
Medizinische Fakultät der Charité - Universitätsmedizin Berlin
Campus Virchow-Klinikum
aus der Medizinischen Klinik mit dem Schwerpunkt
Nephrologie und internistische Intensivmedizin

Dissertation

**Die Prävalenz von okkulten
Hepatitis C-Virusinfektionen
bei nierentransplantierten Patienten und Dialyse-Patienten**

zur Erlangung des akademischen Doktorgrades
Doctor medicinae (Dr. med.)
vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Adrienne Verena Städtler
aus Berlin

Datum der Promotion: 21.06.2020

Vorwort

Den Nachweis von Hepatitis-C-Viren (HCV) in peripheren mononukleären Blutzellen (PBMC) und/oder Hepatozyten ohne den Nachweis von HCV-RNA im Serum bezeichnet man als *okkulte HCV-Infektionen*. Diese Thematik wurde in den letzten Jahren kontrovers diskutiert. Bezüglich der klinischen Relevanz ist es von Bedeutung herauszufinden, ob eine bestehende okkulte Infektion klinisch signifikant ist und ob von dieser ein Übertragungs-, Ausbreitungs- und Erkrankungsrisiko ausgehen. Gerade da eine HCV-Infektion für CHD- und NTX-Patienten erhebliche Auswirkungen haben kann (Baid-Agrawal et al., 2014a). Teilaspekte der Studie wurden von der Autorin bereits in zwei Fachartikeln publiziert (Baid-Agrawal et al., 2014a; Muche et al., 2019).

1 Inhaltsverzeichnis

Vorwort	II
Inhaltsverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	VII
Abkürzungsverzeichnis	VIII
Zusammenfassung	X
Abstract	XI
1. Einleitung	1
1.1. Zielsetzung	1
1.2. Fragestellung und Hypothesen	1
1.3. Erläuterung zu Fragestellung und Hypothesen	2
2. Wissenschaftlicher Hintergrund	3
2.1. Hepatitis-C-Virusinfektion	3
2.1.1. Hepatitiden: Bedeutung und Kennzeichen	3
2.1.2. Definition Hepatitis C	5
2.1.3. Prägnanztypen HCV	5
2.1.4. Erreger	5
2.1.5. Epidemiologische Bedeutung	6
2.1.6. Risikogruppen und Übertragungswege	9
2.1.7. Morbidität, Mortalität und Letalität	11
2.1.8. Verlauf der Erkrankung	12
2.1.9. Diagnostikverfahren bei HCV-Infektionen (akut und chronisch)	12
2.1.10. Therapie	14
2.1.11. Hepatitis-C-Infektionen bei Hämodialyse- und nierentransplantierten Patienten	18
2.2. Besonderheiten der okkulten HCV-Infektion	19

3.	Material und Methoden	21
3.1.	Klinischer Teil.....	21
3.1.1.	Studiendesign	21
3.1.2.	Untersuchte Patienten und Kontrollgruppe	21
3.1.3.	Einschlusskriterien	22
3.1.4.	Ausschlusskriterien	22
3.1.5.	Studienablauf.....	22
3.2.	Experimenteller Teil.....	23
3.2.1.	Buffy-Coat-Gewinnung aus der Citrat-Probe unter sterilen Kautelen	23
3.2.2.	Zählung der Zellen	24
3.2.3.	Serumgewinnung unter sterilen Kautelen	25
3.2.4.	HCV-RNA PCR mittels HCV-RNA, Qualitativer Assay von PBMC und Serum	26
3.2.4.1.	Verwendungszweck.....	26
3.2.4.2.	Testprinzip	26
3.2.4.3.	Materialien.....	28
3.2.4.4.	Interpretation der Ergebnisse.....	30
3.2.4.5.	Testvalidierung	31
3.2.4.6.	Testauswertung	31
3.2.4.7.	Akzeptanzkriterien für die Kalibratoren.....	31
3.3.	Datenerhebung und Statistik	32
4.	Ergebnisse	35
4.1.	Soziodemografische Analyse	35
4.2.	Prävalenz von Begleiterkrankungen.....	38
4.3.	Prävalenz und Bedeutung der okkulten HCV-Infektion	39
4.4.	HCV-Prävalenz in Abhängigkeit vom Diagnoseinstrument - Gesamtstichprobe	41

4.5.	Gruppenspezifische HCV-Gesamt-Prävalenz	43
4.6.	Sensitivität der Testverfahren im Vergleich.....	47
4.7.	HCV-Prävalenz im Vergleich zur Literatur	49
5.	Diskussion	52
5.1.	Synopse der Ergebnisse.....	52
5.2.	Beantwortung der Forschungsfrage	53
5.3	Vergleich mit der Literatur.....	55
5.3.	Limitationen	57
6.	Fazit und Ausblick	59
7.	Literaturverzeichnis.....	61
8.	Anhang	71
8.1	Einwilligungserklärung	71
8.2.	Patientenfragebogen	74
8.3.	Eidesstaatliche Versicherung/Anteilserklärung	77
Lebenslauf	78
8.4.	Publikationsliste	79
8.5.	Danksagung.....	80

2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Epidemiologie der Hepatitis C: globale Prävalenz	7
Abbildung 2: HCV-Prävalenzraten in Europa	8
Abbildung 3: Hepatitis-C-Inzidenz in Deutschland 2002 nach Geschlecht und Alter	10
Abbildung 4: Natürlicher Verlauf einer HCV-Infektion	12
Abbildung 5: Boxplot der Altersverteilung in den Gruppen CHD	36
Abbildung 6: Geschlechtsverteilung in den Gruppen	37
Abbildung 7: Darstellung der Verteilung der Staatsangehörigkeit	37
Abbildung 8: DM-2-Prävalenz bei den CHD- und den NTX-Patienten im Vergleich zur jeweils gleichaltrigen Bundeskohorte	38
Abbildung 9: Hypertonie-Prävalenz bei den CHD- und den NTX-Patienten im Vergleich zur jeweils gleichaltrigen Bundeskohorte	39
Abbildung 10: Prävalenz der okkulten HCV bei den CHD-Patienten und den NTX-Patienten	40
Abbildung 11: Klinischer Verlauf der 3 Patienten mit okkulten HCV-Infektion.....	40
Abbildung 12: Gruppenspezifische HCV-Prävalenz bei bestehenden HCV-Antikörpern	42
Abbildung 13: Gruppenspezifische HCV-Prävalenz bei positivem HCV-RNA-Nachweis im Serum und in den PBMC-Zellen im Vergleich.....	43
Abbildung 14: Gruppenspezifische HCV-Prävalenz in Abhängigkeit der Diagnostikverfahren	44
Abbildung 15: HCV-Gesamtprävalenz bei den CHD- und den NTX-Patienten im Vergleich.....	45
Abbildung 16: Sensitivität der Diagnoseverfahren bei den CHD-Patienten im Vergleich.....	48
Abbildung 17: Sensitivität der Diagnoseverfahren bei den NTX-Patienten im Vergleich;.....	49
Abbildung 18: HCV-Prävalenz der CHD- und der NTX-Patienten im Vergleich zur deutschen Gesamtbevölkerung.....	50

3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klassifikation der Virushepatitis nach ICD-10	4
Tabelle 2: Berechnung der Zellzahl aus 4 x 16 Kleinquadraten	24
Tabelle 3: Dauer der benötigten Zentrifugalzeit in Abhängigkeit von der relativen Zentrifugalbeschleunigung bei der genutzten Zentrifuge Hettich Rotina 35 R	25
Tabelle 4: Reagenzien und die in ihnen enthaltenen Materialien	28
Tabelle 5: Altersverteilung in den Teilkollektiven	35
Tabelle 6: Korrelationszusammenhang zwischen Alter und HCV-Prävalenz in Abhängigkeit vom Diagnostikinstrument bei den CHD-Patienten.....	46
Tabelle 7: Korrelationszusammenhang zwischen Alter und HCV-Prävalenz in Abhängigkeit vom Diagnostikinstrument bei den NTX-Patienten	46
Tabelle 8: Korrelationszusammenhang zwischen bestehenden HCV-Antikörpern und HCV-RNA im Serum bzw. in den PBMC-Zellen bei den CHD- und den NTX-Patienten im Vergleich	47
Tabelle 9: Odds Ratio von HCV-Infektionen in Dialyse-Patienten.....	51
Tabelle 10: Odds Ratio von HCV-Infektionen in NTX-Patienten.....	51

4 Abkürzungsverzeichnis

AFP	Alpha-1-Fetoprotein
ALT	Alanin-Aminotransferase
Anti-HCV	Antikörper gegen Hepatitis C-Virus
CHD	Chronische Hämodialyse
CHeCS-Studie	Chronic Hepatitis Cohort Study
DAA	Direct antiviral agents
DEGS1	Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland
DIMDI	Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information
DM 2	Diabetes mellitus, Typ 2
DPBS	PBS Puffer (Dulbeccos Phosphate Buffered Saline)
EASL	The European Association for the study of the liver
FCH	fibrosierende cholestatische Hepatitis
GGT	Gamma-Glutamyl-Transpeptidase
HBeAg	Hepatitis-B-Envelope-Antigen
HBsAg	Hepatitis-B-Surface-Antigen
HBV	Hepatitis-B-Virus
HBV-DNA	Hepatitis-B-Virus- Desoxyribonukleinsäure
HC	Hepatitis C
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HCV	Hepatitis-C-Virus
HPA	Hybridisierungsschutzassays
IFN	Interferon
i. v.	intravenös

KI	Konfidenzintervall
MMLV	Moloney Murine Leukemia Virus
NTX-Patienten	nierentransplantierte Patienten
OR	Odds Ratio
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell, mononukleäre Zellen des peripheren Blutes
PCR	Polymerasekettenreaktion
RKI	Robert-Koch-Institut
RLU	relative Lichteinheiten
RNA	Ribonukleinsäure
RT	reverse Transkriptase
RT-PCR	reverse Transkriptase-Polymerasekettenreaktion
SVR	Sustained Virological Response
TMA	Transcription-Mediated-Amplification
UTR	untranslatierter Bereich
WHO	Weltgesundheitsorganisation

Zusammenfassung

Chronische Infektionen mit Hepatitis C (HCV) sind von hoher epidemiologischer Bedeutung, da sie insbesondere bei Patienten mit einer chronischen Hämodialyse (CHD) oder einer Nierentransplantation (NTX) zu einer erhöhten Morbidität und Mortalität führen können. Eine „Okkulte HCV-Infektion“ ist eine neue umstrittene Entität, die durch das Vorhandensein von HCV-RNA (normalerweise > 200 IE/ml oder > 1000 Kopien/ml HCV-RNA) in Lebergewebe und/oder in mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC) in Abwesenheit von HCV-RNA im Serum unabhängig vom anti-HCV-Status definiert wird. Die Existenz und die Bedeutung einer okkulten HCV-Infektion sind noch nicht eindeutig geklärt und lassen viele Fragen offen.

Das Ziel der vorliegenden Studie war es daher, die Prävalenz okkulten HCV-Infektionen in einer großen Kohorte von CHD- und NTX-Patienten zu analysieren, indem mit einem hochsensitiven Assay (Transcription-Mediated-Amplification) das Vorhandensein von HCV-RNA in PBMC untersucht und deren klinische Relevanz bewertet wurde. In diesem Rahmen wurden 417 CHD-Patienten und die gleiche Anzahl von NTX-Patienten eingeschlossen und untersucht. Wie erwartet, war die Prävalenz der HCV-Infektion in beiden Patientengruppen signifikant höher als in der Allgemeinbevölkerung. Die Prävalenz einer okkulten HCV-Infektion mit positiver HCV-RNA in PBMC war jedoch mit 0,25 % bei unseren CHD-Patienten und mit 0,5 % bei unseren NTX-Patienten sehr niedrig. Darüber hinaus ergeben sich nach einer mittleren Nachbeobachtungszeit von 30 Monaten bei den 3 Patienten mit nachgewiesener okkulten HCV-Infektion keine klinischen oder virologischen Hinweise auf eine HCV-Infektion. Daher unterstützen unsere Ergebnisse nicht das Vorliegen einer klinisch relevanten okkulten HCV-Infektion bei CHD- und NTX-Patienten, insbesondere in den Bevölkerungsgruppen mit einer geringen Prävalenz von HCV-Infektionen. Die geringe Ausbeute und die aufwendigen und teuren Tests auf okkulte HCV-Infektionen rechtfertigen nicht die Durchführung eines Routine-Screenings bei diesen Patienten. Infolgedessen sind weitere Längsschnittstudien in geografischen Populationen mit hoher HCV-Endemizität erforderlich, um die Prävalenz einer okkulten HCV-Infektion bei CHD- und NTX-Patienten in Abhängigkeit vom verwendeten Verfahren zu klären.

Abstract

Chronic infection with hepatitis C virus (HCV) is of high epidemiological significance, as it can lead to increased morbidity and mortality, especially in patients with hemodialysis (CHD) or kidney transplantation (NTX). “Occult HCV infection” is a new controversial entity defined by the presence of HCV RNA (usually > 200 IU / ml or > 1000 copies/ml HCV RNA) in liver tissue and/or peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in the absence of HCV RNA in serum, irrespective of the anti-HCV status. The existence and significance of occult HCV infection is not clear and leave questions unanswered.

The aim of the present study was therefore to analyze the prevalence of occult HCV infection in large cohorts of CHD and NTX patients by testing for the presence of HCV RNA in PBMC using a highly sensitive assay (Transcription-Mediated-Amplification) and evaluate its clinical relevance. In this regard, 417 CHD and the same number of NTX patients were included and examined. As expected, the prevalence of HCV infection was significantly higher in both patient groups than in the general population. However, the prevalence of occult HCV infection with positive HCV RNA in PBMC was found to be very low, 0.25% in our CHD patients and 0.5% in our NTX patients. Furthermore, on a mean longitudinal follow-up of 30 months of the 3 patients with occult HCV infection, there was no clinical or virological evidence of HCV infection. Thus, our results do not support the existence of a clinically relevant occult HCV infection CHD and NTX patients, particularly in those populations with low prevalence of HCV infection. The low yield and complex and expensive testing for occult HCV infection does not warrant its implementation for routine screening in these patients. As a result, further longitudinal studies in geographic populations with high HCV-endemicity are required to clarify the prevalence of occult HCV infection in CHD and NTX patients depending on the method used.

1 Einleitung

1.1 Zielsetzung

Das Ziel der Studie, welche der vorliegenden Dissertation zugrunde liegt, ist der Nachweis von okkulten HCV-Infektionen in immunsupprimierten Patienten. Konkret soll ein Kollektiv bestehend aus Patienten mit chronischer Hämodialyse (CHD) oder Nierentransplantation (NTX) ohne nachweisbare HCV-RNA im Standard-Diagnoseverfahren hinsichtlich der Nachweisbarkeit von HCV-RNA in den PBMC und/oder Hepatozyten analysiert werden. In den letzten Jahren wurde die Existenz von okkulten HCV-Infektionen in der Forschung kontrovers diskutiert, dennoch gibt es nur wenige epidemiologische Studien zur Thematik. Wir untersuchen zum ersten Mal die Prävalenz von okkulten HCV-Infektionen in einer großen Kohorte von CHD-Patienten und NTX-Patienten.

1.2 Fragestellung und Hypothesen

Das Ziel der Arbeit ist es, die folgenden Forschungsfragen einer Beantwortung zuzuführen:

Unterscheidet sich die Höhe der ermittelten Prävalenz einer okkulten Infektion bei immunsupprimierten Patienten unter Verwendung eines hochsensitiven Assay (TMA-Test) gegenüber der in der Standarddiagnostik eingesetzten Screeningverfahren? Welche klinische Bedeutung hat sie in einem Kollektiv bestehend aus CHD- und NTX-Patienten?

Zusätzlich soll folgender Frage nachgegangen werden: Welche Besonderheiten zeigen CHD- und NTX-Patienten hinsichtlich ihres Alters, der Risikofaktoren und der HCV-Prävalenz unter Anwendung verschiedener Diagnoseverfahren?

Die der Arbeit zugrunde liegenden Hypothesen lauten:

H1: Bei immunsupprimierten Patienten unterscheidet sich die Höhe der mit Hilfe des hochsensitiven Assay (TMA) ermittelten Prävalenz von okkulten HCV-Infektionen von der Höhe der anhand standardisierter Screeningverfahren ermittelten Prävalenz.

H0: Bei immunsupprimierten Patienten unterscheidet sich die Höhe der mit Hilfe des hochsensitiven Assay (TMA) ermittelten Prävalenz von okkulten HCV-Infektionen nicht von der Höhe der anhand standardisierter Screeningverfahren ermittelten Prävalenz.

1.3 Erläuterung zu Fragestellung und Hypothesen

Die vorliegende epidemiologische Untersuchung ist auf immunsupprimierte NTX- und CHD-Patienten fokussiert. Bei den anvisierten Patientengruppen besteht ein erhöhtes Risiko für okkulte HCV-Infektionen z. B. durch häufig notwendige Transfusionen, durch eine Reaktivierung im Rahmen einer Immunsuppression, durch das hohe Risiko für eine nosokomiale Übertragung durch z.B. eine laufende oder erfolgte Dialyse oder durch einen liegenden Gefäßzugang. Die HCV-Infektion stellt eine erhebliche Komplikation bei immunsupprimierten Menschen wie z. B. NTX-Empfängern oder CHD-Patienten dar. Als häufigster Übertragungsweg kann die aus der Transplantation bzw. Transfusion resultierende Exposition bezeichnet werden (Peres et al., 2005). Zusätzlich korreliert die Durchseuchungsrate mit der Dialysedauer und der Art der Dialyse (Zentrumsdialysepatienten 27%, Heimdialysepatienten 10% und Peritonealdialysepatienten 5%) (Maier K.-P., 2000). Bedingt durch die krankheitsspezifische Immunsuppression besteht der Verdacht, dass konventionelle serologische Tests zur Diagnose von HCV eine niedrige Sensitivität bei NTX- oder CHD-Patienten aufweisen könnten. Daher sind neue sensitivere diagnostische Methoden bei diesem Patientenkollektiv notwendig. Das Hauptproblem besteht aufgrund der geringen Viruslast (unter 10^4 Kopien/ml) von okkulten Infektionen darin, ein geeignetes Screeningverfahren mit ausreichend hoher Sensitivität und Spezifität zu identifizieren, um die klinische Relevanz von okkulten HCV-Infektionen besser einschätzen zu können. In den letzten Jahren wurde HCV-RNA nicht nur im Serum nachgewiesen, sondern auch in den peripheren mononukleären Blutzellen (PBMC) und/oder Hepatozyten ohne direkten Nachweis von HCV-RNA im Serum, sodass die Frage nach okkulten Infektionen aufkam und zur Grundlage mehrerer wissenschaftlicher Arbeiten wurde (Blackard et al., 2006; Carreno et al., 2006; Castillo et al., 2004; Castillo et al., 2006; Pham et al., 2004; Radkowski et al., 2005 a und b).

2 Wissenschaftlicher Hintergrund

2.1 Hepatitis-C-Virusinfektion

2.1.1 Hepatitiden: Bedeutung und Kennzeichen

Unter einer „Hepatitis“ versteht man eine messbare Schädigung von Hepatozyten. Gemessen wird hierbei die Erhöhung der Transaminasen im Serum (GOT, GPT). Es werden virale und nicht virale Hepatitiden unterschieden. Als wichtigste Erregerspezies gelten die Virushepatitiden. Der Name der jeweiligen Erkrankung geht dabei auf das verursachende Virus zurück (Hepatitis A, Hepatitis B, Hepatitis C, Hepatitis D, Hepatitis E, Hepatitis G).

Infektiöse Hepatitis-Erkrankungen können aber auch durch nicht klassische Hepatitis-Viren übertragen werden (z. B. Eppstein-Barr-Virus, Varizella-Zoster-Virus, teilweise auch Mumps- und Rubella-Virus). Außerdem wird eine Leberentzündung gelegentlich auch bakteriell determiniert (z. B. Leptospirose) oder durch Parasiten verursacht (z. B. Echinokokkus, Malaria, Schistosomiasis) (Ludwig, 2017).

Zudem kann eine Hepatitis-Erkrankung durch Alkohol- oder Medikamentenabusus entstehen (RKI, 2003), im Rahmen einer Autoimmungenerese (Typ I-III), hereditär (z.B. Hämochromatose, M.Wilson, Alpha-1-Antitrypsin-Mangel oder Speicherkrankheiten), vaskulär (z.B. arteriell: Embolie oder venös: Rechtsherzinsuffizienz), biliär (z.B. primär biliäre Zirrhose oder primär sklerosierende Cholangitis) oder u.a. durch Malignome (Ludwig, 2017).

Am häufigsten findet sich die viral übertragene infektiöse Hepatitis, die zumeist durch fünf Virenstämme (Hepatitis A bis E) verursacht wird. Während die Hepatitisviren A und E dabei über Nahrungsmittel, Wasser oder Schmierinfektionen übertragen werden können, gelten als Hauptursache von Hepatitis B, C und D vor allem der Kontakt zu Blut und Blutprodukten sowie (v. a. bei Hepatitis B) sexuelle Kontakte (RKI, 2003).

Gemäß ICD-10-Klassifikation kann bei der Virushepatitis zwischen insgesamt fünf Formen differenziert werden, die sich in weitere Pränanzformen unterteilen, wie in Tabelle 1 (Seite 3) dargestellt ist (DIMDI, 2015).

Tabelle 1: Klassifikation der Virushepatitis nach ICD-10

Virushepatitis: Klassifikation (ICD-10)	Klinische Prägnanzform (ICD-10)
Akute Virushepatitis A (B15.-)	Virushepatitis A mit Coma hepaticum (B15.0)
	Virushepatitis A ohne Coma hepaticum (B15.9)
Akute Virushepatitis B (B16.-)	Akute Virushepatitis B mit Delta-Virus (Begleitinfektion) und mit Coma hepaticum (B16.1)
	Akute Virushepatitis B mit Delta-Virus (Begleitinfektion) und ohne Coma hepaticum (B16.1)
	Akute Virushepatitis B ohne Delta-Virus mit Coma hepaticum (B16.2)
	Akute Virushepatitis B ohne Delta-Virus ohne Coma hepaticum (B16.9)
Sonstige akute Virushepatitis (B17.-)	Akute Delta-Virus-(Super-)Infektion eines Hepatitis-B-(Virus-)Trägers (B17.0)
	Akute Virushepatitis C (B17.1)
	Akute Virushepatitis E (B17.2)
	Sonstige näher bezeichnete akute Virushepatitis (B17.8)
	Akute Virushepatitis, nicht näher bezeichnet (B17.9)
Chronische Virushepatitis (B18.-)	Chronische Virushepatitis B mit Delta-Virus (B18.0)
	Chronische Virushepatitis B ohne Delta-Virus (B18.1)
	Chronische Virushepatitis C (B18.2)
	Sonstige chronische Virushepatitis (B18.8)
	Chronische Virushepatitis, nicht näher bezeichnet (B18.9)
Nicht näher bezeichnete Virushepatitis (B19.-)	Nicht näher bezeichnete Virushepatitis mit Coma hepaticum (B19.0)
	Nicht näher bezeichnete Virushepatitis ohne hepatisches Koma (B19.9)

(Quelle: DIMDI, 2015)

2.1.2 Definition Hepatitis C

Hepatitis C kann als eine die Leberzellen schädigende Viruserkrankung definiert werden, die durch das Hepatitis-C-Virus verursacht wird (RKI, 2003). Das Hepatitis-C-Virus (HCV) wurde erstmals 1988 nachgewiesen, nachdem zuvor viele vor allem nach Bluttransfusionen aufgetretene Hepatitisfälle dem bisherigen Hepatitiden-Schemata (A und B) nicht zugeordnet werden konnten und daraufhin als Non-A-Non-B-Hepatitis bezeichnet wurden (RKI, 2003). Kennzeichnend für eine akute HCV-Infektion ist, dass die Infektion mit dem HC-Virus vor weniger als sechs Monaten erfolgte.

Häufig geht die akute HCV mit einer Erhöhung der Aminotransferase-Aktivitäten („Transaminasen“) einher und führt Leberfunktionseinschränkungen mit sich (Sarrazin et al., 2018). Eine chronische HCV-Infektion kann definiert werden als eine länger als sechs Monate fortbestehende Infektion mit dem HC-Virus (HCV-RNA-positiv). Dies kann zu einer klinisch-chemisch und/oder histologisch nachweisbaren Leberschädigung unterschiedlichen Ausmaßes und extrahepatischer Manifestationen führen (Sarrazin et al., 2018).

2.1.3 Prägnanztypen HCV

Es werden sechs unterschiedliche HCV-Genotypen und 30 Subtypen unterschieden, bei denen sich jeweils geografische Besonderheiten zeigen, da sich Genotypen und Subtypen regional unterschiedlich verteilen: Während in den Vereinigten Staaten und in Europa vor allem die Genotypen 1, 2 und 3 vorherrschend sind, finden sich in Afrika vorwiegend Infektionen mit dem HCV-Genotyp 4 (Choo et al., 1989; Drexler et al., 2013; RKI, 2003).

Wie bereits dargelegt, wird bei allen Geno- und Subtypen klinisch zwischen einer akuten und einer chronischen Hepatitis C unterschieden: Die akute Hepatitis verläuft vorwiegend symptomarm und wird daher häufig nicht als akute Hepatitis identifiziert, kann aber mit einer Erhöhung der Aminotransferase-Aktivität einhergehen und zu Leberfunktionseinschränkungen führen (Sarrazin et al., 2018). Da in den Anfangswochen bei vielen Patienten kaum Symptome auftreten, kann die akute HCV-Infektion bei 60 bis 80 % der Betroffenen nicht ausheilen und in den chronischen Typus übergehen (RKI, 2003; Wiese et al., 2000).

Die chronische HCV-Infektion gilt weltweit als eine der häufigsten Ursachen für die Entwicklung einer Leberzirrhose und eines hepatozellulären Karzinoms.

2.1.4 Erreger

Erstmals identifiziert und isoliert wurde das HCV, das vorher als Hepatitis-Non-A-Non-B bezeichnet wurde, im Jahre 1989 unter Zuhilfenahme von gentechnischen Methoden.

Kennzeichnend für das HCV ist, dass es als lineares, einsträngiges, aus 9.500 Nukleotiden bestehendes, umhülltes RNA-Virus strukturiert ist, das eine Plusstrang-Polarität besitzt. Das HCV bildet entsprechend seiner Genomstruktur und -organisation sowie seiner physikochemischen Eigenschaften ein eigenes Genus innerhalb der Flaviviridae und zeigt infolge einer hohen Mutationsrate eine ausgeprägte genetische Variabilität auf (RKI, 2003; Sarrazin et al., 2018).

2.1.5 Epidemiologische Bedeutung

Prävalenz:

HCV gehört zu den viralen Infektionskrankheiten mit globaler Ausbreitung. In epidemiologischer Hinsicht zeichnet sich die Infektion durch eine hohe Prävalenz aus. Insgesamt sind ca. 3 % der Weltbevölkerung chronisch mit einer HCV-Erkrankung infiziert, wobei (insbesondere bei der akuten Form) von einer hohen Dunkelziffer ausgegangen werden kann, weswegen die Prävalenzschätzungen großen Schwankungen unterworfen sind (Wasley, Alter, 2000). Ältere Schätzungen gingen davon aus, dass weltweit wohl 170 bis 200 Millionen Menschen von einer chronischen HCV-Infektion betroffen sind (Schreier, Höhne, 2001). Da die Chronifizierungsrate ca. 80 % beträgt, 20 % also eine (häufig unentdeckte) akute HCV ausbilden und 20 bis 40 % aller Betroffenen offenbar körpereigene Resistenzen entwickeln und das Virus im Laufe ihres Lebens wieder eliminieren, gehen neuere Schätzungen von höheren Prävalenzen aus, betroffen sind demnach mehr als 250 Millionen Menschen (RKI, 2003).

Neuesten Hochrechnungen der WHO zufolge, welche die Prävalenz chronischer HCV-Infektionen berücksichtigen, sind demnach etwa 71 Millionen Menschen chronisch mit HCV infiziert, was etwa 1 % der Weltbevölkerung entspricht (WHO, 2017).

Wie in Abbildung 1 (Seite 7) dargestellt, variiert die Prävalenz im globalen Maßstab sehr stark: Während in Mitteleuropa und Nordamerika ca. 1 bis 2 % der Bevölkerung betroffen sind, gelten vor allem Südostasien, Südamerika und große Teile Afrikas (insbesondere in der Maghreb-Region) als virusverseucht (RKI, 2003; Schreier, Höhne, 2001; WHO, 2000; WHO, 2004). So fanden sich z. B. in der Erwachsenenpopulation Ägyptens mittlere Prävalenzraten von 10 bis 30 % (Arthur et al., 1997; Darwish et al., 1993; Schreier, Höhne, 2001). Ohnehin gilt Ägypten als das Land mit der weltweit höchsten HCV-Prävalenz, in manchen ländlichen Regionen und ärmeren Wohnquartieren Kairos wurden in der Erwachsenenbevölkerung gar

Prävalenzwerte von über 50 % ermittelt (Aguilar et al., 2008; Eassa et al., 2007; Mohamoud et al., 2013).

