,998	3.2	ELISA* (Genelabs Diagnostic)	2007
France	529	16.6	ELISA* (Genelabs Diagnostics)	2008
France	512	52.2	ELISA* (Wantai)	2011

*Screening assay.
**Supplemental assay for confirmation.
***ELISA-positive samples were investigated by NAT.

Abbildung 6: internationale Seroprävalenz von Anti-HEV-IgG bei Blutspendern [22]

Diese Daten werden in Abbildung 6 ausführlicher dargestellt. Abzulesen ist die Anzahl der je Studie untersuchten Blutspender, die jeweils gewählte Methode zur Detektion bzw. auch Bestätigung der Antikörper und ob überhaupt eine Bestätigungsdiagnostik durchgeführt wurde.

Die deutlichen Unterschiede können damit nicht nur auf die Anzahl der untersuchten Spender zurückgeführt werden, sondern auch auf die unterschiedlichen dafür verwendeten Antikörpertests sowie ergänzenden Bestätigungstests.

So wurden für die oben genannten Studien unterschiedliche Teststrategien angewendet:

1. Der ELISA galt als positiv, wenn ein einzelnes reaktives Ergebnis vorlag
2. Für ein positives Endergebnis war ein wiederholt reaktives Ergebnis erforderlich
3. ELISA-reaktive Ergebnisse wurden durch einen zweiten ELISA bestätigt
4. ELISA-reaktive Ergebnisse wurden durch eine Western-Blot-Analyse bestätigt
5. Keine Bestätigung der ELISA-reaktiven Ergebnisse
6. Primäres Screening mittels Western-Blot-Analyse

Neben den oben genannten Unterschieden in den Tests können auch Essgewohnheiten in den verschiedenen Ländern eine Erklärung für die unterschiedlichen Seroprävalenzwerte sein.

So wurden die Proben für die französischen Studiendaten mit einer Seroprävalenz von 52,2 % in der Region Midi-Pyrénées gesammelt. Eine lokale Delikatesse dort ist eine gepökelte Schweineleberwurst, die meist ungekocht verzehrt wird und aus der HEV-RNA isoliert und nachgewiesen werden konnte. [66]

Die Ernährung kann jedoch nicht den Unterschied erklären, dass sich in einer weiteren Studie unter Blutspendern, die in der gleichen Region allerdings mit einem anderen Test durchgeführt wurde, eine deutlich abweichende Seroprävalenz von 16,6% feststellen ließ. [67]

Dies lässt darauf schließen, dass die unterschiedlichen Sensitivitäten und Spezifitäten der jeweils angewendeten Testsysteme ebenfalls zu den unterschiedlichen Seroprävalenzen beitragen.

Wie auf Abbildung 5 zu sehen ist, gibt es einen weiteren Parameter, der im Zusammenhang mit HEV eine Rolle spielt.

Die Alanin-Aminotransferase (ALT), früher Glutamat-Pyruvat-Transaminase, ist ein Enzym, das vor allem im Cytoplasma von Leberzellen vorkommt. Erhöhte ALT-Werte deuten praktisch immer auf eine Lebererkrankung hin, bei der Leberzellen geschädigt wurden.

Der maximale Anstieg dieses Enzyms im Rahmen einer Infektion mit HEV erfolgt mit dem Auftreten von Anti-HEV-Antikörpern, also 1–4 Wochen nach Auftreten der klinischen Symptomatik. [102]

In vielen Studien wurde der mögliche Einsatz einer ALT-Bestimmung als Surrogatmarker für eine Infektion mit HEV untersucht. [32]

Ganz aktuell im Jahr 2024 konnten Plümers et al. in einer Studie, bei der 731.630 Blutspender untersucht wurden, einen Zusammenhang zwischen einer hohen HEV-Viruslast und einem Anti-HEV-IgG positiven Serostatus mit einer Erhöhung der ALT-Aktivität zeigen. [83]

1.5 Bedeutung des HEV in der Transfusionsmedizin

Ein alternativer Übertragungsweg von HEV ist die Transfusion von kontaminierten Blutprodukten. Dieses ist relevant, da bei immunkompetenten Personen Infektionen zwar meist folgenlos ausheilen, bei immunsupprimierten Patienten HEV jedoch chronische Infektionen verursachen kann.

Im Jahr 2004 wurde erstmals in zwei Studien aus Japan über zwei unabhängige Fallberichte transfusionsassoziierter HEV-Übertragungen berichtet.

In einem Fall wurde bei vier Dialysepatienten retrospektiv eine HEV-Infektion diagnostiziert. Einer von Ihnen hatte zuvor eine Bluttransfusion erhalten, in deren Nachuntersuchungsproben (NUP) dann ebenfalls retrospektiv HEV-RNA nachgewiesen werden konnte. [73]

In einem weiteren Fall stellte sich ein Patient mit akuter HEV vor, nachdem er im Rahmen eines kardiologischen Eingriffs Bluttransfusionen erhalten hatte. Im Nachhinein konnte dann auch hier aus NUP eines der transfundierten Blutprodukte HEV-RNA nachgewiesen werden. [70]

Die erste Übertragung von HEV durch ein Blutprodukt in Europa wurde im Jahre 2006 aus England berichtet. Dort konnte bei Patienten eine HEV-Infektion festgestellt werden, die zuvor Blutprodukte eines Spenders erhalten hatten, bei dem 24 Tage nach der Blutspende eine HEV-Infektion diagnostiziert wurde. [9]

HEV fand daraufhin als transfusionsassoziierte Infektion zunehmend Aufmerksamkeit in der Fachpresse, und es wurde weltweit über transfusions-assoziierte HEV-Infektionen berichtet. [15, 69, 99]

Im Jahr 2013 berichteten dann Huzly et al. über die erste transfusionsassoziierte HEV-Infektion in Deutschland. [47] Bei einem 40-jährigen immunsupprimierten Patienten wurden, sowohl Anti-HEV Antikörper der Klassen IgM und IgG als auch HEV-RNA nachgewiesen. Mittels einer retrospektiven Analyse konnte dabei erstmalig drei Wochen nach Transfusion eines Thrombozytenkonzentrats (TK) HEV-RNA nachgewiesen werden.

Der Spender des Blutproduktes wurde identifiziert. Darüber hinaus konnte herausgefunden werden, dass der Spender zwei weitere virämische Spenden geleistet hatte.

Der Spender erschien regelmäßig alle 14 Tage zur Blutspende und war bei den virämischen Spenden vollkommen symptomfrei.

Die erste systematische Studie zur Untersuchung der möglichen Mensch-zu-Mensch-Übertragung von HEV durch Bluttransfusionen wurde dann in England durchgeführt. [44]

Im Rahmen der Studie wurden vom 8. Oktober 2012 bis 30. September 2013 insgesamt 225000 Blutspender untersucht und 79 von ihnen als HEV-RNA positiv getestet. Aus den Spenden dieser 79 Spender wurden insgesamt 129 Blutprodukte hergestellt, von denen wiederum 62 vor der Identifizierung der infizierten Spende transfundiert wurden. Nach weiterer Identifikation der jeweiligen Empfänger konnten 43 Empfänger von HEV-RNA-haltigen Blutbestandteilen nachuntersucht werden; 18 (42%) wiesen Anzeichen einer Infektion auf, und bei der Hälfte der HEV-infizierten immunsupprimierten Empfänger wurde eine chronische Infektion nachgewiesen. [44]

Aufgrund der zunehmenden Anzahl von transfusionsassoziierten HEV-Infektionen und der Schwere der Erkrankung vor allem bei immungeschwächten Patienten entschieden sich nach und nach mehrere Länder für die Einführung eines HEV-RNA-Screenings von Blutspendern, um das Risiko einer Übertragung von HEV durch

Blutbestandteile zu mindern. Aufgrund fehlender verbindlicher Regulatorien wurde die Durchführung hierfür je nach Land unterschiedlich gehandhabt.

Das erste Land, das aufgrund des Auftretens mehrerer transfusionsassoziierter HEV-Infektionen ein Blutspender-Screening mittels Molekulargenetik einführte, war Japan. Ab 2005 wurde dies zunächst experimentell und auf die Region Hokkaido begrenzt bei einigen Blutspenden angewendet und dann nach und nach auf alle geleisteten Spenden ausgeweitet. [90]

In Europa begannen verschiedene Länder ab 2012 ebenfalls ein HEV-RNA-Screening einzuführen. Dabei entschieden sich einige Länder für ein allgemeines Screening aller Blutspenden, während in anderen Ländern ein selektives Verfahren gewählt wurde, bei dem beispielsweise nur Spender von Blutprodukten für besonders gefährdete Empfänger oder aus bestimmten Regionen des Landes auf HEV-RNA untersucht wurden. [7, 21]

Im Jahr 2017 wurde bereits in acht EU-Ländern ein Screening von Blutspenden auf HEV-RNA durchgeführt, während es im Vergleich dazu im Jahr 2014 noch lediglich zwei Länder waren.

Faktoren, die dabei die Entscheidung beeinflussten, ob ein Ansatz im Minipool gewählt wurde, die Einzeltestung bevorzugt wurde, ein universelles oder gegebenfalls selektives Screening durchgeführt wurde, umfassten eine Risikobewertung, die Ressourcenverfügbarkeit, Gesundheitsökonomie sowie politische und andere Einflüsse.

Die meisten EU-Länder, die ein HEV-Screening einführten, entschieden sich für einen Ansatz in Minipools, da diese bei kleinstmöglichen Kosten effektiv potentiell infektiöse Blutspenden identifizieren.

In Deutschland sind Blutspendeeinrichtungen bzw. Einrichtungen der Krankenversorgung nach § 63 Arzneimittelgesetzt (AMG) verpflichtet, Verdachtsfälle schwerwiegender unerwünschter Arzneimittelwirkungen dem Paul-Ehrlich-Institut (PEI) als zuständiger Bundesoberhörde zu melden. [36] Hierzu gehören auch Transfusions-assoziierte Virusinfektionen. In den darauffolgenden Jahren wurden dem PEI mehr und mehr Transfusions-assoziierte HEV-Infektionen gemeldet.

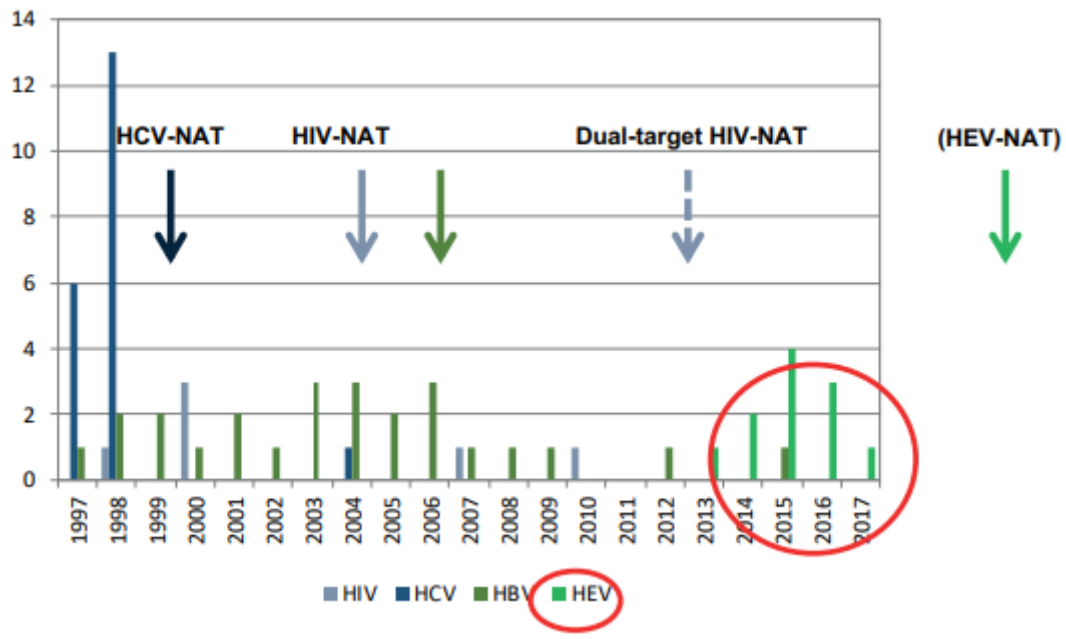

Abbildung 7: transfusionsbedingte HIV-, HBV-, Hepatitis-C-Virus- (HCV) und HEV-Infektionen im Zeitraum 1997 – 2017 und für die Spendertestung eingeführte Maßnahmen zur Risikovorsorge [81]

Angesichts der vielen Daten sah sich das PEI gezwungen, eine generelle Testung spätestens ab dem 01.01.2020 aller Blutspenden auf HEV-RNA anzuordnen. [80]

Nach Anhörung der deutschen Blutspendedienste ordnete das PEI dabei am 15.02.2019 die Testung zellulärer Bestandteile auf HEV-RNA ab dem 01.01.2020 an. Für therapeutische Frischplasmen musste ab dem 01.01.2021 auf HEV-RNA getestet werden. Die für die Spendertestung verwendete Methode muss dabei so ausgelegt sein, dass mindestens eine HEV-RNA-Konzentration von 2 000 IU/ml, bezogen auf die Einzelblutspende, verlässlich erkannt wird. [80]

Die Testung aller Blutspenden auf HEV-RNA ist jedoch nicht unumstritten. Diese ist kostenaufwendig, führt gegebenenfalls zur Verunsicherung der Blutspender und verhindert bei Transfusionsempfängern keine zoonotischen HEV-Infektionen, die viel häufiger sind als Transfusions-assoziierte HEV-Infektionen. [18]

Auf Empfehlung der „Royal Danish Society of Clinical Immunology“ wird nach Untersuchungen noch lebender Empfänger von HEV-RNA positiven Blutprodukten aufgrund fehlender Hinweise auf transfusionsassoziierte HEV-Infektionen in Dänemark sogar bewusst auf ein Screening verzichtet. [42]

1.6 Umgang mit HEV am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (UKSH)

Seit Oktober 2019 wird die Testung auf HEV-RNA im Institut für Transfusionsmedizin des UKSH durchgeführt. Sie erfolgt mit einem für das Blutspendescreening vom PEI zugelassenen Test (cobas HEV) der Fa. Roche Diagnostics (Mannheim). Im ersten Jahr wurden etwa 45.000 Spenden von etwa 20.000 Spenderinnen und Spendern getestet. In 45 Spenden, entsprechend 0,23 % aller spendenden Personen oder 0,1 % aller Spenden, war HEV-RNA nachweisbar. [51]

Zur Durchführung des Screenings wurde im Institut für Transfusionsmedizin eine Poolgröße von 48 Spenden gewählt. Dies entspricht bei einer 95 %-Nachweisgrenze des Tests von 18,6 IU HEV-RNA/ml Plasma einer Nachweisgrenze von etwa 893 IU HEV-RNA/ml Plasma bezogen auf die Einzelspende. Die 50 %-Nachweisgrenze liegt bei 3,9 IU HEV-RNA/ml Plasma und bezogen auf die Einzelspende somit bei 187 IU HEV-RNA/ml Plasma. Die Nachweisgrenzen liegen damit deutlich unter der vom PEI geforderten Nachweisgrenze von 2000 IU HEV-RNA/ml Plasma, bezogen auf die Einzelspende im Pool.

Durch die Einführung der HEV-RNA Testung ergaben sich im Institut für Transfusionsmedizin des UKSH neben den zusätzlichen Kosten verschiedene weitere Probleme: So erfolgt die Testung auf HEV-RNA anhand gepoolter Spenderproben in Pools, bestehend aus maximal 48 Proben und bei einem positiven Ausfall der HEV-Testung muss erst durch Bildung und Untersuchung von Kleinpools die HEV-RNA-positive Einzelprobe identifiziert werden. Dieser Vorgang ist zeitaufwändig und hat bereits häufig zur Verzögerung der Freigabe der nur kurz haltbaren (vier Tage) und oftmals dringend benötigten TK geführt.

HEV-Infektionen sind außerdem gemäß des Paragraphen 7 des Infektionsschutzgesetz (IfSG) namentlich meldepflichtig. [48] Im Falle einer auffälligen Blutspende am UKSH werden die betroffenen Spender dem zuständigen Gesundheitsamt vom Institut für Transfusionsmedizin gemeldet. Das Gesundheitsamt wiederum kontaktiert dann den Spender. Dieses Procedere geschieht häufig, bevor eine Information durch das Institut für Transfusionsmedizin selbst erfolgen konnte und führt so zur Verunsicherung der Spender. Grundsätzlich sind auch konkrete negative Konsequenzen wie befristete Beschäftigungsverbote möglich. Ein Solches wurde in einem Fall seitens des

Gesundheitsamtes auch ausgesprochen. Dies war jedoch eigentlich unnötig, da es sich bei der Spenderin mit negativer Reiseanamnese um eine Infektion mit HEV-Genotyp 3 gehandelt haben muss, die nicht als Schmutz- und Schmierinfektion übertragbar gewesen wäre.

Über den möglichen Nutzen der HEV-RNA Testung aller Blutspenden am UKSH hingegen ist nichts bekannt.

2 Fragestellung

Mit Hilfe dieser Arbeit sollen daher folgende Fragen geklärt werden:

- Wie ist die Prävalenz in Bezug auf HEV-RNA?
- Wie ist die Prävalenz in Bezug auf Anti-HEV-Antikörper?
- Weisen HEV-RNA positive Spender einen erhöhten Alanin-Aminotransferase-Wert auf?
- Sind Anti-HEV-Antikörper oder die ALT als Surrogatmarker für eine akute Infektion mit HEV und damit für ein Screening geeignet?
- Welche Größenordnung haben die HEV-RNA-Konzentrationen bei asymptomatischen Blutspendern?
- Wie häufig wurden in der Vergangenheit Patienten, die am UKSH Transfusionen erhalten haben, durch eine Transfusion mit HEV infiziert?
- Wie war der Verlauf dieser Infektionen und welche Konsequenzen können daraus für das Screeningprocedere gezogen werden?
- Lässt sich näherungsweise eine infektiöse Dosis ermitteln, unterhalb derer keine Transfusions-assoziierten HEV-Infektionen zu erwarten bzw. unwahrscheinlich sind?
- Sollte im Folgenden die Poolgröße, in der im Institut für Transfusionsmedizin getestet wird, verändert werden?

3 Material und Methoden

Am Institut für Transfusionsmedizin des UKSH werden an drei Standorten in Lübeck und in Kiel jährlich etwa 50.000 Spenden entnommen. Die Auswahl der Spender und deren Testung auf Infektionserreger erfolgt entsprechend den Vorgaben der „Richtlinien zur Gewinnung von Blut- und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapierichtlinie)“. [10] Eine Testung auf HEV-RNA ist erst seit Januar 2020 vorgeschrieben und wird im Institut für Transfusionsmedizin seit November 2019 durchgeführt. Dabei kommen verschiedene Arten der Blutspende in Frage, bei denen Blutprodukte mit unterschiedlichen Endzusammensetzungen entstehen. Die unterschiedlichen Spendearten und zeitlichen Intervalle sind relevant, da

1.) die letztendlich enthaltenen Plasmareste der einzelnen Produkte unterschiedlich sind

2.) unterschiedliche Spendeintervalle möglich sind. Hierdurch können mehrere virämische Spenden geleistet werden.

3.1 Mögliche Spendeformen

3.1.1 **Vollblutspende zur Fraktionierung**

Alle vom Blutspender gespendeten Blutbestandteile können zur Weiterverarbeitung verwendet werden:

- Erythrozyten → Erythrozytenkonzentrat (EK)
- Plasma → gefrorenes Frischplasma (engl. FFP)
- „Buffy coat“ → enthält Thrombozyten und Leukozyten. Von jeweils vier Spendern werden nach Zentrifugation und Filtration der „Buffy coats“ zur Entfernung der Leukozyten Thrombozyten gepoolt und so ein Pool-Thrombozytenkonzentrat (PTK) hergestellt.

Bei Einschränkungen der Spendetauglichkeit, durch beispielsweise Medikamenteneinnahme, kann es sein, dass nur noch die Erythrozyten und Thrombozyten oder sogar nur die Erythrozyten verwendet werden können.

Für eine Vollblutspende werden 450 bis maximal 500 ml Spenderblut in ein geschlossenes Mehrfachbeutelsystem mit geeignetem Stabilisator und Antikoagulans entsprechend der Zulassung entnommen. Zusätzlich werden Laboruntersuchungsproben entnommen.

In den primär aus Vollblut hergestellten EK befindet sich nach der Fraktionierung in die einzelnen Komponenten zum Ende des Herstellungsprozess je 1 ml EK 0,03 – 0,06 ml Restplasma der angegebenen Blutgruppe.

Die ebenfalls durch die Fraktionierung des Vollbluts entstehenden FFP enthalten am Ende je 1 ml Plasmaprodukt 0,76 – 0,83 ml gerinnungsaktives Humanplasma und die nach Pooling von vier Einzelproben entstandenen PTK enthalten 0,22 – 0,27 ml Plasma der angegebenen Blutgruppe je 1 ml. Dabei ist zu beachten, dass das Restplasma im PTK ebenfalls eine Mischung aus ungefähr gleichgroßen Teilen der vier verwendeten Spenden ist. Dies ist im Verlauf relevant, da so ein HEV-RNA positives Plasma nur ein Viertel des Restplasmavolumens ausmacht.

Der Zeitraum zwischen der Entnahme zweier Vollblutspenden soll im Regelfall 12 Wochen sein, muss aber mindestens 8 Wochen (Tag der Entnahme plus 55 Tage) betragen. Die innerhalb von 12 Monaten entnommene Blutmenge darf 2.000 ml bei Frauen und 3.000 ml bei Männern (jeweils zuzüglich Untersuchungsproben) nicht überschreiten.

3.1.2 **Präparative Hämapherese**

Dieses Verfahren ermöglicht die Auftrennung von Blut in verschiedene Bestandteile unmittelbar am Spender. Die nicht benötigten Blutbestandteile werden dem Spender sofort wieder zugeführt. Die präparative Hämapherese unterscheidet sich von der Entnahme einer Vollblutspende durch die Anwendung von Apheresegeräten mit extrakorporalem Kreislauf. Mithilfe verschiedener Separationsverfahren können so einzelne Blutbestandteile (in den Blutspendeeinrichtungen des UKSH handelt es sich dabei um Blutplasma und Thrombozyten) gewonnen werden.

Das maximale Bruttoentnahmevolumen pro Thrombozytapherese oder Plasmapherese beträgt 850 ml (einschließlich Antikoagulans, zuzüglich Untersuchungsproben).

