

Influenzaviren

Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit

Der Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit gibt als nationales Beratungsgremium Stellungnahmen zu neuartigen Erregern ab, bewertet neue Erkenntnisse zu bekannten Erregern und erarbeitet entsprechende Empfehlungen für die Fachöffentlichkeit. Diese Serie von Stellungnahmen zu einzelnen Erregern werden als Zusammenfassung des aktuellen Wissensstandes veröffentlicht, speziell unter transfusionsmedizinisch relevanten Aspekten (Bundesgesundhbl., 41, 53, 1998).

Frühere Beiträge befassten sich mit der *Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung*, dem *Parvovirus B19* und dem *GB-Virus Typ C* (Hepatitis-G-Virus), (Bundesgesundheitsbl., 41, 78–90, 1998), *HTLV-I/-II*, (Bundesgesundheitsbl., 41, 512, 1998), *Yersinia enterocolitica*, (Bundesgesundheitsbl., 42, 613, 1999), *TT-Virus* (Bundesgesundheitsbl., 43, 154–156, 2000), *Hepatitis B Virus (HBV)*, (Bundesgesundheitsbl., 43, 240–248, 2000) und *Humanes Cytomegalovirus (HCMV)*, (Bundesgesundheitsbl., 43, 653–659, 2000), *Hepatitis A Virus* (Bundesgesundheitsbl., 44, 844–850, 2001), *Treponema pallidum* (Bundesgesundheitsbl. 45, 818–826, 2002), *Hepatitis-C-Virus* (Bundesgesundheitsbl. 46, 712–722, 2003), *Humanes Immunschwächevirus (HIV)* (Bundesgesundheitsbl. 47, 83–95, 2004), *Arboviren – durch Arthropoden übertragbare Viren* (Bundesgesundheitsbl. 47, 910–918, 2004), *Coxiella burnetii – Erreger des Q-(query)-Fiebers* (Bundesgesundheitsbl. 48, 814–821, 2005) und *Variante Creutzfeldt-Jakob-Krankheit* (Bundesgesundheitsbl. 48, 1082–1090, 2005).

1 Wissensstand über die Erreger

1.1 Erregereigenschaften

Influenzaviren gehören zur Familie der *Orthomyxoviren*, bei denen es sich um behüllte Viren mit einem segmentierten Einzelstrang-RNA-Genom in Negativorientierung handelt. Innerhalb dieser Virusfamilie unterscheidet man 4 Genera: Influenzavirus A, Influenzavirus B und Influenzavirus C sowie Thogotovirus, von denen aber lediglich die Genera Influenzavirus A und B eine klinische Relevanz für den Menschen haben. Im Viruspartikel sind die 8 Genomsegmente durch das Nukleoprotein geschützt, an das der Polymerase-Komplex assoziiert ist. Dieses helikale Kapsid ist von einer Membran zellulären Ursprungs umgeben, die durch das M1-Matrixprotein unterlagert wird. Im Elektronenmikroskop sind Spike-artige Projektionen auf der Virusoberfläche erkennbar, die gemäß ihrer Funktion als Hämagglutinin (HA) und Neuraminidase (NA) bezeichnet werden [1]. Das HA wird als Vorläuferprotein synthetisiert und durch zelluläre Serinproteasen in die funktionellen Proteine HA1 und HA2 gespalten. Die Aminosäuresequenz im Bereich der Spaltstelle determiniert die Prozessierung des HA durch zelluläre Proteasen und damit auch den Organotropismus. Verändert sich die Aminosäuresequenz der Spaltstelle durch Insertion von basischen Aminosäuren, so können ubiquitär vorkommende Proteasen wie Furin das HA spalten und somit eine systemische Ausbreitung ermöglichen. Durch diesen Mechanismus entsteht aus

einem niedrigpathogenen ein hochpathogenes Influenzavirus.

Der Erreger ist als behülltes Virus gegen schädigende Umwelteinflüsse relativ empfindlich, in Abhängigkeit von den Umgebungsbedingungen (z. B. Feuchtigkeit und Temperatur) kann er allerdings über mehrere Stunden persistieren, bei niedrigen Temperaturen (z. B. < 20°C) in Wasser auch deutlich länger (bis zu einigen Monaten). Influenzaviren sind empfindlich gegen Lipidlösungsmittel und Detergentien. In Abhängigkeit vom Virussubtyp sind Influenzaviren empfindlich gegen niedrigen pH und Hitze, wobei Influenza-A-Viren mit ungespaltenem HA offensichtlich stabiler sind (Verlust der Infektiosität bei pH < 4,5) als Viren mit gespaltenem HA (Verlust der Infektiosität bei pH < 5) [2].

Das herausragende Charakteristikum der Influenzaviren ist ihre schnelle Evolution, die vor allem bei Influenza-A-Viren zu einer hohen Wandlungsfähigkeit führt. Aufgrund der antigenen Eigenschaften ihrer Hüllproteine sind Influenza-A-Viren in eine Vielzahl von Subtypen unterteilt. Bislang wurden 16 verschiedene HA- und 9 verschiedene NA-Typen identifiziert, die zur Benennung der Viren nach dem Schema H(x)N(y) herangezogen werden [1, 3]. Bei Influenza-B-Viren erfolgt keine Differenzierung in Subtypen. Die Anhäufung von Punktmutationen führt stufenweise zu einer Veränderung der Virusproteine (vor allem bei den beiden Oberflächenantigenen HA und NA). Dieser Mechanismus wird als „Antigendrift“ bezeichnet und ist ebenfalls typisch für Influenza-B-Viren. Die Variabilität der Typ-B-Viren

ist aber auch durch andere Mechanismen wie Insertion und Deletion gekennzeichnet, wie die seit mehr als 20 Jahren kozirkulierenden stabilen Influenza-B-Linien zeigen [4, 5].

Unter einem „Antigenshift“ (Reassortment) versteht man den Austausch ganzer Genomsegmente, vor allem der HA-Gene, wodurch es zum Auftreten von Influenzaviren kommen kann, die gegenüber den Elternviren einen Selektionsvorteil haben. Voraussetzung für das Reassortment ist die Doppelinfektion einer Zelle mit 2 verschiedenen Influenza-A-Viren. Dabei entsteht eine Vielzahl verschiedener Mischviren, die über die einzelnen Genomsegmente der Elternviren unterschiedliche Eigenschaften erhalten haben. Ein Beispiel stellt das Auftreten des Subtyps Influenza A/H2N2 im Jahre 1957 dar, der die bis dahin zirkulierenden Influenza-A/H1N1-Viren ablöste [6, 7].

