

Zikavirus (ZIKV)

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 wird als Zusammenfassung des aktuellen Wissensstandes veröffentlicht, speziell unter transfusionsmedizinisch relevanten Aspekten (Bundesgesundheitsbl. 41, 53, 1998).

Diese Stellungnahme wurde am 13.04.2016 verabschiedet.

1. Wissensstand über den Erreger

Durch Arthropoden übertragbare Viren (Arboviren) und insbesondere Viren aus dem Genus Flavivirus der *Flaviviridae* haben sich in den vergangenen Jahrzehnten in vielen subtropischen und tropischen Ländern ausgebreitet [1]. Diese schließen Dengueviren (DENV), Chikungunyavirus (CHIKV), West-Nil-Virus (WNV) und Usutuivirus (USUV) ein [1–4]. Für DENV und CHIKV bilden der Mensch und andere Primaten das Virusreservoir. Mücken, die sich durch die Blutmahlzeit beim Menschen infizieren, sind als Vektor zur Aufrechterhaltung des Infektionszyklus notwendig. Internationale Verkehrswege werden dabei als ein Weg gesehen diese Mückenspezies über große Strecken zu verbreiten.

Der erste Zikavirus (ZIKV)-Ausbruch im Jahr 2007 ereignete sich auf Inseln der Föderierten Staaten von Mikronesien [5]. Von dort ausgehend breitete sich das Virus im Pazifikraum bis in die Karibik und nach Süd- und Mittelamerika aus [6–11].

ZIKV wurde erstmals 1947 aus dem Serum eines Rhesusaffen durch intrazerebrale Infektion von Mäusen isoliert [12]. Der Rhesusaffe diente als Indikator für die Verbreitung von Gelbfiebervirus (YFV) im Zikawald in Uganda. Etwa neun Monate später gelang in derselben Region der Nachweis von ZIKV in Mücken der Spezies *Aedes africanus* [12, 13]. Die Differenzierung von anderen bekannten Viren wie YFV oder DENV gelang durch Verwendung von definierten Antisera in Neutralisationstesten. Das Isolat wurde nach dem Ort des ersten Nachweises des Virus im Zikawald benannt. In den folgenden Jahren wurden ZIKV aus verschiedenen Mückenarten in Afrika isoliert [14, 15].

Nur wenige Berichte über sporadische Fälle von Erkrankungen bei Menschen wurden bis zum Jahr 2007 veröffentlicht. Die Erkrankungen verliefen vergleichbar zu milden Erkrankungen durch DENV bzw. CHIKV. Im Allgemeinen wird ZIKV durch infizierte Mücken bei der Blutmahlzeit übertragen. Es wird jedoch zunehmend über intrauterine und perinatale Infektionen berichtet. Bisher sind nur einzelne Fälle von Übertragungen durch Bluttransfusionen, Sexualkontakt und Arbeiten in Labor bekannt geworden [16–18].

1.1 Erregereigenschaften

Aufgrund seiner serologischen Kreuzreaktivität mit weiteren Vertretern des Genus Flavivirus wie Gelbfieberevirus (YFV), WNV, Japan-Enzephalitisvirus (JEV) und DENV wurde ZIKV dem Spondweni-Serokomplex zugeordnet [19, 20]. Flaviviren haben eine Lipidhülle, die sich von Membranen der Wirtszelle ableitet. In die Virushülle sind virale Glykoproteine eingelagert. Die Virushülle umschließt das virale Kapsid mit dem viralen einzelsträngigen Positivstrang-RNA-Genom mit einer Größe von etwa 11.000 Nukleotiden. Das Genom kodiert für ein Polyprotein mit einer Größe von etwa 3.400 Aminosäuren, das durch zelluläre und virale Proteasen in Struktur- und Nichtstrukturproteine prozessiert wird. Der Genomaufbau entspricht dem anderer Vertreter der Flaviviren (5'-C-prM-E-NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-2K-NS4B-NS5-3'). Die drei Gene für die Strukturproteine (Kapsidprotein [C], Vorläufermembranprotein/Membranprotein [prM/M], Hüllprotein [E, *envelope protein*]) sind am 5'-Ende lokalisiert, gefolgt von den sieben Genen für die Nichtstrukturproteine NS1 bis NS5. Diese Proteine haben entweder enzymatische Aktivitäten (Protease, RNA-abhängige RNA-Polymerase) oder sind an der Regulation der Virusvermehrung beteiligt [21, 22]. Das Hüllprotein E ist für die Anheftung an Zellen und deren Infektion notwendig. Im infizierten Wirt werden durch das Hüllprotein E neutralisierende Antikörper induziert.

Phylogenetische Analysen von ZIKV-Isolaten aus Menschen, Affen und Mücken unterscheiden zwei Genotypen, die in Afrika bzw. Asien endemisch sind [15, 23–26]. Innerhalb des afrikanischen Genotyps lassen sich ein westafrikanischer und ein ostafrikanischer Typ differenzieren [26, 27].

Bisher liegen nur wenige Untersuchungen zur Stabilität von ZIKV vor. Dick untersuchte die Stabilität von ZIKV in Mäusegehirnsuspensionen [13]. Er konnte in Mausexperimenten zeigen, dass Virus aus schonend getrockneten Gehirnsuspensionen nach 30 Monaten Lagerung bei 0° C

bis 4°C isoliert werden konnte. In Gehirnsuspensionen (10%) wurde ZIKV durch Äther (1+1 gemischt) oder Kaliumpermanganat inaktiviert, ebenso wie durch Hitzebehandlung bei 60°C für 15 Minuten bzw. bei 58°C für 30 Minuten. Lagerung von virushaltigen Gehirnsuspensionen bei einem pH ≤6,2 oder pH ≥7,8 führte zu einer raschen Inaktivierung [13]. Aus den bisher bekannten Untersuchungen zur Stabilität von anderen Vertretern des Genus Flavivirus wie DENV, YFV, FSMEV und WNV kann angenommen werden, dass das Flavivirus ZIKV eine mit den genannten Viren vergleichbare Thermostabilität und Empfindlichkeit gegen Desinfektionsmittel, Alkohole und Detergenzien aufweist [28–30].

1.2 Infektion und Infektionskrankheit

In der Regel erfolgt die Infektion eines Menschen mit Flaviviren bei der Blutmahlzeit einer infizierten Mücke. Hautbiopsien von Menschen wurden verwendet um die Zellen zu identifizieren, in denen sich ZIKV vermehren kann [31]. Vergleichbar zu anderen Flaviviren sind in der menschlichen Haut Fibroblasten, Keratinozyten und unreife dendritische Zellen infizierbar. Für die Infektion der Zellen sind Rezeptoren auf den Zellen wie DC-SIGN, AXL, Tyro3 und TIM-1 notwendig [31, 32]. Arbovirus-infizierte Mücken initiieren die Infektion beim Stich und bei der Injektion von virushaltigem Speichel in die Epidermis. Der Speichel der Mücke kann die Reaktion der Zellen der Epidermis modulieren und damit die Vermehrung des Virus in Zellen der Haut ermöglichen [33].

Nach der Virusvermehrung in den Hautzellen breitet sich das Virus über die Blutbahn weiter aus. Infektiöses Virus bzw. virales Genom in Serum oder Plasma kann in den ersten Tagen der Infektion nachgewiesen werden.

Bis zum Jahr 2007 wurden nur einzelne Berichte über ZIKV-assoziierte Erkrankungen veröffentlicht. Macnamara beschrieb 1954 die erste Isolierung eines ZIKV aus dem Blut eines Mädchens, das im Rahmen der Untersuchung eines Gelbsucht-Ausbruchs in Nigeria untersucht wurde [34]. Bei zwei weiteren Personen in dieser Untersuchung wurde ein ZIKV-Antikörperanstieg während dieses Ausbruchs gemessen. Weitere Isolate von Menschen wurden in den folgenden Jahren in Uganda und Nigeria beschrieben [35–37]. Symptome wie Fieber, Kopfschmerzen, Unpässlichkeit und Abgeschlagenheit standen im Vordergrund [38]. Vergleichbare Symptome zeigte ein gegen Gelbfieber geimpfter Freiwilliger nach subkutaner Injektion einer verdünnten Gehirnsuspension einer ZIKV-infizierten Maus [39]. Sieben Tage

nach Infektion (*days post infection*, dpi) war der Proband fieber- und symptomfrei. Infektiöses Virus konnte in niedrigen Titern im Serum des Probanden zwischen dem 4. und 6. dpi nachgewiesen werden.

In zwei Fallberichten wurden die Verläufe von im Labor erworbenen ZIKV-Infektionen beschrieben. Beide Patienten waren jeweils gegen Gelbfieber geimpft [16, 35]. In beiden Fällen wurde die Infektion durch Isolierung von ZIKV bestätigt. Ein Infizierter klagte am ersten Krankheitstag über Fieber, retroorbitale Schmerzen sowie Rücken-, Nacken- und Gelenkschmerzen [16]. Der zweite Infizierte litt am ersten Krankheitstag unter Kopfschmerzen und entwickelte am zweiten Tag am ganzen Körper einen makulopapulösen Ausschlag sowie leichte Rücken- und Beinschmerzen. In beiden Fällen klangen die Symptome innerhalb weniger Tage ab. Ähnliche Symptome wie in den oben beschriebenen Fällen wurden auch bei einzelnen Erkrankten in Afrika und bei einem kleinen Ausbruch (sieben Personen) in Indonesien beschrieben, bei denen die Infektion jeweils durch einen ZIKV-spezifischen Antikörperanstieg nachgewiesen wurde [34, 36, 37, 40].

Aus diesen und weiteren Befunden, die bei Ausbrüchen gewonnen wurden, lässt sich ableiten, dass die Inkubationszeit etwa zwei bis sieben Tage beträgt und damit vergleichbar zum Infektionsverlauf anderer Flavivirus-Infektionen wie Dengue oder West-Nil-Fieber ist [2, 3, 5, 41, 42]. Man geht davon aus, dass etwa 80% der Personen, die sich mit ZIKV infizieren, keine Symptome entwickeln.

Erster großer ZIKV-Ausbruch

Der erste große ZIKV-Ausbruch im Jahr 2007 auf Yap, einer Insel der Föderierten Staaten von Mikronesien, beobachtet. Die überwiegende Zahl der erkrankten, ZIKV-infizierten Patienten litt unter den zuvor beschriebenen leichten Symptomen. Überraschend waren jedoch die rasche Ausbreitung des Erregers und eine damit verbundene hohe Zahl an Erkrankten [5]. In der nachfolgenden Epidemie in Französisch-Polynesien im Jahr 2013, die sich ebenfalls schnell ausbreitete, traten bei den meisten klinisch Erkrankten leichtes Fieber, Gliederschmerzen, makulopapulöser Ausschlag und Konjunktivitis auf [8].

Guillain-Barré-Syndrom

Im November 2013 wurde berichtet, dass Patienten kurz nach Auftreten von ZIKV-Infektionen

ein Guillain-Barré-Syndrom (GBS) entwickelten [43]. GBS ist eine seltene aber potentiell tödliche akut auftretende neurologische Erkrankung, bei der es zu entzündlichen Veränderungen des peripheren Nervensystems kommt. Schätzungsweise 2/3 aller Patienten, die ein GBS entwickelten, litten kurz vor Symptombeginn an einer Infektion. Im Vergleich zu den zurückliegenden Jahren mit Erkrankungsraten von 1–2/100.000 Einwohner stieg während der ZIKV-Epidemie die Anzahl der GBS-Fälle um etwa das Zwanzigfache an [44, 45]. Es kann daher angenommen werden, dass ZIKV an der Auslösung des akut auftretenden neurologischen Krankheitsbildes mit inflammatorischen Veränderungen des peripheren Nervensystems beteiligt war [43,44].

Eine Häufung von GBS wurde auch im Verlauf der Epidemie in Süd- und Mittelamerika beobachtet (Brasilien, El Salvador, Kolumbien, Surinam und Venezuela) in 2015/2016 [46]. Des Weiteren konnte ZIKV aus dem Urin von zwei Patienten auf Martinique mit GBS isoliert werden [47]. Über die Assoziation von GBS und Infektionen mit anderen Arboviren wie DENV oder CHIKV wurde berichtet [48, 49].

