

Klinik für Kinderkardiologie und angeborene Herzfehler der Technischen
Universität München, Deutsches Herzzentrum München
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. J. Hess, Ph.D.)

Prävalenz, Risikofaktoren und Verlauf einer Hepatitis C Infektion nach
Herzoperation im Kindesalter vor Einführung des Blutspender-
Screenings – Eine Studie an 458 Patienten

Christiane Landgrebe, geb. Klingler

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen
Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Medizin
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. J. Hess, Ph.D.
2. apl. Prof. Dr. Dr. L. Lehr

Die Dissertation wurde am 20.04.2004 bei der Technischen Universität
München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 29.09.2004
angenommen.

Inhaltsverzeichnis:

	Seite
1. Einleitung	
1.1. Epidemiologie.....	4
1.2. Übertragungswege.....	5
1.3. Geschichte der Entdeckung des Hepatitis C Virus.....	8
1.4. Hepatitis C Virus.....	11
1.5. Fragestellung.....	13
2. Material und Methode	
2.1. Studienkollektiv.....	15
2.2. Methoden.....	16
2.3. Statistik.....	17
3. Ergebnisse	
3.1. Charakteristika des Studienkollektivs.....	18
3.2. Präoperative Diagnosen.....	21
3.3. Serologische Parameter des Studienkollektivs	
3.3.1. Leberwerte vor der ersten Operation.....	22
3.3.2. Leberwerte nach der ersten Operation.....	24
3.3.3. Vergleich der Transaminasen vor und nach der ersten Operation.....	26
3.3.4. Leberwerte beim Follow-up.....	26
3.4. Erhaltene Blutprodukte.....	27
3.5. Anti-HCV-Antikörperuntersuchung.....	28
3.6. Anti-HCV-Antikörperuntersuchung in der Kontrollgruppe.....	29
3.7. Vergleichsuntersuchungen zwischen anti-HCV-pos. und anti-HCV-neg. Patienten	
3.7.1. Charakteristika der anti-HCV-positiven und –negativen Patienten.....	29
3.7.2. Operations-Anzahl.....	30
3.7.3. Blutprodukte.....	32
3.7.4. Leberwerte bei Follow-up.....	35
3.7.5. Vergleich der Transaminasen vor und nach der ersten OP und bei Follow-up.....	36
3.7.6. Multivarianzanalyse der Risikofaktoren.....	38

3.8. Virologische Untersuchungen der anti-HCV-positiven Patienten	
3.8.1. Western-Blot-Untersuchung.....	39
3.8.2. Virus-RNA-Nachweis.....	40
3.8.3. Vergleich Nachweis von Western-Blot-Banden und RNA.....	41
3.8.4. Virus-RNA-Quantifizierung.....	41
3.8.5. Virus-Genotypisierung.....	42
3.8.6. Vergleich der Virusload mit dem Genotyp.....	43
3.9. Hepatitis B Antikörper-Status.....	44
4. Diskussion.....	45
5. Zusammenfassung.....	52
6. Literaturverzeichnis.....	53
7. Danksagung.....	61

1. Einleitung

1.1. Epidemiologie

Ungefähr 150 Millionen Menschen sind weltweit chronisch mit dem Hepatitis C Virus (HCV) infiziert (Consensus Statement, Journal of Hepatology, 1999). Davon leben etwa 4 Millionen in den USA und 5 Millionen in Westeuropa. Die globale Prävalenz wird somit auf durchschnittlich 3% der Bevölkerung geschätzt. Sie wechselt zwischen verschiedenen Regionen; nach einer Veröffentlichung der WHO von 1999 beträgt die Prävalenz der Hepatitis C Infektion unter 1% in Ländern wie Canada und Australien und über 10% in Ländern wie Ägypten. Die Prävalenz in der deutschen Bevölkerung betrug 1999 nach einer Untersuchung von Palitzsch et al. 0,63%. In der industrialisierten Welt ist die Hepatitis C für 20% der Fälle mit akuter Hepatitis, 70% der Fälle mit chronischer Hepatitis, 40% der Fälle mit Leberzirrhose und 60% der Fälle eines hepatocellulären Carcinoms (HCC) verantwortlich (Consensus Statement, Journal of Hepatology, 1999). Etwa ein Drittel der Patienten, die in den USA derzeit auf eine Lebertransplantation warten, haben Hepatitis C (Kim, 2002).

Die Hepatitis C ist eine langsam progressive Erkrankung. Bei einer amerikanischen Untersuchung (Tong et al., 1995) zeigte sich bei einem durchschnittlichen Abstand von 35 Jahren nach Bluttransfusion bei 20,6% der Patienten mit serologisch nachgewiesener Hepatitis C Infektion eine chronische Hepatitis, bei 22,9% eine chronisch aktive Hepatitis, bei 51,1% eine Leberzirrhose und bei 5,3% bereits ein hepatocelluläres Carcinom.

Die Prävalenz von Hepatitis C Antikörpern bei Kindern aus der Normalbevölkerung zeigte sich bei einer in Italien durchgeführten Untersuchung abhängig vom Lebensalter. So fand man im Alter bis zu 6 Jahren eine Prävalenz von 0%, die in der Altersgruppe der 17-19-jährigen bis auf 0,8% anstieg (Romano et al., 1994).

Die Inzidenz neuer symptomatischer Hepatitis C Infektionen kann wegen des Fehlens repräsentativer Daten nur geschätzt werden. In Deutschland geht man von 5100 Neuinfektionen pro Jahr aus (Gürtler, 2002). Die Inzidenz nimmt jedoch ab, da das Risiko der transfusionsbedingten Übertragung durch Blut und Blutprodukten seit Einführung des gesetzlich vorgeschriebenen Blutspende-Screenings (in Deutschland im Juli 1992) von 0,45% auf 0,001% pro übertragene Bluteinheit gesunken ist (Schreiber et al., 1996). Ferner hat die Beachtung allgemeiner Vorsichtsmaßnahmen

zur Verbreitung von Krankheitserregern im Gesundheitswesen auch zum Rückgang der Hepatitis C als Berufskrankheit geführt. In der erwachsenen Bevölkerung bleibt der intravenöse Drogenabusus in der jetzigen Zeit der Hauptübertragungsweg. Auch in dieser Gruppe ist die Übertragung von Hepatitis C abnehmend, nicht zuletzt auf Grund der Kenntnis des Übertragungsweges durch infizierte Nadeln.

1.2. Übertragungswege

Der Hauptübertragungsweg des Hepatitis C Virus ist percutan durch Blutprodukte, Spenderorgane oder i.v.-Drogenabusus. Daneben ist auch eine perinatale, eine intrafamiliäre, eine sexuelle und eine berufliche Übertragung im medizinischen Bereich beschrieben (Alter, 1995).

Die Übertragung durch Blut und Blutprodukte stellte bis zur Einführung genereller Screening-Tests den größten Risikofaktor dar. HCV konnte in mehr als 85% der Posttransfusionshepatitisfälle nachgewiesen werden. Unterstützt wird diese Aussage auch durch die Beobachtung, dass 37 - 58% von Patienten mit chronischer Hepatitis C, vor allem jene die älter als 50 Jahre sind, eine Bluttransfusion vor 1990 angeben (Sanchez-Tapias et al., 1990). Seit dieser Zeit ist das Risiko einer Posttransfusionshepatitis drastisch gesunken.

Eine besondere Risikogruppe stellen die Patienten mit chronisch transfusionsabhängigen hämolytischen Störungen wie Thalassämie oder Hämophilie dar. Die Prävalenz von HCV bei Hämophilie-Patienten liegt zwischen 46 und 90% (Makris et al., 1990). Diese hohe Rate ergibt sich aus der Tatsache, daß die von diesen Patienten benötigten Gerinnungsfaktoren aus einem Plasmapool von mehreren hundert Spendern gewonnen werden. Eine ähnliche Prävalenz von 55 bis 83% zeigt sich auch bei Thalassämie-Patienten (Nowicki et al., 1995).

Kommerziell erhältliche Immunglobulinprodukte müssen eine spezielle Inaktivierungsprozedur durchlaufen, sodass das Risiko einer Virusübertragung durch diese Substitutionsbehandlung gegen null geht. Trotzdem beschreibt Bresee et al. 1996 das Auftreten von Hepatitis C Infektionen nach intravenöser Immunglobulingabe. Dabei handelte es sich um eine einzige kontaminierte Produktserie, die im anti-HCV-Assay der 2. Generation negativ war, bei der sich aber retrospektiv HCV-RNA nachweisen ließ.

Ein weiteres Risikokollektiv stellen die Dialysepatienten dar, möglicherweise unabhängig von eventuellen Bluttransfusionen. Das jährliche Risiko einer akuten Hepatitis C Infektion beträgt etwa 0,15% bei Hämodialyse und etwa 0,03% bei peritonealer Dialyse (Fabrizi et al., 1994). Davon entwickelt ein großer Teil (70 - 90%) eine chronische Infektion. Unter den Langzeit-Dialysepatienten findet sich eine Prävalenz der chronischen Hepatitis C von 6 - 38% (Seelig et al., 1994).

Die Organtransplantation stellt einen zusätzlichen, zahlenmäßig sehr viel geringeren, wenn auch in seinem Ausmaß kontrovers diskutierten, Übertragungsweg dar. In einer amerikanischen Studie konnte eine anti-HCV-Prävalenz bei 4,2% der Organspender nachgewiesen werden, 2,4% waren HCV-RNA positiv (Perreira et al., 1994). Die Angaben darüber wie viele Organempfänger dadurch infiziert wurden gehen deutlich auseinander. Perreira et al. berichtet über eine Übertragungsrate von Hepatitis C von infizierten Spendern auf die Empfänger von 75% (Perreira et al., 1991), wo hingegen Roth et al. 1994 nur eine Rate von 29 % finden konnte.

Die Subgruppe der Knochenmarktransplantierten konnte als spezielles Risikokollektiv identifiziert werden. Bei einer großen europäischen Studie findet sich eine anti-HCV-Prävalenz von 14% vor Einführung eines Screenings, 4% nach Einführung einer Testung auf Surrogatmarker (z. B. erhöhte Leberenzyme) und nur noch 1,6% seit der Durchführung von anti-HCV Tests (Norol et al., 1994).

Der Hauptrisikofaktor einer Hepatitis C Infektion in den letzten 10 Jahre ist der intravenöse Drogenkonsum (Alter et al., 1997). 50 - 80% der Konsumenten werden anti-HCV positiv 12 Monaten nach der ersten Injektion (Garfein et al., 1996), nach 8 Jahren sind es 100% (Bell et al., 1990).

Die sexuelle Übertragung von Hepatitis C ist auch beschrieben. Das Risiko ist hierbei allerdings im Vergleich zum percutanen Übertragungsweg deutlich geringer als beispielsweise bei Hepatitis B (Prävalenz von 53 - 81%) oder HIV (30 - 96%). In Abhängigkeit vom sexuellen Verhalten bei langjährig monogamen Paaren findet man ein Risiko der HCV-Übertragung zwischen 0,0% und 0,6% pro Jahr im Gegensatz zu Personen mit multiplen Partnern oder anderen Risikofaktoren für sexuell übertragbare Krankheiten, die ein jährliches Übertragungsrisiko von 0,4% bis 1,8% haben (Terrault, 2002).

Die perinatale Übertragung von HCV-RNA von der Mutter auf das Kind ist abhängig von der Höhe der mütterlichen Virämie (Ohto et al., 1994), wobei bei durchschnittlich 5% der Kinder persistent anti-HCV nachgewiesen werden kann. Bei Müttern, die

HCV-Antikörper positiv sind, aber HCV-RNA negativ, wurde keine Übertragung auf das Kind beschrieben. Die perinatale Transmissionsrate steigt allerdings auf etwa 14% bei Co-Infektion der Mutter mit HIV (Mast et al., 1997). Stillen stellt kein wesentliches Risiko der Übertragung von Hepatitis C auf das Kind dar, sofern keine zusätzlichen Risiken wie Verletzungen der Brustwarzen vorliegen (Roberts et al., 2002).

Auch eine intrafamiliäre Ausbreitung von Hepatitis C ist beschrieben. In der Literatur finden sich Übertragungsraten von 0 - 6,8% bei einer japanischen Studie (Nishiguchi et al., 1992), wobei die Prävalenz bei den Kindern niedriger ist als bei den Partnern.

Personen mit beruflicher Exposition, vor allem im medizinischen Bereich, haben ein etwas erhöhtes Risiko einer Hepatitis C Infektion verglichen mit der Normalbevölkerung (Alter et al., 1990). Man findet Seroprävalenzraten bei medizinischem Personal zwischen 0,6% und 4,5%. Klein et al. zeigt, daß eine HCV-Prävalenz bei Zahnärzten von 1,75% vorliegt, bei ihren Patienten dagegen von 0,14%. Das höchste Risiko scheint bei den Mund-Kiefer-Gesichtschirurgen vorzuliegen, wo eine anti-HCV-Prävalenz von 9,3% nachgewiesen werden konnte.

Die Serokonversionsrate nach einer einzigen Nadelstichverletzung mit einer Nadel, die mit anti-HCV-positivem Blut kontaminiert war, liegt bei 1,8% (Alter et al., 1997). Bei einer italienischen Multicenter Studie unter Chirurgen fand sich derzeit ein Lebenszeitrisiko für eine Infektion mit HBV, HCV und HIV von 42,7%, 34,8%, und 0,54%. Bei Anwendung von Vorsorgemaßnahmen ließ sich das erwartete Risiko für eine HBV-Infektion auf 21%, für eine HCV-Infektion auf 16,6% und für eine HIV-Infektion auf 0,23% reduzieren (Pietrabissa et al., 1997).

Bei bis zu 40% der Patienten mit akuter Hepatitis C findet man immer noch keinen identifizierbaren Infektionsweg. Diese Fälle werden "sporadisch" genannt. Man kann aber davon ausgehen, das zumindest bei einem Teil dieser Fälle eine unbewußte oder nicht mehr erinnerliche percutane Übertragung stattgefunden hat. Auch kosmetische Techniken, wie Piercing und Tattoos müssen als Übertragungswege in Erwägung gezogen werden.

1.3. Geschichte der Entdeckung des Hepatitis C Virus

Die Entdeckung des Hepatitis C Virus ist eng verknüpft mit der Geschichte der Posttransfusionshepatitis. Die ersten Fälle von Posttransfusionshepatitis wurden 1943 aus den USA berichtet. Dabei wurde das Auftreten von sieben Krankheitsfällen ein bis vier Monate nach der Übertragung von Blut oder Plasma beschrieben (Beeson et al., 1943). Der Autor brachte diese Fälle mit der steigenden Anzahl an Bluttransfusionen in 40er Jahren des letzten Jahrhunderts während des zweiten Weltkriegs in Zusammenhang. In den folgenden Jahrzehnte stellten mehrere Studien fest, dass das Auftreten einer Posttransfusionshepatitis sich bei Empfängern von kommerziell gewonnenem Blut und bei Blut von freiwilligen Spendern unterschied. So zeigten Walsh et al. 1970 eine Inzidenz von Posttransfusionshepatitis nach Herzoperation bei kommerziell gewonnenem Blut von 51%, während kein Hepatitisfall in der anderen Gruppe auftrat. Diese Ergebnisse führten zu einem Verbot der Bezahlung von Blutspendern, um keinen Anreiz für Risikogruppen wie beispielsweise Drogenabhängigen zu bieten.

Parallel dazu wurde schon längere Zeit eine virale Genese der Posttransfusionshepatitis vermutet. 1965 beschrieb Blumberg et al. erstmals das Australia Antigen, das dem Hepatitis B Oberflächenantigen (HBsAg) entspricht. Es wurde aus dem Serum von Haemophiliepatienten isoliert, die multiple Bluttransfusionen erhalten hatten. Eine prospektive Studie von Alter et al. 1972 konnte die Effektivität des Ausschlusses von HbsAg-positiven und bezahlten Blutspendern auf die Inzidenz der Posttransfusionshepatitis zeigen und sie auf 7,1% der ursprünglichen Inzidenz senken.

1973 wurde das Hepatitis A Virus (HAV) als Erreger der akuten enteral übertragenen Hepatitis identifiziert. Dieses Virus wurde als Picornavirus klassifiziert, mit enger Verwandtschaft zu den Enteroviren. Klinisch ist eine Infektion mit HAV durch eine akute Hepatitis ohne Chronifizierung gekennzeichnet. Verschiedene retrospektive Studien konnten auch zeigen, dass es keinen Zusammenhang zwischen Posttransfusionshepatitiden und einer Hepatitis A Infektion gibt (Stevens et al., 1978 und Dienstag et al., 1977). Trotz dieser Erkenntnis und der Einführung von spezifischen Screeningtests für HBV konnte weiterhin die Ursache von 90% aller Posttransfusionshepatitiden nicht identifiziert werden. Stattdessen bezeichnete man diese Gruppe als Non-A-non-B-Hepatitis (NANBH). In den späten 70er und frühen

80er Jahren des letzten Jahrhunderts wurde in den USA die Prävalenz der NANBH bei polytransfunden Patienten mit 10% angegeben.

