

Abschlussbericht Teilprojekt 4.2

Projekttitle: Hepatitis C-Inzidenz und Erfassung der gegenwärtigen Bedeutung unterschiedlicher Übertragungswege des Virus

Projektleiter: PD Dr. med. Stefan Roß
Universitätsklinikum Essen
Institut für Virologie
Nationales Referenzzentrum für Hepatitis C
Hufelandstr. 55
45122 Essen

Telefon: +49 (0) 201 / 723-3561

Fax: +49 (0) 201 / 723-5929

E-Mail: stefan.ross@uni-essen.de

Berichtszeitraum: 01.02.2005 – 31.01.2007

1. Aufgabenstellung, Voraussetzungen, Planung und Ablauf des Vorhabens sowie Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Infektionen mit dem Hepatitis C-Virus (HCV) verlaufen in 54 – 86 % der Fälle chronisch und führen bei bis zu 20 % der Betroffenen zu endgradigen Lebererkrankungen. Nach Schätzungen der WHO sind derzeit weltweit rund 170 Millionen Menschen mit dem Virus infiziert. Die HCV-Prävalenz in Deutschland beläuft sich auf zirka 0,5 %, was einer Gesamtzahl von annähernd 400.000 „Virussträgern“ entspricht. Schätzungen der Inzidenz waren stets problematisch, weil vor 1991 die Diagnose nur durch Ausschluß anderer möglicher Erkrankungsursachen gestellt werden konnte, die verfügbaren Testverfahren bis heute nach erfolgter Serokonversion keine Unterscheidung zwischen akuter und chronischer Infektion gestatten und sich zudem der klinische Verlauf der Erkrankung ganz überwiegend asymptomatisch gestaltet.

Daher ließen die zu Beginn des Projekts für Deutschland vorliegenden Daten zur Epidemiologie der HCV-Infektion weder verlässliche Aussagen über die jährliche Anzahl der Neuinfektionen noch Rückschlüsse auf die relative Bedeutung bestimmter Übertragungswege zu. Unsere Untersuchungen im Rahmen des HepNet-Projekts 4.2 konzentrierten sich folglich auf die Erfassung von HCV-Neuinfektionen sowohl unter den für das HepNet „rekrutierten“ Patienten (Sentinel-Report-System) als auch in bestimmten Risiko-Kollektiven und bezogen sich darüber hinaus auf die Charakterisierung relevanter Übertragungswege durch standardisierte Befragungen der Infizierten.

Die Erhebungen erfolgten in enger Kooperation mit folgenden am HepNet beteiligten Stellen:

- Projekt 1.2: PD Dr. Klaus Adelhard, Dr. Thomas Müller und Mitarbeiter/-innen. Ludwig-Maximilians-Universität, München.
- Projekt 3.1: Prof. Dr. W. E. Schmiegel und Mitarbeiter/-innen. Ruhr-Universität, Bochum.
- Projekt 3.2: Prof. Dr. W. E. Fleig und Mitarbeiter/-innen. Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle (Saale).
- Projekt 3.3: Prof. Dr. S. Zeusem und Mitarbeiter/-innen, Universität des Saarlands, Homburg.
- Projekt 3.4.: PD Dr. C. Hellenbrand und Mitarbeiter/-innen, Universität Regensburg.
- Projekt 4.1: Prof. Dr. K. Stark und Mitarbeiter/-innen, Robert Koch-Institut, Berlin.

