

Januar 2007

Prionensicherheit von stabilen Blutprodukten

Hintergrund

Übertragbare, spongiforme Encephalopathien (engl.: transmissible spongiform Encephalopathies, TSE) sind degenerative Hirnerkrankungen, die bei Mensch (Kuru, Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung (CJD), Gerstmann-Sträussler-Scheinker Krankheit (GSS), letale familiäre Insomnie (FFI) etc.) und Tier (Traberkrankheit bei Schafen (Scrapie), bovine spongiforme Encephalopathie (BSE), Chronic Wasting Disease bei Hirschen und Elchen (CWD), übertragbare Encephalopathie der Nerze (TME) etc.) auftreten können. Das infektiöse Agens ist ein abnorm gefaltetes, zur Aggregation neigendes Prionprotein (PrP^{Sc}). PrP^{Sc}-Proteine aggregieren in den neuronalen Zellen des befallenen Organismus und führen zum Zelltod. Aufgrund biochemischer Eigenschaften und anhand des Krankheitsbildes werden verschiedene Prionstämme unterschieden. Analysen haben gezeigt, dass es sich beim Erreger von BSE und dem Erreger der neuen Variante der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung beim Menschen (vCJD) mit grösster Wahrscheinlichkeit um den gleichen Stamm handelt. Man geht heute davon aus, dass vCJD durch den Verzehr von BSE-verseuchtem Rindfleisch auf den Menschen übertragen wurde.

vCJD ist streng zu unterscheiden von der seit langem bekannten, klassischen Form der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (CJD), die sich als spontane (sCJD), familiäre (fCJD) oder iatrogene Form (iCJD) manifestieren kann und mit einer weltweit vergleichbaren Inzidenz von ungefähr einer Erkrankung pro Million Einwohner pro Jahr beobachtet wird [1].

Die ersten vCJD-Erkrankungen traten 1995 in Grossbritannien auf, und bis anhin (Dezember 2006) verzeichnet dieses Land 164 an vCJD erkrankte Personen, wovon 158 verstorben sind [2]. Aus Frankreich wurden 21 vCJD-Fälle gemeldet, darunter 20 mit tödlichem Ausgang [3]. Weitere Fälle kennt man aus Irland, den Niederlanden, aus Italien, Spanien, Portugal, den USA, aus Kanada, Saudi Arabien, China (Hongkong) und Japan. In der Schweiz ist bisher kein Fall einer vCJD-Erkrankung bekannt. Heute sind noch keine präzisen Angaben zur Verbreitung des vCJD-Erregers in der Bevölkerung möglich. Hilton et al. [4] schätzten aufgrund eines Screenings von Appendix- und Tonsillenproben, dass ungefähr 3'800 Engländer subklinische Träger von vCJD sein und zu einem unbekanntem Zeitpunkt an vCJD erkranken könnten. In total 12'674 untersuchten Proben konnten in 3 Fällen pathologische Prionproteine nachgewiesen werden¹. Neuere Schätzungen von Clarke und Ghani gehen aufgrund verschiedener Modellrechnungen von maximal 363 noch zu erwartenden klinischen vCJD-Fällen in Grossbritannien zwischen 2004 und 2080 aus [5]. In dieser Publikation sind auch Schätzungen zur Zahl der subklinischen vCJD-Träger in Grossbritannien enthalten, die je nach Rechnungsmodell zwischen 140 und 5413 vCJD-Infizierten im Jahre 2004 schwankt. In der Schweiz wurde 2001 eine Gewebestudie zur Auffindung von subklinischen vCJD-Trägern gestartet [6]. Dabei ist geplant, insgesamt 15'000 Gewe-

¹ 3 positive Resultate von 12'674 untersuchten Gewebeproben entsprechen einer geschätzten Prävalenz von 237 (95% CI: 49 – 692) unerkannter vCJD-Infektionen pro Million Einwohner in Grossbritannien. Bei der Abschätzung der möglichen Anzahl subklinischer vCJD-Träger (ca. 3'800) wurde der Tatsache Rechnung getragen, dass die positiv getesteten Gewebemuster von 20 bis 29-Jährigen stammen und diese Altersgruppe nicht repräsentativ ist für die Gesamtbevölkerung von Grossbritannien.

beprobieren zu untersuchen. Bis April 2006 konnten bei keiner der untersuchten Proben vCJD-Prionen nachgewiesen werden.

Ausgangslage

Während CJD durch Hirnhaut- und Augenhornhauttransplantationen und durch Therapien mit aus menschlichen Hypophysen gewonnenen Hormonen übertragen wurde, kam es nie zu einer Übertragung von klassischer CJD durch menschliches Blut oder Blutprodukte [7]. Für vCJD hingegen verdichten sich die Hinweise, dass eine Übertragung durch labile Blutprodukte² möglich ist. Experimentell konnte der BSE-Erreger bei Schafen durch Blut übertragen werden [8, 9] und zwischenzeitlich sind in Grossbritannien (Dezember 2003 bis Juli 2006) 3 Fälle von wahrscheinlicher humaner vCJD-Übertragung durch Transfusion nicht leukozytendepletierter Erythrozytenkonzentrate bekannt³. Die Blutspenden stammen von Personen, die zum Zeitpunkt der Spende klinisch gesund waren. Erst 42, 18 respektive 20 Monate nach der Spende entwickelten die Spender vCJD-Symptome [10, 11, 12, 13]. Bedingt durch die lange Inkubationszeit entwickelten die Transfusionsempfänger ihrerseits erst 6.5 (Fall 1) respektive 8 Jahre (Fall 3) später vCJD-Symptome. Bei Fall 2 kam es zu keinem Ausbruch der Krankheit (subklinischer Fall). Diese Person starb 5 Jahre nach der Bluttransfusion an einem rupturierten Aortenaneurysma. Anlässlich einer Obduktion waren krankmachende Prionen in der Milz und in Halslymphknoten - nicht aber im Gehirn - nachweisbar. Das Besondere an diesem Fall ist, dass erstmals eine Person, die im Codon 129 des Prionproteingens heterozygot ist (M/V)⁴ als mit vCJD-Prionen infiziert erkannt werden konnte. Es bleibt ungeklärt, ob dieser Patient zu einem späteren Zeitpunkt klinische Symptome von vCJD entwickelt hätte oder nie an vCJD erkrankt wäre. Alle bis heute bekannten vCJD-Erkrankten (klinische Fälle) sind an diesem Genlocus homozygot für Methionin (M/M)⁵ [3, 15]. Während man früher davon ausging, dass nur dieser Genotyp mit vCJD infiziert werden kann, schliesst man heute aus dem oben beschriebenen Fall, sowie genetischen Studien in Zusammenhang mit Kuru⁶ [17, 18], Genanalysen bei 2 der 3 auf vCJD positiv getesteten Blinddarmproben in Grossbritannien [4, 19⁷] und neueren Tierstudien [20], dass auch Personen mit anderer genetischer Veranlagung für vCJD-Infektionen empfänglich sind. Diese subklinischen vCJD-Träger könnten die pathogenen Prionen z.B. über Bluttransfusionen oder kontaminiertes chirurgisches Besteck weitergeben. Solche sekundären Übertragungswege wären weitgehend zu unterbinden, falls ein geeigneter Screeningtest und/oder effiziente Prionenreduktionsfilter zur Verfügung stünden.