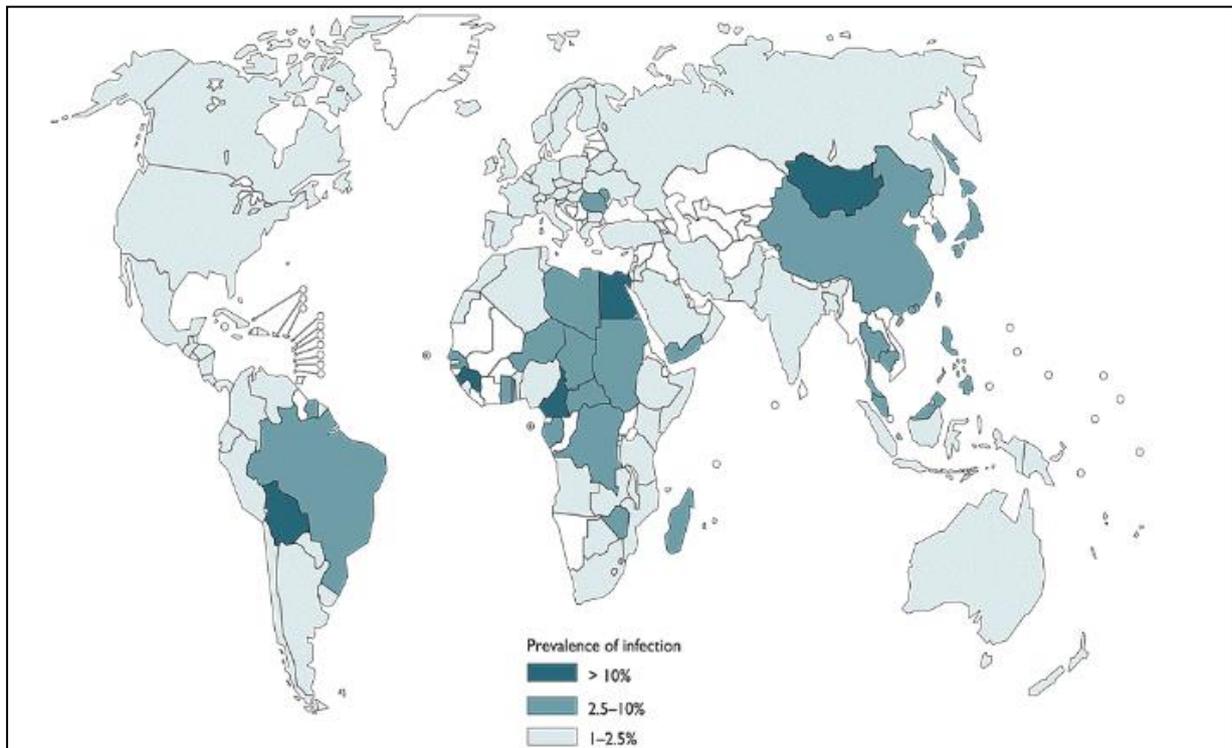


Abbildung 1: Epidemiologie der Hepatitis C: globale Prävalenz (Quelle: WHO, 2004)

Auch gemäß dem WHO-Global-Hepatitis-Report gilt die östliche Mittelmeerregion mit einer Prävalenz der chronischen HCV von 2,3 % (bedingt durch die in der Vergangenheit erfolgten nosokomialen Transmissionen) als eine der am stärksten von der Infektion betroffenen Regionen (WHO, 2017). In den anderen WHO-Regionen variiert die Prävalenz chronischer Infektionen zwischen 0,5 % und 1,0 %. Schätzungen zufolge lag im Jahr 2015 weltweit die Zahl der Neuinfektionen mit 1,75 Millionen höher als die Zahl der Personen, die durch HCV-Spätfolgen verstorben waren (399.000) oder erfolgreich behandelt wurden (843.000) (RKI, 2018).

Für HCV-Infektionen kann auch in Europa eine hohe epidemiologische Bedeutung postuliert werden, wobei hier große regionale Unterschiede zu beobachten sind, wie in Abbildung 2 (Seite 8) dargestellt.

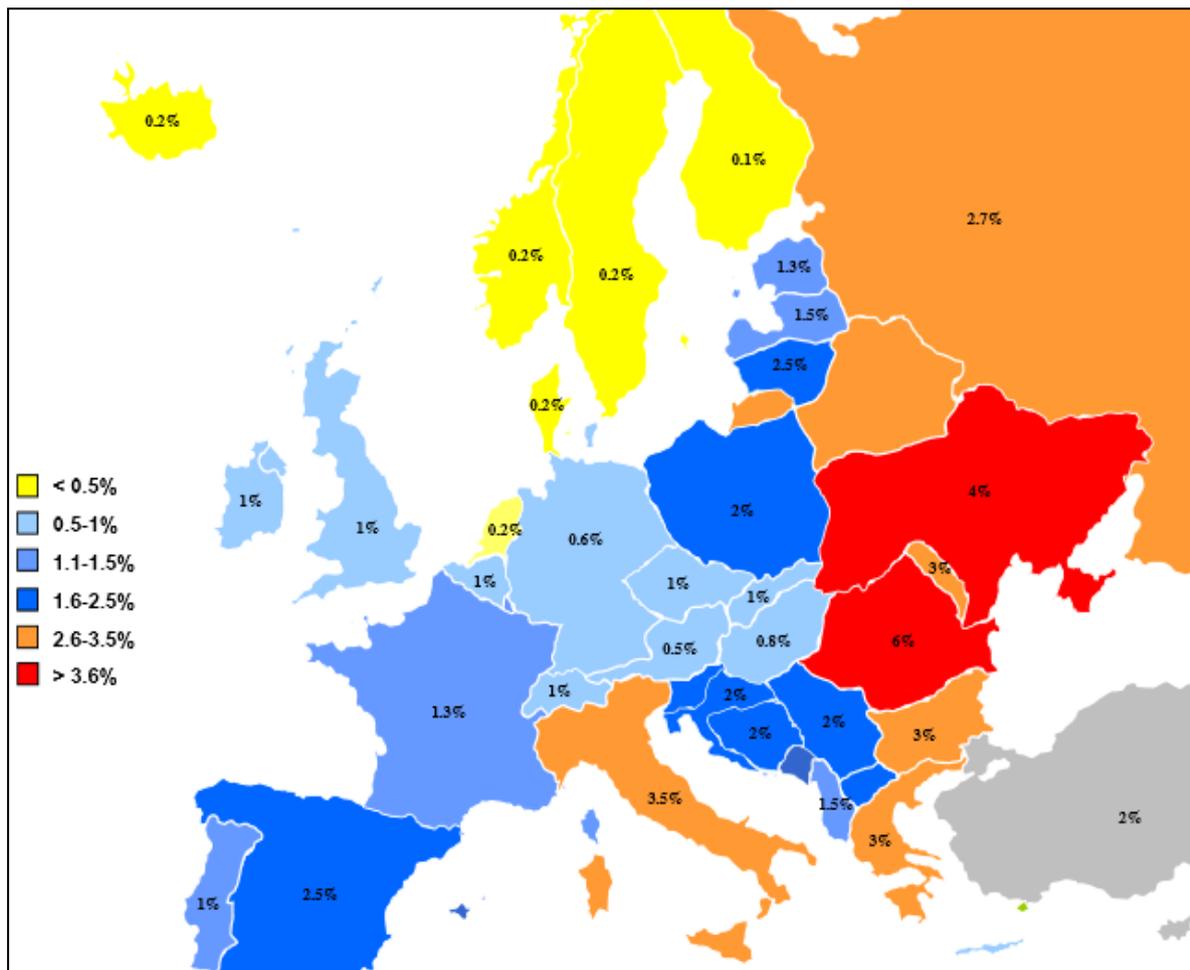


Abbildung 2: HCV-Prävalenzraten in Europa (Quelle: Esteban et al., 2008)

Hohe Prävalenzen finden sich demnach vor allem in Ost- und Südeuropa (Esteban et al., 2008; Naoumov, 1999), während die Infektionsrate in den skandinavischen Ländern mit 0,1 bis 0,2 % am geringsten ausfällt (Esteban et al., 2008). In Europa wird von 3 bis 5 Millionen Virusträgern ausgegangen (Wasley, Alter, 2000), neuere Untersuchungen beziffern die Gesamtkrankheitslast bei angenommenen 1,2 % Virusträgern auf 8 Millionen Betroffene (Mühlberger et al., 2009). Für einzelne Regionen Europas wurden jedoch auch zweistellige Infiziertenquoten ermittelt: So betrug die HCV-Prävalenz in einer Stichprobe in L’Aquila/Mittelitalien 22 % (La Torre et al., 2011; Raffaele et al., 2001).

HCV-Infektionen müssen aufgrund der hohen Prävalenz und des in bis zu 80 % der Fälle chronischen Verlaufes, der häufig Leberzirrhosen und Leberzellkarzinome mit sich bringen kann, auch für Mitteleuropa als ein gravierendes medizinisches und gesundheitspolitisches Problem bezeichnet werden (RKI, 2003). Die HCV-Prävalenzen liegen in Mitteleuropa dabei zwischen 0,5 und 1,3 % (Bird et al., 2001; Esteban et al., 2008; Grob et al., 2000; Niederau,

Kapagiannidis, 2006; Touzet et al., 2000; Trepo et al., 1999). In der WHO-Region Europa leben schätzungsweise 14 Millionen chronisch HCV-infizierte Menschen. Zwischen den einzelnen Ländern Europas gibt es starke Schwankungen bezüglich der Inzidenz und Prävalenz von HCV-Infektionen. Die prozentuale Spanne der Antikörperprävalenz bewegt sich in den Ländern der WHO-Region Europa zwischen 0,1 % in Irland, 5 % in Italien und 13 % in Usbekistan (RKI, 2018).

In Deutschland wurde im Rahmen der „Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland“ (DEGS1), eine Stichprobe mit 7.047 Teilnehmenden im Alter zwischen 18 und 79 Jahren in den Jahren von 2008 bis 2011 auf die Prävalenz von HCV untersucht. Dabei liegt die Durchseuchung der deutschen Allgemeinbevölkerung mit Hepatitis-C-Viren bei 0,3 %. Damit gehört Deutschland zu den Ländern mit einer niedrigen Prävalenz (Poethko-Müller et al., 2013). Andere Studien nehmen für Deutschland eine Prävalenz von 0,5 bis 0,7 % an, die Gesamtzahl der Virusträger beträgt hier 400.000 bis 500.000 (RKI, 2018).

Inzidenz:

Die globale Inzidenz betrug im Jahre 2000 ca. 2 Millionen, aktuell kann von einer deutlich höheren jährlichen Neuerkrankungsrate ausgegangen werden (Frank et al., 2000). Andere Studien gehen von einer jährlichen Neuerkrankungsrate von 3 bis 4 Millionen Menschen aus. Etwa 150 Millionen Menschen sind chronisch infiziert und mehr als 350.000 Menschen sterben jedes Jahr an HCV-bedingten Lebererkrankungen (Sarrazin et al., 2018).

Wenngleich HCV zu den meldepflichtigen Erkrankungen gehört, liegen genaue Zahlen zur Inzidenzentwicklung nicht vor. In Deutschland hat sich die geschätzte Neuerkrankungsrate in den letzten fünf Jahren zwischen 5.000 und 6.000 Fällen pro Jahr eingependelt (RKI, 2018). Im Jahr 2011 wurden in Deutschland 1.199 Lebertransplantationen durchgeführt. Davon waren 23 % auf eine HCV-Infektion zurückzuführen (RKI, 2018).

2.1.6 Risikogruppen und Übertragungswege

Zu den Risikogruppen und damit zu den Menschen, denen ein Screening auf eine HCV-Infektion angeboten werden sollte, zählen: Personen mit Leberentzündungen oder chronischen Lebererkrankungen oder einem hepatozellulären Karzinom (HCC), Empfänger von Blutprodukten (vor 1992), CHD-Patienten, aktive und ehemalige i.v./nasal-drogenabhängige Menschen, Empfänger von Organtransplantaten, Insassen von Justizvollzugsanstalten, Personen, die Tätowierungen oder Piercings tragen, HIV- und/oder HBV-Infizierte, medizinisches Personal mit erhöhtem Risiko der Ansteckung durch

Nadelstichverletzungen, des Weiteren Sexualpartner von HCV-Infizierten, Kinder von HCV-positiven Müttern, Personen mit Migrationshintergrund aus Regionen mit erhöhter HCV-Infektionsrate sowie Blut-, Organ- und Gewebespende (Sarrazin et al., 2018).

Analog zu anderen Staaten besteht auch in Deutschland ein deutlicher Einfluss von sozioökonomischen Faktoren auf die Gesamtkrankheitslast, die sich in der Gesamtbevölkerung keinesfalls normalverteilt zeigt. Wichtige Modifikatoren stellen das Geschlecht und das Alter dar: Wie in der nachfolgenden Abbildung 3 dargestellt, sind vor allem junge Männer (20 bis 30 Jahre) von HCV-Infektionen betroffen, während bei Frauen kein sehr ausgeprägter Altersgipfel zu beobachten ist. Insgesamt war die Inzidenzrate bei Männern im Jahre 2002 mit 10,3 Fällen pro 100.000 Einwohner fast doppelt so hoch wie bei Frauen mit 5,8 Fällen pro 100.000 Einwohner (RKI, 2003).

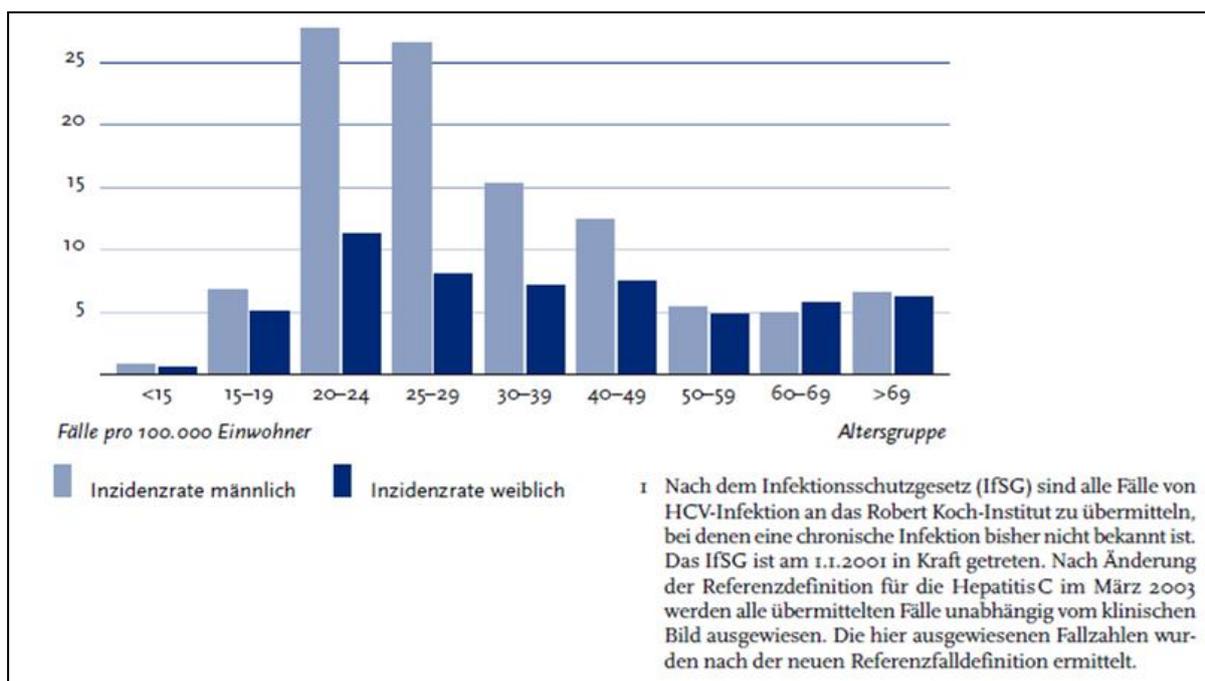


Abbildung 3: Hepatitis-C-Inzidenz in Deutschland 2002 nach Geschlecht und Alter (Quelle: RKI, 2003)

Gemäß neueren Forschungen gelten auch Migranten als Risikokollektiv, die in einer Studienpopulation in internistischen Hausarztpraxen zu ca. 6 % prävalent waren (Buggisch et al., 2013). Da Hepatitis C primär durch Nadelstichverletzungen übertragen wird, finden sich hohe Prävalenzen bei intravenös injizierenden Drogenkonsumenten (60 bis 80 %), bei Hämophilie-Patienten, die vor 1987 Blutgerinnungsfaktoren erhalten haben (80 bis 90 %), bei

Organtransplantierten (5 bis 15 %) sowie bei Dialysepatienten (4 bis 10 %) (RKI, 2003; Schreier, Höhne, 2001; Schulte et al., 2008; Shepard et al., 2005; Stark et al., 1997; Weber et al., 1995).

Insgesamt ist HCV mit einem höheren Risiko für Diabetes mellitus Typ 2 (DM 2) und bestimmte kardiovaskuläre Erkrankungen assoziiert, erhöhte Prävalenzen unklarer Genese könnten also mit einer unentdeckten HCV-Infektion in Verbindung stehen (Babiker et al., 2017; Hammerstad et al., 2015; Naing et al., 2012).

2.1.7 Morbidität, Mortalität und Letalität

Die Mortalität von HCV-Infektionen ist schwer zu ermitteln, da die Infektion selbst (auch in chronischer Form) eher selten zum Tode führt, sondern mittelfristig Erkrankungen (v. a. Leberzirrhose und Leberzellkarzinom) bewirkt, die mit einer hohen Mortalität assoziiert sind. Chronische Virushepatitiden (B, C, E) gelten in den Industriestaaten nach dem Alkoholabusus als zweitwichtigste Ursache für eine Leberzirrhose, da ca. 30 % aller inzidenten Fälle direkt auf einen jahrzehntelangen chronischen HBV- oder HCV-Verlauf zurückgeführt werden können (Grammatikos, Sarrazin, 2010; Niederau, 2011; Sivanathan et al., 2014).

Da in Deutschland die Leberzirrhose-Prävalenz ca. 1 Million Fälle beträgt, kann (bei ca. 500.000 prävalenten Hepatitis-C-Fällen) davon ausgegangen werden, dass mehr als die Hälfte aller HCV-Patienten nach 20 Jahren eine Leberzirrhose ausbilden, deren 5-Jahres-Mortalität (je nach Stadium) bis zu 50 % betragen kann (Neeff et al., 2012; Sauerbruch et al., 2013; Teh et al., 2007). Etwa 5 % aller Leberzirrhose-Patienten bilden ein Leberzellkarzinom aus, das unbehandelt in 50 % der Fälle innerhalb von 6 Monaten zum Tod führt.

Zusammengefasst gehen epidemiologische Schätzungen davon aus, dass in den industrialisierten Ländern 20 % der Fälle mit akuter Hepatitis, 70 bis 85 % der Fälle mit chronischer Hepatitis, 30 % der Fälle mit kompensierter Leberzirrhose, 60 % der Fälle mit hepatozellulärem Karzinom und 30 % der Fälle von Lebertransplantationen auf HCV-Infektionen zurückzuführen sind. Die Erkrankung geht mit einer hohen Morbidität einher (DIMDI, 2003; Grammatikos, Sarrazin, 2010; WHO, 1999).

Unabhängig von den Folgeerkrankungen wurde in aktuellen Kohortenstudien die Mortalität von Hepatitis-C-Patienten untersucht. Dabei betrug die HCV-Sterberate in der fünfjährigen Chronic Hepatitis Cohort Study (CHeCS-Studie) (Untersuchungszeitraum 2006 bis 2010) 14 % (Mahajan et al., 2014), während McCombs et al. (2014) bei HCV-Patienten mit (und ohne)

Virussuppression eine Mortalität von 6,8 pro 1.000 Personenjahre (22 pro 1.000 Personenjahre) ermittelten.

2.1.8 Verlauf der Erkrankung

Die Inkubationszeit der Hepatitis-C-Erkrankung beträgt 15 bis 180 Tage. Bedeutsam ist, dass eine akute HCV-Infektion in 75 % der Fälle asymptomatisch und bei 25 % symptomatisch verläuft, was die Diagnostik erschwert und mit dazu beiträgt, dass v. a. asymptomatische Fälle zumeist chronisch verlaufen.

Die symptomatischen, ikterischen HCV-Infektionen können in bis zu 50 % spontan ausheilen, ohne eine bleibende Immunität zu hinterlassen. Ca. 80 % aller HCV-Infektionen bei Erwachsenen verlaufen chronisch. Fast 20 % der Patienten mit chronischer HCV-Erkrankung entwickeln (in Abhängigkeit von anderen Risikofaktoren, wie Alkoholkonsum, Entwicklung einer Fettleber oder Infektion mit anderen Hepatitiden) innerhalb von 20 Jahren eine Leberzirrhose, wobei bis zu 80 % aller Infektionen chronifizieren (Sarrazin et al., 2018). Im Folgenden ist der natürliche Verlauf einer HCV dargestellt (Abbildung 4).

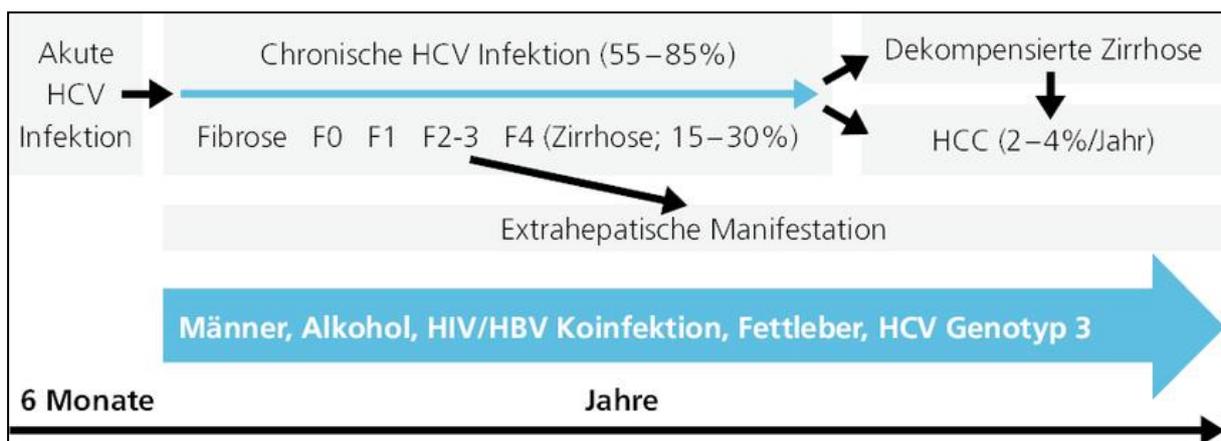


Abbildung 4: Natürlicher Verlauf einer HCV-Infektion (Quelle: Rossol et al., 2006)

2.1.9 Diagnostikverfahren bei HCV-Infektionen (akut und chronisch)

Das HCV-Screening basiert grundsätzlich auf einem Such- und Bestätigungstest. Der Nachweis von Antikörpern gegen HCV (Anti-HCV) dient als Suchtest und erfolgt mittels einem Immunoassay. Anti-HCV-positive (reaktive) Patienten haben in ca. 80 % der Fälle auch HCV-RNA im Blut und sind daher als infektiös zu betrachten. Positive (reaktive) Befunde sollten zur Sicherung der Diagnose einer HCV-Infektion durch einen HCV-RNA-Nachweis verifiziert werden (Sarrazin et al. 2018). Als Labormethode wird hier die RT-PCR

(Reverse Transkriptase-Polymerasekettenreaktion) genutzt. Dabei wird die virale RNA durch eine reverse Transkriptase in DNA umgeschrieben und amplifiziert.

Das „serodiagnostische Fenster“, in dem gegenwärtig eingesetzte Anti-HCV-Immunoassays nach akuter Infektion durchschnittlich negative Resultate liefern, betragen sieben bis acht Wochen. Daher ist der Nachweis der HCV-RNA, die typischerweise bereits ein bis zwei Wochen nach der Infektion detektierbar ist, die Methode der Wahl zur Diagnostik einer akuten HCV-Infektion im „Antikörper-negativen Intervall“. Nach spontaner oder therapeutischer Viruselimination bleibt der Anti-HCV-Immunoassay in der Regel positiv. Erst nach einer sehr lang zurückliegenden HCV-Infektion kann es vereinzelt zu einem Verlust von Anti-HCV kommen. Diaplazentar übertragene Antikörper der Mutter können im kindlichen Blut bis zu 18 Monate nachweisbar sein. Daher können eine HCV-Reinfektion und eine vertikal übertragene HCV-Infektion in den ersten 18 Lebensmonaten nur durch den Nachweis von HCV-RNA diagnostiziert werden (Sarrazin et al., 2018).

Bei Immunkompromittierten können HCV-Antikörper verzögert ausgebildet werden oder fehlen, sodass auch hier zusätzlich eine HCV-RNA-Bestimmung erfolgen sollte. Bei dem Verdacht auf eine akute HCV-Infektion bzw. HCV-Reinfektion nach vorangegangener spontaner oder therapeutischer Viruselimination sowie zum Ausschluss einer Mutter-Kind-Transmission erfolgt der Nachweis direkt durch die Bestimmung der HCV-RNA.

Bei der Erstdiagnose einer HCV-Infektion sind neben der virologisch-serologischen Diagnostik auch die Anamnese (inklusive Risikofaktoren, Familien-, Partneranamnese), die klinische Untersuchung, weitere virologische Tests nach Koinfektionen, klinisch-chemische Basistests, die Oberbauchsonografie und die Bestimmung des Alpha-1-Fetoproteins (AFP) bei erhöhtem HCC-Risiko und/oder einem verdächtigen Leberherd zu berücksichtigen.

Eine Leberbiopsie sollte nur bei dem Nachweis einer chronischen HCV-Infektion angestrebt werden, wenn sich daraus Konsequenzen für die Diagnose ergeben würden, zur Verlaufsbeurteilung und/oder sich daraus eine Therapie ableiten lässt (Sarrazin et al., 2018).

Für die Patienten, die nicht geschützt sind, wird entsprechend eine HBV- und Hepatitis-A-Virus-Impfung (HAV) vorgeschlagen. Im Weiteren sollte der Alkoholkonsum bewertet und quantifiziert werden sowie eine spezifische Beratung erfolgen, um den schädlichen Alkoholkonsum zu beenden. Grundsätzlich sollten alle Patienten mit dem Verdacht auf eine HCV-Infektion getestet werden (Pawlotsky et al., 2018).

2.1.10 Therapie

Das Hauptziel der antiviralen HCV-Therapie besteht darin, die Infektion zu heilen, d. h. eine anhaltende virologische Reaktion (SVR) zu erzielen, die als eine nicht nachweisbare HCV-RNA nach 12 Wochen (SVR12) oder nach 24 Wochen (SVR24) nach Abschluss der Behandlung definiert ist, gemessen mit einer sensitiven molekularen Methode mit einer unteren Nachweisgrenze von ≤ 15 IE/ml. Eine SVR entspricht einer Heilung der HCV-Infektion mit einer sehr geringen Wahrscheinlichkeit eines späteren Rückfalles. Eine SVR geht mit der Normalisierung von Leberenzymen oder dem Verschwinden oder der Verbesserung von Komplikationen wie z. B. einem Leberversagen oder einer portalen Hypertonie einher. Jüngste Daten zeigen eine Reduzierung des Risiko für eine HCC- und eine Leberbedingte Mortalität bei Patienten mit Leberzirrhose, nach Behandlung der HCV-Infektion, im Vergleich zu unbehandelten Patienten und nicht anhaltenden virologischen Respondern, insbesondere in Gegenwart von Cofaktoren, wie z. B. dem metabolischen Syndrom, einem schädlichen Alkoholkonsum und/oder bei gleichzeitigem Vorliegen einer Hepatitis-B-Virus(HBV)-Infektion (Pawlotsky et al., 2018).

