

Prävalenz und Risikofaktoren für eine
transfusionsbedingte Infektion mit GB Virus C bei
erwachsenen Patienten mit Herz-OP im Kindesalter

BARBARA LESEMANN

Deutsches Herzzentrum München
Klinik für Kinderkardiologie
und angeborene Herzfehler
Technische Universität München

Prävalenz und Risikofaktoren für eine transfusionsbedingte Infektion mit
GB Virus C bei erwachsenen Patienten mit Herz-OP im Kindesalter

Barbara Lesemann

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 21.11.2006 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 21.03.2007 angenommen.

Diese Studie wurde unter der Leitung von Herrn Dr. M. Vogt in der Abteilung für Kinderkardiologie und angeborene Herzfehler am Deutschen Herzzentrum München durchgeführt. Allen, die mich bei der Durchführung dieser Arbeit unterstützt haben, möchte ich an dieser Stelle sehr herzlich danken.

Herrn Dr. M. Vogt für die konstruktive und angenehme Betreuung und Hilfestellung in allen Phasen dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. J. Hess für die Möglichkeit der Durchführung dieser Studie in seiner Klinik.

Herrn Prof. Dr. G. Frösner und seinem Team am Max von Pettenkofer-Institut für die reibungslose Durchführung der Laboruntersuchungen.

Frau R. Busch vom Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie für die große Hilfe bei der statistischen Aufbereitung der gewonnenen Daten.

Allen, die dazu beigetragen haben, die notwendigen Daten und Blutproben zu beschaffen und zu verarbeiten.

Henning für die EDV-technische und vor allem moralische Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung	1
1.1	GB Virus C / Hepatitis G Virus	2
1.1.1	Das GB Virus C / Hepatitis G Virus und seine Entdeckung	2
1.1.2	Epidemiologie und Transmission	2
1.1.3	Klinische Relevanz des GB Virus C	3
1.2	Fragestellung	4
1.3	Gliederung der Arbeit	5
2	Methoden	6
2.1	Kollektive	6
2.1.1	Patientenkollektiv	6
2.1.2	Kontrollgruppe	6
2.1.3	Verwendete Blutprodukte	6
2.2	Diagnostik / Verfahren	7
2.3	Statistik	8
3	Ergebnisse	9
3.1	Biographische Daten	9
3.2	Prävalenz allgemein	9
3.2.1	PCR	9
3.2.2	Nested PCR	10
3.2.3	Antikörper	10
3.2.4	Gesamtprävalenz	10
3.3	Altersspezifische Prävalenz	11
3.3.1	Patientenkollektiv	12
3.3.2	Kontrollgruppe	12
3.4	Verlauf der Infektion	12
3.5	Risikofaktoren	13
3.5.1	Biographische Einflussgrößen	13
3.5.2	Anzahl und Art der Transfusionen	15
3.5.3	Multivariate Analyse	17
3.6	Leberwerte	17
3.7	Zusammenhang mit HCV	19

4	Diskussion	21
4.1	Prävalenz und biographische Einflussgrößen.....	21
4.2	Risikofaktoren	21
4.3	GBV-C und HCV	23
4.4	Leberwerte	23
5	Zusammenfassung.....	25
6	Abkürzungsverzeichnis	26
7	Literaturverzeichnis	27

1 EINLEITUNG

Im Jahr 1995 wurde das GB Virus C (GBV-C) erstmals als potentiell infektiöses Agens für Hepatitiden aus der Gruppe der Non A-E Hepatitiden beschrieben (13). Nach den ersten Publikationen über die Entdeckung des neuen Virus wurde eine Reihe von Untersuchungen durchgeführt, um mögliche Übertragungswege aufzudecken und die klinische Relevanz einer Infektion mit dem GBV-C Virus einzugrenzen. Im Verlauf wurden kontroverse Meinungen bezüglich der Rolle von GBV-C in der Pathogenese von Non A-E Hepatitiden (2) vertreten.

In mehreren Untersuchungen zeigte sich ein mit dem Hepatitis C Virus vergleichbarer Übertragungsweg. GBV-C wird ebenfalls parenteral z.B. durch Gabe von Blut oder Blutprodukten (5), durch intravenösen Drogenabusus (3), Hämodialyse (4), durch Sexualkontakte oder vertikal von Müttern auf ihre ungeborenen Kinder übertragen. Entgegen anfänglicher Vermutungen scheint GBV-C in der Pathogenese akuter Lebererkrankungen keine bzw. nur eine untergeordnete Bedeutung zu haben. Die Rolle des GB Virus C als Ursache einer floriden Non A-E Hepatitis wird kontrovers diskutiert, es liegen aber derzeit mehrere Studien (12, 21, 27) vor, die keinen Zusammenhang einer Infektion mit GBV-C und einer akuten entzündlichen Lebererkrankung zeigen.

Bei GBV-C und HIV coinfizierten Patienten zeigte sich zuletzt eine bessere Prognose als für Patienten mit einer HIV Monoinfektion (29). GBV-C scheint hier einen protektiven Einfluss zu haben und die Vermehrung des HI Virus zu verlangsamen.

Bezüglich einer Coinfektion mit GBV-C und HCV gibt es bisher nur wenige Daten. Erste Untersuchungen (zitiert in 20) ließen zunächst eine bessere Prognose bezüglich des klinischen Verlaufes und des Outcome von GBV-C / HCV coinfizierten Patienten im Vergleich mit Patienten, die ausschließlich mit HCV infiziert waren, vermuten. Dies konnte aber in Folgeuntersuchungen nicht verifiziert werden (20).

Auch von Patienten mit kindlicher GBV-C Infektion existieren bislang nur wenige Daten.

Ziel der hier vorgestellten Studie war eine Beschreibung der GBV-C Prävalenz und möglicher Risikofaktoren der Übertragung in einer polytransfundierten Risikopopulation im Vergleich mit einer Kontrollgruppe aus der Normalpopulation. Es wurden Blut- und Serumproben von 414 Patienten mit angeborenen Herzfehlern untersucht, welche im Deutschen Herzzentrum in München operiert wurden, viele von diesen wiederholt und häufig unter Einsatz der Herz-Lungenmaschine. Im Rahmen dieser Eingriffe erfolgten meist mehrfache Transfusionen unterschiedlicher Blutprodukte. Dem Patientenkollektiv wurde eine Kontrollgruppe mit 487 alters- und geschlechtsgemachten Kontrollpersonen gegenübergestellt. In beiden Gruppen wurden sowohl GBV-C RNA als auch Antikörper bestimmt. Beim Patientenkollektiv wurden nach Aktenlage eine Reihe zusätzlicher Daten

wie z.B. bestimmte biographische Kenngrößen, Anzahl und Zeitpunkte von Operationen, Arten und Anzahl der erhaltenen Blutprodukte und Leberparameter erfasst. Aus Voruntersuchungen war der Infektionsstatus bezüglich Hepatitis C bekannt (31).

1.1 GB Virus C / Hepatitis G Virus

1.1.1 Das GB Virus C / Hepatitis G Virus und seine Entdeckung

Das GB Virus C ist eine Spezies aus der Gruppe der Flaviviridae und wurde erstmals 1994 aus dem Plasma eines Patienten mit einer ätiologisch ungeklärten chronischen Hepatitis extrahiert und nachgewiesen. Diese Isolierung gelang fast zeitgleich mit der Isolierung des Hepatitis G Virus (HGV). Da die Genome beider Isolate jedoch weitgehend übereinstimmen, wird retrospektiv von zwei unterschiedlichen Isolaten des gleichen Virus ausgegangen (13, 14, 18, 35). Nachfolgend werden beide Ausdrücke identisch verwendet.

Das GBV-C ist ein Einzelstrang ((+)-Strang) RNA Virus mit einer Länge von 9125 bzw. 9391 Nukleotiden. Nach aktuellem Stand der Wissenschaft wird angenommen, dass sich der Replikationsort des Virus mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit in der Leber befindet. 1998 konnte eine Arbeitsgruppe in vitro eine hohe Affinität zu Leberzellen nachweisen (8). Einer weiteren Arbeitsgruppe gelang der Nachweis von (-)-Strang RNA in Leberbiopsien; dies wurde als Zeichen einer aktiven GBV-C-Replikation in der Leber gedeutet (15).

In peripheren Blutlymphozyten und im Serum infizierter Patienten konnte (+)-Strang RNA, jedoch keine (-)-Strang GBV-C RNA nachgewiesen werden. Im Allgemeinen wird die Anwesenheit von (-)-Strang RNA als Zeichen aktiver Replikation gedeutet (11, 16).

1.1.2 Epidemiologie und Transmission

GBV-C besitzt grundsätzlich den gleichen Übertragungsmodus wie das Hepatitis C Virus und wird vorwiegend parenteral übertragen (22). Wie HCV ist auch das GBV-C Virus in einem hohen Prozentsatz sowohl bei Blutspendern als auch bei polytransfundierten Patienten im Serum nachweisbar. Weltweit kommt es in einer ähnlichen Häufigkeit wie HCV vor. In der Normalbevölkerung liegt die Prävalenz zwischen 1,3 % und 5 %, wobei ein deutlicher Prävalenzunterschied zwischen den Bewohnern ländlicher und städtischer Regionen festgestellt werden konnte (20). Bei einer Untersuchung von Blutspendern in Hessen zeigte sich unter den Bewohnern ländlicher Gebiete eine deutlich niedrigere Prävalenz (0,78 %) als bei Stadtbewohnern (2,18 %). Ähnliche Resultate ergab eine niederländische Untersuchung (0,1 % versus 1,5 %). Andere Untersuchungen

unterscheiden zwischen Industrieländern mit einer nachweisbaren Virämie von ca. 1 % bis 5 % der Blutspender und Entwicklungsländern, in denen die Spender mit 10 % bis 20 % einen erhöhten Durchseuchungsgrad aufweisen (18).