Mikrozephalie und andere Missbildungen

Besondere Aufmerksamkeit erregten Berichte einer Assoziation von ZIKV-Infektionen und Mikrozephalie bei Föten und Neugeborenen in Brasilien. So wurde aus einigen Regionen im Nordosten Brasiliens über einen Anstieg der gemeldeten Fälle von Mikrozephalie und anderen Fehlbildungen berichtet und in einigen Fällen ZIKV in Geweben einschließlich dem Gehirn von Totgeburten nachgewiesen [50, 51]. Die Frage, ob ZIKV Mikrozephalie induzieren kann und eine teratogene Wirkung hat, ist Teil einer intensiven Diskussion [52]. Der Nachweis hoher Mengen von ZIKV-RNA sowie von Viruspartikeln im Gehirn eines betroffenen Föten legt jedoch eine kausale Beteiligung nahe [50]. Diese Annahme wird durch epidemiologische Daten unterstützt, die einen starken Anstieg der Mikrozephalie seit Mai 2015 in Brasilien belegen.

Kürzlich wurde eine Studie mit 88 Schwangeren aus Rio de Janeiro veröffentlicht (5. bis 38. Schwangerschaftswoche), die in den letzten 5 Tagen Hautausschlag als mögliches ZIKV-assoziierte Symptom entwickelt hatten [53]. Eine ZIKV-Infektion wurde bei 72 Frauen mit der PCR bestätigt (Blut und Urin). Bei 42 ZIKV-positiven Frauen und 16 ZIKV-negativen Frauen konnten Ultraschalluntersuchungen durchgeführt werden. Kein Fötus der 16 ZIKV-negativen Schwangeren zeigte Auffälligkeiten. Bei 12 von 42 ZIKV-positiven Schwangeren wurden mit

Dopplersonografie auffällige Veränderungen einschließlich Veränderungen des zentralen Nervensystems bei den Föten festgestellt. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung war es bei den ZIKV-positiven Frauen zu zwei Totgeburten gekommen (36. bzw. 38. Schwangerschaftswoche). Sechs Kinder wurden bisher lebend geboren. Zwei davon mit normalem pränatalem Ultraschallbefund waren gesund. Bei einem Kind bestätigte sich die pränatal diagnostizierte Wachstumsstörung nicht, zwei Kinder hatten eine Mikrozephalie und ein Kind hatte eine Wachstumsstörung mit proportional kleinem Kopfumfang.

Diese Ergebnisse belegen, dass Schwangere, die sich in der Schwangerschaft mit ZIKV infizieren, ein hohes Risiko schwerwiegender Schwangerschaftskomplikationen haben [54]. Inwieweit dies auch für Schwangere gilt, die eine asymptomatische ZIKV-Infektion durchlaufen, muss noch weiter abgeklärt werden.

Epidemiologische und virologische Erkenntnisse und Missbildungen bei Föten und Neugeborenen in Gebieten mit einer hohen Rate an ZIKV-Infektionen unterstützen die vorläufigen alarmierenden Ergebnisse aus der Studie in Rio de Janeiro [55–57]. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass menschliche neuronale Vorläuferzellen differenziert aus pluripotenten Stammzellen bevorzugt von ZIKV infiziert werden. Dies führt zur Dysregulation der Transkription und zum Tod dieser Zellen [58, 59]. Mit diesem experimentellen System kann möglicherweise der Einfluss von ZIKV auf die Schädigung von Gehirnzellen weiter untersucht werden.

Sowohl die WHO, die CDC als auch Gesundheitsbehörden (PAHO) in von der ZIKV-Epidemie direkt betroffenen Staaten haben Empfehlungen für Schwangere veröffentlicht [60, 61]. Zudem haben die Gesundheitsbehörden in einigen lateinamerikanischen Staaten Frauen empfohlen, geplante Schwangerschaften zu verschieben [61]. Schwangeren Frauen wird auch empfohlen, während der Schwangerschaft auf unnötige Reisen in ZIKV-Endemiegebiete zu verzichten bzw. sich bei solchen Reisen vor Mückenstichen zu schützen [62, 63].

In Abstimmung mit dem Robert Koch-Institut (RKI) haben das Auswärtige Amt und die Deutsche Gesellschaft für Tropenmedizin (DTG) [64] ähnliche Empfehlungen für Schwangere und Frauen, die schwanger werden wollen, veröffentlicht.

Übertragungswege

Aus einer Vielzahl von Mücken des Genus *Aedes*, aber auch aus anderen Genera, wurde in Afrika

und Asien ZIKV isoliert [15, 26]. Im Prinzip können alle diese Stechmückenspezies als potentielle Vektoren für ZIKV angesehen werden [65]. Ob und welche der verschiedenen Mückenspezies ZIKV bei einer Blutmahlzeit auf den Menschen übertragen können, ist nicht systematisch untersucht. *Aedes (Stegomyia) aegypti* und *Aedes (Stegomyia) albopictus* scheinen jedoch die wesentlichen Vektoren bei der Übertragung und Ausbreitung von ZIKV zu sein. Beide Mückenarten haben einen urbanen Infektionszyklus und nehmen präferentiell ihre Blutmahlzeiten vom Menschen. Beide Mückenspezies übertragen auch DENV sowie CHIKV. Diese Vektoren haben sich in den letzten Jahren und Jahrzehnten an den Menschen adaptiert und sind in den gleichen Regionen wie DENV, CHIKV und ZIKV verbreitet [1, 27, 66].

Der Mensch ist im urbanen Infektionszyklus das Virusreservoir von ZIKV, DENV und CHIKV. Mücken nehmen bei der Blutmahlzeit auf virämischen Menschen Viren auf. Nach Vermehrung der Erreger in den Mücken können diese dann den Erreger bei der nächsten Blutmahlzeit auf weitere Menschen übertragen.

Weitere Übertragungswege

Im Verlaufe der Ausbreitung von ZIKV im pazifischen Raum und den Amerikas wurden weitere Übertragungswege aufgezeigt. Bereits im November 2013 wurden in Französisch-Polynesien Blutspenden mit einer ZIKV-spezifischen PCR auf ZIKV-Genom untersucht. Von insgesamt etwa 1.500 Blutspenden waren 42 (3%) positiv. Die Spender waren zum Zeitpunkt der Spende gesund. Ein Teil der Spender entwickelte aber 3 bis 10 Tage nach der Spende Symptome einer ZIKV-Infektion. ZIKV konnte aus PCR-positiven Seren isoliert werden, so dass davon auszugehen war, dass diese Spenden infektiös waren [67]. Die ersten beiden Fälle Transfusions-assoziiertes Übertragungen von ZIKV wurden aus Brasilien berichtet [68]. Die Übertragungen fanden bereits im März bzw. April 2015 statt. Ein Patient wurde nach einer Transplantation transfundiert und entwickelte Fieber. Die Spende stammte von einem gesunden Spender, der aber einige Tage nach der Spende Symptome einer ZIKV-Infektion entwickelte. Durch Genomanalyse der ZIKV-Genome des Spenders und des Empfängers konnte die Quelle des Virus belegt werden. Sowohl der Empfänger als auch der Spender wurden gesund. Der zweite Patient, der später an den Folgen einer Schussverletzung starb, war multitransfundiert. Der ursprüngliche Verdacht auf eine DENV-Infektion wurde differentialdiagnostisch ausgeschlossen und später der Nachweis einer ZIKV-Übertragung durch die Transfusion geführt [69].

In Französisch-Polynesien wurden erstmals perinatale Übertragungen von der Mutter auf das Neugeborene beschrieben [70]. Bereits 2011 wurde die Vermutung geäußert, dass ZIKV beim Geschlechtsverkehr übertragen werden kann [20]. Im Jahr 2008 traten bei zwei Rückkehrern aus dem Senegal etwa neun Tage nach Eintreffen in Colorado, USA, Krankheitssymptome auf, die kompatibel mit Symptomen einer ZIKV-Infektion waren. Zusätzlich wurde auch bei einem der Patienten eine Hämatospermie beobachtet. Die Ehefrau eines dieser Patienten entwickelte etwa 8 Tage nach Auftreten der Erkrankung ihres Partners ebenfalls Symptome einer ZIKV-Infektion [20]. Weitere Fälle von sexuellen Übertragungen werden aus den USA und Italien berichtet [71, 72]. Musso und Mitarbeiter konnten infektiöses ZIKV aus dem Ejakulat eines Mannes mit Hämatospermie isolieren, der etwa zwei Wochen vor Auftreten der Hämatospermie Symptome einer ZIKV-Infektion aufwies. Es konnten etwa 3×10^6 bis $1 \times 10^{8,6}$ Genomäquivalente/ml Ejakulat nachgewiesen werden [73, 74]. Nach den bisher vorliegenden Untersuchungsergebnissen können im männlichen Genitaltrakt virale Genome bis etwa 10 Wochen nach Abklingen der Symptome nachgewiesen werden [75, 76]. Bisher liegen keine Berichte über das Risiko einer Übertragung durch Vaginalsekret vor. Inwieweit die sexuelle Übertragung von ZIKV in Endemiegebieten oder bei einem Ausbruch eine epidemiologische Rolle spielt, ist unbekannt.

Ausgehend von Berichten über den Nachweis von DENV im Urin und Speichel von Patienten mit einer DENV-Infektion wurde mit der PCR gezeigt, dass auch ZIKV im Urin und Speichel von Patienten ausgeschieden wurde [77–81]. Speichelproben können insbesondere von Interesse sein, wenn Serum nur unter schwierigen Bedingungen gewonnen werden kann, z. B. bei Kindern und Neugeborenen.

Beginnend etwa zwei Tage nach Auftreten von Krankheitssymptomen wird ZIKV über den Urin ausgeschieden und kann 15 bis 20 Tage lang mit der PCR nachweisbar sein [81, 82]. Die Frage stellt sich, ob ZIKV auch über diese Körperflüssigkeiten übertragen werden kann [81, 83]. Bisher gibt es keine Berichte über eine vermutete Übertragung von ZIKV durch viruskontaminierten Speichel oder Urin.

1.3 Epidemiologie

Die Epidemiologie von Infektionen mit DENV, CHIKV und ZIKV ist eng mit den Verbreitungsgebieten von *Ae. aegypti* und *Ae. albopictus* verbunden [66, 84]. Beide *Aedes*-Spezies haben sich in den vergangenen Jahrzehnten von ihren ursprünglichen

Verbreitungsgebieten in Asien (*Ae. albopictus*, Tigermücke) und Afrika (*Ae. aegypti*, Gelbfiebermücke) nach Amerika und Europa ausgebreitet. Die Ausbreitung der Mücken wird durch internationale Mobilität begünstigt, insbesondere durch Gütertransport und Flugverkehr. Das Auftreten von ZIKV-Ausbrüchen in Gebieten, in denen DENV und CHIKV endemisch zirkulieren, stellt die Gesundheitssysteme vor Probleme, da diese Viren ähnliche Krankheitssymptome verursachen [85]. Häufig erfolgen Tests auf ZIKV erst nach Ausschluss von DENV- oder CHIKV-Infektionen. Erschwert wird eine serologische Differentialdiagnose durch die bei Flaviviren häufig beobachteten Kreuzreaktionen in Antikörpersuchtesten wie ELISA- und Hämagglutinationshemmtesten.

Dick beschrieb 1952 erstmals den Nachweis von ZIKV-spezifischen Antikörpern beim Menschen [13]. Im Verlauf der folgenden Jahre wiesen serologische Untersuchungen darauf hin, dass ZIKV-Infektionen in verschiedenen afrikanischen Staaten wie Uganda, Ägypten, Senegal und Nigeria sowie in asiatischen Staaten wie Pakistan, Thailand, Indonesien und den Philippinen zwar weit verbreitet waren, dass aber nur einzelne Infizierte Krankheitssymptome entwickelten [37, 86–89]. Es wurde daher angenommen, dass ZIKV-Infektionen in der Regel asymptomatisch oder nur mit sehr milden Symptomen verlaufen.

Bis zum Ausbruch auf Yap im Jahr 2007 stammten die meisten Virusisolate aus verschiedenen Mückenspezies und nur ca. 10 Virusisolate von Menschen [15, 26]. Die humanen Isolate wurden meist in Studien zur Verbreitung und Überwachung anderer Arboviren wie YFV gewonnen [34, 36, 37].

Die teilweise hohe Seroprävalenz in verschiedenen Regionen Afrikas und Asiens führte zu der Annahme, dass zwei verschiedene Infektionszyklen bestehen, ein sylvatischer und ein urbaner. Der Nachweis von ZIKV-spezifischen Antikörpern bei Affen in Afrika und Asien bzw. die Isolierung des Erregers aus Affen unterstützt die Annahme, dass ein sylvatischer Zyklus existiert [13, 15, 90, 91].

Im urbanen Zyklus stellt der Mensch das Virusreservoir dar. Ob Tiere als Reservoir in diesem Zyklus dienen können, ist nicht bekannt. In Einzelfällen wurden Antikörper gegen ZIKV in verschiedenen Tierspezies wie Nagetieren und Nutztieren nachgewiesen [88]. Es wurde bereits gezeigt, dass Mäuse experimentell durch intrazerebrale oder intraperitoneale Inokulation oder durch Mücken mit ZIKV infiziert werden können [12, 15, 37, 92]. Inwieweit diese Befunde dahingehend interpretiert werden können, dass Nagetiere ein Reservoir für ZIKV darstellen

können, ist unklar.

