

# Hepatitis-C-Virus (HCV)

## Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit

Der Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit gibt als nationales Beratungsgremium Stellungnahmen zu neuartigen Erregern ab, bewertet neue Erkenntnisse zu bekannten Erregern und erarbeitet entsprechende Empfehlungen für die Fachöffentlichkeit. Diese Serie von Stellungnahmen zu einzelnen Erregern werden als Zusammenfassung des aktuellen Wissensstandes veröffentlicht, speziell unter transfusionsmedizinisch relevanten Aspekten (Bundesgesundhbl. 41, 53, 1998).

Frühere Beiträge befassten sich mit der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung, dem Parvovirus B19 und dem GB-Virus Typ C (Hepatitis-G-Virus), (Bundesgesundhbl. 41, 78–90, 1998), HTLV-I/-II, (Bundesgesundhbl. 41, 512, 1998), *Yersinia enterocolitica*, (Bundesgesundhbl. 42, 613, 1999), *TT-Virus* (Bundesgesundhbl. 43, 154–156, 2000), *Hepatitis-B-Virus (HBV)*, (Bundesgesundhbl. 43, 240–248, 2000) und *Humanes Cytomegalovirus (HCMV)*, (Bundesgesundhbl. 43, 653–659, 2000), *Hepatitis-A-Virus* (Bundesgesundhbl. 44, 844–850, 2001) und *Treponema pallidum* (Bundesgesundhbl. 45, 818–826, 2002)

### 1 Wissensstand über den Erreger

#### 1.1 Erreger Eigenschaften

Hepatitis-C-Virus ist die einzige Virusart der Gattung *Hepacivirus*, die zusammen mit den Gattungen *Flavivirus* und *Pestivirus* die Virusfamilie *Flaviviridae* bildet [1, 2]. Die Gattungen *Hepacivirus* und *Pestivirus* sind strukturell und biologisch näher miteinander verwandt als mit der Gattung *Flavivirus*. Beide Gat-

tungen benötigen im Gegensatz zur Gattung *Flavivirus* keine Gliederfüßler als Überträger und können persistente Infektionen in Säugern hervorrufen.

Dem HCV ähnlich ist das GB-Virus Typ B (GBV-B), das bei Tamarinäffchen eine Hepatitis hervorruft. Entfernter verwandt mit HCV sind GBV-A verschiedener Neuweltaffen und GBV-C des Menschen [2], für die bisher keine Pathogenität bekannt ist.

Die Viruspartikel der *Flaviviridae* sind von einer Lipidhülle umgeben, in der mindestens 2 glykosylierte Oberflächenproteine verankert sind: E1 und E2 bei den Gattungen *Hepacivirus* und *Pestivirus*; M und E bei der Gattung *Flavivirus* (die Pestiviren enthalten zusätzlich ein E<sup>ms</sup>). Die Virushülle umschließt ein Core-Partikel, das aus Core-Protein (C) und der einzelsträngigen Genom-RNA mit ca. 9.600 Basen (bei HCV) gebildet wird. Wegen der geringen Menge an HCV, die aus Plasma isoliert werden kann, ist die Struktur der Viruspartikel nur unvollständig untersucht. Das hypothetische Modell in Abb. 1 ist von Kenntnissen über andere *Flaviviridae* abgeleitet.

Die RNA-Genome der *Flaviviridae* fungieren nach Infektion direkt als mRNA und haben somit definitionsgemäß Plus-Polarität. Sie kodieren nur ein einziges Polypeptid mit ca. 3.000 Aminosäuren, das bereits bei der Translation von zellulären Proteinen und viralen Autoproteasen in die einzelnen viralen Proteine gespalten wird. Das zuletzt synthetisierte carboxyterminale Fragment beinhaltet die virale RNA-abhängige RNA-Polymerase, die das Plusstrang-Genom in den Minusstrang und diesen danach in neue Plusstränge repliziert.

Die RNAs der Gattungen *Hepacivirus* und *Pestivirus* haben am 5'Ende keine Cap-Struktur, die normalerweise für die Bindung von Ribosomen nötig ist, sondern eine interne Ribosomeneintrittsstelle (IRES), die in der 5'terminalen, nicht-translatierten Region (5'NTR) und am Beginn des Core-Gens liegt. Die Organisation des HCV-Genoms, die proteolytische Prozessierung des Polyproteins und die Funktionen der einzelnen Proteine sind in Abb. 2 gezeigt. Die Strukturproteine C, E1, E2 und E2-p7 werden als Bestandteile des Viruspartikels von den Nichtstrukturproteinen NS2 bis NS5B unterschieden, die nur in infizierten Zellen vorkommen. Die Genomorganisation und Funktion der NS-Proteine ist bei *Hepaciviren* und *Pestiviren* sehr ähnlich. Die Strukturproteine sind jedoch deutlich verschieden.

HCV kann, anders als die *Pestiviren*, bislang in Zellkulturen oder Versuchstieren, außer dem Schimpansen, nicht vermehrt werden. Das *Pestivirus BVDV (Bovines Virus, Diarrhoe-Virus)* des Rindes, das leicht züchtbar ist, wird daher oft als Modellvirus für HCV verwendet. Teilschritte der HCV-Synthese können mittels Transfektion von cDNA in humanen Hepatomzellen untersucht werden bis hin zur autonomen intrazellulären Replikation eines NS3 bis NS5 Genom-Fragments [3] oder auch des ganzen Genoms [4]. Damit sind die Voraussetzungen gegeben, in der Zellkultur antivirale Substanzen zu prüfen, die bestimmte Funktionen der Virus-Proteine hemmen, z. B. die NS3-Protease und He-

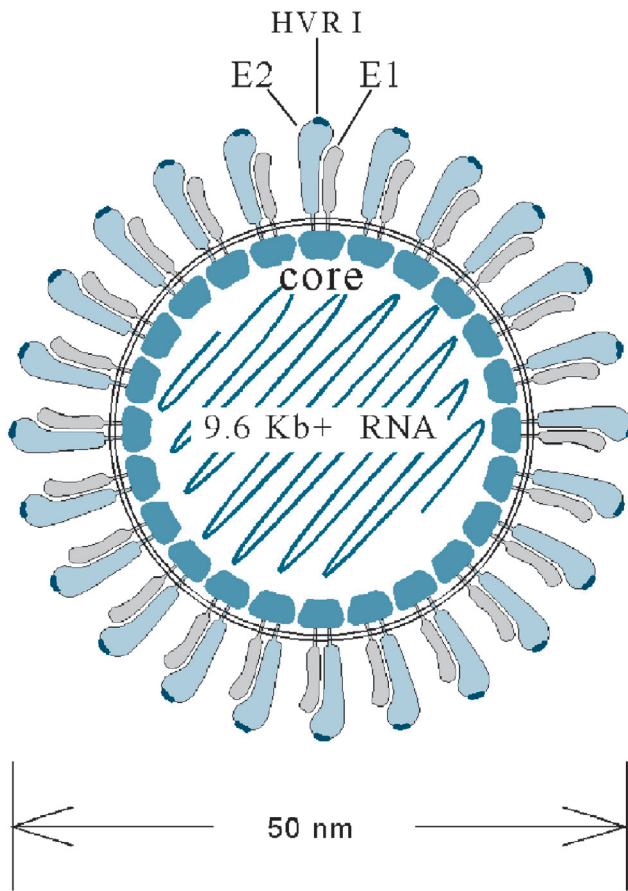


Abb. 1 ◀ **Hypothetisches Modell des Hepatitis-C-Virus. Strukturanalysen der HCV-Partikel sind unvollständig. Die durch Genomanalysen erhaltenen Daten weisen darauf hin, dass HCV als Mitglied der Virusfamilie Flaviviridae einen Durchmesser von 50 nm hat. In seiner Lipidhülle enthält es die heterodimeren Glykoproteine E1 und E2 und im Inneren der Lipidhülle die genomische RNA, assoziiert mit dem Core-Protein. Ein im E2-Protein exponierter Proteinsequenzabschnitt wird als hypervariable Region 1 bezeichnet (HVR1) und ist Zielstruktur neutralisierender Antikörper**

licase oder die RNA-abhängige RNA-Polymerase NS5B.

HCV erscheint weltweit in 6 Genotypen. Daneben werden Genosubtypen mit den Buchstaben a ... z unterschieden. In Deutschland und Japan herrscht der Genotyp 1b vor, in den USA und Nordeuropa 1a, in den Mittelmeerländern 2, in Afrika 4 und 5, in Süd- und Ostasien 3 und 6 [5]. Insgesamt ist HCV hochvariabel und bildet auch innerhalb eines Patienten eine Quasispezies aus, die sich kontinuierlich ändern kann. Die 5'NTR und das Core-Gen sind stärker konserviert, am Aminoende des E2-Proteins befindet sich dagegen eine hypervariable Region.

## 1.2 Infektion und Infektionskrankheit [6,7]

Das Virus vermehrt sich vorwiegend in der Leber, es findet sich jedoch auch in mononukleären Zellen des Blutes. HCV wird parenteral übertragen, nicht fäkal/oral wie Hepatitis-A- oder -E-Virus. In den ersten Wochen nach der Infektion erscheinen im Plasma zunehmend Viruspartikel/ml (bis zu  $10^8$ ), wobei ver-

mutlich etwa jedes 10. bis 100. Partikel infektiös ist [8,9]. Eine Erkrankung liegt zunächst nicht vor, die Aktivität der Alaninaminotransferase (ALT) im Serum ist normal. Nach etwa 4 bis maximal 12 Wochen tritt eine relativ milde anikterische Hepatitis mit ALT-Erhöpfung bis auf einige 100 IU/l ein, die klinisch jedoch oft unbemerkt bleibt. Schwere akute Verläufe werden nur bei simultanen Infektionen mit anderen Hepatitisviren beobachtet. Die relativ lange symptomlose Inkubationszeit mit ausgeprägter Virämie deutet darauf hin, dass HCV selbst keine hohe Zytotoxizität hat, sondern die Symptome der Infektion wie bei den anderen Hepatitisviren eher durch die Immunabwehr ausgelöst werden. Bei deutlich ausgeprägter klinischer Symptomatik der akuten Hepatitis C heilt die Infektion zu etwa 50% aus.