Eine erhöhte Prävalenz (bis zu 30 %) findet sich bei Personengruppen mit einem erhöhten parenteralen Transmissionsrisiko. Als Risikogruppen haben sich in verschiedenen Untersuchungen vor allem polytransfundierte Patienten herauskristallisiert. Hier wird speziell der Zustand nach Plasmatransfusionen hervorgehoben (5, 6). Dies erklärt ebenfalls das erhöhte Infektionsrisiko für Hämodialyse-Patienten und an Hämophilie oder anderen Krankheiten erkrankten Personen, deren Therapie die Gabe von Plasma bzw. Plasmabestandteilen erfordert. Weiterhin wird das GB Virus C durch Sexualkontakte übertragen und vermehrt bei Personen mit einem sogenannten „Risikosexuilverhalten“ nachgewiesen, was durch Studien an Partnern von i.v. Drogenabhängigen (3) und Prostituierten (22) belegt wird.

GBV-C konnte aus der Samenflüssigkeit und dem Speichel von Individuen isoliert werden, bei denen man vorher Virus RNA im Serum nachgewiesen hatte. Im Speichel wurden allerdings erheblich niedrigere Virus RNA Titer als im Serum gemessen (23).

Als weiterer Übertragungsweg ist die vertikale Transmission von Schwangeren, die zum Zeitpunkt der Geburt aktiv mit dem Virus infiziert waren, auf ihre Kinder beschrieben. Überraschend war, dass die Rate der Mutter-Kind-Transmission bei HCV / GBV-C coinfizierten Müttern für GBV-C nach Mphalele et al. (18) um ein Vielfaches höher war als für HCV (61,8 % versus 2,9 %). Auffällig ist auch die hohe Durchseuchungsrate gesunder Blutspender und der Allgemeinbevölkerung ohne speziell erkennbare Risikofaktoren für eine parenterale Ansteckung sowie ohne Zeichen einer chronisch inflammatorischen Lebererkrankung (7, 8).

1.1.3 Klinische Relevanz des GB Virus C

Nach der Identifizierung des Hepatitis C Virus blieben immer noch etwa 10 % der posttransfusionellen und 20 % der „community acquired“ Hepatitiden, denen kein definiertes ätiologisches Agens zugeordnet werden konnte (sog. cryptogene Hepatitis). Zunächst ging man davon aus, dass GBV-C als Erreger dieser Non A-E Hepatitiden in Frage kam. In der Literatur wurden Fälle von akuten, zum Teil auch fulminanten Hepatitiden (2, 18) sowie chronischer Hepatitiden (18) beschrieben, in denen GBV-C / HGV als die einzig definierbare mögliche Infektionsursache nachgewiesen werden konnte. Später wurde bei Patienten mit einer GBV-C / HGV Monoinfektion eine Hepatitis mit sehr mildem Verlauf assoziiert, nach der sich aber bei fast allen Patienten die Leberwerte völlig normalisierten (2, 10).

Inzwischen wurde diese Sichtweise wieder aufgegeben und es wird davon ausgegangen, dass eine GBV-C / HGV Infektion in der Regel nicht mit klinischen Symptomen oder

laborchemischen Zeichen einer Lebererkrankung einhergeht (12), denn bei der Mehrzahl der Virusträger gab es weder klinisch noch laborchemisch Hinweise auf eine Lebererkrankung. Auch bei GBV-C RNA positiven Blutspendern konnten keine erhöhten Transaminasen belegt werden (1).

Aktuell wird diskutiert, ob andere nicht in der Leber lokalisierte Erkrankungen im Zusammenhang mit einer Infektion mit dem GB Virus C zu sehen sind (21). Eine aktuelle Studie beschreibt z.B. ein besseres Outcome von HIV infizierten Patienten, welche mit GBV-C coinfiziert sind. Es zeigte sich eine bessere Prognose mit verzögerter Krankheitsprogression (33, 34). Der genaue Mechanismus ist hier noch nicht entschlüsselt, es wird eine Inhibition der Vermehrung des HI-Virus bei gleichzeitiger Vermehrung von GBV-C vermutet.

1.2 Fragestellung

Nach den ersten Veröffentlichungen über das GB Virus C / Hepatitis G Virus gab es Hinweise auf Risikogruppen von Personen, bei denen eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für eine GBV-C Infektion vorlag. Auch das hier untersuchte Patientenkollektiv ist als Risikogruppe zu bezeichnen. Es handelt sich hierbei um Patienten, bei denen in der Regel zahlreiche herzchirurgische Eingriffe, auch mit Einsatz der Herz-Lungenmaschine und vielen Transfusionen durchgeführt wurden.

In einer vorhergehenden Untersuchung (31) wurde für das identische Patientenkollektiv ein erhöhtes Risiko von 14,6 % für eine HCV Infektion nachgewiesen. In der Kontrollgruppe betrug damals die HCV-Prävalenz nur 0,7 %. Hier hatten sich vor allem die Transfusion von Warmblut, die Anzahl der Operationen und die Gesamtanzahl der erhaltenen Blutprodukte als Risikofaktoren herauskristallisiert.

Von besonderem Interesse waren folgende Fragestellungen:

- Gibt es Prävalenzunterschiede zwischen dem Patientenkollektiv und der Normalbevölkerung (repräsentiert durch die Kontrollgruppe)?
- Gibt es spezielle biographische Faktoren, welche die Prävalenz beeinflussen?
- Gibt es spezielle Risikofaktoren für eine Infektion mit GBV-C? Sind diese mit den bei HCV beobachteten Risikofaktoren vergleichbar?
- Verursacht GBV-C eine Inflammation der Leber, sind Hinweise auf eine Schädigung der Leber zu erkennen?
- Gibt es einen Zusammenhang mit Hepatitis C bzw. Hinweise einer wechselseitigen Beeinflussung beider Viren?

1.3 Gliederung der Arbeit

Nach einer Vorstellung der Studienkollektive und der verwendeten Methoden (Kapitel 2) erfolgt eine detaillierte Aufstellung der Ergebnisse (Kapitel 3). Begonnen wird hier mit der Darstellung biographischer Daten und der Prävalenz, welche im Einzelnen differenziert wird nach Analysearten sowie geschlechts- und altersspezifischer Prävalenz. Der Infektionsverlauf wird beschrieben und spezielle Risikofaktoren für eine GBV-C Infektion werden analysiert. Weiterhin wird der Einfluss der Infektion auf die Leberwerte und eine ggf. parallel bestehende HCV Infektion vorgestellt.

In Kapitel 4 dieser Arbeit werden die zuvor beschriebenen Ergebnisse diskutiert und im Kontext mit aktuellen Veröffentlichungen anderer Arbeitsgruppen gewertet.

2 METHODEN

2.1 Kollektive

Nach Genehmigung des Studienprotokolls durch das Ethik-Komitee der Technischen Universität München und nach Einholen des schriftlichen Einverständnisses der Patienten bzw. ihrer gesetzlichen Vertreter wurden die unten genannten Kollektive untersucht.

2.1.1 Patientenkollektiv

Betrachtet wurde ein Kollektiv von 414 Patienten (220 männlich, 194 weiblich) mit verschiedenen angeborenen Herzfehlern, welche im Kindesalter zwischen 1966 und 1993 im Deutschen Herzzentrum in München mindestens einmal operiert wurden und hier auch nachbetreut wurden. Die Probengewinnung (Serum) erfolgte i.d.R. im Rahmen einer ambulanten Kontrolluntersuchung, bei einer erneuten stationären Aufnahme oder durch den behandelnden Haus- bzw. Kinderarzt (jeweils bei Routine-Blutabnahmen). Die Erfassung verschiedener Parameter war zum Teil bereits im Rahmen der Hepatitis C Studie von Vogt et al. (31) erfolgt.

2.1.2 Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe bestand aus 487 (262 männlichen, 225 weiblichen) alters- und geschlechtsgematchten, zufällig ausgewählten lebergesunden Vergleichspersonen, die aus dem Einzugsgebiet des Max-von-Pettenkofer-Instituts stammen und so die lokale Bevölkerung widerspiegeln.

Patienten sowie Kontrollpersonen wurden in Altersgruppen nach der WHO eingeteilt (0 - 4,99 Jahre = Altersgruppe 1; 5 – 9,99 Jahre = Altersgruppe 2; 10 – 14,99 Jahre = Altersgruppe 3 usw.).

2.1.3 Verwendete Blutprodukte

Heparinblut:	nach Heparinzugabe lagerungsfähiges Vollblut
Warmblut:	Vollblut, welches nach Spende binnen 24 h transfundiert wird
Vollblut:	Blut mit allen Bestandteilen

Erythrozytenkonzentrat:	aus Vollblut angereicherte Erythrozyten in Additivlösung (plasmafrei)
Frischblut:	Vollblutkonserven, welche innerhalb von 48 h nach Spende transfundiert wird
Frischplasma:	Blutplasma, gepoolt aus den Plasmen verschiedener Spender, Transfusion binnen 48 h nach Spende
Thrombozytenkonzentrat:	aus Vollblut angereicherte Thrombozyten

2.2 Diagnostik / Verfahren

Die Blutentnahme erfolgte im Rahmen der Routinediagnostik bei einer Nachkontrolle im Deutschen Herzzentrum München oder durch den jeweiligen Hausarzt. Nach Zentrifugieren wurde das Patientenserum bei minus 20° Celsius eingefroren und später im Max-von-Pettenkofer-Institut in München untersucht.