2. Darstellung der erzielten Ergebnisse

Bis zum 11. Oktober 2007 wurden in den Modellregionen des HepNet 4.179 HCV-infizierte Patientinnen (N = 1.918) und Patienten (N = 2.261) rekrutiert, deren mittleres Alter 46,8 Jahre betrug, deren HCV-Erkrankung durchschnittlich bereits vor 9,5 Jahren erstmals diagnostiziert wurde und die mehrheitlich der Gruppe der heute 40-60jährigen angehörten. Von 2.457 Patientinnen und Patienten lag eine detaillierte Analyse des „Risikofakoren-Profiles“ vor, das zur jeweiligen HCV-Infektion geführt haben könnte. Die in Deutschland erfolgte Gabe von HCV-kontaminierten Blutprodukten vor 1991 erwies sich mit 33 % als der wichtigste Risikofaktor. Ihm folgten der intravenöse Drogenabusus mit 29 % sowie vorangegangene Operationen und invasiv diagnostische Eingriffe mit 17 %. Die verbliebenen 21 % entfielen auf Angaben wie „Tätowierung, Piercing und rituelle Circumcision“ (7 %), im nicht-europäischen Ausland erhaltene Bluttransfusionen (5,5 %), Kontakte zu HCV-positiven Sexualpartnern oder infizierten Familienmitgliedern (2,2 %) sowie eine Reihe weiterer Faktoren, die nachgewiesenermaßen als Auslöser einer HCV-Infektion gelten müssen.

Das „Risikofaktoren-Profil“ änderte sich jedoch entscheidend, wenn man nicht mehr die Gesamtzahl der HCV-Infizierten, sondern nur noch jüngere Personen in die Analyse einbezog. Tabelle 1 zeigt die für bis zu 35jährige erhaltene „Risikofaktoren-Konstellation“.

Tab. 1: Risikofaktoren für den Erwerb einer HCV-Infektion bei 546 bis zu 35jährigen.

Risikofaktor	Anteil der Infizierten (%)
i. v. Drogenabusus	57
Vorangegangene Operationen bzw. invasiv diagnostische Eingriffe	18
Bluttransfusionen in Deutschland vor 1991	9
Bluttransfusionen in außer-europäischen Ländern	4
Berufliche Exposition	3
Kontakt zu HCV-positiven Personen	3
Andere	6

Bei den bis zu 35jährigen gingen also 57 % der HCV-Übertragungen auf den intravenösen Drogengebrauch zurück, der in dieser Altersgruppe den mit Abstand wichtigsten Risikofaktor darstellte. Da K. Stark und seine Gruppe am Berliner Robert Koch-Institut im Rahmen der „intensivierten Surveillance“ in Zusammenarbeit mit repräsentativ ausgewählten Gesundheitsämtern im Bundesgebiet (vgl. HepNet-Projekt 4.1) sehr ähnliche Daten erheben konnten, beantragten wir Mitte der zweiten Förderperiode den Zugriff auf Serum- und DNA-Proben von HCV-infizierten intravenös Drogenabhängigen, die in der zentralen Specimen-Bank des HepNets (vgl. Projekt 1.3) asserviert waren, um so in einem ersten Schritt weitergehende Informationen zur gegenwärtigen Epidemiologie der HCV-Infektion unter Drogenabhängigen in Deutschland zu erlangen. Unsere Untersuchungen sollten sich dabei, wie es in einem Brief an den Vorstand des HepNet vom 6. Februar 2006 hieß, konzentrieren auf:

- Die Identifikation möglicher HCV-Rekombinationen durch direkte Sequenzierung eines HCV-Core- und –NS5B-Fragments,
- den Nachweis eventueller multipler Infektionen mittels HCV-Serotypisierung sowie
- die Analyse der HCV-Quasispezies-Verteilung in den PBMCs derjenigen Patientinnen und Patienten, bei denen sich in der Serotypisierung Hinweise auf multiple Infektionen ergaben.

Nach Befürwortung dieses Antrag ging uns im Juni 2006 über Herr Dr. Müller (HepNet-Projekt 1.2) ein Datenbankauszug zu, der auswies, dass zum damaligen Zeitpunkt 358 HCV-infizierte intravenös Drogenabhängige in der zentralen Datenbank erfasst waren. Es handelte sich im einzelnen um Seren und DNA von 267 Männern und 91 Frauen mit einem durchschnittlichen Alter von 37,5 Jahren. Die bislang durchgeführten molekularbiologischen Analysen von 113 Specimen ergaben folgende HCV-Subtypen-Verteilung: 1a – 42 %; 1b – 12 %; 2 – 3 %; 3a – 41 % und 4 – 2 %. Durch direkte Sequenzierung eines HCV-Core- und –NS5B-Fragments ergaben sich in dieser Kohorte HCV-infizierter intravenös Drogenabhängiger aus Deutschland bisher keine Hinweise auf das Vorliegen von Rekombinationen zwischen unterschiedlichen HCV-Geno- oder –Subtypen. Demgegenüber gelang es, in einer „Vergleichsgruppe“, die 30 HCV-positive intravenös Drogenabhängige