Die große Mehrzahl der HCV-Infektionen wird jedoch persistent, wobei das Manifestationsspektrum von fast völliger Gesundheit mit normaler ALT und weitgehend normalem Lebergewebe bis zur schweren, rasch progredienten chronischen Hepatitis reichen kann. Auffällig ist häufig eine Steatose. Bei 10

bis 31% der chronisch Infizierten tritt, je nach Kollektiv, manchmal schon nach wenigen Jahren, typischerweise aber erst nach 20 bis 30 Jahren, eine Leberzirrhose auf, die dann bei rund 20% innerhalb weniger Jahre zu Leberversagen oder Leberkarzinom führt. Schon mäßiger chronischer Alkoholkonsum (mehr als 40 g/Tag) soll die Prognose deutlich verschlechtern. Nicht selten kommt es auch nach jahrelanger Persistenz zum spontanen Abklingen der Virämie.

Die chronische Infektion führt zu einer dauernden Stimulation des Immunsystems. Neben der Entzündung in der Leber werden insbesondere B-Lymphozyten aktiviert, was nicht selten zur erhöhten Immunglobulinproduktion, Kryoglobulinämie und Immunkomplexerkrankungen (Vaskulitis, Glomerulonephritis, Neuropathien, Hauterscheinungen) führt. Auch *Porphyria cutanea tarda* ist mit HCV assoziiert. Daneben wird eine Assoziation von HCV mit Lymphomen diskutiert. Ob unterschiedliche HCV-Genotypen zu unterschiedlichen klinischen Verläufen führen können, wird kontrovers diskutiert. Häufig ist Genotyp 1b mit rascher Progredienz und insbesondere mit Interferon-Resistenz verknüpft.

Die zirkulierenden HCV-Partikel sind in der chronischen Phase weitgehend mit spezifischen Antikörpern bedeckt, jedoch scheint dadurch HCV nicht völlig neutralisierbar zu sein. Im Plasma werden je nach Aktivität der Infektion meist  $10^5$  bis  $10^8$  Viruspartikel/ml gefunden, jedoch ist die Infektiosität im Schimpansen (dem einzigen Versuchstier) mit 10 bis 1.000 infektiösen IU/ml meist deutlich niedriger als in der akuten Phase [7], wo in einem Fall kurzfristig  $10^{6,5}$  infektiöse Einheiten gefunden wurden.

Antikörper gegen die hypervariable Region des E2 sind neutralisierend und treten regelmäßig bei Patienten auf [9], daher mag die Variabilität des E2 ein wichtiger Faktor für die Immunevasion des HCV sein. Gegen die Wirkung des Interferonsystems schützt möglicherweise das NS5A-Protein des Genotyps 1, das die Interferon-induzierte Proteinkinase R inhibieren soll, die ansonsten die virale Proteinsynthese unterbindet. Die Wirkung der zytotoxischen T-Lymphozyten (CTL) trägt zur Pathogenese bei, ist aber zugleich Voraussetzung für eine Viruselimination, die bei rund 20% der Pati-

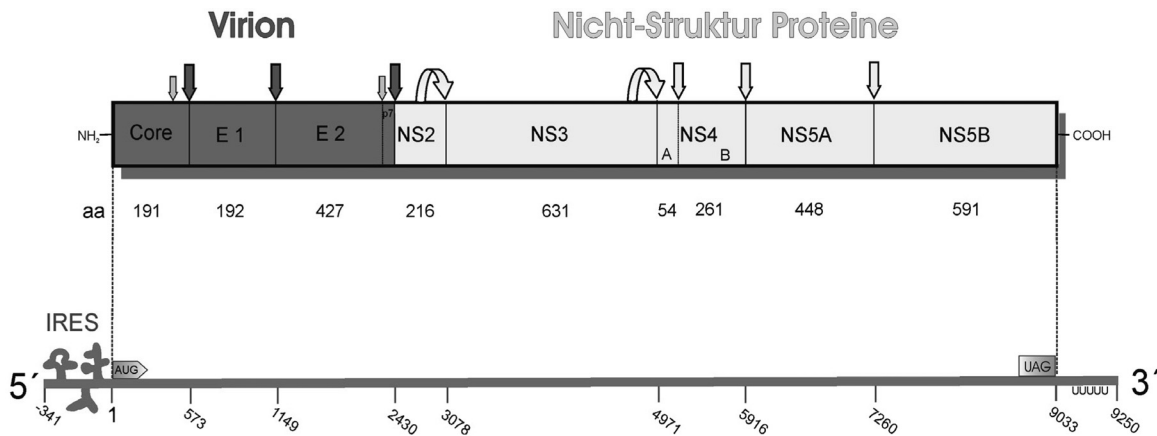


Abb. 2 ▲ **Organisation des HCV-Genoms.** *Oben:* Spaltung des Polyprotein-Vorläufers in die einzelnen Strukturproteine des Virions und Nichtstruktur- (NS-)Proteine. *Dunkelgraue Pfeile:* Spaltung durch die Wirtszell-Signalpeptidase; *hellgraue gebogene Pfeile:* Autoproteolyse durch NS2- bzw. NS3-Autopeptidase; *hellgraue Pfeile:* Proteolyse durch NS3/NS4A-Protease; E1, E2, Glykoproteine der Virushülle (envelop); NS2: Autoprotease; NS3: Autoprotease und Helicase; NS4A: NS3-Proteasekofaktor; NS4B: Funktion unbekannt; NS5A: vermutlich Interferonwirkung inhibierender Faktor; NS5B: RNA-abhängige RNA-Polymerase. *Unten:* RNA-Struktur des HCV-Genoms mit 5' terminaler interner Ribosomeneintrittsstelle (IRES), Startcodon (AUG) und Stopcodon (UAG) des Polyproteins und 3' terminaler nicht-translatierter Region (NTR) mit Poly-U-Trakt. (Abb. von C.G. Schüttler)

enten spontan nach der akuten Phase, z. T. aber auch erst nach vielen Jahren, eintritt [10, 11]. Es gibt Berichte, dass die Apoptose-induzierende Wirkung der CTL durch HCV-Proteine gehemmt wird. Auf diese Weise könnte HCV auch zur Entstehung des Leberkarzinoms beitragen. HCV ist bislang das einzige RNA-Virus ohne reverse Transkription, das Krebs hervorruft. Für eine kausale Wirkung des HCV spricht die Präsenz der viralen RNA im Tumorgewebe.

Wegen des Fehlens eines geeigneten Infektions- oder Kultursystems ist wenig zu den Details des viralen Lebenszyklus bekannt. Das E2-Protein bindet an CD81, ein Rezeptormolekül auf Immunzellen, was zu einer unspezifischen Immunglobulinproduktion beitragen könnte [12]. Daneben wird eine Bindung des E2 an Lipoprotein beobachtet, die zur Aufnahme über den Lipoproteinrezeptor beitragen könnte [13]. Beide potenziellen Rezeptoren können jedoch nicht den Hepatotropismus erklären. Neuerdings wurde als weiterer Rezeptorkandidat der Scavenger-Rezeptor B1 identifiziert [14].

Wahrscheinlich läuft die Virusreplikation wie bei den anderen Flaviviridae ausschließlich im Zytoplasma ab, und die Viruspartikel reifen im ER und Golgi, wonach sie konstitutiv sezerniert werden. Die Halbwertszeit der Viren im Plasma ist mit 1 bis 3 h [15] in der chronischen Phase sehr kurz, sodass täglich

wohl  $10^{13}$  Viren in einem hochvirämischen Patienten produziert werden. Die Menge der Virusgenome im Plasma dürfte annähernd, aber nicht vollständig, die intrazelluläre Aktivität und Pathogenität widerspiegeln.

### 1.3 Epidemiologie

Verlässliche Daten zur Inzidenz sind nur schwer zu erhalten, da meist keine klar ausgeprägte akute Phase bemerkt wird. In Deutschland wurden im Jahr 2001 dem Robert Koch-Institut (RKI) 8.635 HCV-Infektionen gemeldet, in den Jahren davor waren es jeweils rund 6.000 Fälle von „übrigen Hepatitisformen außer Hepatitis A und B“. Vermutlich ist die große Mehrzahl dieser „übrigen“ Fälle auf HCV zurückzuführen. In der Statistik wird nicht unterschieden, ob es sich um eine neu diagnostizierte, aber seit langem bestehende Infektion, oder tatsächlich um eine frische Infektion handelt. Es wird geschätzt, dass nur der kleinere Teil der gemeldeten Fälle eine akute Hepatitis C darstellt. Unter 14.221 im Berichtssystem zur Erfassung positiver Virusbefunde der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e. V. und des RKI von 1996 bis 2001 dokumentierten Nachweisen einer Hepatitis-C-Infektion wurden nur 10% (1.360/14.221) aufgrund klinischer und epidemiologischer Anhaltspunkte

vom Labor als akute Infektion eingeordnet (Epidemiologisches Bulletin Nr. 24/2002, S. 198). Es fehlt eine diagnostische Methode, die es erlaubt, akute von chronischen Infektionen zu unterscheiden, wenn nicht eine Serokonversion beobachtet wurde, sondern von Anfang an Anti-HCV-positiv war. IgM-Anti-HCV liegt sowohl bei der akuten als auch der chronischen Infektion vor. Quantitative Bestimmungen des IgM-Anti-HCV, die möglicherweise eine Unterscheidung erlauben könnten, sind nicht verfügbar. Wegen dieser Problematik schreibt das Infektionsschutzgesetz die Meldung jeder erstmalig diagnostizierten HCV-Infektion vor. In den alten Bundesländern ist die gemeldete Inzidenz mit 4 bis 12 Fällen pro 100.000 Einwohner und Jahr wesentlich höher als in den neuen Bundesländern (1 bis 2 pro 100.000). Die Inzidenz ist bei Kindern unter 15 Jahren sehr gering ( $<0,1$ ), sie steigt dann auf Werte um 10 bei den 15- bis 44-Jährigen und fällt bei den Älteren auf Werte um 4 (Epidemiologisches Bulletin Nr. 28/2000). Die Seroprävalenz beträgt nach einer Schätzung aus dem Jahr 1998 0,4% bei den 18- bis 79-Jährigen unter Ausschluss von bestimmten Hochrisikogruppen [16]. In einer weiteren Studie an 18- bis 80-Jährigen wurde eine Prävalenz von 0,63% (0,42 bis 0,84) bestimmt, mit einer gewissen Häufung bei Älteren und Frauen [17]. Weltweit reicht die von der WHO berichtete Prävalenz [18] von 0% in Zambia bis 18,1% in Ägypten. Benachbarte Länder können sehr unterschiedliche Prävalenz aufweisen, z. B. Ägypten 18,1%, Sudan 3,2%, Äthiopien 0,8%. Niedrig durchsucht sind Skandinavien ( $<0,1\%$ ) und das Vereinigte Königreich (0,1%), relativ hoch die USA mit 1,8%. Die Zahlen der WHO mögen jedoch fehlerhaft sein, da z. B. für Deutschland 0,1%

angegeben wird, obwohl neuere Studien [16, 17] aus Deutschland 0,4 bis 0,6% berichten. Weltweit schätzt man, dass 3% der Bevölkerung, d. h. 170 Millionen, infiziert sind. In Europa, Japan und den USA hat HCV als Hauptursache für Leberkrebs das HBV abgelöst.

