

**Diplomarbeit**

**Zur Problematik der Transmission des humanen  
Cytomegalievirus von der Mutter auf das  
frühgeborene Kind während der Laktation**

eingereicht von

**Stefan Kurath**

Mat.Nr.: 0311488

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde**

**(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Univ. Klinik für Kinder- und Jugendheilkunde**

**Klinische Abteilung für Neonatologie**

unter der Anleitung von

**Univ. Prof. Dr. Bernhard Resch**

Ort, Datum .....

Stefan Kurath

*Eidesstattliche Erklärung*

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwende habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Graz, am .....*

*Stefan Kurath*



## Vorwort

Mein Interesse für das Fach der Kinder- und Jugendheilkunde wurde während meiner ersten Famulatur an einer pädiatrischen Abteilung im Rahmen des Medizinstudiums geweckt. Durch sehr engagierte und entgegenkommende Kollegen wurde mir das weitläufige und überaus interessante Fach näher gebracht, im Speziellen die Subspezialität der Neonatologie, welche mich sofort faszinierte. Ich musste daher nicht lange überlegen auf welchem Gebiet ich meine Diplomarbeit gerne verfassen würde und entschied mich an der klinischen Abteilung für Neonatologie der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde in Graz bezüglich der Betreuung einer Diplomarbeit anzufragen. Zu meinem Glück bot sich mir die Möglichkeit ein infektiologisches Thema an der neonatologischen Abteilung unter der Betreuung von Herrn Univ. Prof. Dr. Bernhard Resch zu bearbeiten.

Das Thema der Problematik der Transmission des humanen Cytomegalievirus von der Mutter auf das frühgeborene Kind während der Laktation wurde mir also eigentlich durch Zufall zuteil. Rückblickend hätte ich mir jedoch kein spannenderes und interessanteres Thema wünschen können.

Stefan Kurath

## Danksagungen

Mein besonderer Dank gebührt Herrn Univ. Prof. Dr. Bernhard Resch vom Universitätsklinikum Graz, unter dessen hervorragender Betreuung diese Arbeit zu Stande gekommen ist.

Weiters danke ich Herrn Dr. Raimund Kraschl vom LKH Klagenfurt für hilfreiche Literaturhinweise.

Auch danke ich meinen Eltern für ihre finanzielle und moralische Unterstützung während des Studiums.

## Zusammenfassung

Die Transmission von HCMV über die Muttermilch bei HCMV – IgG – positiven Müttern durch Reaktivierung des Virus in der Muttermilch auf frühgeborene Kinder und eine daraus resultierende symptomatische HCMV – Infektion, stellen ein nach wie vor unbefriedigend gelöstes Problem dar. In dieser Arbeit wurde die Literatur zu besagter Problematik durchforstet und hinsichtlich Epidemiologie, Symptomatik, sowie kurz- und langfristigen Folgen für die Frühgeborenen untersucht. Weiters wird eine Zusammenfassung der Literatur bezüglich der Vorteile der Muttermilchernährung für das Frühgeborene und der jeweiligen internationalen Empfehlungen hinsichtlich des Handlings der Muttermilch HCMV – positiver Mütter frühgeborener Kinder dargestellt. Die Ergebnisse der Auswertung zeigen ein geringes Risiko einer Transmission von HCMV über die Muttermilch von etwa 19%. Das Risiko einer symptomatischen Infektion beträgt gesamt gesehen etwa 5.2% und das einer schwerwiegenden Erkrankung etwa 1.33%. Die Sekretionsrate von HCMV in die Muttermilch hingegen beläuft sich auf durchschnittlich etwa 80%. Bezüglich des Langzeitoutcome liegen nur wenige Studien vor. Sicher sind Hörschädigungen auszuschließen, bezüglich der intellektuellen Langzeitentwicklung bestehen noch Unsicherheiten. Neben den strikten Empfehlungen der österreichischen Ernährungskommission, die in jedem Fall eine Pasteurisierung der Muttermilch vorsehen, weichen die meisten internationalen Richtlinien einer konkreten Empfehlung aus. Als optimales Vorgehen wird eine ausführliche Elternaufklärung und individuelle Lösung empfohlen. Dem gegenüber steht die Empfehlung der American Academy of Pediatrics die die Muttermilchernährung von früh- und reifgeborenen Kindern als oberste Priorität ansieht. Bei jedweder Unsicherheit scheint beim derzeitigen Stand des Wissens die Holder – Pasteurisierung „state of the art“ zu sein.

Zusammenfassend ist ein individuelles Vorgehen in Bezug auf Inaktivierung oder Frischverfütterung der Muttermilch einer HCMV – positiven Mutter an das Frühgeborene aufgrund der derzeitigen Datenlage einer generellen Empfehlung vorzuziehen.

## Abstract

The transmission of HCMV from the HCMV – IgG – positive mother to the preterm infant via breastmilk resulting in a symptomatic infection still represents an unsatisfactorily solved problem. This paper shows the results of a retrieval of literature concerning this topic scouring for epidemiologic data, symptoms as well as short and long term sequelae. Further a summarization of the literature on the advantages of feeding breastmilk to preterm infants as well as international recommendations on the handling of breastmilk of HCMV – positive mothers of preterm infants. The results of the interpretation showed a low risk for the transmission of HCMV via breastmilk by about 19%. The overall risk of a symptomatic infection amounts to 5.2% and the risk of a severe infection amounts to 1.33%. In contrast the secretion rate of HCMV into breastmilk shows an average amount of 80%. Regarding long term sequelae there are only small numbers of papers concerning this topic. Sensory neural hearing loss can be excluded, the long term outcome regarding mental development still is uncertain. Except the strict recommendations of the Austrian Committee on Nutrition which provides pasteurizing breastmilk in any case, most international guidelines avoid specific advices. As best course of action a detailed clarification for the parents resulting in an individual solution is recommended. On the opposite side the American Academy of Pediatrics recommends breastfeeding term and preterm infants as high priority. Based on the current position of knowledge holder pasteurization seems to be state of the art in any case of uncertainty.

All in all an individual approach concerning the inactivation of HCMV in breastmilk or feeding raw breastmilk of an HCMV – positive mother to the preterm infant is to be preferred over a general recommendation based on the current position of knowledge.

# Inhaltsverzeichnis

Vorwort.....	iii
Danksagungen.....	iv
Zusammenfassung.....	v
Abstract.....	vi
Inhaltsverzeichnis.....	vii
Glossar und Abkürzungen.....	viii
Abbildungsverzeichnis.....	ix
Tabellenverzeichnis.....	x
1 Einleitung.....	1
1.1 Allgemeine Informationen zum humanen Cytomegalievirus.....	1
1.2 Virusaufbau.....	3
1.3 Eintritt des Virus in die Zelle.....	5
1.4 Replikationszyklus des Virus.....	6
1.5 Pathogenese der Infektion.....	8
1.6 Markerproteine.....	9
1.7 Diagnostik.....	10
1.8 Epidemiologie.....	14
1.9 Therapie der bereits erfolgten Infektion.....	14
2 Material und Methoden.....	17
3 Ergebnisse – Resultate.....	19
3.1 Epidemiologie der HCMV – Transmission während der Laktation.....	19
3.2 Klinische Manifestationen der HCMV – Infektion beim Frühgeborenen.....	23
3.3 Langzeitfolgen nach HCMV – Infektion über die Muttermilch.....	32
3.4 Vorteile der Muttermilchernährung für das Frühgeborene.....	35
3.5 Verhinderung der HCMV – Transmission über die Muttermilch.....	40
4 Diskussion.....	48
4.1 Internationale Empfehlungen.....	48
4.2 Kommentare aus der wissenschaftlichen Literatur.....	53
4.3 Eigene Überlegungen.....	57
4.4 Persönlicher Kommentar.....	60
5 Literaturverzeichnis.....	61
Lebenslauf.....	66

## Glossar und Abkürzungen

ADCC =	antibody dependend cytotoxicity
Ak =	Antikörper
BAL =	bronchoalveoläre Lavage
BPD =	bronchopulmonary dysplasia
DNA =	Desoxyribonucleinacid
EGF =	epidermal growth factor
ELISA =	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
HCMV =	humanes Cytomegalievirus
i.v. =	intravenous
IEA =	immediate early antigen
IgA =	Immunglobulin A
IgG =	Immunglobulin G
IgM =	Immunglobulin M
IQ =	Intelligenzquotient
IVH =	intraventricular haemorrhage
KG =	Körpergewicht
NEC =	necrotising enterocolitis
PCR =	polymerase chein reaction
pfu =	plaque forming unit
PVL =	periventricular leukencephalopathy
RNA =	Ribonucleinacid
ROP =	retinopathy of prematurity
v.a. =	vor allem
vs. =	versus

# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Schematische Darstellung eines humanen Cytomegalievirus. Übernommen aus [5].....	4
Abbildung 2:	Phasen des Infektionszyklus des humanen Cytomegalievirus. Übernommen aus [5].....	7
Abbildung 3:	Immunzytologische Darstellung von HCMV – infizierten humanen Fibroblasten. Übernommen aus [5]. .....	12
Abbildung 4:	Immunhistologische Darstellung einer HCMV – Infektion der Endothelzelle.....	12
Abbildung 5:	Immunzytologischer Nachweis zweier HCMV – infizierter Granulozyten (rot) in einer Zytoprin – Präparation mit peripheren Blutzellen. Übernommen aus [5]. .....	13
Abbildung 6:	Intravenöse Immunglobuline – Mechanismen der Immunregulation. Übernommen aus [5] .....	16
Abbildung 7:	Symptome und deren zeitliches Auftreten; übernommen aus Vochem et al. [14] .....	27
Abbildung 8:	Darstellung der häufigsten klinischen Symptome des Neugeborenen nach HCMV – Infektion über die Muttermilch. [14 – 25] .....	30
Abbildung 9:	Entscheidungsbaum nach Weight [52].....	49

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Die Markerproteine des humanen Cytomegalievirus [5] .....	9
Tabelle 2:	Epidemiologische Studien zur Übertragung von HCMV über die Muttermilch. Studiendesign und Patienten [14 – 24] .....	21
Tabelle 3:	Epidemiologische Studien zur Übertragung von HCMV über die Muttermilch. Methodik und Infektionsnachweis beim Kind [14 – 24]	22
Tabelle 4:	Möglichkeiten der symptomatischen HCMV – Infektion und deren Auftreten bei über die Muttermilch aquirierter HCMV – Infektion. ...	31
Tabelle 5:	Antivirale Faktoren in der Muttermilch, aktiv gegen Bakterien. Übernommen aus [31].....	44
Tabelle 6:	Antivirale Faktoren in der Muttermilch, aktiv gegen Viren. Übernommen aus [31].....	45
Tabelle 7:	Übernommen von Biotest Pharmazeutika GmbH, A-1053 Wien.....	46
Tabelle 8:	Effektivität der verschiedenen Verfahren zur Inaktivierung von HCMV in der Muttermilch.....	46
Tabelle 9:	Effekte von Holder – Pasteurisierung, Short – Term – Heating und Kryokonservierung auf die immunologischen Faktoren der Muttermilch.....	47
Tabelle 10:	Statistisch relevante Daten bezüglich mütterlicher HCMV – Seropositivität, HCMV – Nachweis in der Muttermilch, HCMV – seropositive Kinder und erkrankte Kinder [14 – 24].....	57

# 1 Einleitung

## 1.1 Allgemeine Informationen zum humanen Cytomegalievirus

Das humane Zytomegalievirus (HCMV) gehört zur Gruppe der Herpesviridae, im Speziellen zur Untergruppe der  $\beta$ -Herpesviridae [1]. HCMV ist das größte der Herpesviren, mit einem Durchmesser von 200nm [2]. Das Zytomegalievirus vermehrt sich in epithelialen Zellen, wobei die Vermehrung des doppelsträngigen DNA – Genoms im Zellkern stattfindet [1, 3]. In fast allen Organen sind aufgrund des zytopathogenen Effekts des HCMV Riesenzellen mit Kerneinschlusskörpern, so genannte „Eulenaugenzellen“, zu finden [3]. Post infektionem persistiert das Virus lebenslang in Monozyten und Granulozyten. Daher ist eine Reaktivierung im Rahmen einer Schwäche des Immunsystems, beispielsweise unter einer immunsuppressiven Therapie, möglich.

