

Inactivation of Hepatitis C Virus Infectivity by Human Breast Milk, JID, 15.12.13

Stephanie Pfaender,¹ Julia Heyden,¹ Martina Friesland,¹ Sandra Ciesek,² Asim Ejaz,³ Joerg Steinmann,⁴ Jochen Steinmann,⁵ Angelika Malarski,⁶ Heribert Stoiber,³ Georgios Tsiavaliaris,⁷ Werner Bader,⁸ Gerhard Jahreis,⁶ Thomas Pietschmann,¹ and Eike Steinmann¹. **Hannover**

Hintergrund

- Weltweit 130 Millionen Menschen mit Hepatitis C Virus (HCV) infiziert
- Übertragung von HCV erfolgt über direkten Blutkontakt
- Kinder: perinatale Infektion in 5%-10%; RF hierfür: HCV-Viruslast, HIV-Co-Infektion, prolongierte Membranruptur unter der Geburt, Exposition mit mütterlichem Blut
- Die meisten Studien zeigen, dass Stillen das Risiko einer HCV-Infektion nicht erhöht

Studienziel

- 1. Studie, welche Einfluss von Muttermilch auf Infektiosität und Stabilität des HCV untersucht

Methoden

- Milchproben von HCV-neg. Frauen, 1-12 Mt. nach Geburt, eingefroren bei -80°C
- Milchproben von Tieren von einer lokalen Molkerei, eingefroren bei -80°C
- Säuglingsfertiernahrung (Aptamil, Beba, Bebivita, Hipp, Human, Milumil)
- Chimärer Genotyp 2a Jc1 Virus; Zielzellen: Huh7.5 cells
- Inkubation des Virus mit Milch oder Medium im Verhältnis 1:10 für 1 h bei Raumtemperatur; anschliessend Zellkultur mit der Flüssigkeit beimpft
- HCV-Kopien im Experiment 1000-fach höher als in Muttermilch bis anhin nachgewiesen

Resultate

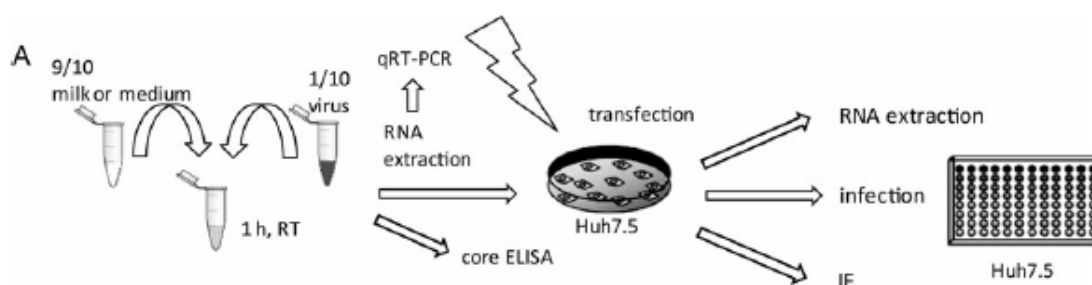
- Infektiosität

- Fig. 1a: Reduktion der HCV-Infektiosität
- Fig. 1b: Antivirale Aktivität der Muttermilch ist dosisabhängig
- Fig. 1c: Erhitzen der Milch vor Inkubation hatte keinen Einfluss auf die virale Aktivität
- Fig. 1d: Antivirale Aktivität ist spezifisch für Milch vom Menschen; in Pferdemic, Kuhmilch, oder in Säuglingsfertiernahrung wurde sie nicht nachgewiesen

-> Milch vom Menschen reduziert HCV-Infektiosität, der Effekt ist dosisabhängig. Der HCV-Genotyp hat keinen Einfluss auf die Infektiosität. Die antivirale Aktivität ist Spezies-spezifisch

