

Abschlussbericht Teilprojekt 4.4

- Projekttitlel:** Vertikale Transmission des Hepatitis C Virus
- Projektleiter:** Prof. Dr. med. R. Laufs
Prof. Dr. med. H.-H. Feucht, PD Dr. med. S. Polywka
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Institut für Infektionsmedizin
Martinistraße 52
20246 Hamburg
- Telefon:** +49(0) 40-42803-3159
- Fax:** +49(0) 40-42803-4881
- E-Mail:** feucht@uke.uni-hamburg.de, polywka@uke.uni-hamburg.de
- Berichtszeitraum:** 01.02.2002 – 31.01.2005

I. Kurze Darstellung

1. Aufgabenstellung

Das Risiko der Mutter-Kind-Übertragung des Hepatitis-C-Virus (HCV) sollte anhand eines größeren Kollektivs beurteilt werden. Von besonderem Interesse war die Untersuchung zur Möglichkeit einer HCV-Übertragung durch Muttermilch. HCV-infizierte Kinder sollten über einen längeren Zeitraum nachuntersucht werden, um die klinische Progression der Infektion zu ermitteln und die Notwendigkeit einer antiviralen Therapie abzuschätzen. Außerdem sollten Empfehlungen zum Entbindungsmodus erstellt werden.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Wir konnten schon auf 426 untersuchte Kinder von 362 HCV-positiven Müttern zurückgreifen, die in unserem Institut untersucht worden waren; dabei erwiesen sich 4,7% der Kinder als infiziert. In einer weiteren Studie wurden 100 Muttermilchproben von 93 der Mütter auf HCV-RNA untersucht, keine der Proben erwies sich als positiv. Die 20 infizierten Kinder waren über einen Zeitraum von 3,1 Jahren im Median nachuntersucht worden und hatten keine anhaltenden Zeichen einer chronischen Lebererkrankung.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Auf diesen Vorarbeiten basierend wollten wir die Anzahl der untersuchten Kinder erhöhen; dies ist aufgrund der relativ niedrigen Übertragungsrate erforderlich, um statistisch verlässliche Aussagen über den Einfluss einer Sectio bzw. einer vaginalen Entbindung auf die Übertragungsrate zu erhalten. Auch konnte nur so die Anzahl infizierter Kinder in unserer Studie so erhöht werden, dass wir Aussagen über den längerfristigen Verlauf der Infektion treffen können. Da es auch in der neueren Literatur noch immer widersprüchliche Aussagen zu einer HCV-Übertragung durch Muttermilch gibt, wollte wir die Anzahl der untersuchten Milchproben deutlich erhöhen.

Geplant war, dass zusätzlich zu den schon vorhandenen Kindern 200 weitere im Zeitraum von 5 Jahren rekrutiert werden sollten; dies sollte zum Teil durch die Entbindungskliniken im norddeutschen Raum geschehen, zum anderen sollten aber auch durch das HepNet weitere Mutter-Kind-Paare gefunden werden.

Parallel dazu sollten von möglichst vielen Mutter-Kind-Paaren auch Muttermilchproben gewonnen und untersucht werden.

Auch bei einer Rekrutierung von 200 HCV-exponierten Kindern wäre „nur“ mit einer zusätzlichen Anzahl von ca. 10 HCV-infizierten Kindern im norddeutschen Raum zu rechnen. Deshalb wollten wir aus den anderen im HepNet beteiligten Zentren zusätzliche Daten zur Progression der Hepatitis C bei Kindern erhalten.

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Vor Beginn des Projektes hatten wir eine vertikale Übertragungsrate von 4,7% nachgewiesen. Wir gingen aufgrund von Einzelfallbeobachtungen davon aus, dass eine Infektion schon in utero erfolgen kann und somit durch eine Sectio nicht verlässlich verhindert werden kann. In keiner Muttermilchprobe hatten wir HCV-RNA nachweisen können, aber wegen einzelner widersprüchlicher Veröffentlichungen, in denen dies gelungen war, wurden unsere Ergebnisse trotz der schon relativ großen Zahl untersuchter Proben nicht in allen Entbindungskliniken akzeptiert.

Wir nutzten primär die schon bestehende gute Kooperation mit den Kollegen aus den Allgemeinen Krankenhäusern in Hamburg sowie der kleineren Krankenhäuser mit gynäkologisch-geburtshilflichen Einrichtungen, um zusätzliche Patientinnen und deren Kinder untersuchen zu können. Es besteht auch eine enge Zusammenarbeit mit den Kinderschutzhäusern in Hamburg sowie der sie betreuenden Ärzte; dies erwies sich von Nutzen, da ein Teil der HCV-exponierten Kinder aus schwierigem sozialen Milieu über einen längeren Zeitraum von diesen Zentren betreut werden.