Es gibt zahlreiche Studien zu den möglichen Übertragungswegen für HCV mit zum Teil stark divergierenden Ergebnissen (Übersicht in [19]). In Deutschland geben Laufs et al. 1994 [20] bei Probanden aus dem Hamburger Raum als Infektionsrisiken bei 24% i.v.-Drogengebrauch, bei 13% Gefangenschaft, nur bei 5% Transfusion, bei 5% Hämophilie, bei 4% Dialyse und bei 1% medizinische Tätigkeiten an. Bei 48% wurde keines dieser Risiken genannt. Bei einer Studie von Heintges et al. [21] an über 1.000 Patienten der Düsseldorfer Universitätsklinik mit Zeichen einer HCV-bedingten Lebererkrankung wurden bei 30% Blutprodukte, bei 14% i.v.-Drogengebrauch, bei 6% medizinische Tätigkeit, bei 4% Homosexualität und bei 3% heterosexuelle oder Familienkontakte angegeben. Wiederum wird bei 44% keiner dieser Risikofaktoren genannt. Ein Vergleich dieser beiden Studien zeigt, dass bei Kollektiven mit unterschiedlichem Untersuchungsanlass divergierende Häufigkeiten von Risikofaktoren gefunden werden. Ein Grund für den großen Anteil „unbekannter“ Risiken ist, dass, wie im Vergleich der beiden genannten Studien erkenntlich, immer nur nach einem Teil der mutmaßlichen Risikofaktoren gefragt wird: Bei der Studie von Laufs gehen sexuelle und Familienkontakte in den Anteil mit unbekanntem Risiko ein. Bei Heintges et al. sind es Personen, die evtl. früher im Gefängnis waren. Eine sehr eingehende statistisch fundierte Sentinel-Studie aus den USA findet i.v.-Drogenkonsum bei 60% der HCV-Infizierten als Risikofaktor, 10% Blutprodukte, 15% sexuelle Promiskuität, 5% andere Ursachen, z. B. nosokomiale Infektionen, und nur 10% unbekannte Faktoren [22]. Eine Untersuchung an HCV-positiven Blutspendern des Amerikanischen Roten Kreuzes [23] ergab folgende Risikofaktoren: i.v.-Drogengebrauch bei 42% (OR 12,5), sexuelle Promiskuität bei 53%, intranasaler Kokainkonsum bei 68%, selbst erhaltene Bluttransfusion bei 27%, wobei Mehrfachnennungen häufig waren. Auch Ohrlochstechen bei Männern wurde als ein statistisch signifikanter Risikofaktor

gefunden, nicht aber Tätowierung, Gefängnisarrest, Nadelverletzungen bei medizinischem Personal oder Akupunktur. 75% der HCV-positiven Spender hatten von parenteralen Expositionen berichtet. Überraschend war der hohe Anteil der i.v.-Drogenbenutzer, da danach bereits vor Zulassung zur Spende als Ausschlusskriterium gefragt worden war. In einer französischen Studie aus den Jahren 1994 bis 1996 berichteten in Interviews 27% der Anti-HCV-positiven Spender i.v.-Drogengebrauch, 26% selbst erhaltene Transfusionen und 33% verschiedene invasive Eingriffe (Operationen, Endoskopie, Tätowierung und Akupunktur). Genotyp 1b war mehr mit Transfusionen, Genotyp 3 mehr mit i.v.-Drogengebrauch assoziiert [24].

Stark divergent sind die Untersuchungen zur Bedeutung sexueller Übertragung. Zwei Studien in Deutschland belegen, dass HCV-positive Männer [25] oder HCV-positive Frauen [26] fast nie HCV auf ihre Sexualpartner übertragen, obwohl andererseits sexuelle Promiskuität mit einem erhöhten HCV-Risiko verbunden ist [22]. Eingehende andere Studien zeigen jedoch, dass bei Paaren, zwischen denen eine HCV-Übertragung stattgefunden hat, auch parenterale Übertragungsrisiken vorlagen [27].

In der alternativen Medizin wurden Ozon-Eigenblut-Therapien [28] und auch Akupunktur [29] als Übertragungsweg beschrieben. HCV-Übertragungen von medizinischem Personal auf Patienten bei invasiven Eingriffen sind insgesamt sehr selten, aber bei Missachtung von Hygieneregeln [30], wie z. B. bei Herzoperationen [31] und bei gynäkologischen Operationen, beschrieben worden [32]. Insgesamt muss davon ausgegangen werden, dass der parenterale Weg über Blutspuren der weitaus wichtigste ist. Es gibt keine Hinweise auf Übertragung durch blutsaugende Gliederfüßler, Lebensmittel, Schmierinfektionen oder Aerosole.

## 1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

### 1.4.1 Nachweis von HCV-spezifischen Antikörpern

Nach der Entdeckung des HCV-Genoms 1988 wurde bereits 1990 in den entwickelten Ländern ein Enzymimmunoassay (EIA) zum Nachweis eines Antikörpers

gegen ein rekombinantes HCV-Nichtstrukturprotein C100 vom Genotyp 1a eingeführt, das die Bereiche NS3/4 des HCV-Genoms teilweise abdeckte. Dieser EIA-Test der 1. Generation entdeckte nur etwa 65 bis 85% aller Anti-HCV-positiven Personen und versagte oft in der Frühphase sowie bei anderen Genotypen als 1. Auch betrug die Zeitspanne vom Tag der Infektion bis zum Positivwerden des Tests (diagnostisches Fenster) mitunter viele Monate. Zudem war die Quote der unspezifisch positiven Befunde schon bei gesunden Normalpersonen mit rund 0,4% relativ hoch. In der klinischen Diagnostik oder bei Verwendung von mehrfach eingefrorenen Seren war die Unspezifität noch höher. Der Test wurde schrittweise durch Hinzunahme des Core-Proteins (2. Generation) und des NS5-Proteins (3. Generation) in Empfindlichkeit und Spezifität deutlich verbessert. Die Dauer des „diagnostischen Fensters“ beträgt zurzeit im Mittel 80 Tage. Anti-HCV-Tests für das Blutspendescrining müssen heute eine Spezifität von mindestens 99,5% aufweisen (s. auch [www.pei.de/ivd/cts.htm](http://www.pei.de/ivd/cts.htm)).

Zur Bestätigung eines positiven Screeningergebnisses werden einzelne HCV-Antigene auf Membranen eingesetzt (RIBA, Immunblot u. Ä.), wobei mindestens 2 der Antigene mit einem Serum reagieren müssen, um das Ergebnis als „bestätigt positiv“ werten zu können. Bei nur einem reaktiven Protein (oft Core-Protein) ist das Ergebnis unentschieden.

### 1.4.2 Nachweis von HCV-RNA

Heute wird in der klinischen Diagnostik bevorzugt der hochempfindliche Nachweis der HCV-RNA mittels Nukleinsäure-Amplifikations-Technologie (NAT) zur Abklärung des Anti-HCV-Befundes eingesetzt und nur bei negativem Ausfall der NAT der Membran-EIA (z. B. RIBA) verwendet.

Als NAT wird die PCR nach reverser Transkription (RT) der viralen RNA verwendet, daneben auch die Ligase-Kettenreaktion und das isotherme Verfahren der Transcription Mediated Amplification (TMA). In der ersten Hälfte der 90er-Jahre war die NAT bei schwankender Qualität der Durchführung in vielen Laboratorien zunächst noch stark fehlerbehaftet. Durch verbesserte Reagenzien und Testbedingungen sowie

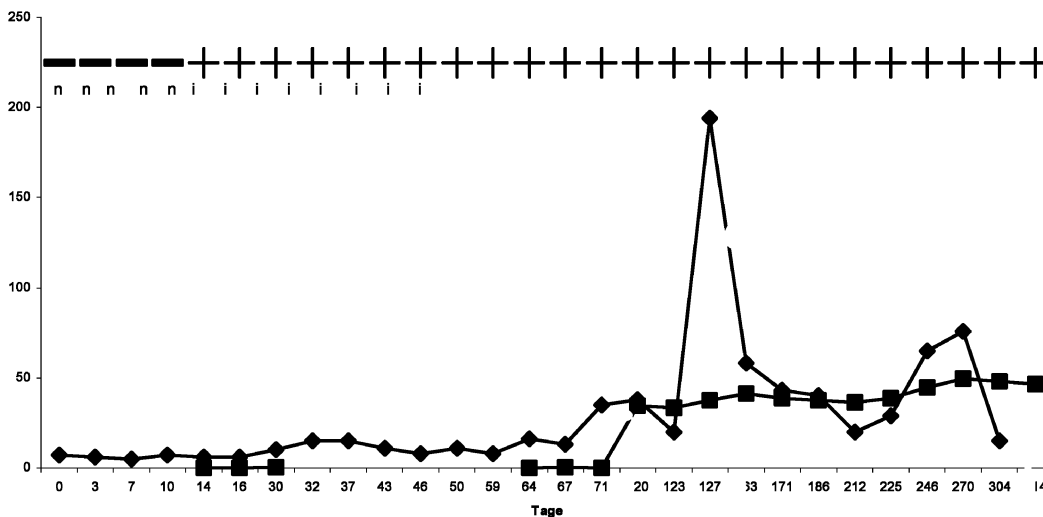


Abb. 3 ▲ Verlauf einer HCV-Infektion bei einem Plasmapheresespende (nach Humpe et al. 2000). Die Zeitskala reiht die Zeitpunkte der Spende bzw. Probenahme nicht linear aneinander. ◆ ALT IU/l; ■ Anti-HCV, Verhältnis Signal zu Cutoff  $\times 10$ ; + NAT-positiv; - NAT-negativ (bei 50 IU/ml Nachweisgrenze); n Plasma wurde verabreicht, aber der Empfänger nicht infiziert; i der Empfänger wurde infiziert. Die Untersuchungen wurden retrospektiv durchgeführt, nachdem bei Wechsel des Anti-HCV-Testkits sich ein Versagen des ursprünglich verwendeten Testkits bei diesem Spender herausgestellt hatte. Testung auf HCV-RNA bzw. Quarantäne wegen ALT-Erhöhung war damals nicht vorgeschrieben

Antigen entspricht etwa 8.000 IU/ml (C.G. Schüttler et al., eingereicht).