Die Therapieentscheidung der HCV-Infektion ist abhängig vom Krankheitsstadium und von der Infektionsart: Die meisten Patienten mit einer *akuten* HCV-Infektion sind asymptomatisch, es wird jedoch eine hohe Chronizitätsrate erwartet (bis zu 50 bis 90%). Patienten mit einer *akuten* Hepatitis C sollten für eine antivirale Therapie in Betracht gezogen werden, um die Entwicklung einer chronischen Hepatitis C zu verhindern. In der Tat verbessert die sofortige Behandlung der akuten Hepatitis C mit DAAs die klinischen Ergebnisse. Hohe SVR-Raten ($> 90\%$) wurden bei einer kleinen Anzahl von Patienten mit IFN-freien Schemata auf Sofosbuvir-Basis berichtet. Die Patienten mit einer akuten HCV-Infektion sollten 8 Wochen lang mit einer Kombination aus Sofosbuvir und Ledipasvir (Genotypen 1, 4, 5 und 6), einer Kombination aus Ritonavir verstärktem Paritaprevir, Ombitasvir und Dasabuvir (Genotyp 1b) oder einer Kombination aus Glecaprevir und Pibrentasvir (alle Genotypen) behandelt werden. Die SVR sollte 12 und 24 Wochen nach der Behandlung untersucht werden, da über späte Rückfälle berichtet wurde (Pawlotsky et al., 2018). Laut der „EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018“ gibt es derzeit keine Indikation für eine antivirale Therapie als Postexpositionsprophylaxe, solange keine dokumentierte HCV-Übertragung vorliegt.

Die *chronische* HCV stellt immer eine Indikation für eine antivirale Therapie dar (Sarrazin et al., 2018). Das Ziel der Therapie ist es, eine HCV-Infektion zu heilen, um Komplikationen

von HCV-bedingten Leberentzündungen, einschließlich Leberfibrose, Leberzirrhose, eine Dekompensation der Leberzirrhose, ein HCC und einer schweren Manifestationen außerhalb der Leber zu verhindern, die Lebensqualität zu verbessern, eine Stigmatisierung zu beseitigen und die Weitergabe von HCV zu vermeiden (Pawlotsky et al., 2018).

Für die Therapie der chronischen HCV sind Kombinationstherapien aus direkt antiviralen Agentien (DAA), Ribavirin und ggf. PEG-Interferon-alpha zugelassen. Es stehen je nach Patientengruppe, HCV-Geno- und -Subtyp oder CHILD-Stadium unterschiedliche Therapieoptionen zur Verfügung. Bei der Wahl aus den Therapieoptionen ist die Effektivität zum Erreichen eines dauerhaften virologischen Therapieansprechens (SVR), mögliche Nebenwirkungen bzw. Kontraindikationen sowie die Therapiedauer zu beachten. Als DAA-Therapie wird eine Behandlung mit einem Interferon-freien Therapieregime betrachtet. Die Empfehlungen für die DAA-Ersttherapie gelten daher für alle Patienten, die bislang keine Therapie erhalten haben (therapie-naiv/TN), die auf eine Behandlung mit (PEG-)Interferon-alpha mit und ohne Ribavirin nicht angesprochen haben (therapie-erfahren/TE) und die mit einer Triple-Therapie (Boceprevir, Telaprevir oder Simeprevir in Kombination mit PEG-Interferon und Ribavirin) vorbehandelt wurden (Sarrazin et al., 2018).

Mit der Einführung der Interferon-freien Therapieoptionen für alle sechs HCV-Genotypen stellt die DAA-Therapie im Vergleich zu den Interferon-basierten Therapieschemata in allen Aspekten den Therapiestandard dar. Das Schema der Therapie, aber auch Prognose und Therapieerfolg sind abhängig vom jeweiligen HCV-Genotyp, dem virologischen Ansprechen und den Leberumbauvorgängen (Sarrazin et al., 2018).

Es werden die folgenden Behandlungsschemata laut der „EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018“ für die Behandlung der HCV-Infektion je nach Genotyp empfohlen. Für den Genotyp 1a für bisher unbehandelte Patienten oder bereits behandlungserfahrene Patienten ohne Zirrhose oder mit einer kompensierten (Child-Pugh A) Zirrhose gelten: z. B. eine Festdosis-Kombination von Sofosbuvir und Velpatasvir für 12 Wochen, eine Fixkombination von Glecaprevir und Pibrentasvir für 8 Wochen oder eine Fixdosis-Kombination von Glecaprevir und Pibrentasvir für 12 Wochen. Die Behandlung mit einer Festdosis-Kombination von Sofosbuvir und Ledipasvir für 12 Wochen wird nicht für behandlungserfahrene Patienten empfohlen.

Folgende Behandlungsschemata werden für die Behandlung einer HCV-Infektion vom Genotyp 1b für bisher unbehandelte Patienten oder bereits behandelte Patienten mit dem Genotyp 1b ohne Zirrhose oder mit einer kompensierten (Child-Pugh A) Zirrhose angeboten:

z. B. eine Festdosis-Kombination von Sofosbuvir und Velpatasvir, eine Kombination von Glecaprevir und Pibrentasvir, eine Festdosis-Kombination von Sofosbuvir und Ledipasvir mit der Festdosis-Kombination von Grazoprevir und Elbasvir oder eine Kombination von Ombitasvir, Paritaprevir und Ritonavir plus Dasabuvir. Alle Kombinationen sollten für jeweils 12 Wochen durchgeführt werden. Patienten (Genotyp 1b) ohne eine Leberzirrhose sollten mit einer Fixkombination von Glecaprevir und Pibrentasvir oder einer Kombination von Sofosbuvir und Ledipasvir für jeweils 8 Wochen behandelt werden.

Bei bisher unbehandelten Patienten oder bereits behandelten Patienten mit einer HCV-Infektion vom Genotyp 2 ohne Zirrhose oder mit einer kompensierten (Child-Pugh A) Zirrhose ist z. B. eine Fixkombination von Glecaprevir und Pibrentasvir für 8 Wochen oder eine Fixdosis-Kombination von Glecaprevir und Pibrentasvir für 12 Wochen empfohlen.

Bisher unbehandelte Patienten oder bereits behandelte Patienten mit einer HCV-Infektion vom Genotyp 3 ohne Zirrhose sollten mit der Festdosis-Kombination von Sofosbuvir und Velpatasvir für 12 Wochen behandelt werden. Diese Fixkombination ist nicht für Patienten mit einer kompensierten (Child-Pugh A) Zirrhose empfohlen. Bisher unbehandelte Patienten oder bereits behandelte Patienten mit einer HCV-Infektion vom Genotyp 3 ohne Zirrhose bis mittelschwere Fibrose (METAVIR-Score F0-F2) sollten mit der festen Dosiskombination von Glecaprevir und Pibrentasvir für 8 Wochen behandelt werden. Patienten (Genotyp 3) mit einer fortgeschrittenen Fibrose (METAVIR-Score F3), aber ohne Leberzirrhose können mit der Fixkombination von Glecaprevir und Pibrentasvir für 8 Wochen behandelt werden. Bereits behandelte Patienten mit einer HCV-Infektion vom Genotyp 3 ohne Zirrhose sollten mit einer Fixdosis-Kombination von Glecaprevir und Pibrentasvir für 12 Wochen behandelt werden. Bisher unbehandelte Patienten mit einer HCV-Infektion vom Genotyp 3 mit kompensierter (Child-Pugh A) Zirrhose sollten eine Fixkombination von Glecaprevir und Pibrentasvir für 12 Wochen erhalten. Bereits behandelte Patienten mit einer HCV-Infektion vom Genotyp 3 mit kompensierter (Child-Pugh A) Zirrhose sollten eine feste Dosiskombination von Glecaprevir und Pibrentasvir für 16 Wochen erhalten.

Bisher unbehandelte Patienten einer HCV-Infektion vom Genotyp 4 oder bereits behandelte Patienten ohne Zirrhose sollten mit der Fixkombination von Glecaprevir und Pibrentasvir für 8 Wochen behandelt werden. Bei zusätzlich vorliegender kompensierter (Child-Pugh A) Zirrhose sollte mit einer Fixdosis-Kombination von Glecaprevir und Pibrentasvir für 12 Wochen begonnen werden. Die Kombination von

Sofosbuvir und Ledipasvir wird bei behandlingserfahrenen Patienten mit einer HCV-Infektion vom Genotyp 4 nicht empfohlen.

Bisher unbehandelte Patienten mit einer HCV-Infektion vom Genotyp 5 oder bereits behandelte Patienten vom Genotyp 5 ohne Zirrhose oder mit einer kompensierten (Child-Pugh A) Zirrhose könnten mit der Festdosis-Kombination von Sofosbuvir und Velpatasvir für 12 Wochen behandelt werden. Patienten ohne eine Leberzirrhose (Genotyp 5) könnten eine antivirale Therapie mit der Fixkombination von Glecaprevir und Pibrentasvir für 8 Wochen erfahren. Wenn eine kompensierte (Child-Pugh A) Zirrhose vorliegt, sollte mit der Fixdosis-Kombination von Glecaprevir und Pibrentasvir für 12 Wochen begonnen werden. Bisher unbehandelte Patienten mit einer HCV-Infektion vom Genotyp 5 ohne Zirrhose oder mit einer kompensierten (Child-Pugh A) Leberzirrhose sollten mit der Kombination von Sofosbuvir und Ledipasvir für 12 Wochen behandelt werden. Die Kombination von Sofosbuvir und Ledipasvir wird bei behandlingserfahrenen Patienten (Genotyp 5) nicht empfohlen.

Bisher unbehandelte oder behandlingserfahrene HCV-infizierte Patienten mit dem Genotyp 6 ohne Zirrhose oder mit kompensierter (Child-Pugh A) Zirrhose sollten eine Festdosis-Kombination von Sofosbuvir und Velpatasvir für 12 Wochen erhalten. Patienten ohne Zirrhose vom HCV Genotyp 6 sollten mit der Fixkombination von Glecaprevir und Pibrentasvir für 8 Wochen behandelt werden. Bei Patienten mit einer kompensierten (Child-Pugh A) Zirrhose (HCV Genotyp 6) sollte eine Fixdosis-Kombination von Glecaprevir und Pibrentasvir für 12 Wochen und bei Patienten ohne Leberzirrhose oder mit ausgeglichener (Child-Pugh A) Zirrhose sollte eine Kombination von Sofosbuvir und Ledipasvir für 12 Wochen durchgeführt werden. Die Kombination von Sofosbuvir und Ledipasvir wird bei behandlingserfahrenen HCV-infizierten Patienten mit dem Genotyp 6 nicht empfohlen.

Eine Leberzirrhose kann entweder mit einer festen Dosis ohne Bestimmung des Genotyps mit Sofosbuvir und Velpatasvir für 12 Wochen oder mit einer Fixdosis-Kombination von Glecaprevir und Pibrentasvir für 12 Wochen ohne Test des Genotyps behandelt werden. Patienten mit einer dekompensierten (Child-Pugh B oder C) Zirrhose können mit Sofosbuvir und Ledipasvir (Genotypen 1, 4, 5 und 6) oder mit Sofosbuvir und Velpatasvir (alle Genotypen) behandelt werden. Die Behandlung sollte zügig und in Zentren mit der Möglichkeit der Lebertransplantation erfolgen (Pawlotsky et al., 2018).

Die Kombinationstherapie ist mit einigen Nebenwirkungen verbunden, die bei den Patienten für den Zeitraum der Therapie eine Reduktion der gesundheitsbezogenen Lebensqualität

bewirken kann (DIMDI, 2003). Als häufig auftretende Nebenwirkungen von Interferonen werden grippeähnliche Symptome, Fatigue, Kopfschmerzen und Fieber genannt, wobei es vereinzelt auch zu depressiven Verstimmungen bis hin zu Suizidversuchen kommen kann (Dusheiko, 1997; DIMDI, 2003; Maier, 2002). Ribavirin kann hingegen eine hämolytische Anämie bedingen, weswegen von diesem Wirkstoff bei vorliegender Niereninsuffizienz und manifester KHK abzuraten ist (Bodenheimer et al., 1997; Di Bisceglie et al., 1995; DIMDI, 2003).

Insgesamt gibt es wenige Gegenanzeigen zur Behandlung mit einer DAA-Therapie. Die Verwendung bestimmter Cytochrom-P450(CYP)/P-Glycoprotein(P-gp)-Induktionsmittel (wie Carbamazepin und Phenytoin) ist aufgrund des Risikos signifikant reduzierter DAA-Konzentrationen und daher eines hohen Risikos für virologisches Versagen in allen Behandlungsplänen kontraindiziert.

Behandlungsschemata, die einen NS3-4A-Proteasehemmer enthalten, wie Ritonavir-verstärktes Paritaprevir, Grazoprevir, Glecaprevir oder Voxilaprevir, dürfen bei Patienten mit dekompensierter Child-Pugh-B- oder C-Zirrhose aufgrund der wesentlich höheren Proteasehemmerkonzentrationen bei diesen Patienten sowie des damit verbundenen Toxizitätsrisikos nicht angewendet werden (Pawlotsky et al., 2018). Sofosbuvir sollte bei Patienten mit schwerer Nierenfunktionsstörung (eGFR < 30 ml/min/1,73 m²) mit Vorsicht angewendet werden, wenn keine alternative Behandlungsoption verfügbar ist, da die Pharmakokinetik und Sicherheit von Sofosbuvir-abgeleiteten Metaboliten bei Patienten mit schwerer Nierenfunktionsstörung noch nicht sicher belegt sind (Pawlotsky et al., 2018).

2.1.11 Hepatitis-C-Infektionen bei Hämodialyse- und nierentransplantierten Patienten

Zu den großen Herausforderungen zählen HCV-Infektionen bei CHD- und NTX-Patienten. Bei beiden Patientengruppen stellt die Infektion mit der chronischen Hepatitis C ein wichtiges Gesundheitsproblem dar, das bei Empfängern von Nierentransplantaten mit schädlichen Folgen verbunden ist. Neben Leberkomplikationen tragen mehrere extrahepatische Komplikationen zur Verringerung des Überlebens von Patienten und Allotransplantaten bei HCV-infizierten Nierentransplantatempfängern bei. Tatsächlich kann die HCV-Infektion als häufigste Ursache für Lebererkrankungen nach einer Nierentransplantation bezeichnet werden, die häufig mit einem Anstieg der Mortalität einhergeht.

Darüber hinaus wurde über eine seltene und schwere Form der Lebererkrankung namens fibrosierende cholestatische Hepatitis (FCH) berichtet, die durch schwere Cholestase und

schnell fortschreitendes Leberversagen gekennzeichnet ist. Grundsätzlich wird dabei angenommen, dass die Immunsuppression nach Transplantation die Viruslast erhöht. Von großer Bedeutung ist eine möglichst frühzeitige Diagnostik an immunsupprimierten Patienten (Baid-Agrawal et al., 2014b).

2.2 Besonderheiten der okkulten HCV-Infektion

Von einer okkulten HCV-Infektion wird gesprochen, wenn sich, trotz negativer HCV-RNA im Serum, unabhängig vom anti-HCV Status, HC-Viren im Gewebe finden. Konkret ist eine okkulte HCV-Infektion definiert durch das Vorhandensein von HCV-RNA (üblicherweise > 200 IU/ml bzw. > 1.000 Kopien/ml HCV-RNA) im Lebergewebe und/oder in den peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in Abwesenheit von HCV-RNA im Serum, unabhängig vom anti-HCV Status (Baid-Agrawal et al., 2014a).

Das Besondere an der okkulten HCV-Infektion ist, dass sie häufig keine Symptome verursacht und wegen der komplexen Nachweisbarkeit häufig auch nicht diagnostiziert wird. Sie kann entweder bei Patienten entstehen, die nach der Behandlung einer chronischen HCV-Erkrankung fälschlicherweise als „geheilt“ eingestuft werden, oder bei Patienten, bei denen eine bestehende HCV-Infektion beschwerdelos ausheilte. Häufig finden sich okkulte HCV-Infektionen in Gewebeproben der Leber bei Patienten mit Leberentzündungen unklarer Genese (Castillo et al., 2004).

Eine okkulte HCV-Infektion im Lebergewebe bzw. in den PBMC wurde bisher in zwei klinischen Settings beschrieben: zum einen bei Patienten mit Lebererkrankungen unbekanntem Ursprungs (Anti-HCV-negative, Serum-HCV-RNA-negative, anhaltend erhöhte Lebertransaminasen) und zum anderen bei Patienten mit Nachweis von HCV-RNA im Lebergewebe mit spontaner/behandlungsinduzierter HCV-RNA-Clearance des Serums (Anti-HCV-positive, Serum-HCV-RNA-negative, normale Lebertransaminasen) (Barril et al., 2008; Castillo et al., 2004; Pham et al., 2010; Welker, Zeuzem, 2009; Zaghoul, El-Sherbiny, 2010).

Ferner wurde über eine okkulte HCV-Infektion in einem anscheinend krankheitsfreien Zustand in Abwesenheit von Lebererkrankungen, Anti-HCV und HCV-RNA im Serum berichtet (de Marco et al., 2009; de Marco et al., 2012).

Andere Forschungsgruppen konnten jedoch bei unterschiedlichen klinischen Rahmenbedingungen wie kryptogenen Lebererkrankungen, einer HCV-assoziierten systemischen Vaskulitis, Bindegewebserkrankungen, gemischter Kryoglobulinämie, onkohämatologischen Erkrankungen, HIV-Infektionen oder bei Patienten mit abgeklungener

HCV-Infektion keine HCV-RNA in den PBMC nachweisen (Bataille et al., 2012; Coppola et al., 2011; Filippi et al., 2012; Halfon et al., 2008; Maylin et al., 2008; Welker, Zeuzem, 2009). Daher bleibt bisher unklar, ob die Existenz der okkulten HCV wirklich postuliert werden kann (Baid-Agrawal et al., 2014a).

Wie dargelegt, bietet die Standarddiagnostik keine vollständige Sicherheit, da manche mild verlaufenden Erkrankungen auch im chronischen Status als okkulte HCV unentdeckt bleiben. Dies ist problematisch insbesondere für immunsupprimierte Patienten z. B. mit chronischer Hämodialyse (CHD) oder Nierentransplantation (NTX), bei denen es dadurch zu Komplikationen kommen kann (Barril et al., 2008; Khedmat et al., 2013).

3 Material und Methoden

3.1 Klinischer Teil

3.1.1 Studiendesign

Der vorliegenden Dissertation liegen zwei Studienabschnitte zugrunde: zum einen eine Querschnittstudie zur Bestimmung von okkulten HCV-Infektionen sowie eine prospektive Längsschnittstudie zur Prävalenzentwicklung im Follow-up. Beide Studienabschnitte waren insofern verblindet, als die Patientenproben nach der Erstellung des Buffy Coats für die nierentransplantierten Patienten von NTX1 bis NTX417 und für die CHD-Patienten mit dem Anfangsbuchstaben des jeweiligen Dialysezentrums und der Kennziffer von eins bis zur Gesamtzahl der Teilnehmer des jeweiligen Zentrums durchnummeriert wurden (z. B. für das KfH Kuratorium für Dialyse und Nierentransplantation e. V.: Bi 1 bis Bi 51). Somit konnten alle Proben jederzeit zugeordnet werden und alle weiteren Tests unter der o. g. Verschlüsselung erfolgen. Das Studienprotokoll wurde in Übereinstimmung mit den ethischen Richtlinien der Erklärung Helsinki und von der Ethikkommission unserer Institution zugelassen. Alle Probanden wurden mündlich und schriftlich aufgeklärt (Aufklärungsbogen im Anhang) und unterschrieben eine schriftliche Einverständniserklärung. Die demografischen und klinischen Daten der Patienten wurden gesammelt und elektronisch festgehalten (Fragebogen im Anhang).

3.1.2 Untersuchte Patienten und Kontrollgruppe

Für den Nachweis von okkulten Infektionen wurden 417 klinisch stabile, asymptomatische NTX-Patienten aus der Transplantationsnachsorge der Medizinischen Klinik für Nephrologie und internistische Intensivmedizin der Charité des Campus Virchow-Klinikum zwischen Mai 2010 und März 2011 sowie 417 klinisch stabile, asymptomatische Dialyse-Patienten aus fünf unterschiedlichen Dialysezentren in Berlin (KfH Nierenzentrum Berlin-Neukölln, KfH Nierenzentrum Berlin-Charlottenburg, KfH Kuratorium für Dialyse und Nierentransplantation e. V., KfH Nierenzentrum Berlin-Köpenick und Dialysezentrum am Treptower Park) von August 2009 bis Mai 2011 untersucht. Nicht bei allen Patienten in diesen beiden Gruppen konnten durchweg valide Daten in den verschiedenen Tests erhoben werden. Die Stichprobengröße variiert dementsprechend in den jeweiligen statistischen Analysen.

Daneben wurde ein Kontrollkollektiv definiert, das sich aus 25 im Serum HCV-RNA-positiven, nicht transplantierten Patienten mit einer chronischen HCV-Infektion ohne

bisherige antivirale Therapie und ohne einen klinischen Hinweis auf eine Leberzirrhose zusammensetzte („positive Kontrollgruppe“). Zusätzlich wurde eine zweite Kontrollgruppe untersucht, in der sich 40 gesunde, asymptomatische HBV-DNA-, HbsAg- und HCV-RNA-negative (im Serum) Probanden wiederfanden, die keine Medikamente einnahmen, eine normale Leberfunktion aufwiesen und eine unauffällige Krankengeschichte vorweisen konnten („negative Kontrollgruppe“). Die Negativkontrollen setzten sich aus klinisch gesunden, freiwilligen Studenten, Bekannten und Verwandten zusammen.

Das gesamte Studienkollektiv wurde auch für eine zweite Studie genutzt: „Die Prävalenz von okkulten Hepatitis B-Virusinfektionen bei nierentransplantierten Patienten und Dialyse-Patienten“, und die Daten und Ergebnisse wurden in einem zweitem Paper veröffentlicht: „Low prevalence of occult hepatitis B virus infection in chronic haemodialysis and kidney transplant patients“ (Muche et al., 2019).

3.1.3 Einschlusskriterien

In die Studie eingeschlossen wurden klinisch stabile und volljährige NTX-Patienten und CHD-Patienten. Patienten der negativen Kontrollgruppe mussten klinisch gesund sein und eine unauffällige Krankengeschichte vorweisen sowie HBV-DNA-, HBsAg-, HCV-RNA- und Anti-HCV-negativ im Serum sein. Im Serum mussten die positiven Kontrollen HCV-positiv sein, d. h. Anti-HCV- und HCV-RNA-positiv sowie HBsAg- und HBV-DNA-negativ. Des Weiteren durfte bei den HCV-positiven NTX-Patienten noch keine antivirale Therapie eingeleitet worden sein. In allen Teilkollektiven waren Volljährigkeit, eine schriftliche Einverständniserklärung sowie die Bereitschaft zur Teilnahme an Anschlussuntersuchungen Voraussetzung.

3.1.4 Ausschlusskriterien

Wesentliches Ausschlusskriterium war, dass im Vorfeld keine antivirale Therapie für HBV oder HCV durchgeführt worden war. Ausgeschlossen wurden ferner Patienten mit einem fortgeschrittenen oder metastasierten Tumorleiden sowie mit Vorerkrankungen im Endstadium (ausgenommen der terminalen Niereninsuffizienz) sowie Patienten, die das 18. Lebensjahr noch nicht vollendet hatten.

3.1.5 Studienablauf

Nach Rücksprache und dem Einverständnis der Transplantationsnachsorge der Medizinischen Klinik für Nephrologie und internistische Intensivmedizin der Charité des Campus Virchow-Klinikum, der einzelnen NTX-Patienten sowie CHD-Patienten und der Dialysezentren wurden die Blutproben von ca. sechs bis acht Patienten pro Tag im Rahmen der monatlichen

Routineblutabnahme von dem Personal der Transplantatambulanz oder den Dialysezentren gewonnen und gekühlt in das Labor der Charité des Campus Virchow-Klinikum transportiert.

3.2 Experimenteller Teil

3.2.1 Buffy-Coat-Gewinnung aus der Citrat-Probe unter sterilen Kautelen

Nach der Blutabnahme mussten die Proben innerhalb von vier Stunden ins Labor transportiert werden. Pro Patienten wurden 20 ml Citrat-Blut, Citrat als Antikoagulant, und 10 ml Serum-Blut benötigt. Die PBMC wurden aus dem Citrat-Blut mithilfe eines Standard-Verfahrens (LEUCOSEP®, Greiner Bio-One) mittels Dichtegradienten-Zentrifugation isoliert und bis zur weiteren Analyse bei -80°C eingefroren.

Im Rahmen der Isolations-Vorbereitung der mononukleären Zellen wurden zunächst die Patientennummern identifiziert, dann die Kryoröhrchen entsprechend beschriftet und die Zählkammer vorbereitet. Anschließend wurde die phosphatgepufferte Salzlösung (DPBS-Puffer (Dulbeccos Phosphate Buffered Saline)) vorbereitet, die durch die enthaltenen Salze (u. a. Natrium- und Kaliumchlorid) dem osmotischen Druck des menschlichen Organismus entspricht, und das Saccharose-Epichlorhydrin-Copolymer (Ficoll) auf Raumtemperatur gebracht. Nachdem das Laminar Flow eingeschaltet, mit 70-prozentigem Ethanol desinfiziert und mit einer blauen Unterlage versehen wurde, wurden 50-ml-Leucosep-Röhrchen, 50-ml-Falcon-Röhrchen sowie Eppendorf-Pipetten bereitgelegt, um mit der Isolierung beginnen zu können.

Die Isolierung erfolgte dann in acht aufeinanderfolgenden Schritten (jeweils für jeden Probanden getrennt):

1. Zunächst wurde für jeden Patienten ein 50-ml-Leucosep-Röhrchen mit 70-prozentigem Ethanol besprüht, um es dann kurz antrocknen zu lassen und dann unter die „Bench“ zu stellen.
2. Danach wurden 15 ml des Ficoll-Copolymers, 15 ml DPBS-Puffer und 20 ml Citrat-Blut (aus 2 x 10 ml Röhrchen) in jedes Leucosep-Röhrchen pipettiert.
3. Im dritten Schritt erfolgte die Zentrifugierung ($680 \times g$, 20 min ohne Bremse).
4. Danach wurde der bei der Zentrifugierung entstandene Überstand bis ca. 1 cm über dem Ring mit einer Pipette abgehoben und verworfen, um anschließend den Ring zu entfernen und die gesamte Flüssigkeit bis zur Trennscheibe zu entnehmen, die dann in ein neues 50-ml-Falcon-Tube überführt und mit DPBS-Lösung aufgefüllt wurde.

5. Im fünften Schritt wurde die Lösung dann erneut zentrifugiert (420 x g, 15 min mit Bremse).
6. Nach der erneuten Zentrifugierung wurde der jetzt entstandene Überstand bis ca. 0,5 cm unter dem Knick des Röhrchens mit einer Pipette abgehoben und verworfen, das Zellpellet mit 10 ml DPBS-Lösung resuspendiert und anschließend mit DPBS aufgefüllt.
7. Im siebten Schritt wurde die gesamte Lösung zum dritten Mal zentrifugiert (15 min mit Bremse).
8. Abschließend wurde der gesamte Überstand vorsichtig mit der Pipette abgehoben, das Zellpellet mit 5 ml DPBS resuspendiert, das Aliquot entnommen und dann die Zellen gezählt.

3.2.2 Zählung der Zellen

Bei der Zählung der Zellen wurden maximal 50 µl aus dem Original entnommen, im Verhältnis 1:10 mit DPBS-Lösung und dann im Verhältnis 1:2 mit Trypanblau verdünnt. Insgesamt wurden also 20 µl Originallösung mit 180 µl DPBS vermischt, daraus 100 µl entnommen und mit 50 µl Trypanblau vermischt. Daraus wurden dann 10 µl herauspipettiert, um sie zum Zählen zu verwenden. Anschließend erfolgte die Berechnung der Zellzahl, wie nachfolgend in Tabelle 2 angegeben:

Tabelle 2: Berechnung der Zellzahl aus 4 x 16 Kleinquadraten

18	20	19
21	17	

(Zahlenangaben in der Tabelle fiktiv)

$$\text{Zellen/ml} = 80/4 \text{ Verdünnungsfaktor} \times 10.000$$

$$80/4 \times 20 \times 10.000 = 4E6/\text{ml}$$

$$\text{Gesamtzellzahl} = 4E6/\text{ml} \times \text{Resuspensionsvolumen}$$

$$4E6/\text{ml} \times 5 \text{ ml} = 2,0E + 7$$

Anschließend wurde von der 5-ml-Zellsuspension das entsprechende Volumen (= 2,5E6 Zellen) in ein 1,5-ml- bzw. ein 2-ml-Eppendorf-Röhrchen, die zuvor mit der Patientenummer beschriftet wurden, pelletiert.

$$\text{z. B. } \frac{2,0\text{E} + 07}{5} = \frac{2,5\text{E} + 06}{x} \quad x = 0,625 \text{ ml}$$

in 5 ml in x ml

Von Relevanz ist, dass alle Zellen aliquotiert werden müssen, wozu mindestens zwei Aliquoten pipettiert und zum Schluss in der Zentrifuge bei Programm 3 zentrifugiert werden. Nach maximal 10 Minuten kann die Zentrifugierung gestoppt, der Überstand vorsichtig und vollständig mit der Pipette abgehoben und die Zellpellets bei -80° C eingefroren werden. Tabelle 3 zeigt eine Übersicht der Programm-Möglichkeiten der genutzten Zentrifuge Hettich Rotina 35 R.