Zuerst wurden alle Serumproben mit Hilfe einer Polymerasekettenreaktion (im Weiteren als PCR bezeichnet) auf das Vorliegen von GBV-C RNA analysiert.

Hierbei wird zunächst die RNA durch Erhitzen auf 94° C denaturiert, d.h. die dsRNA wird zur ssRNA aufgeschmolzen. Im nächsten Schritt, dem Annealing, wird das Reaktionsgemisch auf 50° C herabgekühlt, die Primer können sich so spezifisch an die ssRNA anlagern. Im nächsten Schritt, der Elongation, erfolgt eine Verlängerung der gebundenen Oligonukleotide (Polymerisation). So wird eine neue dsRNA für den nächsten Zyklus synthetisiert. Dieser Vorgang wird 30-mal wiederholt.

Folgende hochgereinigten Primer (Roche Diagnostics) wurden für die Untersuchung verwendet: Sense-Primer 501 5' – CTG ATG TTG CTA GCC TGT GTG AGA – 3' und Antisense-Primer 502 5' – ACC GAC ACC TTA GAT CCC CAG CCC – 3'. Dieser PCR folgte in einem zweiten Schritt eine Nested PCR, die mit folgenden Primern durchgeführt wurde: Sense-Primer 503 5' – AGA ACC ATA CAG CCT ATT GTG ACC – 3' und dem Antisense-Primer 504 5' – CCT TAC AGT CCT TAT TGC TTC TCT – 3'. Nach einer anschließend durchgeführten Gelelektrophorese konnten die aufgetrennten RNA-Fragmente mit Hilfe von UV-Licht in einer Wellenlänge von 302 nm sichtbar gemacht werden. Hierdurch konnten hochsensitiv auch sehr kleine RNA-Mengen nachgewiesen werden, so dass auch bei niedriger Viruslast eine Diagnose möglich war. Beide oben erwähnten Analysetechniken beweisen die Anwesenheit viraler RNA, was einer aktiven Infektion entspricht.

Zum Nachweis eventuell vorhandener Antikörper wurde der μ Plate Anti-Hgenv-Mikrotiterplattentest der Firma Roche Diagnostics durchgeführt. Hierbei handelt es sich

um einen enzymimmunologischen Test zur qualitativen Bestimmung von IgG Antikörpern gegen das Hepatitis G Virus E2 Antigen in Serum und Plasma. Bei diesem Test werden mit immobilisiertem GBV-C Antigen beschichtete Mikrotiterplatten verwendet, welche den Anti-E2 Antikörper binden. Um diese Bindung zu zeigen, wurde ein konjugierter „anti-human“ Antikörper vom Schaf benutzt.

Diese Antikörper gelten als Marker einer zurückliegenden GBV-C Infektion und können über Jahre nach einer abgelaufenen Auseinandersetzung des Körpers mit dem Virus persistieren. In Einzelfällen kann parallel zu den Antikörpern auch noch virale RNA nachgewiesen werden. Diese Personen befinden sich dann in der Übergangsphase zwischen aktiver und überstandener Infektion.

2.3 Statistik

Die statistische Auswertung der gewonnenen Daten erfolgte mit Hilfe des Statistikprogrammes SPSS unter Verwendung des χ^2 -Tests und des U-Tests nach Mann und Whitney. Als signifikant gewertet wurden p-Werte $< 0,05$.

3 ERGEBNISSE

3.1 Biographische Daten

Im Patientenkollektiv wurden 220 männliche (53,1 %) und 194 weibliche (46,9 %) Patienten im Alter bis zu 40 Jahren untersucht.

Die Kontrollgruppe bestand aus 262 männlichen (53,8 %) und 225 weiblichen (46,2 %) altersgematchten Vergleichspersonen.

3.2 Prävalenz allgemein

Begonnen wurde mit der Untersuchung der Prävalenz des GBV-C Virus im Patientenkollektiv. Diese wurde im Anschluss der Prävalenz in der Kontrollgruppe gegenübergestellt.

3.2.1 PCR

Zunächst wurden die Ergebnisse der primären PCR-Analysen begutachtet. Ein positives Ergebnis in der ersten PCR spricht für das Vorliegen von Virus-RNA in einer höheren Konzentration, also von einer eher frischen Infektion mit dem GB Virus-C und einer aktuellen Auseinandersetzung des Körpers mit dem Virus.

PCR	Positiv	negativ
Patientenkollektiv	4,3 % (n = 18)	95,7 % (n = 396)
Kontrollgruppe	0,6 % (n = 3)	99,4 % (n = 484)

Tabelle 1: Prävalenz PCR

Im Patientenkollektiv konnten bei 4,3 % aller getesteten Individuen GBV-C RNA mittels PCR nachgewiesen werden, wogegen in der Kontrollgruppe nur bei 3 von 487 Personen (0,6 %) die PCR positiv war (vgl. **Tabelle 1**). Somit ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen (p-Wert < 0,001).

3.2.2 Nested PCR

In einem zweiten Analyseschritt folgte die Nested PCR. Bei höherer Empfindlichkeit ist es hier möglich, auch sehr geringe Viruskonzentrationen nachzuweisen.

Patienten, welche bereits in der ersten PCR ein positives Ergebnis gezeigt hatten, zeigten dies erwartungsgemäß auch in der Nested PCR.

Nested PCR	Positiv	negativ
Patientenkollektiv	8,2 % (n = 34)	91,8 % (n = 380)
Kontrollgruppe	3,7 % (n = 18)	96,3 % (n = 469)

Tabelle 2: Prävalenz Nested PCR

Beim Patientenkollektiv konnte mit Hilfe der Nested PCR bei 34 Personen GBV-C RNA nachgewiesen werden, in der Kontrollgruppe hingegen nur bei 18 Personen (vgl. **Tabelle 2**). Mit 8,2 % versus 3,7 % zeigt sich somit ein signifikanter Prävalenzunterschied zwischen beiden Gruppen (p -Wert = 0,004).

Die Patienten, welche einen positiven Nachweis in der Nested PCR zeigen, sind zum Nachweiszeitpunkt aktiv mit GBV-C infiziert.

3.2.3 Antikörper

Auch bei der Bestimmung der Antikörper setzte sich der Trend eines höheren Anteils positiver Proben in der Patientengruppe fort.

Antikörper	Positiv	negativ
Patientenkollektiv	16,2 % (n = 67)	83,8 % (n = 347)
Kontrollgruppe	2,9 % (n = 14)	97,1 % (n = 473)

Tabelle 3: Prävalenz Antikörper

Im Patientenkollektiv fanden sich bei 59 Personen Antikörper gegen das GBV-C Virus, im Gegensatz dazu aber nur bei 14 Kontrollpersonen (vgl. **Tabelle 3**). Hier liegt erneut ein signifikanter Unterschied vor ($p < 0,001$).

3.2.4 Gesamtprävalenz

Um die Gesamtprävalenz oder auch den Grad der Durchseuchung zu bestimmen, d.h. alle Personen zu erfassen, die entweder gerade eine frische GBV-C Infektion haben oder eine Infektion durchgemacht haben, bei denen aber keine RNA mehr nachzuweisen ist,

wurden alle bestimmten Parameter zusammengefasst. Als GBV-C positiv wurden alle Personen eingruppiert, bei denen entweder PCR und / oder Nested PCR und / oder Antikörper positiv nachgewiesen wurden. Als negativ gelten alle Personen, bei denen für keinen der oben genannten Parameter ein positiver Nachweis erbracht werden konnte (vgl. **Tabelle 4**).

GBV-C	Positiv	negativ
Patientenkollektiv	22,5 % (n = 93)	77,5 % (n = 321)
Kontrollgruppe	6,2 % (n = 30)	93,8 % (n = 457)

Tabelle 4: Gesamtprävalenz GBV-C

Auch hier findet sich ein signifikanter Unterschied zwischen Patientenkollektiv und Kontrollgruppe ($p < 0,001$).

3.3 Altersspezifische Prävalenz

Hierbei wurden sowohl die Patienten als auch die Kontrollpersonen in Altersgruppen nach der WHO eingeteilt (vgl. 2.1.2). **Abbildung 1** zeigt die nach Altersgruppen differenzierte Gesamtprävalenz.

Man erkennt in beiden Gruppen deutlich die mit dem Alter ansteigende Prävalenz. Bei sehr kleinen Fallzahlen in den Altersgruppen 1, 8 und 9 ($n < 5$) sind die Ergebnisse nur eingeschränkt aussagekräftig; deshalb erfolgt hier keine Darstellung. Die meisten Daten existieren für die Altersgruppe 7 (30 – 34,99 Jahre).