In zwei 1981 publizierten Studien (Aach et al. und Alter et al., 1981) konnte der Zusammenhang zwischen erhöhten Transaminasen-Werten im Spenderblut und dem Auftreten von NANBH beim Empfänger nachgewiesen werden. Wenige Jahre später wurde auch der Einfluß der Übertragung von anti-HBc positivem Blut auf die Entwicklung einer Non-A-non-B-Hepatitis des Empfängers beobachtet (Stevens et al., 1984). So gelang es durch Testung der Blutspender auf anti-HBc und Bestimmung ihrer Transaminasen-Werte die Rate der Posttransfusionshepatitiden nach Blutübertragungen allmählich auf 2 - 3% zu senken.

Trotz intensiver Bemühungen konnte bis dato das ätiologische Agens der NANBH nicht identifiziert werden. Erst 1988 konnte ein Erreger gefunden werden (Choo et al., 1989), der nach ersten Studien für mindestens 80 - 90% dieser Fälle verantwortlich war: das Hepatitis C Virus (Alter, 1995). Mittels molekularbiologischer Techniken gelang es das Virus aus dem Blut eines Schimpansen zu isolieren, der mit dem Plasma eines chronischen Posttransfusionshepatitispatienten infiziert war (Ezzell, 1988).

Das war der Durchbruch im Kampf gegen diese Erkrankung. Innerhalb eines Jahres gelang es das ganze virale Genom des Hepatitis C Erregers zu sequenzieren und Antigene zu exprimieren. Auf dieser Grundlage wurde 1990 der Antikörpersuchtest der ersten Generation zugelassen, der anti-HCV Enzym-Immunoassay (HCV 1.0 EIA). Dieser Test identifizierte Antikörper gegen nur ein antigenes Protein (c100-3) des Hepatitis C Virus und hatte ein diagnostisches Fenster nach Infektion von 12 bis mehr als 26 Wochen. Der folgende Test der zweiten Generation (HCV 2.0 EIA), der 1992 zugelassen wurde, konnte noch zwei zusätzliche Proteine nachweisen. Dabei handelt es sich um ein Struktur- (c22-3) und ein Nicht-Strukturprotein (c33c). Dieser Test ist wesentlich sensitiver als der HCV 1.0 EIA bei annähernd gleicher Spezifität. In einer Parallelstudie bei Blutspendern, die beide Test verglich, entdeckte der EIA-2 zusätzlich 1 von 1000 EIA-1 negativen Spendern, die mit HCV infiziert waren, wie sich durch die PCR bestätigte (Kleinmann et al., 1992).

1996 kam der HCV Screeningtest der dritten Generation auf den Markt, der auch Antikörper gegen die NS5-Region identifizieren kann. Im Vergleich zum Zweitgenerationstest ist das Serokonversionsfenster um 10 Tage verkürzt. In einer Meta-Analyse fand sich eine Sensitivität des EIA-3 bei Patienten mit chronischer

Lebererkrankung von 98,9% und bei Reihenuntersuchungen von 97,2%. Die Spezifität des EIA-3 lag bei Patienten mit chronischer Lebererkrankung bei 100% (Colin et al., 2001).

Eine chronologische Übersicht über die Abnahme der Inzidenz der Posttransfusionshepatitis ist in Abbildung 1 dargestellt.

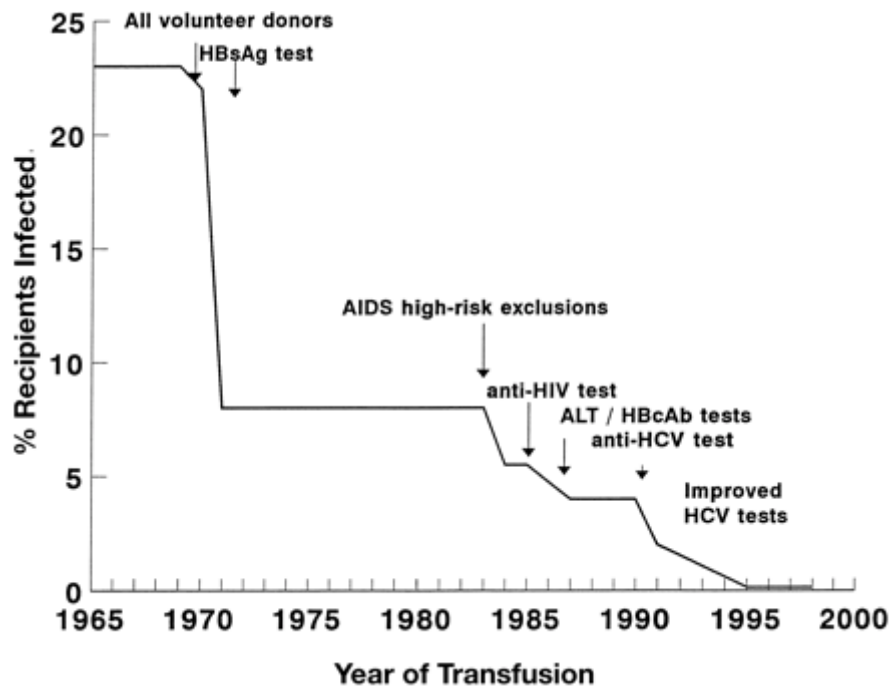


Abbildung 1: Zeitachse der Abnahme der Inzidenz der Posttransfusionshepatitis abhängig von den durchgeführten Screening-Tests (aus Tobler und Busch, 1997)

Die in der Grafik dargestellten Daten beziehen sich auf die gesetzlichen Vorschriften zur Testung von Blutspendern in den USA. Die entsprechenden Daten für die Testung der Blutspender in Deutschland durch das Bayerische Rote Kreuz (BRK) sind in der folgenden Tabelle (Tabelle 1) dargestellt.

Seit 1968	HBs-Ag-Test
Seit 1985	HIV-I-Ak-Test
Seit 1989	HIV-II-Ak-Test
Seit 1989	anti-HBc-Test
Seit 1990	anti-HCV-Test

Tabelle 1: Übersicht über die Einführung der entsprechenden Blutspende-Screenings beim BRK in Deutschland

1.4. Hepatitis C Virus

Das Hepatitis C Virus ist ein RNA Virus der Flavivirus-Familie, zu der auch andere humanpathogene Viren, wie die Verursacher des Denguefiebers und des Gelbfiebers gehören (Di Bisceglie et al., 1998). Die genauere Untersuchung des Hepatitis C Virus wurde in der Vergangenheit dadurch erschwert, dass kein Zellkultursystem zur Verfügung stand und man sich auf experimentelle Infektionsstudien an Primaten, wie z. B. Schimpansen, beschränken mußte. Natürlicherweise infiziert das HCV-Virus nur den Menschen und dabei nicht nur Hepatozyten, sondern es kann auch in Zellen des hämatopoetischen Systems nachgewiesen werden. Das Virus vermehrt sich vor allem im Zytoplasma der infizierten Zelle, wobei der Mechanismus der Virusaufnahme bzw. der Zellinfektion noch nicht bekannt ist. Dagegen ist das Genom des Hepatitis C Virus relativ gut bekannt. Erstmals wurde die fast komplette Sequenz 1991 von Choo et al. veröffentlicht. Die Beschreibung eines vollständigen Klons von HCV cDNA, die von der infektiösen RNA transkribiert wurde, stellte dabei einen großen Fortschritt dar (Kolykhalov et al., 1997).

Die Einzelstrang-RNA des HCV-Virus hat eine Länge von ungefähr 10 000 Nukleotiden und einen offenen Leserahmen, der für ein Polyprotein von etwa 3010 Aminosäuren codiert. Durch eine viruscodierte Protease wird dieses in Strukturproteine (5'-Ende) und Nichtstrukturproteine (3'-Ende) gespalten. (siehe Abbildung 2)

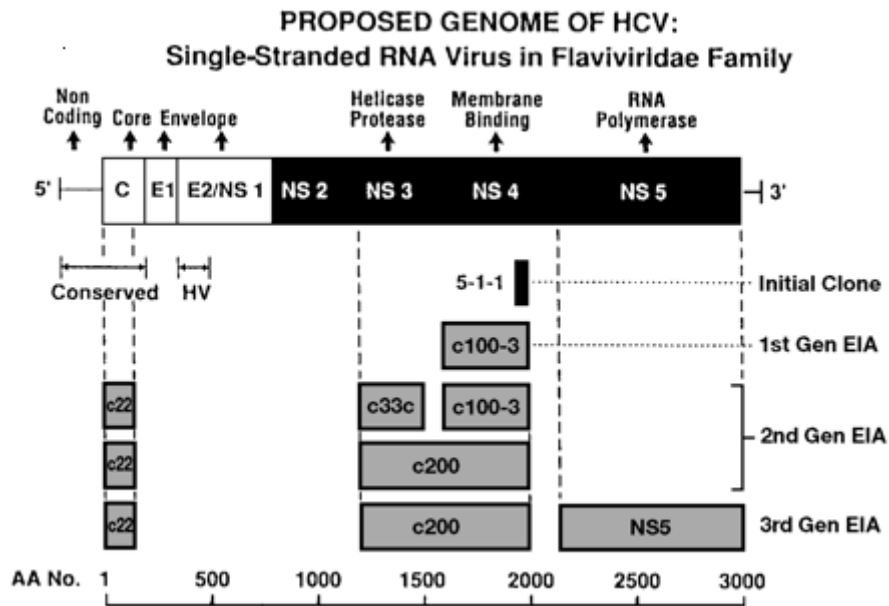


Abbildung 2: skizzierte Darstellung des Genoms des Hepatitis C Virus (aus Tobler und Busch, 1997)

Das erste Strukturprotein ist ein RNA-bindendes Nukleocapsid (= Capsidprotein) mit einer stabilen Sequenz. Die folgenden Hüllproteine E1 und E2 zeigen am aminoterminalen Ende von E2 zwei Regionen mit signifikanten Variationen in der Aminosäuresequenz. Diese Bereiche werden als hypervariable Regionen (HVR1 und HVR2) bezeichnet und zeigen Unterschiede bei den verschiedenen Genotypen. Selbst in einem Wirtsorganismus können Sequenzen mit Unterschieden in dieser Region nebeneinander gefunden werden. Dies wird als Quasispecies bezeichnet. Es wird vermutet, dass dieser Bereich unter dem Einfluss des Immunsystems schnell mutiert, um dessen Angriff zu entkommen.

Daran schließt sich die Sequenz an, die für die sechs Nicht-Strukturproteine codiert. Diese sind wichtig für die Virusreplikation und beinhalten eine virale Protease, eine Helicase und eine RNA-abhängige RNA-Polymerase. Es gibt neuerdings Hinweise darauf, daß NS5A eine Interferon-Sensitivität determinierende Region darstellt.

Am 5'-Ende des HCV-Genom befindet sich eine etwa 341 Basenpaar lange nicht übersetzte Region, die bei den einzelnen Isolaten eine große Ähnlichkeit in der Nukleotidsequenz aufweist und somit ein ideales Ziel für diagnostische Tests darstellt. (Di Bisceglie, 1998).

Das HCV-Virus zeigt eine beachtliche Heterogenität. Dabei lassen sich bisher durch Sequenzanalysen mindestens sechs verschiedene Genotypen unterscheiden mit Sequenzhomologien von etwa 65%. Innerhalb eines Genotyps können mehrere Subtypen unterschieden werden, die eine Sequenzhomologie zwischen 70% und 85% aufweisen (Simmonds, 1995). Simmonds et al. haben 1994 eine allgemein anerkannte Nomenklatur erstellt, welche die Genotypen durch eine Zahl kennzeichnet und die jeweiligen Subtypen durch einen folgenden Kleinbuchstaben. Verschiedene Isolate, die dem selben Genotyp und Subtyp angehören zeigen eine Sequenzhomologie von 88 - 100%, dabei sind die Regionen E1, NS4 oder NS5 am besten konserviert (Bukh et al., 1995).

Die jeweiligen Genotypen haben eine unterschiedliche regionale Verteilung, so kommen die Genotypen 1 bis 3 weltweit vor, Genotyp 4 und 5 ist vorwiegend in Afrika zu finden ist und Genotyp 6 in Asien (WHO, 1999). Wichtig ist die Identifizierung des Genotyps auch für die Therapie, denn die Ansprechrate auf eine Therapie ist abhängig von dem jeweiligen Genotyp (Consensus Statement 1999).

1.5. Fragestellung

Aufgrund der strikt parenteralen Übertragung von Hepatitis C müssen alle Empfänger von Blut oder Blutbestandteilen vor der Einführung des gesetzlichen Blutspender-Screenings 1992 in Deutschland als möglicherweise infiziert angesehen werden. Neben den bekannten medizinischen Risikogruppen, wie Patienten mit hämolytischen Erkrankungen, Dialysepatienten, Patienten mit Gerinnungsstörungen, müssen auch jene Patienten als potentiell infiziert betrachtet werden, die im Rahmen von Operationen Blutprodukte erhalten haben. Bei erwachsenen Patienten, die diesen Risikogruppen angehören gibt es bereits zahlreiche Untersuchungen und die oben zitierten Daten beziehen sich überwiegend auf Patienten, die im Erwachsenenalter mit Hepatitis C infiziert worden sind. Bisher gibt es aber für Europa und USA keine Daten bei polytransfundierte Patienten nach Herzoperationen im Kindesalter. Da es keine spezifischen Symptome einer chronischen HCV Infektion gibt, profitieren möglicherweise infizierte Patienten in Unkenntnis ihrer Infektion auch nicht von einer Therapie mit Interferon Alpha und/oder Ribavirin.

Ziel dieser Arbeit ist es daher, das Risiko für diese zahlenmäßig nicht geringe Gruppe von Patienten, die heute erwachsen sind, zu definieren und die folgenden Fragen zu klären:

- Wie hoch ist die Prävalenz der Hepatitis C Infektion?
- Welches sind die Risikofaktoren?
- Welche Rolle spielen die verabreichten Blutprodukte?
- Wie sind die serologischen Veränderungen?
- Wie hoch ist der Anteil einer chronischen Hepatitis C Infektion bzw. wie hoch ist der Anteil einer Spontanheilung?
- Wie ist der klinische Verlauf gerade chronisch infizierter Patienten?

Klinisches Ziel der Studie ist auch, chronisch infizierten RNA-positiven Patienten eine spezifische hepatologische Betreuung und möglicherweise auch Therapie anbieten zu können.

2. Material und Methode

2.1. Studienkollektiv

Das Studienkollektiv umfasst 458 Patienten (213 weibliche und 245 männliche) des Deutschen Herzzentrums München mit angeborenen Herzerkrankungen, die hier langjährig in ambulanter bzw. stationärer Behandlung waren bzw. sind. Im Rahmen der jährlichen Routine-Untersuchungen wurden die Patienten von Oktober 1996 bis Dezember 1997 (Zeitpunkt des Follow-up) in diese Untersuchung eingeschlossen.

Eingangskriterien waren mindestens eine Herzoperation bei angeborener Herzerkrankung im Zeitraum von 1970 bis 1990. In Deutschland wurde das Blutspender-Screening auf HCV-Antikörper ab 1992 gesetzlich vorgeschrieben. Das Bayerische Rote Kreuz, von dem die verwendeten Blutprodukte durch das Deutsche Herzzentrum München bezogen werden, führte das HCV-Screening bereits 1990 ein.

Die Operationen erfolgten mit und ohne Zuhilfenahme der Herz-Lungen-Maschine unter Verwendung von Fremdblut und Gabe von verschiedenen Blutbestandteilen einschließlich gepoolter Plasmapräparate. Weitere Fremdblutgaben außerhalb der Herzoperationen, und intravenöser Drogenabusus wurden anamnestisch ausgeschlossen. Anhalt für eine vertikale Mutter-zu-Kind-Übertragung bestand in unserem Kollektiv nicht bzw. konnte serologisch ausgeschlossen werden.

Aus Studienzwecken erfolgte eine Blutentnahme nach Aufklärung und schriftlicher Einverständniserklärung des Patienten / der Patientin bzw. der Erziehungsberechtigten. Die retrospektive Studie ist von der Ethikkommission der Technischen Universität begutachtet und akzeptiert worden. Als Kontrollgruppe wurden 458 irreversibel anonymisierte Serumproben des Max-von-Pettenkofer-Institutes ausgewählt, die nach Alters- und Geschlechtsverteilung dem Studienkollektiv entsprechen. Diese Proben stammen aus dem Großraum München und sind repräsentativ für die „Normalbevölkerung“.

2.2. Methoden

Zur Identifizierung möglicher Risikofaktoren wurden das Alter bei der ersten Operation und bei dem Follow-up, die Anzahl der Operationen, das Geschlecht und Art und Menge der bei den Operationen verabreichten Blutprodukte bei allen Patienten retrospektiv erfasst.