Man geht davon aus, dass etwa 50% der Erwachsenen durchseucht und damit Träger des HCMV sind [2]. Die HCMV – Infektion ist die häufigste konnatale Infektionskrankheit und führt gelegentlich zur zytomegalen Einschlusskörperchenkrankheit (cytomegalic inclusion disease, Cytomegalia infantum) [2]. Ätiologisch findet man bei der konnatalen HCMV – Erkrankung fast immer eine HCMV – Erstinfektion der Mutter während der Schwangerschaft. Seltener ist eine rekurrende Infektion die Ursache [3]. Für die Übertragung des HCMV auf das Kind im Sinne der konnatalen HCMV – Infektion gibt es zwei Wege. Einerseits die vertikale Übertragung, welche diaplazentar oder sub partu erfolgen kann, und andererseits die horizontale Übertragung.

Da das Virus monate- bis jahrelang [3] in Speichel, Urin und Genitalsekret ausgeschieden wird, spielen diese und andere Körperflüssigkeiten, sowie vor allem die Muttermilch, Blutprodukte, Gewebe- und Organtransplantate [2, 3] im Sinne der horizontalen Übertragung eine Rolle. Die Inzidenz der konnatalen HCMV – Infektion wird unterschiedlich angegeben und reicht von 0.2 bis 2.4% aller Lebendgeburten [2]. Für das Einzugsgebiet der Universitätsfrauenklinik Graz wurde eine Prävalenz der konnatalen HCMV – Infektion von 0.22% erhoben [4].

90% der konnatal infizierten Kinder sind klinisch asymptomatisch, vor allem bei früh postnatal oder intrauterin erworbener HCMV – Infektion [3]. Wenn

symptomatisch, kommt es zur Zytomegalie – Erkrankung, die mit intrauteriner Wachstumsrestriktion, Frühgeburtlichkeit, Hepatosplenomegalie, Ikterus, Thrombozytopenie, „blueberry-muffin“ artigem Rash, Pneumonie, intrakraniellen Kalzifikationen und Mikrozephalus, sowie neurologischerseits mit Chorioretinitis, Gehörschädigung bis –verlust und psychomotorischer Retardierung einhergeht [2, 3].

Bei immunkompetenten Personen verläuft eine HCMV – Infektion fast immer asymptomatisch. Falls es zu einer symptomatischen Erkrankung kommt, geht diese mit an Mononukleose erinnernden Symptomen, wie Lymphknotenschwellung, Fieber, Hepatosplenomegalie und zum Teil auch mononukleotischen Blutbildveränderungen einher [3].

Klinisch kann die Diagnose nur vermutet werden. Daher sind Nachweisverfahren wie der direkte oder indirekte Virusnachweis, sowie serologische Methoden notwendig um die Diagnose zu sichern. Zum direkten Virusnachweis werden einerseits die Fibroblastenkultur (Nachweis über den zytopathischen Effekt = Zellzerstörung durch die Infektion) und andererseits der Nachweis isolierter DNA mittels PCR verwendet [1, 2]. Zum indirekten Virusnachweis zählen das Shell – Vial – Assay und der Early – Antigen – Nachweis (Nachweis von HCMV – Proteinen in infizierten Zellen mit Hilfe HCMV – spezifischer Antikörper), sowie das pp65 – Assay oder Antigenämie – Assay (Nachweis von HCMV – Proteinen in polymorphnukleären Leukozyten des peripheren Blutes) [1, 2]. Bei den serologischen Methoden wird die humorale Immunantwort auf eine HCMV – Infektion nachgewiesen. Detektiert werden hier anti – HCMV – IgM, anti – HCMV – IgA (beide positiv bei einer aktiven HCMV – Infektion) und anti – HCMV – IgG (persistiert ein Leben lang) [1, 2].

Differenzialdiagnostisch sind bei einer konnatalen HCMV – Infektion Röteln, Toxoplasmose, Herpes neonatorum, Listeriose, Lues connata und Morbus haemolyticus neonatorum auszuschließen [3].

Therapeutisch kommt hauptsächlich Ganciclovir zur Anwendung. Bei resistenten Stämmen kann Foscarnet versucht werden [3]. Ganciclovir ist bei immunkompetenten Personen nicht indiziert, sehr wohl aber bei immunsupprimierten Personen[2]. Bei der konnatalen HCMV – Infektion bestehen bezüglich des Therapieansatzes noch Kontroversen. Einerseits konnte bereits gezeigt werden, dass Ganciclovir zu einem besseren Outcome bezüglich der

Gehörschädigung und Gehörfunktion führt, andererseits kommt es unter Ganciclovirtherapie häufig zu medikamenten – assoziierter Toxizität wie beispielsweise Neutropenie [5].

Die Prognose von mit mononukleotischen Symptomen Erkrankten ist sehr gut, diese erholen sich meist vollständig [2]. Bei konnatal erkrankten Kindern besteht die Gefahr der Erblindung durch die Retinitis, sowie die Gefahr von Spätfolgen, wie Hör- und Sehschäden, Zahnschmelzdefekten und psychomotorischer Retardierung [2, 3].

Wichtige präventive Maßnahmen zur Verhinderung von HCMV – Infektionen sind die Verwendung von HCMV – negativen Organtransplantaten und HCMV – negativen Blutprodukten, speziell bei Frühgeborenen. Vor einer Schwangerschaft soll der HCMV – Antikörperstatus getestet werden. Wichtig ist die Einhaltung hygienischer Maßnahmen wie Händedesinfektion, vor allem bei Schwangeren die in häufigem Kontakt mit potentiellen HCMV – Ausscheidern stehen. Die prophylaktische Gabe von intravenösem HCMV – spezifischem Immunglobulin (HCMV IVIG), eventuell auch die Gabe von Aciclovir, kann das Erkrankungsrisiko nach Organtransplantationen senken, nicht aber die Übertragung verhindern [1, 2, 3]. An Möglichkeiten der aktiven Immunisierung wird derzeit intensiv geforscht [1, 2, 3]. Diese stehen momentan jedoch noch nicht zur klinischen Anwendung zur Verfügung.

## **1.2 Virusaufbau**

HCMV gehört, wie auch das humane Herpesvirus 6 und 7, zur Gruppe der Herpesviridae, im Speziellen zur Untergruppe der  $\beta$ -Herpesviridae [1]. Von innen nach außen ist das Virus aufgebaut aus einem Kern, einem Kapsid, einer Matrix und einer äußeren Hülle im Sinne einer Lipidmembran. Biochemisch gesehen besteht das HCMV, wie auch andere Viren, aus Nukleinsäuren, Proteinen, Kohlenhydraten und Lipiden.

Im Kern (Core) findet sich doppelsträngige DNA. Das HCMV besitzt das größte Genom in der Familie der Herpesviridae und ist als DNA – Virus genetisch relativ stabil. Es hat die Kapazität zur Synthese von etwa 100 viralen Proteinen. [6, 7]

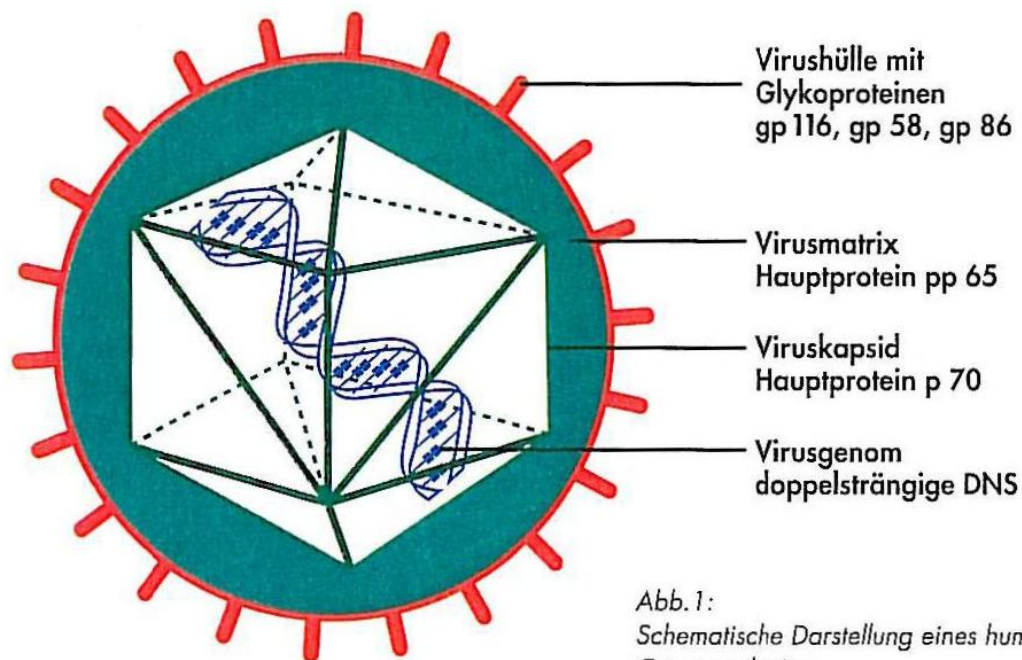


Abb. 1:  
Schematische Darstellung eines humanen Cytomegalovirus.  
Nach dem gleichen Bauplan sind alle Herpesviren aufgebaut.

**Abbildung 1: Schematische Darstellung eines humanen Cytomegalievirus. Übernommen aus [6]**

Das Kapsid des HCMV setzt sich aus 106 Kapsomeren, die wiederum aus nicht phosphorylierten Proteinen, wie beispielsweise dem Hauptkapsidprotein p70, und Strukturproteinen bestehen, zusammen. Im Falle des HCMV ergibt die räumliche Anordnung der Kapsomere die Form eines Ikosaeders mit kubischer Symmetrie. Die ikosaedrischen Kapside lagern sich in der Wirtszelle spontan zu hochgeordneten Strukturen zusammen, die dann als „Einschlusskörperchen“ lichtmikroskopisch sichtbar werden [7]. Vom Kapsid werden zwei wichtige Funktionen übernommen, zum einen eine Schutzfunktion der genomischen Nucleinsäuren und zum anderen nehmen sie an wichtigen Schritten bei der Infektion der Wirtszelle teil [7].

Die Matrix liegt zwischen dem Kapsid und der äußeren Hülle. Sie besteht aus phosphorylierten Proteinen, von denen vor allem dem Phosphoprotein pp65 eine große diagnostische Bedeutung zukommt [6].

Als äußerste Schicht findet man die Hülle, welche eine Lipidmembran, in die nach außen ragende Glykoproteine eingelagert sind, darstellt. Entweder stammt die Lipidhülle von der Plasmamembran einer Wirtszelle oder von intrazellulären

Membranen, in erster Linie des Golgi – Apparates oder des endoplasmatischen Retikulums, ab [7]. Die nach außen ragenden Glykoproteine werden als „Glykoprotein – spikes“ bezeichnet und wirken bei der Anheftung des Virus an Rezeptoren einer Zielzelle wie ein „Anker“. Am besten erforscht sind die Glykoproteine gp116, gp58 und gp86 [6]. Die membranständigen Glykoproteine dienen auch neutralisierenden Antikörpern als Angriffspunkte. Als behülltes Virus ist HCMV gegenüber Hitze und Austrocknung vulnerabler als Viren ohne Hülle [7].