umfasste, zwei Isolate auszumachen, die der bereits bekannten Rekombinante 2k/1b zugehörten, und zudem eine Variante vorläufig zu charakterisieren, die eine neuartige „Kopplung“ eines 1b- und 3a-„Stamms“ darstellen könnte. Die letztgenannte Beobachtung bedarf jedoch noch der Überprüfung durch „full-length“-Sequenzierung an originärem Patientenmaterial und – gegebenenfalls – der Identifizierung potentieller „Bruchpunkte“ durch geeignete Software-Applikationen und den Einsatz subtyp-spezifischer PCR-Primer, die die Rekombinations-Punkte „überspannen“.

Bei 101 Patientinnen (N = 38) und Patienten (N = 63), die während beider Förderperioden an einer akuten HCV-Infektion litten und sowohl über die Modellregionen als auch die beiden „Rekrutierungszentren“ der „Akuten HCV III Studie“ in das HepNet „eingeschleust“ wurden, ergab sich das in Tabelle 2 dargestellte „Risikofaktoren-Profil“.

Tab. 2: Risikofaktoren, die mutmaßlich zu einer akuten HCV-Infektion unter 101 Patientinnen und Patienten führten.

Risikofaktor	Anzahl der Infizierten
i. v. Drogenabusus	20
Sexualkontakt mit HCV-Infizierten	25
rafamiliäre Übertragung	7
Berufliche Exposition	15
Andere	20
Unbekannt	14

Diese Erhebungen zur Charakterisierung des individuellen „Risikoprofils“ HCV-Infizierter wurden ergänzt durch eine großangelegte prospektive Studie zur HCV-Inzidenz unter Patientinnen und Patienten in Haemodialyse-Zentren der HepNet-Modellregion West.

In der ersten Studienphase konnten wir bei 2.909 Individuen aus 67 Einrichtungen eine bestätigte HCV-Antikörper-Prävalenz von 5 % und in 4 % der Fälle eine Virämie feststellen. In einer „nested“ Fall-Kontroll-Analyse ergaben sich als statistisch signifikante Risikofaktoren für eine HCV-Transmission die Applikation von Blutprodukten vor 1991 (RR 1,9) sowie die Zahl der Jahre, die sich die Patienten bereits einer Dialyse-Behandlung unterziehen mussten (RR 1,12). Die zweite Studienphase begann exakt ein Jahr nach der ersten. Insgesamt war es uns möglich, bei rund 72 % der ursprünglich in die Erhebung einbezogenen 2909 Patientinnen und Patienten innerhalb dieses einen Jahres zweimal den „HCV-Status“ zu bestimmen und so „belastbare“ Daten zur HCV-Inzidenz im Risikokollektiv der Hämodialysierten zu gewinnen. In 125 der schließlich erhaltenen 2.100 (5 %) Patientenseren waren HCV-Antikörper mittels Elisa und Immunoblot nachweisbar; die Rate der Virämie belief sich wiederum auf 4 %. In keinem einzigen Fall ereignete sich in den beteiligten 62 Dialyse-Zentren jedoch eine HCV-Neuinfektion. Auch fanden sich in der zweiten Studienphase keine Seren, in denen HCV RNA bei fehlenden Antikörpern isoliert nachweisbar war.