Im Gegensatz zur Situation bei den labilen Blutkomponenten kennt man bisher keinen Fall einer Übertragung von CJD oder vCJD durch stabile Blutprodukte⁸ [21, 22]. So zeigte z.B. die Autopsie von Hämophiliepatienten aus dem Hochrisikoland Grossbritannien, von Personen also, die lebenslang Gerinnungsfaktorpräparate - auch aus englischen Blutspenden - erhalten haben, keine

² Labile Blutprodukte werden in der Regel aus Einzelspenden gewonnen. Zu den labilen Blutprodukten gehören u.a. Vollblut, Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentrate und Plasma (FFP = Fresh Frozen Plasma).

³ 3 von 162 vCJD-Fällen entsprechen 1.85%. 3 von < 30 Fällen von Empfängern labiler Blutprodukte von Spender, die später an vCJD erkrankt und verstorben sind, entsprechen > 10%.

⁴ Es können sowohl Prionproteine gebildet werden, die in Position 129 der Aminosäurekette Methionin enthalten, als auch solche, die dort Valin enthalten.

⁵ Knapp 40% der europäischen Bevölkerung sind im Codon 129 des Prionproteingens homozygot für Methionin/Methionin, 50% sind an besagtem Genlocus heterozygot (M/V) und 10% homozygot für Valin/Valin [14].

⁶ Kuru ist eine Prionenerkrankung, die im 20. Jahrhundert epidemieartig beim Stamm der Fore auf Papua-Neuguinea auftrat und in den 50er Jahren erstmals beschrieben wurde. Epidemiologische Studien zeigten, dass das rituelle, kannibalische Verzehren von Organen (insbesondere von Hirn) verstorbener Angehöriger diese Erkrankung bewirkte. Der Kannibalismus wurde 1954 verboten und die Häufigkeit der Erkrankungen nahm - bedingt durch die lange Inkubationszeit - langsam aber stetig ab. Die Übertragbarkeit von Kuru wurde später durch Übertragungsversuche auf Schimpansen bewiesen [16].

⁷ 2 sind homozygot für Valin im Codon 129 des Prionproteingens.

⁸ Stabile Blutprodukte werden aus Pools von mehreren hundert bis mehreren tausend Spenden gewonnen. Zu den stabilen Blutprodukten gehören u.a. Immunglobuline, Albumin und Gerinnungsfaktoren.

Hinweise auf CJD oder vCJD-Erkrankungen [23]. Eine mögliche Ursache dürfte in effektiven Prionenabreicherungsschritten bei der Herstellung von Plasmaderivaten liegen.

Massnahmen zum Schutz gegen Prionenübertragungen durch Blut oder Blutprodukte

Im Transfusionsbereich wurden in der Schweiz bereits früh Massnahmen ergriffen, um das Risiko einer Übertragung von Prion-Erkrankungen von Mensch zu Mensch zu reduzieren. So werden u.a. Risikospender (z.B. Aufenthalt von mindestens 6 Monaten in Grossbritannien zwischen 1980 und 1996 und Erhalt von Blutspenden seit 1980) konsequent ausgeschlossen und die Blutspenden leukozytendepletiert.

Nachdem im Dezember 2003 bekannt wurde, dass höchstwahrscheinlich erstmals vCJD durch eine Bluttransfusion von Mensch zu Mensch übertragen wurde, eröffnete das Schweizerische Heilmittelinstitut Swissmedic ein Verfahren zur Beurteilung des Risikoprofils von stabilen Blutprodukten. Dazu wurden die Zulassungsinhaberinnen aufgefordert, das Prionenabreicherungspotenzial der Herstellprozesse ihrer Präparate zu evaluieren; sei dies durch eigene präparatespezifische Experimente, oder durch Abschätzungen aufgrund publizierter Daten. Erste Resultate dieser Überprüfung wurden im Januar 2006 publiziert [24].

Analog zu den EU-Behörden [25, 26] fordert Swissmedic bei Neuzulassungsgesuchen seit Januar 2005 zudem präparatespezifische Prionenabreicherungsdaten als Bestandteil der Zulassungsdokumentation.

Herstellprozess von Plasmaproteinpräparaten

Nach dem Auftauen von gefrorenem Plasma werden mittels Zentrifugation die unlöslichen Proteine des Kryopräzipitats abgetrennt. Aus dem Kryoüberstand werden einerseits lösliche Proteine mittels Adsorption an Ionentauscherharze isoliert und andererseits Proteine in Abhängigkeit von Ethanolkonzentration (% EtOH), pH Wert, Temperatur und Ionenstärke fraktioniert ausgefällt und mittels Zentrifugation oder Tiefenfiltration abgetrennt.

Zur Illustration sind nachfolgend 20 Herstellschritte aufgeführt, für welche bereits Prionenabreicherungsdaten publiziert wurden.

(1) Leukozytenfiltration:

Die Leukozytendepletion entfernt 42% der endogenen Prioneninfektiosität im Blut von Scrapieinfizierten Hamstern [27]. Das Ausgangsplasma zur Herstellung von stabilen Blutprodukten ist nur teilweise deleukozytiert.

Ethanolpräzipitationen:

(2) Fraktion (I+)II+III Präzipitation (relevant für Alpha 1 Proteinase Inhibitor und Albumin):

1.3 log₁₀ [28], Fraktion I+II+III (21% EtOH, pH 6.7, ohne Filterhilfsmittel)

2.2 log₁₀ [29], Fraktion I+II+III (19% EtOH, pH 5.85, mit Filterhilfsmittel)

3.1 bis 4.0 log₁₀ [30], Fraktion II+III (25% EtOH, pH 7.1, ohne Filterhilfsmittel)

≥ 4.7 bis 6.0 log₁₀ [31], Fraktion II+III (20% EtOH, pH 6.7, ohne Filterhilfsmittel)

(3) Fraktion (I+)III Präzipitation (relevant für die meisten polyvalenten und spezifischen Immunglobuline):

≥ 3.7 log₁₀ [28], Fraktion I+III (12% EtOH, pH 5.1, ohne Filterhilfsmittel)

3.5 log₁₀ [29], Fraktion I+III (12% EtOH, pH 5.1, mit Filterhilfsmittel)

≥ 4.3 bis 5.3 log₁₀ [31], Fraktion III (17% EtOH, pH 5.4, ohne Filterhilfsmittel)

Entscheidend für die konstant hohe Prionenabreicherung bei der Fraktion (I+)III Präzipitation scheint insbesondere der saure pH Wert zu sein (vgl. auch Publikation von Cai et al., die zum Schluss kommt, dass PrP^{Sc} bei pH Werten von ≤ 5 unabhängig von den herrschenden Salz- und Ethanolkonzentrationen im Niederschlag verbleibt [32]).