Als Screening-Methode wurde bei allen Patienten und der Kontrollgruppe das Vorhandensein von anti-HCV-Antikörper mittels eines Enzym-Immunoassay der 2. Generation (EIA II der Firma Abbott, Wiesbaden) angewandt. Im positiven Falle erfolgte die Bestätigung mittels eines Western Blot Assay (recomBlot der Firma Microgen, München) im Serum. Zur Abgrenzung gegenüber einer Hepatitis B Infektion wurde auch der anti-HBc-Titer bestimmt. Diese Untersuchungen wurden im hepatologischen Routinelabor des Max-von-Pettenkofer-Institutes durchgeführt.

Bestimmt wurden ferner die Serumspiegel von Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), γ -Glutamyl-Transferase (GGT), Lactat-Dehydrogenase (LDH), Glutamat-Dehydrogenase (GLDH), alkalische Phosphatase (AP) und Gesamtbilirubin (Bili) vor und nach der Herzoperation sowie zum Zeitpunkt der Studien-Blutentnahme, jeweils im Institut für Laboratoriumsmedizin des Deutschen Herzzentrum München.

Darüber hinaus wurde bei allen Studienteilnehmern, die einen positiven anti-HCV-Test hatten, eine Reverse-Transkriptase Polymerase-Kettenreaktion für HCV-RNA durchgeführt, und im positiven Falle auch eine HCV-Genotypisierung und eine Virus-Quantifizierung. Im Max-von-Pettenkofer-Institut wurde für die PCR und die Genotypisierung ein im Hause entwickeltes Verfahren angewandt. Die Quantifizierung erfolgte mittels Amplicor der Firma Roche.

Alle anti-HCV positiven Patienten wurden in der gastroenterologischen Spezialambulanz des Dr. von Hauner'schen Kinderspitals vorgestellt und dort weiter betreut. Bei allen anti-HCV-positiven Patienten, die auch einen positiven Nachweis für HCV-RNA hatte, wurde die PCR-Untersuchung drei Mal jeweils im Abstand von 6 Monaten durchgeführt.

Diese Universitäts-übergreifende Zusammenarbeit ist Teil des Studienkonzeptes und soll die fachkompetente klinische Betreuung anti-HCV positiver Patienten sicherstellen. Dort erfolgte eine umfassende Aufklärung über das Krankheitsbild und

mögliche Auswirkungen der Lebensweise auf die Krankheit (Alkohol, Co-Infektionen mit Hepatitis B / HIV, geschützter Geschlechtsverkehr).

HCV-RNA positiven Patienten wurde eine Leberbiopsie angeboten zur Evaluation der tatsächlichen histomorphologischen Situation. Ein nicht mit der Studie betrauter Pathologe, der keine klinischen Informationen hatte, beurteilte die Proben und teilte sie nach den histologischen Kriterien des Ishak scoring systems ein. Diese histologischen Daten sind Teil einer weiteren Dissertation.

2.3. Statistik

Die Charakteristika der Patientengruppe mit der Vergleichsgruppe wurde mit dem Fischer's-Exact Test verglichen. Im Patientenkollektiv wurden die Gruppe der Anti-HCV positiven Patienten mit der Gruppe der Anti-HCV negativen hinsichtlich folgender Parameter verglichen: Altersverteilung, Operationsanzahl, die Anzahl der erhaltenen Blutprodukte und die biochemischen Parameter. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe des Mann-Whitney-U Test und des Wilcoxon-Rank-Sum-W Test. Das Vorliegen von geschlechtsspezifischen Unterschieden beim anti-HCV Nachweis wurde mittels Fischer's-Exact Test berechnet. Der Kruskal-Wallis Test wurde zur Auswertung der Western Blot und der PCR Ergebnisse herangezogen.

Bei allen statistischen Vergleichen wurde $P < 0,05$ im zweiseitigen Vergleich als statistisch signifikant angesehen. Bei Mittelwerten wird zusätzlich die Standardabweichung (+/-SD) angegeben.

Die Multivarianzanalyse der Risikofaktoren wurde von Frau Dr. R. Busch vom Institut für medizinische Statistik der Technischen Universität München durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1. Charakteristika des Studienkollektivs

In die Studie eingeschlossen wurden 458 Patienten, die alle in der kinder-kardiologischen Ambulanz des Deutschen Herzzentrums München (DHZ) gesehen wurden. Dabei handelte es sich um 211 weibliche und 247 männliche Patienten im Alter von 6 bis 41 Jahren, die im Mittel 17,54 Jahre (+/- 6,3) alt waren bei Einschluss in die Studie (Abbildung 3).

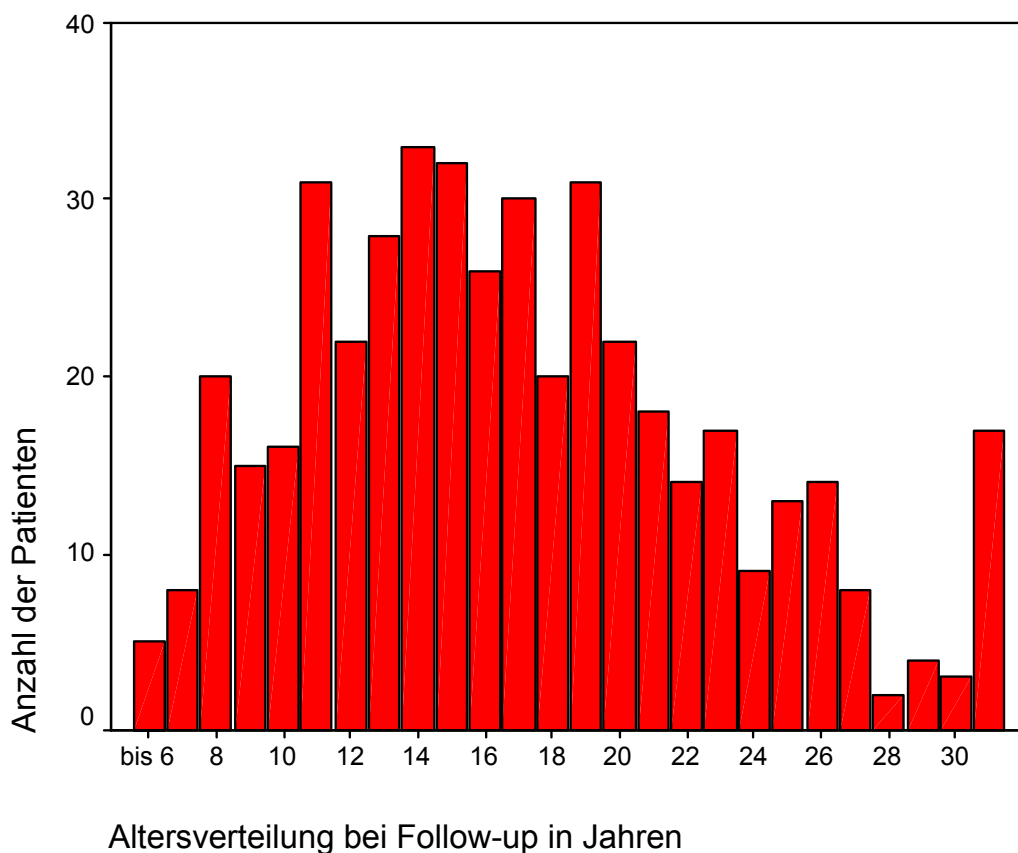


Abbildung 3: Altersverteilung der untersuchten Patienten bei Follow-up (n=458)

Einschlussbedingung für die Patienten in diese Untersuchung war das Vorliegen eines angeborenen Herzvitiums, das durch mindestens eine Operation versorgt worden war. Im Mittel waren es 1,67 Operationen (+/- 0,89) pro Person mit einer maximalen Anzahl von 6 Operationen (Abbildung 4).

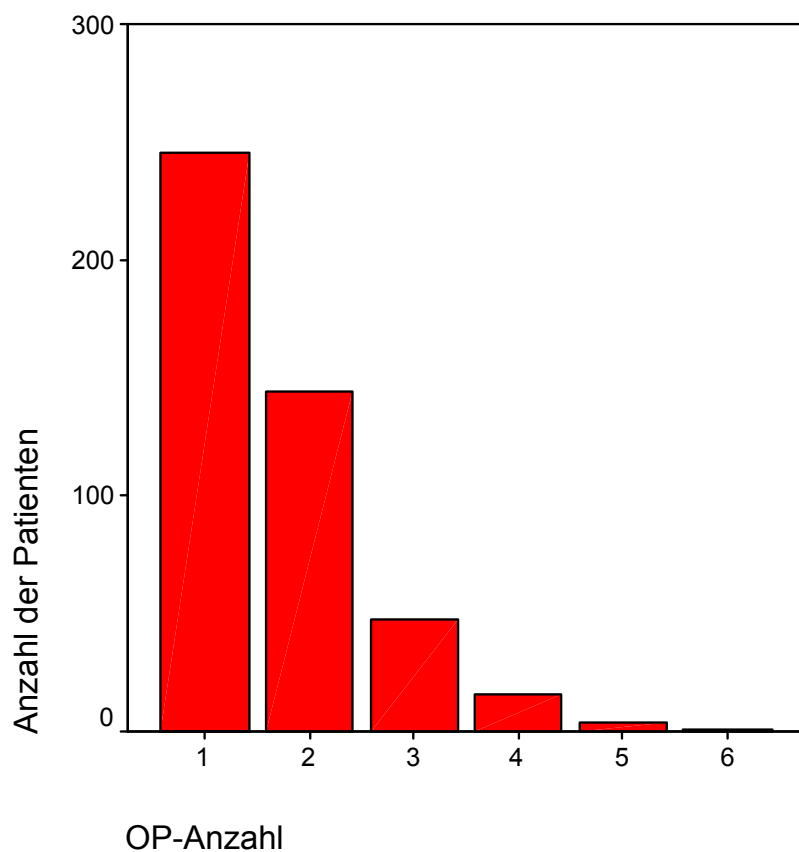


Abbildung 4: Gesamtanzahl der durchgeführten Operationen pro Patient

Das mittlere Alter der Patienten bei der ersten Operation betrug 2,81 Jahre (+/- 4,46) (Abbildung 5) mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 11,09 kg (+/-11,23) (Abbildung 6) und einer durchschnittlichen Körpergröße von 80,57 cm +/- 0,30. Der Beobachtungszeitraum von der ersten Operation bis zur jetzigen Nachuntersuchung betrug durchschnittlich 14,53 Jahren mit einem Minimum von 5,66 Jahren und einem Maximum von 30,9 Jahren.

Die Charakteristika des Studienkollektiv aufgeschlüsselt nach männlichen und weiblichen Patienten ist in Tabelle 2 dargestellt.

	gesamt	männlich	weiblich
Alter bei Erst-OP (in Monaten)	33,7 +/-53,6	33,1 +/-51,3	34,4 +/-56,3
Alter bei Follow-up (in Jahren)	17,5 +/-6,3	17,8 +/-6,4	17,3 +/-6,3
Anzahl der Ops	1,67 +/-0,9	1,61 +/-0,8	1,75 +/-0,9
Gewicht bei Erst-OP (in kg)	11,1 +/-11,2	11,0 +/-10,9	11,2 +/-11,6

Tabelle 2: Zusammenfassung der Charakteristika des Studienkollektivs

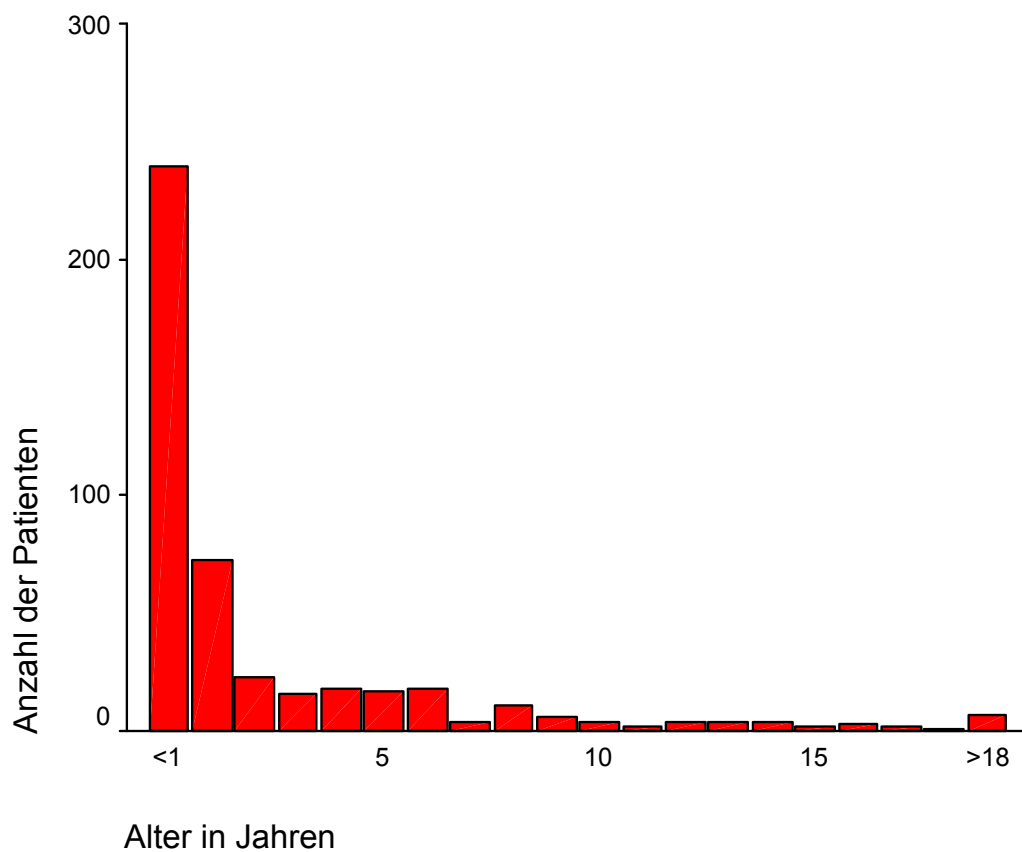


Abbildung 5: Altersverteilung der Patienten bei der ersten Operation (n=458)

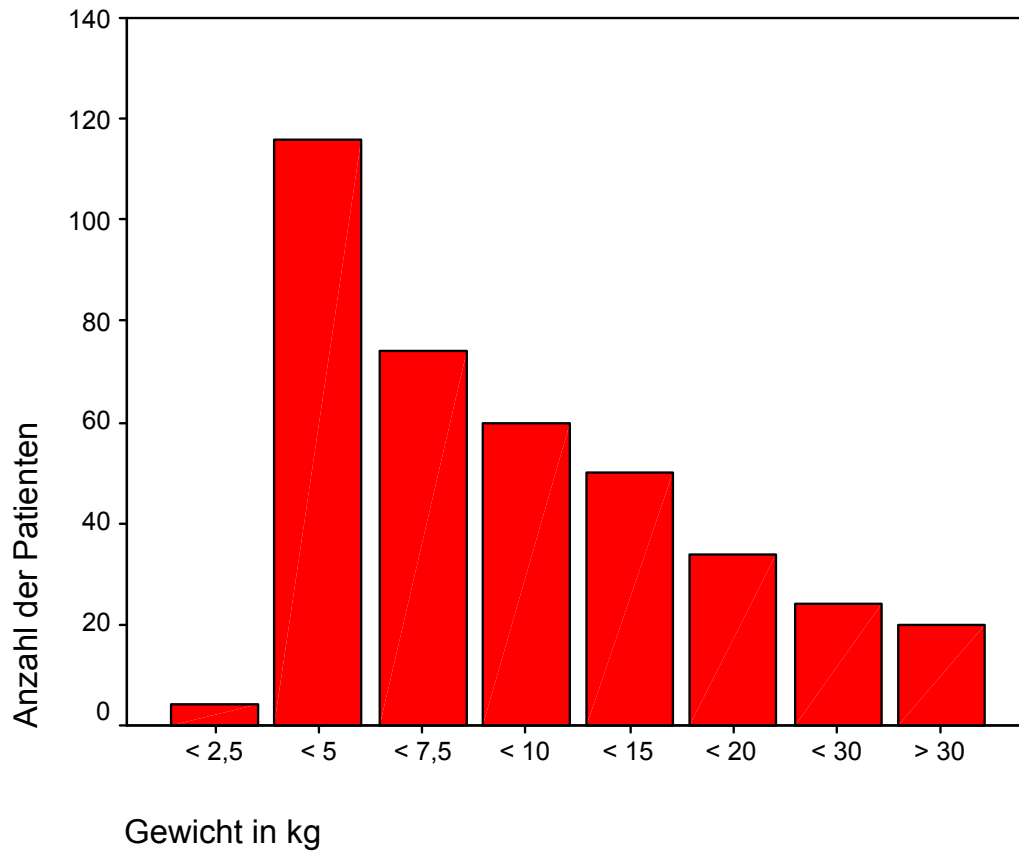


Abbildung 6: Körpergewicht der Patienten bei der ersten Operation (n=458)

3.2. Präoperative Diagnosen

Als Diagnosen, die zu einem operativen Eingriff führten, fanden sich am häufigsten die Transposition der großen Gefäße, der Ventrikelseptumdefekt, der persistierende Ductus arteriosus und die Fallot-Tetralogie (Tabelle 3).