#### 1.4.4 Verlauf einer HCV-Infektion und deren diagnostische Erfassung

In der Inkubationszeit und der frühen akuten Phase kann die Infektion nur durch Bestimmung der HCV-RNA oder des HCV-Core-Antigens erkannt werden, wobei je nach Empfindlichkeit der Tests und dem individuellen Verlauf das Core-Antigen einige Tage bis Wochen später positiv werden kann. Bald nach Erscheinen der ersten Transaminasenerhöhung ist auch mit dem Auftreten von Anti-HCV zu rechnen, jedoch gibt es hier große individuelle Unterschiede. Der Anti-HCV-Test versagt nach Ablauf der akuten Phase bei immunkompetenten Personen nur sehr selten [34], jedoch wurde ein Zwischenfall bei einem Plasmapheresespende beobachtet, der mindestens 254 Tage nach HCV-Infektion mit einem bestimmten, nicht mehr im Handel befindlichen Testkit negativ blieb, was zur Infektion von 9 Patienten führte [35]. Hier, wie bei 2 weiteren Literaturberichten über verzögerte Entdeckung des Anti-HCV, lag der Genotyp 3 vor. Das Auftreten der diagnostischen Parameter HCV-RNA, ALT und Anti-HCV ist in Abb. 3 am Beispiel dieses serokonvertierten Plasmapheresespenders gezeigt.

Bei Versuchen in Schimpansen mit i.v.-Inocula von mehreren ml hochinfektiösem Plasma wurde bereits nach wenigen Tagen HCV-RNA mittels NAT nachweisbar [36]. Auch bei Patienten, die HCV-positive Blutprodukte erhalten hatten, wurde schon 1 bis 2 Wochen nach Exposition HCV-RNA nachweisbar und erreichte Werte von  $10^5$  bis  $10^7$  HCV-RNA

strikte interne und externe Qualitätskontrollen erweist sich die NAT heute als ein Test von sehr hoher Spezifität und Sensitivität und speziell im Blutspendewesen als signifikante diagnostische Verbesserung. Durch die Einführung der NAT zur zusätzlichen Kontrolle von Plasma zur Fraktionierung wird die Voraussetzung geschaffen, durch die Begrenzung der Viruslast im Fraktionspool eine messbare Sicherheitsreserve für die validierten Virusinaktivierungs- und Entfernungverfahren im Herstellungsprozess für Plasmaderivate zu erzielen. Für die objektivierbare externe Qualitätskontrolle stehen verschiedene Referenzpräparate mit definierten HCV-RNA-Gehalten zur Verfügung. Der Gehalt dieser Referenzpräparate an HCV-RNA-Molekülen (deren Zahl in erster Näherung der Zahl an HCV-Partikeln entspricht) wird je nach Testverfahren oft in „copies“/ml oder Genomäquivalenten/ml angegeben. Da keine völlige Übereinstimmung zwischen den Verfahren besteht, ist bei quantitativen Angaben die seit 1999 geltende Internationale Einheit (IU) zu verwenden [33]. Eine IU entspricht vermutlich 3 „copies“ aus der PCR-Methode Amplicor-Monitor bzw. 5 „genome equivalents“. Letzterer Wert wurde durch ein weniger sensitives, aber evtl. etwas genaueres Nukleinsäure-Hybridisierungsverfah-

ren (bdNA) bestimmt. Im Prinzip können im zur Amplifizierung verwendeten Probenextrakt einzelne HCV-RNA-Moleküle nachgewiesen werden. In der Praxis ist die Nachweispflichtigkeit durch das Probenvolumen und die testtechnische Probenaufarbeitung begrenzt. Typischerweise können 100 IU/ml mit NAT-Verfahren sicher nachgewiesen werden. Die Anforderungen zur NAT-Testung für HCV sind in der Europäischen Richtlinie CPMP/BWP/269/95 rev 3 festgeschrieben.

#### 1.4.3 Nachweis von HCV-spezifischem Core-Protein

Auch in Form des viralen Core-Proteins können HCV-Partikel mittels eines hochempfindlichen ELISA nachgewiesen werden. In einer 1. Generation dieses HCV-Core-ELISA konnte das Core-Antigen nur in Abwesenheit von Anti-HCV, also in der Frühphase der Infektion, nachgewiesen werden. Mit einer 2. Generation des Tests ist dieser Nachweis auch in Gegenwart von Anti-HCV möglich. Die HCV-Core-Antigenmenge korreliert annähernd mit der Zahl der HCV-RNA-Moleküle bei großen individuellen Unterschieden von Probe zu Probe; qualitativ stimmen die Ergebnisse zwischen NAT und der 2. Generation des HCV-Core-Antigen-Tests sehr gut überein. Ein Picogramm Core-

„copies“/ml. Nach 4 bis 12 Wochen erschienen klar erhöhte ALT-Werte. Bei niedrigen Dosen mag der Zeitpunkt bis zur ALT-Erhöhung bis zu 15 Wochen betragen. Meist wurde ein scharfer Peak der ALT beobachtet und manchmal auch ein vorübergehendes Verschwinden der HCV-RNA mit der möglicherweise damals noch nicht sehr empfindlichen NAT-Test. Anti-HCV wurde mit dem EIA der 2. Generation bei 4 Schimpansen kurz nach dem ALT-Peak, bei 2 Tieren aber erst 8 Wochen bzw. 15 Wochen später nachweisbar. Von besonderer Bedeutung war ein HCV-haltiges Serum namens H-Strain von einem Patienten mit akuter Hepatitis C, das sehr rasch innerhalb von 4 Wochen einen ALT-Peak in Schimpansen auslöste [8]. Dieses Referenzserum enthielt  $10^{6.5}$  für den Schimpansen infektiöse HCV-Einheiten (CID<sub>50</sub>) pro ml [9]. Empfindliche RT/PCR-Techniken konnten HCV-RNA in dieser Probe mit einem ähnlichen oder sogar höheren Titer nachweisen [37]. Absolute Angaben in Genomzahl/ml sind jedoch wegen der unsicheren Eichung nicht zuverlässig. Eine Woche später war das Serum desselben Patienten nicht mehr infektiös [7].

#### 1.4.5 Zusammenfassung

Nur in sehr seltenen Fällen kann eine einzelne infektiöse Blutspende auch mit hochempfindlicher NAT nicht erkannt werden. In der Spätphase nach Serokonversion kann die NAT auf HCV-RNA evtl. negativ ausfallen. In der chronischen Phase ist praktisch immer Anti-HCV nachweisbar, außer bei Patienten mit geschwächtem oder defektem Immunsystem. Auch HCV-RNA ist hier bei Konzentrationen zwischen  $10^3$  Genomäquivalenten/ml und  $10^8$  Genomäquivalenten/ml Plasma mit NAT praktisch immer nachweisbar. Eine vergleichbare Quantifizierung der NAT-Resultate wird durch die Verwendung der internationalen Standards für HCV-RNA ermöglicht.

## 2 Blut- und Plasmaspender

### 2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Bei Erstspendern bzw. Spendewilligen in Deutschland betrug 2000/2001 die Prävalenz an bestätigt positiven Anti-HCV-Befunden etwa ein Viertel im Vergleich zur Prävalenz in der Gesamtbevölkerung. Der

Anteil der bestätigten Anti-HCV-Serokonversionen bei Mehrfachspendern zeigt in den Jahren 1996 bis 2001 einen signifikant rückläufigen Trend und liegt 2001 bei 1,6/100.000 Spenden [38, 39]. In den USA hat die Prävalenz von 0,63% 1991 auf 0,4% 1996 abgenommen. Die Inzidenz blieb mit 3 pro 100.000 Spenden und Jahr gleich. In Nord- und Mitteleuropa wurden bei ca. 5 Millionen Wiederholungsspendern 1997 durchschnittlich eine Serokonversion unter 620.754 Spenden beobachtet [40]. Spender, die in der NAT positiv und im Anti-HCV-Test negativ waren, wurden bei 12 von 14.717.924 Spenden des DRK seit Einführung der NAT zwischen 1997 und 1999 beobachtet [41].

### 2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Es gelten die Richtlinien der Bundesärztekammer. Als Blut- oder Plasmaspender auszuschließen sind Personen, bei denen eine HCV-Infektion nachgewiesen wurde, unabhängig davon, ob Krankheitsercheinungen aufgetreten sind. Auch wer eine akute oder chronische Hepatitis ungeklärter Ätiologie hatte oder hat, ist auszuschließen. Personen, die einer Gruppe mit einem gegenüber der Allgemeinbevölkerung deutlich erhöhten Risiko für eine HCV-Infektion angehören oder dieser zugeordnet werden müssen, sind von der Blut- oder Plasmaspende auszuschließen. Eine besonders bedeutsame HCV-Risikogruppe sind Personen mit i.v.-Drogengebrauch.

### 2.3 Spendertestung und Aussagekraft

Vor 1990 war eine gezielte Testung der Spender auf HCV-Infektionen nicht möglich. Ein in Deutschland seit den 60er-Jahren angewandter Surrogatmarker war eine Erhöhung der ALT im Serum. Damit konnten Spenden ausgeschlossen werden, die einen erhöhten ALT-Wert aufwiesen; diese ALT-Erhöhung lässt sich bei vielen Spenden von akut bzw. chronisch infizierten Spendern im zeitlichen Verlauf häufig nachweisen. Wegen der geringen Spezifität des ALT-Screenings werden auch viele nicht infizierte, ansonsten geeignete Spender ausgeschlossen. Zudem können frisch infizierte Spender oder völlig asymptomatische HCV-Träger auf diese Weise nicht erkannt werden. Mit der 1. Generation der Anti-HCV-EIAs wurden ab 1990 ca. 80% aller chronisch infi-

zierten Spender erfasst, bei noch unbefriedigender Spezifität (s. oben). Mit der 2. und 3. Generation werden ab 1992 fast alle chronisch infizierten Träger erkannt, jedoch ist in der akuten Phase das Ergebnis weiterhin unzuverlässig, und in der Frühphase ist es immer negativ, obwohl hier die höchste Virämie vorliegt. Seit April 1999 ist die Testung auf HCV-RNA mittels NAT in Deutschland vorgeschrieben. Wegen der Aufwendigkeit der Testung ist eine Poolung von Proben erlaubt, solange der Nachweis von 5.000 IU/ml für die einzelne Vollblutspende mit 95%iger Sicherheit gewährleistet wird. Seit Einführung der obligaten NAT ist keine HCV-Übertragung durch Blutprodukte bekannt geworden. Frisch gefrorenes, nicht inaktiviertes Plasma erhält eine zusätzliche Sicherheit durch Quarantäne und eine spätere Testung des Spenders auf Anti-HCV und HCV-RNA nach frühestens 4 Monaten.