(4) Fraktion IV/IV-4 Präzipitation (relevant für Albumin):

≥ 3.0 log₁₀ [28], Fraktion IV (35% EtOH, pH 5.55, ohne Filterhilfsmittel)

3.0 log₁₀ [29], Fraktion IV (40% EtOH, pH 5.95, mit Filterhilfsmittel)

≥ 4.1 bis ≥ 4.6 log₁₀ [30], Fraktion IV (38% EtOH, pH 6.0, ohne Filterhilfsmittel)

≥ 4.1 bis 4.6 log₁₀ [31], Fraktion IV-4 (30% EtOH, pH 5.8, ohne Filterhilfsmittel)

(5) Caprylsäurepräzipitation:

2.9 bis 3.3 log₁₀ [33] (8 bis 20 mM Caprylsäure, 2.9 log₁₀: WB, 3.3 log₁₀: Bioassay)

Polyethylenglykolpräzipitationen:

(6) 3% PEG: 1.8 bis 2.2 log₁₀ [34]

(7) 11.5% PEG: ≥ 4.9 bis ≥ 5.4 log₁₀ [31]

Tiefenfiltrationen:

(8) suspendiertes Fraktion II Präzipitat: ≥ 2.8 log₁₀ [28], 4.5 log₁₀ [29]

(9) pH4 / Pepsin behandelte Lösung (tiefenfiltriertes Fraktion II Präzipitat): 2.8 log₁₀ [29]

(10) Tiefenfiltration von suspendiertem Fraktion II Präzipitat mit anschliessender Tiefenfiltration der pH4 / Pepsin behandelten Lösung: 7.2 log₁₀, **(8) + (9) = 7.3 log₁₀** [29]

(11) suspendiertes Fraktion V Präzipitat: ≥ 4.9 log₁₀ [28]

Chromatographie:

(12) S Sepharose (Kationentauscher): 2.9 log₁₀ [28]

(13) DEAE Toyopearl (Anionentauscher): 3.1 log₁₀ [28]

(14) DEAE Sepharose (Anionentauscher): 3.0 log₁₀ [28]

(15) Heparin Sepharose (Affinitätschromatographie): 1.4 log₁₀ [28]

Nanofiltrationen:

(16) Planova 10N: > 3.8 log₁₀ (mit 0.5% Sarkosyl) [35]

(17) Planova 15N: > 4.2 log₁₀ (mit 0.5% Sarkosyl), > 5.9 log₁₀ (ohne Sarkosyl) [35]

(18) Planova 35N: 1.6 log₁₀ (mit 0.5% Sarkosyl), 4.9 log₁₀ (ohne Sarkosyl) [35]

(19) Pall 35nm: 4.4 log₁₀ (ohne Detergens) [29]

(20) Viresolve 70kD: ≥ 3.0 log₁₀ [36]

Das Fließschema in **Abbildung 1** soll einen Überblick über die Gewinnung von Plasmaderivaten mittels der modifizierten Ethanolfraktionierung nach Cohn-Oncley - wie sie üblicherweise für die in der Schweiz zugelassenen stabilen Blutprodukte angewandt wird - geben. Die Hauptfraktionen erscheinen grau und optional abgetrennte Fraktionen sind gestrichelt dargestellt. Die Nummern 1 bis 20 (fett in runden Klammern) entsprechen den vorgängig beschriebenen Prozessschritten, für welche bereits Prionenreduktionswerte publiziert wurden.

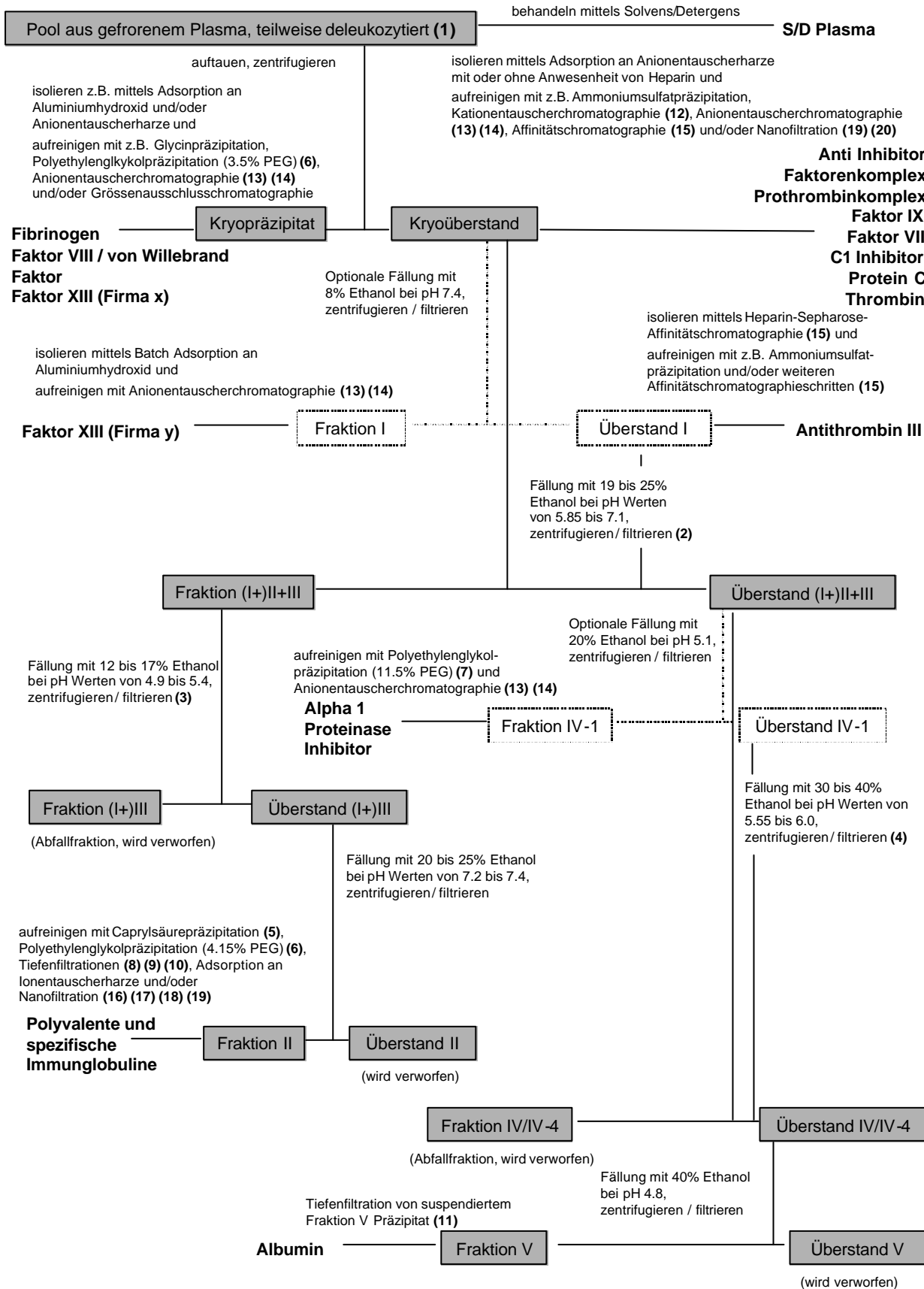


Abbildung 1 Herstellprozess von Plasmaproteinpräparaten

(modifizierte Ethanolfraktionierung nach Cohn-Oncley)