Das Fehlen jeglicher HCV-Neuinfektion in diesem Patienten-Kollektiv konnte nun prinzipiell einerseits begründet sein in der strikten Einhaltung strenger allgemein-hygienischer Kautelen oder andererseits gerade als Erfolg der „Separationsmaßnahmen“ gewertet werden, die in den beteiligten Einrichtungen angewandt wurden. Um der Frage nachzugehen, welchem der beiden genannten Faktoren die unerwartet niedrige HCV-Inzidenz in den Hämodialyse-Zentren wohl hauptsächlich geschuldet war, untersuchten wir zufällig ausgewählte Seren von mehr als 400 der Probanden auch auf GBV-C RNA. Dabei ließ sich über die einjährige

prospektive Studienphase hinweg zwar bei drei Patienten eine de novo Infektionen mit GBV-C nachweisen. Die phylogenetische Analyse der erhaltenen 354 Nukleotide langen NS5-Fragmente zeigte jedoch, dass die infragestehenden drei Isolate mit keinem derjenigen GBV-C-„Stämme“ hinreichend übereinstimmten, die sich bei anderen ebenfalls mit diesem Virus infizierten Patienten innerhalb der Zentren fanden (Abb. 1). Die drei GBV-C Neuinfektionen wurden daher nicht durch die Behandlung in den Dialyse-Zentren hervorgerufen, und es scheint somit der Schluss gerechtfertigt, dass das gänzliche Fehlen von HCV-Neuinfektionen neben den „Separationsmaßnahmen“ offensichtlich auch den allgemein hohen Hygiene-Standards und der strikten Beachtung der sogenannten „universal precautions“ in den Dialyse-Einrichtungen zuzuschreiben war.

3. Bewertung der Ergebnisse

Wie im Vorangegangenen dargestellt, wurden die im Projektantrag formulierten Hauptziele erreicht, da es durch eine enge Kooperation mit den Partnern in den Modellregionen sowie mit dem RKI gelang, im Rahmen des HepNet ein funktionsfähiges Sentinel- Berichtssystem für akute HCV-Infektionen aufzubauen und mehrere Tausend infizierte Patientinnen und Patienten hinsichtlich ihres „Risikoprofils“ durch standardisierte Befragungen zu charakterisieren.

Die erhaltenen Ergebnisse beschreiben erstmals umfassend die in Deutschland derzeit bedeutsamen HCV-Übertragungswege und bieten so ergiebige Material für die Konzeption weiterführenderer Studien zur HCV-Epidemiologie. Als ein Beispiel für derartige Untersuchungen mögen unsere Analysen von Seren HCV-infizierter intravenös Drogenabhängiger gelten, die wir während der zweiten Förderphase des HepNet begonnen haben und die wir nach Auslaufen unseres Projekts mit der Unterstützung anderer Förderer fortsetzen werden.