Tabelle 3: Dauer der benötigten Zentrifugalzeit in Abhängigkeit von der relativen Zentrifugalbeschleunigung bei der genutzten Zentrifuge Hettich Rotina 35 R

Programm	T/° C	> RCF* > RPM**	t/min:s
1	25	3000	10:00
2	31	> 680 <	20:00
3	25	1580	15:00
#	Programm # kann beliebig eingestellt werden		

*RCF= relative centrifugal force (relative Zentrifugalbeschleunigung);

**RPM = revolutions per minute (Umdrehungen pro Minute)

(Quelle: eigene Darstellung)

3.2.3 Serumgewinnung unter sterilen Kautelen

Die Serumproben wurden zentrifugiert und der Überstand wurde bei -20° C bis zur späteren Analyse gelagert. Nach der Erfassung aller Proben wurde eine Batch-Analyse für den HCV-RNA-Test durch PCR sowohl im Serum als auch in den PBMC durchgeführt.

3.2.4 HCV-RNA PCR mittels HCV-RNA, Qualitativer Assay von PBMC und Serum

3.2.4.1 VERWENDUNGSZWECK

„Der VERSANT HCV RNA Qualitative Assay kann als ein In-vitro-Nukleinsäure-Assaysystem zur Erkennung der HCV-RNA in Humanplasma und Serum bezeichnet werden, der als Hilfe bei der Diagnose einer HCV-Infektion, der Therapieüberwachung und der Überwachung der Nachbehandlung dient. Mittels der Technologie können frische oder tiefgefrorene Proben von Patienten mit bestätigter HCV-Infektion und Proben von Patienten mit dem Verdacht auf selbige getestet werden, um zwischen einer aktiven Virusreplikation und keiner oder einer überstandenen HCV-Infektion zu unterscheiden.“ (Siemens, 2007)

3.2.4.2 TESTPRINZIP

„Der VERSANT HCV RNA Qualitative Assay arbeitet mit transkriptionsvermittelter Amplifikation (Transcription-Mediated-Amplification – TMA), um konservierte Regionen in der 5'-UTR des HCV-Genoms zu amplifizieren. Die TMA erzeugt eine Vielzahl von RNA-Kopien des viralen Genoms mithilfe der Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase (M-MLV RT) und T7-RNA-Polymerase. Die Testgenauigkeit wird dabei mithilfe einer internen Nukleinsäure-Kontrolle überwacht, die jeder Probe zusammen mit dem Target-Capture-Reagenz zugegeben wird. Der Prozess erfolgt dabei in drei Hauptschritten: Die Vorbereitung der Probe besteht in einer Detergenzlyse der Viren mit nachfolgender Hybridisierung der freien viralen Nukleinsäuren mittels zur 5'-UTR komplementär verlaufendem Capture-Oligonukleotid in einer Lösung. Die interne Kontrolle wird in ähnlicher Weise hybridisiert. Die hybridisierten Targets werden dann an magnetische Mikropartikel gebunden und mithilfe eines Magneten von den übrigen Probestandteilen getrennt. Dadurch, dass die gebundenen Targets durch das Magnetfeld festgehalten werden, können sie gründlich gewaschen und so eventuelle inhibierende Substanzen entfernt werden.“ (Siemens, 2007)

„Die TMA beginnt mit der Zugabe mehrerer Primer, Nukleotiden, RT und T/Polymerasen zur gebundenen und gereinigten Nukleinsäure. Der erste Primer, der i. d. R. eine T7-Promotor-Region enthält, bindet dabei an die isolierte RNA und wird durch die RT verlängert, wodurch ein RNA/DNA-Zwischenprodukt gebildet wird.“ (Siemens, 2007)

„Der DNA-Strang wird durch die RNase-H-Aktivität der RT abgebaut. Ein zweiter Primer bindet an den DNA-Strang und die DNA-Polymerase-Funktion der RT erzeugt eine

doppelsträngige DNA-Matrize. Diese doppelsträngige DNA enthält die T7-Promotor-Region aus dem ersten Primer und bindet an die Promotor-Region, um hier die DNA mit einer Ausbeute von 100 bis 1.000 RNA-Kopien zu transkribieren. Verglichen mit dem Original-Virusgenom oder der Matrize der internen Kontrolle stellen diese Kopien „minus-sense“ und „anti-sense“ RNA-Stränge dar. Der zweite Primer bindet an jede dieser „anti-sense“ RNA-Kopien und wird durch die RT zu einem RNA/DNA-Duplex erweitert. Der RNA-Strang wird dann durch die RNase-H abgebaut, wobei der erste Promotor mit der T7-Promotor-Region an den DNA-Strang bindet. Dieser Strang wird durch die RT zu einer doppelsträngigen DNA-Matrize mit einem T7-Promotor erweitert. Es werden weitere RNA-Kopien angefertigt und der Prozess läuft autokatalytisch weiter, wobei bis zu 10 Milliarden Amplifikate in einer Studie produziert werden können.“ (Siemens, 2007)

„Mithilfe der Hybridisierungsschutzassays (HPA) werden die von der TMA-Reaktion produzierten HCV-Amplifikate und die RNA-Amplifikate der internen Kontrollen nachgewiesen. Einzelsträngige, Amplifikat-komplementäre Nukleinsäure-Sonden sind mit chemilumineszenten Acridiniumesterderivaten markiert. Dabei werden zwei verschiedene Acridiniumesterderivate mit unterschiedlichen Chemilumineszenz-Eigenschaften verwendet: zum einen ein Acridiniumesterderivat speziell für die HCV-Amplifikat-komplementären Sonden, welche an die RNA-Amplifikate binden und so die Acridiniumesterderivate vor der Hydrolyse durch das Selection-Reagenz schützen. Zum anderen werden freie und nicht spezifisch gebundene markierte Sonden durch Zugabe des Selection-Reagenzes hydrolysiert. Die Zugabe der Auto-Detect-Reagenzien löst bei den durch Hybridisierung geschützten Acridiniumesterderivaten ein Chemilumineszenz-Signal aus, das in einem Luminometer gemessen und in numerischer Form in relativen Lichteinheiten (RLU) angezeigt wird. Durch die unterschiedlichen chemischen Modifikationen der Acridiniumester der Sonden für HCV und für die interne Kontrolle besitzen die Sonden jeweils eine andere Lichtemissionskinetik, d. h. die Lichtemission erfolgt zu unterschiedlichen Zeiten und mit unterschiedlicher Dauer. Die besondere Kinetik dieser Acridiniumderivate führt zu einem kurzen intensiven Lichtblitz – dem Flasher-Signal – seitens der HCV-spezifischen Sonden. Das Luminometer misst die für das Virus bzw. die interne Kontrolle spezifischen Signale und gibt das jeweilige Ergebnis über eine Datenreduktionssoftware aus.“ (Siemens, 2007)

3.2.4.3 MATERIALIEN

„Jedes Kit enthält Reagenzien für insgesamt 100 Tests bzw. für bis zu 4 Ansätze von je 25 Tests, die jeweils enthaltenen Reagenzien sind dabei in Tabelle 4 dargestellt.“ (Siemens, 2007)

Tabelle 4: Reagenzien und die in ihnen enthaltenen Materialien

BOX 1:			
Materialien	Menge	Beschreibung	Lagerung
Internes Kontrollreagenz	1 x 1 ml	RNA-Transkript HEPES-Puffer Detergenz	in -15° bis -35° C mit ungeöffnet
Amplifikationsreagenz	1 x 8,5 ml	Primer, dNTPs und Ko-Faktoren in TRIS- Puffer mit Konservierungsmittel	-15° bis -35° C ungeöffnet
Enzymreagenz	1 x 2,8 ml	MMLV Reverse Transkriptase und T7- RNA-Polymerase in HEPES/TRIS-Puffer mit Natriumazid (0,05 %)	-15° bis -35° C ungeöffnet
HCV-Probenreagenz	1 x 14 ml	Chemilumineszente Oligonukleotidsonden in Succinatpuffer mit Detergenz	-15° bis -35° C ungeöffnet
Positiver Kalibrator	4 x 2 ml	Inaktiviertes HCV- positives Plasma in defibriniertem normalen Humanplasma mit Gentamicin und 0,2 % Natriumazid	-15° bis -35° C
Negativer Kalibrator	4 x 2 ml	Defibriniertes normales Gentamicin-haltiges Humanplasma und 0,2 % Natriumazid	-15° bis -35° C

BOX 2:

Materialien	Menge	Beschreibung	Lagerung
Target-Capture-Reagenz	1 x 50 ml	Capture-Oligonukleotid und magnetische Mikropartikel in HEPES-Puffer mit Detergenz	2° bis 8° C

BOX 3:

Materialien	Menge	Beschreibung	Lagerung
Selection-Reagenz	1 x 30 ml	Boratpuffer mit Detergenz	15° bis 30° C
Waschlösung	1 x 400 ml	HEPES-Puffer mit Detergenz und Konservierungsmittel	15° bis 30° C
Öl	1 x 24 ml	Silikonöl	15° bis 30° C
Puffer für Deaktivierungsflüssigkeit	1 x 400 ml	Natriumbikarbonatpuffer, pH 9,2 bis 9,4	15° bis 30° C

(Quelle: Siemens, 2007)

➤ ***Nicht enthaltene, aber notwendige Materialien:***

- Auto Detect Set, Siemens Medical Solutions Diagnostics 122235D (1 x 240 ml Auto Detect 2), 500 Tests
- 1,0 ml aerosolbeständige Spritzen
- Serologische Pipetten 1,0 ml, 5,0 ml, 10,0 ml und 25 ml
- Sterile Eppendorf-Multistep-Kombispritzen oder äquivalent, 1,25 ml, 5,0 ml, 12,5 ml
- Sterile Polypropylen-Röhrchen 4,0 ml, 10 ml und 50,0 ml
- Bleichmittel, unparfümiert (5 % Natriumhypochlorit)
- Behälter für infektiösen Anteil
- Zirkulations-Wasserbäder (2 x 60° C ± 1° C, 1 x 41,5° ± 1° C), Siemens Diagnostics 122982 (120 V) oder 122983 (240 V) oder äquivalente mit Innenabmessungen B 38 cm x T 30 cm x H 19 cm mit Abstandshaltern für zwei TTU-Racks
- Einweg-Laborbankabdeckungen
- Labormäntel (2)
- Eppendorf-P100-Pipette oder gleichwertige (3)

-
- Hochleistungs-Vakuumpumpe, für konstantes Vakuum größer oder gleich 93 kPa (66 cm oder 660 mmHg), Siemens Diagnostics 122979 (120 V) oder 122980 (240 V) oder äquivalente
 - Luminometer HC⁺, Siemens Diagnostics 129294 (115 V/230 V)
 - HC⁺ Computersystem mit Monitor, Siemens Diagnostics 122975
 - HC⁺ Drucker, Siemens Diagnostics 122976
 - HC⁺ Druckerkabel, Siemens Diagnostics 122977
 - TMA Data Reduction Software (Datenreduktionssoftware), Siemens Diagnostics 131772
 - TMA Worklist Editor (Arbeitslisteneditor), Siemens Diagnostics 131773
 - Testprotokolldiskette, Siemens Diagnostics 131774
 - Multi-Tube-Vortexmischer (2) VWR Multitube Vortexer oder gleichwertiger
 - Pipettierballon oder Pipettierhilfe
 - Abklebefolien, Siemens Diagnostics 122987
 - Target Capture System, Siemens Diagnostics 129897
 - Ten Tip Cassettes (TTCs), Siemens Diagnostics 122989
 - Ten Tube Units (TTUs), Siemens Diagnostics 122988
 - Wanne oder Behälter B 45 cm x T 60 cm
 - Unterbrechungsfreie Stromversorgung
 - Wasserbeständige Thermometer (4)
 - Kontrollset, Siemens Diagnostics 122235E (4 x 1 ml Positivkontrolle, 4 x 1 ml Negativkontrolle)
 - Barcode-Leser, Handgerät, Siemens Diagnostics 122078

3.2.4.4 INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

„Das Luminometer misst die RLU für das Target bzw. Analyt (das Glower-Signal) und für die interne Kontrolle (das Flasher-Signal). Mittels der TMA-Data-Reduction-Software (Datenreduktionssoftware) werden dann zwei Grenzwerte für den Assay berechnet: zum einen ein Analyt-Grenzwert (Analyte CO) für das Analyt-Signal, zum anderen ein interner Kontroll-Grenzwert (IC Cutoff) für das Signal der internen Kontrolle.“ (Siemens, 2007)

Die Grenzwerte werden dabei wie folgt bestimmt:

- Interner Kontroll-Grenzwert = $0,5 \times [\text{NCx}(\text{IC})]$

-
- $\text{Analyt-Grenzwert} = \text{NCx}(\text{Analyt}) + [0,04 \times \text{PCx}(\text{Analyt})]$

„Dabei bezeichnet der Grenzwert $\text{NCx}(\text{IC})$ den Mittelwert der Werte des negativen Kalibrators für das Signal der internen Kontrolle, der Grenzwert $\text{NCx}(\text{Analyt})$ den Mittelwert der Werte des negativen Kalibrators für das Analyt-Signal und der Grenzwert $\text{PCx}(\text{Analyt})$ den Mittelwert der Werte des positiven Kalibrators für das Analyt-Signal.“ (Siemens, 2007)

3.2.4.5 TESTVALIDIERUNG

„Bei einem ungültigen Testverlauf werden keine Grenzwerte berechnet. In den folgenden Fällen muss der Testlauf wiederholt werden:

- wenn mehr als ein positiver und ein negativer Kalibrator ungültig sind,
- wenn während des Tests technische, bediener- oder gerätebedingte Schwierigkeiten bemerkt und dokumentiert werden.“ (Siemens, 2007)

3.2.4.6 TESTAUSWERTUNG

„Die Gültigkeit einer Probe wird aus dem Verhältnis des Analyt-Signals zum Analyt-Grenzwert (Analyt S/CO) und dem Signal der internen Kontrolle, bezogen auf den IC-Grenzwert, bestimmt. Für Analyt-reaktive, positive Kalibratoren oder Proben wird das Signal der internen Kontrolle nicht zur Validierung des Ergebnisses herangezogen. Dabei gilt eine Probe als ungültig und nicht reaktiv, wenn

- ihr Analyt-Signal kleiner als der Analyt-Grenzwert (d. h. $\text{Analyt S/CO} < 1$) und ihr Signal der internen Kontrolle (IC) gleich oder größer dem Grenzwert für die interne Kontrolle (IC Cutoff) ist,
- ihr Analyt-Signal schwächer als der Analyt-Grenzwert (d. h. $\text{Analyt S/CO} < 1$) und ihr Signal der internen Kontrolle kleiner als der Grenzwert der internen Kontrolle ist,
- ihr Analyt-Signal gleich oder größer dem Analyt-Grenzwert (d. h. $\text{Analyt S/CO} \geq 1$) und ihr Signal der internen Kontrolle kleiner oder gleich 475.000 RLU ist.“ (Siemens, 2007)

3.2.4.7 AKZEPTANZKRITERIEN FÜR DIE KALIBRATOREN

„Jeder negative Kalibrator muss ein IC-Signal zwischen 75.000 RLU und 300.000 RLU und ein Analyt-Signal zwischen 0 RLU und 40.000 RLU liefern. Der Testlauf ist ungültig und muss wiederholt werden, wenn zwei Werte des negativen Kalibrators ungültig sind oder ein Analyt-Signal außerhalb des Sollbereichs haben. Wenn ein Wert der negativen Kalibratoren ungültig ist oder ein Analyt-Signal außerhalb des Sollbereichs besitzt, berechnet die Software

den Mittelwert der negativen Kalibratoren für das Analyt-Signal ($NCx(\text{Analyt})$) anhand der beiden akzeptablen Werte neu. Die Berechnung des Mittelwerts des negativen Kalibrators für das Signal der internen Kontrolle erfolgt dabei über den Grenzwert $NCx(IC)$, während der Mittelwert der negativen Kalibratoren für das Analyt-Signal über den Grenzwert $NCx(\text{Analyt})$ berechnet wird.“ (Siemens, 2007)

„Jeder positive Kalibrator muss ein Analyt-Signal zwischen 400.000 RLU und 2.700.000 RLU haben, wobei das Signal der internen Kontrolle kleiner oder gleich 475.000 RLU sein muss. Wenn der Wert für einen positiven Kalibrator außerhalb des Bereiches liegt, berechnet die Software den Mittelwert der positiven Kalibratoren ($PCx(\text{Analyt})$) anhand der beiden akzeptablen Werte neu.“ (Siemens, 2007)

3.3 Datenerhebung und Statistik

Die Zählung der Zellen diente dazu, festzuhalten, wie häufig sich eine okkulte HCV-Infektion in den beschriebenen Kollektiven findet. Die Ergebnisse der Zählung wurden in MS Excel übertragen und von dort aus in SPSS transferiert, um die epidemiologischen Berechnungen statistisch vornehmen zu können. In Excel wurden dabei nicht nur die Ergebnisse der Zellzählung übertragen, sondern auch soziodemografische Parameter, physiologische, klinische Parameter und sonstige Erkrankungen, um die Subkollektive deutlicher voneinander abgrenzen zu können.

Bei der statistischen Berechnung wurden zunächst Häufigkeitsanalysen in den Subkollektiven durchgeführt, um anschließend mittels Signifikanztests zu untersuchen, ob die identifizierten Unterschiede zufällig entstanden sind (weil die Stichprobe nicht in dem ausreichendem Maße repräsentativ ist) oder ob die Unterschiede auch in der Grundgesamtheit bestehen (überzufällig) und damit signifikant sind. Dabei wurde durchgängig ein p-Wert von $< 0,05$ zweiseitig bei allen Analysen als statistisch signifikant gewertet ($\alpha = 0,05$).

Da schon bei der Stichprobenauswahl deutlich wurde, dass sich die Teilkollektive in den vorliegenden geplanten Untersuchung hinsichtlich der Altersverteilung deutlich voneinander unterscheiden werden, wurden zusätzliche Analysen in Bezug auf die Alters –und Geschlechtsverteilung sowie auf die Verteilung der Prävalenzen typischer Begleiterkrankungen (DM 2 und Hypertonie) durchgeführt. Wie im einleitenden Kapitel erwähnt, wird HCV mit einem erhöhten Risiko für DM 2 und anderen kardiovaskulären Erkrankungen in Verbindung gebracht, erhöhte Prävalenzen mit unklarer Genese könnten also ein Prädiktor für eine okkulte HCV-Infektion sein. Das Kollektiv der NTX-Patienten soll

dabei mit den angenommenen Prävalenzen der Gleichaltrigen verglichen werden, wobei die Bundeszahlen (für das Jahr 2015) dem Versorgungsatlas Diabetes entnommen werden (Goffrier et al., 2017). Der Vergleich der Hypertonie-Prävalenz der CHD- und NTX-Patienten zur jeweils gleichaltrigen Bundeskohorte erfolgt unter Hinzunahme der Angaben des Robert Koch Instituts (RKI, 2008).

Immer wenn die zu vergleichenden Variablen binär codiert waren, wurde die statistische Signifikanz mittels des Chi-Quadrat-Unabhängigkeitstests untersucht. Bei den kardinalskalierten Variablen wurde für den direkten Vergleich von Einzelvariablen in zwei Kollektiven auf den t-Test für unabhängige Stichproben (zweiseitig) zurückgegriffen. Als unabhängig gelten dabei all diejenigen Stichproben, die sich aus unterschiedlichen Probanden zusammensetzen, was in der vorliegenden Arbeit als angemessen erscheint, da sich die Patienten aus unterschiedlichen Populationen zusammensetzen. Eigentlich setzt der t-Test Normalverteilung voraus, die mittels des Kolmogorow-Smirnow-Tests überprüft werden kann. In dieser Arbeit liegt jedoch keine Normalverteilung vor, so dass auf den Mann-Whitney-Test zurückgegriffen wurde, der prädestiniert für die Signifikanzüberprüfung bei nicht normalverteilten, unabhängigen Stichproben ist.

Immer wenn mehrere Kollektive miteinander verglichen werden sollten (da sich das Gesamtkollektiv insgesamt aus zwei verschiedenen Patienten- und zwei Kontrollkollektiven zusammensetzte), wurde die einfaktorielle Varianzanalyse (Analysis of Variance, ANOVA) bzw. der Kruskal-Wallis-Test genutzt.

Ferner wurden Korrelationsanalysen durchgeführt, um festzuhalten, ob sich zwischen verschiedenen Variablen des Studienkollektivs statistische Zusammenhänge identifizieren lassen. Dabei wurde auf den Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman zurückgegriffen, der (anders als der Korrelationskoeffizient nach Pearson) als weniger Ausreißer-empfindlich gilt, keine Normalverteilung voraussetzt und es erlaubt, Variablen mit unterschiedlicher Skalierung miteinander zu vergleichen. Bei den binär codierten Variablen wurde der Phi-Korrelationskoeffizient berechnet.

Bei einer Korrelation von 0,05 bis $< 0,2$ wurde dabei jeweils ein geringer, bei Werten zwischen $> 0,2$ und $< 0,5$ ein mittlerer, bei Werten zwischen $> 0,5$ und $< 0,7$ ein hoher und bei Werten $> 0,7$ ein sehr hoher Zusammenhang angenommen.

Abschließend wurden auch die Odds Ratio (OR) berechnet, um epidemiologisch festhalten zu können, ob bei NTX-Patienten oder CHD-Patienten mit einem erhöhten Risiko einer HCV-Infektion gerechnet werden muss.

In vorliegender Arbeit wurde die statistische Analyse mittels der Software SPSS 21 oder entsprechender Onlinetools durchgeführt, während die Abbildungen der Häufigkeitsanalyse mittels MS Excel 2010 erstellt wurden.

4 Ergebnisse

4.1 Soziodemografische Analyse

Um das Studienkollektiv zu charakterisieren und eventuell bei den Berechnungen und Interpretationen der Ergebnisse zu berücksichtigende Faktoren herauszustellen, erfolgte eine soziodemografische Analyse in Bezug auf die Stichprobe.

In Tabelle 5 ist dargestellt, wie sich die vier Teilkollektive: die CHD-Patienten, die NTX-Patienten, die HCV-positiven Patienten und die HCV-negativen Patienten bezüglich der Altersverteilung unterscheiden.

Im Anschluss daran werden in Abbildung 5 (Seite 36) die Unterschiede hinsichtlich der Altersverteilung in Form eines Boxplot-Diagramms dargestellt.

Ersichtlich sind teilweise deutliche Unterschiede hinsichtlich der alters- und geschlechtsspezifischen Mittel- und Streuungswerte, da im Durchschnitt die CHD-Patienten 66,14 Jahre, die NTX-Patienten 53 Jahre, die HCV-Patienten 60,19 Jahre und die HCV-negativen Patienten 32,55 Jahre alt waren. Die Unterschiede waren im Kruskal-Wallis-Test statistisch signifikant ($p = < 0,0001$).

Tabelle 5: Altersverteilung in den Teilkollektiven

	CHD-Patienten	NTX-Patienten	HCV-positive Kontrollgruppe	HCV-negative Kontrollgruppe	Signifikanz*
Mittelwert	66,14	53,00	60,19	32,55	< 0,0001**
Median	69,66	52,52	65,57	30,90	
Standardabweichung	14,86	12,80	12,49	8,33	

* Signifikanz berechnet durch den Kruskal-Wallis-Test

** statistisch signifikant bei $\alpha = 0,05$

(Quelle: eigene Darstellung)

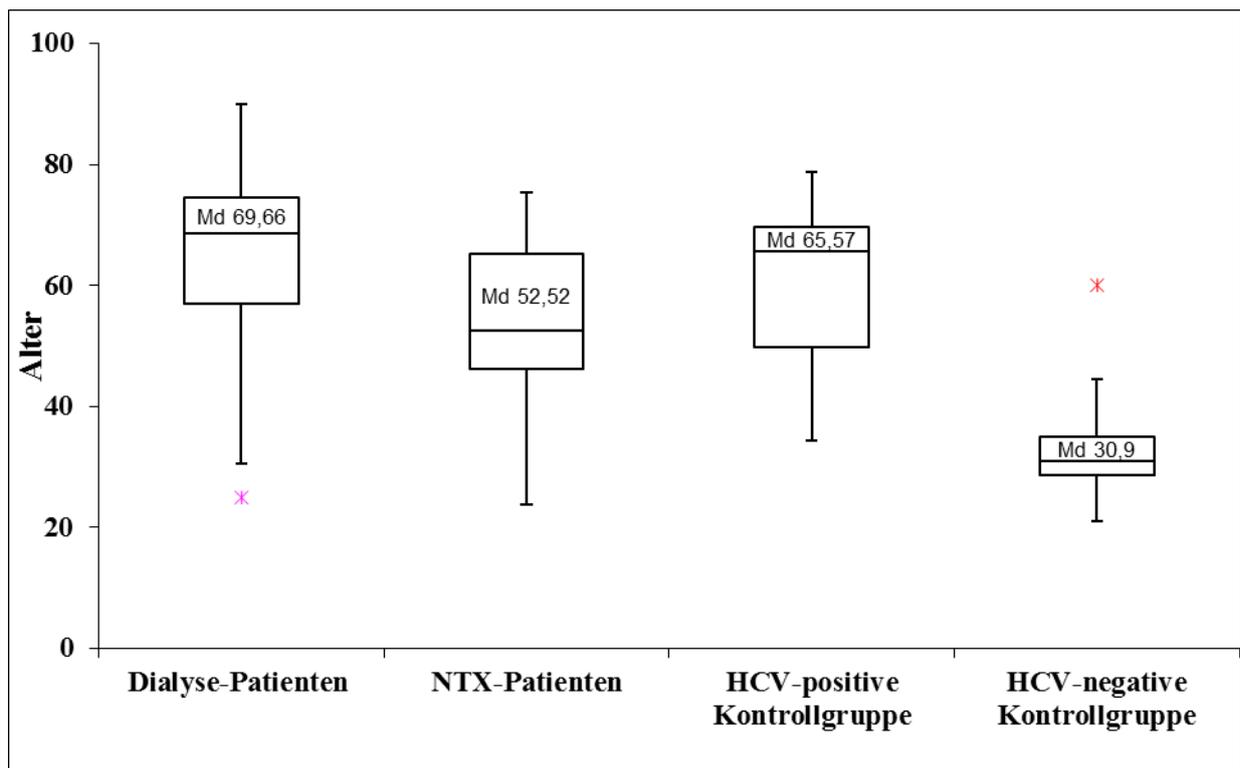


Abbildung 5: Boxplot der Altersverteilung in den Gruppen CHD (n = 417), NTX (n = 417), HCV-pos. Kontrolle (n = 40), HCV-negative Kontrolle (n = 25); (Quelle: eigene Darstellung)

Auch hinsichtlich der Geschlechtsverteilung zeigen sich deutliche Unterschiede, wie in Abbildung 6 (Seite 37) dargestellt:

Während bei den CHD-Patienten 45,6 % weiblich waren, betrug der Anteil an Frauen bei NTX-Patienten 40 %, bei den HCV-positiven Patienten 68 % und bei den HCV-negativen Patienten 60 %. Die Unterschiede waren mit $p = < 0,0001$ ebenfalls statistisch signifikant.

Abbildung 7 (Seite 37) zeigt die Verteilung nach der Staatsangehörigkeit bei den CHD-Patienten. Hier ist ersichtlich, dass $> 95\%$ der CHD-Patienten aus Deutschland kommen. Für die NTX-Patienten standen keine Informationen hinsichtlich der ethnischen Zugehörigkeit zur Verfügung.

