

Abschlussbericht Teilprojekt 4.4

Projekttitle: Vertikale Transmission der Hepatitis C

Projektleiter: Prof. Dr. med. H.-H. Feucht
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Institut für Infektionsmedizin
Martinistr. 52
20246 Hamburg

Telefon: +49 (0) 40 / 42803-3159

Fax: +49 (0) 40 / 42803-4881

E-Mail: feucht@uke.uni-hamburg.de

Berichtszeitraum: 01.02.2005 – 31.01.2007

I Kurze Darstellung

1. Aufgabenstellung

Wegen der hohen Prävalenz der chronischen Hepatitis C bei Patienten aus dem Drogenmilieu ergab sich die Frage, ob und wie häufig dieses Virus von einer infizierten Frau auf ihr Kind übertragen werden kann und wie der Verlauf der vertikalen Transmission ist. Aus unseren Vorarbeiten wussten wir, dass die Übertragung nur selten stattfindet und dass deshalb eine sehr große Zahl von Mutter-Kind-Paaren untersucht werden muss, um zu statistisch relevanten Aussagen kommen zu können. Um betroffenen Frauen entsprechende Empfehlungen geben zu können, wollten wir außerdem eine möglichst große Zahl von Muttermilchproben auf das Vorliegen von HCV-RNA untersuchen, denn zu Beginn der Untersuchungen wurde generell HCV-infizierten Frauen vom Stillen abgeraten. Es gab auch noch keine gesicherten Empfehlungen zum Entbindungsmodus, sodass ein weiteres Augenmerk darauf lag, die Infektionsraten bei durch Sectio bzw. spontan geborenen Kindern zu vergleichen.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Zu Beginn der Förderung konnten wir schon auf die Daten von 426 untersuchten Kindern von 362 HCV-infizierten Müttern zurückgreifen, von denen sich 20 als infiziert erwiesen. Außerdem waren bis dahin 100 Milchproben dieser Mütter auf HCV-RNA untersucht worden, in allen Proben war das Ergebnis negativ. Ausgehend von einer höheren Prävalenz der HCV-Infektion im städtischen Bereich verglichen mit ländlichen Regionen, war davon auszugehen, dass eine deutliche Steigerung der untersuchten Mutter-Kind-Paare realistisch war.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Geplant war die Aufnahme von weiteren 200 Mutter-Kind-Paaren innerhalb einer Frist von 5 Jahren. Dies sollte durch den vorhandenen Kontakt zu den Entbindungskliniken im norddeutschen Raum geschehen, aber auch durch die Kontakte zu niedergelassenen Ärzten, die HCV-infizierte Patienten betreuen. Durch die Beteiligung am HepNet-Programm wurde außerdem erwartet, dass sowohl betroffene Frauen auf dieses Teilprojekt aufmerksam werden würden als auch andere Gruppen aus dem HepNet ihre Patientinnen bei Bedarf in unsere Studie einschleusen würden.

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Zum Zeitpunkt des Beginns der Förderung hatten wir eine vertikale Übertragungsrate von 4,7% ermittelt. Da bei einigen der infizierten Kinder die PCR schon unmittelbar nach der Entbindung positiv war, gingen wir davon aus, dass eine Übertragung in utero möglich ist und somit eine Entbindung durch Sectio die Infektion des Kindes nicht verlässlich verhindern kann. Basierend auf den negativen Ergebnissen unserer untersuchten Milchproben hatten wir nicht vom Stillen abgeraten, doch wurde trotz weiterer Studien von uns und innerhalb des Europäischen Pädiatrischen HCV-Netzwerks (EPHN), an dem wir mitarbeiteten, die das gleiche Ergebnis erbrachten, dies nicht von allen Entbindungskliniken übernommen. Deshalb war eine weitere Absicherung erforderlich.