Im urbanen Infektionszyklus besitzen *Ae. albopictus* und *Ae. aegypti* eine hohe Vektorkompetenz für die Übertragung von DENV und CHIKV, aber auch für ZIKV. Beide Mückenspezies vermehren sich hauptsächlich in urbanen Regionen. Ihre Vektorkompetenz wurde durch die experimentelle orale Infektion mit ZIKV belegt [92, 93].

Im April 2007 wurden mehrere Fälle einer Denguefieber-ähnlichen Infektion auf Yap beobachtet [5, 94]. Überraschend war, dass dieser Ausbruch durch ZIKV hervorgerufen wurde, da bisher angenommen wurde, dass in der Regel nur sporadische Erkrankungen beim Menschen auftreten. In einer Studie auf Yap wurden die Bewohner zufällig ausgewählter Haushalte auf ZIKV-Marker untersucht. Bei 49 Erkrankten konnte eine ZIKV-Infektion durch Laboruntersuchungen bestätigt werden und bei 59 Personen bestand der Verdacht einer Infektion. Die Auswertung der serologischen Untersuchungen ergab, dass etwa 5.000 von insgesamt 6.800 Bewohnern der Insel (73%) zwischen April und Juli 2007 mit ZIKV infiziert wurden [5]. Es wurde geschätzt, dass etwa 80% der Infektionen asymptomatisch verliefen. Phylogenetische Untersuchungen von Isolaten aus Erkrankten zeigten, dass diese zum asiatischen Genotyp gehörten und eine enge Verwandtschaft zu einem Isolat aus Kambodscha aufwiesen [15, 24]. Entomologische Untersuchungen auf Yap legten nahe, dass ZIKV durch *Ae. hensilli*-Mücken als Vektor übertragen wurde.

Im Oktober 2013 wurden in Französisch-Polynesien erstmals symptomatische ZIKV-Infektionen [8, 44, 45, 95] beobachtet. Aus den in Französisch-Polynesien erhobenen Daten wurde abgeschätzt, dass 28.000 bis 32.000 Personen der etwa 270.000 Einwohner zählenden Gesamtbevölkerung in den Jahren 2013 und 2014 durch ZIKV erkrankten. Die Durchseuchung der Bevölkerung Französisch-Polynesiens innerhalb sehr kurzer Zeit wird durch die Analyse von Blutspenden aus den Jahren 2011–2013 auf Antikörper gegen DENV, ZIKV, JEV und WNV unterstützt. In den beiden Jahren vor dem Ausbruch waren etwa 80% der Spenden positiv für DENV, aber weniger als 1% reagierten mit ZIKV-Antigenen und etwa 3% mit CHIKV [96]. Inwieweit die Reaktivität mit ZIKV auf Infektionen mit diesen Erregern zurückzuführen ist oder ob Kreuzreaktionen in den Testsystemen mit DENV-Antikörpern dafür verantwortlich sind, wurde nicht weiter untersucht.

Im Jahr 2014 wurden autochthone Infektionen und Erkrankungen durch ZIKV auf Pazifikinseln wie Neu-Kaledonien und den Cook-Inseln diagnostiziert [67]. ZIKV-Infektionen auf den

Osterinseln (Chile) wurden ebenfalls im Jahr 2014 beobachtet und stellten damit den ersten Nachweis des Erregers in den Amerikas dar. Die ersten autochthonen Infektionen in Brasilien wurden im Jahr 2015 beschrieben [97].

In Brasilien zirkuliert DENV schon seit Jahrzehnten [98]. Die ersten CHIKV-Fälle wurden im September 2014 im Nordosten Brasiliens diagnostiziert, wobei man davon ausgeht, dass CHIKV über die Karibik nach Brasilien eingeschleppt wurde [99]. Die Ko-Zirkulation dieser Arboviren, die vergleichbare Symptome hervorrufen und zudem durch die gleichen Vektoren übertragen werden können, stellt hohe Anforderungen an die Diagnostik. Zu Beginn des Jahres 2015 wurde in Natal, einer im Nordosten Brasiliens liegenden Stadt, von Erkrankungen mit einem Dengue-ähnlichen Syndrom berichtet. Von Februar bis Ende April 2015 wurden etwa 7.000 Erkrankungen aus weiteren nordöstlichen Bundesstaaten Brasiliens gemeldet.

Laboruntersuchungen schlossen zu Beginn der Krankheitswelle eine Infektion mit DENV oder CHIKV differentialdiagnostisch aus. Ende April 2015 wurde bekannt gegeben, dass es sich bei diesen Erkrankungen um Infektionen mit ZIKV des asiatischen Genotyps handelte, die eng mit Isolaten aus Französisch-Polynesien verwandt waren [25].

Bis Ende März 2016 hatte sich ZIKV in vielen Ländern Süd- und Mittelamerikas ausgebreitet. Außerdem wird seit Ende 2015 auf den Kapverdischen Inseln ein ZIKV-Ausbruch mit 7.000 Infizierten beobachtet. Bisher wurde noch nicht veröffentlicht, ob dieser Ausbruch durch den asiatischen oder den afrikanischen Genotyp verursacht wurde. Weltweit wurden bisher aus 42 Ländern autochthone Infektionen berichtet [100, 101].

In Europa wurden ZIKV-Infektionen bei mehreren Personen diagnostiziert, die aus ZIKV-Endemiegebieten bzw. aus Ausbruchsregionen zurückkehrten (u. a. Thailand, Malediven, Karibik, Brasilien, Mittelamerika, Borneo) [102–106]. Bei einer Schwangeren in Slowenien bestand der Verdacht auf eine ZIKV-Infektion, die sie während des ersten Drittels der Schwangerschaft in Brasilien erworben hatte [50]. Ultraschalluntersuchungen in der 29. bzw. 32. Schwangerschaftswoche zeigten Wachstumsanomalien des Fötus, woraufhin ein Schwangerschaftsabbruch eingeleitet wurde. Pathologische und virologische Untersuchungen bestätigten den Verdacht einer ZIKV-Infektion mit Mikrozephalie. ZIKV konnte in diesem Fall nur im fötalen Gehirn nachgewiesen werden. Phylogenetische Analysen des Gesamtgenoms bestätigten eine enge Verwandtschaft des Virus mit einer Sequenz aus Französisch-Polynesien und stehen im Einklang mit den Ergebnissen, dass Isolate aus Brasilien eng verwandt mit dem

asiatischen Genotyp sind.

Nachweis von ZIKV in Stechmücken

Die erste Isolierung von ZIKV gelang 1948 aus der Stechmücke *Aedes africanus* etwa zeitgleich mit der Isolierung aus einem Rhesusaffen im Zikawald in Uganda [12, 13]. In den folgenden Jahrzehnten wurden in Mückenpopulationen in afrikanischen und asiatischen Ländern weitere Isolate aus unterschiedlichen Vertretern des Genus *Aedes*, aber auch aus anderen Genera beschrieben [15, 26, 27, 107, 108].

Bereits in den 1950er Jahren wurde untersucht, ob sich weibliche *Ae. aegypti*-Mücken oral mit ZIKV infizieren lassen und den Erreger auf Versuchstiere übertragen können [92]. Es kann aus diesen und anderen Untersuchungen mit Flaviviren postuliert werden, dass die Kinetik der Virusvermehrung in Mücken zeit- und temperaturabhängig ist. Etwa 10 Tage nach Infektion lässt sich bei einer Inkubationstemperatur von 29°C ein Anstieg von infektiösem ZIKV in den Speicheldrüsen von oral infizierten *Ae. aegypti* nachweisen.

Eine Übertragung ist erst dann möglich, wenn der Virustiter in den Speicheldrüsen der Mücken hoch genug ist um einen Wirt bei der nächsten Blutmahlzeit zu infizieren [3, 109]. Ob und in welchen Regionen Deutschlands die dafür notwendigen Durchschnittstemperaturen erreicht werden können und welche heimischen Stechmücken als Vektoren für ZIKV dienen könnten, ist bisher nicht gut untersucht worden.

Im Senegal wurde aus einem Pool männlicher *Ae. fuscifer*-Mücken ZIKV isoliert [108]. Dies ist ein Hinweis darauf, dass ZIKV transovariell auf Mückeneier und damit auf weibliche und männliche Nachkommen übertragen werden kann [109]. Inwieweit dieser Übertragungsweg von epidemiologischer Bedeutung für die Ausbreitung von ZIKV ist, ist nicht bekannt. Die Bedeutung der vertikalen Transmission von anderen Arboviren wie etwa DENV wird kontrovers diskutiert [110]. Epidemiologische und entomologische Untersuchungen lassen vermuten, dass bei den Ausbrüchen auf Yap *Ae. hensilli* und in Französisch-Polynesien *Ae. aegypti* and *Ae. polynesiensis* als Vektor gedient haben könnten [5, 8, 111, 112]. Ausgehend von Untersuchungen zur Ausbreitung von DENV- und CHIKV-Infektionen in Brasilien und anderen Staaten Lateinamerikas wird postuliert, dass hauptsächlich *Ae. aegypti* und *Ae. albopictus* als Vektoren für die Arboviren ZIKV, DENV und CHIKV dienen [11, 17].

Ae. aegypti und *Ae. albopictus* bevorzugen die Nähe zu Menschen und legen die Eier in stehendem Wasser ab wie in Pfützen, Blumentöpfen, leeren Dosen, Grabgefäßen und anderen wassergefüllten Behältern. Weibliche *Ae. aegypti*-Mücken stechen bevorzugt Menschen bei Tage sowohl in Häusern als auch in deren Umgebung. *Ae. albopictus* nehmen die Blutmahlzeit bevorzugt bei Menschen, aber auch bei anderen Vertebraten wie Katzen, Hunden und anderen Säugetieren und bei Vögeln. Diese Mückenspezies hält sich meist außerhalb von Gebäuden auf. Sowohl *Ae. aegypti* als auch *Ae. albopictus* werden daher als potenzielle Vektoren für ZIKV angesehen. Allerdings sind auch Unterschiede in der Vektorkompetenz für die Übertragung verschiedener Arboviren wie DENV und CHIKV beschrieben [113]. Es muss davon ausgegangen werden, dass unter geeigneten Bedingungen autochthone Übertragungen von ZIKV auch im Verbreitungsgebiet der beiden *Aedes*-Mücken oder anderer Mückenspezies in Europa stattfinden können [114–116]. Potenzielle Infektionsquellen für die Mücken in Deutschland stellen dabei primär Rückkehrer aus ZIKV-Endemiegebieten dar.

In den vergangenen Jahren sind sowohl in Deutschland als auch in Europa verschiedene Forschungsprojekte initiiert worden, die sich mit in den verschiedenen Regionen heimischen Mückenspezies und der Veränderung der Verbreitungsgebiete von Stechmücken beschäftigen [115, 117]. Ein weiteres Ziel dieser Projekte ist die Identifizierung von exotischen Mückenspezies wie *Ae. albopictus* und *Ae. aegypti*, die durch den internationalen Warenverkehr eingeschleppt werden. Zudem soll die Kompetenz der verschiedenen einheimischen und exotischen Stechmücken untersucht werden, relevante Pathogene wie ZIKV zu vermehren und zu übertragen. Bekannt ist, dass die gleichen Mückenspezies aus verschiedenen Regionen unterschiedliche Vektorkompetenz für ein Virus haben können [118].

Im letzten Jahrzehnt wurden wiederholt autochthone DENV- und CHIKV-Infektionen in Südeuropa beobachtet [119, 120]. Auffällig hierbei ist die Übereinstimmung des Auftretens von Erkrankungen mit der Verbreitung von *Ae. albopictus* in Europa [118]. In Deutschland wurden *Ae. albopictus* und andere exotische Stechmücken in der Nähe von internationalen Transportwegen nachgewiesen [115, 117, 121]. In einer kürzlich erschienenen Publikation wurde diskutiert, inwieweit sich *Ae. albopictus* in Regionen mit mildem Klima wie dem Oberrheintal etablieren kann [122]. Die wiederholte, wahrscheinlich kontinuierliche Einschleppung exotischer Stechmückenspezies nach Deutschland und in andere europäische Regionen erfordert eine rechtzeitige Entwicklung von Bekämpfungsstrategien, um Vektor-assoziierten schwerwiegenden

Erkrankungen frühzeitig und effizient entgegenwirken zu können [117].