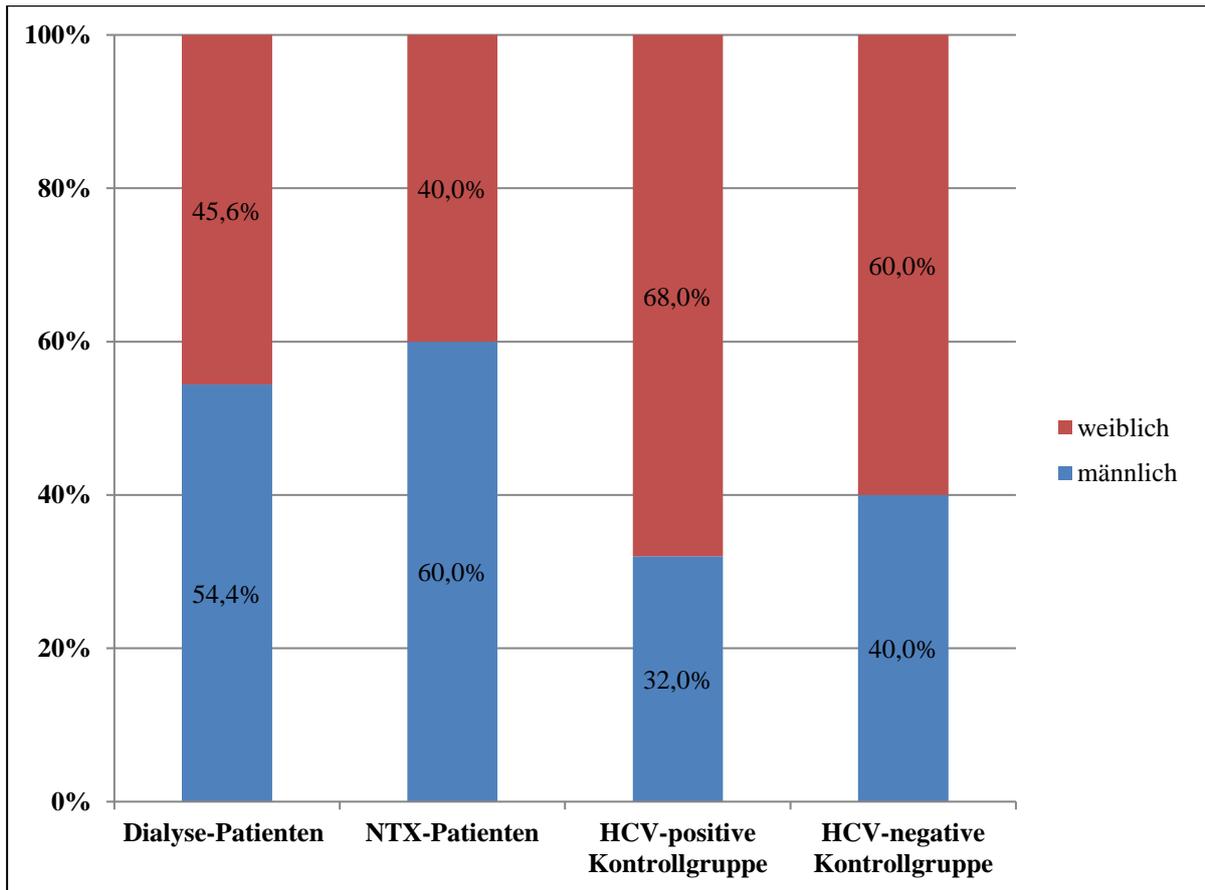


Abbildung 6: Geschlechtsverteilung in den Gruppen; CHD (n = 417), NTX (n = 417), HCV-pos. Kontrolle (n = 40), HCV-negative Kontrolle (n = 25); (eigene Darstellung)

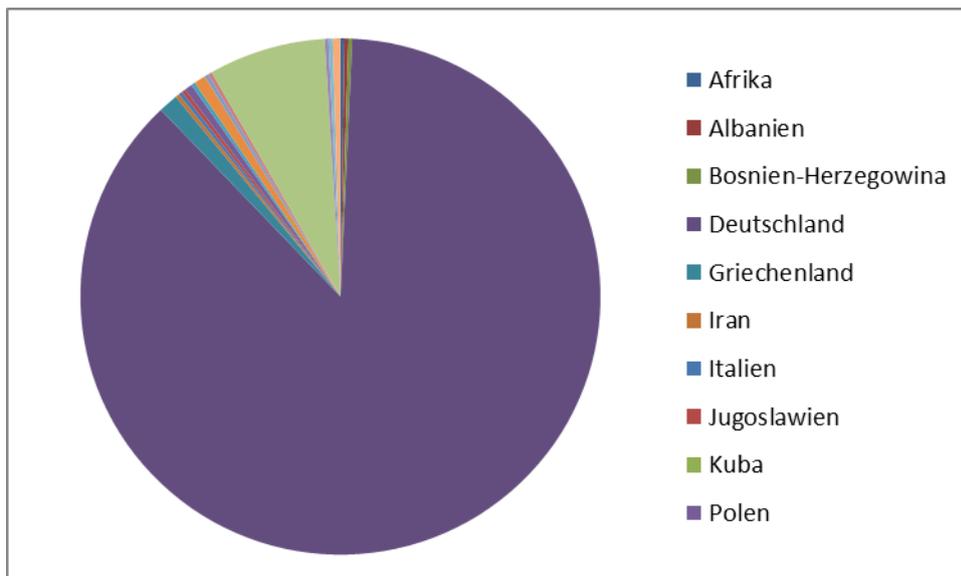


Abbildung 7: Darstellung der Verteilung der Staatsangehörigkeit (am Beispiel der CHD-Patienten); CHD (n = 417), NTX (n = 417); (Quelle: eigene Darstellung)

4.2 Prävalenz von Begleiterkrankungen

Diabetes mellitus Typ 2

Die Ergebnisse zeigt Abbildung 8: Bei insgesamt 40,9 % der CHD-Patienten bestand ein DM 2; der Bundesdurchschnitt bei den Gleichaltrigen lag bei 16,2 %. Das Durchschnittsalter in der Gruppe der CHD-Patienten betrug in der Stichprobe 66,14 Jahre. Für den Vergleich zur in Deutschland angenommenen Prävalenz von DM 2 wurden die Angaben für die Altersklasse der 56- bis unter 70-Jährigen aus der Bundeskohorte vergleichend hinzugezogen.

Bei 29,5% der NTX-Patienten wurde ein DM 2 angegeben; der Bundesdurchschnitt bei den Gleichaltrigen lag bei 4,34 %. Das Kollektiv der NTX-Patienten, die im Durchschnitt 53 Jahre alt waren, wurde dabei mit den angenommenen Prävalenzen der 50- bis unter 55-Jährigen verglichen. Die DM-2-Prävalenz in dem Kollektiv der CHD-Patienten und in dem Kollektiv der NTX-Patienten war höher als in den gleichaltrigen Vergleichsgruppen. Die Unterschiede im Vergleich zur gleichaltrigen Bundeskohorte waren für beide Gruppen statistisch signifikant ($p = < 0,0001$).

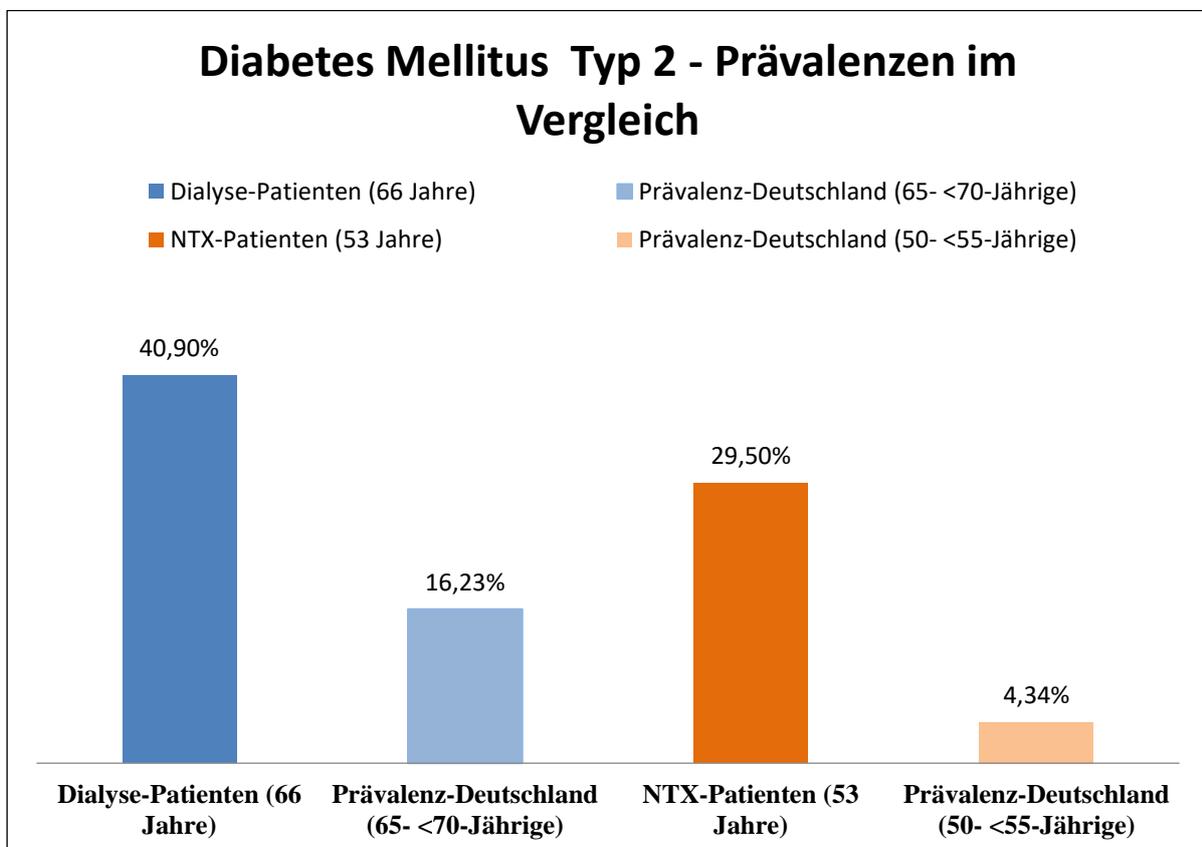


Abbildung 8: DM-2-Prävalenz bei den CHD- und den NTX-Patienten im Vergleich zur jeweils gleichaltrigen Bundeskohorte (CHD (n = 417), NTX (n = 417)); (Quelle: eigene Darstellung)

Arterielle Hypertonie

Wie in Abbildung 9 dargestellt, lag die Hypertonie-Prävalenz bei den CHD-Patienten bei 89,5 %. Sie war etwa 10 % höher als im gleichaltrigen Kollektiv bezogen auf die Bundeskohorte. Bei den NTX-Patienten lag die Hypertonie-Prävalenz bei 100 % und damit 35 % höher als im gleichaltrigen Kollektiv bezogen auf die Bundeskohorte. Die Unterschiede waren mit $p = <0,0001$ jeweils statistisch signifikant. Als hypertont wurden dabei Patienten mit einem systolischen Blutdruck > 140 mmHg und einem diastolischen Blutdruck > 90 mmHg definiert (RKI, 2008).

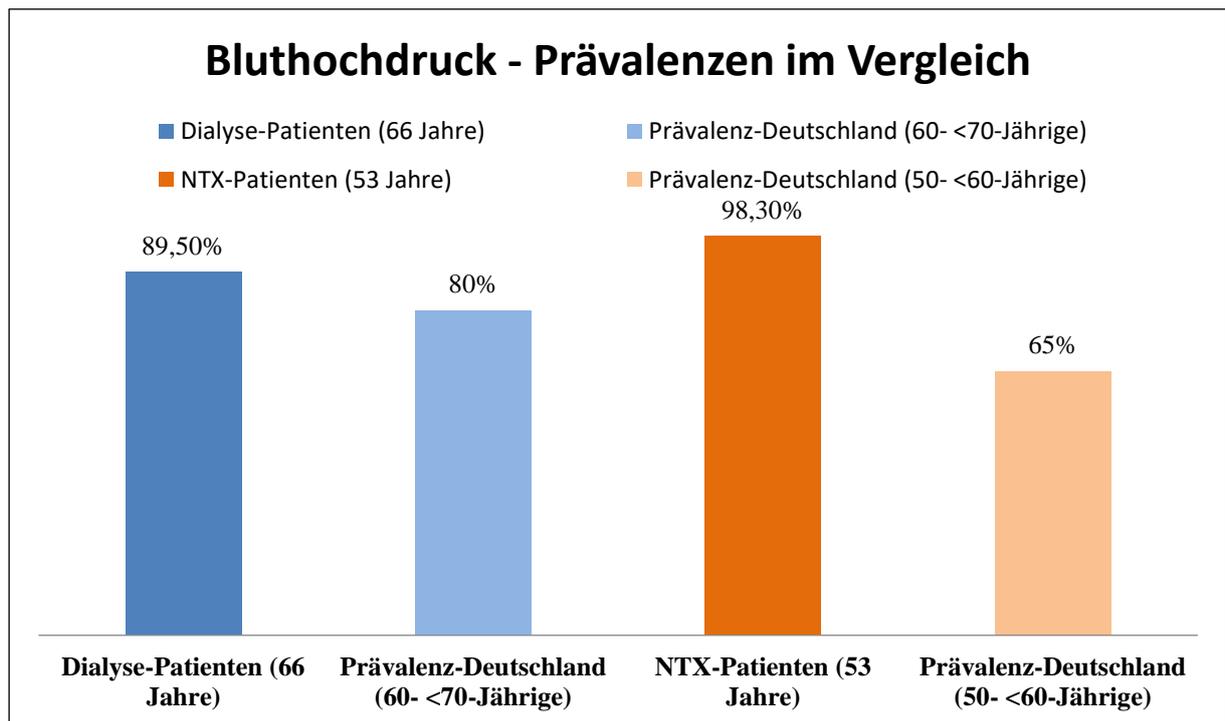


Abbildung 9: Hypertonie-Prävalenz bei den CHD- und den NTX-Patienten im Vergleich zur jeweils gleichaltrigen Bundeskohorte; CHD (n = 417), NTX (n = 417); (Quelle: eigene Darstellung)

4.3 Prävalenz und Bedeutung der okkulten HCV-Infektion

Aufgrund der in den vorherigen Kapiteln vorgenommenen Berechnungen konnte abschließend auch der Anteil an okkulten HCV-Diagnosen festgestellt werden, die immer dann vorliegen, wenn HCV-RNA (üblicherweise >200 IU/ml bzw. >1000 Kopien/ml HCV-RNA) im Lebergewebe und/oder in den PBMC-Zellen in Abwesenheit von HCV-RNA im Serum, unabhängig vom anti-HCV Status identifizierbar ist. Wie in Abbildung 10 dargestellt, betrug die Prävalenz der okkulten HCV-Infektion bei den CHD-Patienten 0,25 % (n = 1 Patient) und bei den NTX-Patienten 0,5 % (n = 2 Patienten, bei denen bereits eine Lebertransplantation stattgefunden hat).

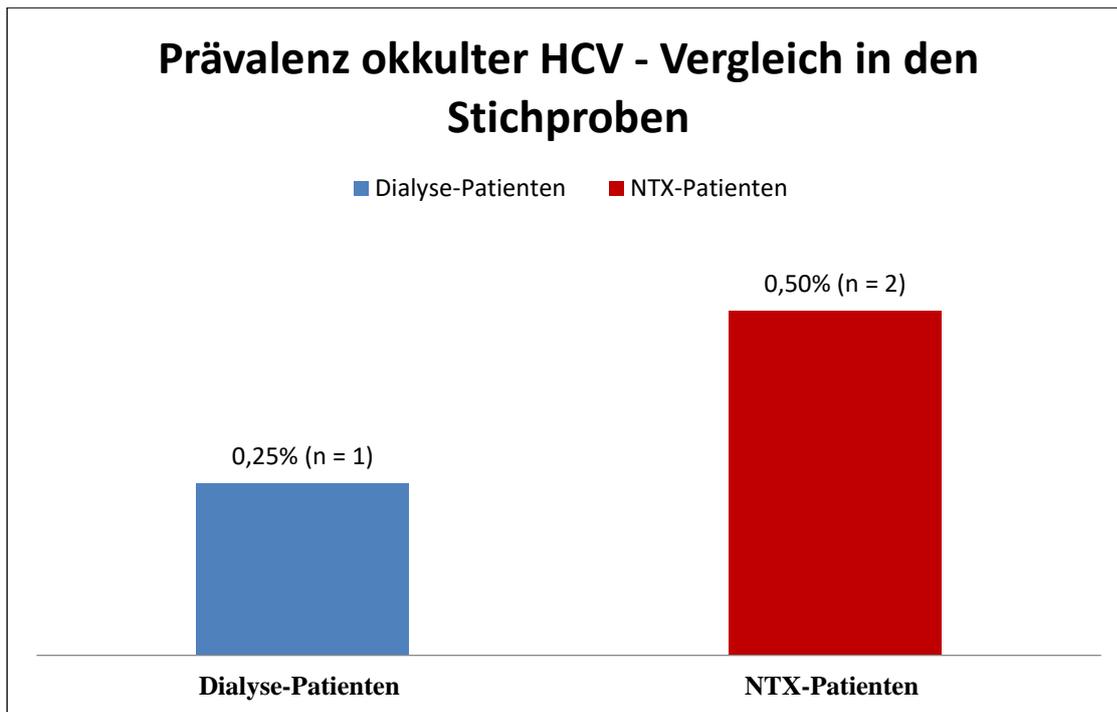


Abbildung 10: Prävalenz der okkulten HCV bei den CHD-Patienten (n = 417) und den NTX-Patienten (n = 417); (Quelle: eigene Darstellung)

Die zwei NTX-Patienten sowie der eine CHD-Patient, bei denen sich HCV-RNA in den PBMC-Zellen nachweisen ließ, wurden im Rahmen eines Follow-up weiter beobachtet (vgl. Abbildung 11).

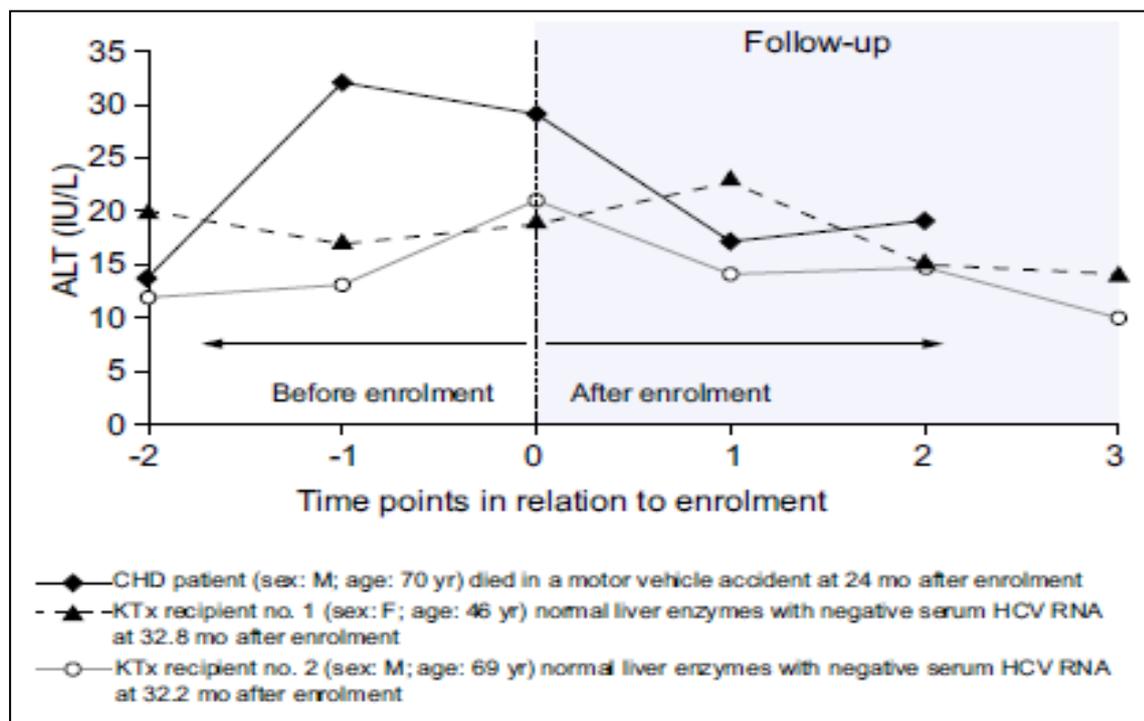


Abbildung 11: Klinischer Verlauf der 3 Patienten mit okkulten HCV-Infektion; (Quelle: Baid-Agrawal et al., 2014a)

Nach 30 Monaten hatte keiner der Patienten eine Lebererkrankung und/oder eine Erhöhung der Transaminasen ausgebildet, wie in Abbildung 11 (Seite 40) dargestellt.

Zur besseren Darstellung eventueller Differenzen zwischen den Prävalenzen in Abhängigkeit vom Verfahren. Wird im Folgenden nicht nur auf die okkulten HCV-Infektionen, sondern auf die gesamte HCV-positive Stichproben eingegangen.

4.4 HCV-Prävalenz in Abhängigkeit vom Diagnoseinstrument - Gesamtstichprobe

In Abbildung 12 ist dargestellt, wie sich die HCV-Prävalenzen in den vier Gruppen unterscheiden, wenn bestehende HCV-Antikörper als Diagnoseinstrument benutzt werden. Die Prävalenz betrug in der HCV-positiven Kontrollgruppe 100 %, da ein positiver Nachweis von HCV-Antikörpern hier zu den Einschlusskriterien gehörte.

Bedeutsam sind die Prävalenzen in den anderen Gruppen. Während sich in der eigentlich HCV-negativen Kontrollgruppe auch ein Patient mit HCV-Antikörpern fand (2,5 %) waren es bei den CHD-Patienten 3,55 % und bei den NTX-Patienten sogar 4,83 %).

Der HCV-positive Patient der negativen Kontrollgruppe wurde in einer Kontrolluntersuchung später als negativ detektiert, in vorliegender Arbeit aber (wegen des positiven Tests in der ersten Untersuchung) als prävalent definiert (schriftlicher Vermerk liegt vor).

Die Häufigkeitsunterschiede zwischen den CHD-Patienten, den NTX-Patienten und den Patienten der HCV-negativen Kontrollgruppe waren im Kruskal-Wallis-Test aber mit $p = 0,280$ nicht statistisch signifikant, die erhöhten Werte bei den CHD- und den NTX-Patienten lassen sich also im hier verwendeten Test nicht auf die zugrunde liegenden Erkrankungen (Dialyse bzw. Nierentransplantation) zurückbeziehen.

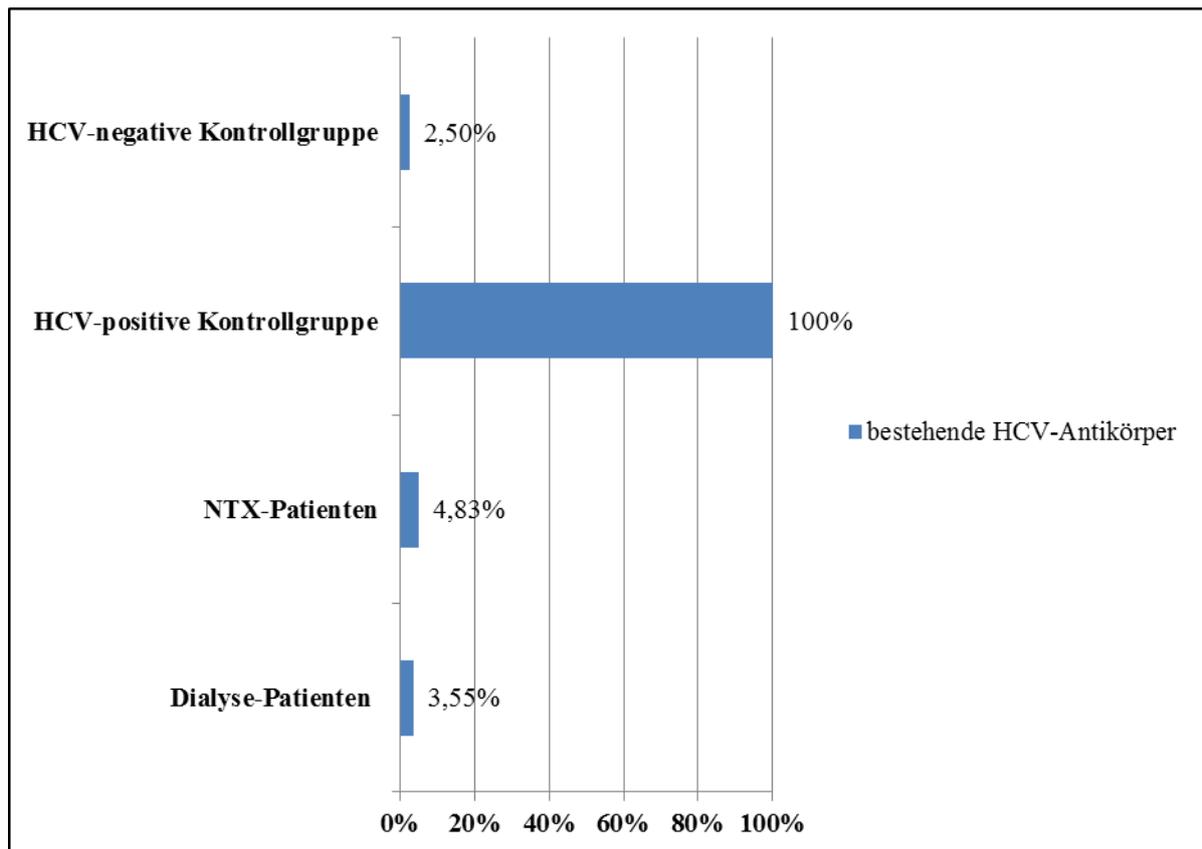


Abbildung 12: Gruppenspezifische HCV-Prävalenz bei bestehenden HCV-Antikörpern (CHD (n = 417), NTX (n = 417), HCV-pos. Kontrolle (n = 40), HCV-negative Kontrolle (n = 25)); (Quelle: eigene Darstellung)

Abbildung 13 zeigt die Unterschiede der HCV-Prävalenz bei Fokussierung des positiven HCV-RNA-Nachweises im Serum und in den PBMC-Zellen: Bei positivem HCV-RNA-Nachweis im Serum findet sich in der positiven Kontrollgruppe eine Prävalenz von 100 %. In der negativen Kontrollgruppe (anders als beim Nachweis via HCV-Antikörper) gab es keinen positiven Befund.

Bei den CHD-Patienten war der Test auf HCV-RNA im Serum bei 2,4 % der Patienten positiv sowie bei 4,6 % der NTX-Patienten.

Einen positiven HCV-RNA-Nachweis in den PBMC-Zellen zeigten sich 96 % der Patienten der HCV-positiven Kontrollgruppe, bei 2,4 % der CHD-Patienten und bei 4,6 % der NTX-Patienten.

Weder beim HCV-RNA-Nachweis im Serum ($p = 0,134$) noch beim HCV-RNA-Nachweis in den PBMC-Zellen ($p = 0,178$) waren die Unterschiede zwischen den CHD-Patienten und den NTX-Patienten im Mann-Whitney-Test statistisch signifikant.

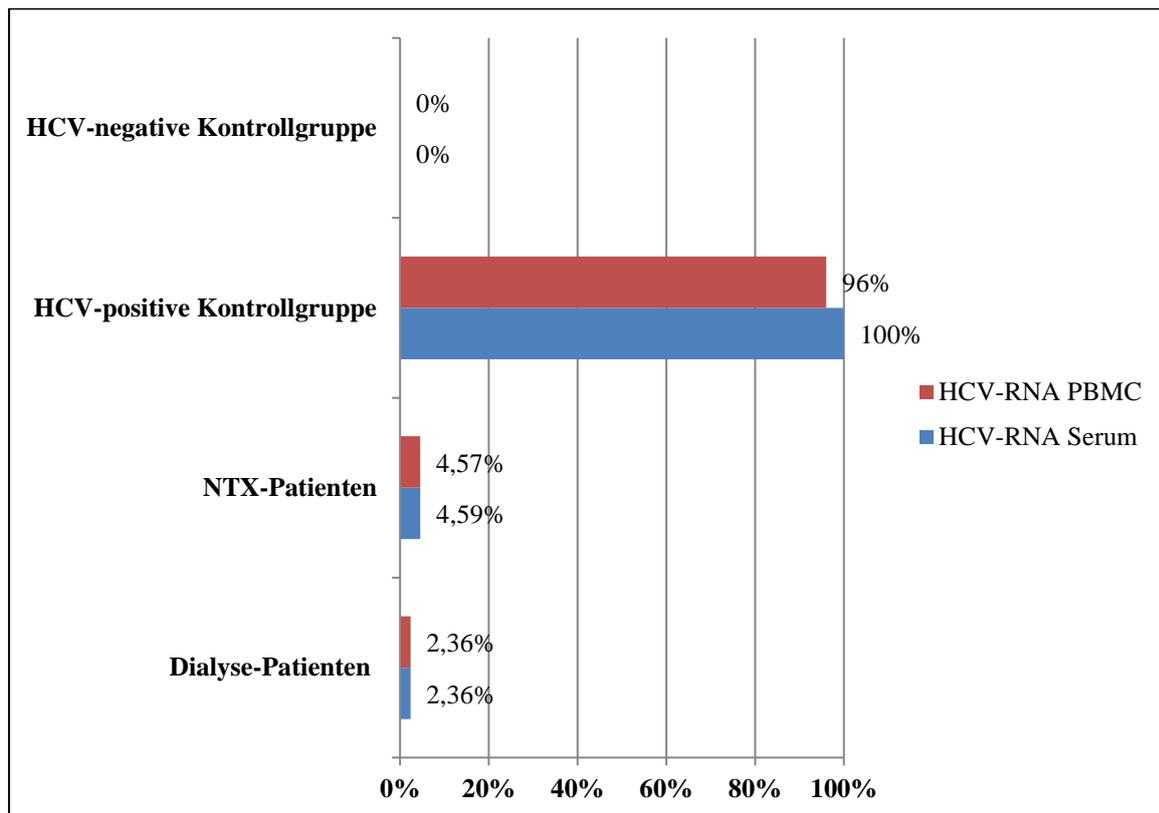


Abbildung 13: Gruppenspezifische HCV-Prävalenz bei positivem HCV-RNA-Nachweis im Serum und in den PBMC-Zellen im Vergleich (CHD (n = 417), NTX (n = 417), HCV-pos. Kontrolle (n = 40), HCV-negative Kontrolle (n = 25)); (Quelle: eigene Darstellung)

4.5 Gruppenspezifische HCV-Gesamt-Prävalenz

Dargestellt in Abbildung 14 (Seite 44) ist zunächst jeweils der Anteil an CHD- und NTX-Patienten, bei denen sich HCV-Antikörper nachweisen ließen, sowie der Anteil, bei denen sich HCV-RNA im Serum und in den PBMC-Zellen fand.