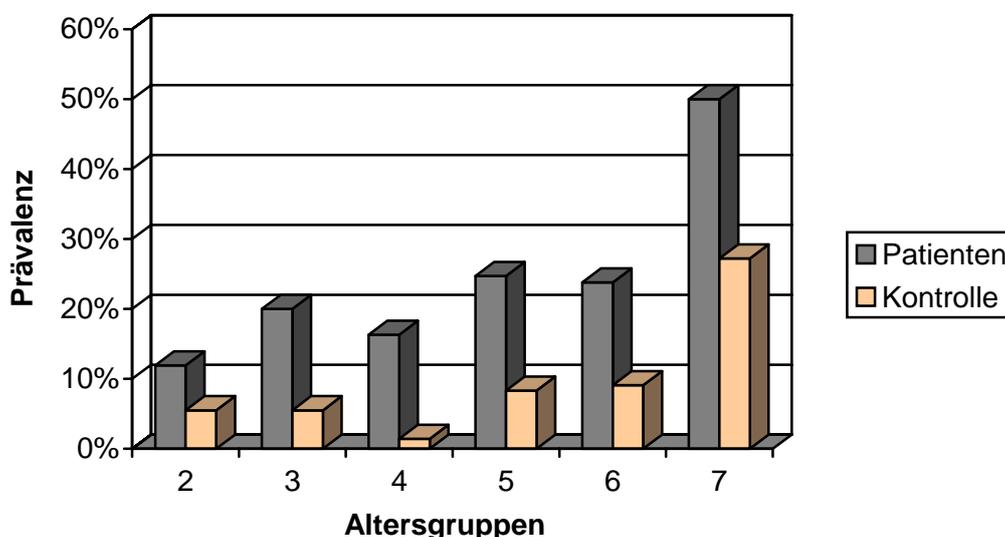


Abbildung 1: Prävalenz nach Alter

3.3.1 Patientenkollektiv

Mit steigendem Alter steigt der prozentuale Anteil GBV-C positiver Patienten deutlich an. So sind beispielhaft in Altersgruppe 2 (5 – 9,99 Jahre) mit 11,9 % signifikant weniger Patienten GBV-C positiv getestet worden als in Altersgruppe 7 (30 – 34,99 Jahre) mit 50,0 % der Patienten.

3.3.2 Kontrollgruppe

Auch in der Kontrollgruppe zeichnet sich mit Ausnahme der Altersgruppe 4 (15 – 19,99 Jahre) ein deutlicher Prävalenzanstieg mit steigendem Alter ab. Insgesamt bestätigt sich in allen Altersgruppen eine niedrigere GBV-C Rate als beim Patientenkollektiv.

3.4 Verlauf der Infektion

Tabelle 5 zeigt – getrennt für Patientenkollektiv und Kontrollgruppe – den Verlauf der Infektion mit GBV-C.

	Patienten	Kontrolle	Gesamt
kein Kontakt mit GBV-C (PCR = 0 / Nested PCR = 0 / Antikörper = 0)	77,5 % n = 321	93,8 % n = 457	86,3 % n = 778
frische Infektion mit GBV-C (PCR = 1 / Nested PCR = 1 / Antikörper = 0)	4,3 % n = 18	0,6 % n = 3	2,3 % n = 21
Übergangsphase 1, hohe Viruslast (PCR = 1 / Nested PCR = 1 / Antikörper = 1)	1,9 % n = 8	0,4 % n = 2	1,1 % n = 10
Übergangsphase 2, niedrige Viruslast (PCR = 0 / Nested PCR = 1 / Antikörper = 1)	1,9 % n = 8	2,7 % n = 13	2,3 % n = 21
ausgeheilte GBV-C Infektion (PCR = 0 / Nested PCR = 0 / Antikörper = 1)	14,3 % n = 59	2,5 % n = 12	7,9 % n = 71
Summe	414	487	901

Tabelle 5: Infektionsverlauf (0 = Nachweis negativ, 1 = Nachweis positiv)

Bei den Personen, welche keinen Kontakt mit GBV-C hatten, sind alle bestimmten Parameter negativ. Eine frische Infektion mit GBV-C ist durch den Nachweis von RNA als Zeichen aktiver Virusreplikation charakterisiert. Es sind noch keine Antikörper nachweisbar. In der Übergangsphase sind die Nachweise für PCR und Antikörper gleichzeitig positiv, die frische Infektion beginnt auszuheilen. Hierbei wird die Übergangsphase 1, während der sowohl in der PCR als auch in der Nested PCR RNA nachgewiesen werden kann, von der Übergangsphase 2 unterschieden, in der nur noch durch die wesentlich sensitivere Nested PCR RNA neben den Antikörpern festgestellt werden kann. Das bedeutet, dass dort deutlich geringere RNA-Mengen zirkulieren. In der letzten Phase ist die Infektion ausgeheilt, es ist keine RNA mehr nachweisbar. Antikörper als Marker der stattgehabten Infektion liegen vor. Anzumerken ist, dass bei der Mehrheit der Personen im Patientenkollektiv, bei denen der Kontakt mit GBV-C nachgewiesen werden konnte, die Infektion bereits ausgeheilt war.

3.5 Risikofaktoren

Aus den oben dargestellten Berechnungen ergibt sich eine signifikant erhöhte GBV-C Prävalenz im Kollektiv der operierten Kinder im Vergleich zur Kontrollgruppe. In der Vorstudie (31) hatten sich verschiedene Risikofaktoren für eine Infektion mit HCV gezeigt. Diese waren im Besonderen das Alter bei Studieneintritt, die Anzahl der durchgeführten Operationen, die Gesamtanzahl der erhaltenen Blutkonserven und die Gabe spezifischer Blutkonserven (hier vor allem Warmblut). Die Fragestellung war nun, ob sich auch bei GBV-C solche Risikofaktoren herausfiltern lassen und ob sich diese mit den Risikofaktoren einer HCV Infektion decken.

3.5.1 Biographische Einflussgrößen

	GBV-C positiv	GBV-C negativ	p-Wert
Alter bei Erstoperation (in Monaten)	49,1 ± 79,7	28,0 ± 41,4	0,243
Alter bei Nachuntersuchung (in Jahren)	19,7 ± 7,3	16,9 ± 5,9	0,001
Anzahl der Operationen	1,84 ± 0,90	1,61 ± 0,86	0,006
Gesamtzahl Transfusionen	15,6 ± 26,2	5,1 ± 8,7	< 0,001

Tabelle 6: Biographische Einflussgrößen (Mittelwert ± Standardabweichung)

Kinder, welche positiv für GBV-C getestet wurden (d.h. PCR und / oder Nested PCR positiv und / oder Antikörper nachgewiesen), waren beim ersten Eingriff im Mittel $49,1 \pm 79,7$ Monate alt. Kinder, bei denen kein Virus nachgewiesen werden konnte, waren im Mittel $28,0 \pm 41,4$ Monate alt. Mit einem p-Wert von 0,243 ist der Unterschied beider Gruppen nicht statistisch relevant (vgl. **Tabelle 6**).

Einen signifikanten Unterschied gibt es jedoch beim Untersuchungsalter (vgl. **Abbildung 2**). Die positiv getesteten Patienten sind im Mittel drei Jahre älter als die negativ getesteten (p-Wert < 0,001).

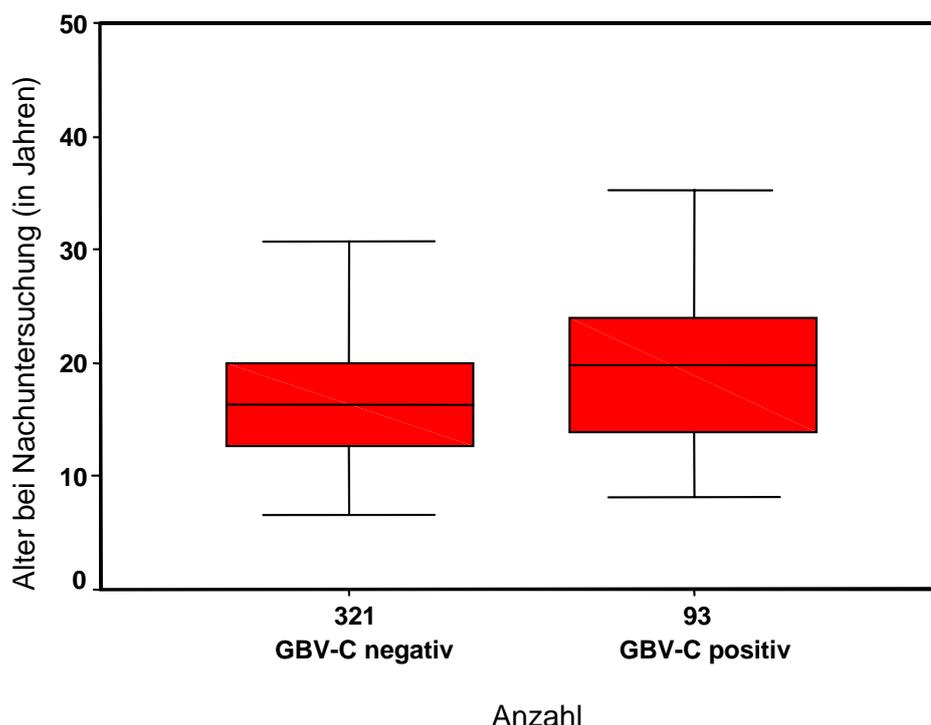


Abbildung 2: Untersuchungsalter

Die Anzahl der durchgeführten Operationen stellt sich ebenfalls als relevanter Risikofaktor bei der Übertragung von GBV-C dar; der p-Wert liegt bei 0,006. Es gibt also einen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen. Zu bedenken ist aber, dass eine höhere Anzahl an Operationen in der Regel auch eine größere Zahl an Bluttransfusionen bedeutet (vgl. 3.5.2).