Grau hinterlegt sind Standardfraktionierschritte, optionale Fraktionierschritte erscheinen gestrichelt. Die Nummern 1 bis 20 (fett in runden Klammern) entsprechen den vorgängig beschriebenen Prozessschritten, für welche bereits Prionenreduktionswerte publiziert wurden.

Resultate

Als Ergebnis der Rückmeldungen aller Zulassungsinhaberinnen zum Prionenabreicherungspotenzial der Herstellprozesse ihrer in der Schweiz zugelassenen stabilen Blutprodukte konnten folgende Daten zusammengestellt werden. Die Werte basieren sowohl auf firmeneigenen präparatespezifischen Experimenten, wie auch auf Abschätzungen aufgrund publizierter Daten.

Präparatengruppe	Resultate
Albumine	Bei 5 von 7 Präparaten wurden Experimente durchgeführt. Die ermittelten Prionenabreicherungsfaktoren liegen zwischen 3.4 (2) ⁹ und ≥ 14.2 (4) \log_{10} . Für 2 weitere Präparate liegen Abschätzungen zur Prionenreduktion im Bereich von ≥ 4.3 bis ≥ 10.6 \log_{10} aufgrund publizierter Daten vor [28, 30, 31].
Polyvalente Immunglobuline	Bei 9 von 12 Präparaten wurden Experimente durchgeführt. Die ermittelten Prionenabreicherungsfaktoren liegen zwischen > 3.3 (1) und 15.2 (4) \log_{10} . Für 3 weitere Präparate liegen Abschätzungen zur Prionenreduktion im Bereich von ≥ 6.5 bis 14.8 \log_{10} aufgrund publizierter Daten vor [28, 31, 32, 33, 35, 37].
Spezifische Immunglobuline	Bei 4 von 8 Präparaten wurden Experimente durchgeführt. Die ermittelten Prionenabreicherungsfaktoren liegen zwischen 5.0 (4) und 9.5 (4) \log_{10} . Für 4 weitere Präparate liegen Abschätzungen zur Prionenreduktion im Bereich von 7.0 bis ≥ 16.0 \log_{10} aufgrund publizierter Daten vor [28, 31, 33, 35, 37].
Faktor VII	Es existieren keine präparatespezifischen Daten. Es liegen Abschätzungen zur Prionenreduktion im Bereich von 0.9 bis 2.0 \log_{10} aufgrund von Experimenten mit einem Präparat, das vergleichbare Herstellschritte aufweist, vor.
Faktor VIII	Bei 3 von 5 Präparaten wurden Experimente durchgeführt. Die ermittelten Prionenabreicherungsfaktoren liegen zwischen 4.1 (2) und 6.4 (5) \log_{10} . Für 2 weitere Präparate liegen Abschätzungen zur Prionenreduktion im Bereich von 3.0 bis 5.2 \log_{10} aufgrund publizierter Daten [28] und Experimenten mit einem Präparat, das vergleichbare Herstellschritte aufweist, vor.
Faktor IX	Bei 4 von 5 Präparaten wurden Experimente durchgeführt. Die ermittelten Prionenabreicherungsfaktoren liegen zwischen ≥ 4.7 (3) und 10.5 (4) \log_{10} . Für ein weiteres Präparat liegen Abschätzungen zur Prionenreduktion im Bereich von 3.9 bis 5.0 \log_{10} aufgrund publizierter Daten [28] und Experimenten mit einem Präparat, das vergleichbare Herstellschritte aufweist, vor.
Faktor XIII	Es existieren präparatespezifische Daten. Die ermittelten Prionenabreicherungsfaktoren liegen je nach verwendetem Prionenspike zwischen 2.6 (2) und 5.2 (2) \log_{10} .
Prothrombinkomplex (Faktoren II, VII, IX)	Bei 2 von 3 Präparaten wurden Experimente durchgeführt. Die ermittelten Prionenabreicherungsfaktoren liegen zwischen ≥ 4.9 (3)

⁹ Die Zahlen in runden Klammern geben die Anzahl experimentell untersuchter Herstellschritte eines Präparates wieder.

und X)	und ≥ 6.6 (3) \log_{10} . Für ein weiteres Präparat liegen Abschätzungen zur Prionenreduktion im Bereich von 0.9 bis 2.0 \log_{10} aufgrund von Experimenten mit einem Präparat, das vergleichbare Herstellschritte aufweist, vor.
Anti Inhibitor Faktor-komplex	Es existieren präparatespezifische Daten. Die ermittelten Prionenabreicherungsfaktoren liegen je nach verwendetem Prionenspike zwischen 0.9 (1) und 2.0 (1) \log_{10} .
Protein C	Es existieren keine präparatespezifischen Daten. Es liegen Abschätzungen zur Prionenreduktion im Bereich von 9.0 bis 10.1 \log_{10} aufgrund von Experimenten mit Präparaten, die vergleichbare Herstellschritte aufweisen, vor.
Fibrinogen	Es existieren präparatespezifische Daten. Die ermittelten Prionenabreicherungsfaktoren liegen je nach verwendetem Prionenspike zwischen 1.4 (3) und 3.6 (3) \log_{10} .
Fibrinkleber (enthalten Fibrinogen, Thrombin, Albumin und teilweise Faktor XIII)	Bei 2 von 4 Präparaten wurden Experimente durchgeführt. Die ermittelten Prionenabreicherungsfaktoren liegen je nach verwendetem Prionenspike zwischen 1.4 (3) und 3.6 (3) \log_{10} (Fibrinogen), 2.6 (2) und 5.2 (2) \log_{10} (Faktor XIII), ≥ 4.9 (3) und ≥ 6.6 (3) \log_{10} (Thrombin) und ≥ 7.6 (4) und ≥ 14.2 (4) \log_{10} (Albumin). Für 2 weitere Präparate liegen Abschätzungen zur Prionenreduktion im Bereich von 1.7 bis 3.0 \log_{10} (Fibrinogen), 3.6 bis 4.0 \log_{10} (Faktor XIII), 0.9 bis 9.0 \log_{10} (Thrombin) und ≥ 4.3 bis ≥ 13.2 \log_{10} (Albumin) aufgrund publizierter Daten [28, 30, 31, 34, 36, 38] und Experimenten mit Präparaten, die vergleichbare Herstellschritte aufweisen, vor.
Antithrombin III	Es existieren präparatespezifische Daten. Die ermittelten Abreicherungsfaktoren liegen je nach verwendetem Prionenspike zwischen 3.9 (3) und ≥ 9.9 (3) \log_{10} .
Alpha 1 Proteinase Inhibitor	Es existieren präparatespezifische Daten. Die ermittelten Abreicherungsfaktoren liegen je nach verwendetem Testsystem zwischen ≥ 9.9 (2) und ≥ 11.4 (2) \log_{10} .
C1 Inhibitor	Es existieren präparatespezifische Daten. Die ermittelten Abreicherungsfaktoren liegen je nach verwendetem Prionenspike zwischen 3.1 (2) und 5.6 (2) \log_{10} .
Häminderivat ¹⁰	Es existieren keine präparatespezifischen Daten. Es liegen Abschätzungen zur Prionenreduktion im Bereich von 3.0 bis 4.4 \log_{10} aufgrund von Daten zur Protein Entfernung vor.
S/D Plasma	Es existiert kein Herstellprozessschritt mit signifikantem Prionenabreicherungspotenzial.