### **1.3 Eintritt des Virus in die Zelle**

Zuerst muss sich das HCMV an die Zelle anlagern (Adsorption). Die Adsorption beruht auf speziellen Wechselwirkungen zwischen viralen Proteinen auf der Oberfläche des Virus und Rezeptoren an der Zielzelle [7]. Im Falle des HCMV stehen die membrangebundenen Glykoproteine für die viralen Proteine und Heparan – Sulfat Proteoglykan als Rezeptor an der Wirtszelle [6].

Der nächste Schritt ist das Eindringen des Virus in die Zelle (Penetration). Zu diesem Zweck muss es zu einer Verschmelzung (Fusion) der Lipidmembran mit der Zellmembran der Zielzelle kommen. Hierfür werden spezielle Fusionsproteine, die an der Oberfläche des Virus liegen, benötigt. Werden diese Fusionsproteine aktiviert, bewirken sie eine Verschmelzung der Lipidmembran des Virus mit der Zellmembran der Wirtszelle. Dadurch wird das Nukleokapsid direkt in die Zelle entlassen. Diesen Vorgang nennt man auch „Fusion von außen“ [7].

Ist die Penetration abgeschlossen, kommt es zur Freisetzung des Genoms oder Uncoating. In weiterer Folge kommt es zu einer Proteolyse der Proteine des Viruskapsids, woraufhin die virale DNA in den Zellkern der Wirtszelle gelangt [6].

## **1.4 Replikationszyklus des Virus**

Ist die Penetration in die Wirtszelle erfolgt, werden die etwa 100 Proteine, zu deren Synthese das HCMV in der Lage ist, nach einer strengen zeitlichen Abfolge synthetisiert. Im Verlauf der Virusinfektion werden drei verschiedene Phasen unterschieden.

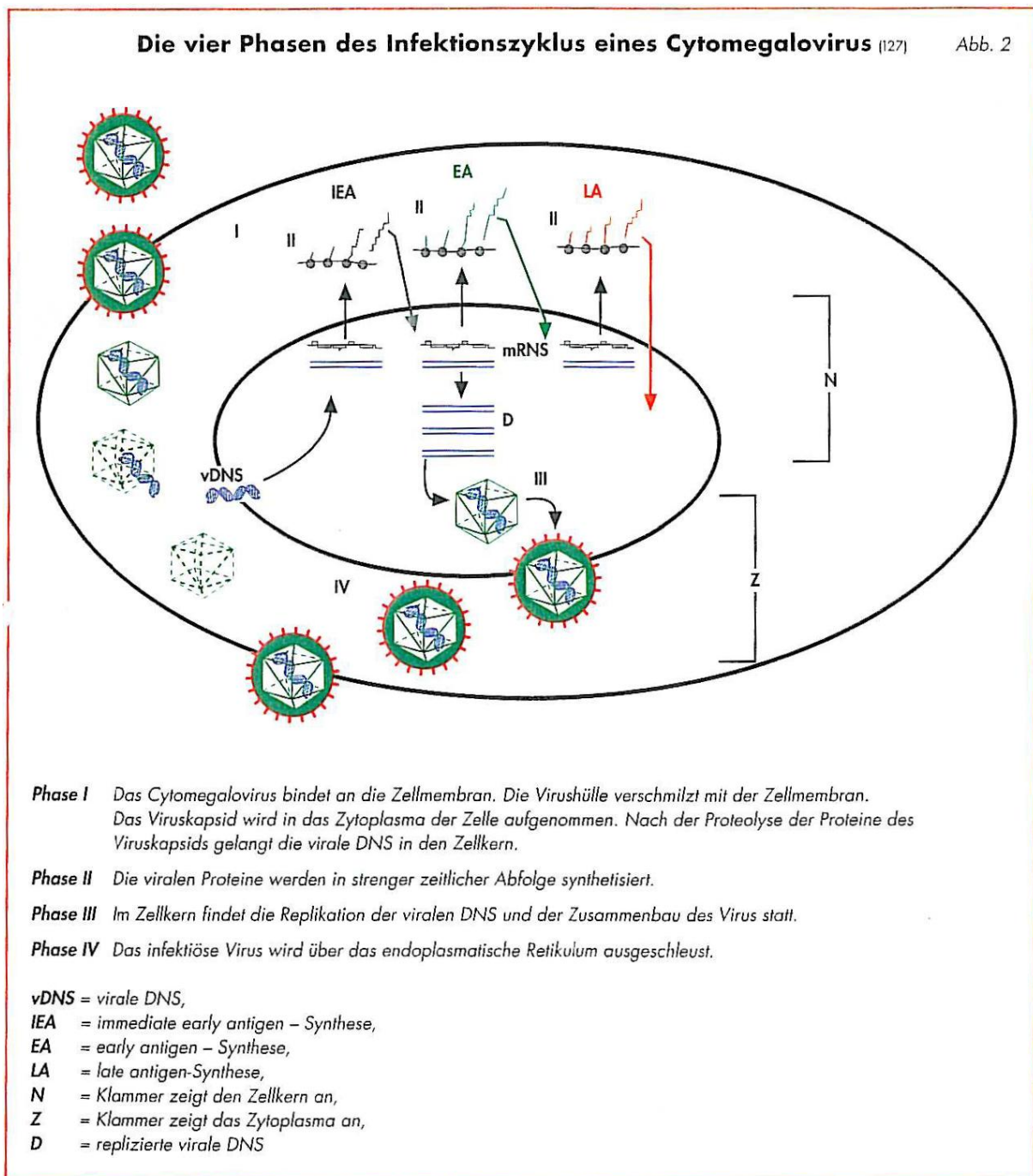
Die sehr frühe (immediate early) Phase. Während der ersten zwei Stunden nach Eindringen des HCMV in die Zelle werden erste Proteine synthetisiert, welche die Replikation des Virus überhaupt erst ermöglichen sollen. Es handelt sich hierbei nicht um Strukturproteine, sondern um Regulatorproteine mit einer „Anschaltfunktion“ für die Einleitung der frühen Phase. „immediate early Antigene“, wie beispielsweise das IEA p72 (phosphoryliertes major 72kD immediate early antigen), akkumulieren im Zellkern. Sie werden während aller Phasen der Replikation synthetisiert. Am Ende der „immediate early“ Phase sind etwa 20% der Gene bereits transkribiert. [6]

Die frühe (early) Phase. Sie beginnt zwei bis vier Stunden nach Penetration des Virus in die Zelle und weist eine Dauer von 24 bis 48 Stunden auf. Sie stellt den Zeitraum vor Beginn der viralen DNA – Synthese dar. In dieser Phase werden Enzyme, wie etwa DNA – Polymerasen (wichtig für die DNA – Vermehrung), Proteine der Virusmatrix (z.B. pp65) sowie einige Strukturproteine hergestellt. Am Ende der „early“ Phase sind etwa 75% der Gene bereits transkribiert. [6]

Die späte (late) Phase. Sie beginnt 24 bis 48 Stunden nach Eintritt des Virus in die Zelle und dauert bis zum Zelltod an. In dieser Zeit kommt es zur Translation von Strukturproteinen des Viruskapsids, Phosphoproteinen der Virusmatrix und Glykoproteinen der Virushülle. Gegen Ende der späten Phase sind 90% der Geninformation transkribiert.

Das HCMV – Genom wird mittels viraler DNA – Polymerasen repliziert. Dabei findet eine Korrektur falsch eingebauter Nukleotide statt, da die viralen DNA – Polymerasen über „proof – reading“ Enzyme verfügen. Hierdurch wird eine hohe Genauigkeit bei der viralen Replikation erzielt. Die Rate der falsch eingebauten Basen liegt etwa bei einer falsch eingebauten Base pro 10<sup>9</sup> Nukleotiden. Dadurch sind DNA – Viren genetisch relativ stabil. [7]

Anschließend an diese drei Phasen wird das Virus im Zellkern zusammengebaut und durch das Zytoplasma zur Zelloberfläche geschleust, wo es zur Ausschleusung durch Knospung (budding) kommt. Durch das „budding“ erhält das Virus wiederum seine Lipidhülle. HCMV vermehrt sich im Vergleich zu Herpesviren der Untergruppen  $\alpha$  und  $\beta$  relativ langsam. [6, 7]



**Abbildung 2: Phasen des Infektionszyklus des humanen Cytomegalievirus. Übernommen aus [6]**

## **1.5 Pathogenese der Infektion**

Zwei sich gegenüberstehende Faktoren, die Immunantwort des Wirts und die Virusreplikation sind maßgebend an der Pathogenese der Infektion beteiligt. An der Immunantwort des Wirts sind sowohl das zelluläre, wie auch das humorale Immunsystem beteiligt. Beim zellulären System spielen Antigen-spezifische T – Helfer – Zellen (CD4+, HLA – Klasse – II assoziiert), zytotoxische T – Lymphozyten (CD8+, HLA – Klasse – I assoziiert) und natürliche Killerzellen eine wichtige Rolle. Der Effekt von HCMV auf die Differenzierung von B – Lymphozyten wurde bisher noch nicht ausreichend untersucht. Ebenso konnte der antivirale Effekt von Interferonen, der bei anderen Viruserkrankungen nachgewiesen wurde, bei HCMV nicht gefunden werden. Bei der humoralen Immunantwort auf das HCMV kommt es initial zu einem Anstieg von HCMV – spezifischem IgM im Plasma, worauf schließlich anhaltend erhöhte IgG – Spiegel folgen. Solche Antikörper besitzen auch protektive Wirkung. Erleidet ein Foetus eine intrauterine Infektion mit HCMV, so ist er gegen Spätfolgen geschützt, wenn die Mutter Antikörper gegen HCMV besitzt. [6]

Ist die Immunkompetenz des Wirts geschwächt (beispielsweise bei einem AIDS – Patienten), so dominiert die Virusreplikation und es kommt zur Krankheit. Geht die Virusreplikation so langsam von statten, dass das Immunsystem des Wirts die infizierten Zellen nicht erkennen, und damit auch nicht lysieren kann, kann eine persistierende Virusinfektion entstehen.

Die gesamte Gruppe der Herpesvirusinfektionen, zu denen sich auch HCMV zählt, sind in der Regel latent persistierende Infektionen. HCMV kann also in einen Latenzzustand übergehen und eine latente Infektion erzeugen. Hierbei ist das Virusgenom in der Zelle vorhanden, der Replikationszyklus allerdings wird ausgesetzt und es werden keine neuen Viren produziert. In diesem Stadium bleibt eine Schädigung der infizierten Zelle aus, da die normalen Funktionen der Zelle erhalten bleiben. Bei HCMV, wie auch bei den anderen Herpesviren, liegt das Genom in mehreren Kopien im Zellkern als zirkuläres DNA – Molekül vor und wird als Episom bezeichnet. Spezifische Latenzgene werden exprimiert, die für die Aufrechterhaltung der Latenz und die Integrität der episomalen DNA sorgen. Teilen sich die infizierten Zellen, so werden die Episome mit amplifiziert und an die

Tochterzellen weitergegeben. Das virale Genom bleibt auch in sich rasch teilenden Zellen erhalten. Das HCMV infiziert ausschließlich humane Zellen und verändert diese im Sinne einer Zellvergrößerung (zytomegale Veränderung). Diese Zellen werden auch als „Eulenaugenzellen“ bezeichnet. Nach der Primärinfektion persistiert HCMV lebenslang in latenter Form und wird häufig reaktiviert (was in den meisten Fällen asymptomatisch verläuft). [6, 7]

## 1.6 Markerproteine

Markerproteine sind charakteristische Proteine, an Hand derer mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern, die gegen diese Proteine gerichtet sind, Virusstrukturen nachgewiesen werden können. Da virale Proteine wirtsfremd sind, werden sie vom Immunsystem angegriffen, d.h. sie initiieren eine Immunantwort. Wie stark die Antwort des Immunsystems ausfällt hängt davon ab wie stark die Antigenität der viralen Proteine ist. Die Virusproteine pp65 und pp150 sind starke Antigene und eignen sich hervorragend zur Diagnostik der HCMV – Infektion. Da pp65 in der frühen Phase der Replikation gebildet wird, kann es bereits innerhalb der ersten 24 Stunden nachgewiesen werden.