Das Datum der ersten Operation scheint hingegen keinen wesentlichen Einfluss auf die Prävalenz zu haben ($p = 0,196$). Als Stichtag wurde hier der 15.06.1985 gewählt, da ab diesem Zeitpunkt ein systematisches HIV Screening aller Blutprodukte eingeführt wurde und in diesem Zusammenhang davon ausgegangen werden kann, dass auf diesem Weg besondere „Hochrisikoblutspender“ herausgefiltert wurden (vgl. **Tabelle 7**).

Datum der Erstoperation	GBV-C positiv	GBV-C negativ
vor 15.06.1985	24,4 %	75,6 %
nach 15.06.1985	20,0 %	80,0 %

Tabelle 7: Operationszeitpunkt

3.5.2 Anzahl und Art der Transfusionen

In vielen Veröffentlichungen wurden Transfusionen als Risikofaktor für eine GBV-C Infektion beschrieben (1, 19, 21, 32). Beim Patientenkollektiv dieser Studie steht die Anzahl der Transfusionen direkt im Zusammenhang mit der Anzahl der durchgeführten Operationen. So haben die GBV-C positiv getesteten Patienten im Mittel 8,5 Einheiten Blutprodukte je Operation erhalten, die GBV-C negativ getesteten Patienten 3,2 Einheiten (2,66 : 1).

	GBV-C positiv (n = 93)	GBV-C negativ (n = 321)	p-Wert
Gesamtanzahl Blutprodukte	15,6 ± 26,2	5,1 ± 8,7	< 0,001
Heparinblut	0,3 ± 0,6	0,3 ± 0,6	0,82
Warmblut	1,6 ± 1,8	1,2 ± 1,5	0,78
Vollblut	0,7 ± 1,8	0,5 ± 1,2	0,51
Erythrozytenkonzentrate	0,24 ± 0,7	0,16 ± 0,5	0,54
Frischblut	2,0 ± 2,2	1,2 ± 1,6	< 0,001
Frischplasma	10,9 ± 25,1	1,9 ± 7,0	< 0,001
Thrombozytenkonz.	0,10 ± 0,59	0,04 ± 0,48	0,19

Tabelle 8: Blutprodukte quantitativ (Mittelwert ± Standardabweichung)

Die GBV-C positiv getesteten Personen haben im Rahmen der Operationen (\bar{x} 1,84, vgl. **Tabelle 6**) im Mittel mit 15,6 Einheiten (vgl. **Tabelle 8**) etwa dreimal so häufig Blutprodukte erhalten wie die GBV-C negativ getesteten Personen mit 5,1 Einheiten (\bar{x} 1,61 Operationen). Der p-Wert beträgt <0,001.

Einige Blutprodukte haben ein höheres Übertragungspotential als andere. Beim Frischplasma gab es einen deutlichen Unterschied (p -Wert $< 0,001$) zwischen den GBV-C positiven und den negativ getesteten Patienten. Die GBV-C positiv getesteten erhielten im Durchschnitt 10,9 Einheiten Frischplasma, die negativen dagegen nur 1,9. Auch erhielten die GBV-C positiv getesteten Patienten signifikant (p -Wert $< 0,001$) mehr Frischblut, im Durchschnitt 2,0 Konserven zu 1,2 Konserven. Bei den anderen Blutprodukten waren die Unterschiede zwischen den GBV-C positiven und negativen Patienten weniger ausgeprägt; es zeichneten sich keine signifikanten Unterschiede ab. Beim Heparinblut erhielten die positiv getesteten Personen mit durchschnittlich 0,3 Blutkonserven gleichviel Heparinblutkonserven wie die negativ getesteten.

Bei der geringen Anzahl an Patienten, welche Thrombozyten erhielten ($n = 7$), ist dieses Ergebnis nur eingeschränkt zu werten. Die Auswertung der verfügbaren Daten ergibt keine signifikanten Unterschiede.

Die GBV-C Träger erhielten im Schnitt 0,7 Einheiten Vollblut, die Gruppe der Nichtinfizierten durchschnittlich 0,5 Vollblut-Transfusionen. Der p -Wert für diese Korrelation beträgt 0,51. Es gibt also keinen signifikanten Unterschied. Ähnlich verhält es sich auch beim Warmblut, hier stehen die „Gesunden“, die durchschnittlich 1,2 Einheiten Warmblut erhielten, den GBV-C Infizierten / Trägern mit durchschnittlich 1,6 erhaltenen Einheiten Warmblut gegenüber.

Es stellt sich die Frage, ob neben der Quantität der einzelnen Blutprodukte die jeweilige Art des Blutproduktes Einfluss auf die Übertragungswahrscheinlichkeit nimmt bzw. ob bestimmte Blutprodukte als infektiöser zu betrachten sind als andere.

In **Tabelle 9** ist dies nochmals aufgeführt. Hier wird die Menge der erhaltenen Blutprodukte nicht berücksichtigt, sondern lediglich bewertet, ob der Patient das jeweilige Produkt einmal bzw. auch mehrfach erhalten hat (d.h. Kontakt mit dem jeweiligen Blutprodukt hatte) oder nicht.

Im Kollektiv der Patienten, welche z.B. Warmblut erhalten haben, wurde der Anteil der GBV-C positiven Patienten bestimmt und mit denen verglichen, die keinen Kontakt mit dem jeweiligen Blutprodukt hatten. Das Ergebnis für die Thrombozyten ist wie zuvor bereits angemerkt nur bedingt verwendbar. Signifikante Unterschiede sind erneut beim Frischblut und beim Frischplasma zu erkennen ($p < 0,001$). Dies spricht dafür, dass die Art der Blutprodukte im Hinblick auf die Infektiosität eine entscheidende Rolle spielt.

	Anteil der GBV-C positiven Patienten (in %), welche ...		p-Wert
	jeweiliges Blutprodukt erhalten haben	jeweiliges Blutprodukt <u>nicht</u> erhalten haben	
Heparinblut	21,8 %	22,8 %	0,75
Warmblut	23,7 %	21,0 %	0,51
Vollblut	24,3 %	21,8 %	0,58
Erythrozytenkonzentrate	25,5 %	22,5 %	0,58
Frischblut	28,9 %	15,3 %	0,001
Frischplasma	32,4 %	15,4 %	< 0,001
Thrombozytenkonz.	42,9 %	22,1 %	0,192

Tabelle 9: Blutprodukte qualitativ

3.5.3 Multivariate Analyse

Die Analyse einzelner Risikofaktoren wurde ergänzt durch eine multivariate Analyse. Das Alter bei der Nachuntersuchung, die Gesamtanzahl der erhaltenen Blutprodukte, die Transfusion von Frischplasma ($p < 0,001$), die Transfusion von Frischblut ($p = 0,001$) und die Anzahl der Operationen ($p = 0,013$) bestätigten sich als Hauptrisikofaktoren für eine Infektion mit GBV-C. Dieses Ergebnis ist nach den Ergebnissen für die Einzelfaktoren (vgl. 3.5.1 und 3.5.2) wenig überraschend.

3.6 Leberwerte

Kurz nach der Entdeckung des GB Virus C wurde angenommen, dass durch es eine Infektion in Form einer – wenn auch milden – Hepatitis ausgelöst wird. Es wurden deshalb die Virusträger im Vergleich mit den negativ getesteten Personen bezüglich einer Erhöhung der Leberwerte untersucht. Dabei sollte ein Zusammenhang einer GBV-C Infektion mit einer Erhöhung der Leberwerte nachgewiesen bzw. ausgeschlossen werden.

Um die Ergebnisse nicht durch eine mögliche Kreuzreaktion mit einer Infektion durch Hepatitis B oder C zu verfälschen, wurde die Berechnung unter Ausschluss aller Hepatitis B oder C positiven Patienten durchgeführt. Hierbei wurden die am Deutschen

Herzzentrum München zum Untersuchungszeitpunkt gültigen altersspezifischen Grenzwerte zugrunde gelegt. Die unterschiedlichen Patientenzahlen entstanden durch unvollständige Bestimmungen bei den Nachuntersuchungen, bei denen auch die Blutentnahmen mit Bestimmung der Leberparameter erfolgten.

	GBV-C positiv (n = 93)	GBV-C negativ (n = 321)	p-Wert
GOT (n = 318)	12,2 ± 4,1	11,7 ± 3,4	0,63
GPT (n = 321)	12,9 ± 7,0	11,9 ± 5,8	0,47
γGT (n = 303)	31,9 ± 38,2	17,9 ± 19,0	0,002
LDH (n = 257)	174,9 ± 51,4	178,5 ± 50,7	0,45
GLDH (n = 258)	2,5 ± 2,2	2,1 ± 1,4	0,69
AP (n = 271)	189,0 ± 125,0	222,5 ± 134,3	0,11

Tabelle 10: Leberwerte quantitativ in U / l (Mittelwert ± Standardabweichung) in Bezug auf das Vorliegen von GBV-C

Tabelle 10 zeigt die mittleren Serumspiegel verschiedener Leberparameter im Vergleich bei GBV-C negativen und positiv getesteten Patienten. Es sind keine signifikanten Unterschiede bei GOT, GPT, LDH, GLDH und AP erkennbar. Lediglich bei der Bestimmung der γGT fanden sich bei den GBV-C positiven Patienten im Mittel signifikant höhere Werte als bei den GBV-C negativen Patienten. Zu bemerken ist aber, dass der Mittelwert der bestimmten Werte auch bei den GBV-C positiven Patienten im Normbereich lag.