Die Verfahren zur Untersuchung der Seren auf HCV-Antikörper und HCV-RNA sind seit 1989 bei uns im Haus etabliert. In unseren zahlreichen Voruntersuchungen konnten wir zeigen, dass insbesondere die PCR, die in der Regel zur Untersuchung von Serum oder Plasma benutzt wird, auch für andere Körpersekrete (Tränenflüssigkeit, Speichel) geeignet ist. Milch als ein zell- und proteinreiches Untersuchungsmaterial ist meist mit kommerziellen PCR-Kits nicht verlässlich zu untersuchen; durch unsere Vorversuche mit gespikten Milchproben (Milchproben versetzt mit HCV-haltigem und HCV-negativem Serum) konnten wir aber zeigen, dass die Untersuchung mit unserer in-house PCR möglich ist.

Die gängige Fachliteratur wird über die Ärztliche Zentralbibliothek des UKE

kontinuierlich verfolgt. Zusätzlich wurden wir von Patientinnen und Ärzten aus anderen Bereichen Deutschlands über das Internet ausfindig gemacht und telefonisch oder per e-mail kontaktiert, sodass wir einige zusätzliche Proben auf diesem Wege erhielten.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Wie oben erwähnt arbeiten wir schon seit Jahren eng mit den anderen Krankenhäusern im Hamburger und norddeutschen Raum zusammen; aus dieser Zusammenarbeit stammen auch weiterhin die meisten neu kontaktierten Mütter und Kinder. Zusätzlich besteht schon seit 1998 eine Zusammenarbeit mit mehreren europäischen Ländern im Rahmen des European Paediatric Hepatitis C Virus Network (EPHN), in das wir unsere Daten einfließen ließen bezüglich der Übertragungsrate bei gestillten und nicht gestillten Kindern bzw. vaginal und per Sectio entbundenen Kindern. Aus dieser Zusammenarbeit untersuchen wir auch gepaarte Proben von infizierten Kindern und deren Müttern zum Vergleich der HVR-Regionen über einen längeren Zeitraum in verschiedenen Wirten.

II. Eingehende Darstellung

1. Erzielte Ergebnisse

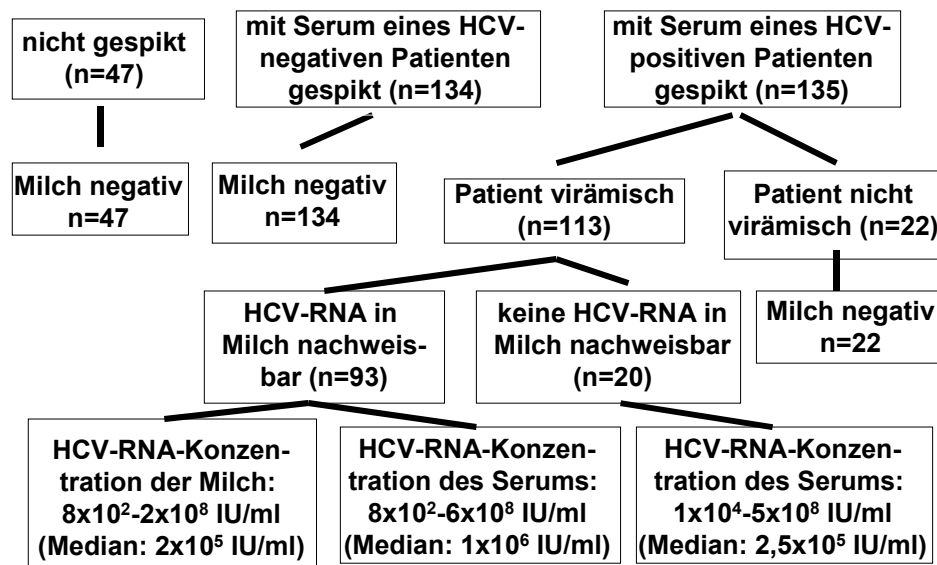
Die Zahl der untersuchten Kinder konnte bis jetzt auf 694 gesteigert werden. Von diesen Kindern sind 31 infiziert, das entspricht einer Übertragungsrate von 4,5% und entspricht nahezu der schon früher von uns beschriebenen Rate von 4,7%. Der Entbindungsmodus ist uns bei 280 Kindern bekannt: von den 105 durch Sectio entbundenen Kindern erwiesen sich 2 (1,9%) als infiziert, von den 175 spontan geborenen Kindern waren 5 (2,9%) HCV-positiv. Dieser Unterschied erwies sich als nicht signifikant ($p=0,47$). Somit ist die HCV-Übertragung auf das Kind durch eine Schnittentbindung nicht zu senken und dies stützt unsere Beobachtungen, dass die Infektion offenbar häufig bereits in utero stattfindet.