Obwohl zum Zeitpunkt der Einführung der NAT als zusätzliche Prüfung auf HCV die aus einem Plasmapool hergestellten und einem Virusinaktivierungsverfahren unterworfenen Plasmaderivate als virussicher galten, ist seit Juli 1999 eine Testung jedes Plasmapools auf HCV-RNA vorgeschrieben, wobei bei einer Nachweisgrenze von 100 IU/ml keine RNA nachweisbar sein soll (Europäische Richtlinie CPMP/BWP/269/95 rev 3). Diese Testung trägt durch Begrenzung der hypothetisch möglichen Viruslast dazu bei, dass die Kapazität des Inaktivierungsverfahrens keinesfalls überschritten werden kann und eine messbare Sicherheitsreserve für das Produkt gewährleistet wird.

Zurzeit ist die NAT für den Nachweis von HCV-RNA in Deutschland vorgeschrieben. Alternative Testverfahren auf HCV-Partikel, z.B. ein ELISA auf HCV-Core-Antigen, können für Länder, die die NAT noch nicht eingeführt haben, von Interesse sein.

### 2.4 Spenderbefragung

Gemäß den Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) muss nach früher durchgemachter Hepatitis unklarer Ätiologie gefragt werden. Zum Ausschluss von Personen aus besonderen Risikogruppen (s. 2.2) ist eine sorgfältige Befragung und

Bewertung der Spendewilligen gefordert. Eine weiter gehende Spenderberfragung ist für die Vermeidung von HCV-Übertragungen weitgehend bedeutungslos geworden, da die kombinierte Anwendung von Anti-HCV- und HCV-RNA-Tests eine Verwendung von Spenden HCV-positiver Spender, seien sie nun frisch oder chronisch infiziert, extrem unwahrscheinlich macht.

## 2.5 Spenderinformation und -beratung

Ergibt sich aus der Untersuchung von Blutproben eines Spenders entsprechend den Empfehlungen des Votums 24 des Arbeitskreises Blut ein bestätigt positives oder unbestimmtes Laborergebnis, wird der Spender unverzüglich informiert und zur Klärung des Infektionsverdachts eine Nachuntersuchung in der Spendeinrichtung empfohlen. Ist die Infektion gesichert, hat der verantwortliche Arzt unverzüglich den Spender zu unterrichten. In jedem Einzelfall ist eine für den betroffenen Spender angemessene Aufklärung und Beratung nach Art und Umfang durchzuführen. Ziel der Aufklärung und Beratung ist es, dem Spender deutlich zu machen, dass er

- auf Dauer nicht mehr Blut oder Plasma spenden darf,
- mit Hepatitis-C-Virus infiziert und potenziell infektiös ist,
- einer eingehenden hepatologischen und virologischen Untersuchung bedarf, um spätere Gesundheitsschäden oder Übertragungen auf andere zu vermeiden,
- hepatotoxische Substanzen (z. B. Alkohol, Medikamente) meiden soll.

Die Spendeinrichtung sollte dem Spender behilflich sein, einen in der Betreuung von Virushepatitiden erfahrenen Arzt zu finden.

Auf die Meldepflicht nach § 7 des Infektionsschutzgesetzes und die Pflicht zur Rückverfolgung nach § 19 des Transfusionsgesetzes wird hingewiesen.

## 3 Empfänger

### 3.1 Prävalenz und Inzidenz von blut-assoziierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Vor Einführung des Anti-HCV-Screenings war das Risiko, eine HCV-Infekti-

on durch Blutprodukte zu erwerben, relativ hoch und direkt proportional zur Zahl der verabreichten Spenden. H. Alter [42] berichtet aus einer 30 Jahre währenden Studie, dass die Inzidenz einer Non-A-Non-B-Hepatitis bzw. HCV-Infektion bei Transfusionsempfängern vor 1970 in den USA rund 30% betrug, und danach durch den Ausschluss von finanziell motivierten Risikospendern auf ca. 5% abfiel. Diese Inzidenz wurde durch die Surrogat-Tests auf ALT und Anti-HBc sowie Maßnahmen zur HIV-Prävention auf 3,5% verringert. Erst der Anti-HCV-Test brachte eine Senkung auf zunächst 1% und schließlich ein Verschwinden der HCV-Infektionen ab 1995 in diesem Studienkollektiv.

Von 1995 bis 2000 wurden dem Paul-Ehrlich-Institut insgesamt 1.176 Verdachtsfälle von HCV-Übertragungen durch Blutkomponenten gemeldet, bei 102 Fällen davon wurde auf der Basis positiver Rückverfolgungsverfahren ein Kausalzusammenhang als wahrscheinlich bewertet. 43 der wahrscheinlichen Übertragungen erfolgten vor, 59 Fälle nach Einführung des Spenderscreenings auf Anti-HCV. Seit Einführung der obligaten HCV-NAT in das Blutspender-screening wurden keine Übertragungen mehr berichtet.

Ob die Empfänger von zellulären Blutprodukten bzw. nicht virusinaktiviertem Frischplasma eine signifikant höhere Prävalenz als die Durchschnittsbevölkerung aufweisen, ist nicht untersucht, jedoch ist dies bei Transfusionen vor 1992 zu erwarten. Bei einer Prävalenz von mindestens 0,15% unter den Spendern dürfte die Chance, damals eine HCV-Infektion zu erwerben, je nach Zahl der Transfusionen, z. B. 3 bis 30, mindestens 0,45 bis 4,5% betragen haben.

Aus Plasmapools von einem großen Spenderkollektiv nach dem Kälte-Ethanol-Verfahren hergestellte intramuskuläre und intravenöse Immunglobuline sowie stabilisierte, nach dem Gellisverfahren 10 Stunden auf 60°C erhitzte Albuminlösungen sind klassische Plasma-proteinpräparationen mit hoher HCV-Produktsicherheit.

Vor der Einführung spezieller Produktionsschritte zur Virusinaktivierung im Zuge der Herstellung von Gerinnungsfaktorenkonzentraten in den 80er-Jahren bestand ein hohes Risiko einer Übertragung der sog. Hepatitis-Non-A-

Non-B. Daher sind damals fast alle dauernd substituierten Empfänger von nicht aktivierten Gerinnungspräparaten mit HCV infiziert worden. Die in den 80er-Jahren eingeführten spezifischen Virusinaktivierungsverfahren führten zu einer neuen Produktgeneration, die zum Zeitpunkt der Identifizierung von HCV 1988 und der Entwicklung der Anti-HCV-Spenderkontrolle bereits als HCV-sicher eingestuft wurden.

Tausende HCV-Übertragungen waren im Rahmen der Rhesusunverträglichkeitsprophylaxe mit bestimmten Chargen von Anti-D-Immunglobulinen Ende der 70er-Jahre in Deutschland [26] und in Irland [43] aufgetreten, wobei hier das Immunglobulin besonders schonend unter Weglassung der Kälte-Ethanol-Fraktionierung hergestellt wurde.

Ab Anfang 1992 wurden Plasmaspender weltweit auf Anti-HCV untersucht und positive Spenden nicht verwendet. Bald darauf wurden rund 200 HCV-Übertragungen durch ein intravenös appliziertes Immunglobulinpräparat beobachtet, von dem vorher keine gehäuften Übertragungen berichtet wurden. Wie sich nachträglich herausstellte, befanden sich unter den Spendern für die verwendeten Plasmapools viele Personen mit einer frischen HCV-Infektion, die noch kein Anti-HCV, aber viel HCV-RNA aufwiesen. Dadurch erhielten die Plasmapools trotz des Ausschlusses von Anti-HCV-positiven Spendern sehr viel HCV-RNA [44]. Seitdem wurde auch für Immunglobuline ein effektiver Virusinaktivierungsschritt gefordert. Durch die Einführung der NAT auf HCV-RNA als zusätzliche Plasmakontrolle ab 1995 bzw. durch die behördliche Auflage 1999 auf EU-Ebene, Plasmaderivate aus HCV-RNA-NAT nicht-reaktiven Plasmapools herzustellen, wurde eine weitere Maßnahme umgesetzt, die klinisch beobachtete Produktsicherheit weiter zu festigen (Europäische Richtlinien CPMP/BWP/269/95 rev 3, s. auch CPMP/BPWG/198/95 rev 1, CPMP/BPWG/ 2220/99 und CPMP/BPWG/283/00).

### 3.2 Abwehrlage

Eine natürliche Resistenz gegen HCV scheint es nicht zu geben. In Fällen einer HCV-Infektion, die später ausheilt, ist die akute Hepatitisserkrankung meist stärker ausgeprägt als bei persistierenden Verläufen, und die zelluläre Th1- bzw. CTL-Antwort ist sehr stark. Meist ist die zelluläre

Immunantwort nicht ausreichend, selbst wenn keine Schädigung des Immunsystems, z.B. durch HIV, Immunsuppression oder schwere Grundleiden vorliegt, sodass es in rund 80% der Infizierten zur persistierenden Infektion kommt.

Antikörper gegen die hypervariable Region (HVR) des E2-Hüllproteins können im Prinzip HCV-Isolate neutralisieren, jedoch nur dann, wenn sie eine identische HVR-Sequenz aufweisen. Daher ist die Reinfektion eines Schimpansen mit demselben HCV-haltigen Plasma möglich, wenn mehrere HVR-Varianten darin vorkommen [45]. Die Infektion mit einem bestimmten HCV-Genotyp schützt nicht vor Superinfektionen mit weiteren Genotypen. Daher werden bei mehrfach exponierten Personen nicht selten mehrere Genotypen nebeneinander gefunden. Bei schwerer Immundefizienz kann eine Anti-HCV-Bildung völlig ausbleiben. Personen mit hereditärer Agammaglobulinämie bei intakter T-Zell-Immunität entwickeln oft rasch progrediente Verläufe [46], sodass ein gewisser Schutzeffekt der HCV-Antikörper anzunehmen ist.

### 3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Die akute Infektion durch Blutprodukte oder Plasmaproteinpräparate ist praktisch nie letal und führt eher selten zu einem schweren ikterischen Verlauf. Das Problem besteht in den Folgen der chronischen Hepatitis und evtl. den extrahepatischen Manifestationen. Als nachteilige Faktoren für einen ungünstigen Verlauf mit hoher entzündlicher Aktivität sowie fortschreitender Fibrose wurden höheres Alter zum Infektionszeitpunkt, männliches Geschlecht und chronischer Alkoholenuss >40 g/d identifiziert [47].