**Tabelle 1: Die Markerproteine des humanen Cytomegalievirus [6]**

<b>Virusstruktur</b>	<b>Markerprotein</b>	<b>Molekulargewicht (kD)</b>
Kapsid	Hauptkapsidprotein p70	70
	Strukturproteine p155, p40 – p36	155, 40 – 36
Matrix	Phosphoproteine pp65, pp150	65, 150
Hülle	Glykoproteine gp116, gp58, gp86	116, 58, 86

## 1.7 Diagnostik

Für den diagnostischen Nachweis von HCMV können verschiedene Verfahren eingesetzt werden, die sich in Testdauer und Nachweisgrenze von einander unterscheiden. Klinisch kann eine Infektion mit HCMV nur vermutet werden.

Ein hochempfindliches Verfahren zum Nachweis von HCMV stellt die Polymerase – Kettenreaktion (PCR) dar. Mit dieser Methode können virale DNA – Fragmente amplifiziert (vermehrt) und so über die Nachweisgrenze gehoben werden. Die Empfindlichkeit der PCR liegt bei 60 Virusgenomen auf 100.000 untersuchte Zellen. Die PCR wird bevorzugt bei Problempatienten, intrauterin gewonnenem fetalen Blut und Fruchtwasseruntersuchungen auf HCMV eingesetzt. Auch bei der Untersuchung der Muttermilch hinsichtlich einer HCMV – Exkretion kommt diese Methode zum Einsatz. Als Untersuchungsmaterial kommen sowohl Monozyten und Leukozyten, sowie sämtliche Körperflüssigkeiten in Frage. Aufgrund der hohen Replikation des Virus in den Nierenendothelzellen ist die Diagnostik aus dem Harn die bevorzugte Methode beim Neugeborenen. Die Gesamtdauer einer PCR – Untersuchung bis zum endgültigen Vorliegen eines Ergebnisses beträgt etwa einen Tag. Durch die hohe Empfindlichkeit dieses Testverfahrens können nicht nur aktive, in Replikation befindliche Viren, sondern auch ihre ruhende Form nachgewiesen werden. Daher kann man von einem positiven Nachweis nicht unmittelbar auf eine drohende symptomatische Infektion schließen. Wird jedoch HCMV – DNA extrazellulär nachgewiesen, steht mit hoher Wahrscheinlichkeit die Entwicklung einer symptomatischen Infektion bevor. [6, 7]

Ein weiteres Nachweisverfahren ist die Zellkultur. Hierbei werden humane Fibroblasten vorwiegend mit Hilfe von Blutleukozyten oder Urin infiziert. Als Untersuchungsmaterial eignet sich auch Bronchiallavage – Material. Die Testdauer bis ein entsprechendes Ergebnis vorliegt, beträgt bis zu drei Tage. Um rasche Ergebnisse zu bekommen eignet sich die Zellkultur folglich nicht. Dennoch gilt sie nach wie vor als einziger funktioneller Nachweis der HCMV – Infektion.

Der Nachweis intrazellulärer viraler Proteine stellt eine weitere Methode zum Nachweis einer HCMV – Infektion dar. Da virale Proteine nur während und kurz nach der Replikationsphase nachgewiesen werden können, entgehen sich latent im Organismus aufhaltende Viren dieser Untersuchung. Bei dieser Methode

werden monoklonale Antikörper eingesetzt, die die viralen Proteine markieren und so mikroskopisch erkennbar machen. Zum Nachweis mit dieser Methode eignen sich vor allem Proteine die während der gesamten Replikationsphase exprimiert werden. Ein Beispiel für ein solches Protein stellt das pp65 dar. Das Matrixprotein pp65 (siehe oben) kann mit Hilfe des monoklonalen Antikörpers Clonab CMV sehr gut nachgewiesen werden. Als Untersuchungsmaterial eignen sich Granulozyten, Monozyten und Gewebebiopsien. Die Dauer des Tests bis zum fertigen Ergebnis beträgt etwa drei bis fünf Stunden und ist damit sehr gering. Etwa drei bis sechs Tage nach Beginn der Virusreplikation können die ersten positiven Testergebnisse gefunden und dadurch die Therapie rechtzeitig eingeleitet werden. Mit dem Nachweis intrazellulärer viraler Proteine kann eine aktive Infektion mit HCMV auf zellulärer Ebene nachgewiesen werden und man kann sie als Bestätigungstest für die PCR – Diagnostik einsetzen.

Nun stellt der Nachweis spezifischer Antikörper noch eine letzte Möglichkeit dar um eine Infektion mit HCMV nachzuweisen. Zur Anwendung kommt hierbei das „enzyme linked immunosorbent assay“, kurz ELISA. Als Antigen wirkt ein Zelllysat aus HCMV – infizierten Fibroblasten, die speziell mit pp150 und pp65 angereichert wurden. Aufgrund der IgM- und IgG – Antikörpertiter kann man eine primäre von einer sekundären Infektion unterscheiden. Als Untersuchungsmaterial werden Körperflüssigkeiten, vor allem Serum verwendet. Die serologische Diagnostik eignet sich nicht zur Früherkennung einer Infektion, da messbare Antikörpertiter im Allgemeinen erst zwei bis vier Wochen post infektionem auftreten. Der klassische Befund für eine primäre Infektion ist ein rascher Anstieg der IgM – Titer gefolgt von einem Anstieg der IgG – Titer. Während der IgM – Spiegel in den folgenden zwei bis vier Wochen wieder sinkt, steigt der IgG – Spiegel parallel dazu an. Letzterer bleibt meist über Monate auf erhöhtem Niveau. Bei einer Sekundärinfektion (Reaktivierung oder Reinfektion) käme es zu einem parallelen Anstieg von IgM und IgG. IgM – Antikörper können lange Zeit persistieren und bei einer Reaktivierung wieder auftreten. Die serologische Untersuchungsmethode findet vorwiegend bei der Selektion HCMV – negativer Risikogruppen, wie etwa Transplantatempfänger und Schwangere, ihre Anwendung.

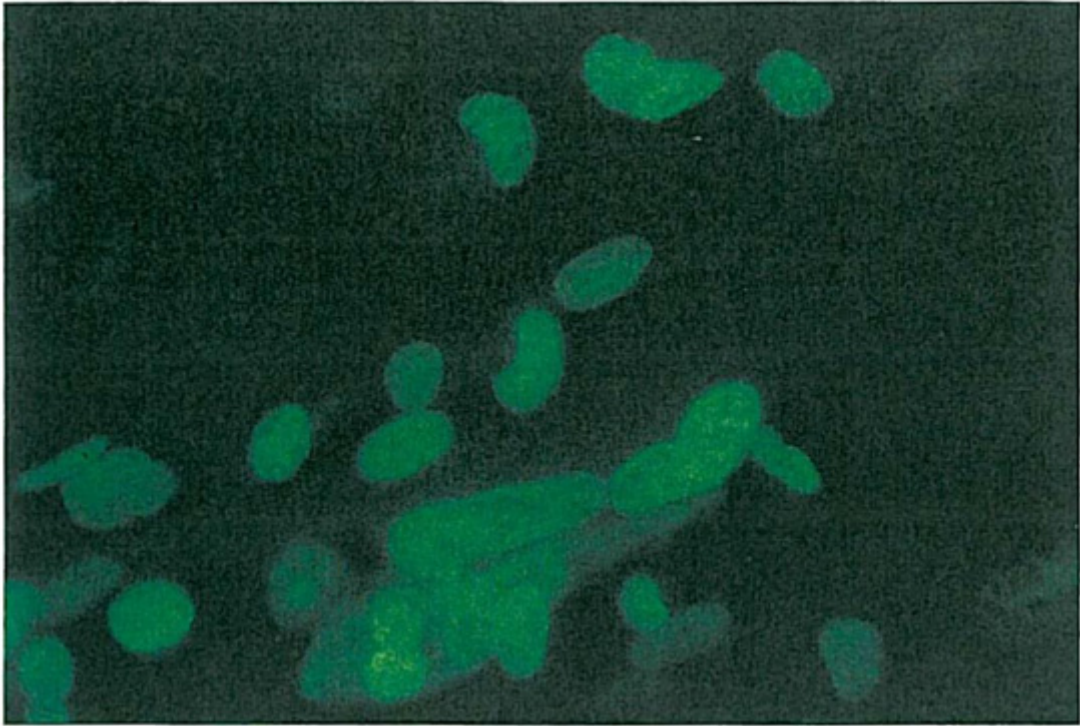


Abbildung 3: Immunzytologische Darstellung von HCMV – infizierten humanen Fibroblasten. Übernommen aus [6].