Transposition der grossen Gefässe	32%
Ventrikelseptumdefekt (VSD)	29%
Persistierender Ductus arteriosus	18%
Fallot Tetralogie	18%
Vorhofseptumdefekt	13%
Pulmonalstenose	13%
Trikuspidalatresie	8%
Pulmonalatresie mit VSD	6%
Singulärer Ventrikel	6%
Aortenisthmusstenose	4%
Atrioventrikulärer Septumdefekt	4%

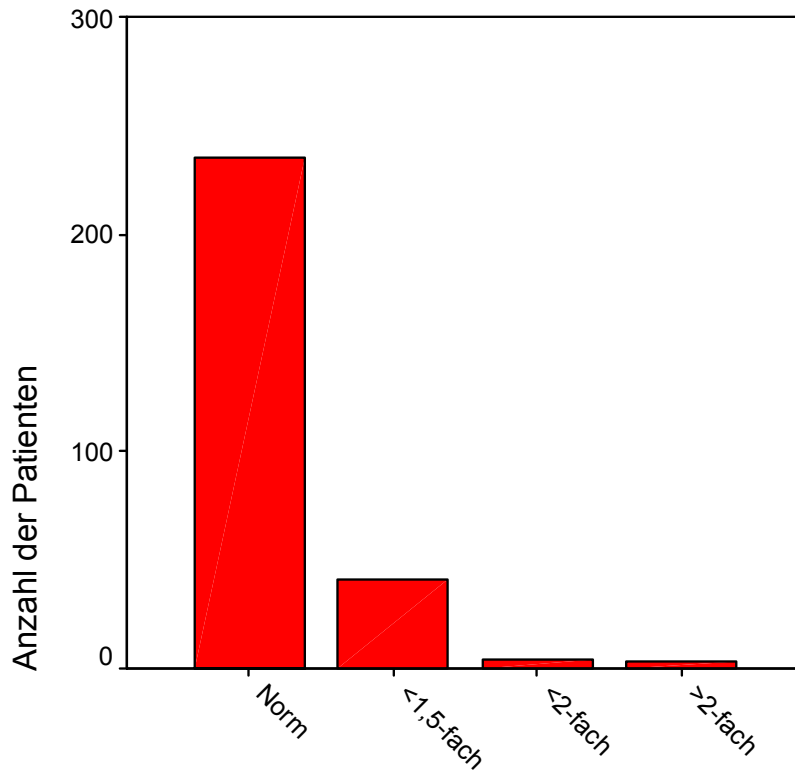
Tabelle 3: Häufigkeiten der präoperativen Diagnosen in %; Nennung mehr als einer Diagnose pro Patient war möglich

3.3. Serologische Parameter des Studienkollektivs

3.3.1. Leberwerte vor der ersten Operation

Vor der ersten Operation wurden bei den Kindern routinemäßig die leberspezifischen Enzyme bestimmt. Es wurden dabei die laborspezifischen Normwerte des Labors für klinische Chemie des Deutschen Herzzentrums je nach Alter und Geschlecht zugrunde gelegt. Dabei lagen die Transaminasen im Mittel im Normbereich. Für GOT ergab sich ein Mittelwert von 18,43 U/l mit einem Minimum von 2 U/l und einem Maximum von 105 U/l. Dieser Maximalwert fand sich bei einem Patienten mit Trisomie 21 mit schwerer Herzinsuffizienz, Hepatosplenomegalie und peripheren Ödemen. Die GPT lag vor Operation im Mittel bei 13,6 U/l, wobei der Höchstwert von 129 U/l wieder bei dem oben beschriebenen Patienten vorlag. Unter Berücksichtigung der Altersabhängigkeit der Grenzwerte für GOT und GPT lagen lediglich je 3 gemessene Werte für GOT und für GPT oberhalb des 2-fachen Normwertes (Abbildung 7).

GOT vor der ersten OP



GPT vor der ersten OP

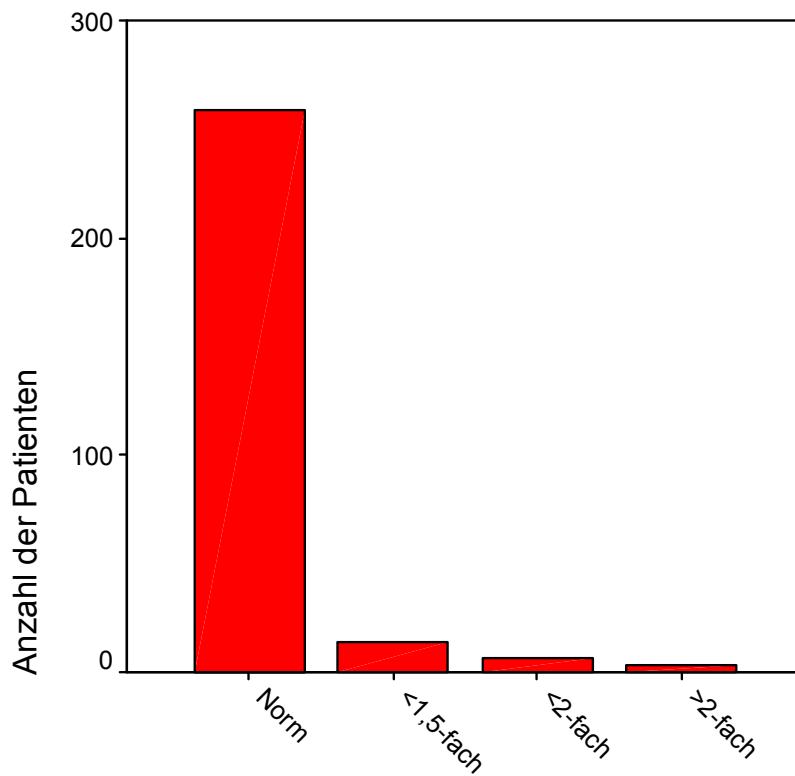
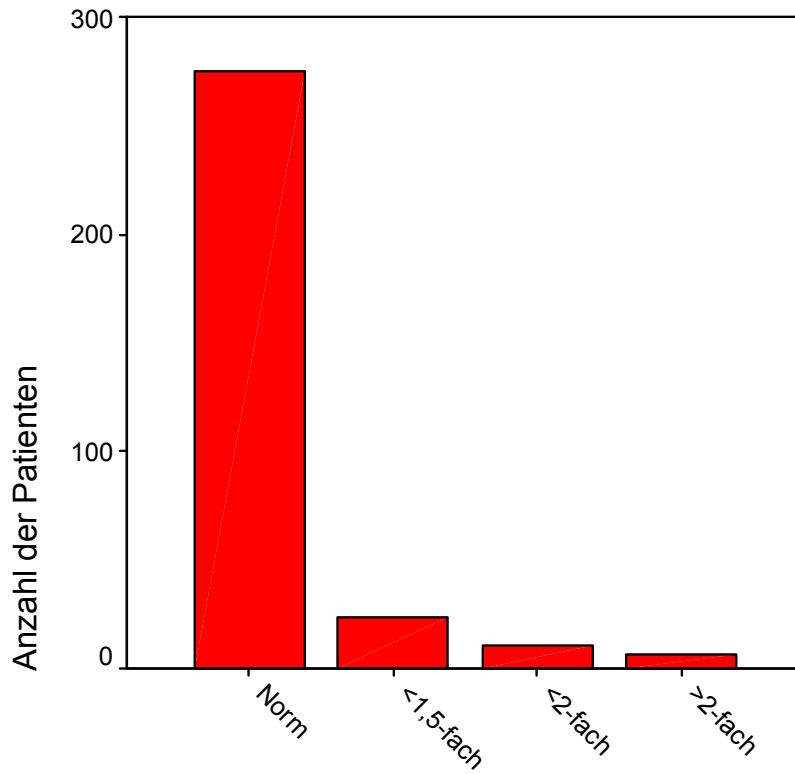


Abbildung 7: Transaminasen (GOT und GPT) vor der ersten Operation

3.3.2. Leberwerte nach der ersten Operation

Bei der überwiegenden Mehrzahl der untersuchten Patienten wurden nach der ersten Herzoperation bzw. am Ende des entsprechenden stationären Aufenthalts erneut die Leberwerte laborchemisch bestimmt. Die untersuchten Werte lagen für GOT zwischen 5 U/l und 376 U/l mit einem Mittelwert von 18,99 U/l. Dieser Wert unterscheidet sich nicht signifikant von dem durchschnittlichen GOT-Wert präoperativ. Es befanden sich dabei 63 von 316 ermittelten Werten (19,9 %) oberhalb des oberen Normwertes. Für GPT lag der postoperative Mittelwert bei 16,52 U/l mit einem Minimum von 2 U/l bis zum Maximum von 357 U/l. Hierbei lagen 45 von 320 gemessenen Werten (14,1 %) über der Norm. Damit liegt der postoperative GPT-Wert signifikant höher als der präoperative ($p = 0,005$), aber im Mittel immer noch im Normbereich. Bei 6 Patienten war der GOT-Wert auf mehr als das 2-fache der Norm erhöht und bei 11 Patienten traf das für den GPT-Wert zu (Abbildung 8).

GOT nach der ersten OP



GPT nach der ersten OP

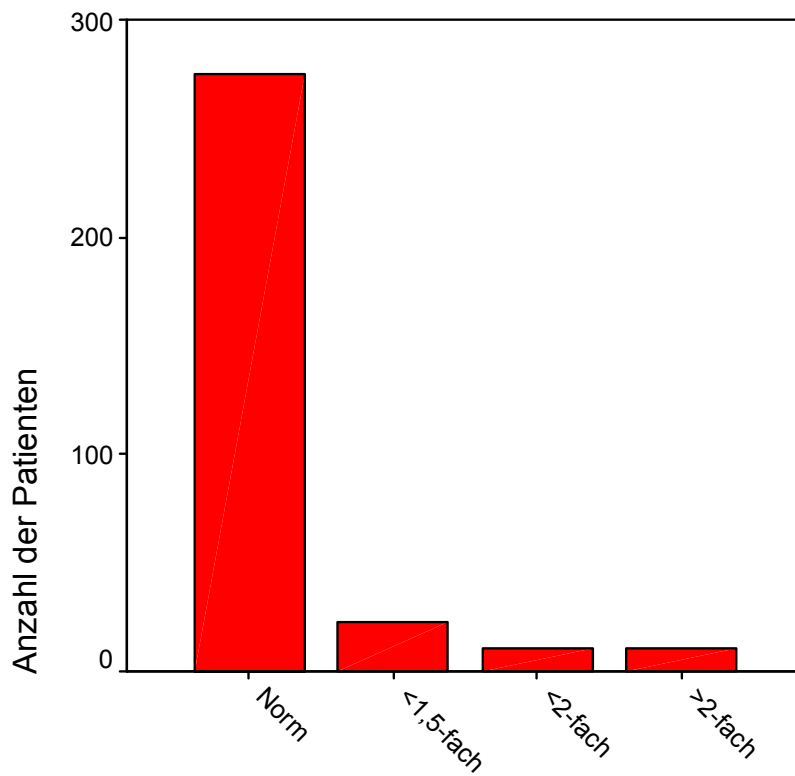


Abbildung 8 : Transaminasen (GOT und GPT) nach der ersten Operation

3.3.3. Vergleich der Transaminasen vor und nach der ersten Operation

Für die meisten Patienten liegen lediglich exakte Werte für die Transaminasen vor und nach der ersten Operation vor. Weitere leberspezifische Laborwerte wie GGT, LDH, GLDH, AP und Bilirubin wurden nicht routinemäßig bestimmt.

Der Mittelwert der Transaminasen im gesamten untersuchten Patientenkollektiv lag vor und nach der Herzoperation im Normbereich, es zeigte sich für GOT auch kein signifikanter Unterschied und nur ein leicht signifikanter Unterschied für GPT.

3.3.4. Leberwerte beim Follow-up

Zum Zeitpunkt des Follow-up konnten von den meisten Patienten, die in dieser Studie eingeschlossen sind, neben den Transaminasen (GOT und GPT) auch GLDH, GGT, AP, LDH und Bili bestimmt werden.

Die Mittelwerte für GOT und GPT lagen dabei im Normbereich (12,6 U/l bzw. 14,13 U/l). Bei einem Patienten waren beide Transaminasen um mehr als das 2-fach der Norm erhöht und bei weiteren 4 Patienten traf dies für den GPT-Wert zu. Für die übrigen bestimmten Laborparameter, abgesehen von GGT, lagen die Mittelwerte ebenfalls im Normbereich. Der GGT-Wert lag im Mittel bei 21,81 U/l und somit etwas über dem oberen Normwert (Tabelle 4).

	Mittelwert	SD	Min/Max
GOT	12,6 U/l	+/-7,94	5 / 146
GPT	14,13 U/l	+/-15,04	1 / 261
gGT	21,82 U/l	+/-24,93	2 / 211
GLDH	2,53 U/l	+/-5,06	0,2 / 90,6
LDH	177,56 U/l	+/-48,96	19 / 510
AP	206,99 U/l	+/-134,88	44 / 749
Bilirubin gesamt	0,77 mg/dl	+/-0,53	0,1 / 5,3

Tabelle 4: Leberwerte bei Follow-up

3.4. Erhaltene Blutprodukte

Von den untersuchten 458 Patienten haben 405 Patienten perioperativ Blutprodukte erhalten. Bei den Blutprodukten handelte es sich im einzelnen um Heparinblut, Warmblut, Frischblut, Vollblut, Frischplasma, Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentrat. Abgesehen von Frischplasma, Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentrat handelt es sich um Blutprodukte, die sowohl die zellulären als auch die Eiweißbestandteile des Blutes enthalten und sich nur durch ihre Lagerungszeit bzw. bei Heparinblut in der Zugabe von Heparin unterscheiden. Bei Warmblut handelt es sich um Blut, das weniger als 24 Stunden alt ist, Frischblut ist bis zu 72 Stunden alt und als Vollblut wird jenes bezeichnet, das älter als 72 Stunden ist. Alle Blutprodukte wurden vom Blutspendedienst des Bayerischen Roten Kreuzes bezogen und entsprechend den Vorgaben dem Blutspende-Screening unterzogen (Tabelle 1).

Das am häufigsten verwendete Blutprodukt war Warmblut, das 255 Patienten erhalten haben. Frischblut wurde 245 Patienten verabreicht. Das nächst häufigere Blutprodukt war Frischplasma, dass an 190 Patienten gegeben wurde. Eine oder mehrere Vollblut-Konserven erhielten 124 Patienten, 93 Patienten erhielten Heparinblut, 55 Patienten erhielten Erythrozytenkonzentrat und lediglich 7 Patienten benötigten Thrombozytenkonzentrat.

Im Mittel erhielt dabei jeder Patient 9,2 Blutprodukte mit einem Minimum von 1 Konserve bis zu einem Maximum von 175 Konserven pro Patient.

Durchschnittlich erhielt ein Patient 1,24 Einheiten Heparinblut, 2,35 Einheiten Warmblut, 2,53 Einheiten Frischblut, 2,31 Einheiten Vollblut, 10,55 Einheiten Frischplasma, 1,4 Einheiten Erythrozytenkonzentrat und 3,14 Einheiten Thrombozytenkonzentrat (Tabelle 5).

	Anzahl Blutprod.	Anzahl Pat.	Blutprod./Pat.	SD	Min/Max
Heparinblut	115	93	1,24	+/-0,45	(1 / 3)
Warmblut	599	255	2,35	+/-1,49	(1 / 8)
Frischblut	620	245	2,53	+/-1,72	(1 / 11)
Vollblut	286	124	2,31	+/-1,97	(1 / 12)
Frischplasma	2005	190	10,55	+/-24,23	(1 / 175)
Thrombozyten	22	7	3,14	+/-2,48	(1 / 8)
Erythrozyten	77	55	1,4	+/-0,81	(1/4)
Blutprod. ges.	3724	405	9,2	+/-18,41	(1 / 175)

Tabelle 5: Anzahl der erhaltenen Blutprodukte pro Patient und Gesamtanzahl der verabreichten Blutprodukte (Blutprod./Pat. = Mittelwert)

3.5. Anti-HCV-Antikörperuntersuchung

Bei der serologischen Untersuchung wurden mittels ELISA-Test Anti-HCV-Antikörper bei 67 Patienten nachgewiesen, ohne Bevorzugung eines Geschlechts (34 weiblich, 33 männlich), das entspricht einem Prozentsatz von 14,6 bei insgesamt 458 Studienteilnehmern. Im Mittel waren die anti-HCV positiven Studienteilnehmer mit 19,83 Jahren gegenüber den anti- HCV negativen mit 17,15 Jahren signifikant älter ($p < 0,001$) bei der Follow-up-Untersuchung. Wobei sich das mittlere Alter bei der ersten Herzoperation in beiden Gruppen nicht signifikant unterschied ($p = 0,368$).