Die Anzahl der untersuchten Milchproben ist auf 182 gestiegen, unverändert konnten wir in keiner Milchprobe HCV-RNA nachweisen. Die Proben wurden zwischen dem 31. Tag vor und dem 720. Tag nach der Entbindung entnommen; bei 95 Proben handelte es sich um Colostrum (präinatale Entnahme bis

einschließlich 4. Lebenstag), bei 63 Proben um Übergangsmilch (5. bis 14. Tag p.p.), und 25 Proben waren reife Milch, die nach dem 14. Tag p.p. gewonnen wurde. Die Frauen, von denen diese Milchproben gewonnen wurden, waren in der Mehrzahl (65,6%) zu diesem Zeitpunkt virämisch mit Viruskonzentrationen zwischen 8×10^2 und mehr als 10^7 IU/ml. Einhundertsechunddreißig Milchproben wurden mit dem Serum eines HCV-positiven Patienten gespikt; 114 dieser Patienten waren virämisch und in 94 Fällen konnte die HCV-RNA des Patienten auch in der Muttermilch wieder nachgewiesen werden (Abbildung 1). Somit konnten wir zeigen, dass Muttermilch den Ablauf der PCR nicht stört.

Von den 169 Kindern, die mit den untersuchten Milchproben gestillt worden sind, erwiesen sich 3 (1,8%) als infiziert, und bei keinem der Kinder spricht der Verlauf für eine erst durch das Stillen verursachte Infektion; vielmehr wurden 2 Kinder bereits in utero und das dritte perinatal infiziert. Somit konnten wir unsere Empfehlung, dass HCV-infizierte Mütter stillen können, weiter untermauert.

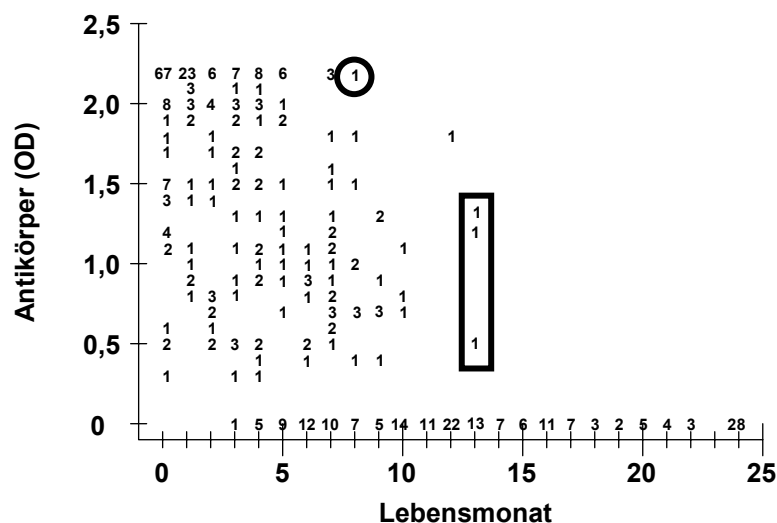
Abbildung 1: Ergebnisse der gespikten Milchproben



Wir haben bislang 160 nicht-infizierte Kinder bis zum Verlust der HCV-Antikörper untersucht. Das erste negative Ergebnis lag nach 1,5 bis 20 Monaten (Median: 8 Monate) vor (siehe Abbildung 2); keines dieser Kinder hatte jenseits des 8. Lebensmonats noch eine hohe Antikörperreaktivität (i.e. $\geq 2,0$ im ELISA), und in keinem Fall fanden wir jenseits des 13. Lebensmonats noch ein positives Ergebnis.