Um den Einfluss einer aktiven GBV-C Infektion auf die Leberparameter weiter zu charakterisieren, wurde eine erneute Auswertung unter Berücksichtigung des Vorliegens von GBV-C RNA als Zeichen aktiver Virusreplikation durchgeführt (vgl. **Tabelle 11**). Hierbei ließ sich der zuvor beschriebene signifikante Unterschied der γGT-Werte nicht bestätigen. Auch bei den übrigen getesteten Leberparametern zeigten sich erneut keine signifikanten Unterschiede.

In der Vorstudie war bei den HCV positiven – hier speziell bei den RNA positiven – Patienten eine deutliche Erhöhung der Transaminasen dokumentiert worden. Im aktuellen Vergleich wurden bei den Patienten mit positivem GBV-C RNA Nachweis durchschnittlich niedrigere Werte für GOT und GPT gemessen als bei HCV RNA positiven Personen.

	GBV-C RNA positiv (n = 34)	GBV-C RNA negativ (n = 380)	p-Wert
GOT	12,3 ± 4,6	11,7 ± 3,4	0,92
GPT	12,0 ± 7,0	11,9 ± 5,8	0,73
γGT	30,3 ± 35,7	19,7 ± 22,8	0,16
LDH	162,0 ± 46,2	178,5 ± 50,7	0,11
GLDH	2,2 ± 2,0	2,1 ± 1,4	0,74
AP	185,0 ± 122,6	222,5 ± 134,3	0,29

Tabelle 11: Leberwerte quantitativ in U / l (Mittelwert ± Standardabweichung) in Bezug auf das Vorliegen von GBV-C RNA

3.7 Zusammenhang mit HCV

Da in der Literatur (28, 29, 33, 34) ein protektiver Einfluss der GBV-C Infektion bei einer Coinfektion mit dem HI Virus beschrieben wird, stellt sich die Frage, ob eine Coinfektion von GBV-C und HCV einen ähnlich günstigen Verlauf zeigt.

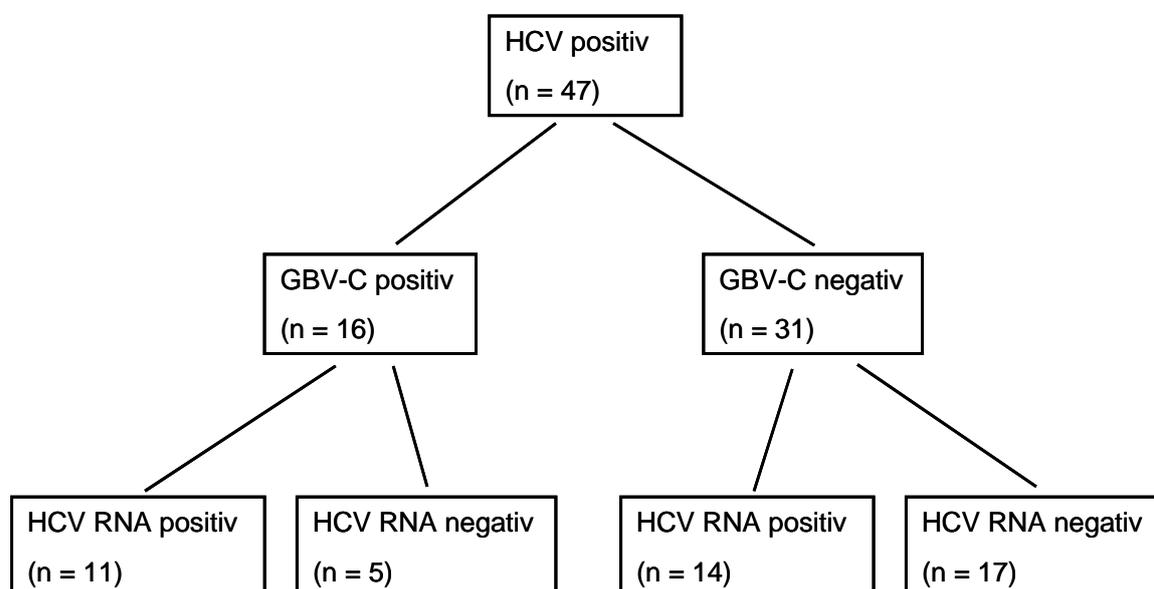


Abbildung 3: Zusammenhang mit HCV

Aus der vorangegangenen Studie ist der HCV Infektionsstatus aller Patienten hinreichend bekannt. Aktuell stellt sich die Frage, ob Patienten mit einer HCV / GBV-C Coinfektion die aktive HCV Infektion schneller eliminieren können, d.h. dass keine HCV RNA als Anzeichen einer aktiven Virusreplikation mehr nachweisbar ist. Anhand der vorliegenden Ergebnisse (vgl. **Abbildung 3** und **Tabelle 12**) kann dies nicht bestätigt

werden. Es zeigt sich keine relevante Abweichung in der Geschwindigkeit der Viruselimination ($p = 0,11$). Auch hier muss aufgrund der geringen Fallzahlen auf die eingeschränkte Repräsentanz der Ergebnisse hingewiesen werden.

	GBV-C positiv	GBV-C negativ
Anti-HCV positiv	16	31
Anti-HCV und HCV RNA positiv	11**	14
Anti-HCV positiv und HCV RNA negativ	5**	17

** einseitiger p-Wert = 0,11, zweiseitiger p-Wert = 0,21

Tabelle 12: Einfluss von GBV-C auf die Elimination von HCV RNA

4 DISKUSSION

4.1 Prävalenz und biographische Einflussgrößen

Die in der vorliegenden Studie beobachtete Prävalenz im Kontrollkollektiv ist vergleichbar mit den durch andere Studien belegten Prävalenzzahlen. Die Werte schwanken hier um 5 % (12, 21, 22). Wie schon in mehreren anderen Untersuchungen gezeigt werden konnte, ist auch in der vorliegenden Untersuchung die GBV-C Prävalenz im Patientenkollektiv, also einer Risikogruppe, deutlich erhöht. In verschiedenen Quellen wird über eine Prävalenz in sogenannten Risikopopulationen von teilweise über 30 % berichtet (3, 4, 21). Die hier ermittelte Prävalenz von 22,5 % liegt damit im Bereich der bei anderen Untersuchungen bestimmten. Der Wert ist auch vergleichbar mit den in anderen veröffentlichten Studien angegebenen, die sich speziell mit der GBV-C Prävalenz bei Patienten nach herz-thoraxchirurgischen Eingriffen beschäftigen (24, 25, 30). Diese Studien haben aber jeweils nur geringe Fallzahlen untersucht und insbesondere keine im Kindesalter operierten Patienten.

Die Erkrankungshäufigkeit nimmt mit steigendem Alter zu. Auch Feucht et al. (9) zeigten eine starke Korrelation zwischen dem Auftreten einer GBV-C Infektion und dem Alter. Beim Vergleich verschiedener Altersgruppen fiel in der oben zitierten Arbeit ein deutlicher Anstieg ab dem Erreichen des 15. Lebensjahres auf (Prävalenz 5,6 % versus 15,3 %). Ursache hierfür ist vermutlich insbesondere die Übertragung durch Sexualkontakte (22). Der Beginn sexueller Kontakte kann hier eine Rolle spielen, da sowohl in der Kontrollgruppe als auch im Patientenkollektiv mit Eintritt in das „typische Alter“ ein deutlicher Anstieg der Prävalenz zu beobachten ist. Dies deckt sich mit den Beobachtungen von Hyland et al. (12), die einen signifikanten Prävalenzunterschied zwischen Kindern und Erwachsenen beobachteten.

4.2 Risikofaktoren

Es konnten die Anzahl der Operationen, die Anzahl und die Art der erhaltenen Blutprodukte und das Alter bei der Nachuntersuchung als mögliche Risikofaktoren einer GBV-C Infektion hervorgehoben werden. Das Alter bei der Nachuntersuchung erklärt sich als möglicher Risikofaktor durch Betrachtung der o.g. Ergebnisse, welche eine ausgeprägte Korrelation zwischen dem Alter und der Erkrankungshäufigkeit zeigten; weiterhin nimmt die Operationshäufigkeit mit steigendem Alter zu. Es zeigte sich ein Altersunterschied von drei Jahren (17 Jahre versus 20 Jahre).

Als weiterer Risikofaktor für eine Infektion mit GBV-C konnte eine erhöhte Anzahl an Operationen ausgemacht werden. Mit steigender Operationsanzahl erhöht sich das Infektionsrisiko auch aufgrund einer größeren Anzahl von Bluttransfusionen.

Das Patientenkollektiv war im Vergleich zu anderen Studien relativ klar definiert. Es wurden die genaue Anzahl und die jeweiligen Arten der erhaltenen Blutprodukte genau erfasst. Es zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Gesamtanzahl der erhaltenen Blutprodukte und dem Infektionsrisiko. Diese Ergebnisse widersprechen einer Studie (30), in welcher kein Zusammenhang zwischen der Anzahl an erhaltenen Blutprodukten und dem Infektionsrisiko gesehen werden konnte.

Die hier vorgestellten Ergebnisse stützen jedoch die Resultate anderer Gruppen, welche z.B. bei der Untersuchung von Daten von Hämophilen und Patienten, die auf Hämodialyse angewiesen sind oder aus anderen Gründen Blut- bzw. Blutprodukte erhielten, vergleichbare Ergebnisse erzielten (17). In (20) wird eine Korrelation zwischen der Prävalenz von GBV-C und HCV Infektionen und der Anzahl an erhaltenen Bluttransfusionen beschrieben.