Pro Plasmapherese können

• bei einem Körpergewicht von 50 kg bis ≤ 60 kg maximal 650 ml,

• bei einem Körpergewicht von mehr als 60 kg bis ≤ 70 kg maximal 750 ml und

• bei einem Körpergewicht von mehr als 70 kg maximal 850 ml entnommen werden (jeweils einschließlich Antikoagulans, zuzüglich Untersuchungsproben).

Ein Apherese-Plasma beinhaltet am Ende des Herstellungsprozess 0,83 – 0,93 ml gerinnungsaktives Humanplasma je 1 ml Plasmapheresekonzentrat und ein Apherese-Thrombozytenkonzentrat (ATK) 0,31 - 0,34 ml Plasma der angegebenen Blutgruppe je 1 ml.

Zwischen zwei Plasmapheresen müssen mindestens 2 spendefreie Kalendertage liegen und zwischen einer Plasmapherese und einer anderen präparativen Hämapherese bzw. Entnahme einer Vollblutspende sollten ebenfalls mindestens 2 spendefreie Kalendertage liegen.

Innerhalb von 12 Monaten sind bis zu 60 Plasmapheresen erlaubt. Die Obergrenze von 60 Plasmapheresen vermindert sich entsprechend bei Durchführung anderer Spendearten.

Der Abstand zwischen zwei Thrombozytapheresen soll mindestens 14 Tage betragen. Innerhalb von 12 Monaten sind bis zu 26 Thrombozytapheresen möglich. Das entnommene Plasmavolumen darf die Grenzwerte für Plasmapherese nicht überschreiten (s. o.). Es können auch Zyklen von täglichen Thrombozytapheresen über einen Zeitraum von bis zu 5 Tage durchgeführt werden ohne gleichzeitige Plasmapheresen. Nach einem 5-Tage-Zyklus ist bis zur nächsten Spende ein Abstand von mindestens 14 Tagen einzuhalten. Ein erneuter 5-Tage-Zyklus ist unter besonderer Beachtung der Thrombozytenwerte frühestens nach 3 Monaten möglich. [10]

Pro Spender und Spende können so maximal drei Produkte entstehen, die an Patienten ausgegeben werden können. Die Frequenz der Blutspenden ist dabei sehr unterschiedlich und davon abhängig, welche Spendeform der Spender gewählt hat.

Blutprodukt	Gesamtvolumen (ml)	enthaltenes Plasmavolumen (ml)
Erythrozytenkonzentrat	240 – 340	11 – 15
gefrorenes Frischplasma	250 – 350	200 – 280
Pool-Thrombozytenkonzentrat	220 – 300	14 – 19 je Spender (55 – 75 gesamt)
Apherese-Plasma	200 – 240	176 – 211
Apherese-Thrombozytenkonzentrat	200 – 450	65 – 146

Tabelle 2: Blutprodukte mit Gesamtvolumen und daraus berechnetem enthaltenen Plasmavolumen (Werte gerundet)

3.2 Material

3.2.1 NUP der Spender

Anlässlich jeder Spende zur Herstellung von Blutkomponenten zur allogenen Transfusion werden für Zwecke der Rückverfolgung entsprechend Votum 48 des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit und Soziale Sicherung mindestens 1,5 ml (am UKSH 2 x 1 ml) EDTA-Plasma abgetrennt, in zwei Aliquots aufgeteilt und bei ≤ −30°C in 96 Röhrchen-Racks mit Deckel aufbewahrt. [104]

3.2.2 EDTA-Plasma-Blutspenderpools

Vor Freigabe der entnommenen Blutspende eines jeden Spenders erfolgt aus zusätzlich bei der Spende abgenommenem Blut eine Testung auf transfusionsrelevante Infektionen.

Es werden dabei je 100 µl EDTA-Plasma von je 48 Blutspendern mittels des Pipettierautomaten Tecan freedom evo® gepoolt.

Insgesamt werden zwei identische Pools hergestellt. Aus dem ersten Pool erfolgen die vorgeschriebenen infektiologischen Testungen, unter anderem auf das Virusgenom von HIV, HBV und HCV. Der zweite Pool wird als sogenannter „Ersatzpool“ ebenfalls zur Qualitätssicherung und für eventuell zu einem späteren Zeitpunkt notwendige Nachuntersuchungen bei ≤ -30°C gesondert eingefroren.

3.2.3 **Nachuntersuchungsproben der Empfänger**

Am Campus Lübeck des UKSH werden analog zu den NUP der Blutspender auch von allen mit EK versorgten Patienten in der Regel 650 µl EDTA-Plasma (je nach vorhandener EDTA-Plasmamenge auch mehr oder weniger als 650 µl) für weitere oder im Nachhinein notwendige Untersuchungen in ein 96 Röhrchen-Rack mit Deckel pipettiert und bei ≤ −30°C gesondert aufbewahrt. Verwendet werden hierfür die EDTA-Röhrchen, die für die prätransfusionelle Diagnostik in die Blutbank des Instituts für Transfusionsmedizin, Campus Lübeck übersendet werden.

3.2.4 **Tests und Geräte**

Name	Firma
Tecan freedom evo	Tecan Trading AG, Männedorf, Schweiz
cobas 6800 System	Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland
cobas HEV-Test	
Anti-Hepatitis-E-Viren (HEV)-ELISA (IgG)	EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG, Lübeck, Deutschland
Anti-Hepatitis-E-Viren (HEV)-ELISA (IgM)	
Pipette Reference 10 – 100 µl	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Pipette Reference 100 – 1000 µl	
Schüttler Heidolph Reax 2000	Heidolph Instruments GmbH & CO. KG, Schwabach, Deutschland
Biotest-Washer	Bio-Rad Medical Diagnostik GmbH, Dreieich, Deutschland
Photometer HT-3	Anthos labtech instruments GmbH, Salzburg, Österreich

Tabelle 3: verwendete Tests und Geräte

3.2.5 **Verbrauchsmaterialien**

Bezeichnung	Hersteller
96 Röhrchen Rack mit Deckel, befüllt mit codierten Röhrchen 1,2 ml	LVL technologies GmbH & Co KG, Crailsheim, Deutschland
96 Röhrchen Rack mit Deckel, befüllt mit codierten Röhrchen 0,65 ml	
Reagiergefäß 1,5 ml	Sarstedt AG & Co KG, Nümbrecht, Deutschland
Pipettenspitzen 200 µl	
Pipettenspitzen 1000 µl	
Röhrchen 5 ml	Simport Scientific inc., Quebec, Kanada

Tabelle 4: verwendete Materialien

3.2.6 **EDV-Systeme**

Name	Hersteller
Eurolab-Laborsystem	IMP Computersysteme AG, Berlin, Deutschland
Krankenhausinformationssystem Orbis	Dedalus HealthCare GmbH, Bonn, Deutschland

Tabelle 5: verwendete EDV-Systeme

3.3 Methoden

3.3.1 **NAT zum Nachweis von HEV-RNA**

Den molekularbiologischen Nachweis von HEV-RNA im Untersuchungsmaterial ermöglicht unter anderem die Reverse Transkriptase-Polymerasekettenreaktion (engl. RT-PCR) als Unterform des NAT. Dabei muss zunächst die aus dem Probenmaterial extrahierte RNA in einem ersten Schritt durch das Enzym Reverse Transkriptase (RT) in die komplementäre DNA (engl. cDNA) umgeschrieben werden. [31] In dem sich anschließenden Prozess der eigentlichen Polymerasekettenraktion (engl. PCR) erfolgt die Amplifikation eines spezifischen Teils des Genoms. [75, 89]

Bei den RT-PCR-Verfahren wird weiter zwischen der konventionellen und der real-time RT-PCR unterschieden. [49] Im Vergleich zur konventionellen RT-PCR soll die real-time RT-PCR eine geringere Anfälligkeit für Kontaminationen während der Durchführung haben und eine höhere Sensitivität bieten. [49, 95]

Am Institut für Transfusionsmedizin wird der cobas® HEV-Test der Firma Roche entsprechend den Fach- und Gebrauchsinformationen verwendet.

Es handelt sich hierbei um einen qualitativen Test zum Nachweis von HEV-RNA. Eine Quantifizierung der in der Probe enthaltenen HEV-RNA in IU/ml Plasma erfolgt nicht. Nukleinsäureextraktion, Amplifikation und Detektion erfolgen auf den Analysegeräten der Fa. Roche vollautomatisch.

Dieser CE-markierte und vom Paul-Ehrlich-Institut für das Blutspenderscreening zugelassene Test basiert auf der real-time-PCR-Technologie und wird auf dem Gerät cobas 6800 durchgeführt. Die Auswertung der Messergebnisse erfolgt gemäß der Geräte-EDV.

3.3.2 **Spender-Rückverfolgungsverfahren**

Informationen über die spendende Person und Identität der Empfänger der Blutprodukte müssen für Zwecke der Rückverfolgung gemäß Transfusionsgesetz für 30 Jahre aufbewahrt werden. [11] Dies dient der Erkennung möglicherweise unerkannter Infektionsübertragungen durch Blutprodukte. Die Durchführung von Rückverfolgungsverfahren zur Erkennung derartiger Infektionen ist geregelt im Votum 48 des Arbeitskreises Blut. [104] Im Institut für Transfusionsmedizin wird für derartige Rückverfolgungsverfahren das laborinterne EDV-System IMP-Eurolab verwendet.

3.3.3 **Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) zum Nachweis HEV-spezifischer Antikörper**

Der ELISA bezeichnet ein immunologisches Nachweisverfahren, das an eine enzymatisch katalysierte Farbreaktion gekoppelt ist und auf dem Prinzip der Antigen-Antikörper-Bindung beruht.

Man unterscheidet dabei kompetitive ELISA von den nicht kompetitiven ELISA.

Im Falle des kompetitiven ELISA konkurrieren enzymmarkierte Antikörper und Proben-Antikörper um die Bindung an das Antigen und die am Ende gemessene Signalstärke ist daher umgekehrt proportional zur Menge an Antikörper aus der Probe.

In dieser Arbeit kam der nicht kompetitive ELISA in Form des „antibody capture assay“ zur Anwendung. Bei dieser Methode wird ein Antigen an eine feste Phase gekoppelt. Anschließend wird die Probe aufgetragen, in der die zu bestimmenden Antikörper enthalten sind. Nach der Auftragung der Probe binden nun nur die spezifischen Antikörper an das auf der Mikrotiterplatte immobilisierte Antigen. Durch die Zugabe eines enzymgekoppelten Sekundärantikörpers, der ebenfalls spezifisch an die nachzuweisenden Antikörper bindet, wird nach Zugabe eines enzymspezifischen Substrats eine Farbreaktion katalysiert. Es wird umso mehr Substrat vom Enzym umgesetzt, je mehr Antikörper an den Antigenen gebunden werden. Die Farbintensität ist also direkt proportional zur Antikörperkonzentration der untersuchten Probe und kann photometrisch ermittelt werden

In der nachfolgenden Abbildung wird das Prinzip der in dieser Arbeit durchgeführten Assays „Anti-Hepatitis-E-Viren (HEV)-ELISA (IgG)“ sowie des „Anti-Hepatitis-E-Viren (HEV)-ELISA (IgM)“ der Firma Euroimmun erläutert.

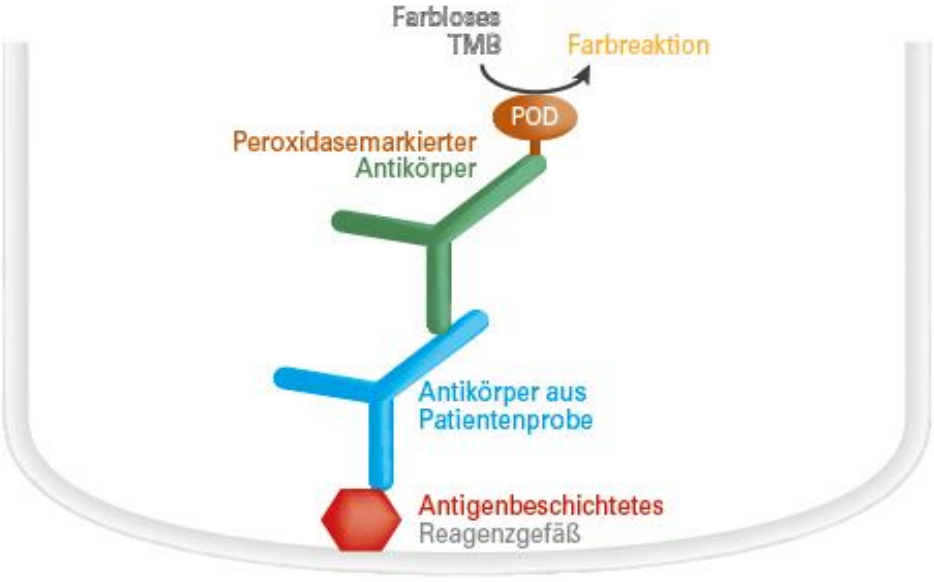

Abbildung 8: Prinzip des indirekten ELISAs. Rekombinante Antigene (rot) sind an die Festphase gebunden. Nach Inkubation mit einer verdünnten Patientenprobe binden sich Antikörper (blau) an die rekombinanten Antigene. Es folgen ein Waschschritt und die anschließende Zugabe enzymgekoppelter Anti-HEV Antikörper (grün). Nach erneutem Waschen wird Substrat hinzugegeben, das vom Enzym umgesetzt wird und zu einer Farbreaktion führt. [25]

3.3.4 **Gen-Sequenzierung**

Dieses Verfahren wird im Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin des Herz- und Diabeteszentrum NRW in Bad Oeynhausen durchgeführt. Hierfür wird die RNA des HEV durch ein modifiziertes nested RT-PCR Verfahren in der hypervariablen Region (HVR) und der open reading frame 1 (ORF1) Region unter Verwendung von Primern nach Vina-Rodriguez et al. amplifiziert. [106] Anschließend folgt die Sequenzierung unter Verwendung des BigDye Terminator Version 1.1 Cycle Sequencing Kit mit dem 3500 Genetic Analyzer DNA-Sequenzer (beide Applied Biosystems, Foster City, USA) wie von Dumke et al. beschrieben. [24]

3.3.5 **HEV-RNA-Quantifizierung**

Auch diese Methode wird im Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin des Herz- und Diabeteszentrum NRW in Bad Oeynhausen durchgeführt. Für die Messung der HEV-RNA-Konzentration erfolgt die automatisierte RNA/DNA Extraktion am AltoStar AM16 (Altona Diagnostic Technologies, Hamburg, Deutschland) aus einem Volumen von 500 µl (teilweise erfolgte eine Verdünnung der Proben zum Erreichen des Volumens) mit einem Elutionsvolumen von 50 µl. Anschließend wird die quantitative Amplifikation mit dem AltoStar HEV RT-PCR Kit (ebenfalls Altona Diagnostic Technologies, Hamburg, Deutschland) am Bio-Ras CFX96 System durchgeführt. Die testinterne Quantifizierung richtet sich dabei nach dem WHO Standard. [3]

3.3.6 **Bestimmung der ALT-Werte**

Hierfür wird im Institut für klinische Chemie des UKSH der ALTP2 (Alanine Aminotransferase acc. to IFCC II) Test der Firma Roche (Roche Diagnostice GmbH, Mannheim, Deutschland) vollautomatisiert durchgeführt.

Es handelt sich dabei um einen In-vitro-Test zur quantitativen Bestimmung von Alanin-Aminotransferase mit Pyridoxalphosphataktivierung in Humanserum und -plasma mit den Cobas c-Systemen. Als Normwert für diesen Test gilt am UKSH der Bereich < 35 U/l für Frauen und < 50 U/l für Männer.

3.4 Vorgehen

Im ersten Schritt wurden von den im Zeitraum von Mai bis Dezember 2017 und allen im Jahr 2018 am UKSH Campus Kiel und Campus Lübeck getätigten Blutspenden die Ersatzpools mittels oben beschriebenem NAT retrospektiv auf das Vorhandensein von HEV-RNA untersucht. Im genannten Zeitraum erfolgte im Institut für Transfusionsmedizin noch keine Blutspendertestung auf HEV-RNA, da diese noch nicht vorgeschrieben war.

Bei reaktivem Ergebnis des NAT für einen Ersatzpool wurde dieser weiter nach folgendem Prinzip aufgeschlüsselt, um die enthaltene HEV-RNA positive Einzelspende zu identifizieren.

Pools	SP8	SP9	SP10	SP11	SP12	SP13	SP14
SP1	P1	P8	P15	P22	P29	P36	P43
SP2	P2	P9	P16	P23	P30	P37	P44
SP3	P3	P10	P17	P24	P31	P38	P45
SP4	P4	P11	P18	P25	P32	P39	P46
SP5	P5	P12	P19	P26	P33	P40	P47
SP6	P6	P13	P20	P27	P34	P41	P48
SP7	P7	P14	P21	P28	P35	P42	
	SP - Sekundärpool		rot - positiver Sekundärpool in der NAT				
	P - Probe		Kreuzungspunkt - positive Einzelspende				

Abbildung 9: Prinzip der Aufschlüsselung eines HEV-RNA positiven Ersatzpools

Von den bis zu 48 Einzelproben des Ersatzpools wurden bis zu 7 Einzelproben aus den NUP der Spender in einem sogenannten Sekundärpool erneut mittels Pipettierautomat zusammengestellt, wobei jede NUP am Ende in zwei Sekundärpools enthalten war. Einmal in einem der Sekundärpools 1-7 (Zeile) und einmal in einem der Sekundärpools 8-14 (Spalte). So entstanden bis zu 14 Sekundärpools, von denen sich die Pools der Spalten und Zeilen immer an einem Punkt kreuzten (siehe Abbildung 9). War eine positive Einzelprobe vorhanden, führte dies nach der Messung so zu einem reaktiven Ergebnis zweier Sekundärpools. Der Punkt, an dem sich die beiden positiven Sekundärpools kreuzten, ermöglichte letztendlich die Identifizierung der positiven Einzelspende (in diesem Fall Probe 25).

Im Routinescreening der Blutspender erfolgt zur Plausibilitätskontrolle daraufhin noch die Untersuchung der mutmaßlich HEV-RNA positiven Probe (im Beispiel oben Probe Nr. 25) in Einzeltestung. Aus den 13 mutmaßlich negativen Proben (Nr. 4, 11, 18, 32, 39 und 46 sowie 22, 23, 24, 26, 27 und 28) wird ein sogenannter Tertiärpool erstellt und ebenfalls zur Plausibilitätskontrolle auf HEV-RNA untersucht. Im Falle einer tatsächlich HEV-RNA positiven Spenderprobe sollte Probe Nr. 25 dann ein reaktives Ergebnis aufweisen, die Untersuchung des Tertiärpools sollte negativ ausfallen.

Im Rahmen dieser Studie wurde jedoch auf die letztendliche Untersuchung im Einzelansatz und Tertiärpool verzichtet, um so mehr Material für weitere Untersuchungen wie beispielsweise ELISA, quantitativen HEV-NAT und ggf. eine Sequenzierung zur Verfügung zu haben.

Parallel wurde von den positiv getesteten Spendern die zurückliegend nächste Spende (innerhalb von sechs Monaten) herausgesucht und die dazugehörige NUP in Einzeltestung ebenfalls mittels NAT auf das Vorhandensein von HEV-RNA untersucht. Im Falle eines positiven Ergebnisses wurde dann weiter zurück in die Vergangenheit geschaut und die nächste NUP untersucht. Dieses Vorgehen wurde bis zum negativen Ausfall des NAT für eine NUP des jeweiligen Spenders weitergeführt.

In einem weiteren Schritt sollte bei allen Spendern eines HEV-RNA positiven Blutproduktes mittels ELISA überprüft werden, ob zum Zeitpunkt der Spende Antikörper gegen das HEV nachweisbar waren. Hierfür wurde erneut das EDTA-Plasma der NUP verwendet und auf das Vorhandensein von Anti-HEV-IgG- und IgM untersucht.

Beide Assays wurden gemäß der Anleitung des Herstellers durchgeführt. Die Berechnung einer sogenannten Ratio, bei der die Extinktionswerte der Kontrollen bzw. der Nachuntersuchungsproben in Bezug zum Extinktionswert eines bzw. des Kalibrators gesetzt wurden, erlaubte anschließend eine semiquantitative Abschätzung der Ergebnisse.

Folgende Formel diente zur Berechnung der Ratio des „Anti-Hepatitis-E-Viren (HEV)-ELISA (IgG)“:

$$\text{Ratio} = \frac{\text{Extinktion der Kontrolle bzw. Nachuntersuchungsprobe}}{\text{Extinktion des Kalibrators 3}}$$

Zur Berechnung der Ratio des „Anti-Hepatitis-E-Viren (HEV)-ELISA (IgM)“ war die Formel geringfügig anders, da hier lediglich mit einem Kalibrator gearbeitet wurde.

$$\text{Ratio} = \frac{\text{Extinktion der Kontrolle bzw. Nachuntersuchungsprobe}}{\text{Extinktion des Kalibrators}}$$

Zur Befundinterpretation beider ELISA wurden dann die vom Hersteller vorgeschlagenen Abstufungen übernommen:

Ratio < 0,8: negativ

Ratio ≤ 0,8 bis < 1,1: grenzwertig

Ratio ≥ 1,1: positiv

Aus den mittels NAT ermittelten HEV-RNA positiven Spenden konnte anhand der Auftragsnummer über das laborinterne EDV-System Eurolab der Spender namentlich identifiziert und das Spender-Rückverfolgungsverfahren durchgeführt werden.

Hierfür wurde der Name des identifizierten Blutspenders und das Datum der HEV-RNA positiven Spende in das laborinterne EDV-System IMP-Eurolab eingegeben. Auf diesem Wege konnte eingesehen werden, welche Produkte aus der betroffenen Spende hergestellt wurden. Zusätzlich wurden Name, Geburtsdatum und Station der Patienten angezeigt, die Blutprodukte aus dieser Spende erhielten.

Auf diesem Wege konnten Patienten der Campus Lübeck und Kiel des UKSH sowie von externen Ärzten identifiziert werden, die ein HEV-RNA positives Blutprodukt erhalten hatten.

Für ggf. benötigte klinische Informationen über die Empfänger der HEV-RNA positiven Blutprodukte wurde das Krankenhausinformationssystem Orbis genutzt. Mittels Suchfunktion und den bekannten krankenhausinternen Fallnummern konnten die Patientenakten eingesehen werden und so relevante Informationen zu Grunderkrankung, Transfusionsindikation, HEV-relevanten Laborparametern (in diesem Fall Aspartat-Aminotransferase (AST), ALT und gamma-Glutamyltransferase (γGT)) sowie weitere klinische Daten erhoben werden.