1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

Wegen des Fehlens spezifischer klinischer Symptome können ZIKV-Infektionen nur durch den Nachweis ZIKV-spezifischer Antikörper, durch Virusanzucht in neugeborenen Mäusen, Mücken oder Zellkulturen oder durch Nachweis von ZIKV-Genom mittels NAT diagnostiziert werden.

Serologischer Nachweis

Die serologische Diagnostik zum Nachweis von ZIKV-spezifischen Antikörpern kann durch die zum Teil ausgeprägte Kreuzreaktivität von Antikörpern gegen verschiedene Flaviviren schwierig sein. Impfungen gegen Gelbfieber (YF), Japanenzephalitis (JE) oder Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) können ebenso wie Infektionen mit Flaviviren wie YFV, JEV, FSMEV und DENV kreuzreaktive Antikörper induzieren. Lange Zeit wurden Komplementfixierungs- und Hämagglutinationshemmteste in Endemiegebieten für YFV, DENV und ZIKV verwendet [86, 123, 124]. Die Bestätigung und Differenzierung reaktiver Seren wurden mit Neutralisationstesten in Mäusen durchgeführt [125].

Erste kommerzielle Teste zum Nachweis von gegen ZIKV gerichteten Antikörpern stehen zur Verfügung. In den USA erhielt ein ZIKV-IgM-Capture-Assay von der FDA die vorläufige Zulassung als *in vitro*-Test zur Erkennung von humanen Antikörpern in Serum und Zerebrospinalflüssigkeit [126]. Weitere kommerzielle Teste zum Nachweis von IgM und IgG gegen ZIKV sind erhältlich (Immunfluoreszenztest mit infizierten Zellen bzw. ELISA-Teste auf der Basis von gentechnisch hergestelltem ZIKV-Antigen).

Virusspezifische IgM-Antikörper sind etwa zwei bis vier Tage nach Auftreten der Krankheitssymptome nachweisbar. Diese Antikörper persistieren für etwa zwei bis 12 Wochen. Die Kreuzreaktivität von Antikörpern gegen andere Flaviviren ist bei der Interpretation der Ergebnisse zu berücksichtigen [94, 102, 125, 127, 128]. Reaktive Testergebnisse sollten daher durch einen Neutralisationstest (z. B. Plaque-Reduktions-Neutralisations-Test, PRNT) zum Nachweis von ZIKV-spezifischen neutralisierenden Antikörpern abgeklärt werden. Da auch im PRNT Kreuzreaktionen auftreten können, sollten relevante Flaviviren für die Differentialdiagnose eingesetzt werden. Neben dem Antikörpernachweissystem kann zum Nachweis einer DENV-Infektion der oben beschriebene Antigentest auf der Basis des NS1-

Proteins eingesetzt werden [129]. Die CDC haben für die serologische Diagnostik der Arboviren DENV, CHIKV und ZIKV einen Algorithmus entwickelt, der die Kreuzreaktivität von IgM-Antikörpern mit den Flaviviren berücksichtigt [125].

Nachweis des Virusgenoms

Die virämische Phase nach ZIKV-Infektion ist kurz, und Genome können nur bis zu 8 Tage (üblicherweise bis zum 5. Tag) nach Auftreten der Symptome nachgewiesen werden. Die höchste Viruslast wird am ersten Tag der Erkrankung gemessen, so dass davon ausgegangen werden muss, dass ein Patient bereits in der Inkubationszeit von 2 bis 7 Tagen vor Auftreten der Symptome virämisch ist [66]. ZIKV-Genom kann in Speichel und Urin bis zu 20–30 Tage nach Symptombeginn und damit länger als im Blut nachgewiesen werden [66, 81, 83].

Von besonderem Interesse ist der Nachweis von ZIKV in Ejakulat, da infektiöses Virus über längere Zeit auf diesem Weg ausgeschieden werden kann und Virus bis 62 Tage nach Symptombeginn nachweisbar war [74, 130]. Unbekannt ist, ob Männer nach einer asymptomatischen Infektion ebenfalls Virus im Ejakulat ausscheiden.

Für die weitere Charakterisierung und Differenzierung von NAT-positiven Proben eignet sich die Genomsequenzierung mit anschließender phylogenetischer Analyse, die eine molekularepidemiologische Einordnung der Isolate ermöglicht [15, 131, 132].

Virusisolierung

Für den Nachweis und die Vermehrung von ZIKV werden sowohl Affenzellen (Vero) als auch Mückenzellen als Kulturzellen (AP61 Monolayer [*Aedes pseudoscutellaris*], C6/36 Monolayer [*Aedes albopictus*]) oder intrathorakale Inokulation von Mücken (*Toxorhynchites splendens*) verwendet [23, 67].

2 Blut- und Plasmaspender

2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Die bis Februar 2016 bekannt gewordenen 25–30 ZIKV-Infektionen in Deutschland wurden bei Reiserückkehrern aus Endemiegebieten diagnostiziert [102, 133, 134]. Es ist nicht bekannt, wie viele asymptomatische ZIKV-Infektionen insgesamt bei Reiserückkehrern auftraten, da keine Testung bei Exponierten oder bei Blut- und Plasmaspendern erfolgt. Eine Prävalenzschätzung in

dieser Gruppe und in der Gesamtbevölkerung ist somit nicht möglich.

2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Gemäß Hämotherapierichtlinien muss grundsätzlich eine Rückstellung von der Spende bei besonderen epidemiologischen Situationen erfolgen [135]. Für ZIKV wurde dies präzisiert in dem am 03.03.2016 veröffentlichten Bescheid des Paul-Ehrlich-Instituts. In diesem wird aufgeführt, dass bei der Herstellung von Vollblut, zellulären Blutkomponenten und gefrorenem Frischplasma, die keinem Verfahren zur wirksamen Virusinaktivierung unterworfen werden, kein Ausgangsmaterial aus Spenden verwendet werden darf, deren Spender sich in den letzten vier Wochen vor der Blut- oder Plasmaspende in einem Risiko-Endemiegebiet für ZIKV aufgehalten haben (<http://www.pei.de/SharedDocs/bekanntmachungen/2016/banz-at-13-04-2016-b7.html>).

In verschiedenen Untersuchungen zur Dauer der Virämie konnten ZIKV-Genome bis zu 11 Tage, meist jedoch nur bis zu 5 Tage nach Auftreten der ersten Symptome einer Flavivirusinfektion mit der PCR im Serum nachgewiesen werden [96]. Eine Rückstellung für 4 Wochen wurde daher festgelegt.

In Anbetracht der Befunde, dass über das Ejakulat bis zu 62 Tage nach Auftreten der Symptome ZIKV ausgeschieden werden kann, sollen sich nach den Empfehlungen der FDA in den USA – anders als in Deutschland – auch Sexualpartner von Personen, bei denen eine ZIKV nachgewiesen wurde oder die sich in den letzten 3 Monaten in einem ZIKV-Endemiegebiet aufgehalten haben, selber von der Spende ausschließen [136].

2.3 Spendertestung und Aussagekraft

Eine Testung von Spenden mit Antikörpersuchtesten wird nicht durchgeführt, da ZIKV in Deutschland nicht endemisch ist und die Spenderauswahlkriterien derzeit effektiv sind.

2.4 Spenderbefragung

Spender sollen nach Aufenthalt in Gebieten befragt werden, in denen ZIKV endemisch ist oder in denen Ausbrüche beobachtet werden. Aktuelle Informationen zum Verbreitungsgebiet von ZIKV können über die Seite der WHO oder des ECDC abgerufen werden [100, 101].

2.5 Spenderinformation und -beratung

Eine spezifische Beratung zu ZIKV-Infektionen und zur Prophylaxe kann in infektiologischen Zentren oder Tropeninstituten stattfinden.

3 Empfänger

3.1 Prävalenz und Inzidenz von blutassoziierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Bisher wurden nur sehr wenige transfusionsassoziierte ZIKV-Infektionen in Endemiegebieten berichtet. Darüber hinaus gibt es keine Daten zur Prävalenz oder Inzidenz von Blut-übertragenen ZIKV-Infektionen.

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

Die Infektion mit ZIKV wird in der Regel nach zwei bis drei Wochen überwunden. Eine natürliche Resistenz gegen ZIKV ist nicht bekannt. Bisher wurden in Deutschland nur importierte Fälle diagnostiziert, daher besteht keine Immunität in der Bevölkerung. Eine Abhängigkeit des Schweregrads der klinischen Symptome bei ZIKV-Infektionen vom Alter wurde bislang nicht beschrieben. Bei einem HIV-Infizierten hatte die Infektion einen milden Verlauf. Spezifische Risikofaktoren für schwere Verläufe sind derzeit nicht bekannt. Eine spezifische antivirale Therapie steht nicht zur Verfügung.

3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

In der Regel verlaufen ZIKV-Infektionen nach Infektionen durch Vektoren benigne und selbstlimitierend. In den Endemiegebieten werden neurologische Erkrankungen wie das GBS als Folge von ZIKV-Infektionen beschrieben [45]. Insbesondere in Brasilien wurde ein Anstieg von Missbildungen bei Föten und Neugeborenen mit Mikrozephalie und anderen neurologischen Missbildungen im Verlauf der ZIKV-Epidemie beschrieben [42, 52, 62, 137]. Sowohl epidemiologische als auch virologische und pathologische Befunde zeigen einen Zusammenhang von Missbildungen bei Föten und Neugeborenen und Infektionen mit ZIKV in der Schwangerschaft [50, 138]. Inwiefern sich ZIKV-Infektionsverläufe bei durch Blut übertragenen Infektionen von denen bei durch Vektoren übertragenen Infektionen unterscheiden, kann aufgrund der geringen Anzahl beschriebener transfusionsassoziiierter Infektionen nicht beurteilt

werden.

3.4 Therapie und Prophylaxe

Es gibt keine spezifische Therapie, sondern nur eine symptomatische Behandlung von ZIKV-assoziierten Erkrankungen [139]. Da bisher kein Impfstoff zur Verfügung steht, steht wie bei den anderen durch Stechmücken übertragbaren Erregern die Prävention von Mückenstichen im Vordergrund. Da *Ae. aegypti* bzw. *Ae. albopictus* vorzugsweise tagaktiv sind und sich sowohl außerhalb als auch in Gebäuden aufhalten, sollten helle langärmelige Oberbekleidung und Hosen getragen werden. Methoden zur Eradikation oder Verringerung der Größe der Mückenpopulationen werden z.Z. entwickelt und ihre Einsetzbarkeit überprüft [6, 140].

3.5 Übertragbarkeit

In der Regel wird ZIKV durch den Stich einer infizierten Mücke bei der Blutmahlzeit übertragen. Kürzlich wurden weitere Übertragungswege beschrieben: Infektion beim ungeschützten Geschlechtsverkehr durch infektiöses Ejakulat sowie perinatale und intrauterine Übertragungen [42, 62, 141]. Inwieweit die Übertragung von ZIKV durch Virus-belastete Muttermilch von der Mutter auf ein Neugeborenes stattfindet, sollte weiter untersucht werden [142].

Die hohe Anzahl an virusbelasteten Blutspenden im Verlauf der ZIKV-Epidemie in Französisch-Polynesien war ein Hinweis auf die grundsätzliche Übertragbarkeit von ZIKV durch Transfusionen [67]. In Brasilien wurden 2015 erstmals Übertragungen von ZIKV durch Bluttransfusionen identifiziert [68, 143].

3.6 Häufigkeit der Applikation sowie Art und Menge der Blutprodukte

Eine Übertragung von ZIKV kann durch nicht-inaktivierte Blutkomponenten wie Erythrozyten- und Thrombozyten-Präparate und Plasma zur Transfusion (*fresh frozen plasma*) erfolgen. Virusinaktivierungsverfahren für Plasma und Thrombozyten-Präparate wurden entwickelt. Für Erythrozytenkonzentrate steht jedoch noch kein wirksames Inaktivierungsverfahren zur Verfügung. Plasmaderivate werden Verfahren unterzogen, die mehrere spezifische Herstellungsschritte für die Inaktivierung/Eliminierung von Viren enthalten (siehe 4.2).

4 Blutprodukte

4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Die Belastung von Blutspenden und Plasmapools mit ZIKV lässt sich am sichersten durch den Nachweis von viralen Genomen ermitteln. Untersuchungen von PCR-positiven Blutspenden in Französisch-Polynesien wiesen eine Belastung von 10^3 bis 10^7 Genomkopien/ml Serum auf [96]. Die Spender waren zur Zeit der Spende gesund und wiesen keine Symptome einer Infektion auf. Ein Teil der Spender entwickelte aber 3–10 Tage nach der Spende Symptome einer ZIKV-Infektion [67]. Bisher liegen keine Informationen zur Belastung von Plasmapools für die Herstellung von Plasmaderivaten vor. Wegen der relativ kurzen virämischen Phase und der epidemiologischen Situation in den Ländern, in denen Plasma zur Fraktionierung gesammelt wird, ist derzeit keine hohe Belastung mit ZIKV in Plasmapools aus nicht-Endemiegebieten zu erwarten.