¹⁰ Häm wird mittels diversen Extraktions- und Kristallisationsschritten aus menschlichem Erythrozytenkonzentrat gewonnen.

Diskussion

Die Interpretation von im Modell ermittelten Prionenabreicherungsdaten ist mit Unsicherheiten behaftet, da die physikalische Form von pathogenen Prionen im Blut nicht bekannt ist und sich je nach Art des verwendeten Spikes grosse Unterschiede ergeben.

Die Firmen haben für ihre Prionenabreicherungsstudien infektiöses Material aus dem Gehirn von mit Scrapie infizierten Hamstern eingesetzt. In einer Vergleichsstudie konnte bei der Kryo- und der Polyethylenglykolpräzipitation (3% und 11.5% PEG) kein Unterschied in der Entfernung von PrP^{Sc} aus menschlichem Hirn (vCJD-, sCJD- und GSS-Patienten) im Vergleich zur Entfernung von PrP^{Sc} aus tierischem Hirn (Scrapie-Schafhirn und Scrapie-Hamsterhirn) beobachtet werden [34]. Dennoch ist ungewiss, inwieweit Hirnmaterial repräsentativ für den potenziellen vCJD-Erreger in menschlichem Blut ist.

Die experimentell ermittelte Prionenabreicherung bei einigen Herstellschritten wird stark beeinflusst durch die Art der Aufarbeitung des infektiösen Hirnmaterials. So schwanken z.B. bei der Kryopräzipitation, der Fällung mit 8% Ethanol (Fraktion I Präzipitation, pH 7.4) und bei der Glycinpräzipitation die Abreicherungsfaktoren stark in Abhängigkeit des verwendeten Prionenspike (Hirnhomogenat, Mikrosomen, „Caveolae Like Domains“ (CLDs), gereinigtes PrP^{Sc}) [30]. Auch bei der Nanofiltration ist der Aggregationszustand des Modellspikes entscheidend. Detergens kann zu einem Auflösen von Aggregaten führen, was sich in geringeren Abreicherungsfaktoren von entsprechend vorbehandeltem TSE-Spike zeigt [35]. Bei Prion-Monomeren würde vermutlich kein mechanischer Ausschluss durch die Porengrösse erfolgen, wobei aber eine Abreicherung auf der Basis anderer Wechselwirkungen mit dem Filtermaterial möglich ist.

Es gibt Firmen, die gleiche Herstellschritte mittels verschiedenen Nachweismethoden (PrP^{Sc}-Nachweis mittels Western Blot versus TSE-Infektionsmessung mittels Bioassay) bezüglich Prionenabreicherung untersucht und die Daten auch publiziert haben [29, 31, 33]. Dabei zeigte sich eine gute Übereinstimmung zwischen den beiden Nachweismethoden. Generell können mittels Bioassays grössere Abreicherungsfaktoren ermittelt werden, da diese Nachweismethode empfindlicher ist als die in vitro PrP^{Sc}-Bestimmung mittels Western Blot (WB) oder CDI („Conformational Dependant Immunoassay“). Nachteile von Bioassays sind u.a. die deutlich längere Studiendauer, die höheren Kosten und die grosse Anzahl benötigter Versuchstiere. In Übereinstimmung mit dem EU Positionspapier 2879 [25] ist Swissmedic der Ansicht, dass die Prionenabreicherung mittels einem biochemischen Test (WB, CDI) analysiert werden kann, sofern für vergleichbare Prozessschritte gezeigt wurde, dass die Resultate mit denjenigen aus Infektiositätsstudien mit Tieren korrelieren.

Die präparatespezifischen Prionenabreicherungsexperimente der Hersteller bestätigten die Erwartungen hinsichtlich der entscheidenden Herstellschritte mit Abreicherungspotenzial gemäss publizierten Daten [27-36]. Effektive Prionenreduktionsschritte sind insbesondere Präzipitationen und Tiefenfiltrationen. Dabei können die Fällungen z.B. in alkoholischem Milieu bei saurem pH Wert (kalte Ethanolfraktionierung) oder mittels Caprylsäure, Polyethylenglykol, Glycin oder Ammoniumsulfat erfolgen. Weiter reichern auch Herstellschritte wie Adsorptionen an Ionentauscherharze (Batch Adsorption oder Chromatographie), Aluminiumhydroxid oder Aktivkohle und die Nanofiltration Modellprionen effizient ab.

Zurzeit wird davon ausgegangen, dass Präparate mit mindestens einem Herstellschritt mit einem Prionenabreicherungspotenzial von $\geq 3 \log_{10}$ sicher sind (analog zur geforderten Abreicherung und/oder Inaktivierung von Viren [39]). Dies ist insbesondere der Fall bei den häufig angewendeten Albuminen, polyvalenten und spezifischen Immunglobulinen und den Gerinnungsfaktor VIII Präparaten. Die experimentell ermittelten, totalen Prionenreduktionsfaktoren betragen für diese vier Präparategruppen in Abhängigkeit der untersuchten Herstellschritte zwischen > 3.3 und $15.2 \log_{10}$. Im Modellsystem wird somit mehr als 99.9% der zugesetzten TSE-Infektiosität

während der Herstellung eliminiert. Je mehr Verfahrens- und insbesondere Fraktionierschritte ein Herstellprozess umfasst (d.h. je weiter unten wir uns im „Fraktionierbaum“ des Fließschemas auf Seite 5 befinden), desto grösser ist die Abreicherung eines zugesetzten Prionenspike. So wird die im Modell experimentell ermittelte, respektive geschätzte Prionenreduktion auch bei den Faktor IX-, Faktor XIII-, Protein C-, Antithrombin III-, Alpha 1 Proteinase Inhibitor- und Hä-minderivat-Präparaten gemäss heutigem Wissensstand als ausreichend bewertet.