Es bestanden Kontakte zu verschiedenen Entbindungskliniken in Hamburg sowohl im Bereich der Krankenhäuser des Asklepios-Betriebs als auch zu kleineren Krankenhäusern mit geburtshilflicher Abteilung, sodass aus diesen Bereichen die Zuweisung weiterer Mütter und Kinder zu erwarten war. Außerdem gibt es Kontakte zu den Kinderschutzhäusern, in denen einige der aus einem sehr schwierigen sozialen Milieu stammenden Kinder zeitweise untergebracht sind, sodass auch Folgeuntersuchungen zu erwarten waren. Vor einigen Jahren wurde an der Ärztekammer Hamburg ein HCV-Arbeitskreis gegründet, in dem

Kollegen aus der Suchtmedizin, Infektiologen, Hepatologen und Soziologen mitarbeiten, an diesem Arbeitskreis bin ich ständiges Mitglied. Dieser Arbeitskreis unterhält zudem engen Kontakt zu den Gesundheitsbehörden der Freien und Hansestadt Hamburg und zu den dort insbesondere für das Meldewesen zuständigen Mitarbeitern.

Die für die Untersuchung der Proben erforderlichen technischen Voraussetzungen waren vollständig gegeben. Die Verfahren zur Untersuchung auf HCV-Antikörper und HCV-RNA waren bereits 1989 bzw. 1991 am Institut etabliert worden und wurden seitdem der Entwicklung entsprechend weiterentwickelt. Ein besonderes Problem bestand dabei, dass nicht nur Serumproben auf HCV-RNA untersucht werden sollten, sondern auch Muttermilch; für eine solche Probe gibt es aber keine kommerziellen, standardisierten Verfahren. Wir hatten aber schon früher verschiedene Körperflüssigkeiten wie Tränenflüssigkeit oder Speichel mittels PCR untersucht und zeigen können, dass der Nachweis möglich ist. Es gab auch schon Voruntersuchungen von Milchproben, in denen wir zeigen konnten, dass prinzipiell auch in einer solchen zell- und proteinreichen Flüssigkeit mit unserer in house PCR HCV-RNA nachgewiesen werden kann. Da unsere Proben bis dahin (und auch seitdem immer) alle per se negativ für HCV-RNA waren, spikten wir die Milchproben mit Seren HCV-negativer und HCV-positiver Patienten.

Über die Ärztliche Zentralbibliothek des UKE besteht ständig Zugang zur aktuellen Fachliteratur. Außerdem werden regelmäßig Fachkongresse besucht wie die jährliche Tagung der European Association for the Study of the Liver. Auf diese Weise bestehen auch Kontakte zu Zentren außerhalb Deutschlands.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die bestehenden Zusammenarbeiten mit anderen Stellen aus dem Hamburger Raum wurden bereits oben beschrieben. Die meisten der neu in die Studie aufgenommenen Mütter und Kinder kommen aus dieser Zusammenarbeit. Zudem besteht auch nach dem Ende des EPHN der EU weiter Kontakt zu den Pädiatern und Virologen aus den beteiligten Ländern. Allerdings erwies sich die Hoffnung, die anderen am HepNet-beteiligten Zentren würden entsprechende Mütter und Kinder in unsere Studie einbringen als trügerisch. Da aus diesem Bereich kein einziges neues Paar in die Studie kam, scheint es so, als gäbe es entweder bei keinem der beteiligten Kollegen HCV-positive Frauen im gebärfähigen Alter, oder aber keine dieser Frauen wird schwanger.