Der Befund einer chronischen Hepatitis C ist mittelfristig nicht mit einer erhöhten Mortalität verbunden, sondern erst dann, wenn das Stadium der Leberzirrhose erreicht ist. Leberversagen und hepatozelluläres Karzinom (HCC) sind dann Haupttodesursachen [48]. In Japan und USA wurde die chronische Hepatitis C im Mittel 10 bis 14 Jahre nach einer Bluttransfusion beobachtet, eine Zirrhose 20 Jahre später und ein HCC 29 Jahre später. Prospektiv wurden bei 4 Studien zur posttransfusionellen akuten Hepatitis C mit Beobachtungszeiten von 8 bis 16

Jahren in 7 bis 16% der insgesamt 341 Patienten eine Zirrhose und bei 1,3 bis 3,7% Leberkrankheit als Todesursache festgestellt [49].

Beiherzoperierten Kindern mit einem mittleren Alter von 3 Jahren entwickelte dagegen nur eines von 67 Anti-HCV-positiven Kindern im Verlauf von 17 Jahren eine Zirrhose, und nur eines hatte erhöhte ALT. 45% dieser Anti-HCV-positiven Kinder waren HCV-RNA-negativ [50].

Auch bei den (jüngeren) Frauen, die durch Anti-D-Gabe infiziert wurden, herrscht ein benigner Verlauf vor. Unter 704 Anti-HCV-positiven Frauen in Irland hatten 20 Jahre nach Anti-D-Gabe nur noch 390 (55%) HCV-RNA im Plasma. Während 55% dieser Frauen leicht bis mäßig erhöhte ALT-Werte hatten, wurde nur bei 7 (2%) eine Leberzirrhose gefunden [43]. In Deutschland wurde 15 Jahre nach Anti-D-Gabe bei keiner von 152 Anti-HCV-positiven Frauen eine chronisch aktive Hepatitis oder Leberzirrhose gefunden [26].

Eine HIV-Koinfektion ist häufig bei älteren Hämophilen und bei i.v.-Drogenabhängigen zu finden. Vor Einführung der antiretroviralen Therapie war die HCV-Infektion für das Überleben der Patienten unbedeutend. Nach Einführung einer erfolgreichen HIV-Therapie ist HCV zunehmend Ursache von Lebererkrankungen mit zum Teil schwerem Verlauf. Die Rekonstitution des Immunsystems bei vorbestehender starker HCV-Infektion könnte hier zum ungünstigen Verlauf durch Immunpathogenese (s. 1.2) beitragen. Daneben dürfte die Hepatotoxizität der HIV-Therapeutika eine Rolle spielen.

Infektionen mit Hepatitis-A-Virus können bei HCV-Trägern fulminant verlaufen [51]. Koinfektionen mit HBV sind häufig, werden aber oft nicht erkannt, weil HCV die Expression des HBV behindert und HBsAg nicht nachweisbar ist [52]. Anti-HBc-positive HCV-Träger sollen häufiger eine Leberzirrhose bzw. ein HCC entwickeln [53].

### 3.4 Therapie und Prophylaxe

Interferon (IFN) alpha wird seit 1986 gegen chronische Hepatitis C eingesetzt und ist seit 1991 hierfür zugelassen. In zahlreichen Studien wurden die Dosis und die Dauer der Therapie optimiert, jedoch ließ sich eine bleibende Heilung über das Ende der Therapie hinaus nur

bei maximal 20% der Patienten erreichen. Die Erfolgsrate war am schlechtesten bei Genotyp 1, der in Europa, Japan und USA vorherrscht.

Versuche mit dem Nukleosidanalogon Ribavirin waren zunächst erfolglos, die Kombination von Interferon mit Ribavirin führte jedoch überraschenderweise zu einem stark verbesserten Erfolg. Bei einer Therapiedauer von einem Jahr mit 3 MU IFN 3-mal wöchentlich und 1.000 bis 1.200 mg Ribavirin täglich lässt sich bei Genotyp 1 zu 33%, bei anderen Genotypen zu 80% eine bleibende Viruselimination erzielen [54]. Eine weitere Verbesserung, insbesondere bei Genotyp 1, bewirkt die Verwendung von Interferon, das mit Polyethylenglykol (PEG) konjugiert ist [55]. Bei Genotyp 2 oder 3 oder bei niedriger HCV-RNA-Anfangskonzentration des Genotyps 1 unter 2.000.000 „copies“/ml genügt eine 24-wöchige anstelle der 48-wöchigen Therapie. Neben den Genotypen 2 oder 3 und der Viruslast sind geringes Alter, weibliches Geschlecht und ein geringer Grad der Fibrose günstige Faktoren.

Die Liste der Gegenanzeigen ist lang:

Psychische und neurologische Erkrankungen, Autoimmunerkrankungen, Alkohol- oder Drogenabusus, Schwangerschaft, nicht kontrollierte Herzkrankheit, Diabetes oder Bluthochdruck bei IFN, Anämie, Hämolyse, Niereninsuffizienz, Gefäßkrankheiten, Gicht und nicht durchführbare Kontrazeption bei Ribavirin.

Ernste Nebenwirkungen der Kombinationstherapie treten nach 24 Wochen bei 20%, nach 48 Wochen bei 26% der Patienten auf und erforderten bei 8 bzw. 21% einen Therapieabbruch oder Dosisverringerung. Bei mehr als 5% werden Fieber, Schüttelfrost, Müdigkeit, Schwäche, Übelkeit und Anorexie beobachtet, des Weiteren Schlaf- und Konzentrationsstörungen, Depression, Kopf- und Muskelschmerz sowie Knochenmarksdepression als Effekt des Interferons. Ribavirin bewirkt zusätzlich Hämolyse, Juckreiz und Übelkeit. Patienten mit dekompensierter Leberkrankheit dürfen nicht therapiert werden.

Angesichts dieser sehr wesentlichen Nebenwirkungen sollen normalerweise nur Erwachsene mit messbarer Virämie, zumindest gelegentlich erhöhten ALT-Werten und histologisch nachgewiesener mäßiger bis schwerer Entzündung



bzw. progredienter Fibrose bei sonst ausreichendem Gesundheitszustand behandelt werden.

Neuere Untersuchungen sprechen dafür, dass eine Interferon-Therapie der akuten Hepatitis C die Persistenzrate drastisch senken kann. Jaeckel et al. [56] fanden in einer nicht kontrollierten Studie bei 43 von 44 frisch infizierten Patienten nach 24-wöchiger Monotherapie mit IFN keine HCV-RNA und normale ALT-Werte. Entsprechend sollte nach vermuteter Exposition die Person für 4 Monate monatlich verfolgt und bei Auftreten von HCV-RNA eine Therapie erwogen werden. Diese Vorgehensweise sollte in kontrollierten prospektiven Studien überprüft werden. Eine prophylaktische Verabreichung von IFN ist nicht empfohlen.

Neue Therapeutika sind wegen der unvollständigen Wirksamkeit und wegen der Nebenwirkungen der verfügbaren Therapie erforderlich. Verschiedene antivirale Substanzen befinden sich in der präklinischen Entwicklung; eine Zulassung solcher Therapeutika ist nicht abzusehen. Gleiches gilt für Impfstoffe gegen Hepatitis C. Gute Schutzeffekte wurden im Schimpansenexperiment mit HCV-E2-Protein als Immunogen bislang nur gegen HVR1-identische Isolate beobachtet [57]. Ein gewisser Schutzeffekt wurde auch mit Immunglobulin gegen HCV-E2-Protein beobachtet [58]. Ein solches Präparat ist aber nicht kommerziell erhältlich.

Die Prophylaxe der HCV-Infektion besteht zurzeit im Wesentlichen in einer Expositionsprophylaxe:

a) Identifizierung von HCV-infizierten Personen

- bei Blut, Organ- und Gewebespenden,
- bei Patienten vor großen chirurgischen Eingriffen,
- bei medizinischem Personal, das Übertragungsträchtige Eingriffe durchführt,
- bei Therapie mit bekannt hohem Übertragungsrisiko (z. B. Hämodialyse),
- bei i.v.-Drogenabhängigen,
- nach Eingriffen mit evtl. HCV-kontaminierten Instrumenten (z. B. Tätowierung, Piercing).

b) Strikte Hygiene bei allen invasiven, auch geringfügigen invasiven Eingriffen

- in der Schulmedizin,

- der Alternativmedizin (z. B. Ozon-Eigenblut-Therapie),
- außerhalb der Medizin (z. B. Tätowierung),
- insbesondere bei i.v.-Drogengebrauch.

c) Verstärkte Aufklärungsarbeit über mögliche Übertragungswege, speziell bei Hochrisikogruppen und hier insbesondere bei i.v.-Drogenabhängigen.

### 3.5 Übertragbarkeit

Die Übertragungswahrscheinlichkeit im außermedizinischen Alltag, aber auch bei intimen Kontakten ist sehr gering bis gering. HCV-RNA-positive Mütter (meist i.v.-drogenabhängig) übertragen zu etwa 5% das Virus auf ihre Kinder [59]. Von 160 durch Anti-D infizierte Mütter infizierten nur 2 ihre Kinder und keine ihren Ehegatten. Brackmann et al. fanden bei 141 Anti-HCV-positiven Hämophilen unter 228 Haushaltsmitgliedern nur einmal Anti-HCV und keinen Hinweis auf sexuelle Übertragbarkeit [25]. Unter männlichen Homosexuellen wurde HCV nicht häufiger als bei heterosexuellen Vergleichspersonen gefunden. Die gelegentlich beobachtete erhöhte Prävalenz von HCV bei Personen mit risikobehaftetem Sexualverhalten scheint durch gleichzeitig vorliegende andere Risiken verursacht zu sein [27]. Dennoch wird HCV-Trägern empfohlen, ungeschützten Geschlechtsverkehr mit wechselnden Partnern zu vermeiden.

### 3.6 Häufigkeit der Applikation sowie Art und Menge der Blutprodukte

In der Zeit vor 1990 war das Risiko, eine HCV-Infektion zu erwerben, annähernd proportional zur Zahl und Menge der nicht oder nicht ausreichend inaktivierten Blutprodukte. Die Dosis an HCV mag evtl. eine Rolle für den Verlauf der Erkrankung spielen, insbesondere aber auch der Genotyp 1, der in Blutprodukten und Plasmaproteinpräparaten vorherrschte. Es gibt Vermutungen, dass eine durch Bluttransfusion übertragene HCV-Infektion von vornherein einen schweren Verlauf nehmen könnte, jedoch lässt sich dieser Einflussfaktor nicht klar von Alter und Grunderkrankungen der Empfänger abgrenzen. Koinfektionen mit HIV bei Empfängern von Gerinnungspräparaten sind besonders nachteilig. Bei Kindern (s. oben) schei-

nen zahlreiche Bluttransfusionen mit z. T. HCV-kontaminierten Präparaten nicht zu einem schweren Verlauf führen.