Die identifizierten Häufigkeitsunterschiede zwischen den CHD-Patienten und den NTX-Patienten waren im Mann-Whitney-Test jedoch nicht statistisch signifikant ($p = 0,327$).

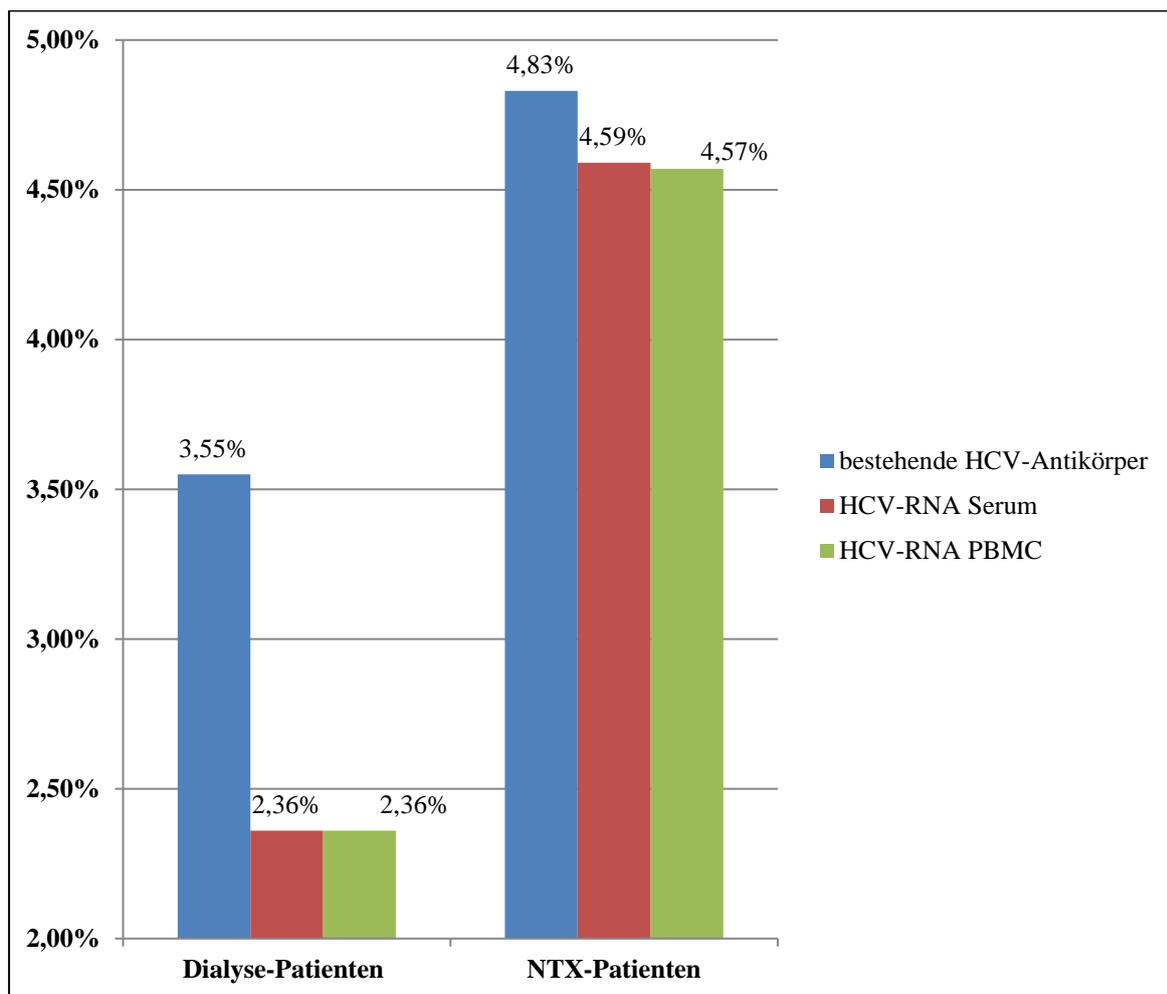


Abbildung 14: Gruppenspezifische HCV-Prävalenz in Abhängigkeit der Diagnostikverfahren; CHD (n = 417), NTX (n = 417); (Quelle: eigene Darstellung)

Bei einigen Patienten wurde in mehreren der Diagnoseverfahren ein positives Ergebnis ermittelt, was zur Bestimmung der gruppenspezifischen HCV-Gesamt-Prävalenzen berücksichtigt werden muss. Hierzu wurden zunächst die doppelten Fälle heraus gerechnet. Patienten, bei denen zusätzlich auch die anderen beiden Testverfahren anschlagen, wurden jeweils nur als ein Krankheitsfall gezählt.

Hinzu kamen diejenigen Fälle, bei denen sich ohne bestehenden Nachweis auf HCV-Antikörper in einem der anderen Diagnoseverfahren Hinweise auf eine HCV-Infektion zeigten.

Konkret wurde dabei zunächst auf anti-HCV positiv fokussiert. Patienten, bei denen zusätzlich auch die anderen beiden Testverfahren anschlagen, wurden jeweils nur als ein Krankheitsfall gezählt. Zusätzlich wurden die falsch positiven Patienten entfernt. Als falsch

positiv wurden all diejenigen Patienten definiert, die positiv auf HCV-Antikörper getestet wurden, bei denen sich aber weder im Serum noch in den PBMC-Zellen HCV-RNA nachweisen ließ.

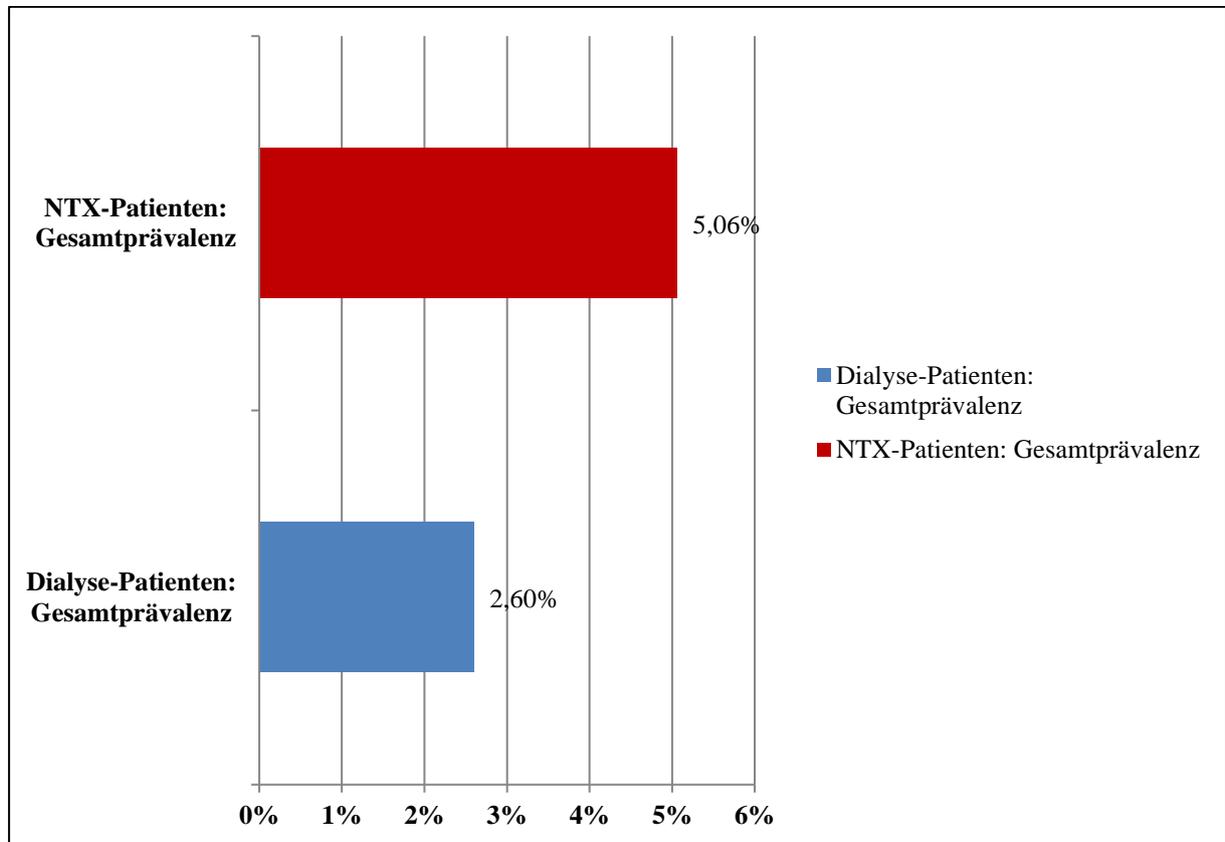


Abbildung 15: HCV-Gesamtprävalenz bei den CHD- und den NTX-Patienten im Vergleich; CHD (n = 417), NTX (n = 417); (Quelle: eigene Darstellung)

Für die Bestimmung der Gesamtprävalenz in den einzelnen Gruppen wurden dann die um die mehrfach diagnostizierten Patienten und die falsch positiven Patienten bereinigten Zahlen für die HCV-Antikörper mit denjenigen Patienten zusammengezählt, bei denen sich HCV-RNA im Serum oder in den PBMC-Zellen fand.

Das Ergebnis ist in Abbildung 15 dargestellt: Bei den CHD-Patienten zeigte sich eine HCV-Prävalenz von 2,6 % und bei den NTX-Patienten von 5,1 %. Nicht erneut grafisch dargestellt wurden hier die Patienten der beiden Kontrollkollektive: In der HCV-positiven Kontrollgruppe fanden sich insgesamt 25 Patienten mit positivem Nachweis (entsprechend den Einschlusskriterien) bezüglich HCV-Antikörper, HCV-RNA und des negativen HBsAg. Bei 24 der Patienten (96 %) konnte HCV-RNA in den PBMC nachgewiesen werden, während ein Patient hier negativ getestet wurde, was auch durch einen Wiederholungstest bestätigt wurde. Bei den Patienten der HCV-negativen Kontrollgruppe betrug die Prävalenz 0 %, da

sich der eine Fall mit positivem Nachweis von HCV-Antikörpern (vgl. Abbildung 12) als falsch positiv herausstellte.

Tabelle 6: Korrelationszusammenhang zwischen Alter und HCV-Prävalenz in Abhängigkeit vom Diagnostikinstrument bei den CHD-Patienten

Variablen	Korrelation*	Statistische Signifikanz
Alter vs. HCV-Antikörper	r = 0,208	p = < 0,0001**
Alter vs. HCV-RNA Serum	r = 0,168	p = 0,001**
Alter vs. HCV-RNA PBMC	r = 0,147	p = 0,002**

* Korrelation berechnet durch den Korrelationskoeffizient Spearman-Rho

** statistisch signifikant bei $\alpha = 0,05$ (Quelle: eigene Darstellung)

Tabelle 7: Korrelationszusammenhang zwischen Alter und HCV-Prävalenz in Abhängigkeit vom Diagnostikinstrument bei den NTX-Patienten

Variablen	Korrelation*	Statistische Signifikanz
Alter vs. HCV-Antikörper	r = 0,007	p = 0,891
Alter vs. HCV-RNA Serum	r = -0,055	p = 0,265
Alter vs. HCV-RNA PBMC	r = -0,46	p = 0,346

* Korrelation berechnet durch den Korrelationskoeffizient Spearman-Rho (Quelle: eigene Darstellung)

Wie in Tabelle 6 dargestellt, zeigten sich bei den CHD-Patienten Korrelationszusammenhänge zwischen dem Alter und der HCV-Prävalenz, die statistisch signifikant waren.

Bei HCV-Antikörpern im Blut bestand ein mittlerer Korrelationszusammenhang und bei den anderen beiden Testverfahren (HCV-RNA-Nachweis in Serum bzw. in den PBMC-Zellen) ein leichter Korrelationszusammenhang, sodass angenommen werden kann, dass sich bei CHD-Patienten mit zunehmendem Alter die Wahrscheinlichkeit einer HCV-Infektion erhöht.

Bei den NTX-Patienten zeigten sich hingegen keine Korrelationszusammenhänge zwischen Diagnose und Alter, wie in Tabelle 7 dargestellt.

4.6 Sensitivität der Testverfahren im Vergleich

Die Ergebnisse in Kapitel 4.4 (Seiten 44 ff) verweisen darauf, dass sich die unterschiedlichen Diagnosemethoden hinsichtlich ihrer Sensitivität unterscheiden, da im Rahmen der Bestimmung der Gesamtprävalenz auch Patienten enthalten waren, bei denen keine bestehenden HCV-Antikörper festgestellt werden konnten, und Patienten mit bestehenden HCV-Antikörpern mangels HCV-RNA im Serum und in den PBMC-Zellen als falsch positiv deklariert werden mussten.

Dass die Testverfahren nicht vollständig übereinstimmen, lässt sich zunächst im Rahmen einer Korrelationsberechnung nachweisen: Wie in Tabelle 8 dargestellt, besteht sowohl bei den CHD- als auch bei den NTX-Patienten zwar zwischen bestehenden HCV-Antikörpern und den anderen beiden Diagnoseverfahren (HCV-RNA im Serum bzw. in den PBMC-Zellen) ein hoher statistisch signifikanter Korrelationszusammenhang, aber eben keine eindeutige Korrelation.

Tabelle 8: Korrelationszusammenhang zwischen bestehenden HCV-Antikörpern und HCV-RNA im Serum bzw. in den PBMC-Zellen bei den CHD- und den NTX-Patienten im Vergleich

Variablen	Korrelation r^* (Signifikanz p)	
	<i>Dialyse-Patienten</i>	<i>NTX-Patienten</i>
HCV-Antikörper vs. HCV-RNA Serum	$r = 0,770$ ($p = < 0,0001$)	$r = 0,812$ ($p = < 0,0001$)
HCV-Antikörper vs. HCV-RNA PBMC	$r = 0,690$ ($p = < 0,0001$)	$r = 0,836$ ($p = < 0,0001$)

* Korrelation berechnet durch den Korrelationskoeffizient Spearman-Rho

** statistisch signifikant bei $\alpha = 0,05$ (eigene Darstellung)

Bei den CHD-Patienten zeigte sich das Verfahren zur HCV-Antikörperbestimmung mit einer Sensitivität von 62,5 % vergesellschaftet, da 31,25 % falsch diagnostiziert (falsch positiv) waren und 6,25 % von bestehenden HCV-Infektionen übersehen (falsch negative) wurden.

Bei der HCV-RNA-Bestimmung im Serum zeigte sich eine Sensitivität von 90,91 % und bei der HCV-RNA-Bestimmung in den PBMC-Zellen von 100 %, wie in Abbildung 16 (Seite 48) dargestellt.

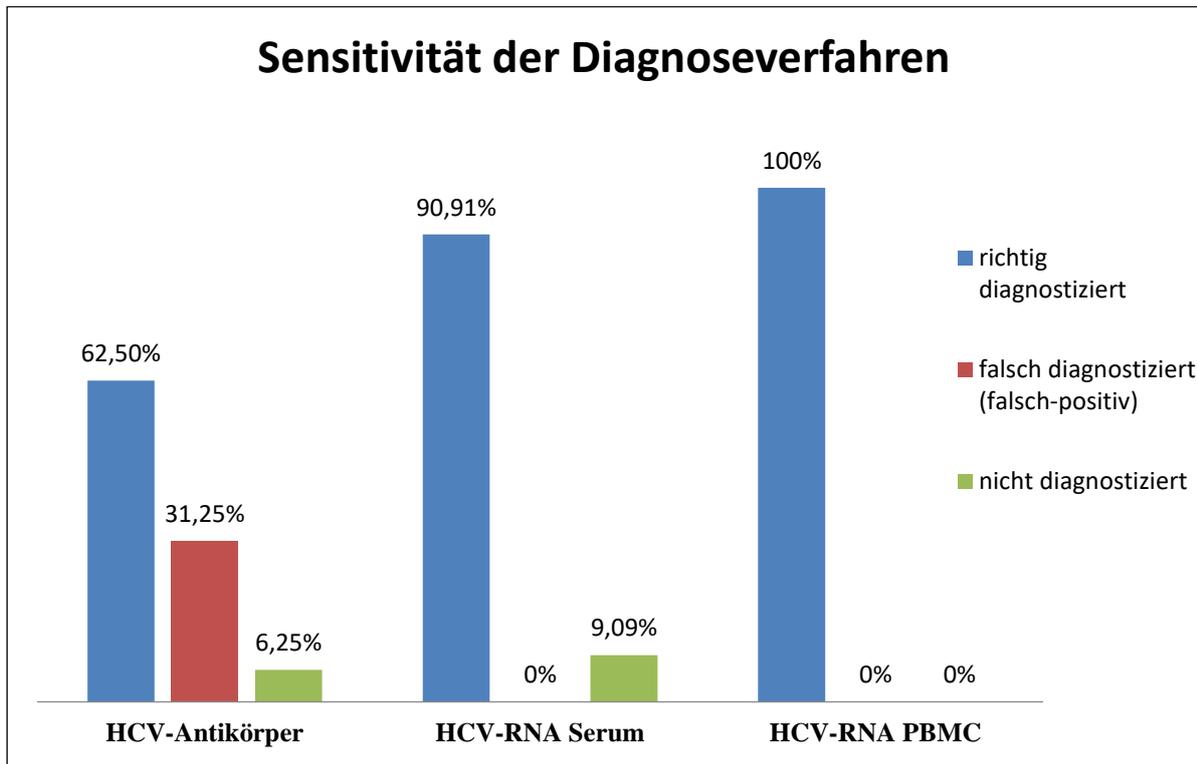


Abbildung 16: Sensitivität der Diagnoseverfahren bei den CHD-Patienten im Vergleich; CHD (n = 417), NTX (n = 417); (Quelle: eigene Darstellung)

Etwas anders gestaltete sich die Situation bei den NTX-Patienten, wie in Abbildung 17 (Seite 49) verdeutlicht: Die Sensitivität beim Verfahren zur HCV-Antikörperbestimmung und bei der HCV-RNA-Bestimmung im Serum war mit 64 % bzw. 90,48 % zwar mit dem Anteil an korrekt identifizierten Patienten im CHD-Kollektiv vergleichbar, die Sensitivität bei der HCV-RNA-Bestimmung in den PBMC-Zellen war mit 85,71 % hier aber deutlich geringer.

Innerhalb der jeweiligen Patientenkollektive waren die Unterschiede zwischen den Testverfahren mit jeweils $p = < 0,0001$ auch statistisch signifikant.

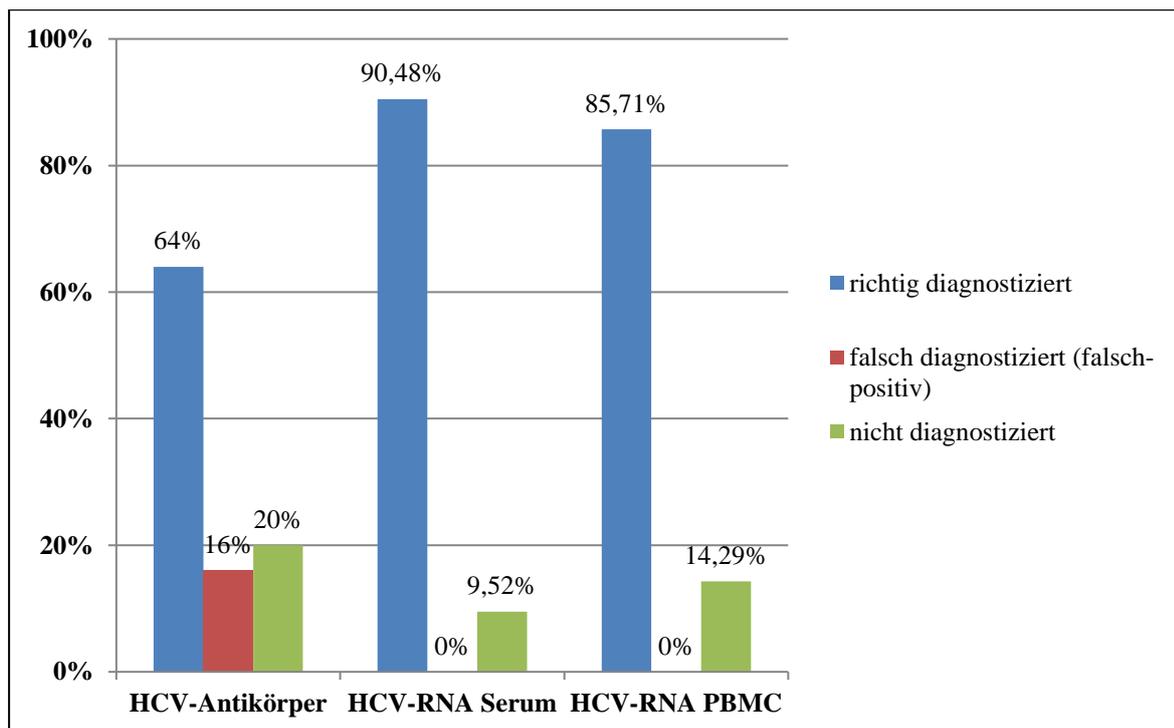


Abbildung 17: Sensitivität der Diagnoseverfahren bei den NTX-Patienten im Vergleich; CHD (n = 417), NTX (n = 417); (Quelle: eigene Darstellung)

4.7 HCV-Prävalenz im Vergleich zur Literatur

In Abbildung 18 (Seite 50) ist dargestellt, welche Unterschiede hinsichtlich der HCV-Prävalenz sich zwischen den CHD- und NTX-Patienten im Vergleich zur gesamtdeutschen Bevölkerung zeigen. Als Vergleichskollektive wurden jeweils die in der Studie von Poethko-Müller et al. (2013) publizierte Prävalenz von 0,3 % und die vom RKI angenommene Prävalenz von 0,6 % (RKI, 2018) zugrunde gelegt. Da beide Studien als einziges Diagnoseverfahren lediglich HCV-Antikörper im Blut enthalten, also jeweils noch von einer Dunkelziffer ausgegangen werden muss, wurde sowohl für die CHD- als auch für die NTX-Patienten neben der Gesamtprävalenz auch die Teilprävalenz, die sich aus der alleinigen Fokussierung von HCV-Antikörpern ergibt, angegeben.

Ersichtlich ist, dass die in beiden Teilkollektiven ermittelten (Teil-)Prävalenzen deutlich höher sind als in der Gesamtbevölkerung, wobei die jeweiligen Unterschiede auch statistisch signifikant waren (jeweils mit $p = < 0,0001$), bei CHD- und NTX-Patienten kann also von einer signifikant höheren Prävalenz ausgegangen werden.

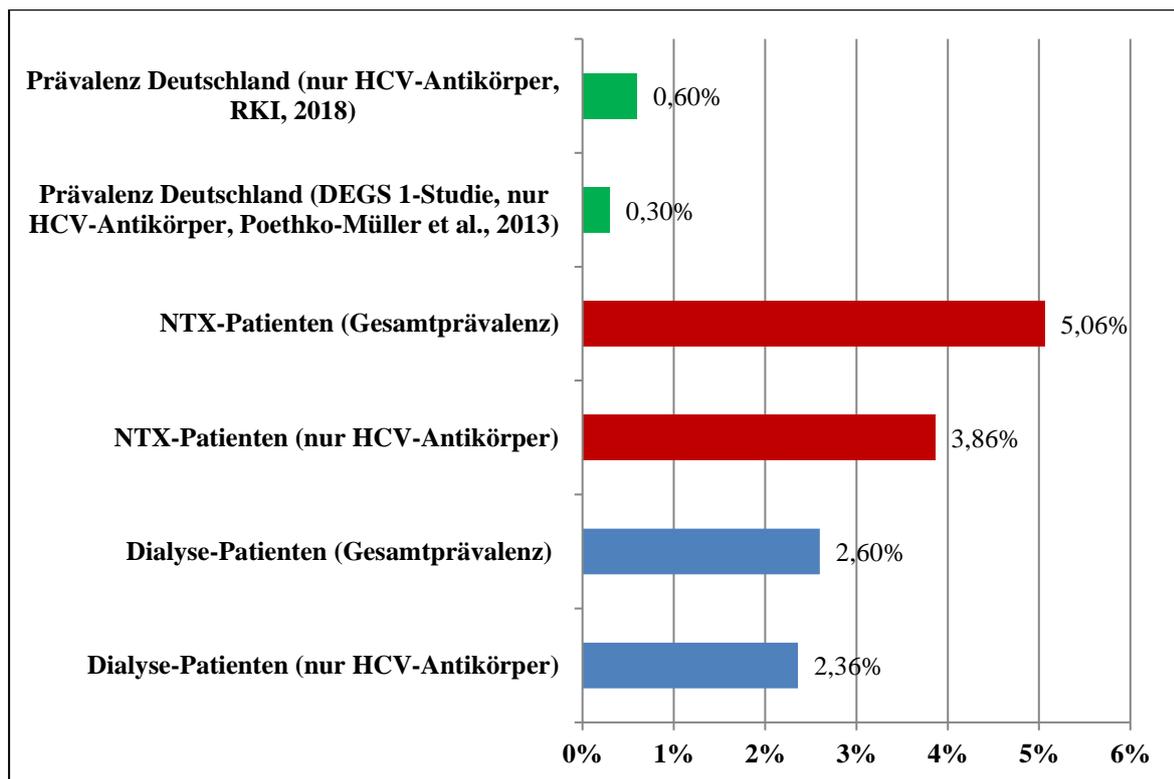


Abbildung 18: HCV-Prävalenz der CHD- und der NTX-Patienten im Vergleich zur deutschen Gesamtbevölkerung; CHD (n = 417), NTX (n = 417); (Quelle: eigene Darstellung)

Aufgrund der signifikant höheren HCV-Prävalenzen in beiden Patientenkollektiven wurde berechnet, mit welchem HCV-Risiko bei CHD- und NTX-Patienten gerechnet werden muss.

Die Ergebnisse sind nachfolgenden in Tabelle 9 (für die CHD-Patienten) und in Tabelle 10 (für die NTX-Patienten) dargestellt:

Ersichtlich ist, dass bei den CHD-Patienten der vorliegenden Studie ein 8,7-fach höheres Risiko (im Vergleich zu den angenommenen Prävalenzen von Poethko-Müller et al., 2013) bzw. ein 4,7-fach höheres Risiko (im Vergleich zu den angenommenen Prävalenzen des RKI) bestand, die Diagnose HCV-Infektion zu erhalten.

Bei den NTX-Patienten (Tabelle 10, Seite 51) war das Risiko im Vergleich zur Gesamtbevölkerung 17-fach bzw. 9-fach höher.

Tabelle 9: Odds Ratio von HCV-Infektionen in Dialyse-Patienten

	OR**	95 %-KI	p
Gesamtprävalenz CHD-Patienten vs. Prävalenz Deutschland (Poethko-Müller et al., 2013)	8,65	[4,75; 15,74]	<0,0001*
Gesamtprävalenz CHD-Patienten vs. Prävalenz Deutschland (RKI, 2018)	4,67	[2,57; 8,50]	<0,0001*

*statistisch signifikant bei $\alpha=0,05$

**OR= Odds Ratio; KI = Konfidenzintervall

(Quelle: eigene Darstellung)

Tabelle 10: Odds Ratio von HCV-Infektionen in NTX-Patienten

	OR	95 %-KI	p
Gesamtprävalenz NTX-Patienten vs. Prävalenz Deutschland (Poethko-Müller et al., 2013)	16,91	[10,91; 26,21]	<0,0001*
Gesamtprävalenz NTX-Patienten vs. Prävalenz Deutschland (RKI, 2018)	9,13	[5,89; 14,15]	<0,0001*

*statistisch signifikant bei $\alpha=0,05$

(Quelle: eigene Darstellung)

5 Diskussion

5.1 Synopse der Ergebnisse

Im Rahmen der statistischen Untersuchung konnten die folgenden Erkenntnisse ermittelt werden:

➤ Alters- und Geschlechtsverteilung:

Beim Alter waren statistisch signifikante Unterschiede erkennbar: Die CHD-Patienten waren im Durchschnitt 66,14 Jahre, die NTX-Patienten 53 Jahre, die HCV-positiven Patienten 60,19 Jahre und die HCV-negativen Patienten 32,55 Jahre alt. Auch beim Geschlecht zeigten sich signifikante Unterschiede: Während bei den CHD-Patienten 45,6 % weiblich waren, betrug der Anteil an Frauen bei NTX-Patienten 40 %, bei den HCV-positiven Patienten 68 % und bei den HCV-negativen Patienten 60 %.