Im Patientenkollektiv fand sich das höchste Infektionsrisiko nach Applikation von Frischblut, welches binnen 24 h verabreicht wurde, so dass wenig Zeit für weitergehende Testungen blieb, und Frischplasma. Durch eine kurze Zeitdauer bis zur Applikation des Blutes und die Durchmischung des Plasmas mehrerer Spender, d.h. potentieller Infektionsträger, ist bei diesen Blutprodukten das Infektionsrisiko deutlich erhöht. Es ließ sich eine signifikant erhöhte Prävalenz einer GBV-C Infektion nachweisen. Für die anderen untersuchten Blutprodukte ließ sich im Einzelnen kein spezielles Risiko belegen. Bereits in der HCV-Studie (31) konnte eine erhöhte Infektiosität von Frischblut bei der Übertragung von HCV gezeigt werden.

Ein anderer Aspekt im Hinblick auf die Transfusion von Blut und seinen Bestandteilen ist die Einführung des Screenings aller Blutspenden auf HIV am 15.06.1985. Von diesem Zeitpunkt an wurden Blutspenden HIV positiver Spender herausgefiltert. Ausgehend von den bekannten Übertragungswegen und den Prävalenzdaten für HIV ist anzunehmen, dass auf diesem Wege ein Großteil so genannter Risikospender herausfällt, da besonders bei HIV Infizierten wiederholt eine erhöhte Infektionsrate für GBV-C festgestellt werden konnte (33). Fraglich war, ob nach der Einführung des HIV-Screenings und damit der Anzahl der potentiell übertragenen HIV-Infektionen auch die Anzahl der übertragenen GBV-C Infektionen zurückgeht. Dies hat sich durch die Ergebnisse dieser Studie nicht verifizieren lassen. 135 Patienten wurden vor Einführung des Screenings, also vor dem 15.06.1985, das erste Mal operiert. Bei 27 von ihnen konnten GBV-C RNA beziehungsweise Antikörper nachgewiesen werden. Das entspricht einem Anteil von 20,0 %. Bei den nach Einführung der HIV-Testung der Blutprodukte

operierten Patienten sind 24,4 % GBV-C Träger (66 von 271 Patienten). Hier ergibt sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen.

4.3 GBV-C und HCV

Die vorliegenden Daten untermauern die These, dass GBV-C und HCV ähnliche / identische Übertragungswege nutzen, wobei Sexualkontakte ebenso wie Bluttransfusionen im Rahmen von Operationen eine Rolle zu spielen scheinen.

Insgesamt ist zu bemerken, dass die Infektionsrate bei GBV-C signifikant höher ist als bei HCV. Dies lässt Rückschlüsse auf eine mögliche höhere Infektiosität oder auf andere zusätzliche, bisher nicht aufgeklärte Übertragungsmöglichkeiten zu. Eine andere mögliche Ursache sind die fehlenden Krankheitszeichen nach einer GBV-C Infektion. Ein an einer evidenten Hepatitis Erkrankter wird i.d.R. kein Blut spenden und typischerweise Vorsichtsmaßnahmen bzgl. einer weiteren Verbreitung seiner Erkrankung ergreifen. Dies trifft bei GBV-C nicht zu.

In der Literatur wird wiederholt von einem protektiven Einfluss einer Coinfektion von GBV-C und HIV berichtet. Es wird eine verlangsamte Replikation des HI Virus und eine verzögerte Progression der Krankheit beschrieben (29, 34). In Bezug auf HCV scheint es keine solchen Effekte zu geben.

Die Anwesenheit von GBV-C beeinflusst die Elimination von HCV RNA als Nachweiszeichen einer chronisch aktiven Hepatitis C nicht. Diese Daten decken sich mit anderweitig gewonnenen Ergebnissen, in denen auch kein positiv protektiver Effekt einer Coinfektion GBV-C / HCV gezeigt werden konnte (20).

4.4 Leberwerte

Direkt nach der Entdeckung des GB Virus C im Serum eines Patienten mit einer floriden Non A-E Hepatitis wurde das GBV-C Virus zunächst als auslösendes Agens einer akuten Inflammation im Bereich der Leber (26) bewertet. Erhöhte Leberparameter wurden als Zeichen einer akuten oder chronischen Leberschädigung durch das Virus angesehen.

Signifikant höhere Werte waren im hier untersuchten Kollektiv lediglich bei der γ GT nachweisbar, diese lagen im Mittel aber nicht außerhalb der Normgrenzen. Weiterhin ist eine Erhöhung der γ GT bei einem großen Teil der Patienten durch kardiale Ursachen zu erklären.

Bei differenzierterer Betrachtung der Leberwerte, wobei nur zwischen GBV-C RNA positiv und negativ getesteten Patienten unterschieden wurde, zeigten sich weder bei der γ GT noch bei den übrigen getesteten Leberwerten wesentliche Unterschiede. Eine aktive

Virusreplikation beeinflusst die Leberparameter nicht. Dies deckt sich mit den Ergebnissen einer weiteren Studie, in der kein Zusammenhang zwischen erhöhten Leberwerten und einer Infektion mit GBV-C evident wurde (21). Bei einer isolierten Erhöhung der γ GT mit normalen Werten für Transaminasen, LDH, GLDH und AP ist eine infektiöse Ursache sehr unwahrscheinlich; ursächlich kommt eher eine medikamentös toxische Schädigung in Frage.

In den oben genannten Berechnungen wurden zunächst alle Patienten die Zeichen eines GBV-C Kontaktes trugen als positiv gewertet. Es handelte sich hierbei sowohl um Patienten, bei denen der RNA-Nachweis positiv war, als auch um Patienten, die isoliert positive Antikörper aufwiesen. Diese Patienten haben keine floride Infektion, bei ihnen ist keine Veränderung der Leberparameter zu erwarten. Aber auch bei erneuter Berechnung, bei der ausschließlich Patienten mit positivem RNA-Nachweis als positiv gewertet wurden, ließen sich keine signifikant erhöhten Leberparameter feststellen.

Mit diesen Erkenntnissen rückt GBV-C als möglicher Auslöser einer akuten oder chronischen Inflammation der Leber immer weiter in den Hintergrund.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die aktuelle Untersuchung zeigt im polytransfunden „Risikokollektiv“ im Vergleich mit einem alters- und geschlechtsgematchten Kontrollkollektiv eine signifikant höhere Prävalenz für GBV-C (22,5 % versus 6,3 %).

Neben anderen Einflussgrößen konnten Bluttransfusionen als möglicher Risikofaktor für eine GBV-C Infektion identifiziert werden. Zum einen spielt hier die Anzahl der insgesamt erhaltenen Blutprodukte eine Rolle, zum anderen gibt es spezielle Blutprodukte wie Frischblut und Frischplasma, welche ein besonders hohes Infektionsrisiko bergen. Grund hierfür ist auch die Art der Verarbeitung dieser Produkte mit kurzer Zeitspanne zwischen Gewinnung und Applikation und dem Poolen des gewonnenen Plasmas verschiedener Spender.

Ein weiterer Risikofaktor ist die Anzahl der Operationen, welche ein Patient erhalten hat. Mit steigender Anzahl steigt auch das Risiko einer Infektion. Auch das Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung (d.h. der Probengewinnung) hat sich als Risikofaktor für eine GBV-C Infektion herauskristallisiert. Steigende Prävalenzzahlen mit steigendem Alter lassen Rückschlüsse auf andere mögliche Übertragungswege zum Beispiel über Sexualkontakte zu.

Verglichen mit der Hepatitis C sind die Prävalenzzahlen der GBV-C Infektion wesentlich höher, jedoch fehlen bei einer GBV-C Infektion in der Regel klinische Symptome. Eine Beteiligung der Leber kann ausgeschlossen werden; laborchemisch ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Leberwerte. Nach den vorliegenden Ergebnissen bestätigt sich also die These, dass GBV-C keine Hepatitis verursacht. Auch zeigten die untersuchten Patienten keine extrahepatischen Symptome, bei denen GBV-C als ursächliches Agens in Frage käme.

Anders als bei der Hepatitis C werden Blutkonserven nicht routinemäßig auf das Vorliegen von GBV-C Antikörpern untersucht, und auch bei Patienten ist eine Testung selten, da die klinische Relevanz nicht belegt ist.

In verschiedenen Studien konnte ein protektiver Effekt einer gleichzeitigen Infektion von GBV-C und HIV belegt werden. Bei einer Coinfektion von GBV-C und HCV war kein solcher Effekt nachweisbar. Eine HCV Infektion wird durch eine gleichzeitige Infektion mit GBV-C weder positiv noch negativ beeinflusst.