II Eingehende Darstellung

1. Erzielte Ergebnisse

Die Zahl der untersuchten Kinder konnte inzwischen auf 804 erhöht werden, von denen sich 35 (4,4%) als infiziert erwiesen. Die Transmissionsrate hat sich also gegenüber den bei den Voruntersuchungen ermittelten Zahlen nicht verändert. Von 329 der Kinder ist uns der Entbindungsmodus bekannt; drei (2,3%) der 131 durch Sectio geborenen Kinder erwiesen sich als infiziert, bei den spontan entbundenen Kindern waren es 5 von 198 (2,5%). Somit hat sich erhärtet, dass die Übertragung bereits in utero erfolgen kann und eine Sectio das Infektionsrisiko nicht senkt. Das letzte infizierte Kind unserer Studie wurde wahrscheinlich sogar erst durch die Sectio infiziert. Hierbei handelt es sich um ein jetzt 77 Tage altes Mädchen. Bei der ersten Untersuchung am 4. Lebenstag war die PCR negativ, bei der Folgeuntersuchung am 49. Lebenstag hingegen positiv mit einer Virämie von 8×10^4 IU/ml. Dieses Ergebnis wurde 17 Tage später bestätigt (1×10^5 IU/ml). Dieses Kind wurde entgegen der ursprünglichen Planung wegen einer Verschlechterung des CTGs per Sectio entbunden, wobei es am Kopf verletzt wurde und eine blutende Wunde hatte. Dieser Verlauf weist darauf hin, dass die Übertragung erst durch den Kontakt der Wunde mit den blutigen Sekreten der Mutter stattfand.

Insgesamt wurden von den 658 Müttern 241 Milchproben gewonnen und untersucht, die Entnahme erfolgte zwischen dem 122. Tag vor und dem 768. Tag nach der Entbindung mit einem Median von 5 Tagen post partum. Bei der Mehrzahl der Proben ($n=114$, 47,3%) handelt es sich um zellreiches Colostrum, 74 Proben (30,7%) waren zwischen dem 5. und 14. Tag p.p. gewonnene Übergangsmilch, und 53 Proben (22,0%) waren reife Milchproben, die nach dem 14. Lebenstag des Kindes gewonnen wurden. Die Frauen, von denen diese Milchproben stammten, waren zumeist zu diesem Zeitpunkt virämisch (58,9%), die Viruskonzentrationen liegen zwischen 8×10^2 und 1×10^9 IU/ml (Median: 3×10^5 IU/ml). Alle Proben, die nicht oder mit dem Serum eines HCV-negativen Patienten gespikt waren, erwiesen sich als negativ. Von den 189 Proben, die mit dem Serum eines HCV-Trägers gespikt waren, zeigten 141 ein positives PCR-Signal, während sich bei 26 Proben keine HCV-RNA nachweisen ließ. In 22 Fällen war der zum Spiken benutzte Patient zwar bekannt HCV-positiv, aber zum Untersuchungszeitpunkt nicht virämisch, sodass sowohl die Serumprobe als auch die damit gespikte Milch in der PCR negativ waren. Die Konzentrationen der HCV-RNA waren zwar in den meisten Milchproben niedriger als in den zugehörigen Serumproben, aber wir konnten zeigen, dass die Zusammensetzung der Milch den Ablauf der PCR nicht wesentlich stört. Die Ergebnisse der untersuchten Milchproben sind Abbildung 1 zu entnehmen.