Besondere Aufmerksamkeit hat die Influenza durch die Todesfälle bei Menschen gefunden, die durch das hochpathogene Vogelinfluenza-A/H5N1-Virus verursacht wurden. Hier zeigt sich, dass für den Menschen völlig neue Influenza-A-Viren tödlich verlaufende Infektionen auslösen können. Humane H5N1-Transmissionen mit hoher Mortalität sind seit den ersten Ausbrüchen von H5N1-bedingter Geflügelpest bei Geflügel in Südostasien im Jahr 2003 mittlerweile in 10 Ländern aufgetreten [8]. Es ist möglich, dass sich dieses Virus durch Mutationen besser an den Menschen anpassen und dann in der menschlichen Population ausbreiten kann.

1.2 Infektion und Infektionskrankheit

Die Übertragung von Influenzaviren erfolgt vermutlich überwiegend durch Tröpfchen (Aerosol), die relativ groß sind ($> 5 \mu\text{m}$) und z. B. beim Sprechen, insbesondere aber beim Husten oder Niesen entstehen, und über eine geringe Distanz auf die Schleimhäute von Kontaktpersonen gelangen können. Einzelne Publikationen legen aber auch die Möglichkeit einer Übertragung durch so genannte Tröpfchenkerne nahe, die kleiner sind ($< 5 \mu\text{m}$) und länger in der Luft schweben können (aerogene Übertragung).

Darüber hinaus kann die Übertragung auch durch direkten Kontakt mit Virus-kontaminierten Oberflächen (z. B. durch Händeschütteln) und anschließendem Mund/Nasen-Kontakt erfolgen. Nach Infektion kommt es zu einer lokalen Vermehrung der Viren in der Nasen- und Rachenschleimhaut, die im weiteren Verlauf auch die tieferen Atemwege erfasst.

Klinisch charakteristisch für die humane Influenza ist ein plötzlicher Temperaturanstieg auf $> 38,5^\circ\text{C}$ ein bis 3 Tage nach der Infektion. Kopf- und Gliederschmerzen, Abgeschlagenheit und allgemeine Schwäche sowie trockener Husten sind weitere Symptome. Eine Ansteckungsfähigkeit beginnt bereits kurz (< 24 Stunden) vor Auftreten der klinischen Symptomatik und besteht danach gewöhnlich 3–5 Tage lang. Kleine Kinder können Viren früher und über längere Zeit als Erwachsene ausscheiden. Die schwersten Verlaufsformen sind der perakute Todesfall innerhalb weniger Stunden und die primäre Influenzapneumonie. Auch Enzephalitiden und Myokarditiden kommen vor. Schwere und fatale Verläufe bei primär viraler und viral-bakterieller Pneumonie bei Kindern und jungen Erwachsenen ohne Vorerkrankungen sind bekannt und in einzelnen Fallberichten beschrieben [9, 10]. Komplikationen treten vor allem bei älteren Personen mit Grundkrankheiten auf (chronische Herz- oder Lungenerkrankungen, Stoffwechselerkrankungen wie z. B. Diabetes, Immundefekte usw.). Bei ihnen können sich insbesondere Pneumonien durch bakterielle Superinfektion (durch z. B. *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*) entwickeln [11, 12]. Bei Kindern kann die Gabe von Salicylaten zum Reye-Syndrom führen. Das Reye-Syndrom beschreibt eine akute Hirnfunktionsstörung. Diese tritt infolge eines Leberschadens auf, der meistens in Zusammenhang steht mit der Einnahme von Acetylsalicylsäure im Rahmen von fieberhaften Virusinfekten.

Anders stellt sich das Bild bei Infektionen des Menschen mit dem aviären Influenzavirus des Subtyps H5N1 dar, der seit 2003 in Südostasien, seit Herbst 2005 aber auch im Nahen Osten, in Zentralafrika und in Süd- und Mitteleuropa in der

Wildvogelpopulation zirkuliert. Nach einer verlängerten Inkubationszeit von bis zu 7 Tagen waren zunächst auch hier ein plötzlicher Temperaturanstieg ($> 38^\circ\text{C}$) und Influenza-ähnliche Symptome charakteristisch, wobei nicht bei allen Patienten der Respirationstrakt beteiligt war. Häufig waren wässrige Durchfälle, Erbrechen sowie Bauch- und Brustschmerzen zu beobachten. Ebenfalls beschrieben wurde das Auftreten von Enzephalitiden. Es kommt somit zu einer Infektion von Geweben außerhalb des Respirationstrakts, sodass von einer zumindest kurzzeitigen Virämie ausgegangen werden muss (siehe 4.1). Diese konnte im Fall des fatalen Verlaufs einer H5N1-Infektion eines Jungen in Thailand auch labor-diagnostisch nachgewiesen werden [13]. Insgesamt ist der Krankheitsverlauf ausgesprochen aggressiv, sodass es zu einer raschen Verschlechterung des Zustands der Patienten sowie einer hohen Mortalitätsrate kommt [14, 15].

1.3 Epidemiologie

Während Influenza-B-Infektionen nur beim Menschen auftreten, infizieren Influenza-A-Viren neben dem Menschen auch Haustiere wie Schweine und Pferde. Als Reservoir für Influenza-A-Viren werden Wildvögel, vor allem das Wassergeflügel, angesehen, bei denen alle HA- und NA-Typen auftreten [16, 17]. Bei Hühnern, aber auch bei anderen Vogelarten, können Infektionen mit so genannten hochpathogenen Influenzaviren der Subtypen H5 und H7 auftreten und das Krankheitsbild der klassischen Geflügelpest (Highly Pathogenic Avian Influenza, HPAI), häufig auch als Vogelgrippe bezeichnet, hervorrufen. Ursache ist, dass sich das Virus systemisch, d. h. in vielen Organen vermehren kann, was zu einer Erkrankung mit hoher Mortalität führt.

Beim Menschen ist seit 1977 eine Kozirkulation der Subtypen Influenza A/H3N2 und A/H1N1 sowie von Influenza B zu verzeichnen. Humane Viren vom Subtyp H1N2 wurden erstmals nach 1977 sporadisch, aber in späteren Jahren nicht mehr nachgewiesen. Sie verursachten erst wieder während der Saison 2001/2002 lokale Ausbrüche in einigen Ländern. Diese Viren erlangten jedoch keine epidemiolo-

gische Bedeutung und wurden seit 2005 nicht mehr nachgewiesen [18].

Influenzavirusinfektionen des Menschen sind weltweit verbreitet. In der nördlichen und südlichen Hemisphäre treten regelmäßig in den jeweiligen Wintern die saisonalen Grippewellen auf. Durch die um 6 Monate versetzten Jahreszeiten tritt die winterliche Grippewelle auf der Südhalbkugel während des auf der nördlichen Hemisphäre herrschenden Sommers auf. Man schätzt, dass diese Grippewellen jährlich weltweit zu etwa 500.000 Todesfällen führen [19]. Über die Epidemiologie von Influenza in tropischen Ländern ist wenig bekannt, jedoch wird vermutet, dass Influenza hier das ganze Jahr über auftreten kann.