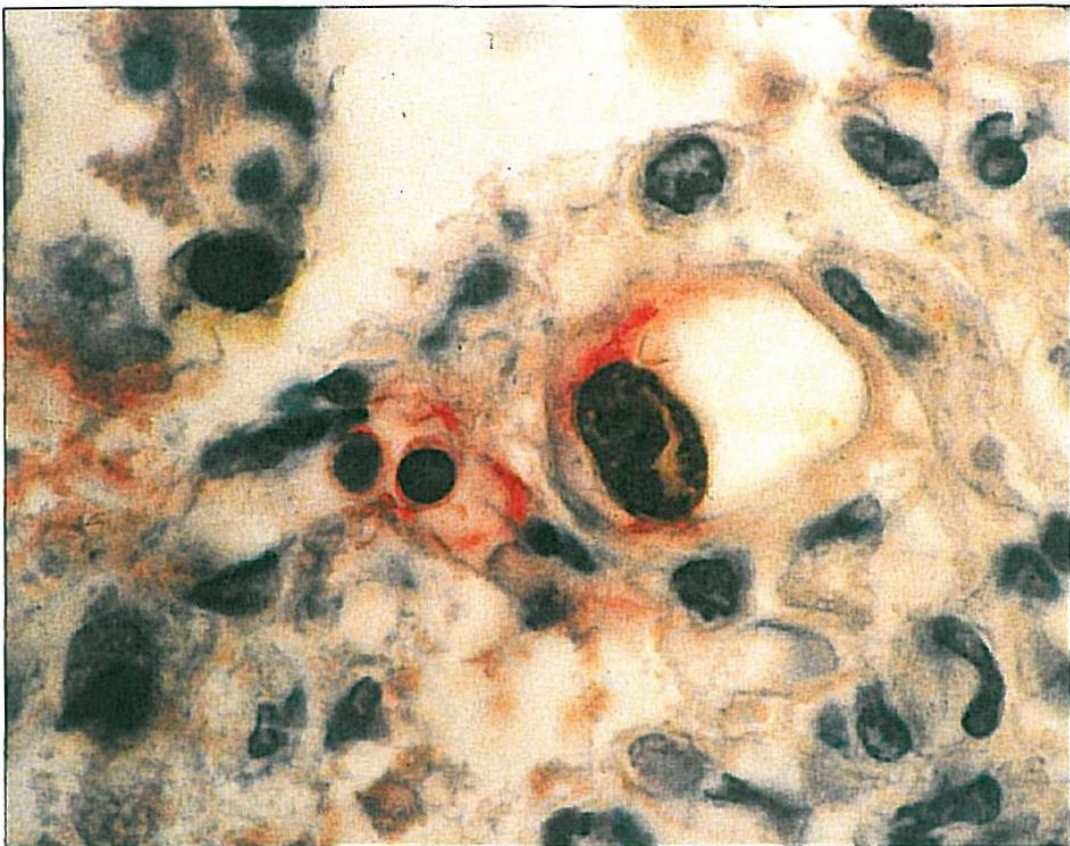
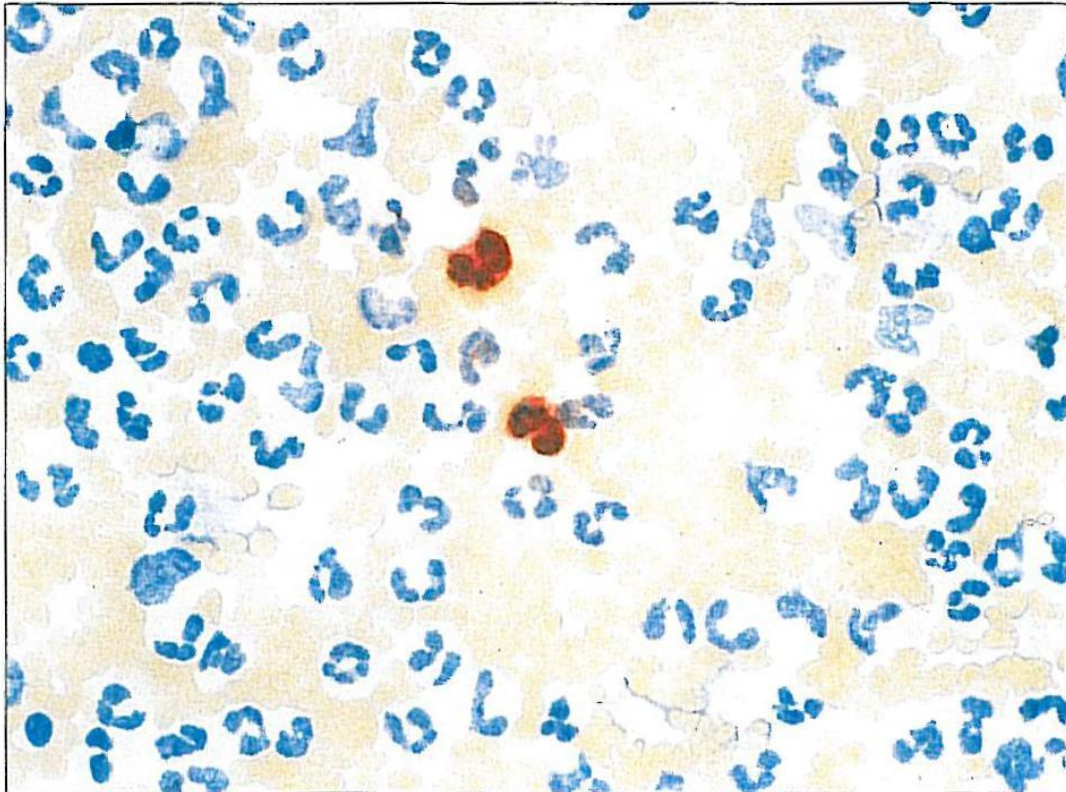


Abbildung 4: Immunhistologische Darstellung einer HCMV – Infektion der Endothelzelle. Übernommen aus [6].



**Abbildung 5:** Immunzytologischer Nachweis zweier HCMV – infizierter Granulozyten (rot) in einer Zytospin – Präparation mit peripheren Blutzellen. Übernommen aus [6].

Differentialdiagnostisch sind, vorwiegend bei konnataler Infektion, Röteln, Toxoplasmose, Herpes neonatorum, Listeriose, Lues connata und Morbus hämolyticus neonatorum auszuschließen [3].

## **1.8 Epidemiologie**

Epidemiologische Daten stehen uns im Zusammenhang mit dem Cytomegalievirus in unterschiedlichsten Angaben und teils großen Variationsbreiten zur Verfügung. In der Literatur wird die Prävalenz der HCMV Infektion bei Erwachsenen meist mit etwa 60% angegeben. Für die konnatale HCMV – Infektion wird die Prävalenz mit 0.20% bis 2.40% angegeben, wobei hier für das Einzugsgebiet des Universitätsklinikums Graz ein eigener Prävalenzwert von 0.22% erhoben wurde [4, 7].

## **1.9 Therapie der bereits erfolgten Infektion**

Zur Therapie bereits infizierter Kinder gibt es verschiedene Möglichkeiten. Eine davon ist die Therapie mit Virostatika. Hier kommen Nucleosidanaloga und Pyrophosphatanaloga in Frage.

Der Wirkmechanismus der Nucleosidanaloga besteht in der reversiblen Blockade der DNA – Polymerase. Hierdurch kommt es zu einem vorübergehenden Stopp der DNA – Synthese und dadurch zu einem Sistieren der Virusreplikation. Um über diesen Mechanismus eine Wirkung zu erzielen, muss das Virus in seiner aktiven Form vorliegen, da es in der Latenzphase zu keiner Replikation kommt. Im Organismus latent persistierende Viren können auf diesem Weg also nicht eliminiert werden. Immediate early antigens werden auch unter virostatischer Therapie weiter produziert. Die Virusreplikation kann nach Absetzen der Medikation sofort wieder gestartet werden. Weiters hemmen Nucleosidanaloga die Mitogen- und Antigen – induzierte T – Zellproliferation durch Hemmung der zellulären DNA-Synthese. Zu den Nucleosidanaloga gehören die bei einer HCMV – Infektion vielfach angewandten Substanzen Ganciclovir und Famciclovir, sowie Aciclovir. Ganciclovir zeichnet sich durch seine Wirksamkeit gegen HCMV aus, welche bei den anderen Vertretern dieser Substanzgruppe geringer ausgeprägt ist. Humane Cytomegalieviren kodieren ein Protein, dass bevorzugt Ganciclovir phosphoryliert und so aktiviert. Allerdings besitzt Ganciclovir gegenüber Aciclovir

eine geringere Spezifität, wodurch es häufiger zu einer Depression der Blutbildung kommt. In etwa der Hälfte der Fälle tritt eine Neutropenie auf.

Pyrophosphatanaloga wirken über kompetitive und reversible Hemmung der Herpesvirus – DNA – Polymerase. Diese dosisabhängige Wirkung basiert auf Hemmung des Pyrophosphataustausches. Auch hier werden während der Therapie die immediate early antigens weiter synthetisiert. [6]

Ein weiteres Therapieprinzip stellen HCMV – Immunglobuline dar.

Immunglobuline stellen einen wichtigen Bestandteil des Immunsystems dar und wirken sowohl antiinfektiös wie auch immunmodulierend. Durch HCMV – neutralisierende Immunglobuline wird die Infektion weiterer Wirtszellen unterbunden. Dies geschieht dadurch, dass die spezifischen HCMV – neutralisierenden Antikörper an Glykoproteine der Virusoberfläche andocken und so freies Virus für andere Abwehrzellen zugänglich machen. Das zellgebundene Virus hingegen wird an der Ausschleusung aus der Zelle gehemmt. Darüber hinaus wird die antibody dependend cytotoxicity (ADCC) als weiterer Wirkmechanismus diskutiert.

Neben antiinfektiösen treten auch immunmodulierende Effekte auf. Folgende Mechanismen und Effekte werden hierfür diskutiert:

- Fc – Rezeptor – Blockade bzw. Fc – Rezeptor – Modulation
- Spezifische Antikörper gegen HLA – Klasse I / II Moleküle
- Spezifische Antikörper gegen den T – Zellrezeptor
- Nieder – Regulation der Interleukinsynthese
- Nieder – Regulation von Interleukin – 1 durch Stimulation des natürlichen Interleukin – 1 – Rezeptorantagonisten
- Immunglobuline als Inaktivatoren aktivierter Komplementfaktoren und Hemmung der Bindung von aktivierten Komplementfaktoren an die Zielzellen

Ein Beispiel für ein solches HCMV – Immunglobulin Präparat ist Cytotect® Biotest, ein humanes intravenös zu verabreichendes Hyperimmunglobulin – G – Präparat.

**Intravenöse Immunglobuline (IVIg) – Mechanismen der Immunregulation**

Abb. 2

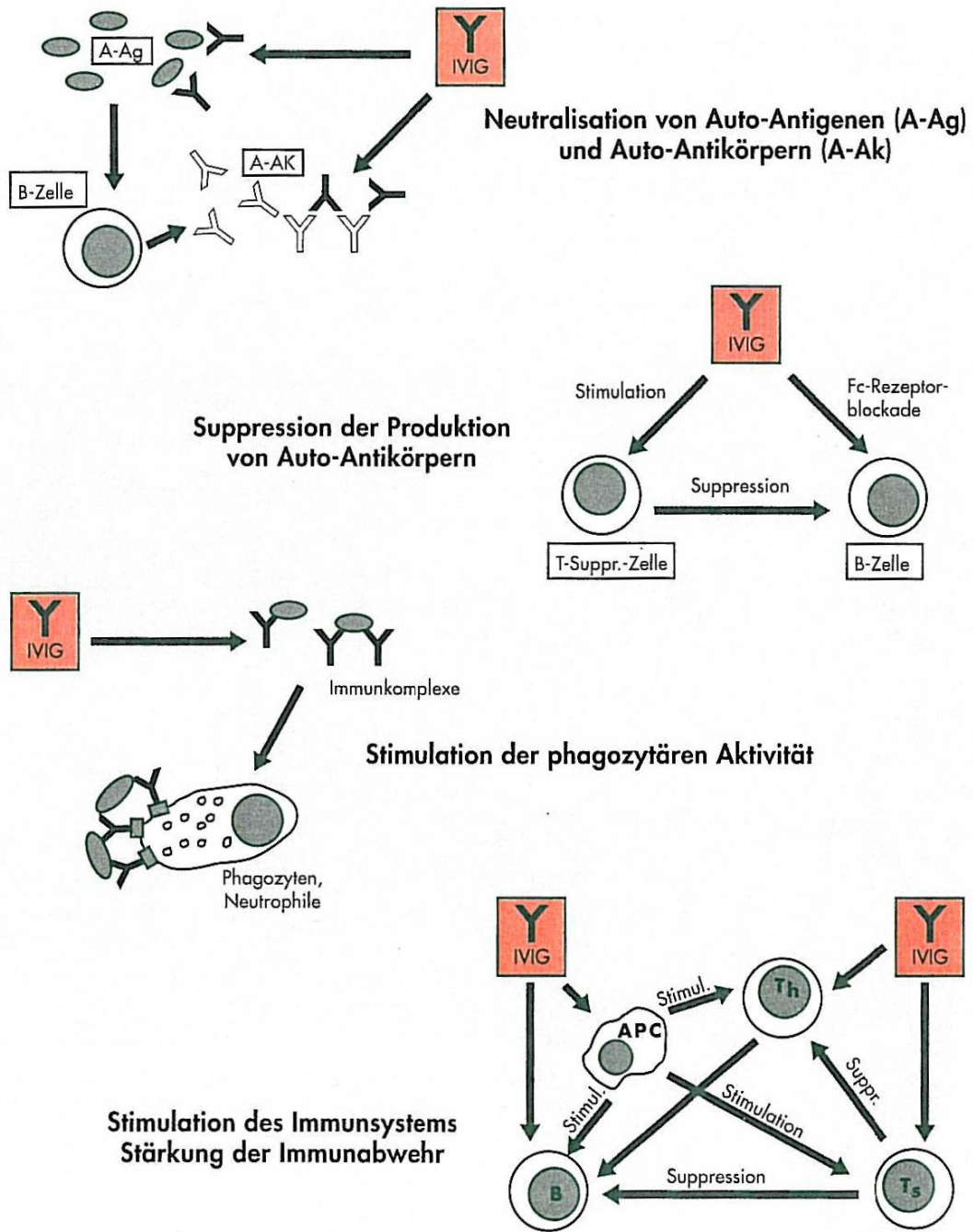


Abbildung 6: Intravenöse Immunglobuline – Mechanismen der Immunregulation. Übernommen aus [6]

## 2 Material und Methoden

Literaturrecherche in der wissenschaftlichen Datenbank PubMed ab 1962 bis 2008 unter den Stichworten „cytomegalovirus“, „breast milk“, „epidemiology“, „transmission“, „outcome“, „preterm“, „ingrediants“, „antiviral factors“ in verschiedenen Verknüpfungen. Es wurden nur deutsch- und englischsprachige Literaturstellen herausgesucht. Weiters wurden die relevanten Lehrbücher und Übersichtsschriften zum Thema Cytomegalievirusinfektion herangezogen [1, 2, 3, 4, 6, 7].