➤ Begleiterkrankungen:

Die DM-2-Prävalenz war in beiden Patientenkollektiven deutlich höher als in den gleichaltrigen Vergleichsgruppen: Bei insgesamt 40,9 % der CHD-Patienten bestand ein DM 2, während es bei Gleichaltrigen im Bundesdurchschnitt nur 16,23 % waren. Ein ähnliches Bild zeigt sich bei den NTX-Patienten, bei denen in 29,5 % der Fälle ein diagnostizierter DM 2 vorlag, während es bei den Gleichaltrigen im Bundesdurchschnitt nur 4,34 % waren, die Unterschiede waren jeweils auch statistisch signifikant. Auch die Hypertonie-Prävalenz war bei beiden Patientengruppen im Vergleich zu den gleichaltrigen Kohorten der Gesamtbevölkerung signifikant höher (CHD-Patienten: 89,5 % vs. 80 %, NTX-Patienten: 98,3 % vs. 65 %).

➤ HCV-Prävalenz:

Die HCV-Prävalenz betrug bei den CHD-Patienten 2,6 % und bei den NTX-Patienten 5,06 % (bei der HCV-positiven Kontrollgruppe 100 % und bei der HCV-negativen Kontrollgruppe 0 %). Aufgrund eines statistisch signifikanten Korrelationszusammenhangs kann bei den CHD-Patienten mit zunehmendem Alter von einem ansteigenden HCV-Risiko ausgegangen werden, nicht aber bei den NTX-Patienten. In beiden Teilkollektiven waren die (Teil-)Prävalenzen deutlich höher als in der Gesamtbevölkerung, wobei die jeweiligen Unterschiede auch statistisch signifikant waren. Daraus resultierend bestand bei den CHD-Patienten ein 8,65-fach bzw. 4,67-fach höheres Risiko, die Diagnose HCV-Infektion zu erhalten. Bei den NTX-

Patienten war das Risiko im Vergleich zur Gesamtbevölkerung sogar 17-fach bzw. 9-fach höher.

➤ Sensitivität:

Bei der Sensitivität zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen der Bestimmung der HCV-Antikörper sowie von HCV-RNA im Serum und in den PBMC-Zellen. Die Sensitivität bei den HCV-Antikörpern betrug bei beiden Patientengruppen lediglich knapp über 60 %.

➤ Prävalenz okkulten HCV-Infektion:

Die Prävalenz der okkulten HCV-Infektion betrug bei den CHD-Patienten 0,25 % und bei den NTX-Patienten 0,5 %. Nach 30 Monaten hatte keiner der Patienten eine Lebererkrankung und/oder eine Erhöhung der Transaminasen ausgebildet.

5.2 Beantwortung der Forschungsfrage

Aufgrund der empirischen Untersuchung und der statistischen Untersuchung ist es abschließend möglich, die Forschungsfragen einer Beantwortung zuzuführen:

Unterscheidet sich die Höhe der ermittelten Prävalenz einer okkulten Infektion bei immunsupprimierten Patienten unter Verwendung eines hochempfindlichen Assay (TMA) gegenüber der in der Standarddiagnostik eingesetzten Screeningverfahren? Welche klinische Bedeutung hat sie in einem Kollektiv bestehend aus CHD- und NTX-Patienten?

Die Prävalenz von okkulten HCV-Infektionen lag bei 0,25 % bei den CHD-Patienten und bei 0,5 % bei den NTX-Patienten. Die ermittelte Prävalenz einer okkulten HCV-Infektion für die CHD- und NTX-Patienten ist gering, da (wie dargestellt) nur ein Patient (CHD-Gruppe) bzw. zwei Patienten (NTX-Gruppe) identifiziert werden konnten, bei denen eine okkulte HCV-Infektion vorlag.

Die vorliegende Arbeit stellt trotzdem ein Novum dar, da die Prävalenz von okkulten HCV-Infektionen bisher nicht in großen Kollektiven bei Patienten mit Dialyse und/oder Nierentransplantation bzw. bei immunsupprimierten Patienten beschrieben wurde.

Zusätzlich sind die Stärken unserer Studie der Einschluss einer gut charakterisierten Kohorte unter Einbeziehung von positiven und negativen Kontrollgruppen sowie die Verwendung von hochempfindlichen und validierten Testverfahren, die weniger anfällig für eine Kontamination und Beeinträchtigung auf zellulärer Ebene von DNA oder RNA sind. Des Weiteren wurden alle Tests in einem Single-Site-Labor durchgeführt und es erfolgte anschließend eine umfassende Auswertung mehrere klinischer Faktoren sowie eine

Fortführung der Studie im Längsschnitt als Follow-up mit einer Wiederholung der Tests von Patienten mit nachgewiesenen okkulten HCV-Infektionen.

Zusätzlich kann die Beschreibung des statischen und methodischen Vorgehens wegweisend für zukünftige Forschungsvorhaben auf diesem Gebiet sein.

Es ließ sich in unseren CHD- und NTX-Kohorten eine sehr geringe Prävalenz okkulten HCV-Infektionen mit positiver HCV-RNA in PBMC finden. Letztendlich stützen die Ergebnisse nicht die Existenz klinisch relevanter okkulten HCV-Infektionen bei CHD- und NTX-Patienten, insbesondere nicht in Populationen mit geringer Prävalenz von HCV-Infektionen. Die geringe Ausbeute und die aufwendigen und teuren Tests auf okkulte HCV-Infektionen rechtfertigen nicht die Durchführung eines Routine-Screenings bei diesen Patienten.

Es sind weitere Längsschnittstudien in geografischen Populationen mit hoher HCV-Endemizität erforderlich, um die Prävalenz einer okkulten HCV-Infektion bei CHD- und NTX-Patienten in Abhängigkeit vom verwendeten Verfahren zu klären.

Zusätzlich wurde auch der folgenden Frage nachgegangen:

Welche Besonderheiten zeigen CHD- und NTX-Patienten hinsichtlich ihres Alters, der Risikofaktoren und der HCV-Prävalenz unter Anwendung verschiedener Diagnoseverfahren?

In den vorliegenden Patientenkollektiven waren die CHD-Patienten im Mittel 66,14 Jahre und die NTX-Patienten 53 Jahre alt. Bezüglich der Begleiterkrankungen fanden sich bei beiden Indikationen (CHD und NTX) signifikant mehr Patienten mit DM 2 und/oder Hypertonie.

Bei den CHD-Patienten stieg mit zunehmendem Alter das HCV-Risiko an, während in der NTX-Gruppe keine statistisch signifikanten Korrelationszusammenhänge zwischen Alter und HCV-Prävalenz ersichtlich waren. Die HCV-Prävalenz betrug bei den CHD-Patienten 2,6 % und bei den NTX-Patienten 5,06 %. Die Prävalenz war jeweils signifikant höher als in der deutschen Gesamtbevölkerung (epidemiologische Schätzungen gehen hier von 0,3 bis 0,6 % aus), auch wenn nur die Patienten berücksichtigt werden, bei denen HCV-Antikörper nachweisbar waren. Aus den erhöhten Prävalenzen resultierten höhere Risiken (OR), bei einer der beiden Erkrankungen HCV diagnostiziert zu bekommen (bei den CHD-Patienten bestand ein 8,65-fach bzw. 4,67-fach höheres Risiko, die Diagnose HCV-Infektion zu erhalten). Bei den NTX-Patienten war das Risiko im Vergleich zur Gesamtbevölkerung sogar 17-fach bzw. 9-fach höher.

Bei beiden Patientenkollektiven zeigten sich deutliche Unterschiede bezüglich der Sensitivität: Die Sensitivität bei den HCV-Antikörpern betrug bei beiden Patientengruppen lediglich knapp über 60 %, da hier nicht alle HCV-Patienten diagnostiziert werden konnten und einige falsch positive Patienten fälschlicherweise als HCV-positiv diagnostiziert wurden.

5.3 Vergleich mit der Literatur

Die im vorliegenden Kollektiv durchgeführte Studie ist die größte zur Thematik von okkulten HCV-Infektionen und Gesamtkrankheitslast durch HCV bei CHD- und NTX-Patienten. Okkulte HCV-Infektionen können dabei durch den Nachweis von viraler HCV in den PBMC-Zellen aufgedeckt werden. Insbesondere der Nachweis in den PBMC bedarf eines hochempfindlichen Assay, um das Virus auch bei geringer Viruslast nachweisen zu können. Dabei ließ sich eine sehr geringe Prävalenz von okkulten HCV-Infektionen nachweisen, ohne Feststellung einer vorhandenen oder abgelaufenen viralen Infektion. Bedeutsam ist, dass keiner der Patienten mit einer schwach positiven nachgewiesenen okkulten HCV-Infektion eine klinische oder laborchemisch feststellbare Manifestation einer viralen Lebererkrankung ausbildete. Als Ursache kann entweder von einer spontanen Elimination von HCV in den PBMC oder von einer zu geringen viralen Konzentration der HCV-Viren ausgegangen werden. Demgegenüber steht die Tatsache, dass bei den Positivkontrollen der vorliegenden Arbeit die HCV-RNA, die in PBMC durch den TMA-Assay nachgewiesen werden konnte, in der Mehrzahl auch im Serum erfasst werden konnte. Dies könnte darauf hindeuten, dass die Erkennbarkeit von HCV-RNA in PBMC von der Präsenz im Serum abhängt.

In den letzten Jahrzehnten wurden verschiedene Publikationen zum Thema okkulte HCV-Infektionen veröffentlicht (u. a. Barril et al., 2008; Bernardin et al., 2008; Castillo et al., 2004; Coppola et al., 2011; Halfon et al., 2008; Maylin et al., 2008; Maylin et al., 2009; Pham et al., 2004; Pham et al., 2008; Radkowski et al., 2005a und 2005b; Welker et al., 2009), von denen auch einige die Hypothese von HCV-RNA in PBMC unterstützen (Barril et al., 2008; Castillo et al., 2004; Pham et al., 2004; Radkowski et al., 2005a und 2005b).

Zudem existieren Studien, die sich mit der Replikation von HCV in PBMC auseinandersetzen (Marukian et al., 2008), weswegen es von Relevanz ist, nachzuweisen, ob eine bestehende okkulte Infektion klinisch signifikant ist und ob von dieser ein Übertragungs-, Ausbreitungs- und Erkrankungsrisiko ausgeht, da eine Infektion gerade für CHD- und NTX-Patienten erhebliche Auswirkungen haben kann. Dazu gehört die nosokomiale Übertragung des Virus

durch z. B. eine Reaktivierung von HCV nach Transplantation bei Empfängern mit einer okkulten HCV-Infektion unter einer immunsuppressiven Therapie.

Bisher bestehen nur wenige Studien, die sich mit okkulten HCV-Infektionen bei den genannten Patientengruppen auseinandersetzen. In einer Studie über ein medianes Follow-up von 10,5 Monaten zeigten sich bei 26 Anti-HCV-positiven, früher HCV-infizierten NTX-Empfängern keine Hinweise auf okkulte HCV-Infektion in PBMC oder eine virologische, klinische oder biochemische Reaktivierung, bei denen die HCV-Infektion spontan oder nach antiviraler Therapie während der Dialyse ausheilte (Nicot et al., 2009). In einem systematischen Review, das die Ergebnisse von 31 Studien auswertete, wurde das anhaltende virologische Ansprechen nach antiviraler Therapie mit Interferon während der Hämodialyse an insgesamt 41 NTX-Patienten überprüft. Die langfristige Negativität betrug 48 Monate nach Transplantation 95 %, wobei festgehalten wurde, dass bei NTX-Empfängern kein erhöhtes Risiko für eine Reaktivierung einer HCV-Infektion nach antiviraler Therapie während der Dialyse besteht (Gordon et al., 2011). Ähnliches konnte auch in zwei anderen Studien belegt werden, in denen sich HCV-positive Patienten nach einer antiviralen Therapie mit daraus folgender serologischer Negativität einer Lebertransplantation unterzogen. Auch nach abgeschlossener Therapie ließ sich hier keine intrahepatische HCV-RNA nachweisen (Bizollon et al., 2003; Thomas et al., 2003). In allen drei Studien ließen sich allerdings HCV-Rezidive nach einer Transplantation nachweisen, was das Vorhandensein von okkulten Infektionen bei Transplantatempfängern prinzipiell infrage stellt. Unterstützt wird diese Hypothese dadurch, dass sich in weiteren durchgeführten Studien an immunsupprimierten Patienten, wie z. B. onko-hämatologische oder HIV-Patienten, ebenfalls keine okkulten HCV-Infektionen identifizieren ließen (Coppola et al., 2011; Filippi et al., 2012).

Die in vorliegender Arbeit ausgewerteten Daten stammen aus der bis dato größten durchgeführten Prävalenzstudie über okkulte HCV-Infektionen bei CHD- und NTX-Patienten und sprechen gegen eine klinische Relevanz von okkulten Infektionen in diesen Kohorten. Eine mögliche Ursache für die verschiedenen Aussagen in den unterschiedlichen Studien könnte zum einen die Benutzung von hochempfindlicheren Tests für den Nachweis von RNA des HCV in unserer Studie sein. Daraus resultiert die Möglichkeit, dass in vorliegender Arbeit niedrigere Nachweisgrenzen bestanden, die durch weniger empfindliche Standard-PCR-Assays zum Nachweis von okkulten Infektionen in anderen Studien nicht nachgewiesen werden konnten und hier so zu Fehldiagnosen führten. Diese These steht im Einklang mit

anderen Berichten von HCV-Nachweis im Serum basierend auf TMA in PCR-negativen Proben (Morishima et al., 2008).

Zudem ist es möglich, dass die in einigen Studien verwendeten PCR-Verfahren zum Nachweis von okkulten Infektionen in PBMC im Vergleich zu dem in unserer Studie benutzten Test anfälliger auf Kreuzreaktionen im Labor sind.

Des Weiteren könnten die in einigen Gruppen durchgeführte In-vitro-Mitogen-Stimulation und die Kultur von PBMC zu einer Verstärkung der Ebenen der zellassoziierten HCV-RNA geführt haben. Die vorliegenden Ergebnisse widersprechen also den Ergebnissen der Literatur, indem sie eine sehr niedrige Prävalenz von okkulten HCV-Infektionen aufzeigen.

Es sind weitere Langzeitstudien an Populationen mit hoher endemischer Verbreitung von HCV-Infektionen erforderlich, um die klinische Relevanz und die pathogene Bedeutung bei okkulten Infektionen sowie die Folgen bei einer eventuellen Übertragung der Infektion auf andere Individuen analysieren zu können. Bis im Rahmen weiterer Studien das potenzielle Risiko einer Übertragung bewiesen oder ausgeschlossen werden kann, sollte die Hypothese vom möglichen Nachweis okkulten HCV-RNA also aufrechterhalten bleiben, wie von Lerat und Hollinger (2004) vorgeschlagen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind aber auch aus zwei anderen Gründen von Relevanz: Zum einen weisen sie nach, dass die Sensitivität der bisherigen Nachweisverfahren zu gering ist, da falsch positive Patienten detektiert werden und Patienten mit chronischer HCV-Infektion (nicht nur mit okkulten Form) nicht immer diagnostiziert werden, woraus sich die Notwendigkeit der Entwicklung neuer Screeningverfahren ergibt. Zum anderen konnte nachgewiesen werden, dass CHD- und NTX-Patienten zu den Risikokollektiven gehören, weil sich hier eine signifikant höhere Prävalenz der chronischen HCV-Infektion zeigte als in der Durchschnittsbevölkerung. Dies bestätigt andere Studien mit kleineren Kollektiven (Baid-Agrawal et al., 2008; Fabrizi et al., 2010) und verweist auf die Notwendigkeit, Maßnahmen der HCV-Diagnostik routinemäßig bei allen CHD- und NTX-Patienten durchzuführen (Maier K.-P., 2000).

5.4 Limitationen

Trotz der vielfältigen, forschungsrelevanten Ergebnisse lassen sich mehrere Einschränkungen beobachten, welche die Ergebnisse limitieren. Zum einen wurde im Rahmen der Diagnostik zum Nachweis des HCV-Genoms in der Leber auf eine Leberbiopsie verzichtet, was als die genaueste Methode zur Diagnose einer okkulten HCV-Infektion gilt. In mehreren Studien

konnte zwar bewiesen werden, dass der Nachweis von HCV-RNA in PBMC ein zuverlässiges Verfahren zum Nachweis einer okkulten HCV-Infektion darstellt, da bei bis zu 70 % der Patienten, bei denen eine okkulte HCV-Infektion in einer Leberbiopsie nachgewiesen werden konnte und auch HCV-RNA in PBMC auffindbar war (Castillo et al., 2004; Pardo et al., 2007).

Als die sicherste Methode gilt aber dennoch die Leberbiopsie, was die vorliegenden Ergebnisse limitiert. Diese Methode hätte aber als invasives Verfahren, welches mit Nebenwirkungen wie z. B. Blutungen und Infektionen vergesellschaftet ist, dem ethischen Empfinden wissenschaftlicher Arbeiten widersprochen.

Zum anderen wurden zu verschiedenen Zeitpunkten die Proben gesammelt und die Zellpräparation vorgenommen. Die Proben wurden für weitere Tests zunächst beschriftet und eingefroren, weswegen es theoretisch möglich ist, dass einige okkulte Infektionen aufgrund der natürlichen und intermittierenden Schwankungen der HCV-Virämie nicht nachgewiesen werden konnten. Ferner ist zu erwähnen, dass aufgrund der begrenzten Probenmenge und der geringen nachgewiesenen HCV-RNA eine Analyse für die Bestimmung der quantitativen Viruslast oder für die Genotypisierung nicht durchgeführt werden konnte. Aufgrund der geringen Fallzahl ist dennoch davon auszugehen, dass die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit nicht generalisierbar für andere Kollektive sind.

Zudem finden sich deutliche Einschränkungen in der Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Grundgesamtheit, die sich nicht zuletzt aus der Zusammensetzung der anfallenden Stichprobe ergeben. Die Einschränkungen begründen sich beispielsweise in der fehlenden Normalverteilung sowohl in der Gesamtstichprobe als auch innerhalb der einzelnen Stichprobengruppen. Betrachtet wurden hierbei das Alter, das Geschlecht, die Gruppengrößen und die Begleiterkrankungen.

Aufgrund der geringen Anzahl an okkulten HCV-Infektionen ist zudem eine Aussage über die Diagnostik spezifischen Prävalenzen nicht möglich.

Die Ergebnisse aus dieser Studie weisen trotz großer Stichprobenzahl daraufhin, dass für eine derartige Darstellung von Prävalenzen eine noch sehr viel größere Stichprobenzahl notwendig ist. Diese sollte zudem eine Gruppierung immunsupprimierter Patienten unter ethnischen Gesichtspunkten zulassen. Auch dieser Aspekt wurde in der vorliegenden Arbeit zwar angesprochen, konnte aber nur unzureichend berücksichtigt werden.

6 Fazit und Ausblick

Die Hepatitis ist eine entzündliche Erkrankung der Leber, die zu einer Schädigung der Leberzellen führt. Hepatitis C gehört zu den viralen Infektionskrankheiten mit globaler Ausbreitung, die sich in epidemiologischer Hinsicht durch eine hohe Prävalenz auszeichnet. In Deutschland kann aufgrund der Erkenntnisse der DEGS1-Studie aktuell von einer HCV-Prävalenz von 0,3 % ausgegangen werden, andere Studien nehmen für Deutschland eine Prävalenz von 0,5 bis 0,7 % an, die Gesamtzahl der Virusträger beträgt hier 400.000 bis 500.000.

Das Besondere an der okkulten HCV-Infektion ist, dass sie häufig keine Symptome verursacht und oftmals mit einer gering ausgeprägten oder fehlenden Erhöhung der Transaminasen einhergeht und dadurch sowie wegen der komplexen Nachweisbarkeit häufig auch nicht diagnostiziert wird. Sie kann entweder bei Patienten entstehen, die nach der Behandlung einer chronischen HCV-Erkrankung fälschlicherweise als „geheilt“ eingestuft werden, oder bei Patienten, bei denen eine bestehende HCV-Infektion beschwerdelos ausheilte.

Ziel der Studie, welche vorliegender Dissertation zugrunde liegt, ist der Nachweis von (okkulten) HCV-Infektionen in immunsupprimierten Patienten in Abhängigkeit vom verwendeten Verfahren. Diesbezüglich wurden 417 CHD- und 417 NTX-Patienten untersucht. Festgehalten werden konnte, dass die Prävalenz einer okkulten HCV-Infektion in CHD- und NTX-Patienten zwar gering war, da nur ein Patient (Dialyse-Gruppe) bzw. zwei Patienten (NTX-Gruppe) identifiziert werden konnten, bei denen sich HCV-RNA im Serum oder in den PBMC-Zellen nachweisen ließ.

Die vorliegende Arbeit stellt trotzdem ein Novum dar, da die Prävalenz von okkulten HCV-Infektionen bisher nicht in großen Kollektiven bei Patienten mit Dialyse und/oder Nierentransplantation bzw. Immunsuppression beschrieben wurde.

Von hoher Relevanz ist ferner, dass die Gesamtprävalenz von HCV (hier zusammengesetzt aus der chronifizierten und der okkulten Form) in beiden Patientenkollektiven signifikant höher war als in der Gesamtbevölkerung. Dies bestätigen andere Studien mit kleineren Kollektiven und verweist auf die Notwendigkeit, Maßnahmen der HCV-Diagnostik routinemäßig bei allen CHD- und NTX-Patienten durchzuführen. Zusätzlich sollte diese Differenz zwischen den Angaben zur Prävalenz in der Gesundheitsberichterstattung berücksichtigt werden.

Nach wie vor ist in der Forschung umstritten, ob die Existenz einer okkulten HCV überhaupt postuliert werden kann, wofür die vorliegende Untersuchung Evidenz liefert.

Weitere Untersuchungen in möglichst großen Kollektiven sind notwendig, um die hier identifizierten Auffälligkeiten weiter zu analysieren.

7 Literaturverzeichnis

Aguilar, C. E., Soliman, A. S., McConnell, D. S., Zekri, A. R., Banerjee, M., Omar, A., Sharawy, M., Omar, S., Raouf, A., & Sowers, M. R. (2008). Androgen profiles among Egyptian adults considering liver status. *J Gastroenterol Hepatol*, 2 (7 Pt 2), e137–e145.

Arthur, R. R., Hassan, N. F., Abdallah, M. Y., el-Sharkawy, M. S., Saad, M. D., Hackbart, B. G., & Imam, I. Z. (1997). Hepatitis C antibody prevalence in blood donors in different governorates in Egypt. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 91, 271–274.

Babiker, A., Jeudy, J., Kligerman, S., Khambaty, M., Shah, A., & Bagchi, S. (2017). Risk of Cardiovascular Disease Due to Chronic Hepatitis C Infection: A Review. *J Clin Transl Hepatol.*, 5(4), 343–362.

Baid-Agrawal, S., Pascual, M., Moradpour, D., Frei, U., & Tolckoff-Rubin, N. (2008). Hepatitis C virus infection in haemodialysis and kidney transplant patients. *Rev Med Virol.*, 19, 2248–2250.

Baid-Agrawal, S., Schindler, R., Reinke, P., Staedtler, A., Rimpler, S., Malik, B., Frei, U., & Berg, T. (2014a). Prevalence of occult hepatitis C infection in chronic hemodialysis and kidney transplant patients. *J Hepatol.*, 60(5), 928–33.

Baid-Agrawal S., Pascual, M., Moradpour, D., Somasundaram, R., & Mucbe, M. (2014b). Hepatitis C virus infection and kidney transplantation in 2014: what's new? *Am J Transplant.*, 14(10), 2206–20.

Barril, G., Castillo, I., Arenas, M. D., Espinosa M., Garcia-Valdecasas J., Garcia-Fernández, N., González-Parra, E., Alcazar, J.M., Sánchez, C., Diez-Baylón, J.C., Martinez, P., Bartolomé, J., & Carreño, V. (2008). Occult hepatitis C virus infection among hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol.*, 19(12), 2288–92.

Bataille, S., Kaplanski, G., Boucraut, J., Halfon, P., Camus, C., Daniel, L., Burtey, S., Berland, Y., & Dussol, B. (2012). Membranoproliferative glomerulonephritis and mixed cryoglobulinemia after hepatitis c virus infection secondary to glomerular NS3 viral antigen deposits. *Am J Nephrol.*, 35, 134–140.

Bernardin, F., Tobler, L., Walsh, I., Williams, J. D., Busch, M., & Delwart, E. (2008). Clearance of hepatitis C virus RNA from the peripheral blood mononuclear cells of blood donors who spontaneously or therapeutically control their plasma viremia. *Hepatology*, 47, 1446–1452.

Bird, S. M., Goldberg, D. J., & Hutchinson, S. J. (2001). Projecting severe sequelae of injection-related hepatitis C virus epidemic in the UK. Part 2: preliminary UK estimates of prevalent injection-related hepatitis C carriers, and derivation of progression rates to liver cirrhosis by gender and age at hepatitis C virus infection. *J Epidemiol Biostat*, 6, 267–277.

Bizollon, T., Ahmed, S. N., Radenne, S., Chevallier, M., Chevallier, P., Parvaz, P., Guichard, S., Ducerf, C., Baulieux, J., Zoulim, F., & Trepo, C. (2003). Long term histological improvement and clearance of intrahepatic hepatitis C virus RNA following sustained response to interferon-ribavirin combination therapy in liver transplanted patients with hepatitis C virus recurrence. *Gut*, 52, 283–287.

Blackard, J. T. 1., Kemmer, N., & Sherman, K. E. (2006). Extrahepatic replication of HCV: insights into clinical manifestations and biological consequences. *Hepatology*, 44(1), 15–22.

Bodenheimer, H. Jr., Lindsay, K., Davis, G., Lewis, J., Thung, S., & Seeff, L. (1997). Tolerance and efficacy of oral ribavirin treatment of chronic hepatitis C: a multicenter trial. *Hepatology*, 26 (2), 473–477.

Buggisch, P., Petersen, J., Urlea-Schön, I., Rossol, S., Möller, B., Heyne, R., Weissmann, J., Malek, M., Teuber, G., John, C., Key, K.-H., Melcher, L., Witth öft, T., Blaak, H., Hartmann, D., & Bilzer, M. (2013). 797 High prevalence of Hepatitis C in 8009 patients with migration background in Germany. Abstract # 797. 48th Annual Meeting of the European Association for the Study for the Liver (EASL), 24.-28. April 2013 in Amsterdam/Niederlande.

Carreno, V., Pardo, M., Lopez-Alcorocho, J. M., Rodriguez-Inigo, E., & Bartolome, J. (2006). Detection of hepatitis C virus (HCV) RNA in the liver of healthy. *Hepatology*, 194, 53–60.

Castillo, I., Pardo, M., Bartolomé, J., Ortiz-Movilla, N., Rodríguez-Iñigo, E., de Lucas, S., Salas, C., Jiménez-Heffernan, J. A., Pérez-Mota, A., Graus, J., & López-Alcorocho, J. M., & Carreño, V. (2004). Occult hepatitis C virus infection in patients in whom the etiology of persistently abnormal results of liver-function tests is unknown. *J Infect Dis.*, 189(1), 7–14.

Castillo, I., Rodríguez-Iñigo, E., López-Alcorocho, J. M., Pardo, M., Bartolomé, J., & Carreño, V. (2006). Hepatitis C virus replicates in the liver of patients who have a sustained response to antiviral treatment. *Clin Infect Dis.*, 43(10), 1277–1283.

Choo, Q. L., & Kuo, G. (1989). Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*, 244(4902), 359–362.

Coppola, N., Pisaturo, M., Guastafierro, S., Tonziello, G., Sica, A., Sagnelli, C., Ferrara, M. G., & Sagnelli, E. (2011). Absence of occult hepatitis C virus infection in patients under immunosuppressive therapy for oncohematological diseases. *Hepatology*, 54, 1487–1489.