Trotz der ausgeprägten Saisonalität können in den entsprechenden Ländern Influenzaerkrankungen auch außerhalb der Grippewellen auftreten und mitunter sogar zu räumlich und zeitlich begrenzten Ausbrüchen führen. Während der jährlichen Grippewellen („Epidemien“) werden schätzungsweise 10–15 % der Bevölkerung infiziert. In ihrem Schweregrad können sich die Grippewellen deutlich voneinander unterscheiden. Die nationale Surveillance von Influenzaerkrankungen ist in Deutschland auf 3 Säulen aufgebaut: dem Nachweis und der Charakterisierung zirkulierender Viren durch das Nationale Referenzzentrum für Influenza am Robert Koch-Institut, dem Sentinelsystem der Arbeitsgemeinschaft Influenza (AGI) sowie der Meldepflicht labordiagnostischer Virusnachweise. In den letzten Jahren waren die Saison 2002/03 und 2004/05 durch eine außergewöhnlich hohe Influenzaaktivität gekennzeichnet. Im Zeitraum 2000/01 bis 2004/05 erforderten die jährlichen Influenzawellen im Durchschnitt etwa 2.900.000 Exzesskonsultationen, 900.000 Arbeitsunfähigkeiten (geschätzt für die Altersgruppe 16–60 Jahre), 14.000 zusätzliche Hospitalisierungen und etwa 10.000 Todesfälle im Vergleich zu Zeiträumen ohne Influenzaviruszirkulation [20, 21]. Die Mehrzahl der Influenza-assoziierten Todesfälle betrifft nicht nur in Deutschland, sondern auch in anderen Ländern die Altersgruppe der über 60-Jährigen [20, 22].

„Pandemien“ durch Influenza sind gekennzeichnet durch das (Wieder-)Auftre-

ten eines Influenza-A-Subtyps, gegen den die Mehrheit der menschlichen Bevölkerung nicht immun ist, und der sich folglich in einer weltumfassenden Epidemie über den Globus verbreitet. Das vergangene Jahrhundert war durch 3 große Pandemien gekennzeichnet. Die Spanische Grippe von 1918 (H₁N₁) verursachte etwa 40 Millionen Todesopfer, während die Auswirkungen der Asiatischen Grippe von 1957 (H₂N₂) auf etwa 1–2 Millionen und die der Asiatischen Grippe von 1968 (H₃N₂) auf 0,75–1 Millionen Tote geschätzt werden [19].

Der Ausbruch der Klassischen Geflügelpest in den Niederlanden und Belgien im Frühjahr des Jahres 2003 durch Influenza A H₇N₇ und die seit 1998 von Südostasien ausgehende Epidemie durch Influenza A H₅N₁ haben durch die Infektion auch von Menschen besonderes öffentliches Interesse gewonnen. Es wird diskutiert, dass eine Pandemie durch das hochpathogene Influenzavirus des Typs H₅N₁ verursacht werden könnte. Bislang zirkuliert dieses Virus fast ausschließlich in (Wild-)Vögeln. Nur in Einzelfällen ist es zu einer Infektion von Menschen gekommen. Seit den ersten humanen H₅N₁-Erkrankungen im Jahre 2003 wurden von der WHO bisher (Stand März 2007) offiziell 277 Erkrankungsfälle und 168 Todesfälle aufgrund von H₅N₁ bestätigt. Auffällig dabei ist die Altersstruktur der betroffenen Personen, bei denen es sich vornehmlich um Jugendliche und junge Erwachsene handelt. Derzeit haben sich 2 Herde mit wiederkehrenden menschlichen Infektionen und Todesfällen in Indonesien und Ägypten gebildet. Auch eine genetische Prädisposition wird diskutiert, da bei Ausbrüchen innerhalb einer Familie ausschließlich Blutsverwandte betroffen waren.

1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

Für den direkten Nachweis einer Influenzavirusinfektion steht eine Vielzahl von Techniken zur Verfügung. Eingesetzt werden in der Regel klinische Materialien des oberen (Nase, Rachen) und bei entsprechender Indikation, z. B. H₅N₁, auch des unteren Respirationstraktes. Serologische Verfahren haben für den Nachweis

einer akuten Infektion an Bedeutung verloren.

1.4.1 Serologie

Influenza-spezifische Antikörper im Serum können entweder als Gesamt-Antikörper nachgewiesen oder auch in einzelne Antikörper-Subklassen (IgA, IgM, IgG) differenziert werden. Zu den traditionellen eingesetzten Methoden zählt die Komplementbindungsreaktion (KBR) gefolgt von den heute bevorzugten Methoden Enzymimmunoassay (EIA) und Immunfluoreszenztest (IFT). Kompliziertere Verfahren wie Hämagglutinationshemmtest (HHT) und der Neutralisationstest erfordern Spezialreagenzien und werden in Deutschland nur in wenigen Laboratorien durchgeführt. Diese Tests können auch Auskunft darüber geben, welche Virusvariante für die Infektion verantwortlich war. Eine Influenzavirusinfektion resultiert in einem über Jahrzehnte anhaltenden IgG-Titer, aber auch ein KBR-Titer kann über längere Zeit erhöht sein. Daher sollte für den Nachweis einer akuten Infektion ein Serumpaar (zu Beginn und 10–14 Tage nach Beginn der Erkrankung) untersucht werden. Als positiver Nachweis wird ein 4-facher Titeranstieg gewertet. Isolierte IgA- oder IgG-Nachweise hingegen haben nur eine eingeschränkte Aussagekraft. Die Ergebnisse der Antikörperrückweise liegen sowohl für Therapieentscheidungen als auch für das Patientenmanagement zu spät vor. Serologische Verfahren zum Nachweis einer Infektion sind daher vor allem im Rahmen epidemiologischer Studien, bei Untersuchungen zur Effizienz der Impfung oder bei der Aufklärung von Ausbrüchen von Bedeutung. Bezüglich der aviären Influenza kommt der Serologie jedoch größere Bedeutung zu. Ein sicherer Nachweis einer Infektion mit aviären Influenzaviren wie A/H₅N₁ ist nicht immer mittels PCR oder Virusanzucht möglich und vor allem abhängig vom Zeitpunkt der Infektion und dem Schweregrad der Erkrankung (http://www.who.int/csr/don/2006_09_14/en/index.html). Der für den Nachweis einer humanen Influenza sehr gut einsetzbare HHT ist nicht sensitiv genug, um eine Infektion mit aviären Influenzaviren nachzuweisen. Als Goldstandard dient hier der Neutralisationstest.