3.6. Anti-HCV-Antikörperuntersuchung in der Kontrollgruppe

In der Kontrollgruppe, die nach Alter und Geschlecht aus einem Normalkollektiv aus dem Großraum München gematcht wurde, fanden sich nur bei 3 Personen anti-HCV-Antikörper, was einem Anteil von 0,7 % entspricht und sich damit signifikant von der anti-HCV Prävalenz von 14,6 % in der Studiengruppe unterscheidet ($p < 0,001$).

Die Hepatitis C Prävalenz von 0,7 % in unserer Kontrollgruppe ist repräsentativ für die westeuropäische Bevölkerung und wurde in mehreren anderen Untersuchungen in etwa der gleichen Größenordnung bestätigt (Prävalenz von 0,63 % nach Patitzsch et al., 1999).

3.7. Vergleichsuntersuchungen zwischen anti-HCV-positiven und anti-HCV-negativen Patienten

3.7.1. Charakteristika der anti-HCV-positiven und negativen Patienten

Die Gruppe der anti-HCV-positiven und -negativen Patienten unterscheidet sich statistisch signifikant bei der Gesamt-Anzahl der pro Patient durchgeführten Operationen. Es findet sich auch ein statistisch signifikanter Unterschied im Alter bei Follow-up, ohne dass sich das Alter bei der ersten Operation unterscheidet (Tabelle 6).

	anti-HCV-pos (n=67)	anti-HCV-neg (n=391)	Signifikanz (p-Wert)
Alter bei Erst-OP (in Jahren)	2,8 +/- 4,4	2,8 +/- 4,5	0,42
Alter bei Follow-up (in Jahren)	19,8 +/- 5,7	17,2 +/- 6,4	0,004
Anzahl der OPs	2,1 +/- 1,0	1,6 +/- 0,8	< 0,001

Tabelle 6: Charakteristika der Patienten abhängig vom anti-HCV Antikörperstatus (anti-HCV-positiv oder –negativ)

3.7.2. Operations-Anzahl

Die Anzahl der in dem untersuchten Zeitraum durchgeführten operativen Eingriffe am Herzen lag bei den anti-HCV positiven Patienten im Durchschnitt bei 2,1. Das ist mit $p < 0,001$ signifikant mehr als bei den Patienten ohne anti-HCV Nachweis (1,6 Operationen +/-0,8) (Tabelle 6 und Abbildung 9).

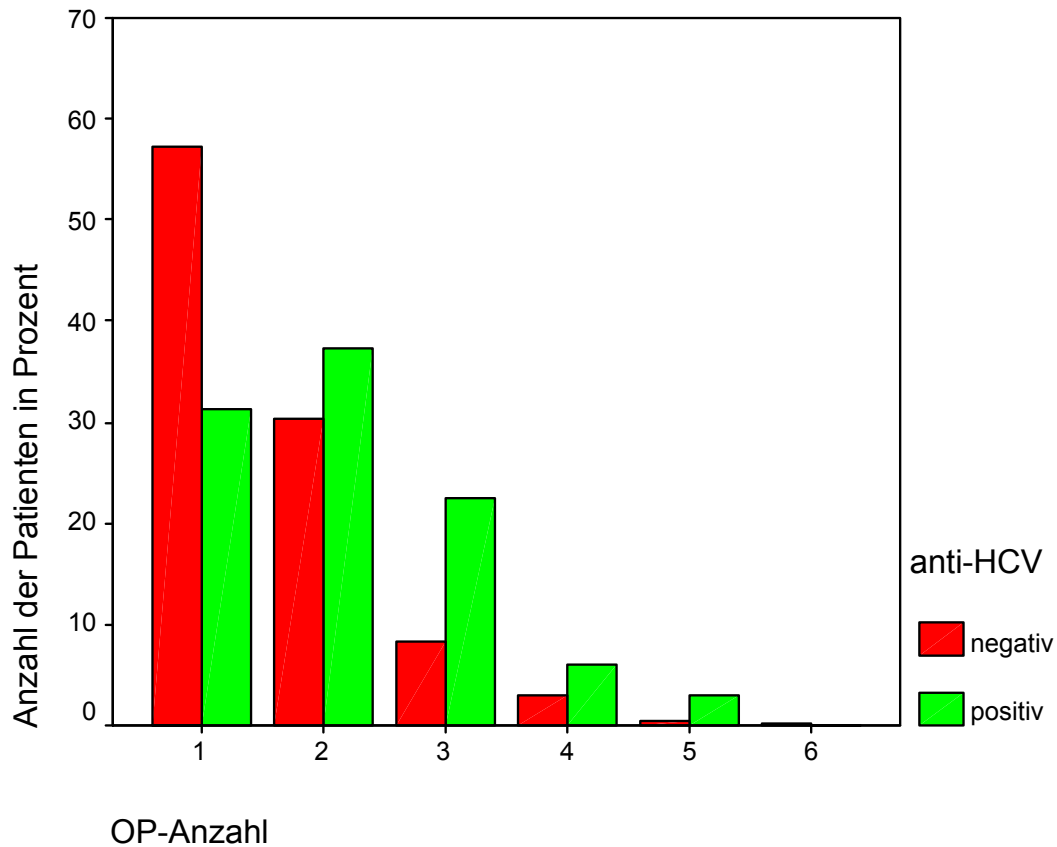


Abbildung 9: Operations-Anzahl pro Patient: Vergleich zwischen anti-HCV-positiven und -negativen Patienten

Bei einer Subgruppenanalyse findet man bei einer Erstoperation vor 1985 eine deutlich erhöhte Prävalenz von 20,9% für das Vorliegen von anti-HCV-Antikörpern. In diesem Jahr wurde das Blutspender-Screening für anti-HIV-Antikörper eingeführt. Bei einer Erstoperation ab 1985 liegt die anti-HCV-Prävalenz bei 4,3%. Gleichzeitig mit einer Erstoperation vor 1985 geht aber auch eine signifikant erhöhte Gesamtanzahl an Operationen von 1,86 Operationen pro Patient einher. In der anderen Gruppe dagegen sinkt die durchschnittliche Anzahl von Operationen auf 1,36 pro Patient (Abbildung 10). Sowohl die anti-HCV-Prävalenz als auch die Anzahl der durchgeführten Operationen unterscheiden sich damit in den beiden Gruppen (Erst-Operation vor 1985 bzw. ab 1985) signifikant mit $p < 0,005$.

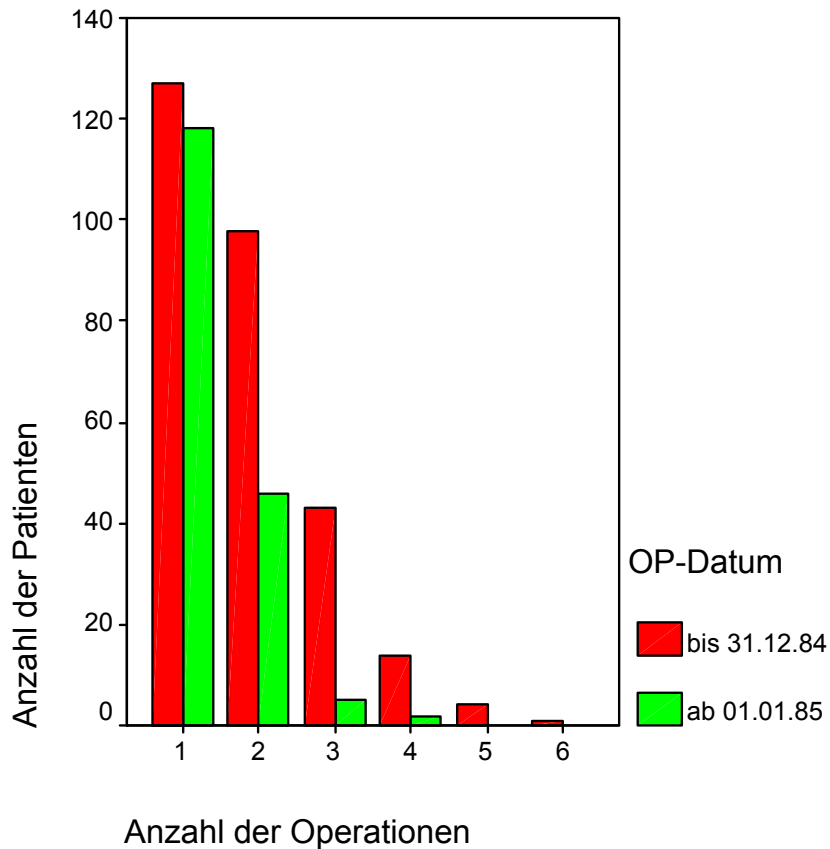


Abbildung 10: Anzahl der Operationen pro Patient differenziert nach stattgefunderer Erstoperation vor 1985 bzw. ab 1985

3.7.3. Blutprodukte

Wir ermittelten die Anzahl der perioperativ verwendeten Einheiten an Blutprodukten pro Patient. Für alle untersuchten Patienten waren das im Mittel 9,2 (+/-18,41) Einheiten, wobei die anti-HCV-positiven Patienten durchschnittlich 20,35 (+/-36,54) Einheiten im Vergleich zu den anti-HCV-negativen mit 7,18 (+/-11,64) erhielten ($p < 0,001$). Dabei besteht eine positive Korrelation zwischen der Anzahl der durchgeführten Operationen und der Summe der verabreichten Blutprodukte (zweiseitig signifikant nach Spearman und Pearson) (Abbildung 11).

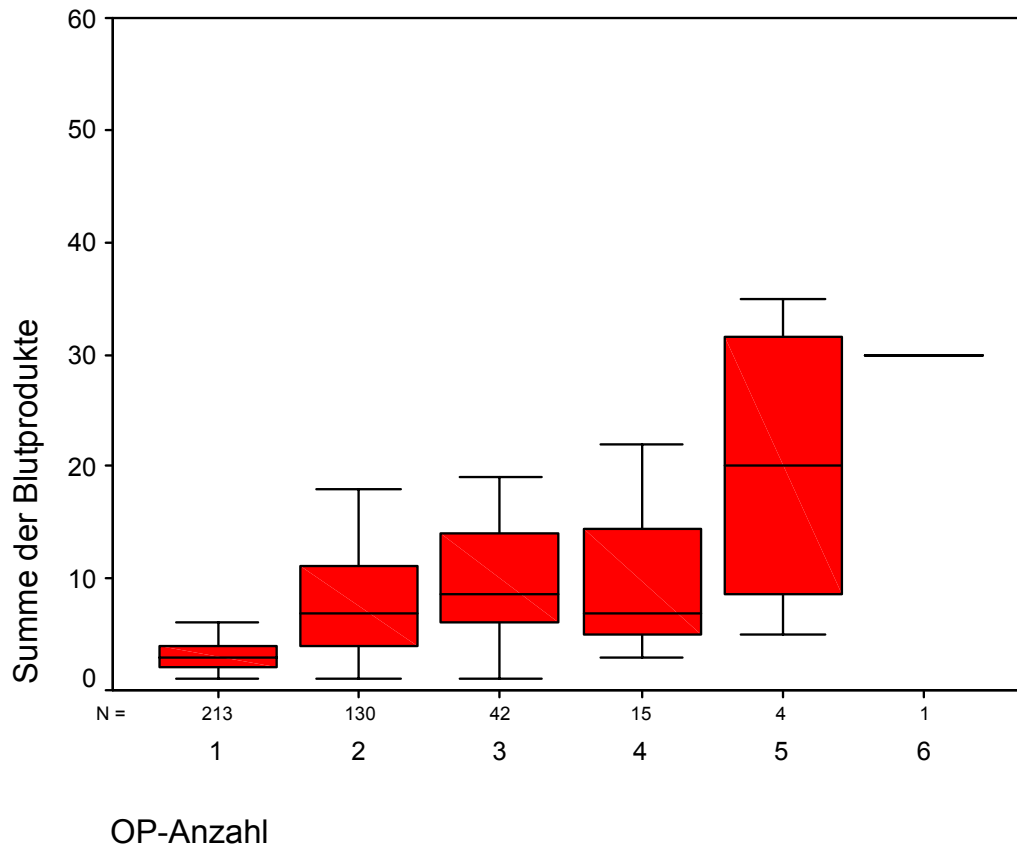


Abbildung 11: Gesamtsumme der erhaltenen Blutprodukte korreliert mit der Anzahl der durchgeführten Operationen pro Patient (dargestellt ist der Mittelwert, sowie die 1- und 2-fache SD); n = Anzahl der Patienten

Bei der genaueren Aufschlüsselung der einzelnen Blutprodukte ergab sich lediglich beim Einsatz von Warmblut ein signifikant höherer mittlerer Verbrauch bei den seropositiven Patienten von 3,26 (+/-1,93) gegenüber 2,10 (+/-1,23) bei den seronegativen ($p < 0,001$). Bei dem Einsatz an Frischblut, wo beide Gruppen durchschnittlich 2,91 (+/-1,94) bzw. 2,48 (+/-1,69) Einheiten erhielten, ergab sich kein signifikanter Unterschied. Ebenso konnte auch bei der Anzahl an Heparinblut keine Auffälligkeit festgestellt werden. Patienten mit anti-HCV-Nachweis erhielten 1,31 (+/-0,48) Einheiten versus 1,23 (+/-0,45) Einheiten bei Patienten ohne anti-HCV-Nachweis. Bei der Anwendung von Vollblut-Konserven entfielen im Durchschnitt auf die anti-HCV Positiven bzw. Negativen 2,63 (+/-2,47) bzw. 2,20 (+/- 1,79) Einheiten (Tabelle 7).

Der Einsatz von Frischplasma war insgesamt am häufigsten. Auf ein Individuum kamen dabei bis maximal 175 Einheiten mit einem mittleren Verbrauch von 18,44 (+/-

39,52) in der seropositiven Gruppe gegenüber 7,9 (+/-15,43) in der seronegativen Gruppe, aber selbst hier ohne statistische Signifikanz. Erythrozyten-Konzentrate wurde dagegen eher selten verabreicht mit insgesamt 1,4 (+/-0,81) Konserven im Mittel, davon entfielen auf die Antikörper-Positiven 1,33 (+/- 0,58) und 1,4 (+/- 0,82) auf die Antikörper-Negativen ohne signifikanten Unterschied. Die Substitution mit Thrombozyten-Konzentraten war nur in einigen wenigen Fällen angezeigt, sodass über deren Einfluss auf ein mögliches Übertragungsrisikos keine Aussage gemacht werden kann.

	Anti-HCV positive	Anti-HCV negative	Signifikanz P-Wert
	Patienten N = 67	Patienten N = 391	
Blutprodukt			
Warmblut	3,26 +/-1,93 (1-8)	2,10 +/-1,23 (1-7)	< 0,001
Frischblut	2,91 +/-1,94 (1-8)	2,48 +/-1,69 (1-11)	0,306
Vollblut	2,63 +/-2,47 (1-12)	2,20 +/-1,79 (1-12)	0,715
Heparinblut	1,31 +/-0,48 (1-3)	1,23 +/-0,45 (1-3)	0,468
Frischplasma	18,44 +/-39,52 (1-175)	7,90 +/-15,43 (1-111)	0,659
Erythrozyten-Konzentrat	1,33 +/-0,58 (1-2)	1,40 +/-0,82 (1-4)	0,846
Gesamt	20,35 +/-36,54 (1-175)	7,18 +/-11,64 (1-117)	< 0,000

Tabelle 7: Anzahl der erhaltenen Blutprodukte pro Patient aufgeschlüsselt nach anti-HCV-positiven und –negativen Patienten

3.7.4. Leberwerte bei Follow-up

Die serologischen Leberwerte zeigten zum Zeitpunkt des Follow-up bei der untersuchten Studienpopulation jeweils einen Mittelwert, der im Bereich der Normwerte liegt. Sieht man sich nun diese Werte in beiden Gruppen abhängig vom HCV-Antikörperstatus an, so zeigt sich für alle Werte außer LDH ein signifikanter Unterschied der beiden Gruppen mit einem $p < 0,05$ (Tabelle 8).