Aus den NUP der Lübecker Empfänger eines HEV-RNA positiven Blutproduktes wurden nun Proben so ausgewählt, dass NUP eines jeden Empfängers unmittelbar um den Zeitpunkt der Transfusion des betroffenen Blutproduktes herum und anschließend in regelmäßigen Abständen danach zur Testung und damit zur Detektion einer Infektion vorhanden waren.

Als nächstes wurden die NUP der Empfänger ebenfalls mittels NAT auf das Vorhandensein von HEV-RNA untersucht. Da in den meisten NUP keine ausreichende Plasmamenge mehr für das benötigte Mindestvolumen des Probenautomaten Cobas 6800 vorhanden war, wurden die NUP aus den Aufbewahrungsbehältern in 5 ml Röhrchen umgefüllt und jeweils mit Negativplasma auf 2 ml aufgefüllt.

Dabei waren Ausgangsvolumina der NUP von 470 – 700 µl (im Einzelfall weniger) vorhanden.

Bei positivem Ausfall dieses NAT wurde im letzten Schritt die elektronische Patientenakte des jeweiligen Patienten im Krankenhausinformationssystem Orbis auf Hinweise und Symptome einer HEV-Infektion überprüft sowie Grunderkrankung und die Transfusionsindikation herausgesucht.

Auch bei den Empfängern eines HEV-RNA positiven Blutproduktes wurden die NUP vom Zeitpunkt der Transfusion und den Verlaufsproben mittels ELISA auf das Vorhandensein von Anti-HEV-IgG untersucht und die Ratio, wie bereits beschrieben, berechnet.

Das Vorhandensein von Anti-HEV-IgM wurde bei den Empfängern nicht getestet.

Zum definitiven Nachweis einer stattgefundenen HEV-Übertragung mittels Gen-Sequenzierung wurden die betroffenen Spender- und Empfänger NUP auf Trockeneis in das Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin des Herz- und Diabeteszentrum NRW nach Bad Oeynhausen geschickt.

Von allen weiteren Spendern, von denen Empfänger nachuntersucht werden konnten, die aber negativ für HEV-RNA waren, wurden die NUP ebenfalls auf Trockeneis nach Bad Oeynhausen gesendet, um die HEV-RNA-Konzentration in den NUP zu bestimmen.

Die verbliebenen NUP der Spender, bei denen zwar HEV-RNA nachgewiesen werden konnte, jedoch keine Empfänger nachverfolgbar waren, wurden in das Institut für

klinische Chemie des UKSH in Lübeck geschickt, um die Höhe der ALT zum Zeitpunkt der Virämie zu bestimmen.

Der Versand der Spender NUP in andere Institute erfolgte, da die dort durchgeführten Methoden bzw. die dafür erforderlichen Geräte im Institut für Transfusionsmedizin nicht verfügbar waren

4 Ergebnisse

4.1 Geleistete Spenden im Betrachtungszeitraum

Am UKSH gibt es an drei Standorten die Möglichkeit Blut zu spenden:

- UKSH Blutspende CITTI-Park Kiel
- UKSH Blutspende CITTI-Park Lübeck
- UKSH Blutspendezentrum Lübeck

Im Zeitraum vom 26.05.2017 bis 31.12.2018 wurden in den drei Blutspendeeinrichtungen des UKSH 23.703 Blutspender registriert. Dabei handelte es sich um 6.143 Neuspender und 17.290 Dauerspender.

Insgesamt wurden 75.905 Spenden geleistet. Diese setzten sich zusammen aus 67.562 Spenden Vollblut (enthält alle weiteren Spendearten), 3.489 Plasmapheresespenden und 4.854 Thrombozytapheresen.

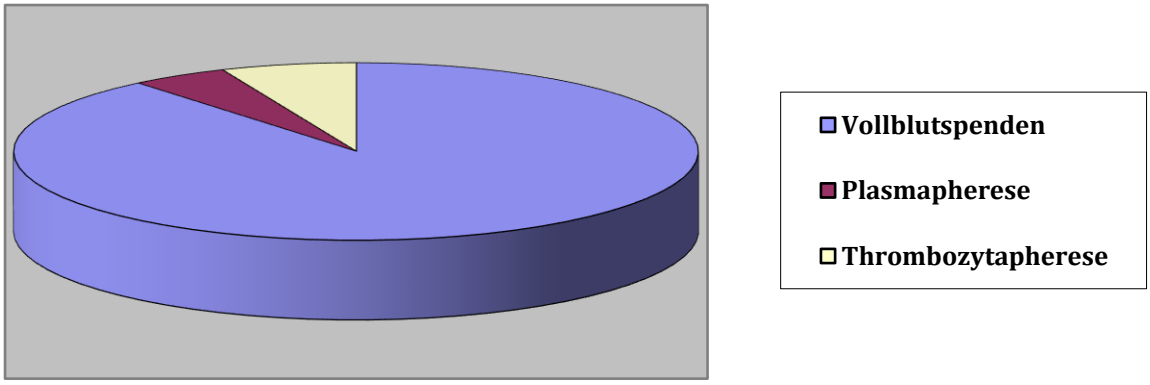

Abbildung 10: Verhältnis der geleisteten Spenden im Betrachtungszeitraum

4.2 Ergebnisse Spender

4.2.1 HEV-RNA positive Spenden

Aus allen getesteten Ersatzpools ließen sich nach Aufschlüsselung in Sekundärpools und weiter in Einzelproben 77 HEV-RNA positive Spenden ermitteln. Diese stammten von 76 Spendern. Davon waren 70 Dauerspender sowie 6 Neuspender.

In Einzeltestung untersuchte NUP dieser 76 Spender, die vor der positiven Spende entnommen worden waren, ergaben zusätzlich zu den 77 bereits ermittelten HEV-RNA positiven Spenden, weitere 8 HEV-RNA positive Spenden. Insgesamt konnten so 85 HEV-RNA positive Spenden von 76 Spendern ermittelt werden.

Dies entspricht 0,11% der geleisteten Blutspenden und 0,32% der Blutspender im Betrachtungszeitraum.

Von den 76 Blutspendern waren 59 männlichen Geschlechts (78%) und 17 weiblichen Geschlechts (22%).

Der jüngste Spender war zum Zeitpunkt seiner HEV-RNA positiven Spende 20 Jahre alt, der älteste Spender 69 Jahre alt (Median 38 Jahre).

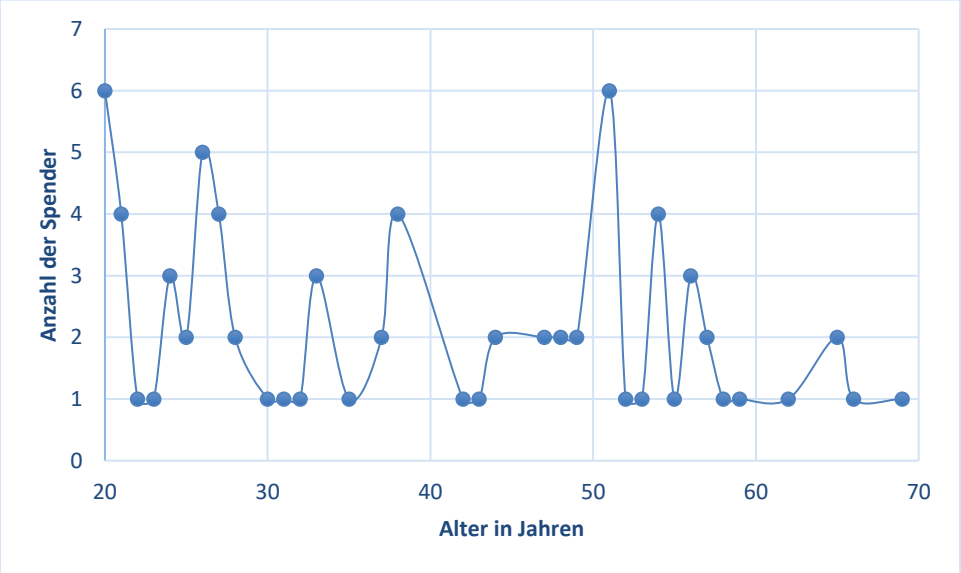

Abbildung 11: Alter (in Jahren) und Anzahl der Spender in diesem Alter

4.2.2 ELISA der Spender

Die insgesamt 85 HEV-positiven Blutspenden ergaben folgende Ergebnisse bei der Detektion von Anti-HEV-IgG sowie Anti-HEV-IgM

Spenden gesamt	Anti-HEV-IgG positiv	Anti-HEV-IgM positiv	Anti-HEV-IgG und IgM positiv	negativ
85	5	1	3	76

Abbildung 12: Ergebnisse ELISA der Blutspender

Da einige Spender mehrfach hintereinander HEV-RNA positive Spenden geleistet hatten, ergaben sich letztendlich 9 positive Spender mit Anti-HEV-Antikörpern. Davon waren fünf Spender (7%) ausschließlich positiv für Anti-HEV-IgG, lediglich ein Spender positiv für Anti-HEV-IgM (1%) und bei drei Spendern (4%) konnten beide Antiköper nachgewiesen werden. 67 Spender (88%) wiesen keinerlei Anti-HEV-Antikörper zum Zeitpunkt der potentiell infektiösen Spende auf.

4.2.3 NAT-Quantifizierung der Spender

Von insgesamt 26 Spenden, von denen Empfänger eines HEV-RNA positiven Blutprodukte nachuntersucht werden konnten, wurden 24 NUP zur Quantifizierung versendet. Davon konnten 23 erfolgreich quantifiziert werden. Die HEV-RNA-Konzentration in den NUP schwankte zwischen 10,9 IU/ml und 116.640 IU/ml. Von zwei weiteren Spenden stand nicht mehr ausreichend Material für eine Quantifizierung zur Verfügung.

Labor-ID der HEV-RNA positiven Spende	HEV-RNA Plasma (IU/ml)	Blutprodukt	HEV-RNA total im Produkt (IU) (min – max)	Anti-HEV-IgG	Anti-HEV-IgM
17101982	2.155	EK	23.704 - 32.324	negativ	negativ
17102149	11	EK	120 - 164	negativ	negativ
		PTK	153 - 207	negativ	negativ
17105748	593	PTK	8.302 – 11.267	negativ	negativ
17124264	4.698	PTK	65.778 – 89.270	negativ	negativ
17124565	116.640	PTK	1.632.960 – 2.216.160	negativ	negativ
17124909	1.256	EK	13.819 – 18.845	positiv	positiv
17127229	851	EK	9.360 – 12.764	negativ	negativ
		FFP	170.180 – 238.252	negativ	negativ
17129801	163	PTK	2.282 – 3.097	negativ	negativ
17132936	1.367	EK	15.039 – 20.508	negativ	negativ
17134187	132	EK	1.450 – 1.977	negativ	negativ
17138331	62.880	EK	691.680 – 943.200	negativ	negativ
17153547	10.890	EK	119.786 – 163.344	negativ	negativ
17154958	428	EK	4.710 – 6.423	negativ	negativ
17160390	65.456	PTK	916.384 – 1.243.664	negativ	negativ
17160658	1.017	EK	11.190 – 15.260	negativ	negativ

17160479	1.574	FFP	314.820 – 440.748	negativ	negativ
17172067	715	EK	7.867 – 10.728	negativ	negativ
17175963	332	EK	3.650 – 4.977	negativ	negativ
17184605	189	EK	2.083 – 2.841	negativ	negativ
17189949	31	ATK	2.028 – 4.555	negativ	negativ
17194344	3.322	ATK	215.904 – 484.954	negativ	negativ
17196787	1.689	EK	18.577 – 25.332	negativ	negativ
17205066	1.737	EK	19.110 – 26.060	negativ	negativ

Tabelle 6: Ergebnisse der HEV-RNA-Quantifizierung mit Berechnung der letztendlich im transfundierten Blutprodukt enthaltenen HEV-RNA (Werte gerundet, auffällige Werte in rot dargestellt)

4.2.4 **ALT-Bestimmung der Spender**

Aus insgesamt 54 NUP von HEV-RNA positiven Spenden konnte im Institut für klinische Chemie ein Wert für die ALT bestimmt werden. Dieser lag zwischen 5,2 und 215 U/l, wobei der Mittelwert sich bei 28,1 U/l befand und damit innerhalb der Normbereiche für Frauen (< 35 U/l) und Männer (< 50 U/l) lag. Die ALT-Werte aller weiblichen Blutspender lagen dabei ebenfalls innerhalb ihres Normbereichs. Bei den männlichen Blutspendern lagen vier Werte außerhalb des Normbereichs. Zwei davon waren mit 55,4 U/L und 55,9 U/l nur schwach erhöht, während die beiden weiteren Werte mit 179 U/l und 215 U/l deutlicher abwichen.

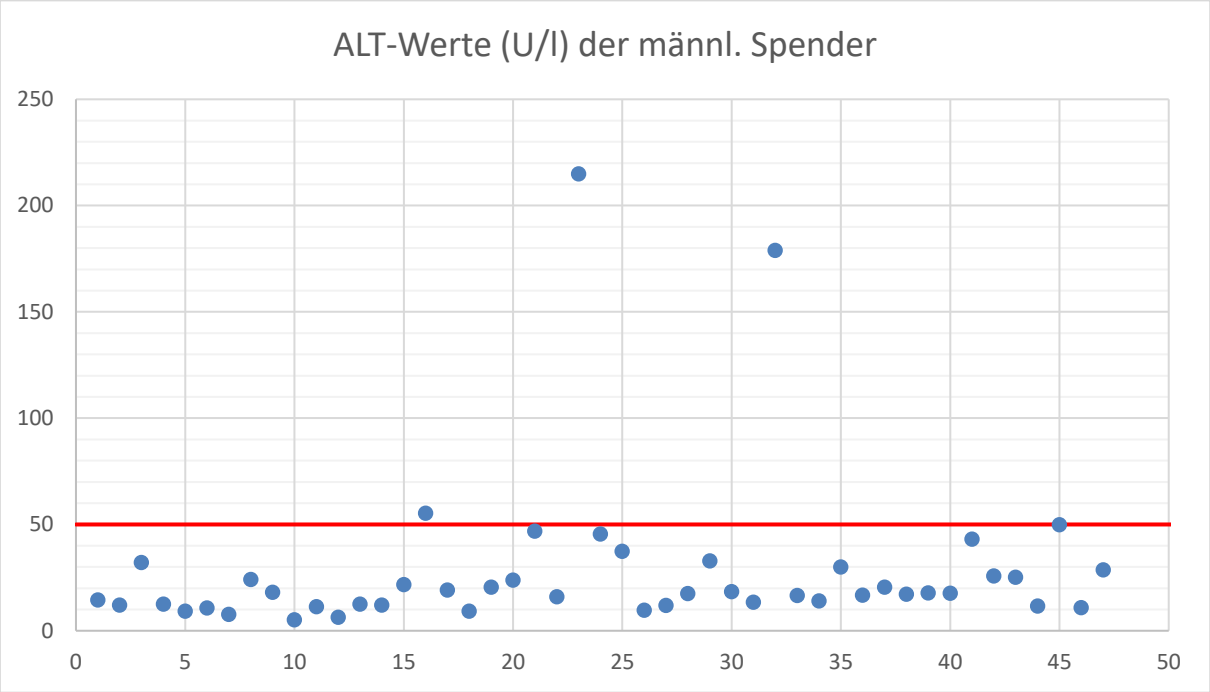

Abbildung 13: gemessene Werte der ALT der männl. Spender mit Cut off (rot, > 50 U/l positiv)

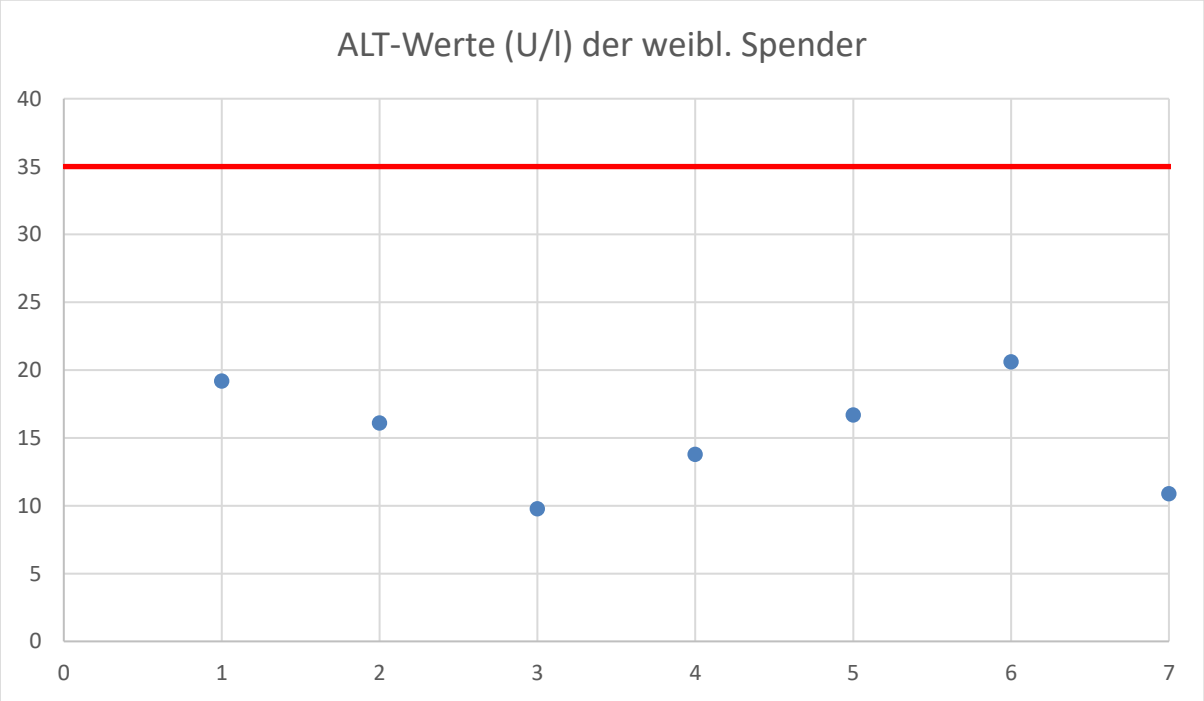

Abbildung 14: gemessene Werte der ALT der weibl. Spender mit Cut off (rot, > 35 U/l positiv)

4.3 Hergestellte Blutprodukte

Aus den 85 HEV-RNA positiven Spenden im Betrachtungszeitraum sind insgesamt 194 Blutprodukte entstanden.

Davon wurden 55 HEV-positive Plasmen an das Pharmaunternehmen CSL verkauft.

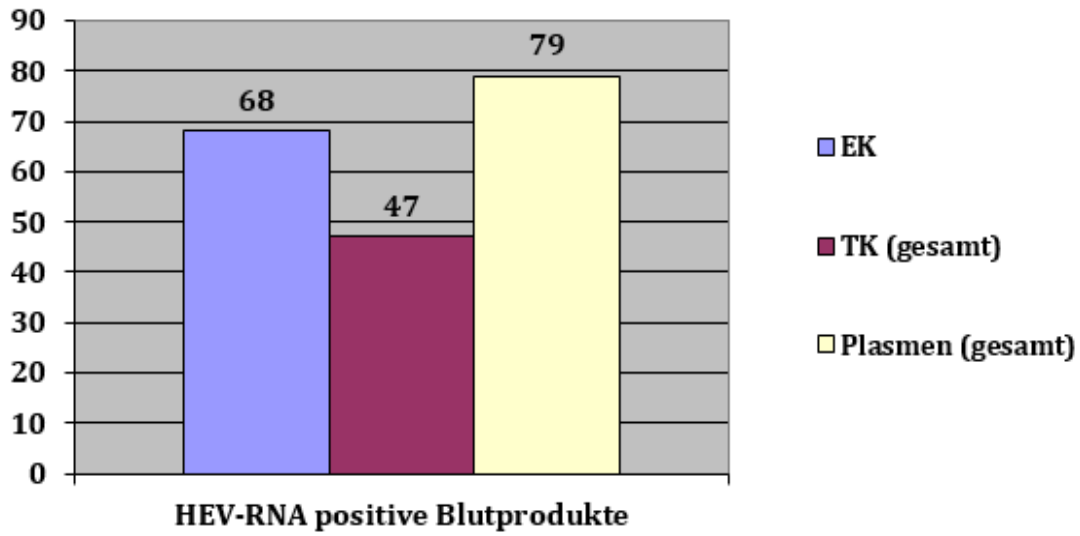

Abbildung 15: Anzahl der HEV-RNA positiven Blutprodukte nach Produktart

4.4 Empfänger von HEV-RNA positiven Blutprodukten

13(9)8 Empfänger erhielten ein HEV-RNA positives Produkt. 68 Empfänger erhielten ein EK, 24 Empfänger ein FFP und 46 Empfänger erhielten ein TK (ATK oder PTK). Einer dieser Empfänger erhielt zwei TKs im Abstand von 3 Wochen.

Von den 13(9)8 Empfängern wurden 93 Empfänger vom Campus Kiel versorgt, sodass keine NUP zur Verfügung standen.

4(6)5 Empfänger wurden vom Campus Lübeck versorgt. Nach Überprüfung der Verfügbarkeit der NUP konnten 29 Lübecker Empfänger mit mindestens einer weiteren NUP nach Transfusion ermittelt werden.