Optimierungsbedarf besteht bei einzelnen Präparaten, bei deren Herstellung „nur“ die Anfangsschritte des Fraktionierprozesses durchlaufen werden und für die bisher keine präparatespezifischen Daten erhoben wurden, respektive die bisher experimentell ermittelten Prionenabreicherungsfaktoren unbefriedigend sind (Faktor VII-, Prothrombinkomplex-, Anti Inhibitor Faktorenkomplex-, Fibrinogen- und Fibrinkleber-Präparate). Swissmedic beurteilt das Nutzen-Risikoprofil dieser Präparate weiterhin als günstig, da eine Prionenabreicherung belegt und die Wahrscheinlichkeit der Anwesenheit von Prionen im Ausgangsmaterial sehr klein ist.

Handlungsbedarf besteht bei S/D Plasma, dessen Herstellprozess keine abreichernden Schritte aufweist (s. unten).

Weiterführende Massnahmen

Für S/D Plasma besteht die Auflage den Herstellprozess so zu verbessern, dass eine effiziente Abreicherung zugesetzter Modellprionen nachgewiesen ist. Bis zur Einführung eines solchen Prionenreduktionsschrittes darf nur Plasma aus BSE-freien Ländern der GBR-Stufen I oder II¹¹ eingesetzt werden.

Für Faktor VII-, Prothrombinkomplex-, Anti Inhibitor Faktorenkomplex-, Fibrinogen- und Fibrinkleber-Präparate müssen zusätzliche Experimente durchgeführt werden. Falls die ermittelten Resultate unbefriedigend sein sollten, müssten zusätzliche Prozessschritte mit Prionenabreicherungspotenzial evaluiert und validiert werden und bei Eignung - in Übereinstimmung mit dem EU Positionspapier 2879 [25] – in den Herstellprozess integriert werden.

Ausblick

Vor jeder Einführung von zusätzlichen Spenderausschlussgründen ist der Gewinn an Sicherheit dem Risiko eines Versorgungsengpasses bei lebensrettenden Präparaten gegenüberzustellen. So haben sich z.B. Grossbritannien, die Schweiz [41], die Niederlande und Frankreich für einen Ausschluss von Transfusionsempfängern von der Blutspende zwecks Risikominimierung einer vCJD-Übertragung entschieden. Hingegen hat z.B. Deutschland bisher diesen Spenderausschluss nicht eingeführt, da das Risiko einer Unterversorgung der Bevölkerung mit Blutprodukten stärker gewichtet wird als dasjenige einer vCJD-Übertragungen¹². Wäre ein selektiver und sensitiver vCJD-Bluttest zur Ermittlung von vCJD-Trägern kommerziell erhältlich, müssten weniger Spendewillige vorsorglich ausgeschlossen werden.

Die derzeit verfolgten Ansätze zur Entwicklung von vCJD/CJD-Screeningtests basieren entweder auf dem direkten Nachweis des pathogenen Prionoproteins (PrP^{Sc}) in Blut oder in anderen leicht zugänglichen Körperflüssigkeiten, oder aber auf dem Nachweis von Surrogatmarkern [44]. Ne-

¹¹ GBR = Geographisches BSE Risiko: Einstufung von Ländern in eine von vier Risikoklassen (I - IV) durch den Wissenschaftlichen Lenkungsausschuss der Europäischen Kommission (bis 2003), respektive ab 2003 durch die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit, Stufe I: Vorkommen von BSE ist höchst unwahrscheinlich, Stufe II: Vorkommen von BSE ist unwahrscheinlich, jedoch nicht auszuschliessen [40].

¹² Eine Befragung von 4'838 Spendern in Deutschland im Jahre 2001 hat ergeben, dass 4% der Mehrfachspender ausscheiden würden, da sie vorgängig Blut- oder Plasmatransfusionen erhalten haben [42]. Nach bisherigen Rückmeldungen aus Schweizer Blutspendezentren mussten rund 2% der Spenderinnen und Spender zusätzlich ausgeschlossen werden [43].

ben einer Reihe von bereits identifizierten Genen, die im Verlauf von TSE-Erkrankungen im Gehirn hoch- oder herunterreguliert werden, hat die Publikation eines peripher in Blutzellen nachweisbaren molekularen Markers („erythroid differentiation factor, EDF“) grosse Beachtung gefunden [45]. Folgeuntersuchungen zeigten jedoch, dass dieser Marker bei gesunden Personen stark schwankt [46].

Die Problematik des Nachweises von PrP^{Sc} in Körperflüssigkeiten von subklinischen und klinischen vCJD/CJD-Trägern liegt einerseits in der geringen Konzentration¹³ und andererseits in der Tatsache, dass das physiologische Prionprotein PrP in etwa 10'000-fachem Überschuss vorliegen würde. Hochspezifische Antikörper sind für einen sensitiven und selektiven Nachweis des pathogenen Proteins unentbehrlich. Zudem sollte vorgängig die PrP^{Sc}-Konzentration durch entsprechende Anreicherungsschritte erhöht werden. Möglich hierfür wären eine selektive Präzipitation von PrP^{Sc}, Bindung an Liganden oder zyklische Amplifikation (PMCA, „protein misfolding cyclic amplification“) [48].

Die tiefe Prävalenz von vCJD in der Bevölkerung erhöht die Gefahr von falsch positiven Screeningtestresultaten. So ist bei einer sehr guten, anzustrebenden Testspezifität von 99.9%, einer angenommenen vCJD-Prävalenz von 1 pro 100'000 und einer Testung von

1 Million Proben mit 1'000 falsch positiven und ca. 10 korrekt positiven Resultaten zu rechnen. Daher wirft bereits die Evaluierung von neuen Tests an gesunden Personen, wie z.B. Blutspendern, eine Reihe von ethischen Fragen auf. Wie sind positive Resultate zu behandeln, wenn keine Bestätigungstests durchgeführt werden können? Sollen die positiv getesteten Personen informiert werden, auch angesichts der Tatsachen, dass die Inkubationszeiten sehr lang sind und noch ungewiss ist, ob alle vCJD-Träger auch die Krankheit entwickeln und zudem keine Therapie existiert?