- Stabilität

- Fig. 2a: Effekt der Milch vom Menschen auf Viruspartikel; Versuchsaufbau



- Fig. 2b: Kapsid/core Protein nach Inkubation bei intakter Hülle: kein Unterschied
- Fig. 2c: HCV RNA unverändert nach Exposition mit Milch
- Fig. 2d/e: keine Infektiosität der Virus-RNA

- Fig. 2f: core Protein reduziert nach Zugabe von Proteinase bei fehlender Hülle

-> **Kein Einfluss von menschlicher Milch auf Kapsid/RNA -> Virushülle als mögliches Ziel**

- Fig. 3: Milch mit HCV, HSV-1, H1N1, VSV (Vesicular stomatitis Virus), VV (Vaccinia Virus); HIV-1, MNV (Murine Norovirus, keine Hülle) oder RV (Rotavirus, keine Hülle) inkubiert -> starker Effekt bei HCV und H1N1, tiefer bei HSV-1 und VSV. Kein oder kein starker Effekt bei MNV, Rotavirus, VV, HIV

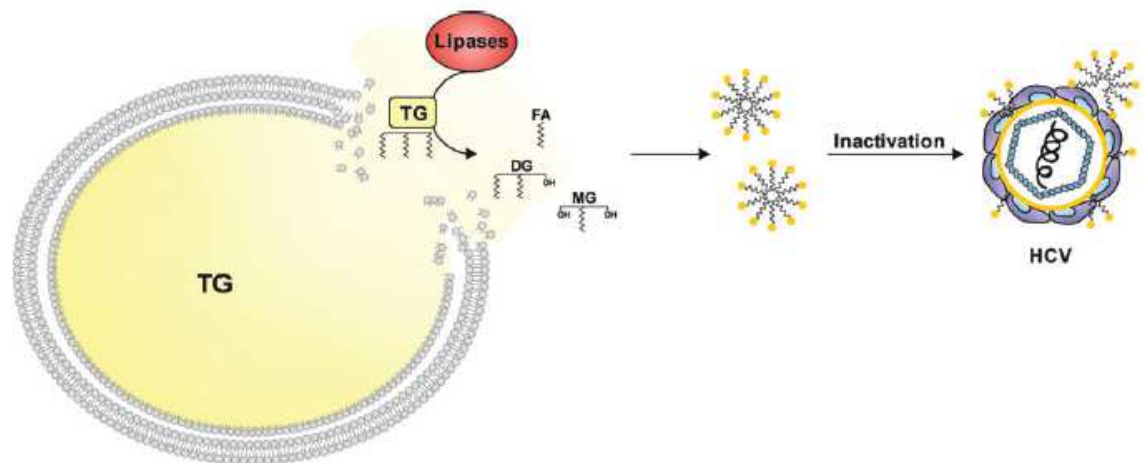
-> **Menschliche Milch primär aktiv gegen behüllte Viren**

- Milchbestandteile

- Fig. 4a-c: Nur „Creme-Fraktion“ der Milch hat zu einer Reduktion der HCV-Infektiosität geführt; Kontrolle mit Proteinase K -> keine Reduktion -> Proteine vermindern Infektiosität nicht -> „Fett“ zuständig für den antiviralen Effekt
- Fig. 5a-c: Antiviraler Effekt der Milch erst nach Lagerung bei -4° (Lipolyse weiterhin aktiv); kein Effekt bei -80°C und bei frischer Milch; antiviraler Effekt konnte mit Orlistat (Lipase-Inhibitor) verhindert werden. Lagerung der Milch führte zu Vermehrung von Fettsäuren.
- Tabl. 1: freie Fettsäuren als antivirale Faktoren

-> **der antivirale Effekt der Milch ist abhängig von Anzahl und Aktivität der Lipasen und damit Lagerungsabhängig**

Diskussion



- Virushülle als Ziel
- HCV als „Lipoviruspartikel empfänglicher für Fettsäuren als anderen Viren

+/-

+: diverse, umfassende Versuchsreihen

-: kleine „Donorzahlen“, kein Vergleich