Insgesamt standen so für die weiteren Untersuchungen 121 NUP der Empfänger eines HEV-RNA positiven Blutproduktes zur Verfügung. Dabei lag die Mindestmenge von

NUP pro Empfänger bei einer Probe, die maximale Anzahl von NUP bei neun Proben. Die Anzahl der NUP pro Empfänger war wie folgt verteilt:

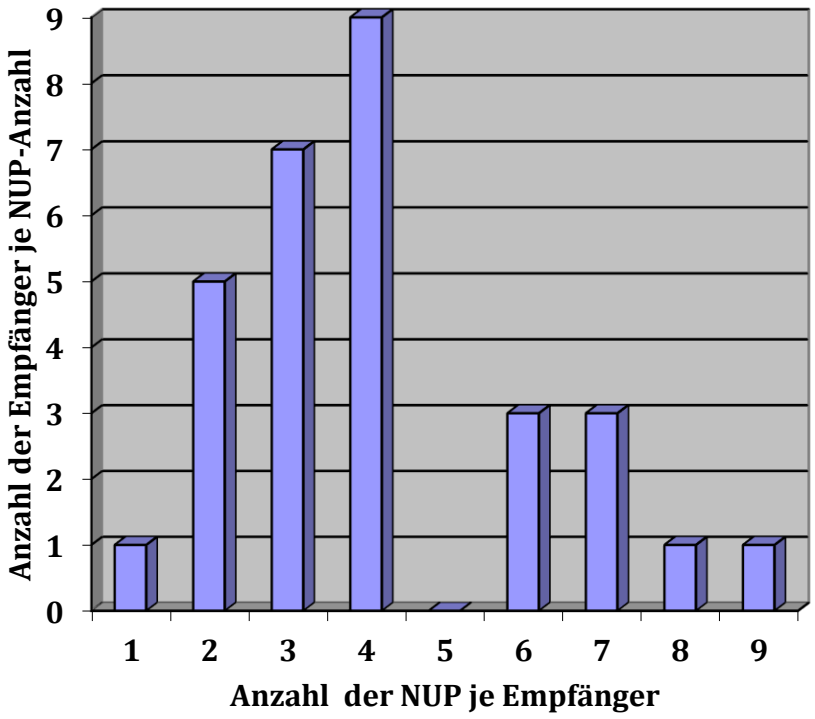

Abbildung 16: Anzahl der NUP der Empfänger

Zeitlich lagen die NUP bei Betrachtung aller Proben mindestens einen Tag vom Tag der Transfusion entfernt und maximal 967 Tage vom Tag der Transfusion entfernt (Median 26 Tage). Die erste verfügbare NUP lag dabei mindestens einen Tag und maximal 61 Tage vom Tag der Transfusion entfernt (Median 10 Tage). Die letzte verfügbare NUP lag im Minimum 6 Tage vom Tag der Transfusion entfernt und im Maximum 967 Tage (Median 51,5 Tage). Von einem Empfänger war lediglich eine NUP vom ersten Tag nach Transfusion verfügbar, von einem weiteren Empfänger nur eine NUP vom vierten Tag. Diese Empfänger wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen, da zu diesen sehr frühen Zeitpunkten kein sicherer Ausschluss einer HEV-Infektion mittels ELISA oder NAT möglich ist. Darüber hinaus gab es weitere 6 Empfänger mit NUP von bis zu maximal 14 Tagen nach dem Tag der Transfusion. Diese wurden bei der Auswertung mit einbezogen.

4.5 Ergebnisse Empfänger eines HEV-RNA positiven Blutproduktes

4.5.1 HEV-NAT der Empfänger

Bei der NAT-Untersuchung der NUP konnte lediglich in zwei Proben der Empfänger HEV-RNA detektiert werden.

4.5.2 ELISA der Empfänger

Mittels ELISA konnte in 28 der NUP Anti-HEV-IgG nachgewiesen werden. 93 NUP zeigten negative Ergebnisse. Nach Zuordnung der NUP zu den Empfängern konnten insgesamt neun Empfänger ermittelt werden, bei denen Anti-HEV-IgG nachgewiesen wurde.

Drei Empfänger wiesen schon zum Zeitpunkt der Transfusion des HEV-positiven Produktes Anti-HEV-IgG auf. Alle Drei hatten PTK erhalten.

Sechs Empfänger wiesen Anti-HEV-IgG erst nach Transfusion des HEV-positiven Produktes auf. Vier Empfänger davon hatten ein HEV-RNA positives EK transfundiert bekommen, ein Patient ein PTK und ein Patient ein ATK.

Bei vier dieser Empfänger war das Anti-HEV-IgG im weiteren Verlauf jedoch nicht mehr nachweisbar. Nur bei zwei Empfängern war Anti-HEV-IgG auch in der letzten verfügbaren NUP nachweisbar. Deren Entnahme erfolgte bei einem Empfänger an Tag 91 und beim zweiten Empfänger an Tag 559. Nur bei einem dieser Empfänger konnte zusätzlich HEV-RNA in der NAT nachgewiesen werden.

Der zweite Empfänger eines HEV-positiven Blutproduktes, der ein PTK erhielt und bei dem anschließend HEV-RNA im NAT nachgewiesen wurde, hatte in keiner seiner NUP Anti-HEV-Antikörper.

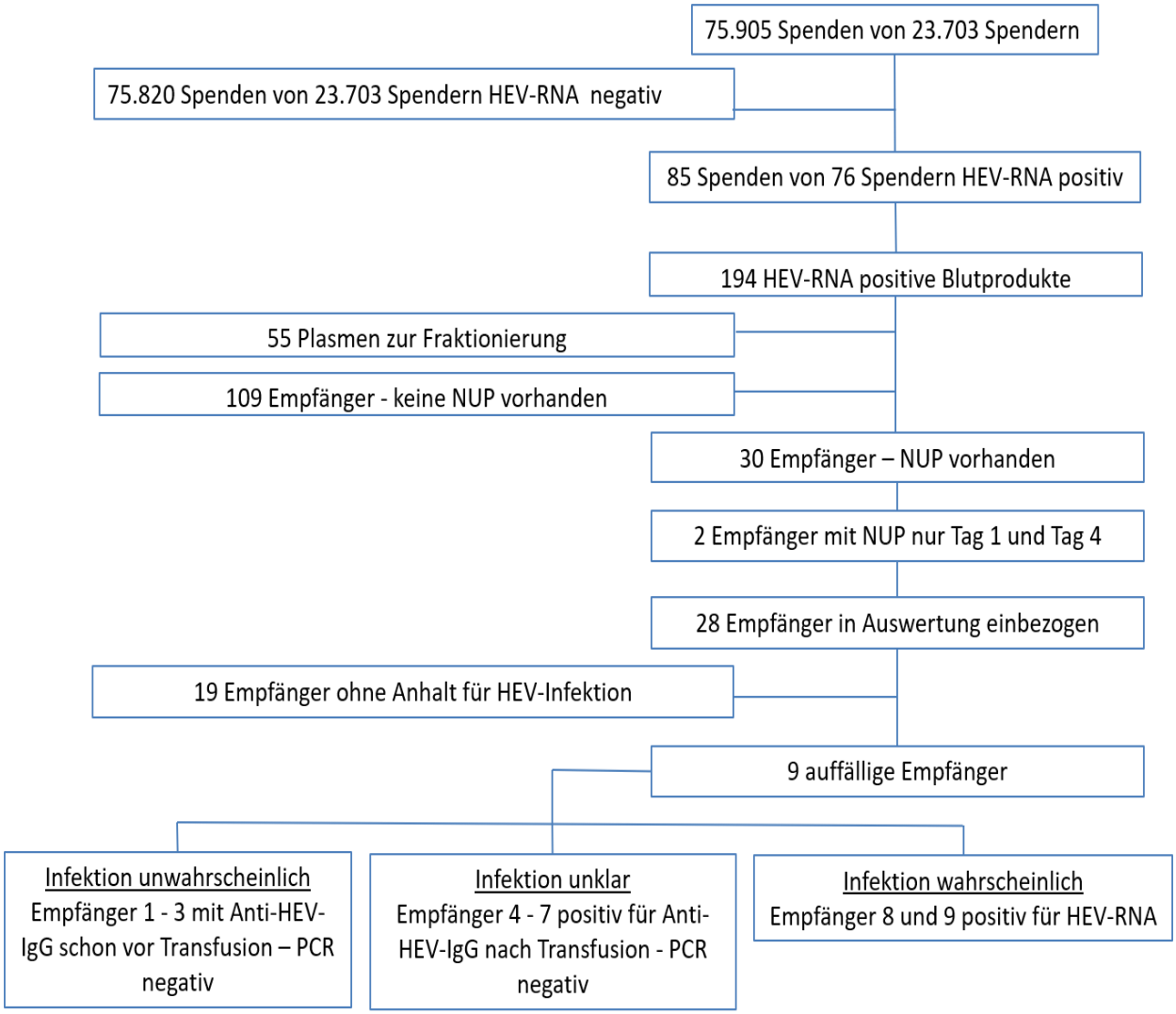

Abbildung 17: Flussdiagramm der Ergebnisse

4.5.3 Ergebnisse Empfänger 1-3 – Infektion unwahrscheinlich

Empfänger 1	**Verlauf (Tage)**						
Parameter	-3	+7	+13	+19	+26	+36	+62
Anti-HEV-IgG	grenz-wertig	grenz-wertig	grenz-wertig	grenz-wertig	positiv	positiv	positiv
HEV-NAT	nicht getestet	nicht getestet	negativ	negativ	negativ	negativ	nicht getestet

Tabelle 7: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 1 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt)

Empfänger 2	**Verlauf (Tage)**					
Parameter	+1	+9	+25	+35	+54	+57
Anti-HEV-IgG	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	grenzwertig
HEV-NAT	nicht getestet	nicht getestet	negativ	invalide	invalide	negativ

Tabelle 8: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 2 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt)

Empfänger 3	**Verlauf (Tage)**					
Parameter	-1	+8	+14	+21	+31	+40
Anti-HEV-IgG	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
HEV-NAT	nicht getestet	negativ	negativ	negativ	negativ	nicht getestet

Tabelle 9: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 3 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt)

4.5.4 Ergebnisse Empfänger 4-7 – Infektion unklar

Empfänger 4	Verlauf (Tage)						
Parameter	-3	+15	+17	+20	+39	+62	+104
Anti-HEV-IgG	negativ	negativ	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ
HEV-NAT	nicht getestet	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	nicht getestet

Tabelle 10: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 4 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt)

Empfänger 5	Verlauf (Tage)						
Parameter	-1	+9	+18	+27	+36	+44	+63
Anti-HEV-IgG	negativ	positiv	grenz-wertig	negativ	negativ	negativ	negativ
HEV-NAT	nicht getestet	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	nicht getestet

Tabelle 11: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 5 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt)

Empfänger 6	Verlauf (Tage)			
Parameter	0	+34	+77	+91
Anti-HEV-IgG	negativ	positiv	positiv	grenzwertig
HEV-NAT	nicht getestet	negativ	negativ	negativ

Tabelle 12: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 6 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt)

Empfänger 7	**Verlauf (Tage)**		
Parameter	0	+4	+6
Anti-HEV-IgG	negativ	positiv	negativ
HEV-NAT	nicht getestet	negativ	negativ

Tabelle 13: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 7 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt)

4.6 Sequenzierung der Spender – Empfänger – Paare

Es wurden zwei Spender-Empfänger-Paare zur Sequenzierung versendet. Bei einem der Paare wies jedoch der Spender eine zu geringe Menge HEV-RNA im Plasma auf, um eine Sequenzierung erfolgreich durchführen zu können. Bei dem zweiten Paar wiederum wies der Empfänger eine unzureichende Menge HEV-RNA im Plasma auf, sodass auch hier kein Ergebnis erzielt werden konnte.

4.7 Fallberichte der HEV-RNA positiven Empfänger

4.7.1 Ergebnisse Empfänger 8 – HEV-Infektion nach Transfusion eines HEV-RNA positiven EK

Hierbei handelte es sich um eine 69-jährige Patientin, bei der 03/2011 die Erstdiagnose Plattenepithelkarzinom im anterioren Mundboden gestellt wurde.

Therapie und Verlauf:

Es folgte die radikale chirurgische Tumorresektion und eine Mandibularekonstruktion mit Fibulatransplantat.

Parallel wurde eine Radiochemotherapie bis 11/2011 durchgeführt.

Ab 02/2018 musste dann auf Grund einer fortgeschrittenen Osteoradionekrose eine Teilresektion des Unterkiefers mit multiplen Folgeoperationen durchgeführt werden. In diesem Rahmen erfolgte am 19.02.2018 auch die Transfusion des HEV-RNA positiven EK mit der retrospektiv ermittelten HEV-RNA-Konzentration von 62.880 IU/ml. Unter Berücksichtigung der enthaltenen Plasmamenge des EK wurden der Patientin absolut zwischen 691.680 IU und 943.200 IU HEV-RNA transfundiert.

Für den Zeitraum vom 15.02.2018 bis 01.09.2018 standen von dieser Patientin insgesamt 4 Nachuntersuchungsproben zur Verfügung:

Empfänger 8	**Verlauf (Tage)**			
Parameter	- 4	+ 55	+ 84	+ 559
HEV-RNA	negativ	positiv	negativ	nicht getestet
Anti-HEV-IgG	negativ	negativ	positiv	positiv
Anti-HEV-IgG-Ratio	0,2	0,6	4,4	1,5
AST (U/l)	40 (< 35)	20	27	24
ALT (U/l)	31 (< 35)	11	18	18
γ-GT (U/l)	22 (<40)	< 7	nicht getestet	nicht getestet

Tabelle 14: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 8 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt, Normwerte in grün dargestellt)

- Anti-HEV-IgG zum Zeitpunkt der Transfusion negativ
- Anti-HEV-IgG an Tag 84 nach Transfusion positiv
- Anti-HEV-IgG bis Tag 559 nach Transfusion noch positiv (letzte vorhandene Nachuntersuchungsprobe)
- HEV-RNA an Tag 55 nach Transfusion nachweisbar
- HEV-RNA an Tag 84 nach Transfusion wieder negativ

Laborchemisch konnte eine schwankende und sehr moderate Erhöhung der Leberparameter AST/ALT vom 29.04.2018 – 14.06.2018 festgestellt werden. Dabei

lag das Maximum der AST bei 70 U/l (Normwert <35 U/l) sowie das Maximum der ALT bei 91 U/l (Normwert <35 U/l). Die Werte der γGT lagen jederzeit innerhalb der Norm.

Darüber hinaus ergaben sich retrospektiv klinisch keinerlei Anzeichen einer akuten HEV-Infektion.

4.7.2 Ergebnisse Empfänger 9 – HEV-Infektion nach Transfusion eines HEV-RNA positiven PTK

Bei der zweiten infizierten Person handelte es sich um eine 40-jährige Patientin, bei der 04/2017 die Erstdiagnose eines multiplen Myeloms in Form eines lateralen Orbitatumors rechts gestellt wurde.

Therapie und Verlauf:

Im Zeitraum von 05/2017 bis 07/2017 erhielt die Patientin eine Chemotherapie mit 4 Zyklen Bortezomib, Cyclophosphamid und Dexamethason.

Parallel erfolgte 06/2017 eine perkutane Radiatio der Schläfe rechts. Begleitend erhielt die Patientin an Tag 1 und Tag 8 zusätzlich Bortezomib

Am 28.07.2017 erfolgte die Mobilisierungschemotherapie mit einmaliger Gabe von 2.500 mg Cyclophosphamid mit anschließender Konditionierungstherapie über zwei Tage (Melphalan, jeweils 100 mg/m²) und eine autologe Stammzelltransplantation am 15.09.2017.

In der daraufhin folgenden Aplasiezeit entwickelte die Patientin eine Therapie-assoziierte Panzytopenie, in deren Rahmen die Transfusion des HEV-RNA positiven PTK mit der retrospektiv ermittelten HEV-RNA-Konzentration von 593 IU/ml erfolgte. Unter Berücksichtigung der enthaltenen Plasmamenge des PTK und der Tatsache, dass das Plasma der HEV-RNA positive Spende ein Viertel davon ausmachte, wurden der Patientin absolut zwischen 8.302 und 11.267 IU HEV-RNA transfundiert.

Empfänger 9	**Verlauf (Tage)**		
Parameter	0	+ 45	+ 52
HEV-RNA	nicht getestet	positiv	positiv
Anti-HEV-IgG	nicht getestet	negativ	negativ
Anti-HEV-IgG-Ratio	nicht bestimmt	0,2	0,1
AST (U/l)	18 (< 35)	26	21
ALT (U/l)	33 (< 35)	38	31
γ-GT (U/l)	43 (< 40)	46	190

Tabelle 15: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 9 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt, Normwerte in grün dargestellt)

- Anti-HEV-IgG zum Zeitpunkt der Transfusion nicht bestimmt (kein Probenmaterial vorhanden)
- Anti-HEV-IgG an Tag 45 und 52 nach Transfusion negativ
- HEV-RNA an Tag 45 und 52 nach Transfusion nachweisbar

Laborchemisch zeigten sich bei dieser Patientin die γGT und ALT kurz nach Transfusion des HEV-RNA positiven TK moderat erhöht und dann ab 11/2017 normwertig.

Ab 12/2017 bis Ende 01/2018 zeigte sich dann eine Erhöhung der γGT und ALT auf maximal 421 IU/642 IU (Norm < 40 IU/ <35 IU). Eine Normalisierung stellte sich ab 02/2018 ein.

Bei dieser Patientin zeigte sich die AST durchgehend normwertig

Auch hier ergaben sich retrospektiv darüber hinaus klinisch keinerlei Anzeichen einer akuten HEV-Infektion.

5 Diskussion

5.1 Wie ist die Prävalenz von HEV-RNA?

Mit Hilfe dieser Arbeit konnten in einem ersten Schritt in 77 von 75.905 Blutspenden mittels Pooltestung HEV-RNA nachgewiesen werden. Da dann von diesen HEV-RNA positiv getesteten Spenden retrospektiv die jeweils nächste zurückliegende Spende anhand deren NUP (soweit vorhanden) in Einzeltestung auf HEV-RNA untersucht wurde, konnten weitere 8 HEV-RNA positive Spenden ermittelt werden. Dies bedeutet jedoch, dass diese Spenden zuvor in der Pooltestung nicht detektiert wurden. Betrachtet man die Prävalenz von HEV-RNA bei Blutspendern wird diese in den meisten Arbeiten, die sich mit der Prävalenz beschäftigten, berechnet, indem die Gesamtzahl aller untersuchten Proben durch die Anzahl der HEV-RNA positiv getesteten Proben geteilt wird. Bei der großen Anzahl von getesteten Blutspenden in dieser Arbeit verändert sich die Prävalenz bei 77 oder 85 HEV-RNA positiven Spenden zwar nur in der zweiten Nachkommastelle und bleibt gerundet bei 0,1%. Es bleibt aber die Vermutung, dass bei einer generellen Einzeltestung anstatt in 48er-Pools mehr HEV-RNA positive Spenden detektiert worden wären.

Im internationalen Vergleich der ermittelten Prävalenzen von HEV-RNA bei Blutspendern zeigen sich ebenfalls deutlich abweichende Werte.

Anhand der folgenden Tabelle sollte eine übersichtliche Vergleichbarkeit der Daten verschiedener europäischer Länder ermöglicht werden.

Land	Proben-anzahl	Testung	Nachweis-grenze (95%)	HEV-RNA positive Proben	HEV-RNA Prävalenz und Anzahl getestete Spenden je positiver Spende	Quelle
Nieder-lande	59.474	96er Pool 192 Pool Einzel-testung	10,3 IU/ml	45 + 33 gesamt 78	0,1% und 1:732	[45]
Deutsch-land	16.125	48er Pool	4,66 IU/ml	13	0,08 % und 1:1240	[109]
Frankreich	53.234	96er Pool	23 IU/ml	24	0,05 % und 1:2218	[33]
Dänemark	25.637	Einzel-testung	7,9 IU/ml	11	0,04 % und 1:2331	[42]
England	225.000	24er Pool	22 IU/ml	79	0,04 % und 1:2848	[44]
Spanien	9.998	Einzel-testung	7,9 IU/ml	3	0,03 % und 1:3333	[92]
Schweiz	541.349	12er Pool – 24er Pool	18,6 (Cobas 6800) bzw. 7,9 (Panther Procleix) IU/ml	125	0,02 % Und 1:4331	[93]
Schweden	95.835	96er Pool	250 IU/ml	12	0,01 % und 1:7986	[4]
Österreich	58.915	96er Pool	11,6 IU/ml	7	0,01 % und 1:8416	[30]
Deutsch-land	75.905	48er Pool	18,6 IU/ml	85	0,1% und 1:893	diese Arbeit

Tabelle 16: internationaler Vergleich der HEV-RNA Prävalenz

Die anhand der Daten dieser Arbeit berechnete Prävalenz von 0,1% und einer HEV-RNA positiven Spende auf 893 getesteten Spenden ist im internationalen Vergleich relativ hoch. Sie variiert international von 0,1% und 1:732 (Niederlande) über 0,04% und 1:2331 (Dänemark) bis hin zu 0,01% und 1:8416 (Österreich). Lediglich in den Niederlanden wurden damit von Hogema et al. ähnlich hohe Werte berechnet wie in

dieser Arbeit. [45] Dies ist der Fall obwohl hier mit einer anderen Poolgröße gearbeitet wurde. Es kamen 96er und 192er Pools zum Einsatz, um HEV-RNA positive Einzelspenden zu identifizieren. Dann wurde jedoch ähnlich der Vorgehensweise dieser Arbeit aus bis zu 60 Tage vor und nach der im ersten Schritt HEV-RNA positiven Einzelspende gewonnenen NUP NAT-Einzeltestungen auf HEV-RNA durchgeführt. In der Pooltestung wurden so 45 HEV-positive Proben detektiert und erst durch die weitere Untersuchung mittels Einzeltestung wurden mit weiteren 33 HEV-RNA positiven Proben ähnliche Werte wie in dieser Arbeit erreicht. Dies könnte zumindest die niedrigeren Prävalenzen der Arbeiten erklären, in denen diese nur anhand von im Pool ermittelten HEV-RNA positiven Spenden berechnet wurden

So ergibt sich beispielsweise im Vergleich mit Werten aus dem eigenen Land von Vollmer et al. trotz einer theoretisch höheren Sensitivität des genutzten Tests von 4,66IU/ml und identischer Poolgröße eine niedrigere Prävalenz als in dieser Arbeit. [107]

Auch in der Arbeit von Harritshoj, in der mit Einzeltestungen gearbeitet wurde [42], findet sich eine deutlich niedrigere HEV-RNA-Prävalenz als in dieser Studie aus dem direkt angrenzenden deutschen Bundesland Schleswig-Holstein, welches kulturell und kulinarisch Dänemark relativ ähnlich sein sollte. Die Sammlung der zugrundeliegenden Spendeproben erfolgte jedoch lediglich einen Monat im Winter (12.01. – 13.02. 2015), was ggf. einen saisonalen Einfluss vermuten ließe. So zeigten Rivero-Juarez et al. in einer spanischen Studie tatsächlich eine mutmaßliche Korrelation der saisonalen Wildschweinjagd mit der HEV-Prävalenz. Sie stellten die Vermutung auf, dass die Prävalenz möglicherweise von der Jahreszeit abhängt, in der das Tier gejagt wird. Infolgedessen könnte das potenzielle Risiko einer zoonotischen Übertragung schwanken. [88] Aufgrund der unterschiedlichen geographischen Lage und durchaus abweichenden Ernährungsgewohnheiten scheint dieser Aspekt jedoch eher nicht für die niedrige HEV-RNA Konzentration bei dänischen Blutspendern verantwortlich zu sein.