Es wird wohl noch einige Jahre dauern, bis ein sensitives und selektives Verfahren für eine Routinetestung zum Nachweis von PrP^{Sc} in menschlichem Plasma kommerziell erhältlich sein wird. Bis zu diesem Zeitpunkt muss die Sicherheit von Blutprodukten durch grösstmögliche Sorgfalt bei der Spenderauswahl sowie durch sorgfältige Charakterisierung und laufende Optimierung und Weiterentwicklung der Herstellverfahren gewährleistet werden. Solche Innovationen wären z.B. Nanofiltrationen oder die Einführung von spezifischen und effizienten Prionenreduktionsfiltern. Letztere werden momentan für die Filtration von Erythrozyten-konzentraten evaluiert [49, 50, 51, 52]. Wann sie kommerziell erhältlich sein werden, ist zurzeit nicht bekannt. Da nicht nur Leukozyten und Prionen aus dem Blut filtriert werden, sondern auch bedeutende Mengen z.B. des Gerinnungsfaktors IX [53], ist der Einsatz dieser Prionen-reduktionsfilter für andere Blutprodukte fraglich.

¹³ Man schätzt die Menge von PrP^{Sc} im Blut von subklinischen Trägern bei < 1 pg/mL [47]. Im Vergleich dazu liegt die Nachweisgrenze von HBs- und HIV-p24-Antigen bei 10 pg/mL, HBsAg und HIV p24 Ag sind Proteine mit vergleichbarer Molekülgrösse wie PrP^{Sc}.

Literaturverzeichnis

- [1] Aguzzi A. Prion diseases of humans and farm animals: epidemiology, genetics, and pathogenesis. *Journal of Neurochemistry* 2006;97:1726-1739.
- [2] Internetzitat: <http://www.cjd.ed.ac.uk/figures.htm> (letzter Zugang: 03. Januar 2007)
- [3] Internetzitat: http://www.invs.sante.fr/display/?doc=publications/mcj/donnees_mcj.html (letzter Zugang: 03. Januar 2007)
- [4] Hilton D, Ghani AC, Conyers L, Edwards P, McCardle L, Rithie D, Penney M, Hegazy D, Ironside JW. Prevalence of lymphoreticular prion protein accumulation in UK tissue samples. *J Pathol* 2004;203:733-739.
- [5] Clarke P, Ghani AC. Projections of the future course of the primary vCJD epidemic in the UK: inclusion of subclinical infection and the possibility of wider genetic susceptibility. *J R Soc Interface* 2005;2(2):19-31.
- [6] Internetzitat: <http://www.bag.admin.ch/prionen/01879/01883/index.html?lang=de> (letzter Zugang: 03. Januar 2007)
- [7] Ricketts MN, Brown P. Transmissible spongiforme encephalopathy update and implications for blood safety. *Clin Lab Med* 2003;23:129-137.
- [8] Houston F, Foster JD, Chong A, Hunter N, Bostock CJ. Transmission of BSE by blood transfusion in sheep. *Lancet* 2000;356:999-1000.
- [9] Hunter N, Foster J, Chong A, McCutcheon S, Parnham D, Eaton S, MacKenzie C, Houston F. Transmission of prion diseases by blood transfusion. *Journal of General Virology* 2002;83:2897-2905.
- [10] Llewelyn CA, Hewitt PE, Knight RSG, Amar K, Cousens S, Mackenzie J, Will RG. Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion. *Lancet* 2004;363:417-421
- [11] Peden AH, Head MW, Ritchie DL, Bell JE, Ironside JW. Preclinical vCJD after blood transfusion in a PRNP codon 129 heterozygous patient. *Lancet* 2004;364:527-529
- [12] Internetzitat: http://www.hpa.org.uk/hpa/news/articles/press_releases/2006/060209_cjd.htm (letzter Zugang: 03. Januar 2007)
- [13] Wroe SJ, Pal S, Siddique D, Hyare H, Macfarlane R, Joiner S, Linehan JM, Brandner S, Wadsworth JDF, Hewitt P, Collinge J. Clinical presentation and pre-mortem diagnosis of variant Creutzfeldt-Jakob disease associated with blood transfusion: a case report. *Lancet* 2006;368:2061-2067.
- [14] Ironside JW, Head MW. Variant Creutzfeldt-Jakob disease and its transmission by blood. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2003;1:1479-1486.
- [15] The National CJD Surveillance Unit. 13th Annual Report 2004. <http://www.cjd.ed.ac.uk/report13.htm> (letzter Zugang: 03. Januar 2007)
- [16] Tyler KL. Commentary: Gibbs CJ, Amyx HL, Bacote A, Masters CL, Gajdusek CD. Oral Transmission of Kuru, Creutzfeldt-Jakob Disease, and Scrapie to Non-human Primates. *J Infect Dis* 1980;142:205-208.
- [17] Goldfarb LG, Cervenakova L, Gadjusek DC. Genetic studies in relation to kuru: an overview. *Curr Mol Med* 2004;4:375-384.

- [18] Collinge J, Whitfield J, McKintosh E, Beck J, Mead S, Thomas DJ, Alpers MP. Kuru in the 21st century – an acquired human prion disease with very long incubation periods. *Lancet* 2006;367:2068-2074.
- [19] Ironside JW, Bishop MT, Conolly K, Hegazy D, Lowrie S, Le Grice M, Ritchie DL, McCardle LM, Hilton DA. Variant Creutzfeldt-Jakob disease: prion protein genotype analysis of positive appendix tissue samples from a retrospective prevalence study. *BMJ* 2006;332:1186-1188.
- [20] Ersdal C, Ulvund MJ, Espenes A, Benestad SL, Sarradin P, Landsverk T. Mapping PrP^{Sc} propagation in experimental and natural scrapie with different PrP genotypes. *Vet Pathol* 2005;42:258-274.
- [21] Evatt BL. Prions and haemophilia: assessment of risk. *Haemophilia* 1998;4:628-633.
- [22] Evatt B, Austin H, Barnhart E, Schonberger L, Sharer L, Jones R, DeArmond S. Surveillance for Creutzfeldt-Jakob disease among persons with hemophilia. *Transfusion* 1998;38:817-820.
- [23] Lee CA, Ironside JW, Bell JE, Giangrande C, Ludlam M, Esiri M, McLaughlin JE. Retrospective neuropathological review of prion disease in UK haemophiliac patients. *Thromb Haemost* 1998;80:909-911.
- [24] Internetzitat: <http://www.swissmedic.ch/Archiv/Prionensicherheit-d.pdf#search=%22swissmedic%20%C3%BCberpr%C3%BCft%20die%20Prionensicherheit%22> (letzter Zugang: 03. Januar 2007)
- [25] CHMP Position Statement on Creutzfeldt-Jakob Disease and Plasma-Derived and Urine-Derived Medicinal Products, London, 23 June 2004, EMEA/CPMP/BWP/2879/02/rev 1.
- [26] Guideline on the Investigation of Manufacturing Processes for Plasma-Derived Medicinal Products with Regard to vCJD Risk, London, 21 October 2004, CPMP/BWP/CPMP/5136/03.
- [27] Gregori L, McCombie N, Palmer D, Birch P, Sowemimo-Coker SO, Giulivi A, Rohwer RG. Effectiveness of leucoreduction for removal of infectivity of transmissible spongiform encephalopathies from blood. *Lancet* 2004;364:529-531.
- [28] Foster PR, Welch AG, McLean C, Griffin BD, Hardy JC, Bartley A, MacDonald S, Bailey AC. Studies on the Removal of Abnormal Prion Protein by Processes Used in the Manufacture of Human Plasma Products. *Vox Sang* 2000;78:86-95.
- [29] Gregori L, Maring JA, MacAuley C, Dunston B, Rentsch M, Kempf C, Rohwer RG. Partitioning of TSE infectivity during ethanol fractionation of human plasma. *Biologicals* 2004;32:1-10.
- [30] Vey M, Baron H, Weimer T, Gröner A. Purity of spiking agent affects partitioning of prions in plasma protein purification. *Biologicals* 2002;30:187-196.
- [31] Lee DC, Stenland CJ, Miller JCL, Cai K, Ford E, Gilligan KJ, Hartwell RC, Terry JC, Rubenstein R, Fournel M, Petteway SR. A direct relationship between partitioning of the pathogenic prion protein and transmissible spongiform encephalopathy infectivity during the purification of plasma proteins. *Transfusion* 2001;41:449-455.
- [32] Cai K, Miller JLC, Stenland CJ, Gilligan KJ, Hartwell RC, Terry JC, Evans-Storms RB, Rubenstein R, Petteway SR, Lee DC. Solvent-dependent precipitation of prion protein. *Biochim Biophys Acta* 2002;1579:28-35.