1.4.2 Virusanzucht

Die Isolierung von Influenzaviren erfolgt aufgrund der technischen Voraussetzungen nur in spezialisierten Laboratorien unter S2-Bedingungen. Die Virusanzucht ist sehr zeitaufwändig und erfordert das Vorhandensein vermehrungsfähiger Viruspartikel in der Patientenprobe. Für die Anzucht werden seit Jahrzehnten embryonierte Hühnereier benutzt. Dieses Verfahren ist nach wie vor für die Kultivierung von Referenzstämmen unerlässlich, wenn auch für die Primäransucht in den letzten Jahren überwiegend Zellkulturen eingesetzt wurden. Besonders bewährt haben sich Madin Darby Canine Kidney-(MDCK-)Zellen. Die Ausbildung eines zytopathischen Effekts kann wenige Tage bis zu fast 2 Wochen erfordern. Die Bestätigung der Anzucht muss anschließend durch einen spezifischen Test (ELISA oder IFT) vorgenommen werden. Zur Beschleunigung des Verfahrens, also vor Entstehen eines zytopathischen Effekts, können virusspezifische Antigene mittels IFT (Shell-vial-Methode) nachgewiesen werden. Diese Schnellkultivierungen können nach ein bis 2 Tagen ein Ergebnis liefern, sind aber weniger sensitiv. Die Virusanzucht spielt daher zum Nachweis einer Influenza aufgrund bereits erwähnter Faktoren weder im ambulanten noch im klinischen Bereich eine Rolle.

Im Rahmen der nationalen und globalen Influenzavirusüberwachung ist die Virusanzucht hingegen von grundlegender Bedeutung. Zuständig für eine umfassende Charakterisierung der in Deutschland zirkulierenden Influenzaviren ist das Nationale Referenzzentrum für Influenza. Die isolierten Viren werden zur Antigencharakterisierung mit einem Panel spezifischer Immunseren untersucht, um die Ähnlichkeit mit Impfstämmen und in der vergangenen Saison zirkulierenden Influenzaviren zu bestimmen. Darüber hinaus werden auch molekulare und phylogenetische Analysen erstellt, um detaillierte Kenntnisse über die Evolution der Influenzaviren und beginnende Driftereignisse zu erhalten [23, 24]. In diesem Rahmen erfolgt eine enge Zusammenarbeit sowohl auf europäischer Ebene als auch mit WHO-Institutionen, um aufgrund dieser gemeinsamen Überwachungs- und Analysedaten die optimale Empfehlung für

die Impfstoffkomposition der kommenden Saison zu ermöglichen [25].

1.4.3 Antigennachweis

Im Vergleich zur Virusanzucht sind Antigennachweise schneller und in jedem Labor durchzuführen. Hierfür stehen kommerzielle Tests als Immunfluoreszenz- und ELISA-Tests zur Verfügung. Diese Verfahren geben recht gute Resultate, wenn ausreichend Virusantigene in der Patientenprobe vorhanden sind. Der Immunfluoreszenztest ist nur valide, wenn geeignetes Probenmaterial vorliegt, das von erfahrenem Personal ausgewertet wird. Methoden wie IFT und ELISA können in wenigen Stunden ein Resultat liefern. Die Spezifität dieser Tests ist meist sehr gut, aber die Sensitivität ist geringer als bei Verfahren, die entweder das Virus selbst oder das Genom des Virus nachweisen [26, 27, 28].

Seit einigen Jahren sind Antigenteste erhältlich, die als „Schnellteste“ bezeichnet werden. Derzeit in Deutschland verfügbare Schnellteste sind Enzymimmunoassays, die sich sowohl in ihrem Format als auch in der Testdurchführung etwas unterscheiden. Generell ist das Ergebnis etwa nach 10–15 min abzulesen. Mit Ausnahme eines Testes sind alle anderen in der Lage, zwischen Influenza A und B zu differenzieren. Eine hohe Spezifität zeichnet alle Tests aus. Die Angaben über die Sensitivität schwanken zwischen 60 % und 100 % in Proben von klinisch Erkrankten. Überwiegend wurden Virusanzucht und/oder IFT als Referenzmethode eingesetzt. Die Sensitivität dieser Schnellteste ist vergleichbar der von IFT und EIA [29, 30].

1.4.4 Genomnachweis

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) ist eine sehr sensitive und spezifische Methode. Mit Hilfe spezifischer Oligonukleotidprimer werden die gewünschten Genomsequenzen so vervielfältigt (amplifiziert), dass sie anschließend mit verschiedenen Techniken nachgewiesen werden können. Frühere Assays beschränkten sich auf den Einsatz von Primern und die Analyse des PCR-Produktes im Agarosegel [31, 32]. Eine höhere Spezifität der PCR kann jedoch durch den Einsatz spezifischer Sonden mittels Hybridisierungs-Blot [33, 34] oder PCR-EIA [35, 36] erzielt werden.

Eine höhere Spezifität und Sensitivität des Nachweises kann auch durch eine „nested“-PCR erfolgen [37].

Der Einsatz der PCR und der sich anschließenden Methoden zur Produktanalyse in diagnostischen Laboratorien erfordert, dass diese Techniken einfach, schnell und reproduzierbar durchzuführen sind. Diesen Ansprüchen werden neuere „Real-time-Verfahren“ gerecht. Das spezifische PCR-Produkt wird mit Hilfe einer fluoreszenzmarkierten Sonde bereits während der PCR durch Online-Messung detektiert, sodass eine anschließende Produktanalyse entfällt. Spezifische Primer/Sonden-Sets ermöglichen einen schnellen und sensitiven Nachweis von Influenzaviren im Patientenmaterial. Ein großer Vorteil dieser Methode ist die Vermeidung von Kontaminationen, da jeglicher Umgang mit PCR-Produkten entfällt. Verwendet werden je nach Fragestellung Primer/Sonden, die an konservierte Genombereiche binden und so den generellen Nachweis von Influenza-A- und den getrennten Nachweis von Influenza-B-Viren ermöglichen. PCR-Tests für spezifische Sequenzabschnitte auf den HA- und NA-Genen werden zur Differenzierung in die verschiedenen Subtypen der Influenza-A-Viren eingesetzt [38].

2 Blut- und Plasmaspender

Die aufgeführten Besonderheiten für den Pandemiefall beziehen sich auf die Stufe 6 der Pandemiedefinition der WHO (s. **■ Tabelle 1**), soweit der Bereich der Blutspendestelle betroffen ist. Es ist daher erforderlich, dass die Blutspendedienste aktuelle epidemiologische Bewertungen erhalten. Durch die Integration aller Blutspendedienste in die Pandemiepläne der Länder und Festlegung des Informationsflusses muss im Pandemiefall eine adäquate und koordinierte Reaktion der Blutspendedienste entsprechend der aktuellen epidemiologischen Lage ermöglicht werden.