4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

Inaktivierungs- und Eliminierungsverfahren, die bei der Herstellung von Blutkomponenten und Plasmaderivaten eingesetzt werden, wurden sowohl mit Modellviren als auch mit relevanten Viren überprüft. Die in den einzelnen Verfahren eingesetzten Flaviviren (Bovines Virus-Diarrhoe-Virus, FSMEV, DENV und WNV) weisen eine vergleichbare Empfindlichkeit gegen Lösungsmittel und Detergenzien (SD-Verfahren) auf und werden bei niedrigen pH oder Hitze inaktiviert [28, 30, 144–147].

Bei der Herstellung von Plasmaderivaten werden mehrere Verfahrensschritte kombiniert eingesetzt, für die eine hohe Wirksamkeit zur Inaktivierung bzw. Eliminierung von Flaviviren gezeigt wurde. Plasmaderivate sind deshalb ZIKV sicher. Das für die Herstellung von Plasma eingesetzte SD-Verfahren inaktiviert sicher und schnell Flaviviren und andere umhüllte Viren [148]. Es ist somit wirksam zur Inaktivierung von ZIKV.

Verfahren zur Inaktivierung von Thrombozytenkonzentraten können Viren einschließlich Flaviviren und andere Pathogene inaktivieren [149–151].

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

ZIKV kann in Zellkultur zu hohen Titern vermehrt werden [96]. Experimentell können Blutkomponenten oder einzelne Zwischenprodukte bei der Herstellung von Plasmaderivaten mit

infektiösem Virus kontaminiert werden. Die Kapazität der Inaktivierung bzw. der Eliminierung von ZIKV in den einzelnen Produktionsschritten kann mit Hilfe der Bestimmung infektiöser Viren (Titration) unter Verwendung eines Plaquetests (Bestimmung der *plaque-forming units*) oder durch Endpunkttitration (Bestimmung der *tissue culture infectious dose 50%*) ermittelt werden.

5 Bewertung

Die überwiegende Anzahl von ZIKV-Infektionen verläuft ohne Symptome und selbstlimitierend. In den Berichten über die ZIKV-Epidemie in Französisch-Polynesien (2013) wurde bereits auf das Risiko einer Übertragung von ZIKV durch Blut hingewiesen. In Brasilien wurden die ersten beiden Transfusions-assoziierten Übertragungen von ZIKV berichtet; in beiden Fällen wiesen die Spender zum Zeitpunkt der Spende keine Symptome einer Infektion auf. Die Sequenzierung der Genome vom Spender und dem Empfänger bestätigte die Übertragung durch die Transfusion in einem Fall.

Blutkomponenten, SD-Plasma und Plasmaderivate wie Immunglobuline und Gerinnungskonzentrate, die mit validierten, wirksamen Verfahren zur Virusinaktivierung hergestellt werden, sind ZIKV-sicher. Auch wenn weltweit bisher nur wenige Übertragungen durch Blut bekannt geworden sind, ist jedoch auch in Deutschland das Risiko der Virusübertragung durch nicht inaktivierte Blutkomponenten nicht vollständig auszuschließen. Die geringe Anzahl von Meldungen einer Übertragung durch Blutkomponenten könnte u. a. darauf zurückzuführen sein, dass viele Infektionen asymptomatisch oder nur mit milden Symptomen verlaufen und deshalb nicht erkannt werden.

Die Untersuchung von Spenden auf virales Genom mit NAT-Verfahren würde das Risiko der Übertragung durch nicht inaktivierte Blutkomponenten reduzieren und ist eine Option in ZIKV-Endemiegebieten. Die Einführung einer ZIKV-PCR-Testung von Blutspendern in Deutschland ist jedoch aufgrund der epidemiologischen Datenlage nicht angezeigt. Die Einführung der Arbovirus-Meldepflicht in Deutschland wird voraussichtlich einen besseren Überblick über importierte Arbovirus-Infektionen und damit auch für ZIKV-Infektionen bieten und die Erkennung autochthoner Virusübertragungen ermöglichen [152].

Die vierwöchige Spenderrückstellung von Personen, die aus Gebieten zurückkehren, in denen ZIKV zirkuliert, ist angesichts des hohen Infektionsrisikos in diesen Regionen sinnvoll. Die

Dauer der Rückstellung sollte überprüft werden, falls aktuellere Daten zum Infektionsverlauf bekannt werden. Obwohl auch eine sexuelle Übertragung von ZIKV grundsätzlich möglich ist, erscheint eine generelle Spenderrückstellung der Sexualpartner und -partnerinnen von Personen, die auf Grund ihres Aufenthaltes in Endemiegebieten zurückgestellt werden, in Deutschland aktuell aufgrund der geringen Anzahl an importierten Infektionen und der kurzen Virämie nicht erforderlich.

Verschiedene Mückenspezies, insbesondere *Ae. aegypti* und *Ae. albopictus* spielen nach heutigem Kenntnisstand eine wesentliche Rolle als Vektor bei der Ausbreitung von ZIKV. Inwieweit heimische Mücken mit ZIKV infiziert und zu Vektoren werden können, wurde bisher nicht untersucht. Dies hängt entscheidend von den regionalen klimatischen Bedingungen ab. Kenntnis der zeitlichen und geografischen Verbreitung der in Deutschland vorkommenden Mückenspezies und deren Vektorkompetenz für die Übertragung schwerwiegender (exotischer) Erkrankungen würde eine bessere Bewertung des generellen Risikos und der spezifischen Gefahr der ZIKV-Ausbreitung ermöglichen.

Dieses Papier wurde fertiggestellt am 16.03.2016 und vom Arbeitskreis Blut am 13.04.2016 verabschiedet. Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergruppe „Bewertung Blut-assoziiierter Krankheitserreger“ des Arbeitskreises Blut: Prof. Dr. Georg Pauli, Prof. Dr. Martin Aepfelbacher, Dr. Ursula Bauerfeind, PD Dr. Isabelle Bekeredjian-Ding, PD Dr. Johannes Blümel, Prof. Dr. Reinhard Burger, Prof. Dr. Markus Funk, Dr. Albrecht Gröner, Prof. Dr. Lutz Gürtler, Dr. Margarethe Heiden, Prof. Dr. Martin Hildebrandt, Prof. Dr. Dr. Bernd Jansen, Dr. Ruth Offergeld, PD Dr. Dorothea Stahl, Dr. Uwe Schlenkrich, Dr. Volkmar Schottstedt, Prof. Dr. Rainer Seitz, Dr. Johanna Strobel, Dr. Hannelore Willkommen.

Literaturverzeichnis

- [1] Kilpatrick AM, Randolph SE: Drivers, dynamics, and control of emerging vector-borne zoonotic diseases. *Lancet* 2012;380:1946–1955. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61151-9.
- [2] Gürtler L, Bauerfeind U, Blümel J, Burger R, Drosten C, Gröner A, Heiden M, Hildebrandt M, Jansen B, Montag-Lessing T, Offergeld R, Pauli G, Seitz R, Schlenkrich U, Schottstedt V, Strobel J, Willkommen H: Dengue Fever Virus (DENV). *Transfus Med Hemother* 2011;38:318–330. doi: 10.1159/00033150.
- [3] Pauli G, Bauerfeind U, Blümel J, Burger R, Drosten C, Gröner A, Gürtler L, Heiden M, Hildebrandt M,

- Jansen B, Montag-Lessing T, Offergeld R, Seitz R, Schlenkrich U, Schottstedt V, Strobel J, Willkommen H: West Nile virus. *Transfus Med Hemother* 2013;40:265–284. doi: 10.1159/000353698.
- [4] Pauli G, Bauerfeind U, Blümel J, Burger R, Drosten C, Gröner A, Gürtler L, Heiden M, Hildebrandt M, Jansen B, Offergeld R, Seitz R, Schlenkrich U, Schottstedt V, Strobel J, Willkommen H: Usutu virus. *Transfus Med Hemother*. 2014;41:73–82. doi: 10.1159/000357106.
- [5] Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, Pretrick M, Marfel M, Holzbauer S, Dubray C, Guillaumot L, Griggs A, Bel M, Lambert AJ, Laven J, Kosoy O, Panella A, Biggerstaff BJ, Fischer M, Hayes EB: Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med* 2009;360:2536–2543. doi: 10.1056/NEJMoa0805715.
- [6] Iosifidis S, Mallet HP, Leparac Goffart I, Gauthier V, Cardoso T, Herida M: Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. *Med Mal Infect* 2014;44:302–307. doi: 10.1016/j.medmal.2014.04.008.
- [7] Hayes EB: Zika virus outside Africa. *Emerg Infect Dis*. 2009;15:1347–1350. doi: 10.3201/eid1509.090442.
- [8] Cao-Lormeau VM, Roche C, Teissier A, Robin E, Berry AL, Mallet HP, Sall AA, Musso D: Zika virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. *Emerg Infect Dis* 2014;20:1085–1086. doi: 10.3201/eid2006.140138.
- [9] Zanluca C, Melo VCA, Mosimann ALP, Santos GIV, Santos CND, Luz K: First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2015;110:569–572. doi: 10.1590/0074-02760150192.
- [10] Musso D: Zika Virus Transmission from French Polynesia to Brazil. *Emerg Infect Dis* 2015;21:1887. doi: 10.3201/eid2110.151125.
- [11] Hennessey M, Fischer M, Staples JE: Zika Virus Spreads to New Areas – Region of the Americas, May 2015–January 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65:55–58. doi: 10.15585/mmwr.mm6503e1.
- [12] Dick GW, Kitchen SF, Haddow AJ: Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1952;46:509–520.
- [13] Dick GW: Zika virus. II. Pathogenicity and physical properties. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1952;46:521–534.
- [14] Haddow AJ, Williams MC, Woodall JP, Simpson DI, Goma LK: Twelve Isolations of Zika Virus From *Aedes (Stegomyia) africanus* (Theobald) Taken in and above a Uganda Forest. *Bull World Health Organ* 1964;31:57–69.
- [15] Haddow AD, Schuh AJ, Yasuda CY, Kasper MR, Heang V, Huy R, Guzman H, Tesh RB, Weaver SC: Genetic Characterization of Zika Virus Strains: Geographic Expansion of the Asian Lineage. *PLoS Negl Trop Dis* 2012;6:e1477. doi: 10.1371/journal.pntd.0001477.
- [16] Filipe AR, Martins CM, Rocha H: Laboratory infection with Zika virus after vaccination against yellow fever. *Arch Gesamte Virusforsch* 1973;43:315–319.
- [17] Marcondes CB, Ximenes MF: Zika virus in Brazil and the danger of infestation by *Aedes (Stegomyia)* mosquitoes. *Rev Soc Bras Med Trop* 2016;49:4–10. doi: 10.1590/0037-8682-0220-2015.
- [18] Higgs S: Zika Virus: Emergence and Emergency. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2016;16:75–76. doi: 10.1089/vbz.2016.29001.hig.
- [19] Mansfield KL, Horton DL, Johnson N, Li L, Barrett AD, Smith DJ, Galbraith SE, Solomon T, Fooks AR: Flavivirus-induced antibody cross-reactivity. *J Gen Virol* 2011;92:2821–2829. doi: 10.1099/vir.0.031641-0.