Trotz dieses statistischen Unterschieds liegen die meisten ermittelten Durchschnittswerte der Leberenzyme in beiden Gruppen im Bereich der Norm. Lediglich der Mittelwert von GPT liegt oberhalb des Normbereichs und grenzwertig darüber liegt auch der Mittelwert von GGT bei Patienten mit positivem Nachweis von Hepatitis C Antikörpern. Für die AP verhält es sich umgekehrt. Hier findet sich in der Gruppe der anti-HCV-negativen Patienten ein grenzwertig erhöhter Mittelwert.

	anti-HCV-positiv			anti-HCV-negativ			Signifikanz
	Mittelwert	SD	Min / Max	Mittelwert	SD	Min / Max	p-Wert
GOT	17,9 U/l	+/-18,31	(6 / 146)	11,71 U/l	+/-3,53	(5 / 23)	< 0,001
GPT	26,62 U/l	+/-34,58	(6 / 261)	12,04 U/l	+/-6,04	(1 / 36)	< 0,001
gGT	28,85 U/l	+/-27,48	(4 / 169)	20,58 U/l	+/-24,29	(2 / 211)	< 0,001
GLDH	2,82 U/l	+/-2,02	(0,6 / 12,5)	2,47 U/l	+/-5,43	(0,2 / 90,6)	0,008
Bili	0,98 mg/dl	+/-0,69	(0,2 / 3,2)	0,74 mg/dl	+/-0,5	(0,1 / 5,3)	0,038
AP	178,72 U/l	+/-157,89	(51 / 749)	211,3 U/l	+/-130,78	(44 / 688)	0,009
LDH	178,44 U/l	+/-45,56	(95 / 312)	177,42 U/l	+/-49,52	(19 / 510)	0,946

Tabelle 8: Vergleich der Leberwerte bei Follow-up (anti-HCV-positiv / -negativ)

3.7.5. Vergleich der Transaminasen vor und nach der ersten Operation und bei Follow-up

Betrachtet man nun retrospektiv das Kollektiv der HCV-positiven verglichen mit den HCV-negativen Patienten so stellt man für beide Transaminasen nach der ersten Operation fest, dass sich in der Gruppe der HCV-positiven Patienten eine signifikant höhere Anzahl an Werten findet, die oberhalb der Norm liegen ($p < 0,001$). Das gleiche gilt auch für die gemessenen Transaminasen beim Follow-up (Abbildung 12). Bei den Transaminase-Werten vor der ersten Operation hingegen findet sich kein signifikanter Unterschied für beide Gruppen (Tabelle 9).

anti-HCV	GOT vor OP			GOT nach OP			GOT bei Follow-up		
	norm	erhöht	gesamt	norm	erhöht	gesamt	norm	erhöht	gesamt
positiv	26	8	34	23	19	42	40	20	60
negativ	209	40	249	230	44	274	322	34	356
gesamt	235	48	283	253	63	316	362	54	416
	p > 0,05			p < 0,001			p < 0,001		

anti-HCV	GPT vor OP			GPT nach OP			GPT bei Follow-up		
	norm	erhöht	gesamt	norm	erhöht	gesamt	norm	erhöht	gesamt
positiv	28	5	33	28	14	42	34	26	60
negativ	231	18	249	247	31	278	330	29	359
gesamt	259	23	282	275	45	320	364	55	419
	p > 0,05			p < 0,001			p < 0,001		

Tabelle 9: Transaminasen vor und nach der ersten Operation und bei Follow-up verglichen in der Gruppe der anti-HCV-positiven und -negativen Patienten

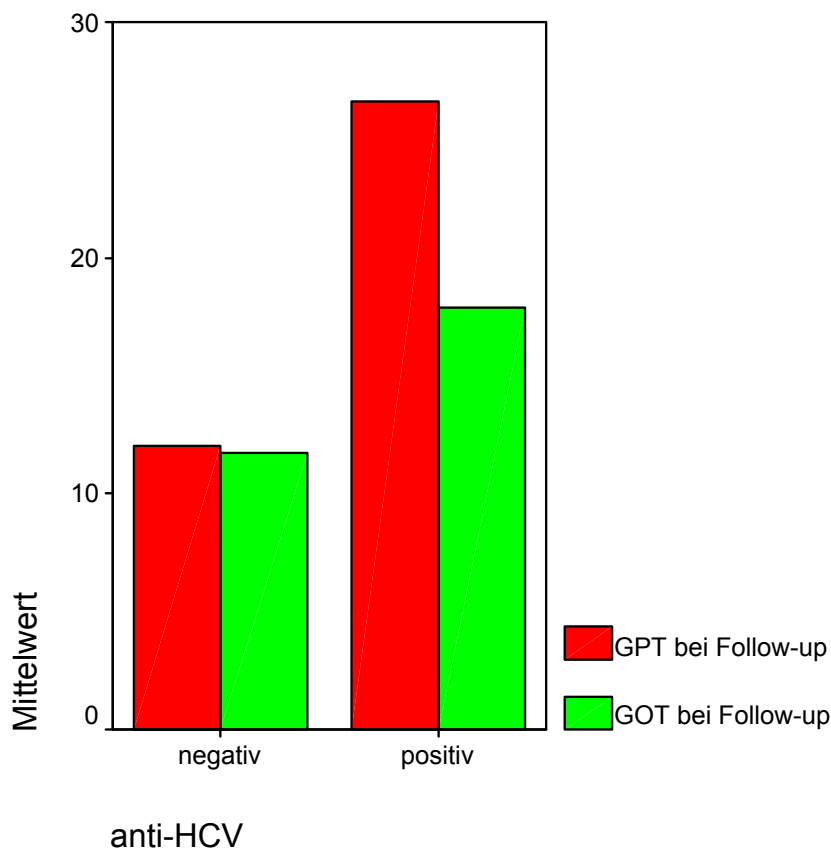


Abbildung 12: Vergleich der Transaminasen von anti-HCV-positiven und -negativen Patienten bei Follow-up (Mittelwert in U/l)

3.7.6. Multivarianzanalyse der Risikofaktoren

In einer Multivarianzanalyse wurden die Risikofaktoren zusammengefasst, die bei der univariaten Analyse einen signifikanten Unterschied in der Gruppe der anti-HCV-positiven zu den anti-HCV-negativen Patienten gezeigt hatten. Hierzu zählte die Anzahl der Operationen pro Patient, die Gesamtanzahl der erhaltenen Blutprodukte und im einzelnen die Anzahl der erhaltenen Warmblutkonserven. Ziel dieser statistischen Untersuchung ist es, den oder die stärksten Risikofaktoren herauszuarbeiten, also eine Gewichtung der Risikofaktoren herstellen zu können.

Dabei zeigte sich in der multivariaten Analyse die höchste Signifikanz für des Risiko einer Hepatitis C Infektion in der Anzahl der durchgeführten Operationen pro Patient und mit etwa der gleichen Signifikanz erscheinen die Gesamtanzahl an Blutprodukten und die Gabe von Warmblut-Konserven (Tabelle 10).

Operationsanzahl	p = 0,001
Anzahl der Blutprodukte	p = 0,012
Warmblut	p = 0,019

Tabelle10: Multivarianzanalyse der Risikofaktoren für HCV-Infektion

3.8. Virologische Untersuchungen der anti-HCV-positiven Patienten

3.8.1. Western Blot-Untersuchung

Zur Bestätigung des ELISA-Tests wurde bei 57 von 67 anti-HCV-Antikörper positiven Patienten eine Western Blot Analyse durchgeführt. Dieser Western Blot erkennt 4 Regionen des Hepatitis C Virus (Capsid-Protein, NS3, NS4 und NS5), diese werden dann im Test als 4 Banden dargestellt. Der Banden-Nachweis erfolgt semiquantitativ von schwach positiv bis stark positiv (Tabelle 11).

Davon ergab sich in 56 von 57 Fällen ein positiver Nachweis für Capsid-Protein (98,3%), in 51 von 57 Fällen für NS3 (89,5%), in 39 von 57 Fällen für NS4 (68,4%) und schließlich in 33 von 55 Fällen für NS5 (60,0%). Bei der ca. 6 Monate später durchgeführten Kontrolluntersuchung wurde bei 41 Personen die Western Blot Untersuchung wiederholt, wobei 37 von 39 Personen eine positive Reaktion gegen das Capsid-Protein zeigten (94,9%), 31 von 39 gegen NS3 (79,5%), 24 von 39 gegen NS4 (61,5%) und 20 von 39 gegen NS5 (51,3%). Zwischen diesen beiden Western Blot Untersuchungen wurde keine spezifische Therapie gegen Hepatitis C durchgeführt. Die einzelnen Banden im Western Blot konnten auch in einem relativ konstanten Prozentsatz bei beiden Untersuchungen nachgewiesen werden.

	Capsid-Protein	NS3	NS4	NS5
Anzahl der unters. Pat.	57	57	57	55
negativ	1	6	18	22
schwach positiv	2	6	19	22
mittelstark positiv	7	12	11	4
stark positiv	47	33	9	7

Tabelle 11: Nachweis der Western Blot Banden bei 57 von 67 anti-HCV-positiven Patienten

3.8.2. Virus-RNA-Nachweis

Mit Hilfe der PCR-Methode wurden alle Blutproben der Patienten mit positivem Antikörpernachweis für anti-HCV-Antikörper untersucht. Von den 67 anti-HCV-positiven Patienten fand sich bei 37 Patienten ein positiver Nachweis für HCV-RNA im Serum. Bei den übrigen 30 Patienten konnte keine HCV-RNA nachgewiesen werden.

Der Nachweis von HCV-RNA ist Ausdruck einer persistierenden Hepatitis C Infektion. Wegen möglicher fluktuierender HCV-RNA-Spiegel und der Nachweisgrenze der Viruskonzentration bei etwa 100 bis 1000 Genom-Äquivalenten pro Milliliter, werden drei HCV-RNA-Analysen innerhalb von zwei Jahren durchgeführt, um eine chronische Infektion nachzuweisen.

Auch in der wiederholt durchgeführten PCR-Untersuchung blieben diese 45% der anti-HCV positiven Patienten HCV-RNA negativ. Damit wird eine ausgeheilte HCV-Infektion bewiesen. Die übrigen 55% der Patienten mit positiven anti-HCV-Antikörpern haben eine chronische Hepatitis C.

3.8.3. Vergleich des Nachweises von Western Blot Banden und RNA

Bei dem Vergleich der Anzahl der positiven Banden im Western Blot und dem Virus-Genom-Nachweis mittels PCR zeigt sich eine signifikante Korrelation zwischen dem Nachweis von mehr als 2 Banden im Western Blot und dem positiven Nachweis von HCV-RNA (Tabelle 12).

HCV-RNA	Western Blot		gesamt
	0 bis 2 Banden positiv	> 2 Banden positiv	
negativ	12	13	25
positiv	4	28	32
gesamt	16	41	57

p = 0,003

Tabelle 12: Vergleich der vorliegenden Western Blot Banden mit dem positiven HCV-RNA-Nachweis

Damit kann gezeigt werden, dass bei anti-HCV-positiven Patienten bei denen in der Western Blot Analyse mehr als 2 Banden nachweisbar sind, sich mit hoher Wahrscheinlichkeit auch ein positiver HCV-RNA-Nachweis führen lässt und die Patienten somit eine chronische Hepatitis C Infektion haben.

3.8.4. Virus-RNA-Quantifizierung

Von den 67 Patienten mit einem positiven Nachweis von anti-HCV-Antikörpern wurde bei allen 37 HCV-RNA-positiven in der PCR-Untersuchung eine RNA-Quantifizierung durchgeführt, d.h. die aktuelle Viruslast des entsprechenden Patienten untersucht.

Die Nachweisgrenze für die HCV-Viruslast liegt bei etwa 1.000 eq/ml (= 1.000 Virusäquivalent / ml).

In zwei der Proben fand sich eine gerade eben nachweisbare Menge von 1.000 eq/ml. Die anderen 35 Patienten hatten eine quantifizierbare Virusmenge zwischen 1.000 eq/ml und 1.000.000 eq/ml.

Die mittlere gemessene Virusmenge lag bei 395.722,51 eq/ml +/-298.353,7 bei einer kleinsten Virusmenge von 1.000 eq/ml und einer größten von 1.000.000 eq/ml.

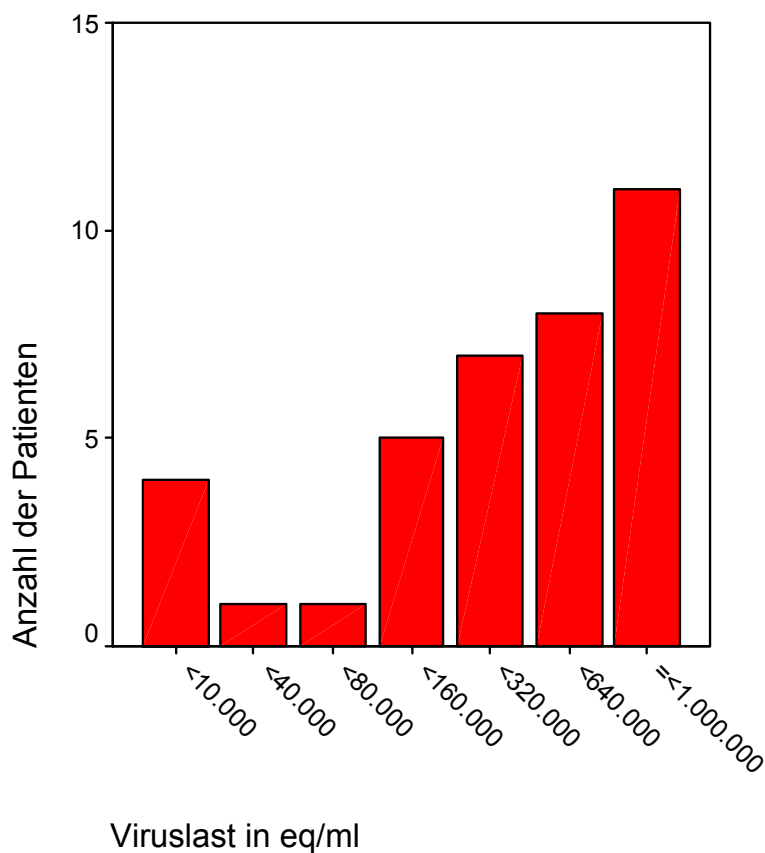


Abbildung 13: HCV-RNA-Quantifizierung (n=37)

3.8.5. Virus-Genotypisierung

Bei 28 von 37 Patienten mit positivem HCV-RNA-Nachweis in der PCR-Untersuchung konnte anschließend eine Virusgenotypisierung vorgenommen werden. Es fanden sich die Genotypen 1a, 1b und 3a nach Simmonds (Simmonds et al., 1994). Etwa gleich häufig lagen dabei die Typen 1a und 1b vor. Der Typ 3a fand

sich nur ein einziges Mal, 13 Patienten zeigten Typ 1a und 14 Patienten Typ 1b (Abbildung 14).

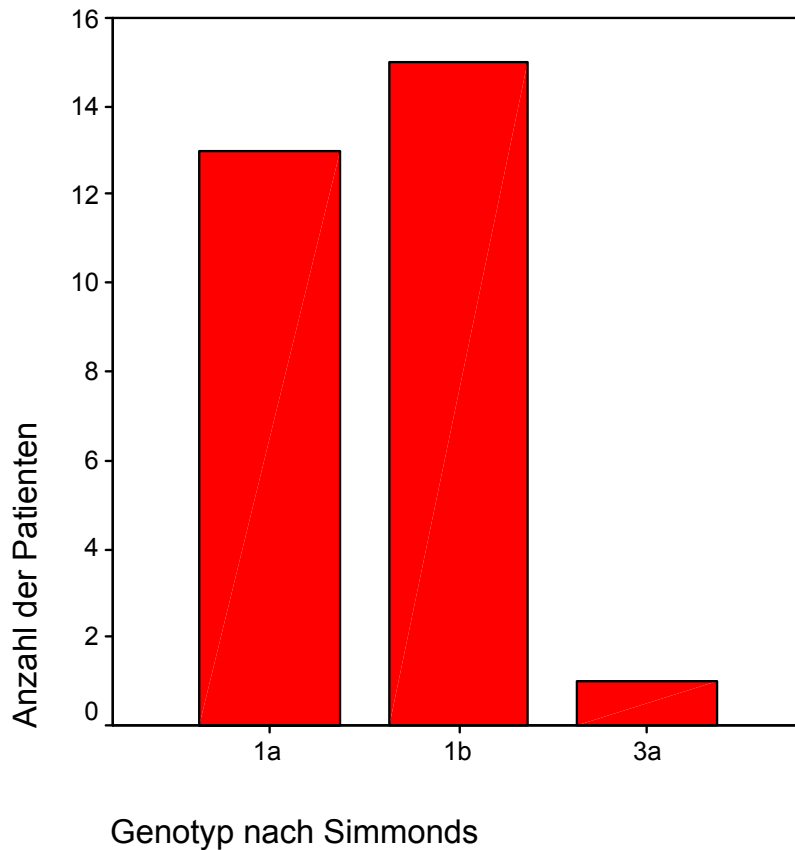


Abbildung 14: Verteilung der Genotypen

3.8.6. Vergleich der Viruslast mit dem Genotyp

Nach der Aufschlüsselung der Viruslast des einzelnen Patienten und des HCV-Genotyps wurden die einzelnen Genotypen mit der durchschnittlichen Viruslast verglichen um eine mögliche Korrelation und damit eine gewisse Vorhersagekraft abzuleiten. Dabei zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Virusmenge pro Patient bei den Genotypen 1a und 1b. Der Genotyp 3a lag nur einmal vor mit einer Viruslast von 1000 eq/ml (Abbildung 15). Daraus lässt sich keine statistische Aussage ableiten. Somit kann man aus diesem Patientenkollektiv keine Korrelation zwischen

dem Vorliegen eines bestimmten Genotyps und einer hohen oder niedrigen Viruslast erschließen.