Mögliche weitere Erklärungen für die breit gefächerten Ergebnisse sind die Unterschiede bezüglich Art sowie Sensitivität und Durchführung des genutzten Tests, wie in der Tabelle angegebenen.

Das breite Spektrum der beobachteten Prävalenz lässt daher vermuten, dass verschiedene und international in ihrer Ausprägung durchaus variierende Risikofaktoren für eine Infektion mit HEV existieren. Studien zeigen, dass sowohl das Alter [66], der

ausgeübte Beruf [72] und der Verzehr von Lebensmitteln [14] die Prävalenz beeinflussen.

Der Verzehr von ungekochten Schweineleberwürsten, die häufig mit HEV-RNA kontaminiert sind, ist einer der Wege, über die sich Menschen in Südfrankreich mit HEV infizieren. Dies führt dort zu hohen HEV-Prävalenzen. Ebenso der dort übliche Verzehr von Schalentieren. Diese fungieren als HEV-Reservoir und führen zu einer Infektion, wenn sie häufig roh oder leicht gekocht verzehrt werden. [68] Weiterhin wird in einer deutschen Studie der Verzehr von Innereien mit Hepatitis E in Verbindung gebracht. [113]

5.2 Seroprävalenz von HEV

Von den HEV-RNA positiven Spendern (insgesamt 76, da einige Spender mehrfach hintereinander HEV-RNA positive Spenden geleistet hatten) wurden zusätzlich die virusspezifischen Antikörper bestimmt und lagen mit einem von 76 (1,3%) ausschließlich für Anti-HEV-IgM positiven Spender sehr niedrig. Wie in Abbildung 5 zu sehen ist, ist bei einer symptomatischen Infektion theoretisch das Anti-HEV-IgM der erste viruspezifische Antikörper. Er sollte etwas verzögert zur Nachweisbarkeit von HEV im Blut ab Woche 4 nach Infektion und dann noch eine Weile zeitgleich mit der HEV-Virämie detektierbar sein. Dies kann anhand dieser Studie nicht bestätigt werden, deckt sich jedoch mit den Ergebnissen von Plümers et al., die aktuell im Jahr 2024 ebenfalls beschrieb, dass sich nicht regelhaft bei jeder HEV-Virämie auch Anti-HEV-IgM nachweisen lässt. [83]

Auch das Anti-HEV-IgG, welches bei symptomatischen Infektionen ab Woche 5 nachweisbar sein soll, konnte in dieser Arbeit lediglich bei 5 von 76 (6,6 %) Spendern nachgewiesen werden. Dieser Wert ähnelt ebenfalls dem Wert von 8,5% von Plümers et al. [83]

Weiterhin wiesen nur 3 Spender (3,9%) zeitgleich Anti-HEV-IgM und Anti-HEV-IgG auf.

Ein Vergleich mit der allgemeinen internationalen Seroprävalenz ist anhand der hier erhobenen Daten jedoch nicht möglich, da nur die bereits im Vorfeld HEV-RNA positiv

getesteten Blutspender untersucht wurden und es sich somit um eine selektierte Gruppe handelt, die nicht verglichen werden kann.

5.3 Weisen HEV-RNA positive Spender einen erhöhten ALT-Wert auf?

Aus insgesamt 54 Blutspenden wurde aus der NUP zum Zeitpunkt der virämischen Spende der Wert der ALT bestimmt, um eine Aussage treffen zu können, ob dieser Wert erhöht war und somit ggf. als Surrogatmarker für die akute HEV-Infektion geeignet gewesen wäre. Die ALT wurde bereits früher als Surrogatmarker insbesondere zur Erkennung von HCV-Infektionen im Blutspendewesen eingesetzt. Aufgrund einer schlechten Spezifität und dem dadurch unnötigen Verlust von Blutspendern wurde die ALT-Messung, nach der Empfehlung des Arbeitskreises Blut über das Votum 30 [105] im Jahre 2004, nach und nach aufgegeben, zumal sensitivere Methoden zum Nachweis von HCV (NAT) verfügbar waren.

Von allen getesteten Spenden wiesen auch lediglich vier Spenden ALT-Werte oberhalb des Referenzbereiches auf. Zwei davon lagen mit 55,4 U/l und 55,9 U/l knapp oberhalb des Referenzbereiches von <50 U/l. Eine Spende wies einen Wert von 179 U/l auf. Der höchste gemessene Wert lag bei 215 U/l.

5.4 Sind Anti-HEV-Antikörper oder die ALT als Surrogatmarker für eine akute Infektion mit HEV und damit für ein Screening geeignet?

Es wurden sowohl in der Arbeit von Plümers et al. [83] als auch in dieser Arbeit asymptomatische Blutspender untersucht, sodass die Vermutung entsteht, dass asymptomatische Infektionen einen abweichenden serologischen Verlauf nehmen.

Dieser Vermutung wurde bereits 2011 von Vollmer et al. nachgegangen, indem gezielt der serologische Verlauf von 10 asymptomatischen Blutspendern untersucht wurde, bei denen im Vorfeld HEV-RNA im Blut festgestellt werden konnte. Diesen verglichen

sie dann mit einer japanischen Studie, in der der serologische Verlauf von 15 Patienten mit symptomatischer HEV-Infektion dargestellt wurde. Dabei war der Verlauf der Virämie sowohl in der asymptomatischen als auch in der symptomatischen Gruppe vergleichbar. Anders jedoch waren in der symptomatischen Gruppe Anti-HEV-IgM und Anti-HEV-IgG parallel zur Virämie nachweisbar. Dies könnte darauf hindeuten, dass bei asymptomatischen Verläufen die Virämie früher auftritt und so nicht gleichzeitig Anti-HEV-Antikörper nachgewiesen werden können. [108] Dies würde durch die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigt werden und einen Hinweis darauf geben, dass der ausschließliche Nachweis von Anti-HEV-Antikörpern nicht geeignet ist, um ein Screening auf HEV durchzuführen.

Außerdem weisen zahlreiche Spender nach abgelaufener HEV-Infektion Antikörper gegen HEV auf. Die Rate schwankt in der Spenderpopulation des UKSH, je nach Sensitivität des verwendeten Tests, zwischen 6,8% und 19%. [50, 52] Es würden also Spender unnötig ausgeschlossen, sofern keine weitere, logistisch und finanziell aufwändige weitere Abklärung mittels NAT erfolgt.

Die Werte der ALT-Messungen decken sich mit Ergebnissen, die Vollmer et al. im Jahr 2012 publizierten. [109] Dabei wurden zuerst 16.125 Blutspender mittels NAT auf das Vorhandensein von HEV-RNA untersucht und anschließend bei positivem Ausfall der NAT deren ALT-Wert bestimmt. Zusätzlich wurden 136 Blutspender mit erhöhten ALT-Werten (> 100 U/l) auf HEV-RNA getestet. Ähnlich dieser Arbeit wies trotz zum Teil hoher HEV-RNA Konzentrationen lediglich einer der identifizierten HEV-RNA positiven Spender einen leicht erhöhte ALT-Werte von 103 U/Liter auf. Darüber hinaus war keiner der Spender mit erhöhten ALT-Werten positiv für HEV-RNA.

Auch Baylis et al. erhielten in einer Studie aus dem Jahr 2012 ähnliche Werte, als nur bei 3 von 12 HEV-RNA positiv getesteten Spenden leicht erhöhte ALT-Werte (80–110 IU/l) bestimmt werden konnten. [4]

Somit deuten die Daten klar darauf hin, dass die ALT-Werte keinen Surrogatmarker zur Detektion HEV-RNA positiver Spender darstellen. Entsprechend sind sie, genauso wie der ausschließliche Nachweis von Anti-HEV-Antikörpern, nicht für die Durchführung eines Screenings geeignet.

5.5 Welche Größenordnung haben die HEV-RNA-Konzentrationen bei asymptomatischen Blutspendern?

Die Bestimmung der HEV-RNA-Konzentration wurde in dieser Arbeit bei allen Spendern durchgeführt, von denen Empfänger nachuntersucht werden konnten. Es ergaben sich sehr unterschiedliche Werte, die von 10,9 bis zu knapp 11,7x10^4 IU/ml variierten. Sie lagen jedoch in einem ähnlichen Bereich wie bereits berichtete Werte von deutschen Blutspendern (18,6 – 2,19x10^5 IU/ml), französischen Blutspendern (468 – 5,2x10^6 IU/ml) und niederländischen Blutspendern (<20 – 330x10^6 IU/ml). [33, 45, 108]

Deutlich darunter lagen die beschriebenen HEV-RNA-Konzentrationen nach Harritshoj et al. Diese bewegten sich zwischen „nicht bestimmbar“ und 920 IU/ml. [42]

Ein Vergleich der HEV-RNA-Konzentrationen stellt sich jedoch mit einem Blick auf die zugrundeliegenden Quantifizierungsverfahren als schwierig dar. So wurden in drei der erwähnten Arbeiten von Gallian et al., Hogema et al. und Harritshoj et al. die Ergebnisse anhand unterschiedlicher Inhouse-Methoden ermittelt, die nicht routinemäßig verwendet werden und aufgrund ihrer Durchführung anfälliger für Fehler sind. [33, 42, 45] In dieser Arbeit wurde die quantitative Amplifikation jedoch mit dem AltoStar HEV RT-NAT Kit durchgeführt, bei dem es sich um einen CE-zertifizierten, kommerziell erhältlichen Test handelt. Dieser wird immer gleichbleibend gemäß den Fach- und Gebrauchsinformationen des Herstellers durchgeführt. Lediglich Vollmer et al. verwendeten ebenfalls einen solchen Routinetest, sodass diese Werte am besten vergleichbar sind. [108]

5.6 Wie häufig wurden in der Vergangenheit Patienten, die am UKSH Transfusionen erhalten haben, durch eine Transfusion mit HEV infiziert?

Von den insgesamt 85 HEV-RNA positiven Spenden und daraus entstandenen 194 HEV-RNA positiven Blutprodukten wurden am UKSH 139 Blutprodukte transfundiert. Davon wiederum konnten 27 Empfänger retrospektiv nachuntersucht werden.

Anti-HEV-IgG konnten bei 8 der Empfänger nachgewiesen werden. Drei davon hatten diese jedoch bereits in der Ausgangsprobe zum Zeitpunkt der Transfusion, sodass von einer weiter zurückliegenden Immunisierung durch HEV-RNA ausgegangen werden kann. Fünf weitere Empfänger wiesen nur vorübergehen Anti-HEV-Antikörper auf, ohne jemals positiv für HEV-RNA zu sein. In diesem Zusammenhang ist besonders Empfänger 6 zu betrachten, dessen Verlauf in Bezug auf das Anti-HEV-IgG von den anderen Empfängern mit unklarem Infektionsstatus abweicht. So ließ sich nach initial negativer NUP im Verlauf in mehreren NUP Anti-HEV-IgG nachweisen. Dies würde zum serologischen Verlauf einer HEV-Infektion passen, da sich jedoch in keiner der NUP HEV-RNA nachweisen ließ, müssen andere Ursachen für den Nachweis in Betracht gezogen werden. Eine mögliche Erklärung könnte im Falle von Empfänger 6 der passive Antikörpertransfer durch andere Blutprodukte sein, da die Empfänger aufgrund ihrer Grunderkrankung parallel zu der Transfusion des HEV-RNA positiven Blutproduktes z.T. mehrere weitere Blutprodukte transfundiert bekamen. Auch unspezifische oder falsch positive Reaktion bei den Empfängern mit nur einer Anti-HEV Antikörper positiven Probe sind denkbar. Dies käme vor allem bei Empfänger 4 und 5 in Frage, die jeweils nur eine bzw. zwei Anti-HEV-IgG positive NUP aufwiesen und keinerlei weitere Auffälligkeiten zeigten.

Bei lediglich zwei (7,1 %) der nachuntersuchten Empfänger konnte HEV-RNA nachgewiesen werden, welche wahrscheinlich durch die Transfusion übertragen wurde. Eine Sequenzierung zur Untermauerung dieser Vermutung konnte leider aufgrund einer zu geringen HEV-RNA-Konzentration in den Spender- oder Empfängerproben nicht durchgeführt werden.

Bei 5 Empfängern lagen NUP lediglich bis maximal Tag 9 nach Tag der Transfusion des HEV-RNA positiven Blutproduktes vor. Da sich eine Virämie jedoch erst ungefähr 2 Wochen nach der Infektion nachweisen lässt und ihren Höhepunkt im weiteren Verlauf erreicht, gegebenenfalls vor dem Auftreten erster Symptome, kann anhand dieser NUP keine sichere Aussage über eine stattgefundene Infektion getätigt werden.

Bei weiteren drei Empfängern gab es NUP bis Tag 14 nach Tag der Transfusion des HEV-RNA positiven Blutproduktes. Zu diesem Zeitpunkt sollte zwar schon HEV-RNA im Blut nachweisbar sein, jedoch ist auch hier fraglich, ob eine Virämie nicht vielleicht erst später aufgetreten ist.

Damit kann bei insgesamt 8 weiteren Empfängern HEV-RNA positiver Blutprodukte eine Infektion nicht sicher ausgeschlossen werden.

Dieses Ergebnis zeigt einen Kontrast zu der Arbeit von Hewitt et al., in der bei einem ähnlichen Untersuchungsverfahren 18 (42%) von 43 nachuntersuchten Empfängern eines HEV-RNA positiven Blutproduktes Anzeichen einer HEV-Infektion zeigten. [44] Betrachtet man die Ergebnisse jedoch genauer, stellt sich heraus, dass nicht bei allen 18 Empfängern HEV-RNA nachgewiesen werden konnte. Sechs Patienten zeigten lediglich serologisch eine parallele Entwicklung von Anti-HEV-Antikörpern (Serokonversion) beim ersten Test nach Transfusion. Entsprechend ließ sich nur bei 12 der Empfänger (28,6%) zu einem oder mehreren Zeitpunkten in der Zeit nach der Transfusion HEV-RNA nachweisen. Dieser Wert liegt zwar noch höher als die Ergebnisse dieser Arbeit, der Unterschied fiele aber deutlich geringer aus, ginge man davon aus, dass die 8 Empfänger mit NUP bis maximal Tag 14 nach Transfusion eines HEV-RNA positiven Blutproduktes im Verlauf ebenfalls Anzeichen einer HEV-Infektion zeigen würden.

Nun kann man jedoch noch weiterverfolgen, dass in der Arbeit von Hewitt et al. die Nachuntersuchungen der Patienten, die ein HEV-RNA positive Blutprodukt erhalten hatten, mit mehreren NUP über einen längeren Zeitraum hinweg erfolgten. [44] Aufgrund des retrospektiven Charakters und der damit verbundenen limitierten Anzahl von vorhandenen NUP dieser Arbeit können sich auch hierdurch unterschiedliche Ergebnisse erklären lassen.

5.7 Wie war der Verlauf dieser Infektionen, und welche Konsequenzen können daraus für das Screeningprocedere gezogen werden?

Von insgesamt 27 nachbeobachteten Empfängern konnten letztendlich nur zwei Übertragungen von HEV-RNA mit hoher Wahrscheinlichkeit nachgewiesen werden. Bei beiden Empfängern verlief die Infektion asymptomatisch und wurde lediglich in dieser Arbeit retrospektiv diagnostiziert. Anhand der Krankenunterlagen beider Empfänger konnten zum Zeitpunkt der HEV-RNA positiven Blutproben bei keinem HEV-spezifische Symptome oder Beschwerden festgestellt werden. Zusätzlich lag bei einem der

potentiell infizierten Empfänger (Empfänger 9) keine NUP vom Zeitpunkt der Transfusion des HEV-RNA positiven Blutproduktes als „Nullwert“ vor. Da die darauffolgende NUP dann aber schon positiv auf HEV-RNA getestet wurde, wäre es theoretisch möglich, dass der Empfänger sich bereits vor der Transfusion auf einem anderen Weg mit HEV infiziert hatte.

Dies stellt die Frage auf, ob eine generelle Testung überhaupt sinnvoll ist. Angesichts der Probleme, die mit der Testung einhergehen wie beispielsweise den hohen Kosten und der Verzögerung der Freigabe der nur kurz haltbaren TK im Falle eines reaktiven Pools, könnten alternative Teststrategien sinnvoller erscheinen.

So führte England im Jahr 2016 die Versorgung von HEV-geprüften Blutbestandteilen für Empfänger allogener Stammzelltransplantationen und soliden Organtransplantationen ein, nachdem dies von der Abteilung des beratenden Ausschusses für Gesundheit und Soziales Sicherheit von Blut, Geweben und Organen Ende 2015 empfohlen worden war. Ab März 2016 wurde anhand von 24er Pools das Screening auf HEV-RNA für ausgewählte Empfänger in England begonnen. [43]

Möglicherweise könnte bei diesem Vorgehen jedoch die Anzahl der Personen unterschätzt werden, bei denen das Risiko einer chronischen HEV-Infektion besteht. Es wurde lediglich davon ausgegangen, dass Patienten vor/nach Organtransplantation und allogenen Stammzelltransplantationen einem erhöhten Risiko ausgesetzt sind. Weitere Patienten wurden nicht in das Testprocedere einbezogen, obwohl auch sie ggf. vulnerabler in Bezug auf eine Infektion mit HEV sind.

Bei der Berücksichtigung einer größeren Gruppe von Patienten würden so zwar die Kosten je verhinderter Infektion gesenkt werden, der Vorteil des selektiven Screenings gegenüber einem universellen Vorgehen würde jedoch immer geringer werden.

Entsprechend wurde auch in England nach einer erneuten Überprüfung im April 2017, bei der festgestellt wurde, dass auf HEV-RNA getestete Blutprodukte auch für alle immungeschwächten Patienten zur Verfügung gestellt werden sollten, beschlossen, das selektive Screening zugunsten eines universellen Screening aller Blutprodukte auf HEV-RNA wieder zu verlassen. Vorausgesetzt einer gleichbleibenden oder sogar steigenden HEV-Prävalenz wurde dies bei gleichen Kosten für deutlich einfacher in Bezug auf den Arbeitsablauf und die Logistik des Blutdepots befunden. [19]

Weitere Überlegungen wurden dahingehend angestellt, ob eine gezielte Testung vulnerabler Patienten bzw. Empfänger von Blutprodukten (Patienten nach

Stammzelltransplantation oder solider Organtransplantation) sinnvoll sein könnte. In einer Arbeit von Reekie et al. wurden daher von insgesamt 870 dieser Patienten/Empfänger NUP retrospektiv auf das Vorhandensein von HEV-RNA untersucht. [86] Am Ende konnte bei zwei dieser Patienten festgestellt werden, dass sie sich bereits vor der Transplantation mit HEV infiziert hatten. Bei zwei weiteren Patienten wurde eine Infektion nach Transplantation festgestellt. Von diesen insgesamt vier Patienten konnten zwei erfolgreich behandelt werden, da ihre HEV-Infektion bekannt war, bei einem Patienten heilte die Infektion ohne Kenntnis dieser von selbst aus und lediglich ein Patient verstarb im ersten Jahr nach Transplantation ggf. an Komplikationen einer HEV-Infektion. Zusätzlich konnte nachgewiesen werden, dass mindestens zwei der HEV-RNA positiven Patienten ihre Infektion nicht über ein kontaminiertes Blutprodukt erhalten hatten. Solche mutmaßlich zoonotischen Infektionen würden anhand dieser Teststrategie sicher identifiziert werden.

So reduziert das HEV-Screening von Blutspendern zwar die iatrogene Übertragung von HEV-RNA, hat aber keinen Einfluss auf das Ernährungsrisiko. Angesichts dessen könnte eine Strategie des Screenings von Empfänger und Spender vor der Transplantation Aufschluss über Strategien zur präventiven Behandlung von HEV vor Transplantation und Überwachung nach der Transplantation geben. [86]

5.8 Lässt sich näherungsweise eine infektiöse Dosis ermitteln, unterhalb derer keine Transfusions-assoziierten HEV-Infektionen zu erwarten bzw. unwahrscheinlich sind?

Was die HEV-RNA-Konzentration des kontaminierten Blutproduktes für eine Rolle bei der Infektion eines Empfängers spielt, wurde im Jahr 2017 von Tedder et al. untersucht, indem die Ergebnisse der Hewitt-Studie aufgegriffen wurden und diese um die Bestimmung und Auswertung der HEV-RNA-Konzentration erweitert wurden. [100] Über das Volumen des Plasmas in jeder transfundierten Komponente und die HEV-RNA-Konzentration des Plasmas konnte so berechnet werden, welcher HEV-RNA-Konzentration der jeweilige Empfänger absolut ausgesetzt gewesen war. Es stellte sich heraus, dass die HEV-RNA-Konzentration bei der mehr als die Hälfte der Empfänger (55%) infiziert wurde, bei $2x10^4$ = 20.000 IU festgelegt werden konnte.

Daraus ließ sich weiter ableiten, dass Blutprodukte, die weniger Plasmavolumen enthalten, beispielsweise EK, eine deutlich höhere HEV-RNA-Konzentration enthalten müssten, um eine Infektion zu übertragen als Produkte mit großem Plasmavolumen, wie z.B. FFP. [100]

Bezogen auf die Plasmamengen, die in den Blutprodukten dieser Arbeit enthalten sind, sähen die infektiösen Mindestdosen folgendermaßen aus:

Blutprodukt	Gesamtvolumen (ml)	Enthaltenes Plasmavolumen (ml)	Mindestdosis um Infektion hervorzurufen (IU/ml Plasma)
Erythrozytenkonzentrat	240 – 340	11 – 15	1.818 – 1.333
gefrorenes Frischplasma	250 – 350	200 – 280	100 - 71
Pool-Thrombozytenkonzentrat	220 – 300	14 – 19 je Spender (55 – 75 gesamt)	1.429 – 1.053
Aphereseplasma	200 – 240	176 – 211	114 - 95
Apheresethrombozytenkonzentrat	200 – 450	65 – 146	308 - 137

Tabelle 17: Blutprodukte mit enthaltenem Plasmavolumen und notwendiger Mindestdosis an HEV-RNA um in 55% der Fälle eine Infektion hervorzurufen (Werte gerundet)

Überträgt man diese Daten dann auf die transfundierten Produkte, kann berechnet und abgeleitet werden, ob die transfundierte HEV-RNA-Konzentration theoretisch für eine Infektion ausgereicht hätte. Unten dargestellt die Tabelle mit Viruslasten der HEV-RNA positiven Spenden, daraus entstandenen Blutprodukten und letztendlich der absolut enthaltenen Menge an HEV-RNA (Minimum – Maximum).