- [33] Trejo SR, Hotta JA, Lebing W, Stenland C, Storms RE, Lee DC, Li H, Petteway S, Remington KM. Evaluation of virus and prion reduction in a new intravenous immunoglobulin manufacturing process. *Vox Sang* 2003;84:176-187.
- [34] Stenland CJ, Lee DC, Brown P, Petteway SR, Rubenstein R. Partitioning of human and sheep forms of the pathogenic prion protein during the purification of therapeutic proteins from human plasma. *Transfusion* 2002;42:1497-1500.
- [35] Tateishi J, Kitamoto T, Mohri S, Satoh S, Satoh T, Shepherd A, Macnaughton MR. Scrapie removal using Planova virus removal filters. *Biologicals* 2001;29:17-25.
- [36] Van Holten RW, Autenrieth S, Boose JA, Hsieh WT, Dolan S. Removal of prion challenge from an immune globulin preparation by use of a size-exclusion filter. *Transfusion* 2002;42:999-1004.
- [37] Lee DC, Stenland CJ, Hartwell RC, Ford EK, Cai K, Miller JLC, Gilligan KJ, Rubenstein R, Fournel M, Petteway SR. Monitoring plasma processing steps with a sensitive Western blot assay for the detection of the prion protein. *Journal of Virological Methods* 2000;84:77-89.
- [38] Foster PR. Assessment of the potential of plasma fractionation processes to remove causative agents of transmissible spongiform encephalopathy. *Transfusion Medicine* 1999;9:3-14.
- [39] Note for Guidance on Virus Validation Studies: the Design, Contribution and Interpretation of Studies Validating the Inactivation and Removal of Viruses, London, 14 February 1996, CPMP/BWP/268/95.
- [40] Internetzitat:
http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/tse_assessments/gbr_assessments/sury_list_countries.Par.0001.File.dat/GBR_assessments_table_Overview_assessed_countries_2002-2006.pdf (letzter Zugang: 03. Januar 2007)
- [41] Internetzitat:
<http://www.swissmedic.ch/Archiv/Blutspenden.pdf> (letzter Zugang: 03. Januar 2007)
- [42] Bericht der Arbeitsgruppe (Mitarbeiter des Paul-Ehrlich-Instituts, des Robert Koch-Instituts, des Bundesministerium für Gesundheit und externe Experten) "Gesamtstrategie Blutversorgung angesichts vCJK" vom 13. April 2006, Seite 82.
- [43] Jahresbericht 2004 des Blutspendedienst SRK, Seiten 24 und 25.
- [44] Soto C. Diagnosing prion diseases: needs, challenges and hopes. *Nat Rev Microbiol* 2004;2:809-819.
- [45] Miele G, Manson J, Clinton M. A novel erythroid-specific marker of transmissible spongiform encephalopathies. *Nat Med* 2001;7:361-364.
- [46] Glock B, Winter M, Rennhofer SO, Brunholzl E, Troscher D, Reisacher RB, Mayr WR. Transcript level of erythroid differentiation-related factor, a candidate surrogate marker for transmissible spongiform encephalopathy disease in blood, shows a broad range of variation in healthy individuals. *Transfusion* 2003;43:1706-1710.
- [47] Brown P, Cervenakova L, Diringer H. Blood infectivity and the prospects for a diagnostic screening test in Creutzfeldt-Jakob disease. *J Lab Clin Med* 2001;137:5-13.
- [48] Saborio GP, Permanne B, Soto C. Sensitive detection of pathological prion protein by cyclic amplification of protein misfolding. *Nature* 2001;411:810-813.

- [49] Sowemimo-Coker SO, Pesci S, Andrade F, Kim A, Kascsak RB, Kascsak RJ, Meeker C, Carp R. Pall leukotrap affinity prion-reduction filter removes exogenous infectious prions and endogenous infectivity from red cell concentrates. *Vox Sang* 2006;90:265-275.
- [50] Gregori L, Lambert BC, Gurgel PV, Gheorghiu L, Edwardson P, Lathrop JT, MacAuley C, Carbonell RG, Burton SJ, Hammond D, Rohwer RG. Reduction of transmissible spongiform encephalopathy infectivity from human red blood cells with prion protein affinity ligands. *Transfusion* 2006;46:1152-1161.
- [51] Prowse C. Prion removal with filters. *ISBT Science Series* 2006;1:230-234.
- [52] Gregori L, Lambert BC, Rohwer R. Removal of Brain PrP^{res} in Leukoreduced Human RBC Using the MacoPharma Prion Capture (P-CAPTTM) Filter. Poster 16.11 of the 39th Annual Congress of the German Society for Transfusion Medicine and Immunohematology (DGTI), 19. – 22. September 2006, Frankfurt a.M. und *Transfusion Med Hemother* 2006;33(suppl 1):75-76.
- [53] Internetzitat: http://www.pall.com/34445_38650.asp (Technischer Bericht von Pall, letzter Zugang: 03. Januar 2007)

Weitere Auskünfte:

Anna Barbara Stalder, Wissenschaftliche Projektleiterin Abteilung Impfstoffe und Blutprodukte, Tel. 031 322 04 77

Daniel Häuptli, Co-Leiter Abteilung Impfstoffe und Blutprodukte, Tel. 031 323 55 67

Urs Candrian, Co-Leiter Abteilung Impfstoffe und Blutprodukte, Tel. 031 322 94 62