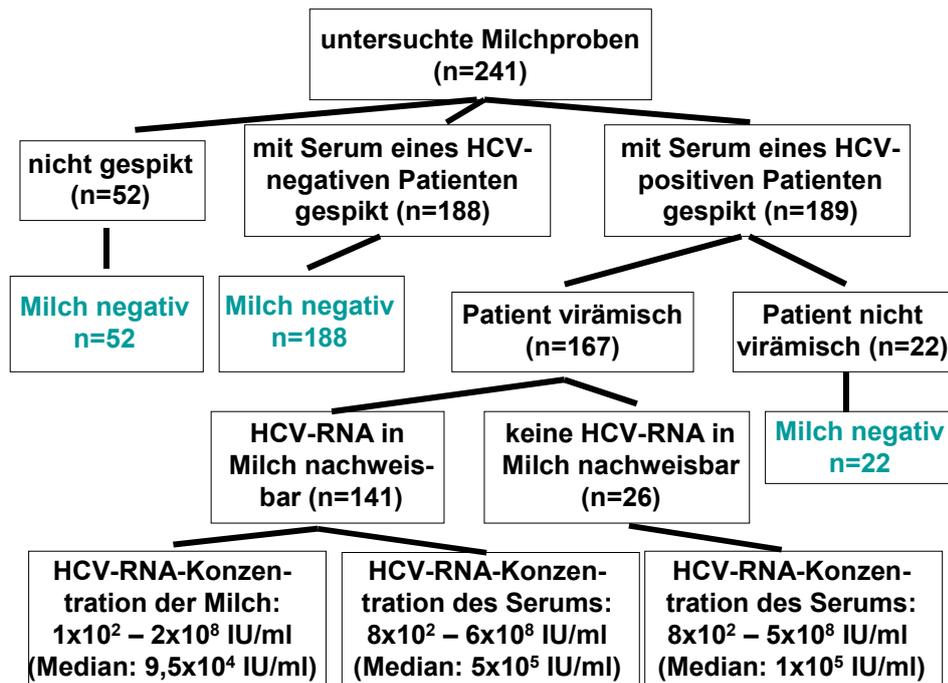


Abb. 1: Untersuchungsergebnisse der untersuchten Milchproben.

Von den 197 Kindern aus diesem Teil der Studie erwiesen sich 3 als infiziert (1,5%), 186 waren HCV-negativ, und in 8 Fällen konnte der Status des Kindes nicht ermittelt werden, da kein Serum zur Verfügung stand. Der Verlauf dieser drei infizierten Kinder spricht aber dagegen, dass sie durch das Stillen infiziert worden sind. Eines der Kinder ist das später noch einmal genauer dargestellte Kind, bei dem eine Ausheilung der Infektion anzunehmen ist und die erfolgte Infektion nur durch die Persistenz der Antikörper weit über den 18. Lebensmonat hinaus nachgewiesen wurde. Die PCR war bei diesem Kind immer negativ. Das zweite Kind war bereits bei der ersten Untersuchung, die am 4. Lebenstag erfolgte, in der PCR positiv. Bei beiden Kindern ist somit die intrauterine Infektion nachgewiesen. Das dritte infizierte Kind wurde am ehesten perinatal infiziert. Bei der am 3. Lebenstag durchgeführten Untersuchung war die PCR negativ, aber bei der 27 Tage später erfolgten Untersuchung zeigte sich eine Virämie von 1×10^6 IU/ml.

Insgesamt ist von 487 Kindern die Art der frühkindlichen Ernährung bekannt, 242 Kinder wurden gestillt, 245 wurden nicht gestillt. Die Übertragungsraten betragen 3,3% vs. 2,0%; dieser Unterschied erwies sich als statistisch nicht signifikant ($p=0,37$).

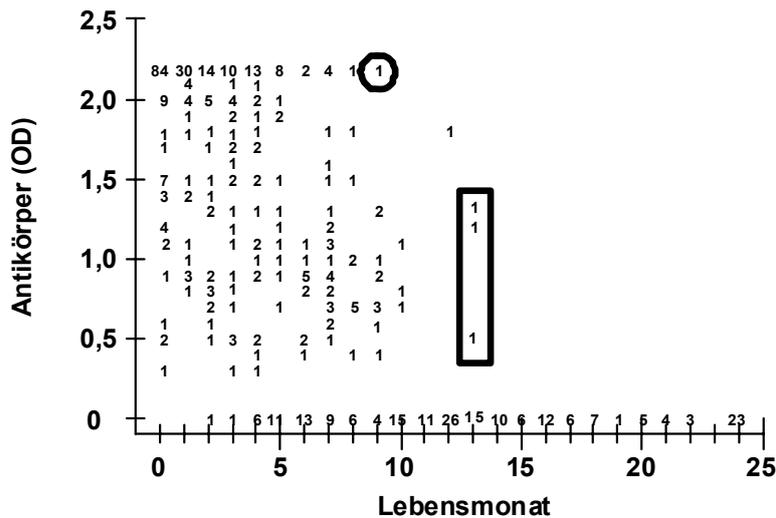


Abb. 2: Verlust der mütterlichen Antikörper bei nicht-infizierten Kindern. Der Kreis markiert den letzten Zeitpunkt, zu dem noch hohe Antikörperreaktivitäten mit einer Extinktion von über 2,0 auftraten. Der Kasten zeigt die letzten positiven Antikörperbefunde.