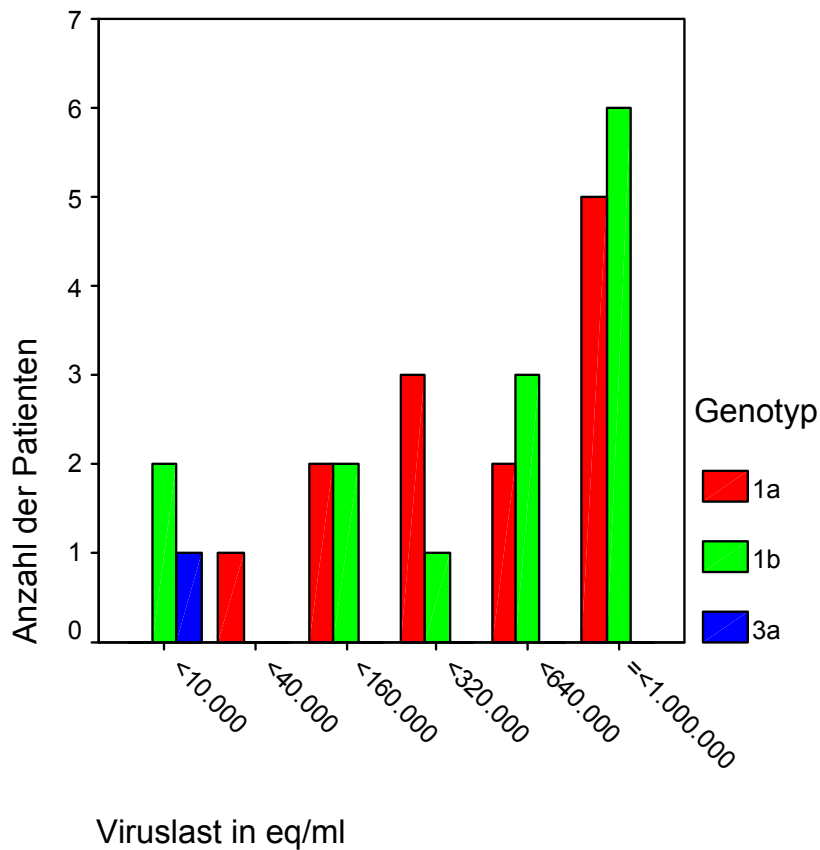


Abbildung 15: Vergleich Genotyp mit RNA-Quantifizierung

3.9. Hepatitis B Antikörper-Status

Gleichzeitig mit der initialen anti-HCV-Antikörperbestimmung wurden im Rahmen dieser Untersuchung 455 Patienten auch auf das Vorliegen von anti-HBc-Antikörpern untersucht. Bei 28 Patienten konnten dabei anti-HBc-Antikörper nachgewiesen werden, das entspricht einem Prozentsatz von 6,15%. Davon wiederum waren 8 Patienten auch gleichzeitig anti-HCV-Antikörper positiv.

4. Diskussion

Unsere Daten zeigen erstmalig für Europa ein hohes Risiko (14,6%) für eine posttransfusions-HCV-Infektion nach Herzoperation im Kindesalter vor Einführung des Blutspender-Screenings. Das statistische Risiko liegt 20-fach höher als in der alters- und geschlechts-gematchten lokalen Kontrollgruppe (anti-HCV-Prävalenz von 0,7%). Damit konnte eine weitere pädiatrische Risikogruppe identifiziert werden.

Da die Hepatitis C Infektion in der Regel asymptomatisch verläuft, sollte aufgrund unserer Daten ein generelles Screening aller Patienten in Deutschland mit Herzoperation im Kindesalter vor 1991 erfolgen.

Die einzig vergleichbare Arbeit für Kinder nach Herzoperationen aus Japan (Matsuoka et al., 1994) erbrachte bei 161 Patienten eine vergleichbar hohe HCV-Prävalenz von 14%. Während Matsuoka et al. keine Risikofaktoren für diese Patienten identifizierte, konnten wir in unserem großen Kollektiv die Anzahl der Operationen, die Gesamtanzahl an erhaltenen Blutprodukten und die Gabe von Warmblut als Hauptrisikofaktoren nachweisen. Warmblut ist eine Vollblutkonserve, die binnen 24 Stunden nach Abnahme transfundiert wurde. Damit gilt retrospektiv Warmblut als eine Risikokonserve für eine HCV-Infektion.

In der pädiatrischen Population sind bisher polytransfundierte Patienten mit Malignomen, Anämien, Hämophilie und Frühgeborene als HCV-Risikogruppen identifiziert.

Bei Kindern mit malignen Erkrankungen, die Polytransfusionen erhalten haben fanden sich in verschiedenen Studien HCV-Prävalenzen zwischen 17,8% (Cesaro et al., 1997) und 49% (Locasciulli et al., 1997). Die Patienten in der Untersuchung von Cesaro et al. erhielten eine zu unserer Untersuchung vergleichbare mittlere Anzahl an Blutkonserven (8 Blutprodukte pro Patient versus 9 pro Patient im Deutschen Herzzentrum München) und es zeigte sich auch eine ähnliche Prävalenz (17,8% versus 14,6%). Für Kinder, die noch häufiger Bluttransfusionen und meist gepoolte Blutprodukte erhalten haben wie bei Hämophilie zeigt sich auch eine noch höhere HCV-Prävalenz (22 - 46%, Darby et al., 1997) als nach Herzoperation. Kinder mit Beta-Thalassämie hatten sogar nach einer 1992 von Resti et al. veröffentlichten Untersuchung eine HCV-Prävalenz von 83%. Ähnlich hoch lag auch die Hepatitis C – Rate bei Kindern mit angeborenen Immundefekten, die mit intravenösen Immunglobulin-Gaben behandelt wurden (Jonas et al., 1996). Bei Früh- und

Mangelgeborenen liegen die Prävalenzraten für Hepatitis C je nach Zeitpunkt der durchgeführten Untersuchung zwischen 8% bei Nelson et al. (1996) bei Infektion zwischen Ende der 80er und Beginn der 90er Jahre und 49% bei De Pascale et al. (2000) nach Bluttransfusion in den 60er Jahren.

Bei der retrospektiven Analyse von Risikofaktoren zeigten sich zwei Schwerpunkte: Erstens die Anzahl der Operationen und die Anzahl der gesamten erhaltenen Blutprodukte und zweitens die Art der Blutprodukte mit Warmblut als Risikokonserven. Ähnlich wie in anderen Risikokollektiven steigt die Möglichkeit der Infektion in unserem Kollektiv mit der Zahl der Operationen und damit auch der absoluten Anzahl von transfundierten Blutbestandteilen (siehe auch Abbildung 11). Eine ähnliche Abhängigkeit des Infektionsrisikos von der Transfusionsmenge beweist auch die Arbeit von Darby et al. (1997). Hier wurden Hämophiliepatienten untersucht, die in regelmäßigen Abständen gepoolte Blutprodukte erhielten und mit steigendem Lebensalter somit eine erhöhte HCV-Prävalenz hatten.

Bei den Blutprodukten konnte Warmblut sowohl uni- als auch multivariant als Risikokonserven identifiziert werden. Für Frischblut war ein Trend feststellbar ($p=0,306$).

Ein in der univariaten Analyse nachweisbarer Risikofaktor ist das Alter bei Follow-up. Patienten, die bei Follow-up älter sind, wurden zu einem absolut gesehen früheren Zeitpunkt operiert und haben dadurch ein erhöhtes Risiko. Eine Subgruppenanalyse zeigt auch, dass der Anteil der HCV-infizierten Patienten in der Gruppe der vor 1985 operierten Patienten – Zeitpunkt der Einführung des HIV-Screenings – signifikant höher liegt als danach. Möglicherweise wurden durch das HIV-Screening potentiell auch HCV-positive Spender aufgedeckt. HIV und HCV haben die gleichen Risikogruppen als Verbreitungsgebiet, wie z. B. Drogenabhängige und Homosexuelle, und auch den gleichen parenteralen Übertragungsweg. Ein noch früher zurück liegender Transfusionszeitpunkt zeigt auch eine noch höhere HCV-Prävalenz bei einer retrospektiven Untersuchung bei Früh- oder Mangelgeborenen, die eine neonatale Mikrotbluttransfusion in den 60er Jahren des letzten Jahrhunderts erhalten haben. Es fand sich eine HCV-Prävalenz von 49% (De Pascale et al., 2000), ohne dass die Untersuchten weitere Risikofaktoren für eine Hepatitis C Infektion aufwiesen. Ursächlich hierfür ist möglicherweise der Transfusionszeitpunkt noch vor Einführung von HBsAg-Tests und Tests auf Surrogat-Marker. Seit Beginn der 70er Jahre mit Einführung des HBsAg-Test sank die

Prävalenz der Posttransfusionshepatitis drastisch und damit auch das Risiko einer Hepatitis C Infektion (Tobler und Busch, 1997)

Seit der Einführung des HCV-Blutspender-Screenings Anfang der 90er Jahre sank das Restrisiko einer Posttransfusions- Hepatitis C von 1 zu 5.000 (Tobler und Busch, 1997) auf 1 zu 103.000 (Schreiber et al., 1996). In einer Folgestudie mit herzoperierten Kindern nach 1991 war kein erhöhtes Hepatitis C Risiko gegenüber der Normalbevölkerung nachweisbar (Vogt et al., im Druck). Bei keinem der 211 Patienten waren anti-HCV-Antikörper nachweisbar. Im Unterschied zum Kollektiv vor Screening war die Anzahl der Blutprodukte pro Operation signifikant geringer (5,2 +/- 11,27 versus 2,23 +/- 1,19); Risikoblutarten wie Warm- oder Frischblut wurden dabei nicht transfundiert. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Gabe getesteter Blutprodukte kein erhöhtes Hepatitis C Risiko zur Folge hat und dass das Blutspender-Screening effektiv das HCV-Risiko minimiert. So zeigt auch eine aktuelle australische Untersuchung, dass Kinder die unter 11 Jahre alt sind statistisch kein Risiko haben sich bei einer Bluttransfusion oder über extrakorporale Membranoxygenierung mit dem Hepatitis C Virus zu infizieren. In den meisten Ländern ist die perinatale Transmission von der Mutter der einzige verbliebene Übertragungsweg dieses Virus bei Kindern (Hardikar, 2002).

Bei einer 2001 durchgeführten Untersuchung bei erwachsenen Blutspendern in Deutschland zeigte sich eine HCV-Prävalenz von 97/100.000 und eine HCV-Inzidenz von 1,6/100.000 bei Mehrfachblutspendern (Offergeld, et al., 2002).

Der Verlauf der Hepatitis C Infektion bei unserer Untersuchung mit einer durchschnittlichen Nachbeobachtungszeit von 14,5 Jahren zeigt, dass sowohl die stattgehabte als auch die aktive Hepatitis C Infektion nicht vergesellschaftet sind mit klinischen oder biochemischen Zeichen einer Lebererkrankung. Daraus folgt, dass eine HCV Infektion bei pädiatrischen Patienten nur durch spezifische Screening-Programme mittels Elisa-Test entdeckt werden kann. Fast alle untersuchten Patienten, die HCV-RNA positiv sind, hatten normale Leberenzym-Werte. Bei einzelnen Patienten fanden sich erhöhte Leberenzymwerte, die durch zusätzliche kardiale Probleme (Druckerhöhung im rechten Vorhof bei nach Fontan operierten Patienten, Druck- bzw. Widerstandserhöhung im rechten Ventrikel bei einem Patient mit Trisomie 21) erklärt werden können.

Bei einer Multi-Center-Studie mit einer größeren Fallzahl an HCV-RNA positiven Kindern zeigte sich auch, dass die Patienten überwiegend klinisch asymptomatisch waren, allerdings hatten 48% der untersuchten Kinder eine GPT-Erhöhung größer als der zweifache Normwert (Jara et al., 2003). Nur 6% erreichten nach einem durchschnittlichen Nachbeobachtungszeitraum von 6,2 Jahren normale Leberenzym-Werte.

Bei Säuglingen mit vertikaler HCV-Übertragung konnte bei allen Untersuchten im ersten Lebensjahr eine GPT-Erhöhung nachwiesen werden, wobei die Hälfte davon im Follow-up wieder normale Leberwerte zeigte. In einer Vergleichsgruppe von 11/2- bis 14-jährigen, die ebenfalls perinatal mit Hepatitis C infiziert worden waren, zeigten sich keine klinischen Zeichen einer Lebererkrankung und nur 62% der Patienten zeigte eine milde GPT-Erhöhung (Bortolotti et al., 1997). Daraus kann geschlossen werden, dass bei einer neonatalen Hepatitis C Infektion eine deutliche biochemische Veränderung im Sinne eines Leberschadens nachweisbar ist, die im weiteren Verlauf abklingt und es auch bei einer chronischen Verlaufsform zu keiner dauerhaften Leberwertveränderung kommen muss.

Untersuchungen an erwachsenen Patienten zeigen, dass lediglich ein geringer Teil der Hepatitis C infizierten das Virus spontan eliminieren können. Bei einer Untersuchung an Blutspendern mit positivem HCV-Antikörpernachweis konnte auch in 86% der Fälle ein positiver HCV-RNA-Nachweis geführt werden (Conry-Cantilena et al., 1996). Trotz einer chronischen Hepatitis C Infektion haben etwa 30 - 40% persistierend normale Serumtransaminasen (Alter et al., 1999).

Eine Hepatitis C Infektion im Erwachsenenalter ist mit einem hohen Risiko für eine Leberzirrhose und ein hepatocelluläres Carcinom (HCC) verbunden. Nach Kiyosawa et al. (1990) beträgt das durchschnittliche Intervall zwischen der Bluttransfusion und dem Nachweis einer chronischen Hepatitis 10 Jahre, bis zur Zirrhose sind es 21,2 Jahre und bis zur Diagnose eines HCC sind es 29 Jahre nach Transfusion. Minola et al. konnte nachweisen, dass mit zunehmendem Lebensalter bei Infektion das Intervall bis zum auftreten einer Leberzirrhose kürzer wird. So besteht eine 50%ige Wahrscheinlichkeit eine Zirrhose zu entwickeln bei Patienten im Alter zwischen 21 und 30 Jahren nach 33 Jahren Infektion, in der Gruppe der über 40jährigen sind es nur 16 Jahre. Noch deutlicher zeigt es sich bei den Frauen, die nach der Entbindung

HCV-kontaminiertes anti-D-Immunglobulin verabreicht bekamen. 17 Jahre später wiesen nur 2% eine Leberzirrhose auf (Di Bisceglie, 2000).

Bei einer Hepatitis C Infektion im Kindesalter findet sich nach unseren Daten im Vergleich zu den Erwachsenen ein deutlich höherer Anteil an spontanen Viruseliminationen. Bei nur noch 55% der Patienten mit anti-HCV Antikörpern lässt sich auch HCV-RNA nachweisen als Ausdruck einer aktiven Infektion. Knapp die Hälfte der infizierten Kindern, und damit signifikant mehr als in der Erwachsenenliteratur beschrieben, hatten somit das Virus spontan eliminiert. Eine mögliche Ursache der verbesserten Spontanelemination liegt am Zeitpunkt der Infektion im frühen Lebensalter und an der langen Nachbeobachtungszeit von durchschnittlich 14,5 Jahren.

Die von uns untersuchten Patienten waren durchschnittlich 2,8 Jahre alt bei der ersten Operation und damit bei der ersten Transfusion. Eine neuere Untersuchung mit einer Fallzahl von 62 Kindern, die durch perinatale Transmission infiziert wurden, zeigte einen HCV-RNA Verlust bei 19% der Kinder nach den 30. Lebensmonat (Resti et al., 2003).

Bei einer japanischen Untersuchung an durchschnittlich 12-jährigen Kindern mit positivem HCV-RNA-Nachweis (Fujisawa et al., 1997) fand sich nach einer Nachbeobachtungszeit von 3 Jahren bei 4 von 48 Kindern (8,3%) eine spontane Remission. Diese hatten durchschnittlich einen niedrigeren HCV-RNA-Titer als die übrigen.

Die therapeutischen Möglichkeiten der antiviralen Therapie haben sich in den letzten 10 Jahren deutlich verbessert, wenn gleich sie stark abhängig sind vom viralen Genotyp. Bis Ende der 90er Jahre stand als therapeutische Option bei einer chronischen Hepatitis C Infektion lediglich Interferon-alpha zur Verfügung. So lagen die Gesamtansprechraten für eine Interferon-alpha Monotherapie nach 48-wöchiger Gabe noch bei 13% und für den Genotyp 1 nur bei 7%. So konnte in Kombination mit Ribavirin die Gesamtansprechrates auf 38% und für den Genotyp 1 auf 28% erhöht werden (McHutchison et al., 1998). Mit Verwendung von retardiertem Interferon, dem sog. pegylierten Interferon, in der Kombinationsbehandlung konnte die Gesamtansprechrates auf 54 - 56% gesteigert werden (Wedemeyer et al., 2002). Mit dieser Therapie konnte eine signifikante Verbesserung der Ansprechrate für

Patienten mit HCV-Genotyp 1 auf 42% erreicht werden (Heintges et al., 2001). Als Prädiktoren für das gute Ansprechen auf eine antivirale Therapie bei Hepatitis C gelten neben dem Genotyp auch die niedrige Viruslast und ein geringer Grad der histologischen Leberveränderungen (Tsubota et al., 1994).