Die HCV-Infektion verläuft im Kindesalter in der Regel beschwerdefrei und auch ohne klinisch-chemische Zeichen der Lebererkrankung. Bei uns haben zwei der 31 infizierten Kinder jetzt anhaltend erhöhte Leberwerte. Das eine ist das älteste „Kind“ unserer Studie; es handelt sich um einen jetzt 23 Jahre alten jungen Mann. Bis Mitte 2002 waren die GPT und γ -GT immer im Normbereich. Im Jahr 2003 stiegen GPT und γ -GT auf 149 IU/ml bzw. 42 IU/ml und in diesem Jahr auf 414 IU/ml bzw. 67 IU/ml. Ursache hierfür mag eine zunehmende toxische Belastung z.B. durch Alkoholkonsum oder andere Noxen sein; wir werden die anderen infizierten Kinder im jugendlichen oder erwachsenen Alter weiter beobachten, um frühzeitig Aufklärung zu betreiben. Das zweite Kind mit jetzt auffälligen Leberwerten ist das schon mehrfach dargestellte intrauterin infizierte, adoptierte Kind. Dieser jetzt 13 Jahre alte Junge wird seit einiger Zeit wegen einer Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Störung (ADHS) mit Ritalin behandelt, seitdem ist die GPT auf 45 IU/l leicht erhöht. Dieses Medikament hat als eine bekannte Nebenwirkung eine Erhöhung der Leberwerte, und wir werden weiter beobachten, welchen zusätzlichen Einfluss die chronische Hepatitis C hat.

Abbildung 2: Verlust der maternalen HCV-Antikörper bei nicht-infizierten Kindern (n=160).



Der mit einem Kreis umrandete Wert markiert den Zeitpunkt, zu dem zum letzten Mal eine hohe

Antikörperreaktivität (i.e. $\geq 2,0$) gefunden wurde (8. Lebensmonat). Das Rechteck markiert den Zeitpunkt, zu dem das letzte Mal überhaupt noch ein positives Ergebnis nachgewiesen werden konnte (13. Lebensmonat).

Zwei der infizierten Kinder werden derzeit behandelt; bei einem davon, das mit dem Genotyp 3a infiziert ist, ist die Therapie nun schon abgeschlossen und der Therapieerfolg (PCR anhaltend negativ) hält an. Hier war die Therapie wegen des günstigen Genotyps einerseits und einer befürchteten Verschlechterung der Leberfunktion durch Antikonvulsiva im Rahmen einer konnatalen Herpesenzephalitis andererseits begonnen worden. Das andere Kind trägt den Genotyp 1b, auch 6 Monate nach Therapiebeginn ist die PCR anhaltend positiv mit derzeit 2×10^4 IU/ml. Wahrscheinlich unterscheiden sich die Aussichten auf einen Therapieerfolg nicht wesentlich von den Erwachsenen. Bei den anderen Kindern ist eine Therapie derzeit nicht geplant.

Wir haben bislang 212 Seren von 177 Kindern nach Verlust der mütterlichen Antikörper mittels PCR untersucht; diese Kinder waren zwischen 94 und 8501 Tage alt (Median: 461 Tage) alt. Nur bei einem Kind konnten wir, wie bereits vorher beschrieben, eine Serokonversion mit positiver PCR als Anhalt für eine horizontale Infektion finden, alle anderen 176 Antikörper-negativen Kinder waren auch in der PCR negativ. Übertragungen durch Haushaltskontakte sind also weiterhin nur in sehr seltenen Fällen zu beobachten.

Eine bei uns schon bekannte Mutter ist derzeit wieder schwanger in der 12. Woche; hier bestimmen wir derzeit alle 2 bis 4 Wochen die Viruskonzentration, um den Einfluss der Schwangerschaft auf die Höhe der Virämie zu evaluieren. Bei weiteren Patientinnen mit erneutem Kinderwunsch werden diese Untersuchungen nach Beginn der Schwangerschaft ebenfalls durchgeführt.

2. Verwertung der Ergebnisse

Unsere Daten haben bislang schon zur Erstellung von Richtlinien für die Beratung schwangerer, HCV-positiver Frauen geführt. Diese Empfehlungen waren vorher in verschiedenen Entbindungszentren sehr uneinheitlich; dies führte zu einer großen Verunsicherung der betroffenen Frauen. Mittlerweile bekommen wir Anfragen hierzu aus dem gesamten Bundesgebiet und teilweise auch aus dem europäischen Ausland. Wir wollen nach Abschluss des Förderprogramms mit