- [20] Foy BD, Kobylinski KC, Foy JLC, Blitvich BJ, Travassos da Rosa A, Haddow AD, Lanciotti RS, Tesh RB: Probable non-vector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA. *Emerg Infect Dis* 2011;17:880–882. doi: 10.3201/eid1705.101939.
- [21] Blázquez AB, Escribano-Romero E, Merino-Ramos T, Saiz JC, Martín-Acebes MA: Stress responses in flavivirus-infected cells: activation of unfolded protein response and autophagy. *Front Microbiol* 2014;5:266. doi: 10.3389/fmicb.2014.00266.
- [22] Klema VJ, Padmanabhan R, Choi KH: Flaviviral Replication Complex: Coordination between RNA Synthesis and 5'-RNA Capping. *Viruses* 2015;7:4640–4656. doi: 10.3390/v7082837.
- [23] Alera MT, Hermann L, Tac-An IA, Klungthong C, Rutvisuttinunt W, Manasatienkij W, Villa D, Thaisomboonsuk B, Velasco JM, Chinnawirotpisan P, Lago CB, Roque VG Jr, Macareo LR, Srikiatkachorn A, Fernandez S, Yoon IK: Zika virus infection, Philippines, 2012. *Emerg Infect Dis* 2015;21:722–724. doi: 10.3201/eid2104.141707.
- [24] Heang V, Yasuda CY, Sovann L, Haddow AD, Travassos da Rosa AP, Tesh RB, Kasper MR: Zika virus infection, Cambodia, 2010. *Emerg Infect Dis* 2012;18:349–351. doi: 10.3201/eid1802.111224.
- [25] Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI: Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2015;21:1885–1886. doi: 10.3201/eid2110.150847.
- [26] Faye O, Freire CC, Iamarino A, Faye O, de Oliveira JV, Diallo M, Zannotto PM, Sall AA: Molecular evolution of Zika virus during its emergence in the 20th century. *PLoS Negl Trop Dis* 2014;8:e2636. doi: 10.1371/journal.pntd.0002636.
- [27] Grard G, Caron M, Mombo IM, Nkoghe D, Mbouï Ondo S, Jiolle D, Fontenille D, Paupy C, Leroy EM: Zika Virus in Gabon (Central Africa) – 2007: A New Threat from *Aedes albopictus*? *PLoS Negl Trop Dis* 2014;8:e2681. doi: 10.1371/journal.pntd.0002681.
- [28] Kreil TR, Berting A, Kistner O, Kindermann J: West Nile virus and the safety of plasma derivatives: verification of high safety margins, and the validity of predictions based on model virus data. *Transfusion* 2003;43:1023–1028. doi: 10.1007/s00705-006-0903-z.
- [29] Fang Y, Brault AC, Reisen WK: Comparative thermostability of West Nile, St. Louis encephalitis, and western equine encephalomyelitis viruses during heat inactivation for serologic diagnostics. *Am J Trop Med Hyg* 2009;80:862–863.
- [30] Remington KM, Trejo SR, Buczynski G, Li H, Osheroff WP, Brown JP, Renfrow H, Reynolds R, Pifat DY: Inactivation of West Nile virus, vaccinia virus and viral surrogates for relevant and emergent viral pathogens in plasma-derived products. *Vox Sang* 2004;87:10–18. doi: 10.1111/j.1423-0410.2004.00530.x.
- [31] Hamel R, Dejarnac O, Wichit S, Ekchariyawat P, Neyret A, Luplertlop N, Perera-Lecoin M, Surasombatpattana P, Talignani L, Thomas F, Cao-Lormeau V-M, Choumet V, Briant L, Desprès P, Amara A, Yssel H, Missé D: Biology of Zika virus infection in human skin cells. *J Virol* 2015;89:8880–8896. doi: 10.1128/JVI.00354-15.
- [32] Perera-Lecoin M, Meertens L, Carnec X, Amara A: Flavivirus entry receptors: an update. *Viruses* 2014;6:69–88. doi: 10.3390/v6010069.
- [33] Briant L, Desprès P, Choumet V, Missé D: Role of skin immune cells on the host susceptibility to mosquito-borne viruses. *Virology* 2014;464–465:26–32. doi: 10.1016/j.virol.2014.06.023.
- [34] Macnamara FN: Zika virus: a report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1954;48:139–145.

- [35] Simpson DI: Zika virus infection in man. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1964;58:335–338.
- [36] Moore DL, Causey OR, Carey DE, Reddy S, Cooke AR, Akinkugbe FM, David-West TS, Kemp GE: Arthropod-borne viral infection of man in Nigeria, 1964–1970. *Ann Trop Med Parasitol* 1975;69:49–64.
- [37] Fagbami AH: Zika virus infections in Nigeria: virological and seroepidemiological investigations in Oyo State. *J Hyg (Lond)* 1979;83:213–219.
- [38] Keighley CL, Saunderson RB, Kok J, Dwyer DE: Viral exanthems. *Curr Opin Infect Dis* 2015;28:139–150. doi: 10.1097/QCO.000000000000145.
- [39] Bearcroft WG: Zika virus infection experimentally induced in a human volunteer. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1956;50:442–448.
- [40] Olson JG, Ksiazek TG, Suhandiman, Triwibowo: Zika virus, a cause of fever in Central Java, Indonesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1981;75:389–393.
- [41] Rudolph KE, Lessler J, Moloney RM, Kmush B, Cummings DAT: Review Article: Incubation Periods of Mosquito-Borne Viral Infections: A Systematic Review. *Am J Trop Med Hyg* 2014;90:882–891. doi: 10.4269/ajtmh.13-0403.
- [42] Chan JF, Choi GK, Yip CC, Cheng VC, Yuen KY: Zika fever and congenital Zika syndrome: An unexpected emerging arboviral disease. *J Infect* 2016;Epub Mar 3. doi: 10.1016/j.jinf.2016.02.011.
- [43] Oehler E, Watrin L, Larre P, Leparç-Goffart I, Lastère S, Valour F, Baudouin L, Mallet H, Musso D, Ghawche F: Zika virus infection complicated by Guillain-Barré syndrome – case report, French Polynesia, December 2013. *Euro Surveill* 2014;19:pii=20720. doi: 10.2807/1560-7917.ES2014.19.9.20720.
- [44] Mallet HP, Vial AL, Musso D: BISES: Bulletin d’information sanitaires, épidémiologiques et statistiques [Internet]. Bilan de l’épidémie à virus zika en Polynésie française, 2013–2014. Papeete: Bureau de veille sanitaire (BVS) Polynésie française; 2015 [cited 13 Mai]. Available from: http://www.hygiene-publique.gov.pf/IMG/pdf/no13_-_mai_2015_-_zika.pdf, accessed April 8, 2016.
- [45] Cao-Lormeau VM, Blake A, Mons S, Lastère S, Roche C, Vanhomwegen J, Dub T, Baudouin L, Teissier A, Larre P, Vial AL, Decam C, Choumet V, Halstead SK, Willison HJ, Musset L, Manuguerra JC, Despres P, Fournier E, Mallet HP, Musso D, Fontanet A, Neil J, Ghawché F: Guillain-Barré Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. *Lancet* 2016;Epub Feb 29. doi: 10.1016/S0140-6736(16)00562-6.
- [46] WHO: World Health Organization. Zika Virus, Microcephaly and Guillain-Barré Syndrome – Situation Report 31 March 2016. Accessed 8 April 2016. <http://who.int/emergencies/zika-virus/situation-report/31-march-2016/en/>.
- [47] Rozé B, Najjoullah F, Fergé JL, Apetse K, Brouste Y, Cesaire R, Fagour C, Fagour L, Hochedez P, Jeannin S, Joux J, Mehdaoui H, Valentino R, Signate A, Cabié A; GBS Zika Working Group: Zika virus detection in urine from patients with Guillain-Barré syndrome on Martinique, January 2016. *Euro Surveill* 2016;21:pii=30154. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.9.30154.
- [48] Ralapanawa DM, Kularatne SA, Jayalath WA: Guillain-Barre syndrome following dengue fever and literature review. *BMC Res Notes* 2015;8:729. doi: 10.1186/s13104-015-1672-0.
- [49] Oehler E, Fournier E, Leparç-Goffart I, Larre P, Cubizolle S, Sookhareea C, Lastère S, Ghawche F: Increase in cases of Guillain-Barré syndrome during a Chikungunya outbreak, French Polynesia, 2014 to 2015. *Euro Surveill* 2015;20: pii=30079. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.48.30079.

- [50] Mlakar J, Korva M, Tul N, Popović M, Poljšak-Prijatelj M, Mraz J, Kolenc M, Resman Rus K, Vesnaver Vipotnik T, Fabjan Vodušek V, Vizjak A, Pižem J, Petrovec M, Avšič Županc T: Zika Virus Associated with Microcephaly. *N Engl J Med* 2016;374:951–958. doi: 10.1056/NEJMoal600651.
- [51] Schuler-Faccini L, Ribeiro EM, Feitosa IM, Horovitz DD, Cavalcanti DP, Pessoa A, Doriqui MJ, Neri JJ, Neto JM, Wanderley HY, Cernach M, El-Husny AS, Pone MV, Serao CL, Sanseverino MT; Brazilian Medical Genetics Society – Zika Embryopathy Task Force: Possible association between Zika virus infection and microcephaly – Brazil, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65:59–62. doi: 10.15585/mmwr.mm6503e2.
- [52] Frank C, Faber M, Stark K: Causal or not: applying the Bradford Hill aspects of evidence to the association between Zika virus and microcephaly. *EMBO Mol Med* 2016;Epub Mar 14. doi: 10.15252/emmm.201506058.
- [53] Brasil P, Pereira JP Jr, Raja Gabaglia C, Damasceno L, Wakimoto M, Ribeiro Nogueira RM, Carvalho de Sequeira P, Machado Siqueira A, Abreu de Carvalho LM, Cotrim da Cunha D, Calvet GA, Neves ES, Moreira ME, Rodrigues Baião AE, Nassar de Carvalho PR, Janzen C, Valderramos SG, Cherry JD, Bispo de Filippis AM, Nielsen-Saines K: Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro – Preliminary Report. *N Engl J Med* 2016;Epub Mar 4. doi: 10.1056/NEJMoal602412.
- [54] Carteaux G, Maquart M, Bedet A, Contou D, Brugières P, Fourati S, Cleret de Langavant L, de Broucker T, Brun-Buisson C, Leparac-Goffart I, Mekontso Dessap A: Zika Virus Associated with Meningoencephalitis. *N Engl J Med* 2016;Epub 2016 Mar 9. doi: 10.1056/NEJMc1602964.
- [55] Kleber de Oliveira W, Cortez-Escalante J, de Oliveira WTGH, do Carmo GMI, Henriques CMP, Coelho GE, de França GVA: Increase in Reported Prevalence of Microcephaly in Infants Born to Women Living in Areas with Confirmed Zika Virus Transmission During the First Trimester of Pregnancy – Brazil, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65:242–247. doi: 10.15585/mmwr.mm6509e2.
- [56] Jouannic JM, Friszer S, Leparac-Goffart I, Garel C, Eyrolle-Guignot D: Zika virus infection in French Polynesia. *Lancet* 2016;387:1051–1052. doi: 10.1016/S0140-6736(16)00625-5.
- [57] Karwowski MP, Nelson JM, Staples JE, Fischer M, Fleming-Dutra KE, Villanueva J, Powers AM, Mead P, Honein MA, Moore CA, Rasmussen SA: Zika Virus Disease: A CDC Update for Pediatric Health Care Providers. *Pediatrics* 2016;137:e20160621. doi: 10.1542/peds.2016-0621.
- [58] Tang H, Hammack C, Ogden SC, Wen Z, Qian X, Li Y, Yao B, Shin J, Zhang F, Lee EM, Christian KM, Didier RA, Jin P, Song H, Ming GL: Zika Virus Infects Human Cortical Neural Progenitors and Attenuates Their Growth. *Cell Stem Cell* 2016;Epub 2016 Mar 3. doi: 10.1016/j.stem.2016.02.016.
- [59] Garcez PP, Loiola EC, Madeiro da Costa RF, Higa L, Trindade P, Delvecchio R, Nascimento JM, Brindeiro RM, Tanuri A, Rehen SK: Zika virus impairs growth in human neurospheres and brain organoids. *PeerJ Preprints* 2016;4:e1817v2. <https://peerj.com/preprints/1817/>. Accessed April 8, 2016.
- [60] CDC, Centers for Disease Control and Prevention: Zika virus – symptoms, diagnosis, and treatment. 2016, as of March 11. <http://www.cdc.gov/zika/symptoms/index.html> (accessed April 8, 2016).
- [61] Hodge JG, Corbett A, Repka A, Judd PJ: Zika Virus and Global Implications for Reproductive Health Reforms. *Disaster Med Public Health Prep* 2016;Epub 2016 Mar 9. doi: 10.1017/dmp.2016.34.
- [62] Marrs C, Olson G, Saade G, Hankins G, Wen T, Patel J, Weaver S: Zika Virus and Pregnancy: A Review of the Literature and Clinical Considerations. *Am J Perinatol* 2016;Epub 2016 Mar 3. doi: 10.1055/s-0036-1580089.
- [63] Oduyebo T, Petersen EE, Rasmussen SA, Mead PS, Meaney-Delman D, Renquist CM, Ellington SR, Fischer

M, Staples JE, Powers AM, Villanueva J, Galang RR, Dieke A, Muñoz JL, Honein MA, Jamieson DJ: Update: interim guidelines for health care providers caring for pregnant women and women of reproductive age with possible Zika virus exposure – United States, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65:122–127. doi: 10.15585/mmwr.mm6505e2.