Von den exponierten, nicht infizierten Kindern unserer Studie, bei denen die Untersuchungen bereits in der Neugeborenenzeit begannen, wurden 195 bis zum vollständigen Verlust der mütterlichen Antikörper nachuntersucht. Dies war wichtig, um die Hypothese zu erhärten, dass die maternalen Antikörper bis spätestens zum 18. Lebensmonat eliminiert sein müssen, mithin eine Persistenz der Antikörperreaktivität auch bei negativer PCR die erfolgte Infektion des Kindes beweist. Diese Annahme konnte von uns belegt werden; das erste negative Ergebnis trat zwischen dem 45. Lebenstag und dem 24. Lebensmonat auf (Median: 8 Monate) (siehe Abbildung 2). Keines dieser Kinder hatte noch jenseits des 13. Lebensmonats ein positives Ergebnis im Antikörpersuchtest, und hohe Antikörperreaktivitäten gab es schon nach dem 8. Monat nicht mehr. Somit ist die Elimination der mütterlichen Antikörper schon wesentlich früher abgeschlossen, aber die Definition der kindlichen Infektion bei Persistenz über den 18. Monat hinaus bedeutet ein zusätzliches „Sicherheitspolster“.

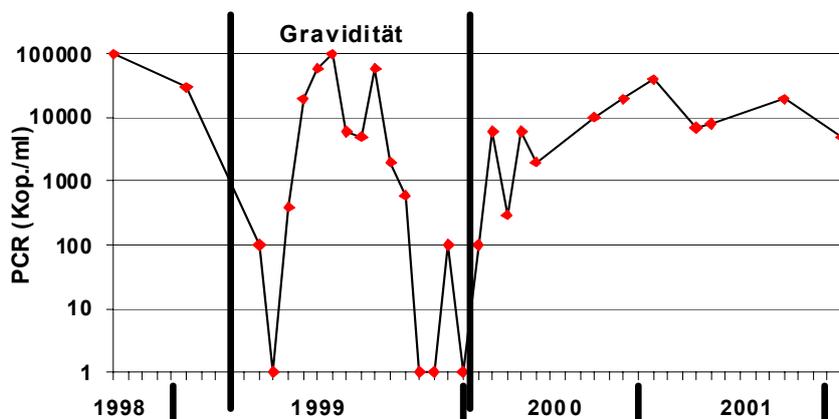


Abb 3: Verlauf der Virämie vor, während und nach der Schwangerschaft (Patientin M., L.): vorübergehender Abfall.

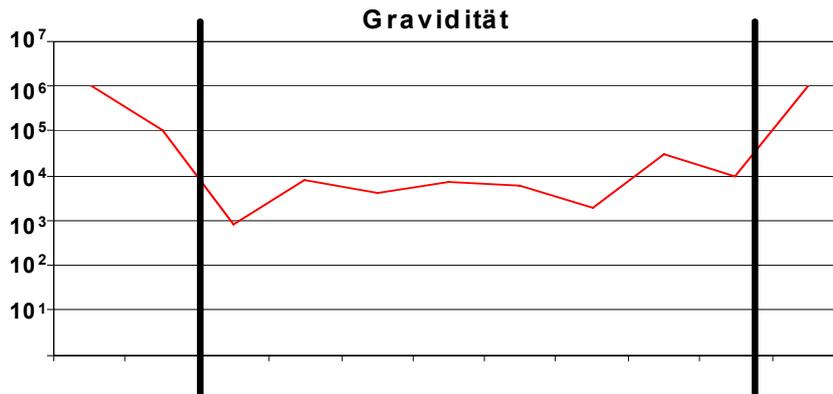


Abb. 4: Verlauf der Virämie vor, während und nach der Schwangerschaft (Patientin H., F.): vorübergehender Abfall.