6 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AP	alkalische Phosphatase
dsRNA	double strang rna (Doppelstrang-RNA)
GBV-C	GB Virus C
GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HCV	Hepatitis C Virus
HIV	human immunodeficiency virus (humanes Immundefizienzvirus)
IgG	Immunglobulin G
LDH	Lactat-Dehydrogenase
PCR	polymerase chain reaction (Polymerasekettenreaktion)
RNA	ribonucleid acid (Ribonukleinsäure)
ssRNA	single strang rna (Einzelstrang-RNA)
γ GT	Gammaglutamyltransferase
WHO	World Health Organization

7 LITERATURVERZEICHNIS

- (1) **Alter HJ, Nakatsuji Y, Melpolder J, Wages J, Wesley R, Shih JW, Kim JP.** The incidence of transfusion-associated hepatitis G virus infection and its relation to liver disease. *New England Journal of Medicine* 1997; 336: 747-54.
- (2) **Alter MJ, Gallgher M, Morris TT, Moyer LA, Meeks EL, Krawczynski KZ, Kim JP, Margolis HS.** Acute non A-E hepatitis in the United States and the role of hepatitis G virus infection. *New England Journal of Medicine* 1997; 336: 741- 46.
- (3) **Anastassopoulou CG, Paraskevis D, Sypsa V, Psychogiou M, Katsoulidou A, Tassopoulos N, Skoutelis A, Malliori M, Hatzakis A.** Prevalence Patterns and Genotypes of GB Virus C / Hepatitis G Virus Among Imprisoned Intravenous Drug Users. *Journal of Medical Virology* 1998; 56: 246-252.
- (4) **Casteling A, Song E, Sinn J, Blaauw D, Heyns A, Schweizer R, Margolius L, Kuun E, Field S, Schoub B, Vardas E.** GB Virus C Prevalence in Blood Donors and High Risk Groups for Parenterally Transmitted Agents From Gauteng, South Africa. *Journal of Medical Virology* 1998; 55: 103-108.
- (5) **Césaire R, Martial J, Maier H, Kerob-Bauchet B, Bera O, Duchaud E, Brebion A, Pierre-Louis S.** Infection with GB Virus C / Hepatitis G Virus among Blood Donors and Hemophiliacs in Martinique, a Caribbean Island. *Journal of Medical Virology* 1999; 55: 103-108.
- (6) **de Filippi F, Castelli R, Cicardi M, Soffredini R, Rumi MG, Silini E, Mannucini PM, Colombo M.** Transmission of hepatitis G virus in patients with angioedema treated with steam-heated plasma concentrates of C1 inhibitor, *Transfusion* 1998; 38: 307-311.
- (7) **Eiz-Vesper B, Maiworm M, Harpain O, Fuchs N, Mohr H, Pring-Åkerblom P.** Prevalence and Sequence Variability of GBV-C Genomes among Blood Donors in Northern Germany. *Infusion Therapy and Transfusion Medicine* 2001; 21: 130-134.

- (8) **Fan X, Xu X, Solomon H, Ranrakhiani S, Neuschwander-Tetri BA, Di Bisceglie AM.** Is Hepatitis G / GB Virus-C Virus Hepatotropic? Detection of Hepatitis G / GB Virus-C Viral RNA in Liver and Serum. *Journal of Medical Virology* 1999; 58: 160-164.
- (9) **Feucht HH, Schröter M, Zöllner B, Polywka S, Laufs R.** Age-dependent acquisition of hepatitis G virus / GB virus C in a non risk population: Detection of the virus by antibodies. *Journal of Clinical Microbiology* 1999; 37: 1294-1297.
- (10) **Fiordalisi G, Zanella I, Mantero G, Bettinardi A, Stellini R, Paraninfo G, Cadeo G , Primi D.** High prevalence of GB virus C in a group of italian patients with hepatitis of unknown etiology. *Journal of Infectious Diseases* 1996; 174:181-183.
- (11) **Fogeda M, Navas S, Martin J, Casqueiro M, Rodriguez E, Arocena C, Carreno V.** In Vitro Infection of Human Peripheral Blood Mononuclear Cells by GB Virus C / Hepatitis G Virus. *Journal of Virology* 1999; 73(5): 4052-4061.
- (12) **Hyland CA, Mison L, Solomon N, Cockerill J, Wang L, Hunt J, Selvey LA, Cooksley WGE, Young IF, Trowbridge R, Borthwick I, Gowans EJ.** Exposure to GB virus type C or hepatitis G in selected Australian adult and children populations. *Transfusion* 1998; 38: 821- 827.
- (13) **Karayiannis P, McGarvey MJ.** The GB hepatitis viruses. *Journal of Viral Hepatology* 1995; 2(5): 221-226.
- (14) **Karayiannis P, Pickering J, Zampino R, Thomas HC.** Natural history and molecular biology of hepatitis G virus / GB virus C. *Clin Diagn Virol* 1998; 10(2-3): 103-111.
- (15) **Kobayashi M, Tanaka E, Nakayama J, Furuwatari C, Katsuyama T, Kawasaki S, Kiyosawa K.** Detection of GB Virus-C / Hepatitis G Virus Genome in Peripheral Blood Mononuclear Cells and Liver Tissue. *Journal of Medical Virology* 1999; 57: 114-121.
- (16) **Madéjon A, Fogeda M, Bartolomé J, et al.** GB Virus in Serum Liver and Peripheral Blood Mononuclear Cells from Patients with Chronic Viral Hepatitis B, C and D. *Gastroenterology* 1997; 113: 573-8.

- (17) **Masuko K, Mitsui T, Iwano K, et al.** Infection with hepatitis GB virus C in patients on maintenance hemodialysis, *New England Journal of Medicine* 1996; 334: 1485-90.
- (18) **Mphahlele MJ, Lau GK, Carman WF.** HGV: The identification, biology and prevalence of an orphan virus. *Liver* 1998; 18(3): 143-155.
- (19) **Nubling CM, Bialleck H, Fursch AJ, Scharrer I, Schramm W, Seifried E, Schmidt U, Staszewski S, Lower J.** Frequencies of GB virus C / hepatitis G virus genomes and of specific antibodies in German risk and non-risk populations. *Journal of Medical Virology* 1997; 53(3): 218-24.
- (20) **Rambusch EG, Wedemeyer H, Tillmann HL, Heringlake S, Manns MP.** Significance of coinfection with hepatitis G virus for chronic hepatitis C – a review of literature, *Zeitung für Gastroenterologie* 1998; 36: 41-53.
- (21) **Sarazin C, Roth WK, Zeuzem S.** GB virus-C / hepatitis G virus – Discovery, epidemiology, diagnosis and clinical relevance. *Zeitung für Gastroenterologie* 1998; 36(11): 997-1008.
- (22) **Scallan MF, Clutterbock D, Jarvis LM, Scott GR, Simmonds P.** Sexual Transmission of GB Virus C / Hepatitis G Virus. *Journal of Medical Virology* 1998; 55: 203-208.
- (23) **Seemayer CA, Viazov S, Philipp T, Roggendorf M.** Detection of GBV-C / HGV RNA in Saliva and Serum, but Not in Urin of Infected Patients. *Infection* 1998; 26(1): 39-41.
- (24) **Sentjens R, Basaras M, Simmonds P, Vrielink H, Reesink H.** HGV / GB virus C transmission by blood components in patients undergoing open heart surgery. *Transfusion* 2003; 43: 1558-62.
- (25) **Shimizu M, Osada K, Okamoto H.** Transmission of GB virus C by blood transfusions during heart surgery. *Vox Sang* 1997; 72: 76-78.
- (26) **Simons JN, Leary TP, Dawson GJ, Pilot-Matias TJ, Muerrhoff AS, Schlauder GG, Desai SM, Mushahwar IK.** Isolation of novel virus-like sequences associated with human hepatitis. *Nature Medicine* 1995; 6(1): 364-369.

- (27) **Slimane SB, Albrecht JK, Fang JWS, Goodman Z, Mizokami M, Qian K, et al.** Clinical, virological and histological implications of GB virus-C / hepatitis G virus infection in patients with chronic hepatitis C virus infection: a multicenter study based on 671 patients. *Journal of Viral Hepatology* 2000; 7: 51-55.
- (28) **Stosor V, Wolinsky S.** GB Virus C and Mortality from HIV Infection. *New England Journal of Medicine* 2001; 345(10): 761-62.
- (29) **Tillmann HL, Heiken H, Knapik-Botor A, Heringlake S, Ockenga J, Wilber JC, Goergen B, Dettmer J, McMorrow M, Stoll M, Schmidt RE, Manns MP.** Infection with GB virus C and reduced mortality among HIV-infected patients. *New England Journal of Medicine* 2001; 345(10): 715-724.
- (30) **Villela Nogueira CA, Nogueira SA, Nogueira CN, Coelho HS, Ketma F, Edelman DC, Lambert JS, Constatine NT.** The incidence of GB virus / hepatitis G infection in Brazilian patients who received blood transfusion during cardiac surgery. *Journal of Medical Virology* 2001; 63: 237-241.
- (31) **Vogt M, Lang T, Frösner G, Klingler C, Sendl AF, Zeller A, Wiebecke B, Langer B, Meisner H, Hess J.** Prevalence and clinical outcome of hepatitis C infection in children undergoing cardiac surgery before blood donor screening. *New England Journal of Medicine* 1999; 341: 866-870.
- (32) **Wang JT, Chen PJ, Liu DP, Sheu JC, Wang TH, Chen DS.** Prevalence and infectivity of hepatitis G virus and its strain variant, the GB agent, in volunteer blood donors in Taiwan, *Transfusion* 1998; 38: 290-295.
- (33) **Williams CF, Klinzman D, Yamashita TE, Xiang J, Polgreen PM, Rinaldo C, Liu C, Phair J, Margolick JB, Zdunek D, Hess G, Stapleton JT.** Persistent GB virus infection and survival in HIV-infected men. *New England Journal of Medicine* 2004; 350: 981-90.
- (34) **Xiang J, Wünschmann S, Diekema DJ, Klinzmann D, Patrick KD, George SL, Stapleton JT.** Effect of Coinfection with GB Virus C on Survival among Patients with HIV Infection. *New England Journal of Medicine* 2001; 345(10): 707-713.
- (35) **Zuckerman AJ.** Alphabet of hepatitis viruses. *Lancet* 1996; 347: 558-59.