2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Belastbare Daten zur Prävalenz von Influenza-Virusinfektionen bei Blutspendern

Tabelle 1

Pandemiephasen, Einteilung nach dem Pandemieplan der WHO [39]	
Interpandemische Phase	
Phase 1	Kein Nachweis neuer Influenzavirus-Subtypen beim Menschen. Ein Subtyp, der zu einem früheren Zeitpunkt Infektionen beim Menschen verursacht hatte, zirkuliert möglicherweise bei Tieren. Das Risiko menschlicher Infektionen wird niedrig eingestuft.
Phase 2	Kein Nachweis neuer Influenza-Subtypen bei Menschen. Zirkulierende Influenzaviren bei Tieren stellen ein erhebliches Risiko für Erkrankungen beim Menschen dar.
Pandemische Warnphase	
Phase 3	Menschliche Infektion(en) mit einem neuen Subtyp, aber keine Ausbreitung von Mensch zu Mensch oder nur in extrem seltenen Fällen bei engem Kontakt.
Phase 4	Kleine(s) Cluster mit begrenzter Übertragung von Mensch zu Mensch. Die räumliche Ausbreitung ist noch sehr begrenzt, sodass von einer unvollständigen Anpassung des Virus an den Menschen ausgegangen werden kann.
Phase 5	Große(s) Cluster, die Ausbreitung von Mensch zu Mensch ist jedoch weiter lokalisiert; es muss davon ausgegangen werden, dass das Virus besser an den Menschen angepasst ist, (möglicherweise) jedoch nicht optimal übertragbar ist (erhebliches Risiko einer Pandemie)
Pandemie	
Phase 6	Pandemische Phase: Zunehmende und anhaltende Übertragung in der Allgemeinbevölkerung. In Phase 6 wird weiter unterschieden, ob <ol style="list-style-type: none"> 1. ein Land noch nicht betroffen ist, 2. ein Land betroffen ist oder enge Handels- oder Reisebeziehungen mit einem betroffenen Land hat, 3. die Aktivität zurückgegangen ist, oder es sich um 4. eine zweite Pandemiewelle handelt.
Postpandemische Phase	
Entspricht der interpandemischen Phase	

liegen nicht vor. Es ist aber davon auszugehen, dass die Prävalenz und Inzidenz im Spenderkollektiv mit der Gesamtbevölkerung vergleichbar ist.

2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Es gelten die allgemeinen Ausschlusskriterien für fieberhafte Infekte entsprechend den Hämotherapie-Richtlinien [40].

Besonderheiten im Pandemiefall. Es ist eine Risikoabwägung zwischen dem Zusammenbruch der Blutversorgung und Lockerung folgender Spenderauswahlkriterien in enger Abstimmung mit den zuständigen Behörden denkbar:

- Hämoglobingrenzwert bei Männern von 13,5 auf 13 g/l, bei Frauen von 12,5 auf 12 g/l nach individueller ärztlicher Entscheidung herabsetzen,
- Spendefrequenz für Thrombozytapheresen erhöhen,
- Altersgrenze für Mehrfachspender bis ca. 70 Jahre nach individueller ärztlicher Entscheidung heraufsetzen,
- nach Abklingen der Grippe-symptome und bei subjektivem körperlichen Wohlbefinden nach individu-

eller ärztlicher Entscheidung Wiederzulassung bereits nach einer Woche, ■ eine medikamentöse Influenzaphylaxe ist ohne klinische Symptome kein Spende-hindernis.

2.3 Spendertestung und Aussagekraft

Eine Spendertestung auf Virusgenom von Influenzaviren ist nach der heutigen Datenlage nicht notwendig.

Besonderheiten im Pandemiefall. Ein Spenderscreening mit Nukleinsäureamplifikationstechniken zum Erkennen einer Virämie ist technisch nicht unverzüglich einführbar. Es stehen keine validierten Testsysteme zur Verfügung. Es gibt bisher keine Hinweise auf eine Influenzaübertragung durch Blutprodukte. Sehr wahrscheinlich ist daher das Risiko einer Infektion durch Blutprodukte gegenüber der Infektionswahrscheinlichkeit durch soziale Kontakte zu vernachlässigen. Bei der zu erwartenden angespannten personellen Situation des Entnahmepersonals erscheint die zusätzliche Belastung mit der Durchführung von Schnelltesten zum Antigennachweis einschließlich der Bera-

tung im positiven Fall gegenüber dem zu erwartenden Nutzen fragwürdig.

2.4 Spenderbefragung

Auf der Basis der Hämotherapie-Richtlinien [40] werden u. a. Fragen zum gesundheitlichen Wohlbefinden und Fieber gestellt.

Besonderheiten im Pandemiefall. Ausdrücklich sollte die spendewillige Person gefragt werden, ob sie an Influenza Erkrankte innerhalb der letzten 7 Tage vor der Spende gepflegt hat oder einen vergleichbar engen Kontakt mit Erkrankten hatte. Die Zulassung dieser Spender sollte unter Berücksichtigung der von ihnen getroffenen individuellen Schutzmaßnahmen und ihres aktuellen Gesundheitszustandes erfolgen. In einer Pandemiesituation ist eine Frage nach generellem Kontakt mit an Influenza Erkrankten wenig sinnvoll.

2.5 Spenderinformation und -beratung

Es gibt derzeit keinen Anlass, Empfehlungen hinsichtlich der Spendertestung,

Spenderberatung und Rückverfolgung auszusprechen. Eine spezielle Spenderinformation findet statt.

Besonderheiten im Pandemiefall. Wenn möglich, sollten für Blutspendeaktionen Termine vereinbart werden, um größere Menschenansammlungen zu vermeiden. Beim Betreten des Spenderlokals sollten die Spender MNS-Masken erhalten und nachdrücklich eine Händedesinfektion angeboten werden. Alle Blutspendedienste sollten entsprechende Informationsmaterialien für Blutspender und Mitarbeiter vorbereitet und ihre Mitarbeiter entsprechend geschult haben.

3 Empfänger

3.1 Prävalenz und Inzidenz von blutassoziierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Zur Prävalenz und Inzidenz von Influenzavirusinfektionen liegen keine empfangerspezifischen Informationen vor. Man kann jedoch davon ausgehen, dass in diesen Kollektiven eine der Normalbevölkerung entsprechende Prävalenz für Antikörper gegen Influenzaviren vorliegt. Zu Influenzavirusinfektionen, die durch Blut oder Blutprodukte übertragen wurden, liegen keine Informationen vor.