Wir haben bislang drei Mütter vor, während und nach der Schwangerschaft regelmäßig untersuchen können; Ziel war es, herauszufinden, wie der Verlauf der Virämie in der Schwangerschaft ist. Ein einheitliches Bild gab es dabei nicht. Bei zwei Müttern zeigte sich ein eher unerwarteter Rückgang der Virämie in der Schwangerschaft mit einem anschließenden Wiederanstieg (Abbildungen 3 und 4), bei der dritten Mutter fiel die Virämie zwar im gesamten Verlauf ab, aber ein deutlich ausgeprägter Rückgang in der Schwangerschaft trat nicht auf (Abbildung 5).

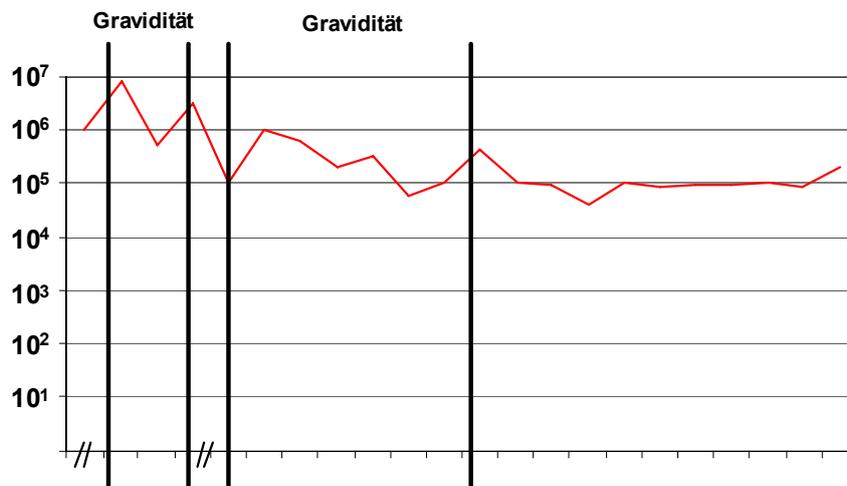


Abb. 5: Verlauf der Virämie vor, während und nach der Schwangerschaft (Patientin C., E.): kontinuierlicher Abfall.

Von den 35 Kindern, die sich als infiziert erwiesen, verlief die Infektion in 26 Fällen (74,3%) chronisch. Bei fünf Kindern (14,3%) spricht der Verlauf für eine Ausheilung der Infektion mit einem kontinuierlichen Rückgang der Antikörperreaktivität im Suchtest und Blot bei anhaltend negativer PCR über einen Zeitraum von 4-16 Jahren. In drei Fällen (8,6%) ist eine Verlaufsbeurteilung nicht möglich, und bei dem letzten Kind ist die Infektion wie oben erwähnt gerade erst diagnostiziert worden und der weitere Verlauf muss abgewartet werden. Ein Kind mit einer ausgeheilten HCV-Infektion soll hier noch einmal genauer dargestellt werden; in diesem Fall gehen wir von einer intrauterin erworbenen, aber bereits in der akuten Phase ausgeheilten Infektion aus. Es handelt sich um eine jetzt 10 Jahre alte Tochter einer Patientin, die die Infektion durch Blutprodukte im Rahmen der Therapie eines Non-Hodgkin-Lymphoms erworben hatte. Die PCR war immer negativ, auch bei den ersten

Untersuchungen im Neugeborenenalter. Die Infektion wurde nur dadurch nachgewiesen, dass die Antikörper bis zum Alter von 5 Jahren im Blut und bis zum Alter von über 7 Jahren im Suchtest nachweisbar blieben (siehe Abbildung 6).