## 4 Blutprodukt

### 4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Die höchsten HCV-Titer enthält Blut bzw. Plasma aus der Inkubationszeit mehrere Wochen nach Infektion und noch vor dem ersten ALT-Anstieg. Dieses Infektionsstadium kann durch den Nachweis von Viruskomponenten, HCV-RNA oder HCV-Core-Antigen, erkannt werden. Infektionstiter bis  $10^{6,5}$ /ml wurden hier nachgewiesen sowie Genomzahlen bis in die Nähe von  $10^8$ /ml [6, 7]. In der Anti-HCV-positiven Phase scheinen Infektiositätstiter und Genomzahl im Plasma nicht mehr eindeutig zu korrelieren. Die Genomzahlen erreichen oft weiterhin Werte über  $10^6$ /ml, die Infektiositätstiter lagen aber bei den wenigen durchgeführten Schimpansenexperimenten unter  $10^3$ /ml. Vermutlich enthält das Anti-HCV-positive Plasma meistens auch neutralisierende Antikörper, die die Infektiosität herabsetzen, wenn auch nicht völlig beseitigen.

HCV-RNA-negative Spenden, die dennoch infektiös sind, sind extrem selten. In einem publizierten Fall enthielt das Plasma eines später serokonvertierten Spenders unter 10 Genome/ml. Das aus der gleichen Spende hergestellte Thrombozytenkonzentrat war infektiös, das Erythrozytenkonzentrat dagegen nicht [60]. Eine Begrenzung der Nachweisempfindlichkeit für HCV-RNA auf gegenwärtig 5.000 IU/ml (ca. 20.000 HCV-Genome/ml) in der einzelnen Vollblutspende erscheint vertretbar, da der Anstieg vom nichtinfektiösen Bereich zum hochvirämischen Bereich sehr rasch erfolgt und die somit verbliebene diagnostische Lücke höchstens wenige Tage beträgt. Das Restrisiko wird zurzeit auf ca. 1:1.000.000 (95%-Konfidenzintervall 1:500.000 bis 1:2.000.000) in Deutschland für nicht inaktivierte Blutprodukte geschätzt. Aus Plasma zur Fraktionierung hergestellte Plasmaderivate können nach Einführung der produktspezifischen Virusinaktivierungsverfahren, zusätzlich unterstützt durch HCV-NAT-Testung am Plasmapool, heute als virussicher gelten.

## 4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

HCV hat eine lipidhaltige Virushülle und kann daher durch Verfahren, die die Virushülle angreifen, wie das Solvent-Detergens-Verfahren, zerstört werden. HCV ist auch nicht stabil gegen Hitze und kann daher durch Pasteurisierung (10 h bei 60°C in Lösung) oder bei der bevorzugt feuchten Hitzebehandlung des lyophilisierten Produktes (z. B. Dampfbehandlung bei 7 bis 8% H<sub>2</sub>O für 10 h bei 60°C oder Hitzebehandlung des Endproduktes, z. B. 72 h bei 80°C oder 30 min bei 100°C) inaktiviert werden.

Ethanol dagegen, das zur Fraktionierung von Immunglobulin aus Plasma in niedrigen Konzentrationen eingesetzt wird, inaktiviert unter den angewendeten Bedingungen das Virus nicht.

Die Inaktivierung von HCV durch physikalische oder chemische Verfahren ist im Allgemeinen nur durch Vergleich mit Modellviren belegt, da es keine praktikablen Systeme zum Nachweis der HCV-Infektiosität gibt.

HCV-RNA ist in Leukozyten nachgewiesen worden. Ob jedoch dieses zellgebundene HCV infektiös ist, ist unbekannt. Ein Nutzen der Leukozytendepletion für die Entfernung von HCV ist nicht bekannt.

## 4.3 Praktikabilität und Validierbarkeit der Verfahren zur Elimination/ Inaktivierung von Infektionserregern

Zellkultursysteme oder einfache Versuchstiere zum Nachweis der Infektiosität von HCV gibt es nicht. Dagegen vermag der Schimpanseninfektionsversuch Infektiosität empfindlich nachzuweisen. In Einzelfällen ist dieser Test zur Validierung von Inaktivierungsverfahren eingesetzt worden, jedoch ist wegen des limitierten Titers des nicht behandelten Vergleichsmaterials der nachweisbare Reduktionsfaktor eher gering (<10<sup>5</sup>).

Zur Prüfung von Verfahren auf ihre Kapazität zur Abtrennung oder Inaktivierung von HCV müssen daher Modellviren eingesetzt werden. Am ähnlichsten zu HCV erscheint zurzeit das Virus der bovinen viralen Diarrhoe (BVDV), weswegen es vorzugsweise als Modellvirus verwendet wird. Aber auch Togaviren haben eine gewisse strukturelle Ähnlichkeit mit HCV und können für die Va-

lidierung eingesetzt werden, wenn belegt ist, dass sie in den Verfahrensschritten stabiler als BVDV sind. Dieses wurde z. B. beim Solvent-Detergens-Verfahren gezeigt, wo *Togaviren*, z. B. *Sindbis-Virus*, eine höhere Stabilität als BVDV haben. Da bisher HCV nicht in der Zellkultur vermehrt werden kann, ist ein direkter Vergleich der Eigenschaften von HCV mit den verschiedenen Modellviren noch nicht möglich.

In besonderen Fällen, z. B. zur Untersuchung der Verteilung von HCV bei der Isolierung von Plasmaproteinen durch Präzipitation oder Chromatographie, kann der HCV-Nachweis mittels NAT sinnvoll sein. NAT könnte auch dann zur Validierung eingesetzt werden, wenn die Inaktivierung durch Reaktion mit der Nukleinsäure erfolgt und eine Korrelation zwischen der Verminderung der Infektiosität mit der Verminderung der nachweisbaren Menge des intakten Virusgenoms besteht. Eine Korrelation ist nicht gegeben, wenn die Inaktivierung bevorzugt an der Proteinhülle des Virus angreift, wie es bei der Solvent-Detergens-Behandlung und Hitzeinaktivierung der Fall ist.

## 5 Bewertung

Historisch gesehen, war Hepatitis Non-A-Non-B ein bekanntes, aber nur schwer zu lösendes Problem in der Behandlung mit Blutprodukten und Plasmaproteinkonzentraten. HCV wurde 1988 nach vielen erfolglosen Bemühungen entdeckt. Ab 1990 stand mit dem Anti-HCV-Test eine spezifische Methode zur Erkennung von HCV-Trägern zur Verfügung, und bis dahin haben Blutprodukte in Deutschland wesentlich zur HCV-Prävalenz beigetragen. Der genaue Anteil der vor 1990 verabreichten HCV-haltigen Blutprodukte und Plasmaderivate an der Entstehung der Gesamtprävalenz in Deutschland von ca. 0,5% ist nicht bekannt. Seit 1990 ist das Risiko, eine transfusionsassoziierte HCV-Infektion zu erwerben, durch Spenderscreening auf Anti-HCV, später auch auf HCV-RNA von >1:500 auf ca. 1:1.000.000 gesenkt worden.

Plasmapräparate (außer Albumin) waren vor 1980 zum Teil erheblich mit HCV belastet. Durch produktspezifische Entwicklung von Virusinaktivierungsverfahren wurde die Sicherheit der durch Plasmafraktionierung hergestellten Proteopräparate im Laufe der 80er-Jahre

kontinuierlich verbessert. Heute sind Plasmaproteinpräparate sicher hinsichtlich HCV durch die Anwendung validierter Virusinaktivierungs- und Virusentfernungsverfahren, unterstützt durch das Spenderscreening auf Anti-HCV und die HCV-NAT-Testung am Plasmapool.

Die Mehrzahl der HCV-Infektionen in Deutschland und weltweit ist nicht auf Blutprodukte oder Plasmaproteinpräparate zurückzuführen. Mangelnde Kenntnis geeigneter Hygienevorschriften bzw. deren Nichteinhaltung bei Injektionen und anderen Eingriffen haben in einigen Weltregionen sehr zur Verbreitung von HCV beigetragen und führen auch heute noch vereinzelt zu Übertragungen. Perkutane Eingriffe und Injektionen außerhalb der Medizin, speziell bei i.v.-Drogengebrauch, wurden sehr häufig mit unsterilen Instrumenten vorgenommen und stellen weiterhin ein Problem dar.

Die Inzidenz der akuten HCV-Infektion in Deutschland ist trotz der namentlichen Meldepflicht nicht bekannt, da eine klare Unterscheidung frischer und länger zurückliegender Infektionsereignisse nur dann möglich ist, wenn eine kürzlich erfolgte Serokonversion nachgewiesen werden konnte, was sehr selten der Fall ist. Die ungefähr 5.000 heute diagnostizierten und gemeldeten HCV-Infektionen pro Jahr in Deutschland beruhen vorwiegend auf Infektionsereignissen in der Vergangenheit. Diagnostische Methoden zur Unterscheidung frischer und zurückliegender HCV-Infektionen wären wünschenswert.

Die Kombinationstherapie der chronischen Hepatitis C mit Interferon und Ribavirin ist so weit entwickelt worden, dass etwa bei der Hälfte der behandlungsbedürftigen Patienten eine Viruselimination erreicht werden kann. Jedoch ist die Therapie teuer und mit wesentlichen Nebenwirkungen verbunden. Es gibt Hinweise, dass bei akuter Hepatitis C eine Persistenz durch Interferonmonotherapie weitgehend vermieden werden kann. Die zuverlässige Erkennung einer erfolgten HCV-Übertragung nach vermuteter Exposition ist daher bedeutsam.

Impfstoffe und wirksamere Arzneimittel gegen HCV werden dringend benötigt, sind jedoch nicht verfügbar. Somit ist die Expositionsprophylaxe durch strikte Einhaltung der Hygienevorschriften von höchster Bedeutung. Eine vollständigere Identifizierung von HCV-infizierten Personen in allen relevanten

Bereichen sowie die gezielte Aufklärung des medizinischen Personals und von Risikogruppen, insbesondere i.v.-Drogenabhängigen, über die Übertragungswege könnten die heute noch bestehenden Übertragungshäufigkeit verringern.