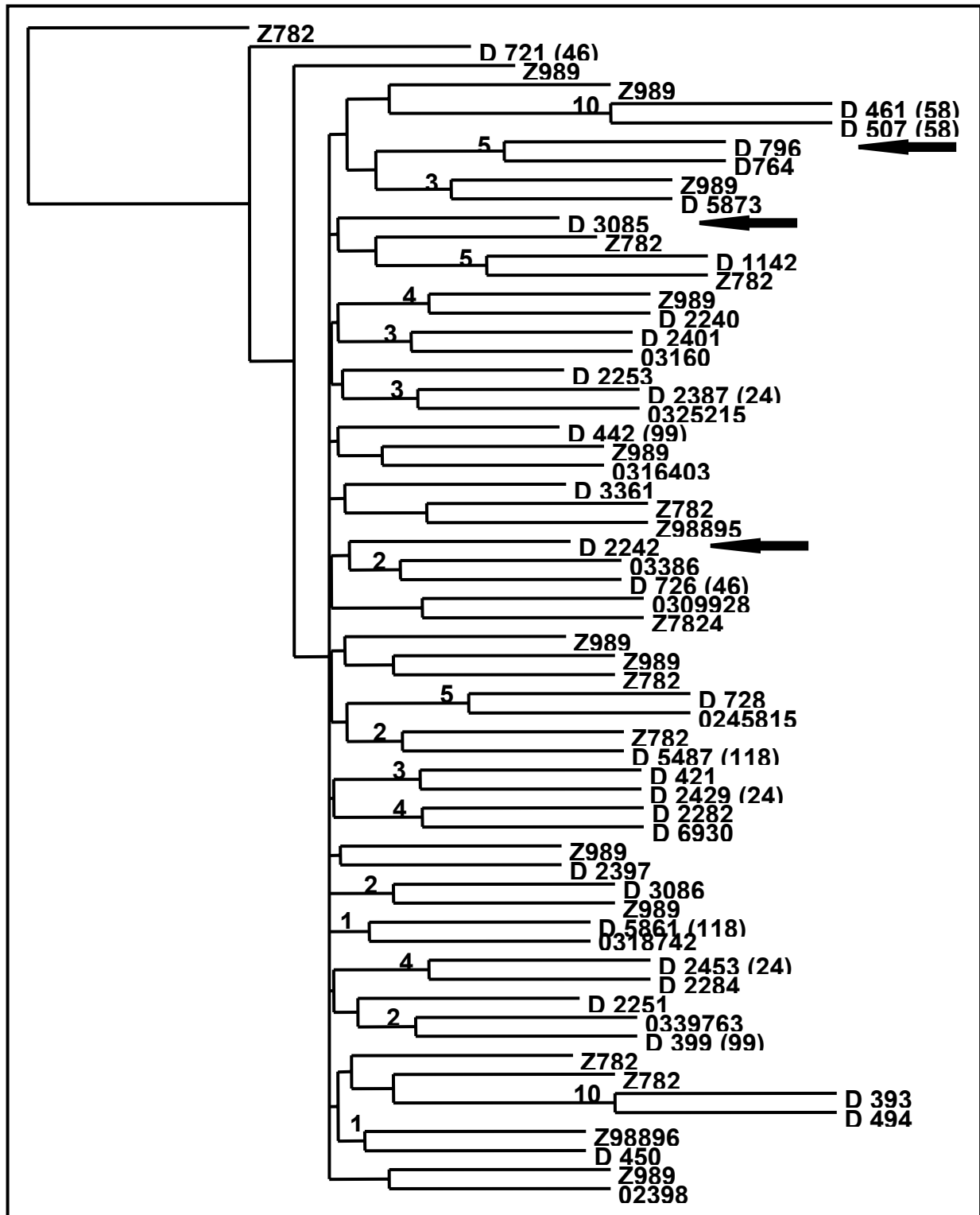


Abb. 1: Ergebnisse der phylogenetischen Analyse von partiellen GBV-C-NS5-Sequenzen, die von Hämodialyse-Patientinnen und -Patienten in der HepNet-Modell-Region West (Präfix D) und von anderen GBV-C-Infizierten in Deutschland isoliert wurden („accession numbers“ oder, z. B., 031602). Die Pfeile kennzeichnen die während des Beobachtungszeitraums unter den Dialyse-Patientinnen und -Patienten neu entdeckten GBV-C-Varianten.

4. Projektassoziierte Publikationen (2. Förderperiode)

Ross RS, Janata O, Viazov S, Roggendorf M (2005). Molecular and epidemiologic investigation of a cluster of hepatitis C virus infections on an orthopedic ward. Gesellschaft für Virologie, Annual Meeting, Program and Abstracts, p. 389.

Roß RS, Roggendorf M (2005). Hepatitis-C-Virus. In: Mittermayer, H, Allerberger, F (Hrsg.). Spektrum der Infektionskrankheiten. Diagnostik, Verlauf und zeitgemäße Therapie. Band 1: Allgemeine Infektiologie und Krankheitserreger. Balingen (Spitta Verlag), S. 413 – 419.

Hilgard P, Kahraman A, Lehmann N, Seltmann C, Beckebaum S, Ross RS, Baba H, Malago M, Roggendorf M, Broelsch CE, Gerken G (2006). Cyclosporin versus tacrolimus as immunosuppression in patients with chronic hepatitis C: Effects on virus replication and recurrent hepatitis. World J Gastroenterol 12: 697 – 702.

Ross RS, Viazov S, Clauberg R, Wolters B, Fengler I, Eveld K, Scheidhauer R, Roggendorf M (2006). Hepatitis C virus infection among haemodialysis patients in Germany: Lack of seroconversions during a large multicentre survey. Gesellschaft für Virologie, Annual Meeting, Munich 15. – 18. März 2006. Program and Abstracts, p. 242.