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

Aufgrund der hohen antigenetischen Variabilität der Influenzaviren können die kontinuierlich entstehenden Driftvarianten jährliche Grippewellen hervorrufen. Aus diesem Grund muss auch der Grippeimpfstoff jedes Jahr den aktuellen Driftvarianten angepasst sowie für einen größtmöglichen Immunschutz jährlich verimpft werden. Die WHO gibt vor jeder Influenzasaison Empfehlungen zur Antigenzusammensetzung des Impfstoffes. In Deutschland sollen nach den Empfehlungen der Ständigen Impfkommission (STIKO) vor allem Personen mit einem erhöhten Risiko, an Influenza schwer zu erkranken (Personen über 60 Jahre, Patienten mit Grunderkrankungen, chro-

nisch Kranke, Personen mit geschwächtem Immunsystem sowie Personen mit erhöhter Gefährdung wie medizinisches Personal), jährlich immunisiert werden. Die volle Ausbildung eines Impfschutzes benötigt etwa 2 Wochen. Menschen ohne die o.g. Risiken sind durch die Impfung – bei guter Übereinstimmung der Impfstämme mit den zirkulierenden Stämmen – zu etwa 70–90 % vor Erkrankung durch Influenza geschützt. Wenn in der älteren Bevölkerung die Schutzrate vor Erkrankung auch deutlich geringer sein kann, so sind doch schwere Erkrankungen mit Hospitalisierung und fatalem Verlauf bei Geimpften um etwa die Hälfte reduziert [41, 42].

3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Es liegen keine Berichte über Influenza Virusinfektionen durch Blutprodukte vor.

3.4 Therapie und Prophylaxe

In Deutschland sind 3 Virostatika zur Behandlung von Influenzavirusinfektionen zugelassen. Der M2-Ionenkanalblocker Amantadin wird aufgrund der Nebenwirkungen kaum eingesetzt. Rimantadin als anderer Vertreter dieser Substanzklasse verursacht weniger Nebenwirkungen, ist in Deutschland jedoch nicht zugelassen. Diese Adamantane sind nur wirksam gegen Influenza-A-Viren und begünstigen sehr schnell die Entstehung resistenter Virusvarianten [43]. Die deutlich wirksameren Neuraminidaseinhibitoren Oseltamivir und Zanamivir können bei rechtzeitiger Applikation (möglichst innerhalb von 24 Stunden nach Auftreten der Krankheitssymptome) zu einer Verkürzung der Krankheitsphase und zur Verringerung der Symptome führen [44]. Fast alle H5N1-Isolate aus Vietnam und Thailand waren Adamantan resistent, während die meisten der H5N1-Isolate aus Indonesien und China Adamantan sensitiv waren [45]. Die Mehrzahl der H5N1-Viren aus Südostasien aus dem Jahre 2004 war sensitiv gegenüber den Neuraminidasehemmern Oseltamivir und Zanamivir. Eine Reihe von H5N1-Isolaten war auch sensitiv gegenüber beiden Klassen von antiviralen Substanzen [19]. Sowohl hu-

mane als auch H5N1-Viren können eine Oseltamivirresistenz aufweisen, aber sensitiv gegenüber Zanamivir sein [46, 47]. Daher sollte sowohl für humane als auch H5N1-Stämme eine kontinuierliche Resistenztestung erfolgen.

3.5 Übertragbarkeit

Die Hauptübertragungswege sind Tröpfchen- und Schmierinfektion. Übertragungen von humanen Influenzaviren durch Blut und Blutprodukte auch während ausgeprägter Influenzaepidemien wurden bisher nicht berichtet. Zum Schutz des medizinischen Personals im Blutspendewesen sind die vom Ausschuss für biologische Arbeitsstoffe (ABAS) verabschiedeten Beschlüsse zum Schutz des medizinischen Personals sinngemäß anzuwenden [48].

3.6 Häufigkeit der Applikation sowie Art und Menge der Blutprodukte

Bisher gibt es keine Berichte, die eine Übertragung von humanen Influenzaviren durch Blutprodukte bzw. Plasmakomponenten belegen.

4 Blutprodukte

4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Die Symptomatik der Infektion mit humanen Influenzaviren lässt vermuten, dass es zu einer Infektion extrapulmonaler Gewebe kommt, die durch eine Virämie verursacht wird. Mehrfach konnte diese Virämie durch Isolation der Viren aus dem Blut nachgewiesen werden. Die Virusisolation gelang nicht nur während der symptomatischen Phase bei schweren Infektionsverläufen [49], sondern bereits vor Einsetzen der klinischen Symptome bei normalem Krankheitsverlauf konnte Virus im Blut nachgewiesen werden [50, 51]. Diese Virusnachweise blieben jedoch auf Einzelfälle begrenzt.

Bislang gibt es nur wenige Daten im Hinblick auf das Auftreten einer Virämie bei Infektion mit H5N1. Da hier jedoch schwere Diarrhöen mit positivem Virusnachweis beobachtet wurden, muss davon

ausgegangen werden, dass auch bei diesem Virustyp eine Virämie vorkommt. Diese wird in Verbindung mit hoher Viruslast und fatalem Verlauf gebracht [52]. Ob es sich dabei jedoch um Einzelfälle oder eine allgemein gültige Aussage handelt, bleibt abzuklären.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass es bei einer Infektion mit Influenzavirus zu einer Virämie kommen kann, obwohl die Wahrscheinlichkeit bei den humanen Virustypen bei normalem Krankheitsverlauf gering ist. Anders wird dies bei den H5N1-Infektionen beurteilt: Aufgrund der verlängerten Inkubationszeit von bis zu 7 Tagen sowie der scheinbar häufigeren Dissemination der Viren über das Blut wird das Gefährdungspotenzial höher eingestuft. Unklar bleibt aber sowohl bei humanen wie auch aviären Influenzaviren, ob das Einbringen von Virus über den Blutkreislauf zu einer Infektion des Empfängers führen kann. Bei einer natürlichen Infektion dringen die Influenzaviren über das respiratorische Epithel in den Körper ein und replizieren dort. Über die Effizienz der Übertragung durch Blut liegen bisher keine ausreichenden Daten vor. Diese Fragestellung sollte bei zukünftigen Studien berücksichtigt werden.

4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

Influenzaviren gehören zu den behüllten Viren und werden daher durch Lipidlösungsmittel, wie sie z. B. beim S/D-Verfahren eingesetzt werden, inaktiviert. Eine Übertragung von Influenzaviren durch Plasmaderivate ist vor allem aufgrund des Einsatzes physikalischer und chemischer Verfahrensschritte zur Abreicherung und Inaktivierung bei der Herstellung der Produkte ausgeschlossen [53].