Die gefundene Literatur wurde in Hinblick auf folgende Punkte untersucht:

Transmission des humanen Cytomegalievirus von der Mutter auf das frühgeborene Kind während der Laktation

- Angaben zur Seropositivität der Mütter
- Virusnachweis in der Muttermilch (Konversionsrate und Zeitpunkt der Konversion während der Laktation)
- Methodik des HCMV – Nachweises
- Seropositivität des Neugeborenen (Rate und Zeitpunkt des Nachweises beim Kind)
- Erkrankungsrisiko für das Neugeborene
- Art der kindlichen Erkrankung
- Folgen der kindlichen Erkrankung
- Untersuchung auf mögliche Langzeitschädigung

Vorteile der Muttermilchernährung für das Frühgeborene

Verfahren zur Virusinaktivierung in der Muttermilch und deren Auswirkungen auf die Inhaltsstoffe der Muttermilch

- Inhaltsstoffe der Muttermilch unter besonderer Berücksichtigung der Immunglobuline und des Lysozyms

- Hitzeinaktivierungsverfahren (Kochen, Pasteurisieren, Holder – Verfahren)
- Kryokonservierung

Diskussion der Notwendigkeit der Virusinaktivierung der Muttermilch für Frühgeborene unter 32 Schwangerschaftswochen bzw. unter 1500g Geburtsgewicht

- Internationale Empfehlungen
- Kommentare aus der wissenschaftlichen Literatur
- Eigene Überlegungen

## **3 Ergebnisse – Resultate**

### ***3.1 Epidemiologie der HCMV – Transmission während der Laktation***

Bereits vor über 40 Jahren berichteten Diosi et al. 1967 [8], dass HCMV erstmals aus der Muttermilch isoliert werden konnte. Die Prävalenz einer Virolaktie wurde anfangs von Hayes et al. 1972 [9] mit 27% innerhalb der ersten drei Wochen angegeben. Stagno et al. [10] zeigten 1980 dass HCMV öfter in der Muttermilch als im Kolostrum nachgewiesen werden konnte. Sie zeigten auch eine Infektionsrate von 58% bei gestillten Neugeborenen HCMV – positiver Mütter, wobei eine sehr geringe Morbidität bei Reifgeborenen beschrieben wurde. In einer 1983 von Dworsky et al. [11] veröffentlichten Studie fand sich eine Infektionsrate von 69%, wobei sich bei den Reifgeborenen ein symptomloser Verlauf, bei den Frühgeborenen jedoch in zwei Fällen eine Pneumonitis zeigte. Yaeger et al. [12] beschrieben 1983 erstmals Laborveränderungen wie Neutropenie, Lymphozytose, Thrombozytopenie sowie klinische Auffälligkeiten im Sinne einer Hepatosplenomegalie. 1994 beschrieben Hotsubo et al. [13] die mittels PCR nachgewiesene Rate an HCMV – DNA in der Muttermilch mit 92% (im Vergleich zu Hayes et al. 1972 mit 27%). Von Hamprecht et al. [14] und Vochem et al. [15] wurde 1998, mittels eines Protokolls zur Separation von Muttermilch in Milchfett, Milchzellen und zellfreier Molke, eine hohe Inzidenz der HCMV – Reaktivierung bei stillenden Müttern frühgeborener Kinder nachgewiesen. In der Studie von Vochem et al. wurden 1998 erstmals sehr unreife Frühgeborene als Hochrisikogruppe in Hinblick auf eine symptomatische HCMV – Infektion dargestellt.

Bei der Literaturrecherche zu dieser Fragestellung fanden wir im genannten Suchzeitraum 13 Studien.

In den zur Auswertung herangezogenen Studien bezüglich der Übertragung des HCMV auf das neugeborene Kind via Muttermilch [15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25] differierten die Angaben bezüglich der HCMV – IgG – Positivität der Mütter zwischen 52% und 93.5% (siehe Tab.2). Die HCMV – Positivität von Kindern, die von seropositiven Müttern gestillt wurden, lag zwischen 4.2% und

100% (siehe Tab.3). Dies verdeutlicht die Variabilität der Virusübertragung. HCMV wurde in der Muttermilch in 44.6% bis zu 96% der Fälle nachgewiesen (siehe Tab.3). Im Lehrbuch wird die Transmissionsrate von HCMV von der Mutter auf das Neugeborene über die Muttermilch mit 50% angegeben [2]. Die in den Studien [15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25] angegebenen Zeitpunkte des Nachweises von HCMV in der Muttermilch differierten zwischen 8 und 119 Tagen und lagen im Mittel innerhalb der ersten zwei Wochen post partum (siehe Tab.3). Der Zeitpunkt des HCMV – Nachweises bei Kindern, die von seropositiven Müttern gestillt wurden, differierte ebenfalls und lag zwischen zwei und zwölf Wochen post partum (siehe Tab.3). Im Mittel gelang der HCMV – Nachweis bei den Kindern innerhalb der ersten 6 Wochen post partum.

In den meisten Studien wurden HCMV – Kultur und PCR als Nachweismethoden eingesetzt. In zwei der Studien wurde HCMV mittels EIA nachgewiesen. Serologische Methoden wurden in allen Studien angewandt. Alle in den Tabellen 2 und 3 angeführten Studien waren prospektiv. Bei drei Studien konnten keine Angaben zur mütterlichen Seropositivität gefunden werden und nur in einem Teil der Arbeiten waren Angaben bezüglich des HCMV – Nachweises in der Muttermilch sowie dessen Zeitpunkt enthalten.

Nicht in die Auswertung und in die Tabelle inkludiert wurden die Arbeiten von Rieger – Fackeldey et al. [26] und Whitley et al. [27] bei denen es sich um Fallberichte von jeweils zwei Kindern handelt.

**Tabelle 2: Epidemiologische Studien zur Übertragung von HCMV über die Muttermilch. Studiendesign und Patienten [15 – 25]**

<b>Studienjahr</b>	<b>Studiendesign</b>	<b>Zeitraum</b>	<b>Anzahl Mütter</b>	<b>HCMV IgG pos.</b>	<b>Anzahl Kinder</b>	<b>GA</b>	<b>Lit.</b>
2007	Prosp.	2002-2003	6	5 (83)	10	24+2 bis 27+5	[16]
2006	Prosp.	1995-2003	KA	KA	463	≤ 30 Wo.	[25]
2005	Prosp.	1999-2002	77	72 (93.5)	96	<32 Wo.	[17]
2004	Prosp.	2000-2002	37	36 (97.3)	40	<35 Wo.	[18]
2004	Prosp.	1995-1998	KA	KA	22	23+6 bis 32 Wo.	[19]
2004	Prosp.	1999-2003	73	20 (71.4)	89	24-33 Wo.	[20]
2003	Prosp.	2001-2002	30	24 (80)	43	<34 Wo.	[21]
2001	Prosp.	1995-1998	151	78 (52)	170	<32 Wo.	[22]
2001	Prosp.	1995-1998	KA	KA	170	<32 Wo.	[23]
1998	Prosp.	1995-1996	56	29 (52)	67	<32 Wo.	[15]
1997	Prosp.	1994-1995	KA	KA	KA	<32 Wo.	[24]

Legende: Zahlen sind angegeben als n (%)

GA = Gestationsalter (Wochen + Tage), Prosp. = prospektiv, Wo. = Woche, Tg. = Tag,

KA = keine Angabe

**Tabelle 3: Epidemiologische Studien zur Übertragung von HCMV über die Muttermilch. Methodik und Infektionsnachweis beim Kind [15 – 25]**

<b>Nachweis- methoden</b>	<b>HCMV- Nachweis MM</b>	<b>Zeitpunkt Nachweis MM</b>	<b>HCMV- Nachweis Kinder</b>	<b>Zeitpunkt Nachweis Kinder</b>	<b>Lit.</b>
Serol., PCR, HCMV – Kultur	4 (80)	≤ 2 Wo. p.p.	2 (29)	34 u. 46 Tg.	[16]
Serol., PCR, HCMV – Kultur	KA	KA	40 (8.6)	Mittel 45.5 Tg.	[25]
Serol., PCR, EIA	KA	KA	4 (6)	3 – 7 Wo. p.p.	[17]
Serol., PCR, HCMV – Kultur	35 (97.2)	12.3 ± 9.4 Tg.	6 (15)	Mittel 77 Tg. (21 – 168 )	[18]
Serol., PCR,	KA	KA	22 (100)	23 – 190 Tg.	[19]
Serol., PCR,	48 (66)	KA	22 (24.7)	2 Wo. p.p.	[20]
Serol., PCR, EIA	21 (87.5)	≤ 2 Wo. p.p.	3 (10)	4 – 12 Wo. p.p.	[21]
Serol., PCR, HCMV – Kultur	73 (96)	Mittel 10 Tg. p.p.	33 (38)	Mittel 42 Tg. (28 – 69)	[22]
Serol., PCR, HCMV – Kultur	KA	KA	33 (38)	KA	[23]
Serol., PCR, HCMV – Kultur	25 (93) von 27 Stillenden	≤ 8 Wo.	17 (25.3)	4 – 7 Wo. (n=5 ) >8 Wo. (n=12)	[15]
Serol., PCR, HCMV – Kultur	16 (100)	8 – 119 Tg.	16 (100)	30 – 85 Tg. p.p.	[24]

Legende: Zahlen sind angegeben als n (%) bzw. Mittelwert ± SD

p.p. = post partum, EIA = Enzymimmunoassay, Serol. = Serologie, PCR = polymerase chain reaction, Wo. = Woche, Tg. = Tag, KA = keine Angabe

### **3.2 Klinische Manifestationen der HCMV – Infektion beim Frühgeborenen**

In der Studie von Omarsdottir et al. [16] übertrugen zwei Mütter, mit positiver HCMV – Kultur aus der Muttermilch, das Virus auf ihre Kinder. Eines dieser zwei Kinder zeigte einen komplizierten klinischen Verlauf. Der Bub wies eine kongenitale Gruppe B Streptokokkensepsis, ein Respiratory Distress Syndrome, eine Coagulase negative Staphylokokkenseptikämie und eine Darmperforation auf. Im weiteren Verlauf zeigte der Junge im Alter von 20 Tagen erhöhte CRP – Werte (C – reaktives Protein), sowie eine positive Kultur auf *Candida albicans*. Zwei Wochen nach Behandlung der *Candida albicans* entwickelte er eine konjugierte Hyperbilirubinämie mit erhöhten Leberwerten und leicht erhöhtem CRP als Ausdruck der HCMV – Infektion. Im Alter von 34 Tagen wurde eine Lumbalpunktion durchgeführt, welche negativ auf HCMV war. Eine Cystische Fibrose wurde bereits vermutet und im Alter von fünf Monaten schließlich diagnostiziert.