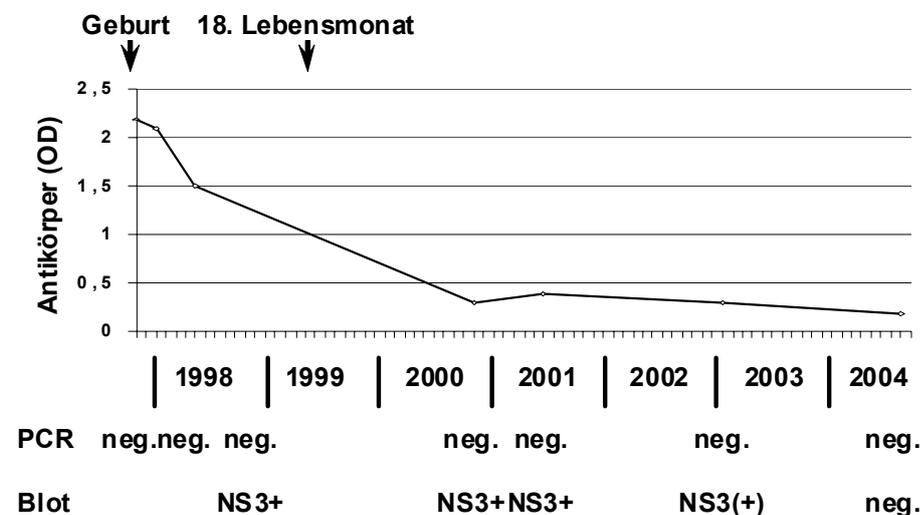


Abb. 6: Intrauterin erworbene, ausgeheilte HCV-Infektion (Kind W., E.).

Bei den Kindern mit einer chronischen Infektion fehlen klinische Zeichen der Erkrankung; die GPT liegt zwischen 6 und 414 IU/l (Median: 33 IU/l). Der älteste Patient in diesem Teil der Studie ist inzwischen 25 Jahre alt. Bis zum Alter von 20 Jahren waren die Leberwerte immer unauffällig gewesen, stiegen dann aber auf 149 (21 Jahre) und 414 IU/l (22 Jahre) an. In diesem Alter ging er zum Studium nach Norwegen, bei einem Besuch in Deutschland im Alter von 24 Jahren fand eine erneute Untersuchung statt, bei der die GPT wieder auf 62 IU/l abgefallen war. Hier können Kofaktoren wie Alkoholkonsum zur Erhöhung der Leberwerte beigetragen haben; bei zwei anderen Kindern mit ebenfalls zeitweise erhöhten Leberwerten können Medikamente (Ritalin bei ADHS in einem Fall, Antiepileptika bei konnataler HSV-Enzephalitis im anderen Fall) die Ursache sein. Bei 5 Kindern sind die Leberwerte bisher immer unauffällig, nur bei einem Kind sind sie bislang immer erhöht.

Sechs der chronisch infizierten Kinder wurden bislang therapiert in einem Alter von 2,5 bis 15 Jahren. Bei einem der Kinder mit dem Typ 1a kam es noch unter laufender Therapie zu einem Breakthrough, bei 2 weiteren Kindern mit dem Genotyp 1b sprach die Therapie überhaupt nicht an. Bei den anderen 3 Kindern liegen Infektionen mit dem Typ 3a vor, 2 davon wurden erfolgreich therapiert mit einer SVR, das dritte Kind wird derzeit noch therapiert und die Behandlung ist bislang erfolgreich. Somit sind die Erfolgsraten der Therapie bei Infektionen im Kindesalter offenbar nicht besser als bei Erwachsenen; bei den schlecht ansprechenden Typen raten wir deshalb eher zur Zurückhaltung.