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

Prinzipiell können humane Influenzavirusisolate für die Validierung der Herstellungsverfahren für Plasmakomponenten eingesetzt werden. Da eine unterschiedlich hohe Antikörperprävalenz gegen

Influenza A/H1N1-, A/H2N2-, A/H3N2- und Influenza-B-Viren in der Bevölkerung vorhanden ist, sollte dies bei der Validierung der verschiedenen Verfahren berücksichtigt werden.

5 Bewertung

Nach dem bisherigen Kenntnisstand beobachtet man nur bei schweren Verläufen der Infektion mit den humanen Influenzaviren eine Virämie, die meist erst bei Auftreten von Krankheitssymptomen wie Fieber nachweisbar ist. Infektionen des Menschen mit dem aviären Influenza-A-Virus H5N1 zeichnen sich dadurch aus, dass sie zu einem hohen Prozentsatz mit schweren klinischen Symptomen einhergehen und dass bei Todesfällen in allen Organen Virus nachweisbar ist. Es ist davon auszugehen, dass H5N1-Infektionen des Menschen mit einer Virämie einhergehen. Über den Beginn dieser Virämiephase nach Infektion ist nichts bekannt. Da die Inkubationsphase bei den bisher beobachteten Krankheitsfällen etwa ein bis 7 Tage und in der Regel 2–5 Tage dauert, kann davon ausgegangen werden, dass die Virämiephase 7–10 Tage andauern kann.

Prinzipiell ist davon auszugehen, dass Plasmakomponenten sowohl im Hinblick auf die humanen Influenzaviren als auch auf die aviären Influenzaviren sicher sind. Besondere Maßnahmen während der jährlichen Influenzaepidemien mit humanen Influenzaviren im Hinblick auf die Sicherheit von zellulären, nicht inaktivierten Blutkomponenten sind nicht angezeigt.

Für den Pandemiefall müssen die Blutspendedienste aufgrund ihrer Bedeutung bei der Sicherstellung der medizinischen Versorgung der Bevölkerung in die entsprechenden Pläne der zuständigen Bundes- und Landesbehörden und damit in den Informationsfluss eingebunden werden. Da manche Blutspendedienste länderübergreifend tätig sind, ist hier auch eine Abstimmung aller beteiligten Landesbehörden untereinander notwendig.

Für den Pandemiefall sollten ferner die Voraussetzungen geschaffen werden, dass sich Blutspendedienste untereinander schnellstmöglich abstimmen können.

Entsprechend der konkreten epidemiologischen Lage können dann die Blutspendedienste im Benehmen mit den für sie zuständigen Landesbehörden Maßnahmen ergreifen, um die Versorgung mit Blutkomponenten auch unter den Bedingungen einer Pandemie zu gewährleisten. Eine Vereinbarung nach § 3 Abs. 2 des Transfusionsgesetzes, die zurzeit von den Trägern der Blutspendedienste erarbeitet wird, soll die Einzelheiten der gegenseitigen Unterstützung bei Katastrophen und anderen Notfällen festlegen.

Dieses Papier wurde am 19.3.2007 fertig gestellt und vom Arbeitskreis Blut am 30.5.2007 verabschiedet. Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergruppe „Bewertung Blut-assoziiertes Krankheitserreger“ des Arbeitskreises Blut:

Dr. Johannes Blümel, Prof. Dr. Reinhard Burger, Dr. Christian Drost, Dr. Albrecht Gröner, Prof. Dr. Lutz Gürtler, Dr. Margarethe Heiden, PD Dr. Martin Hildebrandt, Prof. Dr. Dr. Bernd Jansen, Dr. Horst Klamm, Dr. Thomas Montag-Lessing, Dr. Ruth Offergeld, Prof. Dr. Georg Pauli, Prof. Dr. Rainer Seitz, Dr. Uwe Schlenkrich, Dr. Volkmar Schottstedt, Dr. Hannelore Willkommen, Prof. Dr. Carl-Heinz Wirsing von König, mit besonderer Unterstützung von Frau Dr. Brunhilde Schweiger (RKI).

Literatur

1. Wright PF, Webster RG (2001) Orthomyxoviruses. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, et al. (eds.) *Fields Virology*. 4th edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp. 1533 ff
2. Scholtissek C (1985) Stability of infectious influenza A viruses at low pH and at elevated temperature. *Vaccine* 3(Suppl 1):215–218
3. Fouchier RA, Munster V, Wallensten A, et al. (2005) Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol* 79:2814–2822
4. Rota PA, Wallis TR, Harmon MW, et al. (1990) Cocirculation of two distinct evolutionary lineages of influenza type B virus since 1983. *Virology* 175: 59–68
5. Nerome R, Hiromoto Y, Sugita S, et al. (1998) Evolutionary characteristics of influenza B virus since its first isolation in 1940: dynamic circulation of deletion and insertion mechanism. *Arch Virol* 143:1569–1583
6. Scholtissek C, Rohde W, Von Hoyningen V, Rott R (1978) On the origin of the human influenza virus subtypes H2N2 and H3N2. *Virology* 87:13–20