- [64] DTG: <http://www.auswaertiges-amt.de/cae/servlet/contentblob/722280/publicationFile/212139/Zika-Virus.pdf> (accessed April 8, 2016).
- [65] Althouse BM, Hanley KA, Diallo M, Sall AA, Ba Y, Faye O, Diallo D, Watts DM, Weaver SC, Cummings DA: Impact of climate and mosquito vector abundance on sylvatic arbovirus circulation dynamics in Senegal. *Am J Trop Med Hyg* 2015;92:88–97. doi: 10.4269/ajtmh.13-0617.
- [66] Musso D, Cao-Lormeau VM, Gubler DJ: Zika virus: following the path of dengue and chikungunya? *Lancet* 2015;386:243–244. doi: 10.1016/S0140-6736(15)61273-9.
- [67] Musso D, Nhan T, Robin E, Roche C, Bierlaire D, Zisou K, Shan Yan A, Cao-Lormeau VM, Broult J: Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. *Euro Surveill* 2014;19:pii=20761. doi: 10.2807/1560-7917.ES2014.19.14.20761.
- [68] Barchfield J, Heno LA: Brazil health official confirms Zika spread via transfusion. Feb. 4, 2016 6:51 PM EST. <http://bigstory.ap.org/article/92abd26a431647fdb6b3ccb7459e4053/brazil-health-official-confirm-zika-spread-transfusion>. Accessed March 11, 2016.
- [69] Cunha MS, Esposito DLA, Rocco IM, Maeda AY, Vasami FGS, Nogueira JS, de Souza RP, Suzuki A, Addas-Carvalho M, Barjas-Castro MDL, Resende MR, Stucchi RSB, Boin IDFSF, Katz G, Angerami RN, da Fonseca BAL: First complete genome sequence of Zika virus (Flaviviridae, Flavivirus) from an autochthonous transmission in Brazil. *Genome Announc* 2016;4:e00032-16. doi:10.1128/genomeA.00032-16.
- [70] Besnard M, Lastère S, Teissier A, Cao-Lormeau VM, Musso D: Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Euro Surveill* 2014;19:pii=20751. doi: 10.2807/1560-7917.ES2014.19.13.20751.
- [71] Hills SL, Russell K, Hennessey M, Williams C, Oster AM, Fischer M, Mead P: Transmission of Zika Virus Through Sexual Contact with Travelers to Areas of Ongoing Transmission – Continental United States, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65:215–216. doi: 10.15585/mmwr.mm6508e2.
- [72] Venturi G, Zammarchi L, Fortuna C, Remoli M, Benedetti E, Fiorentini C, Trotta M, Rizzo C, Mantella A, Rezza G, Bartoloni A: An autochthonous case of Zika due to possible sexual transmission, Florence, Italy, 2014. *Euro Surveill* 2016;21:pii=30148. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.8.30148.
- [73] Musso D, Roche C, Nhan TX, Robin E, Teissier A, Cao-Lormeau VM: Detection of Zika virus in saliva. *J Clin Virol* 2015;68:53–55. doi: 10.1016/j.jcv.2015.04.021.
- [74] Mansuy JM, Dutertre M, Mengelle C, Fourcade C, Marchou B, Delobel P, Izopet J, Martin-Blondel G: Zika virus: high infectious viral load in semen, a new sexually transmitted pathogen? *Lancet Infect Dis* 2016;16:405. doi: 10.1016/S1473-3099(16)00138-9.
- [75] Barry A, Pasco H, Babak A, Sarah L, Daniel C, Emma JA, Andrew JS, Timothy JB, Roger H: Detection of Zika virus in semen. *Emerg Infect Dis* 2016;22. doi: 10.3201/eid2205.160107.
- [76] Rowland A, Washington CI, Sheffield JS, Pardo-Villamizar CA, Segars JH: Zika virus infection in semen: a call to action and research. *J Assist Reprod Genet* 2016;33:435–437. doi: 10.1007/s10815-016-0684-6.
- [77] Mizuno Y, Kotaki A, Harada F, Tajima S, Kurane I, Takasaki T: Confirmation of dengue virus infection by

detection of dengue virus type 1 genome in urine and saliva but not in plasma. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2007;101:738–739. doi: 10.1016/j.trstmh.2007.02.007.

- [78] Poloni TR, Oliveira AS, Alfonso HL, Galvão LR, Amarilla AA, Poloni DF, Figueiredo LT, Aquino VH: Detection of dengue virus in saliva and urine by real time RT-PCR. *Virol J* 2010;7:22. doi: 10.1186/1743-422X-7-22.
- [79] Hirayama T, Mizuno Y, Takeshita N, Kotaki A, Tajima S, Omatsu T, Sano K, Kurane I, Takasaki T: Detection of dengue virus genome in urine by real-time reverse transcriptase PCR: a laboratory diagnostic method useful after disappearance of the genome in serum. *J Clin Microbiol* 2012;50:2047–2052. doi: 10.1128/JCM.06557-11.
- [80] Musso D, Roche C, Robin E, Nhan T, Teissier A, Cao-Lormeau VM: Potential sexual transmission of Zika virus. *Emerg Infect Dis* 2015;21:359–361. doi: 10.3201/eid2102.141363. Erratum in: *Emerg Infect Dis* 2015;21:552.
- [81] Gourinat AC, O'Connor O, Calvez E, Goarant C, Dupont-Rouzeyrol M: Detection of Zika virus in urine. *Emerg Infect Dis* 2015;21:84–86. doi: 10.3201/eid2101.140894.
- [82] de M Campos R, Cirne-Santos C, Meira GL, Santos LL, de Meneses MD, Friedrich J, Jansen S, Ribeiro MS, da Cruz IC, Schmidt-Chanasit J, Ferreira DF: Prolonged detection of Zika virus RNA in urine samples during the ongoing Zika virus epidemic in Brazil. *J Clin Virol* 2016;77:69–70. doi: 10.1016/j.jcv.2016.02.009.
- [83] Barzon L, Pacenti M, Berto A, Sinigaglia A, Franchin E, Lavezzo E, Brugnaro P, Palù G: Isolation of infectious Zika virus from saliva and prolonged viral RNA shedding in a traveller returning from the Dominican Republic to Italy, January 2016. *Euro Surveill* 2016;21:pii=30159. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.10.30159.
- [84] Rezza G: Dengue and chikungunya: long-distance spread and outbreaks in naïve areas. *Pathog Glob Health* 2014;108:349–355. doi: 10.1179/2047773214Y.0000000163.
- [85] Roth A, Mercier A, Lepers C, Hoy D, Duituturaga S, Benyon E, Guillaumot L, Souarès Y: Concurrent outbreaks of dengue, chikungunya and Zika virus infections – an unprecedented epidemic wave of mosquito-borne viruses in the Pacific 2012–2014. *Euro Surveill* 2014;19:pii=20929. doi: 10.2807/1560-7917.ES2014.19.41.20929.
- [86] Rodhain F, Gonzalez JP, Mercier E, Helynck B, Larouze B, Hannoun C: Arbovirus infections and viral haemorrhagic fevers in Uganda: a serological survey in Karamoja district, 1984. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1989;83:851–854.
- [87] Henderson BE, Kirya GB, Hewitt LE: Serological survey for arboviruses in Uganda, 1967–69. *Bull World Health Organ* 1970;42:797–805.
- [88] Darwish MA, Hoogstraal H, Roberts TJ, Ahmed IP, Omar F: A sero-epidemiological survey for certain arboviruses (Togaviridae) in Pakistan. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1983;77:442–445.
- [89] Hammon WM, Schrack WD Jr, Sather GE: Serological survey for arthropod-borne virus infections in the Philippines. *Am J Trop Med Hyg* 1958;7:323–328.
- [90] Diagne CT, Diallo D, Faye O, Ba Y, Faye O, Gaye A, Dia I, Faye O, Weaver SC, Sall AA, Diallo M: Potential of selected Senegalese *Aedes* spp. mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit Zika virus. *BMC Infect Dis* 2015;15:492. doi: 10.1186/s12879-015-1231-2.
- [91] Wolfe ND, Kilbourn AM, Karesh WB, Rahman HA, Bosi EJ, Cropp BC, Andau M, Spielman A, Gubler DJ: Sylvatic transmission of arboviruses among Bornean orangutans. *Am J Trop Med Hyg* 2001;64:310–316.

- [92] Boorman JP, Porterfield JS: A simple technique for infection of mosquitoes with viruses; transmission of Zika virus. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1956;50:238–242.
- [93] Wong PS, Li MZ, Chong CS, Ng LC, Tan CH: *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse): a potential vector of Zika virus in Singapore. *PLoS Negl Trop Dis* 2013;7:e2348. doi: 10.1371/journal.pntd.0002348.
- [94] Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, Johnson AJ, Stanfield SM, Duffy MR: Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis* 2008;14:1232–1239. doi: 10.3201/eid1408.080287.
- [95] Baronti C, Piorkowski G, Charrel RN, Boubis L, Leparç-Goffart I, de Lamballerie X: Complete coding sequence of Zika virus from a French Polynesia outbreak in 2013. *Genome Announc* 2014;2:e00500-14. doi: 10.1128/genomeA.00500-14.
- [96] Aubry M, Finke J, Teissier A, Roche C, Broult J, Paulous S, Desprès P, Cao-Lormeau VM, Musso D: Seroprevalence of arboviruses among blood donors in French Polynesia, 2011–2013. *Int J Infect Dis* 2015;41:11–12. doi: 10.1016/j.ijid.2015.10.005.
- [97] Calvet GA, Filippis AM, Mendonça MC, Sequeira PC, Siqueira AM, Veloso VG, Nogueira RM, Brasil P: First detection of autochthonous Zika virus transmission in a HIV-infected patient in Rio de Janeiro, Brazil. *J Clin Virol* 2016;74:1–3. doi: 10.1016/j.jcv.2015.11.014.
- [98] Teixeira MG, Costa MCN, Barreto F, Barreto ML: Dengue: twenty-five years since reemergence in Brazil. *Cad Saude Publica* 2009;25:S7–18. doi: 10.1590/S0102-311X2009001300002.
- [99] Honorio NA, Camara DC, Calvet GA, Brasil P: Chikungunya, an arbovirus infection in the process of establishment and expansion in Brazil. *Cad Saude Publica* 2015;31:906–908. doi: 10.1590/0102-311XPE020515.
- [100] WHO: www.who.int/emergencies/zika-virus/timeline/en/ (accessed April 8, 2016).
- [101] ECDC: Countries and territories with local Zika transmission. Last updated 7 April 2016. Accessed 8 April 2016. http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/zika_virus_infection/zika-outbreak/Pages/Zika-countries-with-transmission.aspx (accessed April 8, 2016).
- [102] Tappe D, Rissland J, Gabriel M, Emmerich P, Günther S, Held G, Smola S, Schmidt-Chanasit J: First case of laboratory-confirmed Zika virus infection imported into Europe, November 2013. *Euro Surveill* 2014;19:pii=20685. doi: 10.2807/1560-7917.ES2014.19.4.20685.
- [103] Maria A, Maquart M, Makinson A, Flusin O, Segondy M, Leparç-Goffart I, Le Moing V, Foulongne V: Zika virus infections in three travellers returning from South America and the Caribbean respectively, to Montpellier, France, December 2015 to January 2016. *Euro Surveill* 2016;21:pii=30131. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.6.30131.
- [104] Korhonen E, Huhtamo E, Smura T, Kallio-Kokko H, Raassina M, Vapalahti O: Zika virus infection in a traveller returning from the Maldives, June 2015. *Euro Surveill* 2016;21:pii=30107. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.2.30107.
- [105] Ginier M, Neumayr A, Günther S, Schmidt-Chanasit J, Blum J: Zika without symptoms in returning travellers: What are the implications? *Travel Med Infect Dis* 2016;14:16–20. doi: 10.1016/j.tmaid.2016.01.012.
- [106] Gyurech D, Schilling J, Schmidt-Chanasit J, Cassinotti P, Kaeppli F, Dobec M: False positive dengue NS1 antigen test in a traveller with an acute Zika virus infection imported into Switzerland. *Swiss Med Wkly* 2016;146:w14296. doi: 10.4414/smw.2016.14296.