Dieses Papier wurde fertig gestellt am 17.6.2002 und vom Arbeitskreis Blut am 6.11.2002 verabschiedet. Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergruppe „Bewertung Blut-assoziiertes Krankheitsereignis“ des Arbeitskreises Blut:

Prof. Dr. Reinhard Burger, Prof. Dr. Wolfram Gerlich, Prof. Dr. Lutz Gürtler, Dr. Margarethe Heiden, Dr. Walter Hitzler, Prof. Dr. Bernd Jansen, Dr. Horst Klamm, Dr. Hans Lefèvre, Prof. Dr. Johannes Löwer, Prof. Dr. Wolf-Dieter Ludwig, Dr. Thomas Montag-Lessing, Dr. Ruth Offergeld, Dr. Arnold Paessens, Prof. Dr. Georg Pauli, Prof. Dr. Rainer Seitz, Dipl.-Med. Uwe Schlenkrich, Dr. Edgar Werner, Dr. Hannelore Willkommen.

## Literatur

- Heinz F, Collett M, Purcell RH (2000) In: van Regenmortel et al. (eds) *Virus Taxonomy 7th. Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Academic Press, San Diego, pp 867–878
- Lindenbach B, Rice C (2001) In: Knipe D, Howley P (eds) *Fields virology*. Williams & Wilkins, Lippincott Philadelphia, pp 991–1125
- Lohmann V, Korner F, Koch J et al. (1999) Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science* 285:110–113
- Pietschmann T, Lohmann V, Kaul A et al. (2002) Persistent and transient replication of full-length hepatitis C virus genomes in cell culture. *J Virol* 76:4008–4021
- Simmonds P (1999) Viral heterogeneity of the hepatitis C virus. *J Hepatol* 31:54–60
- Häussinger D, Niederau C (2001) *Hepatitis C*. Blackwell, Berlin
- Liang T, Hoofnagle J (2000) *Hepatitis C*. Academic Press, San Diego
- Bradley DW (2000) Studies of non-A, non-B hepatitis and characterization of the hepatitis C virus in chimpanzees. *Curr Top Microbiol Immunol* 242:1–23
- Major ME, Feinstone SM (2000) Characterization of hepatitis C virus infectious clones in chimpanzees: long-term studies. *Curr Top Microbiol Immunol* 242:279–298
- Rehermann B (2000) Interaction between the hepatitis C virus and the immune system. *Semin Liver Dis* 20:127–141
- Pape GR, Gerlach TJ, Diepolder HM et al. (1999) Role of the specific T-cell response for clearance and control of hepatitis C virus. *J Viral Hepat* 6 [Suppl 1]:36–40
- Pileri P, Uematsu Y, Campagnoli S et al. (1998) Binding of hepatitis C virus to CD81. *Science* 282:938–941
- Monazahian M, Bohme I, Bonk S et al. (1999) Low density lipoprotein receptor as a candidate receptor for hepatitis C virus. *J Med Virol* 57:223–229
- Scarselli E, Ansuini H, Cerino R et al. (2002) The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus. *EMBO J* 21:5017–5025
- Ramratnam B, Bonhoeffer S, Binley J et al. (1999) Rapid production and clearance of HIV-1 and hepatitis C virus assessed by large volume plasma apheresis. *Lancet* 354:1782–1785
- Thierfelder W, Hellenbrand W, Meisel H et al. (2001) Prevalence of markers for hepatitis A, B and C in the German population. Results of the German National Health Interview and Examination Survey 1998. *Eur J Epidemiol* 17:429–435
- Jilg W, Hottenträger B, Weinberger K et al. (2001) Prevalence of markers of hepatitis B in the adult German population. *J Med Virol* 63:96–102
- Lavanchy D, McMahon B (2000) In: Liang T, Hoofnagle J (eds) *Hepatitis C*. Academic Press, San Diego
- Memon MI, Memon MA (2002) Hepatitis C: an epidemiological review. *J Viral Hepat* 9:84–100
- Laufs R, Polywka S, Feucht H et al. (1994) Was bedeutet der Befund „HCV-Antikörper positiv?“ *Dtsch Arztebl* 91:B 238–B 240
- Heintges T, Erhardt A, Niederau C et al. (2001) *Hepatitis C*. Blackwell, Berlin
- Alter MJ, Hutin Y, Armstrong G (2000) In: Liang T, Hoofnagle J (eds) *Hepatitis C*. Academic Press, San Diego
- Conry-Cantilena C, VanRaden M, Gible J et al. (1996) Routes of infection, viremia, and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 334:1691–1696
- Elghouzzi MH, Bouchardau F, Pillonel J et al. (2000) Hepatitis C virus: routes of infection and genotypes in a cohort of anti-HCV-positive French blood donors. *Vox Sang* 79:138–144
- Brackmann SA, Gerritzen A, Oldenburg J et al. (1993) Search for intrafamilial transmission of hepatitis C virus in hemophilia patients. *Blood* 81:1077–1082
- Meisel H, Reip A, Faltus B et al. (1995) Transmission of hepatitis C virus to children and husbands by women infected with contaminated anti-D immunoglobulin. *Lancet* 345:1209–1211
- Zylberberg H, Thiers V, Lagorce D et al. (1999) Epidemiological and virological analysis of couples infected with hepatitis C virus. *Gut* 45:112–116
- Gabriel C, Blauhut B, Greul R et al. (1996) Transmission of hepatitis C by ozone enrichment of autologous blood. *Lancet* 347:541
- Kiyosawa K, Tanaka E, Sodeyama T et al. (1994) Transmission of hepatitis C in an isolated area in Japan: community-acquired infection. The South Kiso Hepatitis Study Group. *Gastroenterology* 106:1596–1602
- Ross RS, Viazov S, Gross T et al. (2000) Transmission of hepatitis C virus from a patient to an anesthesiology assistant to five patients. *N Engl J Med* 343:1851–1854
- Esteban JI, Gomez J, Martell M et al. (1996) Transmission of hepatitis C virus by a cardiac surgeon. *N Engl J Med* 334:555–560
- Ross RS, Viazov S, Thormahlen M et al. (2002) Risk of hepatitis C virus transmission from an infected gynecologist to patients: results of a 7-year retrospective investigation. *Arch Intern Med* 162:805–810
- Saldanha J, Heath A, Lelie N et al. (2000) Calibration of HCV working reagents for NAT assays against the HCV international standard. The Collaborative Study Group. *Vox Sang* 78:217–224
- Peoples BG, Preston SB, Zeng JL et al. (2000) Prolonged antibody-negative HCV viremia in a US blood donor with apparent HCV transmission to a recipient. *Transfusion* 40:1280–1281
- Humpe A, Legler TJ, Nübling CM et al. (2000) Hepatitis C virus transmission through quarantine fresh-frozen plasma. *Thromb Haemost* 84:784–788
- Farci P, Alter HJ, Wong D et al. (1991) A long-term study of hepatitis C virus replication in non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 325:98–104
- Bukh J, Purcell RH, Miller RH (1992) Importance of primer selection for the detection of hepatitis C virus RNA with the polymerase chain reaction assay. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:187–191
- Offergeld R, Kramer M, Burger R et al. (2002) Prevalence and incidence of HIV, HCV and HBV infections among German blood donors in 2001. *Infusionsther Transfusionsmed* 29:22
- Stark K, Werner E, Seeger E et al. (2002) Infections with HIV, HBV, and HCV among blood donors in Germany 1998 and 1999. *Infusionsther Transfusionsmed* 29:305–307
- Müller-Breitkreutz K (2000) Results of viral marker screening of unpaid blood donations and probability of window period donations in 1997. EPFA Working Group on Quality Assurance. *Vox Sang* 78:149–157
- Roth WK, Weber M, Buhr S et al. (2002) Yield of HCV and HIV-1 NAT after screening of 3.6 million blood donations in central Europe. *Transfusion* 42:862–868
- Alter HJ, Houghton M (2000) Clinical Medical Research Award. Hepatitis C virus and eliminating post-transfusion hepatitis. *Nat Med* 6:1082–1086
- Smith DB, Lawlor E, Power J et al. (1999) A second outbreak of hepatitis C virus infection from anti-D immunoglobulin in Ireland. *Vox Sang* 76:175–180
- Nübling CM, Willkommen H, Löwer J (1995) Hepatitis C transmission associated with intravenous immunoglobulins. *Lancet* 345:1174
- Farci P, Alter HJ, Govindarajan S et al. (1992) Lack of protective immunity against reinfection with hepatitis C virus. *Science* 258:135–140
- Bjoro K, Skaug K, Haaland T, Froland SS (1999) Long-term outcome of chronic hepatitis C virus infection in primary hypogammaglobulinaemia. *Qjm* 92:433–441
- Peters MG, Terrault NA (2002) Alcohol use and hepatitis C. *Hepatology* 36:S220–225
- Sun CA, Wu DM, Lin CC et al. (2003) Incidence and cofactors of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma: a prospective study of 12,008 men in Taiwan. *Am J Epidemiol* 157:674–682
- Harris HE, Ramsay ME, Andrews N et al. (2002) Clinical course of hepatitis C virus during the first decade of infection: cohort study. *Bmj* 324:450–453
- Vogt M, Lang T, Frosner G et al. (1999) Prevalence and clinical outcome of hepatitis C infection in children who underwent cardiac surgery before the implementation of blood-donor screening. *N Engl J Med* 341:866–870
- Vento S (2000) Fulminant hepatitis associated with hepatitis A virus superinfection in patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 7 [Suppl 1]:7–8
- Squadrito G, Orlando ME, Pollicino T et al. (2002) Virological profiles in patients with chronic hepatitis C and overt or occult HBV infection. *Am J Gastroenterol* 97:1518–1523
- Bonino F, Oliveri F, Colombatto P, Brunetto MR (1997) Impact of interferon-alpha therapy on the development of hepatocellular carcinoma in patients with liver cirrhosis: results of an international survey. *J Viral Hepat* 4:79–82
- Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC et al. (2001) Peginterferon alpha-2b plus ribavirin compared with interferon alpha-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 358:958–965
- Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR et al. (2002) Peginterferon alpha-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 347:975–982
- Jaekel E, Cornberg M, Wedemeyer H et al. (2001) Treatment of acute hepatitis C with interferon alpha-2b. *N Engl J Med* 345:1452–1457
- Houghton M (2000) Strategies and prospects for vaccination against the hepatitis C viruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 242:327–339
- Farci P, Alter HJ, Shimoda A et al. (1996) Hepatitis C virus-associated fulminant hepatic failure. *N Engl J Med* 335:631–634
- Steininger C, Kundl M, Jatzko G et al. (2003) Increased risk of mother-to-infant transmission of hepatitis C virus by intrapartum infantile exposure to maternal blood. *J Infect Dis* 187:345–351
- Schüttler CG, Caspari G, Jursch CA et al. (2000) Hepatitis C virus transmission by a blood donation negative in nucleic acid amplification tests for viral RNA. *Lancet* 355:41–42