unseren Daten eine internationale Richtlinie erstellen. Wir wurden vom Bundesinstitut für Risikobewertung des Robert-Koch-Instituts anlässlich des 10jährigen Bestehens der Nationalen Stillkommission eingeladen, auf einem Symposium unsere Ergebnisse zum Thema „HCV und Stillen“ zu präsentieren, dieser Vortrag fand ein großes Echo und eine lebhafte Diskussion. Unsere Ergebnisse hierzu veröffentlichten wir im September 2003 im Bundesgesundheitsblatt („Die chronische Hepatitis C der Mutter ist keine Kontraindikation für das Stillen“, Bundesgesundheitsblatt 46, 739-743). Die Nationale Stillkommission hat daraufhin ihre bestehenden Empfehlungen ergänzt („Ergänzung zu den Empfehlungen der Nationalen Stillkommission zu Hepatitis C und Stillen vom März 2001“, Bundesgesundheitsblatt 46, 790), sodass nun auch das RKI gemäß unserer Ergebnisse seine Empfehlungen ausspricht.

3. Fortschritte bei anderen Stellen

Die wesentlichen, bei anderen Stellen erbrachten Fortschritte auf dem Gebiet der vertikalen Hepatitis C kommen v.a. vom European Paediatric Hepatitis C Virus Network (EPHN), in dem wir mitarbeiten und unsere Daten einfließen lassen. Eine Arbeit mit dem Thema „When does mother-to-child transmission of hepatitis C virus occur?“ ist derzeit in Druck, zwei weitere Arbeiten mit dem Thema „Growth in the first 5 years of life is unaffected by paediatric HCV infection and chronic maternal infection with HCV or HIV“ und „Sensitivity and specificity of PCR tests for HCV-RNA in children born to HCV infected women“ sind derzeit in Vorbereitung, letztere wird von Susanne Polywka geschrieben. Diese Arbeiten überschneiden sich nicht mit unserem Forschungsbereich, sondern ergänzen ihn. Weitere neuere Arbeiten stammen überwiegend aus Italien und befassen sich mit dem dort sehr viel häufiger vorkommenden Kollektiv der HCV-HIV-koinfizierten Mütter und deren Kindern. Da die erwähnten Arbeiten des EPHN noch in der Vorbereitung sind, sind diese Informationen vom ZG streng vertraulich zu behandeln.

4. Erfolgte und geplante Veröffentlichung der Ergebnisse

Wie oben beschrieben, sahen wir zunächst den größten Handlungsbedarf bei der Empfehlung zum Thema Stillen und Hepatitis C. Dies wurde verursacht von einer Veröffentlichung der Nationalen Stillkommission („Hepatitis C und Stillen“,

Bundesgesundheitsblatt 45, 1013-1014, 2002). Basierend auf einer spanischen Studie („Follow-up of transmission of hepatitis C to babies of human immunodeficiency virus-negative women: the role of breast-feeding in transmission“, Ruiz-Extremera et al., *Pediatr. Inf. Dis. J.* 19: 511-516), in der in 20% der untersuchten Milchproben HCV-RNA nachgewiesen wurde, riet die Kommission vom Stillen ab. Auffallend in der zitierten Studie ist, dass in 7 von 8 Fällen eine „transitorische Virämie“ beschrieben wurde bei Kindern, die z.T. bereits die mütterlichen Antikörper verloren hatten. Hier zeigt sich somit deutlich die Problematik falsch positiver PCR-Befunde. Durch unsere umfangreiche Untersuchung von zum Zeitpunkt der Publikation 165 Muttermilchproben konnten wir diese Empfehlung korrigieren (s. Punkt II.2).

Außerdem brachten wir einen zweiteiligen Artikel für die Zeitschrift GYN Praktische Gynäkologie heraus, der die Beratung und Betreuung HCV-positiver Frauen vor, während und nach der Schwangerschaft erleichtert („Leitfaden zur Beratung HCV-infizierter Frauen: Teil 1 – bei bestehendem Kinderwunsch oder bereits eingetretener Schwangerschaft“, geplante Veröffentlichung: gyn 10 Heft 1, Februar 2005; „Leitfaden zur Beratung HCV-infizierter Frauen: Teil 2 – Empfehlungen zum Entbindungsmodus, Stillen sowie Nachuntersuchung der Kinder“, geplante Veröffentlichung gyn 10 Heft 2, 2005). Zum Abschluss der Studie planen wir, eine ähnliche zusammenfassende Empfehlung für ein internationales gynäkologisches bzw. geburtshilfliches Journal. Mit diesen Leitfäden wollen wir den niedergelassenen Ärzten bei der Beratung behilflich sein; aus den telefonischen Anfragen, die wir bekommen, können wir ersehen, dass gerade bei der Hepatitis C für die Kollegen noch großer Fortbildungsbedarf besteht.