Die Studie von Miron et al. [17] zeigte, dass vier von 70 (5.7%) gestillte Kinder seropositiver Mütter mit HCMV infiziert wurden. Im Urin war HCMV im Alter von drei bis sieben Wochen post partum nachweisbar. Eines der infizierten Neugeborenen zeigte eine schwere Symptomatik mit respiratorischer Dekompensation, hämodynamischer Instabilität, Hepatosplenomegalie und erhöhten Leberenzymen. Zwei weitere infizierte Kinder zeigten eine milde Erkrankung mit Laborveränderungen ohne klinische Symptomatik. Beim vierten Kind verlief die Infektion komplett asymptomatisch.

In der Studie von Jim et al. [18] konnte bei 35 von 36 HCMV – seropositiven Müttern HCMV – DNA in der Muttermilch nachgewiesen werden. Die HCMV – Übertragungsrate betrug 13.8% (5 von 36 Müttern) und die Infektionsrate betrug 15% (6 von 40 Kindern). Virolaktie wurde bei einer Mutter fünf Tage post partum, bei drei Müttern zwei Wochen und bei zwei Müttern sechs Wochen post partum festgestellt. Bei den infizierten Kindern wurde das Virus im Urin durchschnittlich am 77. Lebenstag (zwischen drei und 24 Wochen) nachgewiesen. Die

durchschnittliche Zeit des Auftretens von Sepsis – artigen Symptomen und Hyperbilirubinämie betrug  $72.2 \pm 65.2$  Tage (Range 21 bis 147 Tage) für Sepsis – artige Symptome und  $18.2 \pm 6.2$  Tage (Range 10 bis 28 Tage) für Hyperbilirubinämie. Die infizierten Kinder waren signifikant größer und schwerer, ansonsten bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen infizierten (6) und nicht – infizierten (34) Kindern.

Vollmer et al. [19] beschrieben den Beginn der HCMV – DNA Virurie bei den Neugeborenen zwischen 23 und 190 Tagen. Bei 5 Kindern wurde eine Virurie im Rahmen der klinischen "follow – up" – Untersuchungen nach Entlassung von der neonatologischen Station nachgewiesen. Bei "follow – up" – Untersuchungen im Alter von zwei bis viereinhalb Jahren zeigten 14 (64%) von 22 Kindern eine andauernde Virusausscheidung im Urin. Die Virurie dauerte zwischen 95 und 1612 Tage (Mittelwert 1090 Tage). Es bestanden keine Unterschiede zwischen HCMV – positiven und HCMV – negativen Kindern in Hinblick auf neurologischen Status, motorische Entwicklung, sowie Sprachentwicklung. Zwei HCMV – positive und drei HCMV – negative Kinder wurden als neurologisch suspekt eingestuft. Die motorische Entwicklung war bei jeweils drei HCMV – positiven und drei HCMV – negativen Kindern verzögert. Je acht HCMV – positive und HCMV – negative Kinder zeigten eine Sprachentwicklungsverzögerung. Kein Kind zeigte einen sensorineuralen Hörverlust oder Schwerhörigkeit. Bei fünf Kindern fand man eine verminderte Compliance des Trommelfells ohne Hörbeeinträchtigung. Anthropometrische Daten zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen HCMV – positiven und HCMV – negativen Kindern.

In der Studie von Meier et al. [20] wird eine Transmissionsrate von seropositiven Müttern auf frühgeborene Kinder von 38% (21 von 55) angegeben. Eine postnatale HCMV – Infektion konnte für 12 der 21 Kinder (57%) nachgewiesen werden. HCMV – DNA konnte bei diesen Kindern nicht früher als zwei Wochen post partum im Urin nachgewiesen werden. Zwei der infizierten Kinder (10%) zeigten eine symptomatische Infektion mit sepsisartigen Symptomen, Hepatitis mit Cholestase und Ikterus, sowie Neutropenie und "second – stage" bronchopulmonaler Dysplasie. Da für die Symptome keine andere Ursache als

eine HCMV – Infektion angenommen werden konnte, wurden die Kinder mit Ganciclovir behandelt, woraufhin sich die Symptome besserten.

In der Studie von Yasuda et al. [21] wurden die meisten Muttermilchproben zwei Wochen post partum positiv (17 von 18 [94%] getestet) und die Anzahl der viralen DNA Kopien stieg zu Spitzenwerten im Zeitraum von vier bis sechs Wochen post partum an. Bei drei von 30 Kindern (10%), die mit HCMV – positiver Muttermilch ernährt wurden, wurde HCMV – DNA nachgewiesen, doch keines dieser drei Kinder zeigte HCMV – assoziierte klinische Symptome.

Hamprecht et al. [22] wiesen eine sehr hohe Reaktivierungsrate von HCMV bei seropositiven Müttern nach. 73 der 76 Mütter (96%) hatten während der Laktation nachweisbare HCMV – DNA in der Muttermilch. Sowohl HCMV – DNA als auch das infektiöse Virus selbst waren im "milk – whey" von Überträgerinnen signifikant früher nachweisbar als in dem von Nicht – Überträgerinnen (dreieinhalb gegenüber acht Tagen für DNA; 10 verglichen mit 16 Tagen für den Virus). Ähnlich verhielt es sich mit der Nachweisbarkeit von HCMV – DNA und Virus in Milchzellen (16 versus 34 Tage für DNA; 19 versus 40 Tage für das Virus). Im Mittel wurde HCMV – DNA fünf Tage post partum in der Milch der Überträgerinnen nachgewiesen. Alle beobachteten Symptome (sepsisartige Symptome, Hepatopathie, Thrombozytopenie, Neutropenie, Hepatitis, Myoklonien, Petechien) verschwanden spontan, kein Kind starb.

Bei Maschmann et al. [23] wurden 33 von 87 Neugeborenen (38%) seropositiver Mütter infiziert. Allen Fällen ging eine Ausscheidung von HCMV oder HCMV – DNA in die Muttermilch voraus. 16 der 33 infizierten Kinder (48%) zeigten zumindest ein Symptom. Das am häufigsten beobachtete Symptom war eine absolute Neutropenie (14 von 33 Kindern [42%]). Bei zwei Kindern konnten neurologische Abnormalitäten (Myoklonien der Arme und Beine, mit spontaner Verbesserung) im Alter von sechs und neun Tagen post partum gefunden werden.

Bei Vochem et al. [15] lag der Beginn der Virusexkretion in die Muttermilch bei 21 von 23 Frauen (96%) innerhalb von vier Wochen post partum. Die übrigen zwei Frauen begannen zwischen der sechsten und achten Woche das Virus in die

Muttermilch auszuscheiden. In 39% der Fälle (neun von 23 Frauen) konnte die HCMV – Exkretion mittels PCR Methoden früher nachgewiesen werden als mit konventionellen Zellkulturen. In der ersten Woche der Laktation konnten mittels Zellkulturen in 30% positive Befunde erhoben werden, während mittels PCR in 70% positive Befunde vorlagen. In 14 von 23 Fällen (61%) versiegte die Virusausscheidung in die Muttermilch während des Aufenthalts an der Klinik. 17 von 29 Kinder (59%), die HCMV – positive Milch bekamen, wurden infiziert. Fünf dieser Kinder wurden im Alter von zwei Monaten infiziert, fünf Kinder zwischen zwei und drei Monaten, und sieben Kinder waren zum Zeitpunkt der Infektion bereits älter als drei Monate. Von den spät infizierten Kindern zeigte nur eines milde Zeichen einer Infektion (Rhinitis, leicht erhöhte Zahl an Apnoen, leichte CRP – Erhöhung bis 2.0 mg/dl und ein vorübergehender Abfall der Thrombozyten). Vier weitere spät infizierte Kinder zeigten eine transiente Neutropenie. Fünf der früh infizierten Kinder wiesen deutliche Zeichen einer Infektion auf (sepsisartige Symptome, geblähter Bauch, Apnoe, Bradykardie, Hepatopathie, Hepatosplenomegalie, Hepatitis, erhöhte Leberwerte, Thrombozytopenie, Neutropenie, Myoklonien, Petechien, Respiratory Distress, Hyperbilirubinämie, Cholestase, Ikterus, graue Hautfarbe, Pneumonitis, Lymphadenopathie, makulopapulöser Rash). In Abbildung 7 ist die mittlere zeitliche Manifestation der Symptome dargestellt. Abgesehen vom HCMV – Nachweis im Urin konnte HCMV auch in Plasma und Leukozyten nachgewiesen werden. In Tracheal- und Pharyngealsekreten der früh infizierten Kinder konnte ebenfalls HCMV gefunden werden. Die serologische Untersuchung auf HCMV – IgM war bei allen Kindern nach Beginn des Virusnachweises positiv.

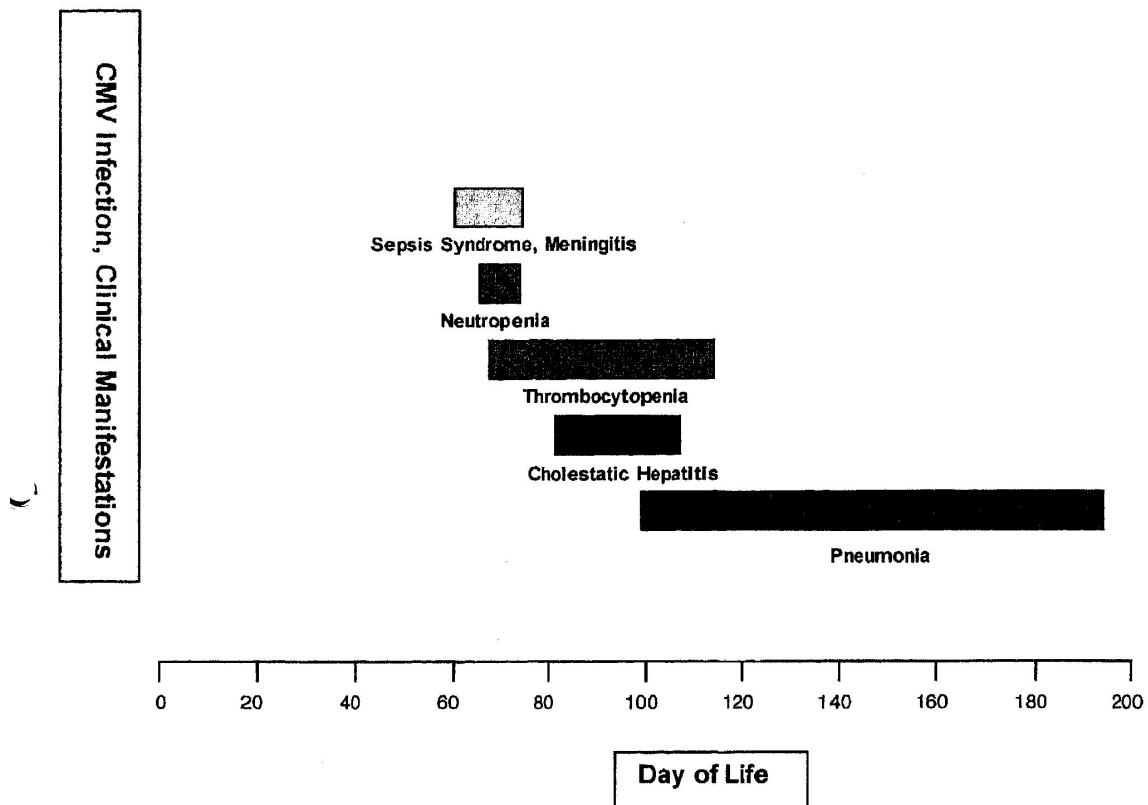


Abbildung 7: Symptome und deren zeitliches Auftreten; übernommen aus Vochem et al. [15]