Darwish, M. A., Raouf, T. A., Rushdy, P., Constantine, N. T., Rao, M. R., & Edelman, R. (1993). Risk factors associated with a high seroprevalence of hepatitis C virus infection in Egyptian blood donors. *Am J Trop Med Hyg*, 49, 440–447.

De Marco, L., Gillio-Tos, A., Fiano, V., Ronco, G., Krogh, V., Palli, D., Panico S., Tumino R., Vineis P., Merletti F., Richiardi L., & Sacerdote C. (2009). Occult HCV infection: an unexpected finding in a population unselected for hepatic disease. *PLoS One*, 4, e8128.

De Marco, L., Manzini, P., Trevisan, M., Gillio-Tos, A., Danielle, F., Balloco, C., Pizzi, A., De Filippo, E., D'Antico, S., Violante, B., Valfrè, B., Curti, F., Merletti, F., & Richiardi L. (2012). Prevalence and follow-up of occult HCV infection in an Italian population free of clinically detectable infectious liver disease. *PLoS One*, 7, e43541.

Di Bisceglie, A., Conjeevaram, H., Fried, M., Sallie, R., Park, Y., Yurdaydin, C., Swain, M., Kleiner, D., Mahaney, K., & Hoofnagle, J. (1995). Ribavirin as therapy for chronic hepatitis C. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Int Med*, 123 (12), 897–903.

DIMDI. (2003). *Antivirale Therapie bei Patienten mit chronischer Hepatitis C in Deutschland. Medizinische und ökonomische Evaluation der initialen Kombinationstherapie mit Interferon / Peginterferon und Ribavirin*. Abgerufen unter http://portal.dimdi.de/de/hta/hta_berichte/hta069_bericht_de.pdf (letzter Zugriff: 24.01.2019).

DIMDI. (2015). *ICD-10-GM Version 2015, Kapitel I: Bestimmte infektiöse und parasitäre Krankheiten (A00-B99), Virushepatitis (B15-B19)*. Abgerufen unter <https://www.dimdi.de/static/de/klassi/icd-10-gm/kodesuche/onlinefassungen/htmlgm2015/block-b15-b19.htm> (letzter Zugriff: 10.12.2018).

Drexler, J. F., Corman, V. M., Müller, M. A., Lukashev, A.N., Gmyl, A., Coutard, B., Adam, A., Ritz D., Leijten, L.M., Riel, D.v., Kallies, R., Klose, S.M., Gloza-Rausch, F., Binger, T., Annan, A., Adu-Sarkudie, Y., Oppong, S., Bourgarel, M., Rupp, D., Hoffmann, B., Schlegel, M., Kümmerer, B.M., Krüger, D.H., Schmidt-Chanasit, J., Setién, A.A., Cottentail, V.M., Hemachudha, T., Wacharapluesadee, S., Osterrieder, K., Bartenschlager, R., Matthee, S., Beer, M., Kuiken, T., Reusken, C., Leroy, E.M., Ulrich, R.G., & Drosten, C. (2013). Evidence for Novel Hepaciviruses in Rodents. *PLoS Pathogens*, 9(6), doi:10.1371/journal.ppat.1003438.

Dusheiko, G. (1997). Side effects of alpha interferon in chronic hepatitis C. *Hepatology*, 26 (Suppl.1), 112s–121s.

Eassa, S., Eissa, M., Sharaf, S. M., Ibrahim, M. H., & Hassanein, O. M. (2007). Prevalence of hepatitis C virus infection and evaluation of a health education program in elghar village in zagazig, egypt. *J Egypt Public Health Assoc*, 82(5–6), 379–404.

Esteban, J. I., Sauleda, S., & Quer, J. (2008). The changing epidemiology of hepatitis C virus infection in Europe. *J Hepatol.*, 48(1), 148–162.

Fabrizi, F., Martin, P., & Messa, P. (2010). Hepatitis B and hepatitis C virus and chronic kidney disease. *Acta Gastroenterol Belg.*, 73(4), 465–71.

Filippi, P., Di Martino, F., Martini, S., Pisaturo, M., Sagnelli, E., & Coppola, N. (2012). Absence of occult HCV infection in HIV-positive patients. *J Infect.*, 64, 436–437.

Frank, C., Mohamed, M. K., Strickland, G. T., Lavanchy, D., Arthur, R. R., Magder, L. S., El Khoby, T., Abdel-Wahab, Y., Aly Ohn, E. S., Anwar, W., & Sallam, I. (2000). The role of parenteral antischistosomal therapy in the spread of hepatitis C virus in Egypt. *Lancet.*, 11, 355 (9207), 887–891.

Goffrier, B., Schulz, M., & Bätzing-Feigenbaum, J. (2017). *Administrative Prävalenzen und Inzidenzen des Diabetes mellitus von 2009 bis 2015. Bericht des Zentralinstituts für die kassenärztliche Versorgung in Deutschland 2017.* Abgerufen unter https://www.versorgungsatlas.de/fileadmin/ziva_docs/79/VA-79-Bericht_Final.pdf (letzter Zugriff: 15.03.2019).

Gordon, C. E., Uhlig, K., Schmid, C. H., Levey, A. S., & Wong, J. B. (2011). Long-Term Viral Negativity After Interferon for Chronic Hepatitis C Virus Infection in Hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol.*, 6, 2226–2234.

Grammatikos, G., & Sarrazin, C. (2010). Chronische Hepatitis C. *Dtsch med. Wochenschr.*, 135(50), 2525–2534.

Grob, P. J., Negro, F., & Renner, E. L. (2000). Hepatitis C virus infection. Overview. SEVHEP (Swiss Experts on Viral Hepatitis). *Schweiz Rundsch Med Prax*, 89, 1587–1604.

Halfon, P., Bourlière, M., Ouzan, D., Sène, D., Saadoun, D., Khiri, H., Pénaranda, G., Martineau, A., Oulès, V., & Cacoub, P. (2008). Occult hepatitis C virus infection revisited with ultrasensitive real-time PCR assay. *J Clin Microbiol.*, 46, 2106–2108.

Hammerstad, S. S., Grock, S. F., Lee, H. J., Hasham, A., Sundaram, N., & Tomer, Y. (2015). Diabetes and Hepatitis C: A Two-Way Association. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 6, 134.

Khedmat, H., Amini, M., Ghamar-Chehreh, M. E., & Agah, S. (2014). Hepatitis C virus infection in dialysis patients. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, 25, 1–8.

La Torre, G., Gualano, M. R., Semyonov, L., Nicolotti, N., Ricciardi, W., & Boccia, A. (2011). Hepatitis C Virus infections trends in Italy, 1996-2006. *Hepat Mon.*, 11(11), 895–900.

Lerat, H., & Hollinger, F. B. (2004). Hepatitis C virus (HCV) occult infection or occult HCV-RNA detection? *J Infect Dis.*, 189, 3–6.

Ludwig, M. (2017). *Repetitorium für die Facharztprüfung Innere Medizin*. Deutschland, München: Urban & Fischer, S.201.

Mahajan, R., Xing, J., Liu, S. J., Ly, K. N., Moorman, A. C., Rupp, L., Xu, F., & Holmberg, S. D. (2014). Chronic Hepatitis Cohort Study (CHeCS) Investigators. Mortality among persons in care with hepatitis C virus infection: the Chronic Hepatitis Cohort Study (CHeCS), 2006-2010. *Clin Infect Dis.*, 58(8), 1055–61.

Maier, K.-P. (2000). *Hepatitis-Hepatitisfolgen..* Deutschland, Stuttgart: Georg Thieme Verlag, S.108-110.

Maier, K.-P. (2002). *Akute und chronische Hepatitis C. Epidemiologie-Diagnostik-Therapie*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag, S.131.

Marukian, S. J. C., Jones, C. T., Andrus, L., Evans, M. J., Ritola, K. D., Charles, E. D., Rice, C. M., & Dustin, L. B. (2008). Cell culture-produced hepatitis C virus does not infect peripheral blood mononuclear cells. *Hepatology*, 48, 1843–1850.

Maylin, S., Martinot-Peignoux, M., Moucari, R., Boyer, N., Ripault, M. P., Cazals-Hatem, D., Giuily, N., Castelnau, C., Cardoso, A. C., Asselah, T., Féray, C., Nicolas-Chanoine, M. H., Bedossa, P., & Marcellin, P. (2008). Eradication of hepatitis C virus in patients successfully treated for chronic hepatitis C. *Gastroenterology*, 135, 821–829.

Maylin, S., Martinot-Peignoux, M., Ripault, M. P., Moucari, R., Cardoso, A. C., & Boyer, N. (2009). Sustained virological response is associated with clearance of hepatitis C virus RNA and a decrease in hepatitis C virus antibody. *Liver Int*, 29, 511–517.

McCombs, J., Matsuda, T., Tonnu-Mihara, I., Saab, S., Hines, P., L'italien, G., Juday, T., & Yuan, Y. (2014). The risk of long-term morbidity and mortality in patients with chronic hepatitis C: results from an analysis of data from a Department of Veterans Affairs Clinical Registry. *JAMA Intern Med.*, 174(2), 204–12.

Mohamoud, Y. A., Mumtaz, G. R., Riome, S., Miller DeWolfe, & Abu-Raddad, L. J. (2013). The epidemiology of hepatitis C virus in Egypt: a systematic review and data synthesis. *BMC Infectious Diseases*, 13, 288.

Morishima, C., Morgan, T. R., Everhart, J. E., Wright, E. C., Apodaca, M. C., Gretch, D. R., Shiffman, M.L., Everson, G.T., Lindsay, K.L., Lee, W.M., Lok, A.S., Dienstag, J.L., Ghany, M.G., Curto, T.M., & HALT-C Trial Group.(2008). Interpretation of positive transcription-mediated amplification test results from polymerase chain reaction-negative samples obtained after treatment of chronic hepatitis C. *Hepatology*, 48, 1412–1419.

Muche, M., Berg, T., Rimpler, S., Staedtler, A., Böhm, S., Nickel, P., & Baid-Agrawal, S. (2019). Low prevalence of occult hepatitis B virus infection in chronic haemodialysis and kidney transplant patients. *Liver International*, 39, 263–270.

Mühlberger, N., Schwarzer, R., Lettmeier, B., Sroczynski, G., Zeusem, S., & Siebert, U. (2009). HCV-related burden of disease in Europe: a systematic assessment of incidence, prevalence, morbidity, and mortality. *BMC Public Health*, 9, 34, doi:10.1186/1471-2458-9-34.

Naing, C., Mak, J. W., Ahmed, S. I., & Maung, M. (2012). Relationship between hepatitis C virus infection and type 2 diabetes mellitus: meta-analysis. *World J Gastroenterol.*, 18(14), 1642–51.

Naoumov, N. V. (1999). Hepatitis C virus infection in Eastern Europe. *J Hepatol*, 31, 84–87.

Neeff, H., Streule, G., Drognitz, O., Hopt, U. T., & Makowiec, F. (2012). Perioperative Mortalität, Kurz- und Langzeitüberleben nach allgemein- und viszeralchirurgischen Eingriffen bei Patienten mit Leberzirrhose: Risikostratifizierung nach Child Turcotte Pugh Score bzw. MELD, NaMELD und iMELD: Helfen moderne Klassifikationssysteme wirklich? *Z Gastroenterol*, 50 - K380.

Nicot, F., Kamar, N., Mariame, B., Rostaing, L., Pasquier, C., & Izopet, J. (2009). No evidence of occult hepatitis C virus (HCV) infection in serum of HCV antibody-positive HCV RNA-negative kidney-transplant patients. *Transpl Int.*, 23, 594–601.

Niederau, C., & Kapagiannidis, C. (2006). Epidemiology of hepatitis C in Germany. *Med Klin (Munich)*, 101, 448–457.

Niederau, C. (2011). Epidemiologie der Leberzirrhose. *Hepatitis&more*, 1, 11–14. Abgerufen unter http://www.hepatitisandmore.de/archiv/2011-1/03_Epidemiologie.pdf (letzter Zugriff: 20.12.2018).

Pardo, M., Lopez-Alcorocho, J. M., Rodriguez-Inigo, E., Castillo, I., & Carreno, V. (2007). Comparative study between occult hepatitis C virus infection and chronic hepatitis c. *J Viral Hepat.*, 14, 36–40.

Pawlotsky J.-M., Negro, F., Aghemo, A., Berenguer, M., Dalgard, O., Dusheiko, G., Marra, F., Puoti, M., & Wedemeyer H. (2018). EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol.*, 69(2), 461–511.

Peres, A. A., Dias, E. A., Chesky, M., Alvares-da-Silva, M. R., Jobim, L. F., Gonçalves, L. F., & Manfro, R. C. (2005). Occult hepatitis B in renal transplant patients. *Transpl Infect Dis.*, 7(2), 51–56.

Pham, T. N., MacParland, S. A., Mulrooney, P. M., Cooksley, H., & Naoumov, N. V. (2004). Hepatitis C virus persistence after spontaneous or treatment induced resolution of hepatitis C. *J Virol.*, 78, 5867–5874.

Pham, T. N., & Michalak, T. I. (2008). Hepatitis C virus in peripheral blood mononuclear cells of individuals with isolated anti-hepatitis C virus antibody reactivity. *Hepatology*, 48, 350–351.

Pham, T. N., Coffin, C. S., & Michalak, T. I. (2010). Occult hepatitis C virus infection: what does it mean? *Liver Int.*, 30, 502–511.

Poethko-Müller, C., Zimmermann, R., Hamouda, O., Faber, M., Stark, K., & Ross, R. S. (2013). Epidemiology of hepatitis A, B, and C among adults in Germany: results of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1). *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitschutz*, 56, 707–715.

Radkowski, M., Horban, A., Gallegos-Orozco, J. F., Pawelczyk, A., & Jablonska, J. (2005a). Evidence for viral persistence in patients who test positive for anti-hepatitis C virus antibodies and have normal alanine aminotransferase levels. *J Infect Dis.*, 191, 1730–1733.

Radkowski, M., Gallegos-Orozco, J. F., Jablonska, J., Colby, T. V., & Walewska-Zielecka B. (2005b). Persistence of hepatitis C virus in patients successfully treated for chronic hepatitis C. *Hepatology*, 41, 106–114.

Raffaele, A., Valenti, M., Iovenitti, M., Matani, A., Bruno, M. L., Altobelli, E., D'Alessandro, A., Barnabei, R., Leonardis, B., & Taglieri, G. (2001). High prevalence of HCV infection among the general population in a rural area of central Italy. *Eur J Epidemiol.*, 17(1), 41–46.

RKI (Robert Koch-Institut). (2003). *Hepatitis C*. Gesundheitsberichterstattung des Bundes, Band 15. Berlin.

RKI (Robert-Koch-Institut). (2008). *Hypertonie*. Gesundheitsberichterstattung des Bundes, Band 43. Berlin.

RKI (Robert-Koch-Institut). (2018). *Hepatitis C. RKI-Ratgeber*. Berlin. Abgerufen unter https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_HepatitisC.html (letzter Zugriff: 15.12.2018).

Rossol, S., Bert, J., Stahmeyer, J., & Krauth, C. (2006). Hepatitis C - ein Problem für Individuum und Gesellschaft. *CME extra*, 2, 36–43.

Sarrazin, C., Zimmermann, T., Berg, T., Neumann, U. P., Schirmacher, P., Schmidt, H., Spengler, U., Timm, J., Wedemeyer, H., Wirth, S., & Zeuzem, S. (2018). S3-Leitlinie Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Hepatitis-C-Virus (HCV)-Infektion. AWMF-Leitlinien-Register Nr. 021/012 (Arbeitsgemeinschaft der wissenschaftlichen medizinischen Fachgesellschaften). *Z Gastroenterol*, 56, 756–838.

Sauerbruch, T., Appenrodt, B., Schmitz, V., & Spengler, U. (2013). The Conservative and interventional treatments for liver cirrhosis - part 2 of a series on liver cirrhosis. *Dtsch Arztebl Int*, 110(8), 126–132.

Schreier, E., & Höhne, M. (2001). Hepatitis C – Epidemiologie und Prävention. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz*, 44, 554–561.

Schulte, B., Stöver, H., Leicht, A., Schnackenberg, K., & Reimer, J. (2008). Prävention der Hepatitis C bei Drogenkonsumenten. *Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz*, 51, 1210–1217.

Shepard, C. W., Finelli, L., & Alter, M. J. (2005). Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis*, 5, 558–567.

Siemens. (2007). *Patentnr. u. a. 5,030,557*. U. S. Patent, Tarrytown, New York.

Sivanathan, V., Kittner, J. M., Sprinzl, M. F., Weinmann, A., Koch, S., Wiltink, J., Nguyen-Tat, M., Marquardt, J.U., Wörns, M.A., Zimmermann, T., Lang, H., Galle, P.R., & Schattenberg, J.M. (2014). Ätiologie und Komplikationen der Leberzirrhose: Daten eines deutschen Zentrums. *Dtsch med. Wochenschr.*, 139 (36), 1758–1762.

Stark, K., Bienzle, U., Vonk, R., & Guggenmoos-Holzmann, I. (1997). History of syringe-sharing in prison and risk of Hepatitis B virus, Hepatitis C virus, and Human immunodeficiency virus infection among injecting drug users in Berlin. *Int J Epidemiol*, 26, 1359–1366.

Strassburg, C. P., & Cornberg, M. (2009). Diagnostik und Therapie der Hepatitis. *Der Internist*, 50 (12), 1358–1368.

Teh, S. H., Nagorney, D.M., Stevens, S.R., Offord, K.P., Therneau, T.M., Plevak, D.J., Talwalkar, J.A., Kim, W.R., & Kamath, P.S. (2007). Risk factors for mortality after surgery in patients with cirrhosis. *Gastroenterology*, 132, 1261–1269.

Thomas, R. M., Brems, J. J., Guzman-Hartman, G., Yong, S., Cavaliere, P., & Van Thiel, D. H. (2003). Infection with chronic hepatitis C virus and liver transplantation: a role for interferon therapy before transplantation. *Liver Transpl*, 9, 905–915.

Touzet, S., Kraemer, L., Colin, C., Pradat, P., Lanoir, D., Bailly, F., Coppola, R.C., Sauleda, S., Thursz, M.R., Tillmann, H., Alberti, A., Braconier, J.H., Esteban, J.I., Hadziyannis, S.J., Manns, M.P., Saracco, G., Thomas, H.C., & Trépo, C. (2000). Epidemiology of hepatitis C virus infection in seven European Union countries: a critical analysis of the literature. HENCORE Group. Hepatitis C European Network for Cooperative Research. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 12, 667-678.

Trepo, C., & Pradat, P. (1999). Hepatitis C virus infection in Western Europe. *J Hepatol*, 31, 80–83.

Wasley, A., & Alter, M. J. (2000). Epidemiology of Hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Semin Liver*, 20, 1–16.

Weber, B., Rabenau, H., Berger, A., Scheuermann, E.H., Staszewski, S., Kreuz, W., Scharrer, I., Schoeppe, W., & Doerr, H.W. (1995). Seroprevalence of HCV, HAV, HDV, HCMV and HIV in high risk groups/Frankfurt a. M., Germany. *Zentralbl Bakteriol*, 282, 102–112.

Welker, M. W., & Zeuzem, S. (2009). Occult hepatitis C: how convincing are the current data? *Hepatology*, 49, 665–675.

WHO. (1999). Global Surveillance and control of hepatitis C. Report of a WHO Consultation organized in collaboration with the Viral Hepatitis Prevention Board, Antwerp, Belgium. *J Viral Hepatitis*, 6. 35–47.

WHO. (2000). Hepatitis C – global prevalence (update). *Wkly Epidemiol Rec.*, 75, 18–19.

WHO. (2004). *Hepatitis C*. Abgerufen unter http://www.who.int/ith/maps/hepatitisC2004_en.gif (letzter Zugriff: 10.12.2018).

WHO. (2017). *Global hepatitis report*. Genf 2017. Abgerufen unter <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255016/9789241565455-eng.pdf;jsessionid=9CD54F7CD1452A99C6A00A8F1BB19D90?sequence=1> (letzter Zugriff: 01.01.2019).

Wiese, M., Berr, F., Lafrenz, M., Porst H., Oesen U. (2000). Low frequency of cirrhosis in a Hepatitis C (geno-type 1b) single-source outbreak in germany: a 20-year multicenter study. *Hepatology*, 32, 91–96.

Zaghloul, H., & El-Sherbiny, W. (2010). Detection of occult hepatitis C and hepatitis B. *Immunol Invest.*, 39, 284–291.

8 Anhang

8.1 Einwilligungserklärung



CHARITÉ · D-10098 BERLIN

Medizinische Klinik mit Schwerpunkt
Nephrologie und
Intern. Intensivmedizin
Geschäftsf. Direktor
Prof. Dr. med. Ulrich Frei

Telefon (030) 450 553 132

Telefax (030) 450 553 909

nephrologie@charite.de

17.06.2019

Einwilligungserklärung für Patienten und Probanden

Untersuchung von okkulten Hepatitis B und Hepatitis C Infektionen bei Nieren-transplantierten Patienten und Hämodialyse-Patienten

Patient/Proband: _____ Patient/Proband Nr.: _____

(Name, Vorname)

- *Bitte lesen Sie das Patienten-Informationsblatt und die Einwilligungserklärung sorgfältig durch*
- *Bitte fragen Sie bei allen Unklarheiten oder wenn Sie weitere Informationen wünschen*

Ich bin durch den behandelnden Arzt mündlich und schriftlich über Ziel, Dauer, Ablauf, Nutzen, Risiken und Nebenwirkungen der Studie aufgeklärt worden. Ich hatte ausreichend Gelegenheit Fragen zu stellen. Diese wurden mir vom aufklärenden Arzt verständlich beantwortet. Außerdem habe ich Kopien der schriftlichen Patienteninformation und der Patienteneinwilligung erhalten. Ich hatte genügend Zeit, um meine Entscheidung zur Teilnahme an dieser Studie frei zu treffen.

Ich weiß, dass meine Teilnahme an der klinischen Prüfung völlig freiwillig ist und dass ich diese Einwilligung jederzeit und ohne Angabe von Gründen widerrufen kann, ohne dass mir daraus Nachteile für meine weitere Behandlung entstehen. Sollte ich diese Studie abbrechen, werde ich dies dem behandelnden Arzt mitteilen.

In nehme an der o.g. Studie teil.

Datenschutzpassus

Ich willige ein dass die wissenschaftliche Einrichtung Charité Universitätsmedizin Berlin, Medizinische Klinik m.S. Nephrologie und internistische Intensivmedizin, sowie die Hepatologische Ambulanz der Medizinischen Klinik m.S. Hepatologie und Gastroenterologie mich betreffende personenbezogene Daten und Gesundheits- bzw. Krankheitsdaten im Rahmen und zum Zweck des o.g. Forschungsvorhabens verarbeitet. Ich willige darin ein, dass meine im Rahmen der o.g. Studie erhobenen Krankheitsdaten aufgezeichnet, verschlüsselt, verschlüsselt gespeichert und anonymisiert veröffentlicht werden.

Darüber hinaus bin ich mit der Entnahme, Untersuchung sowie verschlüsselten bzw. anonymisierten Lagerung meines im Rahmen dieser klinischen Studie entnommenen Blutes für den Zweck der Studie durch den/die Studienarzt/-Studienärztin bzw. das Labor (Charité Campus Virchow Klinikum) einverstanden.

Ich erkläre mich auch mit einer Information meines Dialysearztes durch den/die

Studienarzt/Studienärztin über meine Teilnahme an der o. g. Studie einverstanden.

Ort, Datum Unterschrift des Patienten

Ort, Datum Unterschrift des Zeugen, (falls erforderlich)

Der Patient wurde von mir über Ziel, Dauer, Ablauf, Nutzen, Risiken und Nebenwirkungen der klinischen Prüfung mündlich und schriftlich aufgeklärt. Aufgetretene Fragen wurden von mir verständlich und ausreichend beantwortet. Der Patient hat ohne Zwang seine Einwilligung erteilt.

Eine Kopie der schriftlichen Patienteninformatio n und dieser Patienteneinwilligung habe ich dem Patienten ausgehändigt.

Ort, Datum Unterschrift des Prüfarztes

Falls Sie weitere Fragen haben, zögern Sie nicht uns zu kontaktieren:

Dr. med. S. Baid-Agrawal 030- 450 553 232

8.2 Patientenfragebogen

Fragebogen für Dialyse- und nierentransplantierte Patienten

Datum der Registrierung:

Name:

Unit#:

Alter:

Staatsangehörigkeit:

Geschlecht:

Beruf:

Ursache der Erkrankung:

(Ursache der ESRD):

Beginn der Dialyse:

Transplantation: Zeitpunkt:

Ursache der Abstoßung:

Bluttansfusionen: Anzahl:

Vorerkrankungen: Diabetes mellitus:

 Bluthochdruck:

 Herz-Kreislauf-Erkrankungen:

 Schlaganfall:

Lebererkrankungen: Antivirale Therapie:

Leberbiopsie: Datum: Diagnose:

Alkohol (Gesamtdauer und Höhe des Konsum):

Rauchen:

Drogenmissbrauch i.v.:

Weitere Medikamente (v.a. Antihypertonika, Diuretika, Lipidsenker, Steroide oder andere Immunsuppressiva):

Blutdruck:

Gewicht:

Größe:

BMI:

Labortests:

Test	Datum
Hb	
Erythrozyten	
Leukozyten	
Thrombozyten	
Blut-Harnstoff -	
Kreatinin	
Natrium	
Kalium	
Chloride	
Calcium	
Nüchtern-Blutzuckerspiegel	
HbA1c	
Bilirubin (vollständig / teilweise)	
SGPT / ALAT	
SGOT / ASAT	
Alk. Phosphatase	

GGT	
Albumin	
PT, PTT	
HBsAg, HBsAb	
HBeAg, HBcAb	
HBV-Viruslast (DNA) im Serum	
HCV-Ab	
Viruslast (RNA) im Serum	
HIV	
Gesamt Cholesterin	
Triglyzeride	
HDL	
LDL	
Iron	
Ferritin	

8.3 Eidesstaatliche Versicherung/Anteilserklärung

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Adrienne Städtler, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Die Prävalenz von okkulten Hepatitis C-Virusinfektionen bei nierentransplantierten Patienten und Dialyse-Patienten selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit der Betreuerin, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

8.4 LEBENSLAUF

„Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.“

8.5 Publikationsliste

Baid-Agrawal S, Schindler R, Reinke P, Staedtler A, Rimpler S, Malik B, Frei U, Berg T. Prevalence of occult hepatitis C infection in chronic hemodialysis and kidney transplant patients. *J Hepatol.* 2014a; 60(5):928-33.

Marion Muche, Thomas Berg, Sunda Rimpler, Adrienne Staedtler, Stefan Böhm, Peter Nickel, Seema Baid-Agrawal. Low prevalence of occult hepatitis B virus infection in chronic haemodialysis and kidney transplant patients. *Liver International* 2019; 39: 263-270

8.6 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau PD Dr. Seema Baid-Agrawal für die Überlassung dieses Themas, die Geduld, die zuverlässige Betreuung und die wertvollen akademischen Ratschläge.

Danken möchte ich außerdem meiner Mitstudentin und Freundin Sunda Rimpler, die diese Studie mit mir zusammen durchgeführt hat und natürlich Frau Barbara Malik die uns im Labor unterstützt hat.

Bedanken möchte ich mich auch bei der Transplantationsnachsorge der Medizinischen Klinik für Nephrologie und internistische Intensivmedizin der Charité des Campus Virchow-Klinikum sowie bei den fünf Dialysezentren in Berlin (KfH Nierenzentrum Berlin-Neukölln, KfH Nierenzentrum Berlin-Charlottenburg, KfH Kuratorium für Dialyse und Nierentransplantation e. V., KfH Nierenzentrum Berlin-Köpenick und Dialysezentrum am Treptower Park) zur Verfügungstellung der Patienten und für die gewonnen Blutproben.

Des Weiteren möchte ich mich bei den freiwillig mitgewirkten Studenten, Bekannten und Verwandten bedanken, die so unsere negative Kontrollgruppe darstellten.

Ebenso danke ich meiner Familie für die Geduld, emotionale Unterstützung und Zeit, die sie aufbringen mussten um mich in der Betreuung meiner Kinder zu unterstützen. Besonders danke ich meinem Ehemann der mich immer in allen Lebenslagen unterstützt hat und meiner Schwester Stefanie die in kritischen Phasen immer für mich da war und meine beste Freundin ist.

Vor allem möchte ich meiner Mama einen Dank aussprechen, die mich und meine Familie immer unterstützt und jederzeit für uns da ist.

Auch danke ich meinem Vater und meiner Stiefmutter für den Ansporn.

Ich möchte meinen Omas danken, die immer an mich geglaubt haben.

Zuletzt danke ich meiner Freundin Wencke für das Abrunden meiner Arbeit, für Hasi und das gekühlte Wasser.