Ein auffälliger Punkt, den wir aber noch nicht haben klären können, ist die unterschiedliche Häufigkeit, mit der das HCV auf Kinder unterschiedlichen Geschlechts übertragen wird. In unserer Studie sind 345 Mädchen enthalten, von denen 22 (6,4%) infiziert wurden, während von den 374 Jungen sich nur 11 (2,9%) als infiziert erwiesen. Bei 85 Kindern war aus dem Vornamen das Geschlecht nicht zu erkennen, hiervon waren 2 (2,4%) HCV-infiziert.

2. Voraussichtliche Nutzung

Da wir über ein inzwischen sehr umfangreiches Kollektiv an untersuchten Kindern verfügen, können wir gut abgesicherte Ratschläge für HCV-infizierte Mütter bzw. Eltern geben bezüglich des Infektionsrisikos für das Kind, Faktoren, die dieses beeinflussen können und Maßnahmen, wenn eines der Kinder sich als infiziert erweisen sollte. Unsere Ergebnisse

können so in ganz Deutschland genutzt werden und sind aus infektionsepidemiologischer Sicht von erheblicher Bedeutung für das betroffene Kollektiv.

3. Während der Durchführung bekannt gewordene Fortschritte bei anderen Stellen

Es gibt außer dem inzwischen ausgelaufenen EU-Projekt, an dem wir mitgearbeitet haben, keine Studie, die ein ähnlich umfangreiches Kollektiv untersucht hat. Da auch noch keine neuen Substanzen in der Therapie der Hepatitis C eingeführt wurden und eine aktive Schutzimpfung nicht existiert, gibt es keine anderen Entwicklungen, die unsere Studie hätten beeinflussen können.

4. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen

Der größte Bedarf bestand unserer Ansicht nach darin, für betroffene Ärzte und Frauen bzw. Eltern Übersichten zu erstellen, wie im Fall einer Schwangerschaft vorzugehen ist. Es sind solche Übersichtsarbeiten erstellt worden und, basierend auf den Daten des Zwischenberichts 2004, in der Zeitschrift „gynäkologie“ als zweiteilige Arbeit veröffentlicht worden. Diese Arbeit wird auch häufig nachgefragt, aber es ist geplant, mit dem jetzt vorhandenen Kollektiv und den neuen Erkenntnissen z.B. bei der Frage der Therapie eines infizierten Kinders eine Aktualisierung zu publizieren und einem größeren Journal einzureichen. Für uns sehr bedeutsam war auch der Eingang unserer Ergebnisse in die Stillempfehlungen des Bundesamtes für Risikobewertung.

Da die niedrige Übertragungsrate dazu führt, dass eine statistisch relevante Aussage bei einzelnen Fragestellungen nur schwer zu treffen ist, haben wir aber schon die ganze Förderperiode über viel Wert auf die Zusammenarbeit mit den Kollegen des EPHN gelegt und unsere aktuellen Daten stets dort einfließen lassen. Daraus ist eine Vielzahl von Publikationen entstanden:

- Excluding hepatitis C virus (HCV) infection by serology in young infants of HCV-infected mothers. *Acta Paediatrica* 2005, 94: 444-450.
- Three broad modalities in the natural history of vertically acquired hepatitis C virus infection. *Clinical Infectious Diseases* 2005, 41: 45-51.
- Accuracy of HCV-RNA PCR tests for diagnosis or exclusion of vertically acquired HCV infection. *Journal of Medical Virology* 2006, 78: 305-310.
- A significant sex- but not elective cesarean section-effect on mother-to-child transmission of hepatitis C virus infection. *Journal of Infectious Diseases* 2005, 192: 1872-1879.
- Growth in the first five years of life is unaffected in children with perinatally-acquired hepatitis C infection. *Journal of Pediatrics* 2005, 147: 227-232.
- When does mother to child transmission of hepatitis C virus occur? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2005, 90: 156-160.