Labor-ID und Spenden-nummer	HEV-RNA Plasma in IU/ml	Blutprodukt	HEV-RNA total im Produkt in IU (min – max)	Mindestdosis um Infektion hervorzu-rufen (IU/ml)
17101982 S1	2.155	EK	23.704 -32.324	1.818 – 1.333
17102149 S2	11	EK	120 - 164	1.818 – 1.333
		PTK	600 – 818 153 - 207	1.429 – 1.053
17105748 S3	593	PTK	8.302 – 11.267	1.429 – 1.053
17124264 S4	4.698	PTK	65.778 – 89.270	1.429 – 1.053
17124565 S5	116.640	PTK	1.632.960 – 2.216.160	1.429 – 1.053
17124909 S6	1.256	EK	13.819 – 18.845	1.818 – 1.333
17127229 S7	851	EK	9.360 – 12.764	1.818 – 1.333
		FFP	170.180 – 238.252	100 - 71
17129801 S8	163	PTK	2.282 – 3.097	1.429 – 1.053
17132936 S9	1.367	EK	15.039 – 20.508	1.818 – 1.333
17134187 S10	132	EK	1.450 – 1.977	1.818 – 1.333
17138331 S11	62.880	EK	691.680 – 943.200	1.818 – 1.333
17153547 S12	10.890	EK	119.786 – 163.344	1.818 – 1.333
17154958 S13	428	EK	4.710 – 6.423	1.818 – 1.333
17160390 S14	65.456	PTK	916.384 – 1.243.664	1.429 – 1.053
17160658 S15	1.017	EK	11.190 – 15.260	1.818 – 1.333

17160479 S16	1.574	FFP	314.820 – 440.748	100 - 71
17172067 S17	715	EK	7.867 – 10.728	1.818 – 1.333
17175963 S18	332	EK	3.650 – 4.977	1.818 – 1.333
17184605 S19	189	EK	2.083 – 2.841	1.818 – 1.333
17189949 S20	31	ATK	2.028 – 4.555	308 - 137
17194344 S21	3.322	ATK	215.904 – 484.954	308 - 137
17196787 S22	1.689	EK	18.577 – 25.332	1.818 – 1.333
17205066 S23	1.737	EK	19.110 – 26.060	1.818 – 1.333

Tabelle 18: gelb unterlegt: aus dieser Spende entstehendes Produkt führte zu Infektion, rote Schrift: infektiöse Dosis nach Tedder et al überschritten, dunkelblaue Schrift: infektiöse Dosis nur bei entsprechend großer enthaltener Restplasmamenge überschritten (alle Werte gerundet).

Bei Betrachtung dieser Daten ist ersichtlich, dass die transfundierten Blutprodukte von 9 Spenden nach der infektiösen Dosis nach Tedder et. al. eine ausreichend hohe Menge an HEV-RNA enthielten, um eine Infektion hervorzurufen (HEV-RNA-Konzentration in Rot dargestellt). Drei weitere Blutprodukte hätten nur bei maximal enthaltener Plasmamenge ausreichend HEV-RNA erhalten (HEV-RNA-Konzentration in dunkelblau dargestellt).

Letztendlich mit hoher Wahrscheinlichkeit infiziert wurde jedoch nur einer der 9 Empfänger mit ausreichend hoher RNA-Konzentration in der Ausgangsspende (aus S11).

Bei den verbleibenden 8 Empfängern kann nun überlegt werden, warum es nicht zu einer Infektion kam. Da die infektiöse Dosis von 20.000 IU nach Tedder et al. lediglich bei 55% der Empfänger eine Infektion hervorrief, können die verbliebenen 8 Empfänger zu den restlichen 45% gehören, die für eine Infektion gegebenenfalls eine noch höhere HEV-RNA-Konzentration benötigt hätten. Weiterhin bestehe laut Tedder die Möglichkeit, dass die Komponenten, die keine Infektion hervorriefen, neutralisierende Antikörper enthalten könnten. [100] Die Spenden mit ausreichend hoher HEV-RNA-Konzentration wiesen jedoch allesamt keine HEV-spezifischen Antikörper auf. Des

Weiteren wurde von Feng et al. berichtet, dass das HEV im menschlichen Plasma wahrscheinlich in lipidierter Form zirkuliert und somit möglicherweise nicht anfällig für eine Neutralisierung durch Antikörper ist. [29] Diese „quasiumhüllten“ Virionen im Plasma sollen die Zell-zu-Zell Infektion begünstigen, es wird jedoch überlegt, ob diese „Hülle“ nicht im Gegenteil sogar eine Übertragung durch Blut erschwert. Dies wurde jedoch noch nicht weiterführend untersucht und ist zum aktuellen Zeitpunkt als reine Spekulation zu betrachten.

In einer Studie von Vollmer et al, die sich ebenfalls mit RNA-Konzentrationen und infektiösen Dosen beschäftigt, wird nach einer umfangreichen Literaturrecherche beschrieben, dass zusätzlich alle Blutprodukte, die eine RNA-Konzentration > $5x10^4$ IU enthielten zu einer transfusionsassoziierten HEV-Infektion geführt hätten. [110] Auch dies lässt sich anhand der Ergebnisse dieser Arbeit nicht bestätigen. Insgesamt 8 Blutprodukte (aus Spende S4, S5, S7, S11, S12, S14, S16 und S21) enthielten eine deutlich höhere RNA-Konzentration von bis zu $8,75x10^6$ IU. Bei lediglich einem Empfänger (aus Spende S11) dieser Blutprodukte konnte im Nachhinein eine Infektion festgestellt werden. Bei zwei der Empfänger (von S7 und S16) lagen allerdings nur NUP bis max. Tag 19 nach Transfusion des HEV-RNA positiven Blutproduktes vor. Dies ist der Grenzbereich, wenn davon ausgegangen wird, dass die HEV-RNA mittels NAT in der Regel ab Tag 14 nachgewiesen werden kann. Ob sich hier ggf. zu einem späteren Zeitpunkt HEV-RNA hätte nachweisen lassen, kann nicht sicher ausgeschlossen werden. Bei den verbleibenden 5 Empfängern liegen NUP bis mindestens 29 Tage nach Transfusion des HEV-RNA positiven Blutproduktes vor. Bei keinem dieser Empfänger konnte HEV-RNA nachgewiesen werden. Zusätzlich konnte bei keinem der Empfänger, inklusive des HEV-RNA positiv getesteten Empfängers, in der retrospektiven Überprüfung der Krankenakte ein Hinweis auf eine Infektion mit HEV gefunden werden.

Zusammenfassend können wir im Rahmen dieser Arbeit keine HEV-RNA-Konzentration benennen, ab der es immer zu einer Infektion gekommen ist. Genauso ist eine niedrigste infektiöse Dosis nicht einfach bestimmbar. Anhand der hier erhobenen Daten erscheint der bereits von Tedder et al. benannte Wert von $2x10^4$ IU jedoch als relativ sicher beurteilt werden zu können.

5.9 Sollte im Folgenden die Poolgröße, in der im UKSH getestet wird, verändert werden?

Im Zusammenhang mit der infektiösen Dosis wird immer wieder über die genaue Durchführung des Screenings auf HEV-RNA diskutiert. Es wird in Einzeltestung untersucht und in unterschiedlichen Poolgrößen. Dabei ist das Screening in Pools zwar kostengünstiger, hat aber den offensichtlichen Nachteil, dass Spenden mit geringer HEV-RNA-Konzentration ggf. nicht entdeckt werden. Mit zunehmender Poolgröße verringert sich dabei die Sensitivität immer weiter. Dies wiederum führt zu weniger Erkennungen und höheren Viruslasten, die unentdeckt bleiben. Dies erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass Empfänger sich infizieren. Ist es jedoch wirklich notwendig, diese Spenden mit so niedrigen HEV-RNA-Konzentrationen zu identifizieren?

Auch in der retrospektiven Pooltestung dieser Arbeit wurden von 85 HEV-RNA positiven Spenden insgesamt acht nur in der Einzeltestung detektiert.

Zwar wurde lediglich von zwei dieser Spenden (S2 und S20) im Nachhinein die RNA-Konzentration bestimmt, jedoch hatten diese mit 10,9 IU/ml und 31,2 IU/ml die niedrigsten gemessenen HEV-RNA Konzentrationen überhaupt. Die daraus entstehende Blutkomponenten, im Fall von S20 sogar ein Apherese-Thrombozytenkonzentrat mit hohem Plasmagehalt, hätten trotzdem maximal eine HEV-RNA-Konzentration von absolut 4555 IU enthalten und wahrscheinlich keine Infektion verursacht.

Bezüglich dieser Werte kann in der Arbeit von Vollmer et al. nachgelesen werden, dass die niedrigste RNA-Konzentration, von der derzeit bekannt ist, dass sie zu einer transfusionsassoziierten HEV-Infektion geführt hat, 7,1 x 10^3 IU betrug. [110] Unter Berücksichtigung der Art des Blutprodukts war die niedrigste RNA-Konzentration, die zu einer transfusionsassoziierten HEV-Infektion geführt hat 7,1 x 10^3 IU allgemein für Thrombozytenkonzentrate, 3,6 x 10^4 IU für Plasmaprodukte sowie 3,2 x 10^4 für Erythrozytenkonzentrate.

Im Falle des oben erwähnten und nur in der Einzeltestung als HEV-RNA positiv detektierten Blutproduktes kann also mit relativ großer Sicherheit davon ausgegangen werden, dass die Gefahr einer HEV-Infektion zu vernachlässigen ist. Übertragen auf die weiteren nur in Einzeltestung als HEV-RNA positiv getesteten Spenden und die Sicherheit einer Pooltestung scheint die Gefahr einer „Nichtidentifizierung“ von HEV-RNA positiven Spenden also durchaus vertretbar zu sein. Die Pooltestung scheint

somit gegenüber der Einzeltestung bei Abwägung des Kosten-Risiko-Faktors zu favorisieren sein. Sollte daraus folgernd die Poolgröße am UKSH noch weiter erhöht werden? Hierdurch könnten möglicherweise irrelevante, da nicht übertragbar, Infektionen beim Spender übersehen werden, unnötige Poolauflösungen vermieden und außerdem Kosten gespart werden

Allerdings hatte eines der HEV-RNA positiven Blutprodukte dieser Arbeit, das bei seinem Empfänger (Empfänger 9) mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einer HEV-Infektion geführt hat, eine HEV-RNA-Konzentration von 593 IU/ml. Berechnet auf das entstandene Blutprodukt (PTK) enthielt es absolut zwischen 8.302 und 11.267 IU HEV-RNA. Bezogen auf die relative HEV-RNA-Konzentration lag es mit 593 IU/ml damit nicht nur unterhalb der vom PEI geforderten Nachweisgrenze (2000 IU/ml), sondern auch unterhalb der 95% Nachweisgrenze (893 IU/ml) der in dieser Arbeit verwendeten 48er Pooltestung. Im 48er Pool kann jedoch auch unterhalb dieser Grenze noch relativ sicher HEV-RNA detektiert werden. Die 50 % Nachweisgrenze der hier verwendeten HEV-NAT liegt bei 187 IU/ml und somit werden auch Spenden mit niedrigeren RNA-Konzentrationen detektiert, wie eben die hier erwähnte Spende. Lediglich die Wahrscheinlichkeit hierfür ist geringer. Und schaut man auch hier weiter auf den Empfänger und die zum damaligen Zeitpunkt rund um die Transfusion des HEV-RNA positiven Blutproduktes erhobenen klinischen Daten finden sich keine Symptome oder Beschwerden, die auf eine HEV-Infektion schließen lassen. Es ist also im Rahmen des Möglichen, dass diese Infektion asymptomatisch verlaufen ist und keine klinischen Folgen für den Empfänger hatte. Da jedoch nur zwei NUP nach der Transfusion des HEV-RNA positiven Blutproduktes vorlagen und diese beide HEV-RNA positiv getestet wurden, kann nicht eindeutig beurteilt werden, ob die Infektion nicht vielleicht doch einen chronischen Verlauf genommen hat.

Entsprechend ist die Testung im 48er Pool als ausreichend sicher zu betrachten, da mit dieser Poolgröße HEV-RNA-Konzentrationen in dieser Größenordnung zuverlässig detektiert werden. In diesem Zusammenhang wäre es darüber hinaus sogar möglich die Poolgröße auf 96 Spenderproben zu erweitern. Dadurch würde sich die 95% Nachweisgrenze zwar von vorher 893 IU/ml auf 1.786 IU/ml erhöhen, läge somit aber immer noch unter der vom PEI geforderten Mindestgrenze. Lediglich die Wahrscheinlichkeit darunter liegende HEV-RNA-Konzentrationen zu detektieren würde im Vergleich zur 48er Pooltestung sinken. Da die Relevanz dieser HEV-RNA-

Konzentrationen aber wie hier diskutiert wahrscheinlich zu vernachlässigen ist stellt auch die Testung im 96er Pool ein weitestgehend sicheres Screeningverfahren dar.

6 Zusammenfassung

Fragestellung:

Seit dem 1. Januar 2020 ist es in Deutschland vorgeschrieben, alle Blutspenden auf Hepatitis-E-Virus (HEV)-RNA zu testen. Allerdings ist diese Maßnahme nicht unumstritten. Andere Länder haben sich gegen ein routinemäßiges Screening entschieden. Um den Nutzen dieser Maßnahme abzuschätzen, wurde im Institut für Transfusionsmedizin retrospektiv die Rate der HEV-Übertragung durch Blutprodukte vor Einführung der Testpflicht untersucht.

Material und Methoden:

Alle zwischen dem 26.05.2017 und dem 31.12.2018 am UKSH geleisteten Blutspenden wurden retrospektiv mittels Nukleinsäureamplifikationstest (NAT) in Minipools mit bis zu 48 Proben auf HEV-RNA getestet.

Reaktive Minipools wurden aufgelöst und nach Identifizierung des betroffenen Spenders wurden die Empfänger der Blutprodukte identifiziert.

Bei einigen Empfängern standen Nachuntersuchungsproben (NUP) vom Tag der Transfusion und im Verlauf danach zur Verfügung. Ob eine Übertragung von HEV durch Transfusionen stattgefunden hat, wurde durch NAT-Tests sowie Antikörpertests der NUP der Empfänger untersucht.

Klinische Verläufe der Empfänger der HEV-RNA positiven Blutprodukte wurden anhand von Krankenakten beurteilt.

Ergebnisse:

Es konnten von 75.905 Blutspenden 85 HEV-RNA-positive Spenden detektiert werden (0,1%). 139 HEV-RNA positive Blutprodukte wurden transfundiert. Von 28 Empfängern standen NUP zur weiteren Analyse zur Verfügung. 19 dieser Empfänger zeigten keine Anzeichen einer Infektion. Bei drei Empfängern wurde schon zum Zeitpunkt der Transfusion Anti-HEV-IgG nachgewiesen. Drei Empfänger zeigten erst nach der Transfusion erstmals Anti-HEV-IgG, es konnte jedoch keine HEV-RNA nachgewiesen werden. Bei zwei der Empfänger konnte dann nach der Transfusion HEV-RNA nachgewiesen werden, der Verlauf der Infektion war jedoch blande.

Diskussion:

Nur bei zwei von 28/27 Patienten (7,1/7,4 %) war HEV-RNA nach der Transfusion eines HEV-RNA-positiven Blutproduktes nachweisbar. Daher war die Übertragungsrate von HEV durch Transfusionen niedriger als aufgrund bisher veröffentlichter Daten erwartet. Selbst Spenden mit hoher HEV-RNA Konzentration führten nicht zu einer Infektion der Empfänger der Blutprodukte. Daher ist die Relevanz des HEV in der Transfusionsmedizin als eher gering einzuschätzen. Es könnte daher angebracht sein, das Kosten-Nutzen-Verhältnis des Screenings auf HEV-RNA neu zu bewerten und sollte ein Screening erforderlich sein, dies auf jeden Fall in Form einer Pooltestung durchzuführen.

7 Literaturverzeichnis

[1] Abravanel, F., Lhomme, S., Chapuy-Regaud, S., Mansuy, J., Muscari, F., Sallusto, F., Rostaing, L., Kamar, N. & Izopet, J. (2014). Hepatitis E virus reinfections in Solid-Organ-Transplant recipients can evolve into chronic infections. *The Journal Of Infectious Diseases*, *209*(12), 1900–1906.

[2] Balayan M., Andjaparidze, A., Savinskaya, S., Es, K., Braginsky, D., Savinov, A. & Poleschuk, V. (1983). Evidence for a Virus in Non-A, Non-B Hepatitis Transmitted via the Fecal-Oral Route. *Intervirology*, *20*(1), 23–31.

[3] Baylis, S. A., Blümel, J., Mizusawa, S., Matsubayashi, K., Sakata, H., Okada, Y., Nübling, C. M. & Hanschmann, K. O. (2013). World Health Organization International Standard to Harmonize Assays for Detection of Hepatitis E Virus RNA. *Emerging Infectious Diseases*, *19*(5), 729–735.

[4] Baylis, S. A., Gärtner, T., Nick, S., Ovemyr, J. & Blümel, J. (2012). Occurrence of hepatitis E virus RNA in plasma donations from Sweden, Germany and the United States. *Vox Sanguinis*, *103*(1), 89–90. https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.2011.01583.x

[5] Beale, M. A., Tettmar, K., Szypulska, R., Tedder, R. S. & Ijaz, S. (2010). Is there evidence of recent hepatitis E virus infection in English and North Welsh blood donors? *Vox Sanguinis*, *100*(3), 340–342.

[6] Benckert, J. & Berg, T. (2010). Diagnostik und Klinik der Infektion mit Hepatitis-A- und Hepatitis-E-Viren. Übertragung durch Trinkwasser und Lebensmittel. *Pharmazie in Unserer Zeit*, *40*(1), 25–29.

[7] Boland, F., Martinez, A., Pomeroy, L. & O'Flaherty, N. (2019). Blood Donor Screening for Hepatitis E Virus in the European Union. *Transfusion Medicine And Hemotherapy*, *46*(2), 95–103.

[8] Boutrouille, A., Bakkali-Kassimi, L., CrucièRe, C. & Pavio, N. (2007). Prevalence of Anti-Hepatitis E Virus Antibodies in French Blood Donors. *Journal Of Clinical Microbiology*, *45*(6), 2009–2010. https://doi.org/10.1128/jcm.00235-07

[9] Boxall, E., Herborn, A., Kochethu, G., Pratt, G. W., Adams, D. H., Ijaz, S. & Teo, C. J. (2006). Transfusion-transmitted hepatitis E in a „nonhyperendemic" country. *Transfusion Medicine*, *16*(2), 79–83.

[10] Bundesärztekammer. (2023). Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie). In Paul-Ehrlich-Institut, *Richtlinie Hämotherapie 2023* (S. 2–124). Abgerufen am 21. Juli 2024, von https://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/BAEK/Themen/Medizin_und_Ethik/Richtlinie-Haemotherapie-2023_neu2.pdf

[11] Bundesministeriums der Justiz & Bundesamts für Justiz. (1998). Gesetz zur Regelung des Transfusionswesens (Transfusionsgesetz - TFG). In *www.gesetze-im-internet.de*. Abgerufen am 21. Juli 2024, von https://www.gesetze-im-internet.de/tfg/TFG.pdf

[12] Christensen, P. B., Engle, R. E., Hjort, C., Homburg, K. M., Vach, W., Georgsen, J. & Purcell, R. H. (2008). Time Trend of the Prevalence of Hepatitis E Antibodies among Farmers and Blood Donors: A Potential Zoonosis in Denmark. *Clinical Infectious Diseases*, *47*(8), 1026–1031.

[13] Cleland, A., Smith, L., Crossan, C., Blatchford, O., Dalton, H. R., Scobie, L. & Petrik, J. (2013). Hepatitis E virus in Scottish blood donors. *Vox Sanguinis*, *105*(4), 283–289.

[14] Colson, P., Borentain, P., Queyriaux, B., Kaba, M., Moal, V., Gallian, P., Heyries, L., Raoult, D. & Gerolami, R. (2010). Pig Liver Sausage as a Source of Hepatitis E Virus Transmission to Humans. *The Journal Of Infectious Diseases*, *202*(6), 825–834.

[15] Colson, P., Kaba, M., Moreau, J. & Brouqui, P. (2009). Hepatitis E in an HIV-infected patient. *Journal Of Clinical Virology*, *45*(4), 269–271.

[16] Dalton, H. R., Bendall, R., Ijaz, S. & Banks, M. (2008). Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *The Lancet Infectious Diseases*, *8*(11), 698–709.

[17] Dalton, H. R., Stableforth, W., Thurairajah, P., Hazeldine, S., Remnarace, R., Usama, W., Farrington, L., Hamad, N., Sieberhagen, C., Ellis, V., Mitchell, J., Hussaini, S. H., Banks, M., Ijaz, S. & Bendall, R. P. (2008). Autochthonous hepatitis E in Southwest England: natural history, complications and seasonal variation, and hepatitis E virus IgG seroprevalence in blood donors, the elderly and patients with chronic liver disease. *European Journal Of Gastroenterology & Hepatology*, *20*(8), 784–790.

[18] De Vos, A. S., Janssen, M. P., Zaaijer, H. L. & Hogema, B. M. (2017). Cost-effectiveness of the screening of blood donations for hepatitis E virus in the Netherlands. *Transfusion*, *57*(2), 258–266.

[19] Department of Health and Social Care. (2018, 8. Februar). *Protecting patients from getting hepatitis E through transfusion or transplantation*. GOV.UK. Abgerufen am 24. Januar 2025, von https://www.gov.uk/government/publications/protecting-patients-from-getting-hepatitis-e-through-transfusion-or-transplantation

[20] *Details - Public Health Image Library (PHIL)*, Abgerufen am 24. Oktober 2024, von https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=5605

[21] Domanović, D., Tedder, R. S., Blümel, J., Zaaijer, H. L., Gallian, P., Niederhauser, C., Oliveras, S. A., O'Riordan, J. M., Boland, F., Harritshøj, L. H., Nascimento, M. S. J., Ciccaglione, A. R., Politis, C., Adlhoch, C., Flan, B., Oualikene-Gonin, W., G, R., Strengers, P. F. & Hewitt, P. (2017). Hepatitis E and blood donation safety in selected European countries: a shift to screening? *Eurosurveillance*, *22*(16).