Ross RS, Viazov S, Clauberg R, Wolters B, Fengler I, Eveld K, Scheidhauer R, Roggendorf M (2006). Lack of de novo hepatitis C virus infections and nosocomial transmissions of GB virus C in a large cohort of German haemodialysis patients. J Clin Virol 36 (Suppl 2): S 149 – S 150 (Abstract).

Schaefer S, Arvand M, Gärtner B, Jilg W, Lafrenz M, Leitritz L, Modrow S, Müller-Lantzsch N, Podbielski A, Roggendorf M, Roß S, Schönberg A, Trautwein Ch, Gerlich WH (2006). Diagnostik von Infektionen der Leber. Mikrobiologisch-infektiologische Qualitätsstandards 25, München, Jena: Urban & Fischer.

Roß RS, Roggendorf, M (Hrsg.) (2007): Übertragungsrisiko von HBV, HCV und HIV durch infiziertes medizinisches Personal. 2. Aufl. Lengerich et al: Pabst Science Publishers.

Roß RS, Schreier E (2007). Risiko der Übertragung des Hepatitis C-Virus durch infiziertes medizinisches Personal. In: Roß, RS, Roggendorf, M. (Hrsg.). Übertragungsrisiko von HBV, HCV und HIV durch infiziertes medizinisches Personal. 2. Aufl., Lengerich et al. (Pabst Science Publishers), S. 33 – 50.

Roß RS, Roggendorf M (2007). Sammlung nationaler und internationaler Empfehlungen zum Umgang mit HBV-, HCV- und HIV-infiziertem medizinischem Personal. In: Roß, RS, Roggendorf, M. (Hrsg.). Übertragungsrisiko von HBV, HCV und HIV durch infiziertes medizinisches Personal. 2. Aufl., Lengerich et al. (Pabst Science Publishers), S. 110 – 121.

Kretzschmar E, Chudy M, Nübling CM, Ross RS, Trobisch H (2007). First case of hepatitis C virus transmission by a red blood cell concentrate after introduction of nucleic acid amplification technique screening in Germany: A comparative study with various assays. Vox Sang 92: 297 – 301.

Ross RS, Viazov S, Roggendorf M (2007). Genotyping of hepatitis C virus isolates by a new line probe assay using sequence information from both the 5' untranslated and the core regions. J Virol Methods 143: 153 – 160.

Ross RS, Viazov S, Kpakiwa SS, Roggendorf M (2007). Transcription-mediated amplification linked to line probe assay as a routine tool for HCV typing in clinical laboratories. J Clin Lab Anal 21: 340 – 347.

Ross RS, Viazov S, Wolters B, Roggendorf M (2007). Towards a better resolution of hepatitis C virus variants in routine laboratory practice: CLIP sequencing of an HCV core fragment and automated assignment of genotypes and subtypes. Third European Congress of Virology. Programme and Abstracts, p. 262.

Ross RS, Viazov S, Roggendorf M (2007). Evidence of multiple recombination events in an hepatitis C virus full-length sequence. 14th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Programme and Abstract Book, p. 249.

Ross RS, Viazov S, Grunert H-P, Zeichhardt H, Roggendorf M (2007). Genotyping of hepatitis C virus isolates: current diagnostic tools and future challenges. 2nd Russian-German conference of the Koch-Metchnikov-Forum. Abstract Book, p. 179.

Ross RS, Viazov S, Wolters B, Roggendorf M: Towards a better resolution of hepatitis C virus (HCV) variants in routine laboratory practice: CLIP sequencing of an HCV core fragment and automated assignment of genotypes and subtypes. J Virol Methods. In press.

Ross RS, Viazov S, Roggendorf M: Evidence of multiple recombination events in an hepatitis C virus full-length sequence. Submitted.

Ross RS, Viazov S, Clauberg R, Wolters B, Fengler I, Eveld K, Scheidhauer R, Hüsing J, Philipp Th, Kribben A, Roggendorf M: Lack of de novo hepatitis C virus infections and absence of nosocomial transmissions of GB virus C in a large cohort of German haemodialysis patients. Submitted.