- [107] Monlun E, Zeller H, Le Guenno B, Traoré-Lamizana M, Hervy JP, Adam F, Ferrara L, Fontenille D, Sylla R, Mondo M: [Surveillance of the circulation of arbovirus of medical interest in the region of eastern Senegal.] *Bull Soc Pathol Exot* 1993;86:21–28.
- [108] Diallo D, Sall AA, Diagne CT, Faye O, Faye O, Ba Y, Hanley KA, Buenemann M, Weaver SC, Diallo M: Zika virus emergence in mosquitoes in southeastern Senegal, 2011. *PLoS One* 2014;9:e109442. doi: 10.1371/journal.pone.0109442.
- [109] Blümel J, Burger R, Gerlich W, Gürtler L, Heiden M, Hitzler W, Jansen B, Klamm H, Lefèvre H, Löwer J, Ludwig WD, Montag-Lessing T, Offergeld R, Paessens A, Pauli G, Seitz R, Schlenkrich U, Willkommen H: Arboviruses – Viruses transmissible by arthropods. *Transfus Med Hemother* 2005;32:209–217. doi: 10.1159/000087621.
- [110] Grunnill M, Boots M: How Important is Vertical Transmission of Dengue Viruses by Mosquitoes (Diptera: Culicidae)? *J Med Entomol* 2016;53:1–19. doi: 10.1093/jme/tjv168.
- [111] Musso D, Nilles EJ, Cao-Lormeau VM: Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. *Clin Microbiol Infect* 2014;20:O595–596. doi: 10.1111/1469-0691.12707.
- [112] Ledermann JP, Guillaumot L, Yug L, Saweyog SC, Tided M, Machieng P, Pretrick M, Marfel M, Griggs A, Bel M, Duffy MR, Hancock WT, Ho-Chen T, Powers AM: *Aedes hensilli* as a potential vector of Chikungunya and Zika viruses. *PLoS Negl Trop Dis* 2014;8:e3188. doi: 10.1371/journal.pntd.0003188.
- [113] Kek R, Hapuarachchi HC, Chung CY, Humaidi MB, Razak MA, Chiang S, Lee C, Tan CH, Yap G, Chong CS, Lee KS, Ng LC: Feeding host range of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) demonstrates its opportunistic host-seeking behavior in rural Singapore. *J Med Entomol* 2014;51:880–884. doi: 10.1603/ME13213.
- [114] Erguler K, Smith-Unna SE, Waldo J, Proestos Y, Christophides GK, Lelieveld J, Parham PE: Large-Scale Modelling of the Environmentally-Driven Population Dynamics of Temperate *Aedes albopictus* (Skuse). *PLoS One* 2016;11:e0149282. doi: 10.1371/journal.pone.0149282.
- [115] Becker N, Krüger A, Kuhn C, Plenge-Bönig A, Thomas SM, Schmidt-Chanasit J, Tannich E: [Mosquitoes as vectors for exotic pathogens in Germany.] *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*. 2014;57:531–540. doi: 10.1007/s00103-013-1918-8.
- [116] ECDC: <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/mosquitoes/Pages/aedes-albopictus.aspx> (accessed April 8, 2016).
- [117] Kampen H, Medlock JM, Vaux AG, Koenraadt CJ, van Vliet AJ, Bartumeus F, Oltra A, Sousa CA, Chouin S, Werner D: Approaches to passive mosquito surveillance in the EU. *Parasit Vectors* 2015;8:9. doi: 10.1186/s13071-014-0604-5.
- [118] Schaffner F, Medlock JM, Van Bortel W: Public health significance of invasive mosquitoes in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2013;19:685–692. doi: 10.1111/1469-0691.12189.
- [119] Tomasello D, Schlagenhauf P: Chikungunya and dengue autochthonous cases in Europe, 2007–2012. *Travel Med Infect Dis* 2013;11:274–284. doi: 10.1016/j.tmaid.2013.07.006.
- [120] Vega-Rúa A, Lourenço-de-Oliveira R, Mousson L, Vazeille M, Fuchs S, Yébakima A, Gustave J, Girod R, Dusfour I, Leparac-Goffart I, Vanlandingham DL, Huang YJ, Lounibos LP, Mohamed Ali S, Nougaiède A, de Lamballerie X, Failloux AB: Chikungunya Virus Transmission Potential by Local *Aedes* Mosquitoes in the Americas and Europe. *PLoS Negl Trop Dis* 2015;9:e0003780. doi: 10.1371/journal.pntd.0003780.
- [121] Becker N, Geier M, Balczun C, Bradersen U, Huber K, Kiel E, Krüger A, Lühken R, Orendt C, Plenge-Bönig

A, Rose A, Schaub GA, Tannich E: Repeated introduction of *Aedes albopictus* into Germany, July to October 2012. *Parasitol Res* 2013;112:1787–1790. doi: 10.1007/s00436-012-3230-1.

- [122] Werner D, Kampen H: *Aedes albopictus* breeding in southern Germany, 2014. *Parasitol Res* 2015;114:831–834. doi: 10.1007/s00436-014-4244-7.
- [123] McCrae AW, Kirya BG: Yellow fever and Zika virus epizootics and enzootics in Uganda. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1982;76:552–562.
- [124] Monath TP, Craven RB, Muth DJ, Trautt CJ, Calisher CH, Fitzgerald SA: Limitations of the complement-fixation test for distinguishing naturally acquired from vaccine-induced yellow fever infection in flavivirus-hyperendemic areas. *Am J Trop Med Hyg* 1980;29:624–634.
- [125] CDC, Centers for Disease Control and Prevention: Memorandum – Revised diagnostic testing for Zika, chikungunya, and dengue viruses in US Public Health Laboratories. As of February 7, 2016. <http://www.cdc.gov/zika/pdfs/denvchikvzikk-testing-algorithm.pdf> (accessed April 8, 2016).
- [126] CDC, Centers for Disease Control and Prevention: New CDC Laboratory Test for Zika Virus Authorized for Emergency Use by FDA – Media statement. 2016, as of February 26. <http://www.cdc.gov/media/releases/2016/s0226-laboratory-test-for-zika-virus.html> (accessed April 8, 2016).
- [127] Choumet V, Desprès P: Dengue and other flavivirus infections. *Rev Sci Tech* 2015;34:473–478,467–472.
- [128] Zammarchi L, Stella G, Mantella A, Bartolozzi D, Tappe D, Günther S, Oestereich L, Cadar D, Muñoz-Fontela C, Bartoloni A, Schmidt-Chanasit J: Zika virus infections imported to Italy: clinical, immunological and virological findings, and public health implications. *J Clin Virol* 2015;63:32e35. doi: 10.1016/j.jcv.2014.12.005.
- [129] Chung SJ, Krishnan PU, Leo YS: Two cases of false-positive dengue non-structural protein 1 (NS1) antigen in patients with hematological malignancies and a review of the literature on the use of NS1 for the detection of Dengue infection. *Am J Trop Med Hyg* 2015;92:367–369. doi: 10.4269/ajtmh.14-0247.
- [130] Atkinson B, Hearn P, Afrough B, Lumley S, Carter D, Aarons EJ, Simpson AJ, Brooks TJ, Hewson R: Detection of Zika virus in semen [letter]. *Emerg Infect Dis* 2016; doi: 10.3201/eid2205.160107.
- [131] Faye O, Dupressoir A, Weidmann M, Ndiaye M, Alpha Sall A: One-step RT-PCR for detection of Zika virus. *J Clin Virol* 2008;43:96–101. doi: 10.1016/j.jcv.2008.05.005.
- [132] Calvet G, Aguiar RS, Melo AS, Sampaio SA, de Filippis I, Fabri A, Araujo ES, de Sequeira PC, de Mendonça MC, de Oliveira L, Tschoeke DA, Schrago CG, Thompson FL, Brasil P, Dos Santos FB, Nogueira RM, Tanuri A, de Filippis AM: Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. *Lancet Infect Dis* 2016;Epub 2016 Feb 17. doi: 10.1016/S1473-3099(16)00095-5.
- [133] Tappe D, Nachtigall S, Kapaun A, Schnitzler P, Günther S, Schmidt-Chanasit J: Acute Zika Virus Infection after Travel to Malaysian Borneo, September 2014. *Emerg Infect Dis* 2015;21:911–913. doi: 10.3201/eid2105.141960.
- [134] Robert Koch Institut: Häufung von Mikrozephalie in Südamerika stellt gesundheitliche Notlage von internationaler Tragweite dar. *Epid Bull* 2016;5:40–41. doi: 10.17886/EpiBull-2016-009.
- [135] Bundesaerztekammer: Hemotherapy guidelines. http://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/downloads/RiliHaemotherapie2010.pdf, and <http://www.bundesaerztekammer.de/aerzte/medizin-ethik/wissenschaftlicher-beirat/veroeffentlichungen/haemotherapie-transfusionsmedizin/richtlinie/> (accessed April 8, 2016).

- [136] FDA:
<http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Blood/UCM486360.pdf> (accessed April 8, 2016).
- [137] Staples JE, Dziuban EJ, Fischer M, Cragan JD, Rasmussen SA, Cannon MJ, Frey MT, Renquist CM, Lanciotti RS, Muñoz JL, Powers AM, Honein MA, Moore CA: Interim Guidelines for the Evaluation and Testing of Infants with Possible Congenital Zika Virus Infection – United States, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65:63–67. doi: 10.15585/mmwr.mm6503e3.
- [138] Broutet N, Krauer F, Riesen M, Khalakdina A, Almiron M, Aldighieri S, Espinal M, Low N, Dye C: Zika Virus as a Cause of Neurologic Disorders. *N Engl J Med* 2016;Epub 2016 Mar 9. doi: 10.1056/NEJMp1602708.
- [139] Malone RW, Homan J, Callahan MV, Glasspool-Malone J, Damodaran L, Schneider Ade B, Zimler R, Talton J, Cobb RR, Ruzic I, Smith-Gagen J, Janies D, Wilson J; Zika Response Working Group: Zika Virus: Medical Countermeasure Development Challenges. *PLoS Negl Trop Dis* 2016;10:e0004530. doi: 10.1371/journal.pntd.0004530.
- [140] Regis L, da Silva SB, Melo-Santos MA: The use of bacterial larvicides in mosquito and black fly control programmes in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000;95:207–210. doi: 10.1590/S0074-02762000000700035.
- [141] Basarab M, Bowman C, E Aarons EJ, Cropley I: Zika virus. *BMJ* 2016;352:i1049. doi: 10.1136/bmj.i1049.
- [142] Dupont-Rouzeyrol M, Biron A, O'Connor O, Huguon E, Descloux E: Infectious Zika viral particles in breastmilk. *Lancet* 2016;387:1051. doi: 10.1016/S0140-6736(16)00624-3.
- [143] Herriman R: Transfusion-associated Zika virus reported in Brazil, Latin America and the Caribbean; *Outbreak News Today* Dec 18, 2015. <http://outbreaknewstoday.com/transfusion-associated-zika-virus-reported-in-brazil-76935/> (accessed 8 April 2016).
- [144] Kreil TR: West Nile virus: recent experience with the model virus approach. *Dev Biol (Basel)* 2004;118:101–105.
- [145] Jakubik JJ, Vicik SM, Tannatt MM, Kelley BD: West Nile Virus inactivation by the solvent/detergent steps of the second and third generation manufacturing processes for B-domain deleted recombinant factor VIII. *Haemophilia* 2004;10:69–74. doi: 10.1046/j.1365-2516.2003.00847.x.
- [146] Leydold SM, Farcet MR, Kindermann J, Modrof J, Pölsler G, Berting A, Howard MK, Barrett PN, Kreil TR: Chikungunya virus and the safety of plasma products. *Transfusion* 2012;52:2122–2130. doi: 10.1111/j.1537-2995.2012.03565.x.
- [147] Burnouf T, Chou ML, Cheng LH, Li ZR, Wu YW, El-Ekiaby M, Tsai KH: Dengue virus inactivation by minipool TnBP/Triton X-45 treatment of plasma and cryoprecipitate. *Vox Sang* 2013;104:1–6. doi: 10.1111/j.1423-0410.2012.01621.x.
- [148] Hellstern P, Solheim BG: The use of solvent/detergent treatment in pathogen reduction of plasma. *Transfus Med Hemother* 2011;38:65–70. doi: 10.1159/000323552.
- [149] Kaiser-Guignard J, Canellini G, Lion N, Abonnenc M, Osselaer JC, Tissot JD: The clinical and biological impact of new pathogen inactivation technologies on platelet concentrates. *Blood Rev* 2014;28:235–241. doi: 10.1016/j.blre.2014.07.005.
- [150] Rock G: A comparison of methods of pathogen inactivation of FFP. *Vox Sang* 2011;100:169–178. doi: 10.1111/j.1423-0410.2010.01374.x.

- [151] Aubry M, Richard V, Green J, Broult J, Musso D: Inactivation of Zika virus in plasma with amotosalen and ultraviolet A illumination. *Transfusion* 2016;56:33–40. doi: 10.1111/trf.13271.
- [152] <https://www.bundesrat.de/drs.html?id=75-16>: Verordnung des Bundesministeriums für Gesundheit: Verordnung zur Anpassung der Meldepflichten nach dem Infektionsschutzgesetz an die epidemische Lage (IfSG-Meldepflicht-Anpassungsverordnung – IfSGMeldAnpV) Drucksache 75/16 vom 04.02.2016 (accessed 8 April 2016).