[22] Dreier, J. & Juhl, D. (2013). Autochthonous hepatitis E virus infections: a new Transfusion-Associated risk? *Transfusion Medicine And Hemotherapy*, *41*(1), 29–39.

[23] Dreier, J., Knabbe, C. & Vollmer, T. (2018). Transfusion-Transmitted Hepatitis E: NAT Screening of Blood Donations and Infectious Dose. *Frontiers in Medicine*, *5*.

[24] Dumke, J., Hinse, D., Vollmer, T., Knabbe, C. & Dreier, J. (2014). Development and Application of a Multilocus Sequence Typing Scheme for Streptococcus gallolyticus subsp. gallolyticus. *Journal Of Clinical Microbiology*, *52*(7), 2472–2478.

[25] *ELISA*. (2024, 18. Juni). EUROIMMUN AG. Abgerufen am 18. Juni 2024, von https://www.euroimmun.de/de/produkte/nachweismethoden/elisa/

[26] Emerson, S. U. & Purcell, R. H. (2001). Recombinant vaccines for hepatitis E. *Trends in Molecular Medicine*, *7*(10), 462–466.

[27] Faber, M., Askar, M. & Stark, K. (2018). Case-control study on risk factors for acute hepatitis E in Germany, 2012 to 2014. *Eurosurveillance*, *23*(19).

[28] Faddy, H. M., Osiowy, C., Custer, B., Busch, M. P., Stramer, S. L., Adesina, O., Van De Laar, T., Tsoi, W. C., Styles, C. E., Kiely, P., Margaritis, A. R., Kwon, S., Qiu, Y., Deng, X., Lewin, A., Jørgensen, S. W., Erikstrup, C., Juhl, D., Sauleda, S., . . . Charlewood, R. (2024). International review of blood donation nucleic acid amplification testing. *Vox Sanguinis*.

[29] Feng, Z., Hirai-Yuki, A., McKnight, K. L. & Lemon, S. M. (2014). Naked Viruses That Aren't Always Naked: Quasi-Enveloped Agents of Acute Hepatitis. *Annual Review Of Virology*, *1*(1), 539–560.

[30] Fischer, C., Hofmann, M., Danzer, M., Hofer, K., Kaar, J. & Gabriel, C. (2015). Seroprevalence and Incidence of hepatitis E in Blood Donors in Upper Austria. *PLoS ONE*, *10*(3), e0119576.

[31] Freeman, W. M., Walker, S. J. & Vrana, K. E. (1999). Quantitative RT-PCR: Pitfalls and Potential. *BioTechniques*, *26*(1), 112–125.

[32] Fukuda, S., Ishikawa, M., Ochiai, N., Suzuki, Y., Sunaga, J., Shinohara, N., Nozawa, K., Tsuda, F., Takahashi, M. & Okamoto, H. (2007). Unchanged high prevalence of antibodies to hepatitis E virus (HEV) and HEV RNA among blood donors with an elevated alanine aminotransferase level in Japan during 1991–2006. *Archives Of Virology*, *152*(9), 1623–1635.

[33] Gallian, P., Lhomme, S., Piquet, Y., Sandres-Sauné, K., Legrand-Abravanel, F., Assal, A., Tiberghien, P. & Izopet, J. (2014). Hepatitis E Virus infections in blood donors, France. *Emerging Infectious Diseases*, *20*(11), 1914–1917.

[34] Gérolami, R., Moal, V. & Colson, P. (2008). Chronic Hepatitis E with Cirrhosis in a Kidney-Transplant Recipient. *New England Journal Of Medicine*, *358*(8), 859–860.

[35] Gérolami, R., Moal, V., Picard, C. & Colson, P. (2008). Hepatitis E virus as an emerging cause of chronic liver disease in organ transplant recipients. *Journal Of Hepatology*, *50*(3), 622–624.

[36] Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz - AMG). (1976). In *Gesetz Über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz - AMG)*. Abgerufen am 28. Oktober 2024, von https://www.gesetze-im-internet.de/amg_1976/AMG.pdf

[37] Golkocheva-Markova, E., Ismailova, C., Kevorkyan, A., Raycheva, R., Zhelyazkova, S., Kotsev, S., Pishmisheva, M., Rangelova, V., Stoyanova, A., Yoncheva, V., Tenev, T., Gladnishka, T., Trifonova, I., Christova, I., Dimitrov, R., Bruni, R. & Ciccaglione, A. R. (2023). Age and Gender Trends in the Prevalence of Markers for Hepatitis E Virus Exposure in the Heterogeneous Bulgarian Population. *Life*, *13*(6), 1345.

[38] Guo, Q., Yan, Q., Xiong, J., Ge, S., Shih, J. W., Ng, M., Zhang, J. & Xia, N. (2009). Prevalence of Hepatitis E Virus in Chinese Blood Donors. *Journal Of Clinical Microbiology*, *48*(1), 317–318.

[39] Haagsma, E. B., Van den Berg, A. P., Porte, R. J., Benne, C. A., Vennema, H., Reimerink, J. H. J. & Koopmans, M. P. G. (2008). Chronic hepatitis E virus infection in liver transplant recipients. *Liver Transplantation*, *14*(4), 547–553.

[40] Haim-Boukobza, S., Ferey, M. P., Vétillard, A., Jeblaoui, A., Pélissier, E., Pelletier, G., Teillet, L. & Roque-Afonso, A. (2012). Transfusion-transmitted hepatitis E in a misleading context of autoimmunity and drug-induced toxicity. *Journal Of Hepatology*, *57*(6), 1374–1378.

[41] Hamid, S. S., Jafri, S., Khan, H., Shah, H., Abbas, Z. & Fields, H. (1996). Fulminant hepatic failure in pregnant women: acute fatty liver or acute viral hepatitis? *Journal Of Hepatology*, *25*(1), 20–27.

[42] Harritshøj, L. H., Holm, D. K., Sækmose, S. G., Jensen, B. A., Hogema, B. M., Fischer, T. K., Midgley, S., Krog, J. S., Erikstrup, C. & Ullum, H. (2016). Low transfusion transmission of hepatitis E among 25,637 single-donation, nucleic acid-tested blood donors. *Transfusion*, *56*(9), 2225–2232.

[43] Harvala, H., Hewitt, P. E., Reynolds, C., Pearson, C., Haywood, B., Tettmar, K. I., Ushiro-Lumb, I., Brailsford, S. R., Tedder, R. & Ijaz, S. (2019). Hepatitis E virus in

blood donors in England, 2016 to 2017: from selective to universal screening. *Eurosurveillance*, *24*(10).

[44] Hewitt, P., Ijaz, S., Brailsford, S., Brett, R., Dicks, S., Haywood, B., Kennedy, I. T. R., Kitchen, A. D., Patel, P., Poh, J., Russell, K., Tettmar, K. I., Tossell, J., Ushiro–Lumb, I. & Tedder, R. S. (2014). Hepatitis E virus in blood components: a prevalence and transmission study in southeast England. *Lancet*, *384*(9956), 1766–1773

[45] Hogema, B. M., Molier, M., Sjerps, M., De Waal, M., Van Swieten, P., Van De Laar, T., Backer, M. M. & Zaaijer, H. L. (2015). Incidence and duration of hepatitis E virus infection in Dutch blood donors. *Transfusion*, *56*(3), 722–728.

[46] Hussaini, S. H., Skidmore, S. J., Richardson, P., Sherratt, L. M., Cooper, B. T. & O'Grady, J. G. (1997). Severe hepatitis E infection during pregnancy. *Journal Of Viral Hepatitis*, *4*(1), 51–54.

[47] Huzly, D., Umhau, M., Bettinger, D., Cathomen, T., Emmerich, F., Hasselblatt, P., Hengel, H., Herzog, R., Kappert, O., Maassen, S., Schorb, E., Schulz-Huotari, C., Thimme, R., Unmüssig, R., Wenzel, J. J. & Panning, M. (2014). Transfusion-transmitted hepatitis E in Germany, 2013. *Eurosurveillance*, *19*(21).

[48] *IfSG - nichtamtliches Inhaltsverzeichnis*, Abgerufen am 28. Oktober 2024, von https://www.gesetze-im-internet.de/ifsg/index.html

[49] Jothikumar, N., Cromeans, T. L., Robertson, B. H., Meng, X. J. & Hill, V. R. (2006). A broadly reactive one-step real-time RT-PCR assay for rapid and sensitive detection of hepatitis E virus. *Journal Of Virological Methods*, *131*(1), 65–71.

[50] Juhl, D., Baylis, S. A., Blümel, J., Görg, S. & Hennig, H. (2014). Seroprevalence and incidence of hepatitis E virus infection in German blood donors. *Transfusion*, *54*(1), 49–56.

[51] Juhl, D., Glessing, P., Görg, S. & Hennig, H. (2020). Incidence of HEV -RNA and First Experiences With General HEV-RNA Screening in a German University Blood Donation Service. *Vox Sanguinis*, *115*, 223. Abstract

[52] Juhl, D., Nowak-Göttl, U., Blümel, J., Görg, S. & Hennig, H. (2018). Lack of evidence for the transmission of hepatitis E virus by coagulation factor concentrates based on seroprevalence data. *Transfusion Medicine*, *28*(6), 427–432.

[53] Kabrane-Lazizi, Y., Meng, X., Purcell, R. H. & Emerson, S. U. (1999). Evidence that the Genomic RNA of Hepatitis E Virus Is Capped. *Journal Of Virology*, *73*(10), 8848–8850.

[54] Kamar, N., Bendall, R. P., Legrand-Abravanel, F., Xia, N., Ijaz, S., Izopet, J. & Dalton, H. R. (2012). Hepatitis E. *The Lancet*, *379*(9835), 2477–2488.

[55] Kamar, N., Garrouste, C., Haagsma, E. B., Garrigue, V., Pischke, S., Chauvet, C., Dumortier, J., Cannesson, A., Cassuto–Viguier, E., Thervet, E., Conti, F., Lebray, P., Dalton, H. R., Santella, R., Kanaan, N., Essig, M., Mousson, C., Radenne, S., Roque–Afonso, A. M., Rostaing, L. (2011). Factors associated with chronic hepatitis in patients with hepatitis E virus infection who have received solid organ transplants. *Gastroenterology*, *140*(5), 1481–1489.

[56] Kamar N, Dalton HR, Abravanel F, Izopet J. (2014) Hepatitis E virus infection. *Clin Microbiol Rev*., 27(1):116-38.

[57] Kamar, N., Izopet, J., Pavio, N., Aggarwal, R., Labrique, A., Wedemeyer, H. & Dalton, H. R. (2017). Hepatitis E virus infection. *Nature Reviews Disease Primers*, *3*(1).

[58] Kamar, N., Selves, J., Mansuy, J., Ouezzani, L., Péron, J., Guitard, J., Cointault, O., Esposito, L., Abravanel, F., Danjoux, M., Durand, D., Vinel, J., Izopet, J. & Rostaing, L. (2008). Hepatitis E Virus and Chronic Hepatitis in Organ-Transplant Recipients. *New England Journal Of Medicine*, *358*(8), 811–817.

[59] Kaufmann, A., Kenfak-Foguena, A., André, C., Canellini, G., Bürgisser, P., Moradpour, D., Darling, K. E. A. & Cavassini, M. (2011). Hepatitis E Virus Seroprevalence among Blood Donors in Southwest Switzerland. *PLoS ONE*, *6*(6), e21150.

[60] Kenfak-Foguena, A., Schöni-Affolter, F., Bürgisser, P., Witteck, A., Darling, K. E., Kovari, H., Kaiser, L., Evison, J., Elzi, L., De La Fuente, V. G., Jost, J., Moradpour, D., Abravanel, F., Izopet, J. & Cavassini, M. (2011). Hepatitis E Virus Seroprevalence and Chronic Infections in Patients with HIV, Switzerland. *Emerging Infectious Diseases*, *17*(6), 1074–1078.

[61] Kercksig, F. (1799). Von einer epidemischen Gelbsuch. *Hufelands Journal der Practischen Heilkunde und Wundarzneykunst*, *7*, 94–109.

[62] Krumbholz, A., Mohn, U., Lange, J., Motz, M., Wenzel, J. J., Jilg, W., Walther, M., Straube, E., Wutzler, P. & Zell, R. (2011). Prevalence of hepatitis E virus-specific antibodies in humans with occupational exposure to pigs. *Medical Microbiology And Immunology*, *201*(2), 239–244.

[63] Laperche, S., Maugard, C., Lhomme, S., Lecam, S., Ricard, C., Dupont, I., Richard, P., Tiberghien, P., Abravanel, F., Morel, P., Izopet, J. & Gallian, P. (2023). Seven years (2015-2021) of blood donor screening for HEV-RNA in France: lessons and perspectives. *HAL (Le Centre Pour La Communication Scientifique Directe)*, *21*(2), 110–118.

[64] Legrand-Abravanel, F., Kamar, N., Sandres-Saune, K., Garrouste, C., Dubois, M., Mansuy, J., Muscari, F., Sallusto, F., Rostaing, L. & Izopet, J. (2010).

Characteristics of Autochthonous Hepatitis E Virus Infection in Solid-Organ Transplant Recipients in France. *The Journal Of Infectious Diseases*, *202*(6), 835–844.

[65] Lu, L., Li, C. & Hagedorn, C. H. (2005). Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences: genetic diversity, subtypes and zoonosis. *Reviews in Medical Virology*, *16*(1), 5–36.

[66] Mansuy, J., Bendall, R., Legrand-Abravanel, F., Sauné, K., Miédouge, M., Ellis, V., Rech, H., Destruel, F., Kamar, N., Dalton, H. R. & Izopet, J. (2011). Hepatitis E virus antibodies in blood donors, France. *Emerging Infectious Diseases*, *17*(12), 2309–2312.

[67] Mansuy, J. M., Legrand-Abravanel, F., Calot, J. P., Peron, J. M., Alric, L., Agudo, S., Rech, H., Destruel, F. & Izopet, J. (2007). High prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in blood donors from South West France. *Journal Of Medical Virology*, *80*(2), 289–293.

[68] Mansuy, J. M., Sauné, K., Rech, H., Abravanel, F., Mengelle, C., L'Homme, S., Destruel, F., Kamar, N. & Izopet, J. (2015). Seroprevalence in blood donors reveals widespread, multi-source exposure to hepatitis E virus, southern France, October 2011. *Eurosurveillance*, *20*(19).

[69] Matsubayashi, K., Kang, J., Sakata, H., Takahashi, K., Shindo, M., Kato, M., Sato, S., Kato, T., Nishimori, H., Tsuji, K., Maguchi, H., Yoshida, J., Maekubo, H., Mishiro, S. & Ikeda, H. (2008). A case of transfusion-transmitted hepatitis E caused by blood from a donor infected with hepatitis E virus via zoonotic food-borne route. *Transfusion*, *48*(7), 1368–1375.

[70] Matsubayashi, K., Nagaoka, Y., Sakata, H., Sato, S., Fukai, K., Kato, T., Takahashi, K., Mishiro, S., Imai, M., Takeda, N. & Ikeda, H. (2004). Transfusion-transmitted hepatitis E caused by apparently indigenous hepatitis E virus strain in Hokkaido, Japan. *Transfusion*, *44*(6), 934–940.

[71] Matsubayashi, K., Sakata, H. & Ikeda, H. (2011). Hepatitis E virus infection and blood transfusion in Japan. *Isbt Science Series*, *6*(2), 344–349.

[72] Meng, X. J., Wiseman, B., Elvinger, F., Guenette, D. K., Toth, T. E., Engle, R. E., Emerson, S. U. & Purcell, R. H. (2002). Prevalence of Antibodies to Hepatitis E Virus in Veterinarians Working with Swine and in Normal Blood Donors in the United States and Other Countries. *Journal Of Clinical Microbiology*, *40*(1), 117–122.

[73] Mitsui, T., Tsukamoto, Y., Yamazaki, C., Masuko, K., Tsuda, F., Takahashi, M., Nishizawa, T. & Okamoto, H. (2004). Prevalence of hepatitis E virus infection among hemodialysis patients in Japan: Evidence for infection with a genotype 3 HEV by blood transfusion. *Journal Of Medical Virology*, *74*(4), 563–572.

[74] Modrow, S., Truyen, U. & Schätzl, H. (2021). Hepeviren. In *Molekulare Virologie* (4. Aufl., S. 219–225). Springer Spektrum.

[75] Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G. & Erlich, H. (1986). Specific Enzymatic Amplification of DNA In Vitro: The Polymerase Chain Reaction. *Cold Spring Harbor Symposia On Quantitative Biology*, *51*(0), 263–273.

[76] Mushahwar, I. K. (2008). Hepatitis E virus: Molecular virology, clinical features, diagnosis, transmission, epidemiology, and prevention. *Journal Of Medical Virology*, *80*(4), 646–658.

[77] Nanda, S. K., Ansari, I. H., Acharya, S. K., Jameel, S. & Panda, S. K. (1995). Protracted viremia during acute sporadic hepatitis E virus infection. *Gastroenterology*, *108*(1), 225–230.

[78] Okamoto, H. (2007). Genetic variability and evolution of hepatitis E virus. *Virus Research*, *127*(2), 216–228.

[79] Ollier, L. (2009). Chronic Hepatitis After Hepatitis E Virus Infection in a Patient With Non-Hodgkin Lymphoma Taking Rituximab. *Annals Of Internal Medicine*, *150*(6), 430.

[80] Paul-Ehrlich-Institut. (2019). *Abwehr von Arzneimittelrisiken* (S. 2–6). Abgerufen am 29. Oktober 2024, von https://www.pei.de/SharedDocs/Downloads/DE/arzneimittelsicherheit/haemovigilanz/bescheide/2019-02-05-abwehr-arzneimittelrisiken-testung-blutspender-hepatitis-e.pdf?__blob=publicationFile&v=2

[81] Paul-Ehrlich-Institut, Funk, M., Heiden, M., Müller, S., Volz-Zang, C., Külker, Witzenhausen, C., Schönefeld, S., Ruppert-Seipp, G., Berg, P., Wesp, K., Henseler, O., Halbauer, J., Fiedler, S. & Keller-Stanislawski, B. (2017). HÄMOVIGILANZBERICHT DES PAUL-EHRLICH-INSTITUTS 2016/2017. Abgerufen am 29. Oktober 2024, von https://www.pei.de/SharedDocs/Downloads/DE/newsroom/pflichtberichte/haemovigilanzberichte/haemovigillanz-bericht-2016-2017.pdf?__blob=publicationFile&v=3

[82] Pittaras, T., Valsami, S., Mavrouli, M., Kapsimali, V., Tsakris, A. & Politou, M. (2014). Seroprevalence of hepatitis E virus in blood donors in Greece. *Vox Sanguinis*, *106*(4), 387.

[83] Plümers R, Dreier J, Knabbe C, Gömer A, Steinmann E, Todt D, Vollmer T. Hepatitis E virus infections in German blood donors: results of 8 years of screening, 2015 to 2022. Euro Surveill. 2024 Jun;29(24):2300665.

[84] Purdy, M. A. & Khudyakov, Y. E. (2011). The molecular epidemiology of hepatitis E virus infection. *Virus Research*, *161*(1), 31–39.

[85] Purdy, M. A., McCaustland, K. A., Krawczynski, K., Spelbring, J., Reyes, G. R. & Bradley, D. W. (1993). Preliminary evidence that a trpE-HEV fusion protein protects cynomolgus macaques against challenge with wild-type hepatitis e virus (HEV). *Journal Of Medical Virology*, *41*(1), 90–94.

[86] Reekie, I., Irish, D., Ijaz, S., Fox, T., Bharucha, T., Griffiths, P., Thorburn, D., Harber, M., MacKinnon, S. & Sekhar, M. (2018). Hepatitis E infection in stem cell and solid organ transplantpatients: A cross-sectional study. *Journal Of Clinical Virology*, *107*, 1–5.

[87] Reyes, G. R., Purdy, M. A., Kim, J., Luk, K., Young, L. M., Fry, K. E. & Bradley, D. W. (1990). Isolation of a cDNA from the Virus Responsible for Enterically Transmitted Non-A, Non-B Hepatitis. *Science*, *247*(4948), 1335–1339.

[88] Rivero-Juarez, A., Risalde, M. A., Frias, M., García-Bocanegra, I., Lopez-Lopez, P., Cano-Terriza, D., Camacho, A., Jimenez-Ruiz, S., Gomez-Villamandos, J. C. & Rivero, A. (2018). Prevalence of hepatitis E virus infection in wild boars from Spain: a possible seasonal pattern? *BMC Veterinary Research*, *14*(1).

[89] Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K. B. & Erlich, H. A. (1988). Primer-Directed Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA Polymerase. *Science*, *239*(4839), 487–491.

[90] Sakata, H., Matsubayashi, K., Iida, J., Nakauchi, K., Kishimoto, S., Sato, S., Ikuta, K., Satake, M. & Kino, S. (2021). Trends in hepatitis E virus infection: Analyses of the long-term screening of blood donors in Hokkaido, Japan, 2005–2019. *Transfusion*, *61*(12), 3390–3401.

[91] Sakata, H., Matsubayashi, K., Takeda, H., Sato, S., Kato, T., Hino, S., Tadokoro, K. & Ikeda, H. (2008). A nationwide survey for hepatitis E virus prevalence in Japanese blood donors with elevated alanine aminotransferase. *Transfusion*, *48*(12), 2568–2576.

[92] Sauleda, S., Ong, E., Bes, M., Janssen, A., Cory, R., Babizki, M., Shin, T., Lindquist, A., Hoang, A., Vang, L., Piron, M., Casamitjana, N., Koppelman, M., Danzig, L. & Linnen, J. M. (2014). Seroprevalence of hepatitis E virus (HEV) and detection of HEV RNA with a transcription-mediated amplification assay in blood donors from Catalonia (Spain). *Transfusion*, *55*(5), 972–979.

[93] Serricchio, M., Gowland, P., Widmer, N., Stolz, M. & Niederhauser, C. (2024). HEV in Blood Donors in Switzerland: The Route to Safe Blood Products. *Pathogens*, *13*(10), 911.

[94] Slot, E., Hogema, B. M., Riezebos-Brilman, A., Kok, T. M., Molier, M. & Zaaijer, H. L. (2013). Silent hepatitis E virus infection in Dutch blood donors, 2011 to 2012. *Eurosurveillance*, *18*(31).

[95] Son, N. R., Seo, D. J., Lee, M. H., Seo, S., Wang, X., Lee, B., Lee, J., Joo, I., Hwang, I. & Choi, C. (2014). Optimization of the elution buffer and concentration method for detecting hepatitis E virus in swine liver using a nested reverse transcription-polymerase chain reaction and real-time reverse transcription-polymerase chain reaction. *Journal Of Virological Methods*, *206*, 99–104.