Nach diesen Daten ist die Indikation zur antiviralen Therapie bei asymptomatischen Patienten mit chronischer Hepatitis C Infektion und niedriger Viruslast noch ungeklärt. Bei Patienten mit einer hohen Viruslast und zirrhotischen Veränderungen in der Leberbiopsie ist die Indikation zur Kombinationstherapie mit pegyliertem Interferon und Ribavirin gegeben. Alle anti-HCV positiven Patienten aus unserer Studie wurden zur genauen Abklärung und zur Indikationsstellung für eine Therapie in der Gastroenterologischen Ambulanz des Dr. von Haunerschen Kinderspitals mitbetreut.

Schlussfolgerung:

Unsere Daten zeigen, dass polytransfundierte Kinder nach Herzoperation in der Vorscreening-Ära ein hohes HCV-Infektionsrisiko aufweisen und deshalb ähnlich wie andere pädiatrische Risikogruppen (z. B. Hämophile) behandelt werden müssen. Als besondere Risikofaktoren zeigten sich dabei

- 1.) die Anzahl der durchgeführten Herzoperationen,
- 2.) die Menge der verabreichten Blutprodukte und
- 3.) die Gabe von Warmblutkonserven als Risikoblutart.

Da in fast allen Fällen die HCV-Infektion lange Jahre asymptomatisch bleibt, kann nur ein generelles Screening mittels ELISA-Test mögliche Infektionen aufdecken. Dieses Screening scheint umso mehr gerechtfertigt als mittels Kombinationstherapie mit pegyliertem Interferon und Ribavirin inzwischen eine Therapieoption offen steht. Der Nachweis von anti-HCV-Antikörpern spiegelt eine laufende oder stattgehabte Hepatitis C Infektion wieder, wohingegen der Nachweis von HCV-RNA Ausdruck einer persistierenden Infektion ist. Bei positivem anti-HCV-Antikörper-Test sollte deshalb zwingend eine persistierende Infektion mittels dreifacher PCR-Untersuchung ausgeschlossen oder bewiesen werden. Bei unseren untersuchten anti-HCV-positiven Patienten zeigte sich eine Spontan-Eliminationsrate des Virus von 45 % der Patienten. Dies liegt deutlich über der Spontan-Eliminationsrate bei Infektion im Erwachsenenalter, sodass bei früher Infektion im Kindesalter offenkundig mit einer höheren Clearingrate gerechnet werden kann.

5. Zusammenfassung

Gezeigt werden konnte erstmalig in Europa ein 20-fach erhöhtes Risiko gegenüber der Normalbevölkerung für eine Hepatitis C Infektion nach Herzoperationen im Kindesalter vor Einführung des Blutspenderscreenings. Bei der Untersuchung an 458 Patienten zeigte sich eine Prävalenz von 14,6 % für eine HCV-Infektion. Als Risikofaktoren konnten die Anzahl der Operationen, der verabreichten Blutprodukte, die Gabe von Warmblutkonserven, sowie der Zeitpunkt der Operation vor 1985 identifiziert werden. Diese Daten beweisen, dass polytransfundierte Kinder nach Herzoperation ähnlich wie andere pädiatrische Risikogruppen (z.B. Hämophilie) behandelt werden müssen. Da die HCV-Infektion meist lange Jahre asymptomatisch bleibt, kann nur ein generelles Screening mittels ELISA eine mögliche Infektion aufdecken und somit die HCV-Infizierten einer Therapie mit pegyliertem Interferon und Ribavirin zugeführt werden.

6. Literaturverzeichnis

1. Aach RD, Szmuness W, Mosley JW et al. Serum alanine aminotransferase of donors in relation to the risk of non-A,non-B hepatitis in recipients: the transfusion-transmitted viruses study. *N Engl J Med* 1981;304:989-94.
2. Alter HJ, Holland PV, Purcell RH et al. Posttransfusion hepatitis after exclusion of commercial and hepatitis-B antigen-positive donors. *Ann Intern Med* 1972;77:691-9.
3. Alter HJ, Purcell RH, Holland PV, Alling DW, Koziol DE. Donor transaminase and recipient hepatitis. Impact on blood transfusion services. *Jama* 1981;246:630-4.
4. Alter HJ. To C or not to C: these are the questions. *Blood* 1995;85:1681-95.
5. Alter MJ, Hadler SC, Judson FN et al. Risk factors for acute non-A, non-B hepatitis in the United States and association with hepatitis C virus infection. *Jama* 1990;264:2231-5.
6. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C in the West. *Semin Liver Dis* 1995;15:5-14.
7. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C. *Hepatology* 1997;26:62S-65S.
8. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the united states, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999;341:556-62
9. Beeson PB. Jaundice occurring one to four month after transfusion of blood or plasma. Report of seven cases. *JAMA* 1943;121:1332-4
10. Bell J, Batey RG, Farrell GC, Crewe EB, Cunningham AL, Byth K. Hepatitis C virus in intravenous drug users. *Med J Aust* 1990;153:274-6.

11. Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S. A "New" antigen in leukemia sera. *Jama* 1965;191:541-6.
12. Bortolotti F, Resti M, Giacchino R, et al. Hepatitis C virus infection and related liver disease in children of mothers with antibodies to the virus. *J Pediatr* 1997;130:990-3.
13. Bresee JS, Mast EE, Coleman PJ et al. Hepatitis C virus infection associated with administration of intravenous immune globulin. A cohort study. *Jama* 1996;276:1563-7.
14. Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin Liver Dis* 1995;15:41-63.
15. Cesaro S, Petris MG, Rossetti F et al. Chronic hepatitis C virus infection after treatment for pediatric malignancy. *Blood* 1997;90:1315-20.
16. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989;244:359-62.
17. Colin C, Lanoir D, Touzet S, Meyaud-Kraemer L, Bailly F, Trepo C. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature. *J Viral Hepat* 2001;8:87-95.
18. Conry-Cantilena C, VanRaden M, Gibble J, et al. Routes of infection, viremia, and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 1996;334:1691-6.
19. Darby SC, Ewart DW, Giangrande PL et al. Mortality from liver cancer and liver disease in haemophilic men and boys in UK given blood products contaminated with hepatitis C. UK Haemophilia Centre Directors' Organisation. *Lancet* 1997;350:1425-31.

20. De Pascale M, Casiraghi MA, Biagiotti S, Rossi U, Zanetti AR. Association between neonatal blood microtransfusions in the 1960s and hepatitis C infection. *Lancet* 2000;356:1572-3.
21. Di Bisceglie AM. Hepatitis C. *Lancet* 1998;351:351-5.
22. Di Bisceglie AM. Natural history of hepatitis C: its impact on clinical management. *Hepatology* 2000;31:1014-8
23. Dienstag JL, Purcell HR, Alter HJ, Feinstone SM, Wong DC, Holland PV. Non-A, non-B post-transfusion hepatitis. *Lancet* 1977;1:560-2.
24. EASL International Consensus Conference on hepatitis C 26.- 28. Feb. 1999. Consensus Statement. *J Hepatol* 1999;30:956-61.
25. Ezzell C. Candidate cause identified of non-A, non-B hepatitis. *Nature* 1988;333:195.
26. Fabrizi F, Lunghi G, Guarnori I et al. Incidence of seroconversion for hepatitis C virus in chronic haemodialysis patients: a prospective study. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:1611-5.
27. Fujisawa T, Komatsu H, Inui A, et al. Spontaneous remission of chronic hepatitis C in children. *Eur J Pediatr* 1997;156:773-6.
28. Garfein RS, Vlahov D, Galai N, Doherty MC, Nelson KE. Viral infections in short-term injection drug users: the prevalence of the hepatitis C, hepatitis B, human immunodeficiency, and human T-lymphotropic viruses. *Am J Public Health* 1996;86:655-61.
29. Guertler L. Virus safety of human blood, plasma, and derived products. *Thromb Res* 2002;107:S39-45.

30. Hardikar W. Hepatitis C in childhood. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17:476-81.
31. Heintges T, Erhardt A, Wenning M, et al. Pegyliertes (PEG-) Interferon: Eine neue Therapieoption bei chronischer Hepatitis C. *Dt. Ärztebl* 2001;98:A182-4
32. Jara P, Resti M, Giacchino R, et al. Chronic hepatitis C virus infection in childhood: clinical pattern and evolution in 224 white children. *Clin Infect Dis* 2003;36:275-80.
33. Jonas MM, Baron MJ, Bresee JS, et al. Clinical and virologic features of hepatitis C virus infection associated with intravenous Immunglobulin. *Pediatrics* 1996;98:211-5
34. Kim WR. The burden of hepatitis C in the United States. *Hepatology* 2002;36:S30-4.
35. Kiyosawa K, Sodeyama T, Tanaka E, et al. Interrelationship of blood transfusion, non-A, non-B hepatitis and hepatocellular carcinoma: analysis by detection of antibodies to hepatitis C virus. *Hepatology* 1990;12:671-5.
36. Klein RS. Occupational risk for hepatitis c virus infection among New York City dentists. *Lancet* 1991;338:1539-42.
37. Kleinman S, Alter H, Busch M, Holland P, Tegtmeier G, Nelles M et al. Increased detection of hepatitis C virus (HCV)-infected blood donors by a multiple-antigen HCV enzyme immunoassay. *Transfusion* 1992;32:369-73.
38. Kolykhalov AA, Agapov EV, Blight KJ, Mihalik K, Feinstone SM, Rice CM. Transmission of hepatitis C by intrahepatic inoculation with transcribed RNA. *Science* 1997;277:570-4.
39. Locasciulli A, Testa M, Pontisso P et al. Prevalence and natural history of hepatitis C infection in patients cured of childhood leukemia. *Blood* 1997;90:4628-33.

40. Makris M, Preston FE, Triger DR et al. Hepatitis C antibody and chronic liver disease in haemophilia. *Lancet* 1990;335:1117-9.
41. Mast EE.: Hepatitis C. *Semin Pediatr Infect Dis* 1997;8:17-22.
42. Matsuoka S, Tataru K, Hayabuchi Y, Nii M, Mori K, Kuroda Y. Post-transfusion chronic hepatitis C in children. *J Paediatr Child Health* 1994;30:544-6.
43. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, et al. Interferon alpha 2B alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998;339:1485-92
44. Minola E, Prati D, Suter F, et al. Age at infection affects the long-term outcome of transfusion-associated chronic hepatitis C. *Blood* 2002;99:4588-91.
45. Nelson SP, Jonas MM. Hepatitis C Infection in children who received extracorporeal membrane oxygenation. *J Pediatr Surg* 1996;31:644-8
46. Nishiguchi S, Kuroki T, Fukuda K et al. Familial clustering of HCV. *Lancet* 1992;339:1486.
47. Norol F, Roche B, Girardin MF et al. Hepatitis C virus infection and allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation* 1994;57:393-7.
48. Nowicki MJ, Balistreri WF. The hepatitis C virus: Identification, epidemiology, and clinical controversies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995;20:248-74.
49. Offergeld R, Kramer M, Burger R, Ritter S, Stark K. Prevalence and incidence of HIV, HCV and HBV infections among German blood donors in 2001. *Infus Ther Transfus Med* 2002;29:22.

50. Ohto H, Terazawa S, Sasaki N et al. Transmission of hepatitis C virus from mothers to infants. The Vertical Transmission of Hepatitis C Virus Collaborative Study Group. *N Engl J Med* 1994;330:744-50.
51. Palitzsch KD, Hottentrager B, Schlottmann K et al. Prevalence of antibodies against hepatitis C virus in the adult German population. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;11:1215-20.
52. Pereira BJG.: Screening and confirmatory testing of cadaver organ donors for hepatitis C virus infection: a U.S. National Collaborative Study. *Kidney Int* 1994;46:886-92.
53. Pereira BJG.: Transmission of hepatitis C virus by organ transplantation. *N Engl J Med* 1991;325:454-60.
54. Pietrabissa A, Merigliano S, Montorsi M et al. Reducing the occupational risk of infections for the surgeon: multicentric national survey on more than 15,000 surgical procedures. *World J Surg* 1997;21:573-8.
55. Resti M, Azzari C, Rossi ME, Vullo C, Zammarchi E, Vierucci A. Hepatitis C virus antibodies in a long-term follow-up of beta-thalassaemic children with acute and chronic non-A non-B hepatitis. *Eur J Pediatr* 1992;151:573-6.
56. Resti M, Jara P, Hierro L et al. Clinical features and progression of perinatally acquired hepatitis C virus infection. *J Med Virol* 2003;70:373-7.
57. Roberts EA, Yeung L. Maternal-infant transmission of hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2002;36:S106-13.
58. Romano L, Azara A, Chiaramonte M et al. Low prevalence of anti-HCV antibody among Italian children. *Infection* 1994;22:350-2.
59. Roth D, Zucker K, Cirocco R et al. The impact of hepatitis C virus infection on renal allograft recipients. *Kidney Int* 1994;45:238-44.

60. Sanchez-Tapias JM, Barrera JM, Costa J et al. Hepatitis C virus infection in patients with nonalcoholic chronic liver disease. *Ann Intern Med* 1990;112:921-4.
61. Schreiber GB, Busch MP, Kleinman SH, Korelitz JJ. The risk of transfusion-transmitted viral infections. The Retrovirus Epidemiology Donor Study. *N Engl J Med* 1996;334:1685-90.
62. Seelig R, Renz M, Bottner C, Seelig HP. Hepatitis C virus infections in dialysis units: prevalence of HCV-RNA and antibodies to HCV. *Ann Med* 1994;26:45-52.
63. Simmonds P, Alberti A, Alter HJ et al. A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes. *Hepatology* 1994;19:1321-4.
64. Simmonds P. Variability of hepatitis C virus. *Hepatology* 1995;21:570-83.
65. Stevens CE, Silbert JA, Miller DR, Dienstag JL, Purcell RH, Szmunes W. Serologic evidence of hepatitis A and B virus infections in thalassemia patients: a retrospective study. *Transfusion* 1978;18:356-60.
66. Stevens CE, Aach RD, Hollinger FB et al. Hepatitis B virus antibody in blood donors and the occurrence of non-A, non-B hepatitis in transfusion recipients. An analysis of the Transfusion-Transmitted Viruses Study. *Ann Intern Med* 1984;101:733-8.
67. Terrault NA. Sexual activity as a risk factor for hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S99-105.
68. Tobler LH, Busch MP. History of posttransfusion hepatitis. *Clin Chem* 1997;43:1487-93.

69. Tong MJ, el-Farra NS, Reikes AR, Co RL. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. *N Engl J Med* 1995;332:1463-6.
70. Tsubota A, Chayama K, Ikeda K, et al. Factors predictive of response to Interferon- α therapy in hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1994;19:1088-94
71. Vogt M, Lang T, Frosner G et al. Prevalence and clinical outcome of hepatitis C infection in children who underwent cardiac surgery before the implementation of blood-donor screening. *N Engl J Med* 1999;341:866-70.
72. Vogt M, Mühlbauer F, Braun S, et al. Prevalence and risk factors of hepatitis C infection after cardiac surgery in childhood before and after blood donor screening. Accepted for publication in *Infection* 2004
73. Walsh JH, Purcell RH, Morrow AG, Chanock RM, Schmidt PJ. Posttransfusion hepatitis after open-heart operations. Incidence after the administration of blood from commercial and volunteer donor populations. *Jama* 1970;211:261-5.
74. Wedemeyer H, Wiegand J, Cornberg M, Manns MP. Polyethylene glycol-interferon: Current status in hepatitis C virus therapy. *Gastroenterol Hepatol* 2002;17:344-50.
75. World Health Organisation. Global prevalence of Hepatitis C, June 1999. *Releve Epidemiologique Hebdomadaire*, N°3, 21 Janvier 2000.
76. World Health Organisation. Global surveillance and control of Hepatitis C. *J Viral Hepat* 1999;6:35-47

7. Danksagung

Herrn Prof. Hess möchte ich danken für die Bereitstellung des Themas, sowie die Überlassung der Patientendaten. Herrn Prof. Frösner und dem hepatologischen Labor des Max-von-Pettenkofer-Institutes danke ich für die Durchführung der virologischen Untersuchungen und der Anregung zu diesem Thema. Herrn Dr. Vogt danke ich für die Betreuung bei der Durchführung dieser Dissertation, dass er mir mit Rat und Tat zur Seite stand. Für die Mitbetreuung danke ich ferner Herrn PD Dr. Lang aus der Dr. von Haunerschen Kinderklinik. Dem Labor für klinische Chemie unter der Leitung von Prof. Vogt und dem Blutdepot im Deutschen Herzzentrum München danke ich für die Unterstützung beim Sammeln der Daten. Bei Frau Dr. R. Busch vom Institut für medizinische Statistik der Technischen Universität München möchte ich mich für die Durchführung statistischer Berechnungen bedanken.