7. Kawaoka Y, Krauss S, Webster RG (1989) Avian-to-human transmission of the PB1 gene of influenza A viruses in the 1957 and 1968 pandemics. *J Virol* 63(11):4603–4608
8. www.who.int/csr/disease/avian_influenza/en/index.html
9. Lyytikäinen O, Hoffmann E, Timm H, et al. (1998) Influenza A outbreak among adolescents in a ski hostel. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 17(2): 128–130
10. Thomas P, Riffelmann M, Schweiger B, et al. (2003) Fatal influenza A virus infection in a child vaccinated against influenza. *Pediatr Infect Dis J* 22(2):201–202
11. Laing R, Slater W, Coles C, et al. (2001) Community-acquired pneumonia in Christchurch and Waikato 1999–2000: microbiology and epidemiology. *N Z Med J* 114:488–492
12. Oliveira EC, Marik PE, Colice G (2001) Influenza pneumonia: a descriptive study. *Chest* 119: 1717–1723
13. de Jong MD, Bach VC, Phan TQ, et al. (2005) Fatal avian influenza A (H5N1) in a child presenting with diarrhea followed by coma. *N Engl J Med* 352: 686–691
14. Beigel JH, Farrar J, Han AM, et al. Writing Committee of the World Health Organization (WHO) Consultation on human influenza A/H5 (2005) Avian influenza A (H5N1) infection in humans. *N Engl J Med* 353(13):1374–1385
15. Yu H, Shu Y, Hu S, et al. (2006) The first confirmed human case of avian influenza A (H5N1) in Mainland China. *Lancet* 367(9504):84
16. Webster RG (1998) Influenza: An Emerging Disease. *Emerg Infect Dis* 4:436–441
17. Webster RG (2002) The importance of animal influenza for human disease. *Vaccine* 20:S16–S20
18. Gregory V, Bennett M, Orkhan MH, et al. (2002) Emergence of influenza A (H1N2) reassortant viruses in the human population during 2001. *Virology* 300:1–7
19. Fauci AS (2006) Seasonal and pandemic influenza preparedness: science and countermeasures. *J Infect Dis* 194:S73–S76
20. Zucs P, Buchholz U, Haas W, Uphoff H (2005) Influenza associated excess mortality in Germany, 1985–2001. *Emerg Themes Epidemiol* 2:6
21. Arbeitsgemeinschaft Influenza (AGI) Saisonberichte. www.influenza.rki.de/agi
22. Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, et al. (2003) Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States. *JAMA* 289: 179–186
23. Schweiger B, Zadow I, Heckler R (2002) Antigenic drift and variability of influenza viruses. *Med Microbiol Immunol* 191:133–138
24. Schweiger B (2006) Molecular characterization of human influenza viruses – a look back on the last 10 years. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 119 (3–4):167–178
25. Schweiger B (2001) Nationale und globale Influenzasurveillance als Basis der jährlichen Impfstoffempfehlung. *Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz* 44:1153–1161
26. Coonrod JD, Karathanasis P, Betts RF, Donofrio JC (1988) Enzyme-linked immunosorbent assay of core antigens for clinical diagnosis of influenza. *J Med Virology* 25:399–409
27. Johnston SLG, Siegel CS (1991) A comparison of direct immunofluorescence, shell vial culture, and conventional cell culture for the rapid detection of influenza A and B. *Diagn Microbiol Infect Dis* 14:131–134
28. Gleaves CA, Brown JA (1993) Detection of influenza A in clinical specimens and cell culture fluid by a commercial EIA. *Clin Diagn Virol* 1:123–127
29. Ruest A, Michaud S, Deslandes S, Frost EH (2003) Comparison of the Directigen Flu A+B test, the QuickVue Influenza test, and clinical case definition to viral culture and reverse transcription-PCR for rapid diagnosis of influenza virus infection. *J Clin Microbiol* 41(8):3487–3493
30. Booth S, Baleriola C, Rawlinson WD (2006) Comparison of two rapid influenza A/B test kits with reference methods showing high specificity and sensitivity for influenza A infection. *J Med Virol* 78(5):619–622
31. Donofrio JC, Coonrod JD, Davidson JN, Betts RF (1992) Detection of influenza A and B in respiratory secretions with the polymerase chain reaction. *PCR Meth Applicat* 1:263–268
32. Wright KE, Wilson GAR, Novosad D, et al. (1995) Typing and subtyping of influenza viruses in clinical samples by PCR. *J Clin Microbiol* 33(5): 1180–1184
33. Claas ECJ, Sprenger MJW, Kleter GEM, et al (1992) Type-specific identification of influenza viruses A, B and C by the polymerase chain reaction. *J Virol Methods* 39:1–13
34. Yamada A, Imanishi J (1992) Detection of influenza B virus in throat swabs using the polymerase chain reaction. *Acta Virol* 36:320–325
35. Schweiger B, Lange I, Heckler R, et al. (1994) Rapid detection of influenza A neuraminidase subtypes by cDNA amplification coupled to a simple DNA enzyme immunoassay. *Arch Virol* 139:439–444
36. Cherian T, Bobo L, Steinhoff MC, et al. (1994) Use of PCR-enzyme immunoassay for identification of influenza A virus matrix RNA in clinical samples negative for cultivable virus. *J Clin Microbiol* 32(3):623–628
37. Zhang WD, Evans DH (1991) Detection and identification of human influenza viruses by the polymerase chain reaction. *J Virol Methods* 33:165–189
38. Schweiger B, Zadow I, Heckler R, et al. (2000) Application of a fluorogenic PCR assay for typing and subtyping of influenza viruses in respiratory samples. *J Clin Microbiol* 38:1552–1558
39. WHO global influenza preparedness plan. The role of WHO and recommendations for national measures before and during pandemics. WHO/CDS/CSR/GIP/2005.5.
40. Bekanntmachung der Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) gemäß §§ 12 und 18 des Transfusionsgesetzes (TFG) (Novelle 2005) vom 19. September 2005. *Bundesanzeiger (Sonderheft) Nr. 209a, Jahrgang 57, vom 5.11.2005*
41. Nichol KL (1999) Complications of influenza and benefits of vaccination. *Vaccine* 17:S47–S52
42. Vu T, Farish S, Jenkins M, Kelly H (2002) A meta-analysis of effectiveness of influenza vaccine in persons aged 65 years and over living in the community. *Vaccine* 20:1831–1836
43. Hayden FG (2006) Antiviral resistance in influenza viruses – implications for management and pandemic response. *N Engl J Med* 354:785–788
44. Hayden FG, Pavia AT (2006) Antiviral management of seasonal and pandemic influenza. *J Infect Dis* 194(Suppl 2):S119–126
45. Cheung CL, Rayner JM, Smith GJ, et al. (2006) Distribution of amantadine-resistant H5N1 avian influenza variants in Asia. *J Infect Dis* 193(12): 1626–1629
46. Baz M, Abed Y, McDonald J, Boivin G (2006) Characterization of multidrug-resistant influenza A/H3N2 viruses shed during 1 year by an immunocompromised child. *Clin Infect Dis* 43(12): 1555–1561
47. Le QM, Kiso M, Someya K, et al. (2005) Avian flu: isolation of drug-resistant H5N1 virus. *Nature* 437(7062):1108
48. http://www.baua.de/nn_5846/de/Themen-von-A-Z/Biologische-Arbeitsstoffe/ABAS/aus-dem-ABAS/pdf/Beschluss609-Dezember2006.pdf
49. Lehmann NI, Gust ID (1971) Viraemia in influenza. A report of two cases. *Med J Aust* 2:1166–1169
50. Stanley ED, Jackson GG (1966) Viremia in Asian influenza. *Trans Assoc Am Phys* 79:376–387
51. Khakpour M, Saidi A, Naficy K (1969) Proved viraemia in Asian influenza (Hong Kong variant) during incubation period. *Brit Med J* 4:208–209
52. de Jong MD, Simmons CP, Thanh TT, et al. (2006) Fatal outcome of human influenza A (H5N1) is associated with high viral load and hypercytokinemia. *Nat Med* 12(10):1203–1207
53. Kreil TR, Unger U, Orth SM, et al. (2007) H5N1 influenza virus and the safety of plasma products. *Transfusion* 47:452–459