[96] Stramer, S. L., Moritz, E. D., Foster, G. A., Ong, E., Linnen, J. M., Hogema, B. M., Mak, M., Chia, C. P. & Dodd, R. Y. (2015). Hepatitis E virus: seroprevalence and frequency of viral RNA detection among US blood donors. *Transfusion*, *56*(2), 481–488.

[97] Takeda, H., Matsubayashi, K., Sakata, H., Sato, S., Kato, T., Hino, S., Tadokoro, K. & Ikeda, H. (2010). A nationwide survey for prevalence of hepatitis E virus antibody in qualified blood donors in Japan. *Vox Sanguinis*, *99*(4), 307–313.

[98] Tam, A. W., Smith, M. M., Guerra, M. E., Huang, C. C., Bradley, D. W., Fry, K. E. & Reyes, G. R. (1991). Hepatitis E virus (HEV): Molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology*, *185*(1), 120–131.

[99] Tamura, A., Shimizu, Y. K., Tanaka, T., Kuroda, K., Arakawa, Y., Takahashi, K., Mishiro, S., Shimizu, K. & Moriyama, M. (2007). Persistent infection of hepatitis E virus transmitted by blood transfusion in a patient with T-cell lymphoma. *Hepatology Research*, *37*(2), 113–120.

[100] Tedder RS, Ijaz S, Kitchen A, Ushiro-Lumb I, Tettmar KI, Hewitt P, Andrews N. Hepatitis E risks: pigs or blood-that is the question. Transfusion. 2017 Feb;57(2):267-272.

[101] Teshale, E. H., Howard, C. M., Grytdal, S. P., Handzel, T. R., Barry, V., Kamili, S., Drobeniuc, J., Okware, S., Downing, R., Tappero, J. W., Bakamutumaho, B., Teo, C., Ward, J. W., Holmberg, S. D. & Hu, D. J. (2009). Hepatitis E epidemic, Uganda. *Emerging Infectious Diseases*, *16*(1), 126–129.

[102] Thomas, L., *Labor und Diagnose*. Labor & Diagnose. Abgerufen am 30. Juni 2024, von https://www.labor-und-diagnose.de/

[103] Tsega E, Krawczynski K, Hansson BG, Nordenfelt E. (1993). Hepatitis E virus infection in pregnancy in Ethiopia. Ethiop Med J., 31(3), 173-81.

[104] Verfahren zur Rückverfolgung (Look Back) gemäß § 19 Transfusionsgesetz. (2020). *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, *64*(1), 108–125.

[105] Verzicht auf die Bestimmung der Alanin-Aminotransferase (ALT) als Freigabekriterium für Blutkomponenten zur Transfusion und Plasma zur Fraktionierung. (2004). *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, *47*(1), 82.

[106] Vina-Rodriguez, A., Schlosser, J., Becher, D., Kaden, V., Groschup, M. & Eiden, M. (2015). Hepatitis E Virus Genotype 3 Diversity: Phylogenetic Analysis and Presence of Subtype 3b in Wild Boar in Europe. *Viruses*, *7*(5), 2704–2726.

[107] Viswanathan, R. (1957). Infectious hepatitis in Delhi (1955-56): a critical study-epidemiology. *The National Medical Journal Of India*, *26*, 362–377.

[108] Vollmer, T., Diekmann, J., Eberhardt, M., Knabbe, C. & Dreier, J. (2016). Hepatitis E in blood donors: investigation of the natural course of asymptomatic infection, Germany, 2011. *Eurosurveillance*, *21*(35).

[109] Vollmer, T., Diekmann, J., Johne, R., Eberhardt, M., Knabbe, C. & Dreier, J. (2012). Novel Approach for Detection of Hepatitis E Virus Infection in German Blood Donors. *Journal Of Clinical Microbiology*, *50*(8), 2708–2713.

[110] Vollmer, T., Diekmann, J., Knabbe, C. & Dreier, J. (2018). Hepatitis E virus blood donor NAT screening: as much as possible or as much as needed? *Transfusion*, *59*(2), 612–622.

[111] Wallace, S. J., Webb, G. W., Madden, R. G., Dalton, H. C., Palmer, J., Dalton, R. T., Pollard, A., Martin, R., Panayi, V., Bennett, G., Bendall, R. P. & Dalton, H. R. (2016). Investigation of liver dysfunction: who should we test for hepatitis E? *European Journal Of Gastroenterology & Hepatology*, *29*(2), 215–220.

[112] Wenzel, J. J., Preiß, J., Schemmerer, M., Huber, B., Plentz, A. & Jilg, W. (2011). Detection of hepatitis E virus (HEV) from porcine livers in Southeastern Germany and high sequence homology to human HEV isolates. *Journal Of Clinical Virology*, *52*(1), 50–54.

[113] Wichmann, O., Schimanski, S., Koch, J., Kohler, M., Rothe, C., Plentz, A., Jilg, W. & Stark, K. (2008). Phylogenetic and Case-Control Study on Hepatitis E Virus Infection in Germany. *The Journal Of Infectious Diseases*, *198*(12), 1732–1741.

[114] Wong, D., Purcell, R., Sreenivasan, N. M. A., Prasad, S. R. & Pavri, K. (1980). Epidemic and endemic Hepatitis in India: Evidence for a non-A, non-B Hepatitis Virus Aetiology. *The Lancet*, *316*(8200), 876–879

8 Anhang

8.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Immunaggregat virusähnlicher Partikel, gewonnen aus dem Stuhl eines experimentell infizierten Freiwilligen. Balken = 100 nm [2].....9

Abbildung 2: Genomorganisation des HEV (modifiziert nach [74]) 10

Abbildung 3: weltweite Verteilung klinischer Fälle einer HEV-Infektion [54].....11

Abbildung 4: HEV-Genotypen – Übertragungswege und Infektionsquellen [6]..12

Abbildung 5: schematische Darstellung einer HEV-Infektion [16] 15

Abbildung 6: internationale Seroprävalenz von Anti-HEV-IgG bei Blutspendern [22].....15

Abbildung 7: transfusionsbedingte HIV-, HBV-, Hepatitis-C-Virus- (HCV) und HEV-Infektionen im Zeitraum 1997 – 2017 und für die Spendertestung eingeführte Maßnahmen zur Risikovorsorge [81].....20

Abbildung 8: Prinzip des indirekten ELISAs [25] 31

Abbildung 9: Prinzip der Aufschlüsselung eines HEV-RNA positiven Ersatzpools 33

Abbildung 10: Verhältnis der geleisteten Spenden im Betrachtungszeitraum 38

Abbildung 11: Alter (in Jahren) und Anzahl der Spender in diesem Alter 39

Abbildung 12: Ergebnisse ELISA der Blutspender.....40

Abbildung 13: gemessene Werte der ALT der männl. Spender mit Cut off (rot, > 50 U/l positiv) 43

Abbildung 14: gemessene Werte der ALT der weibl. Spender mit Cut off (rot, > 35 U/l positiv) 43

Abbildung 15: Anzahl der HEV-RNA positiven Blutprodukte nach Produktart....44

Abbildung 16: Anzahl der NUP der Empfänger 45

Abbildung 17: Flussdiagramm der Ergebnisse 47

8.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Prävalenz HEV-RNA positiver Blutspender in verschiedenen Ländern 14

Tabelle 2: Blutprodukte mit Gesamtvolumen und daraus berechnetem enthaltenen Plasmavolumen (Werte gerundet)..... 27

Tabelle 3: verwendete Tests und Geräte 28

Tabelle 4: verwendete Materialien..... 29

Tabelle 5: verwendete EDV-Systeme..... 29

Tabelle 6: Ergebnisse der HEV-RNA-Quantifizierung mit Berechnung der letztendlich im transfundierten Blutprodukt enthaltenen HEV-RNA (Werte gerundet, auffällige Werte in rot dargestellt) 42

Tabelle 7: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 1 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt) 48

Tabelle 8: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 2 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt) 48

Tabelle 9: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 3 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt) 48

Tabelle 10: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 4 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt) 49

Tabelle 11: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 5 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt) 49

Tabelle 12: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 6 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt) 49

Tabelle 13: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 7 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt) 50

Tabelle 14: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 8 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt, Normwerte in grün dargestellt) 51

Tabelle 15: Ergebnisse Nachuntersuchungsproben Empfänger 9 (auffällige Ergebnisse in rot dargestellt, Normwerte in grün dargestellt) 53

Tabelle 16: internationaler Vergleich der HEV-RNA Prävalenz..... 55

Tabelle 17: Blutprodukte mit enthaltenem Plasmavolumen und notwendiger Mindestdosis an HEV-RNA um in 55% der Fälle eine Infektion hervorzurufen (Werte gerundet)..... 65

Tabelle 18: gelb unterlegt: aus dieser Spende entstehendes Produkt führte zu Infektion, rote Schrift: infektiöse Dosis nach Tedder et al überschritten, dunkelblaue Schrift: infektiöse Dosis nur bei entsprechend großer enthaltener Restplasmamenge überschritten (alle Werte gerundet)..... 67

8.3 Abstract für den Jahreskongress der deutschen Gesellschaft für Immunhämatologie und Transfusionsmedizin (DGTI) vom 11. - 13.09.2024 in Düsseldorf

Low transmission rate of hepatitis E virus by transfusion

Authors: Nele Maxi Sommer-Strunck, Petra Glessing, Siegfried Görg, Holger Hennig, David Juhl

Background

Since 1 January 20201, testing of all blood donors for hepatitis E virus (HEV) RNA is mandatory in Germany. However, this measure is not without controversy. Other countries have decided against routine screening. [1, 2] To estimate the benefit of this measure, the rate of HEV transmission through blood products before the introduction of mandatory testing was investigated retrospectively in our institution.

Methods

All blood donations given between 26th May 2017 and 31st December 2018 were retrospectively tested for HEV RNA by NAT (cobas HEV, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) in minipools up to 48 samples.

Reactive minipools were resolved and after identification of the affected donor, recipients of the blood products were identified. For some recipients, archive samples that have been collected at the day of transfusion and additional samples collected thereafter, were available for follow-up. Whether a transmission of HEV-RNA by transfusion has occurred, was investigated by NAT-testing as well as antibody testing of the recipients archive samples (ELISA IgG, EUROIMMUN, Lübeck, Germany).

Clinical courses in HEV-infected patients were assessed by medical records.

Results

75,905 blood donations were given by 23,703 donors. 85 HEV-RNA positive donations from 76 donors were identified. This represents 0.12% of all blood donations and 0.32% of donors. 139 HEV-positive blood products were transfused. From 30 recipients archive samples were available for further analysis. 3/30 (10 %) patients, IgG-antibodies were detectable already before transfusion. IgG antibodies were detected in 6/30 (22,2 %) recipients of RBC/PC/FFP, but HEV RNA was also detected in only

one of these recipients after transfusion of RBC. She had no other laboratory or clinical signs of hepatitis, the clinical course was uneventful.

Conclusion

In six (22,2 %) of the previous HEV antibody-negative patients, HEV-IgG antibodies could be detected after transfusion, in five of them probably due to passive antibody transfer. In only 1/27 (3.7 %) presumably susceptible patient, HEV-RNA was detectable after transfusion of a HEV-RNA positive RBC. Therefore, the transmission rate of HEV by transfusion was lower than expected based on the data available [3]. It may therefore be appropriate to reassess the cost-benefit ratio of HEV-RNA testing.

1. Harritshøj, Lene Holm, u. a. „Low transfusion transmission of hepatitis E among 25,637 single-donation, nucleic acid-tested blood donors“. Transfusion,56,2225–32.
2. Faddy, Helen M., u. a. „International review of blood donation nucleic acid amplification testing“. Vox Sanguinis, 2024,119,315-325.
3. Hewitt, Patricia, u. a. „Hepatitis E virus in blood components: a prevalence and transmission study in southeast England“. Lancet 2014,384,1766–73.

8.4 Poster für den Jahreskongress der deutschen Gesellschaft für Immunhämatologie und Transfusionsmedizin (DGTI) vom 11. - 13.09.2024 in Düsseldorf

UNIVERSITÄTSKLINIKUM
Schleswig-Holstein

Low transmission rate of hepatitis E virus by transfusion

P-11-3

Nele Sommer-Strunck, Petra Glessing, Holger Hennig, Siegfried Görg, David Juhl
University Hospital Schleswig-Holstein, Institute for Transfusion Medicine, Lübeck.

Background: Since 1st January 2020, testing of all blood donors for hepatitis E virus (HEV) RNA is mandatory in Germany. To estimate the benefit of this measure, the rate of HEV transmission through blood products before the introduction of mandatory testing was investigated retrospectively.
Methods: All blood donations given between 26th May 2017 and 31st December 2018 were retrospectively tested for HEV RNA by qualitative NAT (cobas HEV, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) in minipools up to 48 samples.
Reactive minipools were resolved and recipients of the blood products were identified. For some recipients, archive samples that have been collected at the day of transfusion or before and additional samples collected thereafter, were available for follow-up. Whether a transmission of HEV by transfusion has occurred, was investigated by qualitative NAT-testing as well as antibody testing (HEV ELISA IgG, EUROIMMUN, Lübeck, Germany) of the recipients archive samples.
Results: 75,905 blood donations were given by 23,703 donors. 85 HEV RNA-positive donations from 76 donors were identified (figure 1). This represents 0.12% of all blood donations and 0.32% of donors. 139 HEV RNA-positive blood products were transfused. From 30 recipients archive samples were available for further analysis (figure 1). 20/30 (66.7 %) recipients had no evidence for an HEV infection before or after transfusion. In 3/30 (10.0 %) recipients, anti-HEV IgG was detected already at the time of transfusion. In 5/30 (16.7 %), weak and transient IgG antibodies against HEV were detectable, but no HEV RNA. In 2/30 (6.7 %) recipients (table 1, table 2), HEV RNA was detectable after transfusion of an HEV RNA-positive blood product (red blood cell concentrate [RBC] and pooled platelet concentrate [PC], respectively). No clinical signs of hepatitis occured in the two recipients.

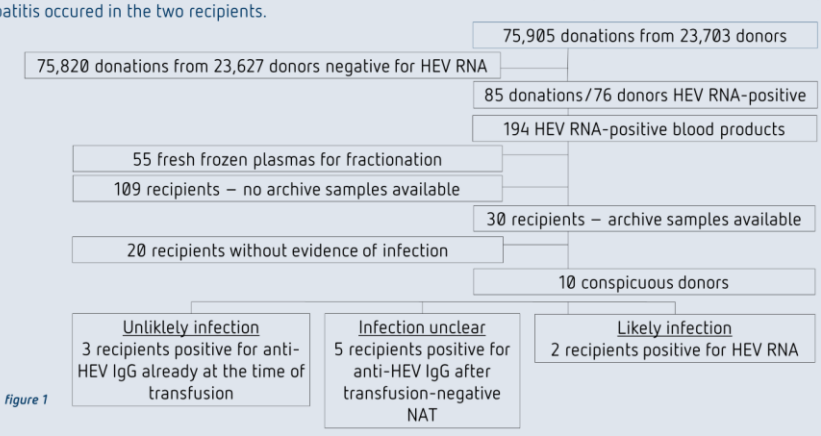

figure 1

recipient 1	course (days after transfusion)			
Parameter	- 4	+ 55	+ 84	+ 559
HEV RNA	negative	positive	negative	not tested
anti-HEV IgG	negative	negative	positive	positive
anti-HEV IgG-ratio	0.2	0.6	4.4	1.5
GOT (U/l)	40 (< 35)	20	27	24
GPT (U/l)	31 (< 35)	11	18	18
γ-GT (U/l)	22 (< 40)	< 7	not tested	not tested

table 1
recipient 1 of an HEV RNA-positive RBC

recipient 2	course (days after transfusion)		
Parameter	0	+ 45	+ 52
HEV RNA	not tested	positive	positive
anti-HEV IgG	not tested	negative	negative
anti-HEV IgG-ratio	not tested	0.2	0.1
GOT (U/l)	18 (< 35)	26	21
GPT (U/l)	33 (< 35)	38	31
γ-GT (U/l)	43 (< 40)	46	190

table 2
recipient 2 of an HEV RNA-positive PC

Conclusion

In only 2/30 (6.7 %) recipients, a transfusion-transmitted HEV-infection was very probable without overt signs of hepatitis. This is a lower rate of transfusion-transmitted HEV infection than described elsewere (1). Reasons might be an HEV RNA concentration in the blood product, that was to low for infection (2). Reassessment the cost-benefit ratio of HEV RNA testing in blood donors might be reasonable, but at least, reduction of the detection limit (2.000 IU HEV RNA/ml/single donation) seems inappropriate.

Wissen schafft Gesundheit

References:
1. Hewitt PE et al. Hepatitis E virus in blood components: a prevalence and transmission study in southeast England. Lancet 2014.
2. Tedder RS et al. Hepatitis E: pigs or blood – that is the question. TRANSFUSION 2017.

Kontakt
Nele Sommer-Strunck - Institut für Transfusionsmedizin
Universitätsklinikum Schleswig-Holstein – Campus Lübeck
Ratzeburger Allee 160, 23538 Lübeck
Nelemaxi.sommer-strunck@uksh.de

8.5 Ethikvotum

UNIVERSITÄT ZU LÜBECK

Universität zu Lübeck · Ratzeburger Allee 160 · 23562 Lübeck

Herrn
Dr. med. David Juhl
Institut für Transfusionsmedizin
im Hause

David.juhl@uksh.de

Ethik-Kommission

Vorsitzender:
Herr Prof. Dr. med. Alexander Katalinic
Stellv. Vorsitzender:
Herr Prof. Dr. med. Frank Gieseler

Geschäftsstelle:
Dr. rer. nat. Inga Kaufhold
Dr. rer. nat. Christopher Link
Janine Kurzaj-Erdmann
Doris Seuthe

E-Mail: ethikkommission@uni-luebeck.de

Website: www.uni-luebeck.de/forschung/kommissionen/ethikkommission

Aktenzeichen: 22-134
Datum: 14. Dezember 2022 DS / CL

Sitzung der Ethik-Kommission am 02. Juni 2022, Nachreichung vom 02. Dezember und 08. Dezember 2022
Antragssteller: Herr PD Dr. med. David Juhl,
Titel: Studie zur Relevanz des Hepatitis E-Virus in der Transfusionsmedizin

Sehr geehrter Herr Dr. Juhl

vielen Dank für Ihr o.g. Schreiben, in dem Sie unserem Wunsch nach weiteren Informationen zum Studienvorhaben nachkommen.

Folgende Unterlagen lagen vor:

- Ihr Anschreiben vom 01. Dezember 2022
- Modifiziertes Studienprotokoll vom 08. Dezember 2022

Die Kommission hat gegen die Durchführung der Studie **keine Bedenken**.

Bei Änderung des Studiendesigns sollte der Antrag erneut vorgelegt werden.
Über alle schwerwiegenden oder unerwarteten und unerwünschten Ereignisse, die während der Studie auftreten, ist die Kommission umgehend zu benachrichtigen.
Die Deklaration von Helsinki in der aktuellen Fassung fordert in § 35 dazu auf, jedes medizinische Forschungsvorhaben mit Menschen zu registrieren. Daher empfiehlt die Kommission grundsätzlich die Studienregistrierung in einem öffentlichen Register (z.B. unter www.drks.de).
Die ärztliche und juristische Verantwortung des Studienleiters und der an der Studie teilnehmenden Ärzte bleibt entsprechend der Beratungsfunktion der Ethikkommission durch unsere Stellungnahme unberührt.
Datenschutzrechtliche Aspekte von Forschungsvorhaben werden durch die Ethikkommission grundsätzlich nur kursorisch geprüft. Dieses Votum / diese Bewertung ersetzt mithin nicht die Konsultation des zuständigen Datenschutzbeauftragten.

Mit freundlichem Gruß

Prof. Dr. med. Alexander Katalinic
Vorsitzender

8.6 Eidesstattliche Versicherung

1. Die eingereichte Dissertation mit dem Titel „Die Relevanz des Hepatitis E Virus in der Transfusionsmedizin“ habe ich selbstständig verfasst.

2. Ich habe nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und mich keiner unzulässigen Hilfe Dritter bedient. Ich habe wörtlich oder sinngemäß aus anderen Werken übernommene Inhalte als solche gemäß den wissenschaftlichen Zitierregeln kenntlich gemacht.

3. Die Arbeit oder Teile davon habe ich bislang nicht an einer anderen Hochschule des In- oder Auslands als Bestandteil einer Prüfungs- oder Qualifikationsleistung vorgelegt.

4. Die von mir vorgelegte Arbeit ist bisher noch nicht, auch nicht teilweise, veröffentlicht worden.

5. Ich habe weder vorher noch anderenorts einen Zulassungsantrag gestellt oder eine Dissertation vorgelegt. Weiterhin habe ich mich bisher noch keinem Promotionsverfahren unterzogen.

6. Die Bedeutung der eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unrichtigen oder unvollständigen eidesstattlichen Versicherung sind mir bekannt. Ich versichere an Eides statt, dass ich nach bestem Wissen die Wahrheit erklärt und nichts verschwiegen habe.

9 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem einzigartigen Doktorvater PD Dr. med. David Juhl, für seine zuverlässige und hervorragende Betreuung sowie die konstruktiven Diskussionen über den gesamten Verlauf meiner Dissertation.

Weiterhin möchte ich Prof. Dr. med. Siegfried Görg dafür danken, dass ich im Institut für Transfusionsmedizin meine Promotion durchführen durfte.

Darüber hinaus danke ich insbesondere Petra Glessing für die tatkräftige, geduldige und stets hilfsbereite Unterstützung im Labor.

Ebenfalls danke ich von Herzen meinen Eltern für ihre Begleitung auf meinem Lebensweg. Ihre stetige Unterstützung in jeder noch so schwierigen Lebensphase sowie ihre bedingungslose Liebe ermöglichen mir so viel, wofür ich ihnen zutiefst dankbar bin. Gleiches gilt für meinen Mann, meine Schwiegereltern und meine Freunde. Es ist ein Geschenk eine so tolle Familie und Freunde zu haben.

Die Wichtigste zum Schluss. Meine Tochter. Bei der ich jedes Mal, wenn ich sie ansehe, weiß wofür ich das alles tue. Du bist mein Antrieb für die Zukunft und mein Ankerplatz in der Gegenwart. Danke, dass es dich gibt.