In einer weiteren Studie von Vochem et al. [24] wurde bei 16 Frühgeborenen eine HCMV – Infektion durch Transmission über die Muttermilch nachgewiesen. Zwischen dem 30. und 85. Lebenstag wurde erstmals HCMV im Urin ausgeschieden (Mittelwert 54 Tage). Alle Mütter HCMV – infizierter Kinder waren HCMV – IgG – positiv und bei allen konnte HCMV in der Muttermilch zwischen Tag acht und Tag 119 nachgewiesen werden. Bei 15 von 17 HCMV – IgG – positiven Müttern (88%) wurde HCMV in der Muttermilch nachgewiesen. Ende der ersten Woche post partum sezernierten bereits acht von 15 Müttern HCMV in die Muttermilch. Die klinische Symptomatik der Kinder war sehr heterogen. Acht Frühgeborene (50%) zeigten nur milde Symptome (Splénomegalie, Lymphadenopathie, Neutropenie). Die übrigen acht Kinder (50%) hatten ausgeprägtere Symptome (sepsisartiges Krankheitsbild, Apnoen, Bradykardien, geblähtes Abdomen, graues Hautkolorit). Bei diesen Kindern wurde zur Zeit der klinischen Verschlechterung erstmals HCMV – DNA mittels PCR in Blut oder Urin nachgewiesen. Gleichzeitig oder mit leichter Verzögerung wurde auch die Urinkultur positiv auf HCMV. Der mittlere Infektionszeitpunkt lag bei den

symptomatisch infizierten Kindern bei 46 Tagen und war damit um 16 Tage früher angesiedelt als der mittlere Infektionszeitpunkt der nicht symptomatischen Kinder mit 62 Tagen. Der Zeitpunkt des ersten HCMV – Nachweises in der Muttermilch unterschied sich zwischen diesen beiden Gruppen allerdings nicht.

In zwei Fallberichten von Rieger-Fackeldey et al. [26], wird zunächst ein weibliches Frühgeborenes der vollendeten 25. Schwangerschaftswoche beschrieben. Nach Therapie eines Surfactantmangelsyndroms kam es ab der dritten Lebenswoche zu einer respiratorischen Verschlechterung mit konsekutiver Notwendigkeit der Hochfrequenz – Oszillationsbeatmung, sowie zu einer sepsisartigen Symptomatik bei negativem Erregernachweis. Weitere Symptome waren eine Hepatomegalie, sowie in der Folge Krampfanfälle und eine Thrombozytopenie. Nach neuerlicher respiratorischer Verschlechterung konnte erst durch Zugabe von inhalativem Stickstoffmonoxid eine Stabilisierung, und nach 44 Tagen die erfolgreiche Extubation, erzielt werden. Die Diagnosestellung der HCMV – Infektion erfolgte in der sechsten Lebenswoche, woraufhin eine Behandlung mit Ganciclovir (6mg/kg KG i.v.) über 24 Tage (Abbruch bei therapiebedingter Neutropenie) durchgeführt wurde. Als Komplikation des neonatalen Intensivaufenthaltes traten eine bronchopulmonale Dysplasie mit Sauerstoffbedarf bis zu einem korrigierten Alter von sechs Monaten, sowie eine Frühgeborenenretinopathie Grad III (beidseitige Laserkoagulation) auf. Der Nachweis von HCMV – DNA im Urin gelang im Alter von 20 Lebenstagen, mit 38 Tagen war auch HCMV – early – antigen im Urin positiv. In der sechsten Lebenswoche wurde mittels PCR HCMV – DNA in Serum, Trachealsekret, Urin, Liquor und Muttermilch nachgewiesen. Die Mutter war bei Diagnosestellung HCMV – IgG – positiv und IgM – negativ.

In einem weiteren Fall wird über einen ebenfalls mit 25 vollendeten Schwangerschaftswochen per sectionem geborenen Jungen berichtet. Die APGAR – Werte betragen 5 / 8 / 9. Die Beatmung war anfangs nach zweimaliger Surfactantgabe unproblematisch, später kam es durch Bildung großer Mengen zähen Bronchialsekrets wiederholt zu Tubusobstruktionen. Radiologisch fand sich eine Eintrübung beider Lungen ab der dritten Lebenswoche mit vermehrter Lungengerüstzeichnung beidseits. Sowohl eine Bakterien- sowie Pilzinfektion konnten durch mehrfache Tests ausgeschlossen werden. Die Diagnosestellung

der HCMV – Infektion erfolgte zu Beginn der fünften Lebenswoche mit nachfolgender Ganciclovir – Therapie über 21 Tage (5mg/kg KG i.v.). Am 30. Lebenstag war HCMV – early antigen im Urin positiv, HCMV – DNA konnte in derselben Woche in Serum, Urin, Trachealsekret und Muttermilch nachgewiesen werden. Die Mutter war einen Monat vor der Entbindung HCMV – IgG – positiv und IgM – negativ (retrospektiv). Die Extubation konnte nach 41 Tagen erfolgen. Als Komplikation des neonatalen Intensiv Aufenthaltes traten ebenfalls eine bronchopulmonale Dysplasie mit Sauerstoffbedarf bis zu einem korrigierten Alter von sechs Monaten, sowie eine Frühgeborenenretinopathie Grad III (beidseitige Laserkoagulation) auf. Im korrigierten Alter von sechs Monaten bestanden ein Entwicklungsrückstand sowie Verhaltensauffälligkeiten.

Neuberger et al. [25] berichten in ihrer Studie über den Verlauf von 40 mit HCMV infizierten Frühgeborenen. In einem Zeitraum von 8.5 Jahren wurden 463 Kinder auf HCMV gescreent (Geburtsgewicht <1000g, Gestationsalter ≤ 30 Wochen) wovon 40 eine HCMV – Infektion, erworben über die Muttermilch, aufwiesen (8.6%). Jedes Kind erhielt die Milch der eigenen Mutter, welche bis zur Verwendung bei 4°C, in seltenen Fällen bei -20°C, gelagert wurde. Verglichen wurden diese 40 Frühgeborenen mit einer „gematchten“ Kontrollgruppe (übereinstimmend in Geschlecht, Gestationsalter ± 1 Woche und Zeitpunkt der Zuweisung).

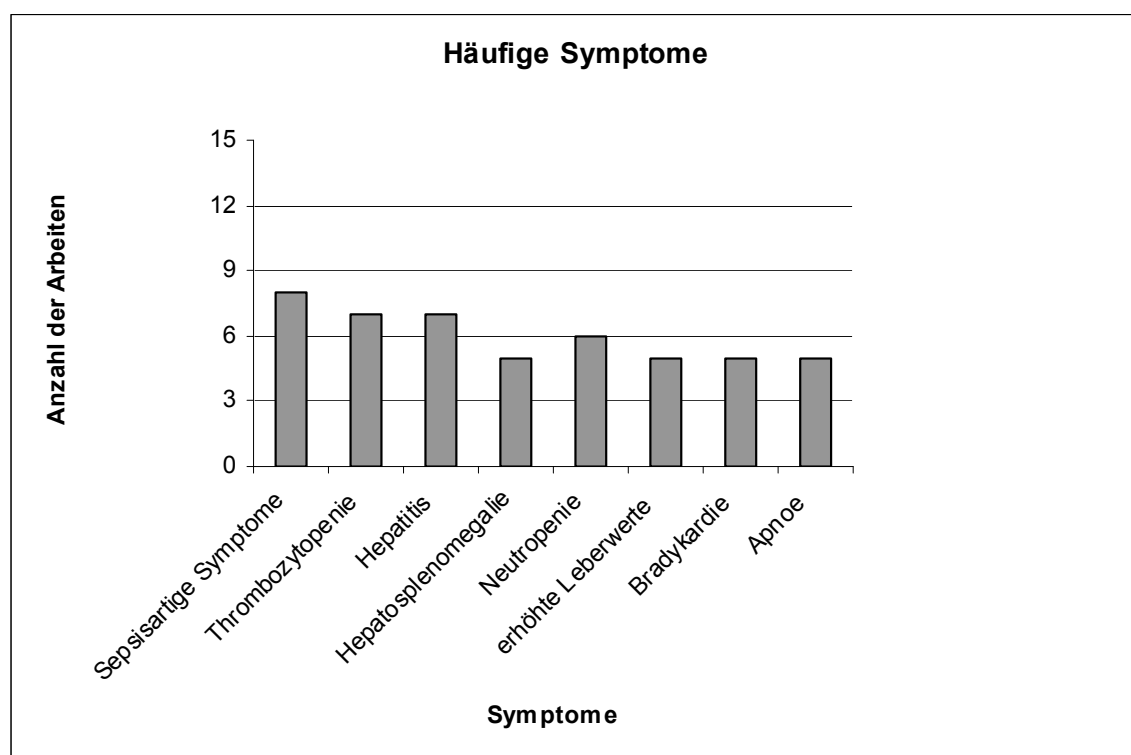
In der Gruppe der HCMV – infizierten Kinder konnten signifikant häufiger vorübergehende Neutropenien und Thrombozytopenien gefunden werden. Die gefundenen Thrombozytopenien waren jedoch nicht schwerwiegend genug um die Gabe von Thrombozytenkonzentraten zu rechtfertigen. Ebenfalls konnte ein signifikanter Unterschied in Bezug auf mittelmäßig erhöhte CRP – Werte gezeigt werden (zwischen 10 und 20 mg/L; 13 HCMV – positive Kinder vs. 1 Kontrollkind). Eine direkte Hyperbilirubinämie konnte bei 3 Kindern aus der HCMV – positiven – Gruppe und bei einem Kind aus der Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Eine Cholestase wurde ebenfalls signifikant häufiger bei HCMV – positiven Kindern gefunden.

Hingegen konnten keine Unterschiede zwischen HCMV – infizierten Kindern und Kontrollkindern hinsichtlich intraventrikulärer Blutung (IVH), periventrikulärer Leukomalazie (PVL), nekrotisierender Enterokolitis (NEC), bronchopulmonaler

Dysplasie (BPD) oder Retinopathie des Frühgeborenen (ROP) > Grad 2 gefunden werden.

Zusammenfassend weisen die Ergebnisse der Studie von Neuberger et al. darauf hin, dass die Übertragung des HCMV über die Muttermilch ein Cofaktor für die Verschlechterung der klinischen Symptomatik einer präexistenten pulmonalen, hämatologischen oder hepatischen Vorschädigung bei Frühgeborenen sein kann. Es wird jedoch als unwahrscheinlich angesehen, dass eine HCMV – Übertragung über die Muttermilch Symptome bei ansonsten gesunden Frühgeborenen auslöst, welche das neonatologische Outcome verschlechtern könnten.

**Abbildung 8: Darstellung der häufigsten klinischen Symptome des Neugeborenen nach HCMV – Infektion über die Muttermilch. [15 – 26]**



**Tabelle 4: Möglichkeiten der symptomatischen HCMV – Infektion und deren Auftreten bei über die Muttermilch aquirierter HCMV – Infektion.**

Artikel	[15]	[16]	[17]	[18]	[19]	[20]	[21]	[22]	[23]	[24]	[25]	[26]
<b>Sepsisartige Symptome</b>	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0
<b>Hepatopathie</b>	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
<b>Hepatosplenomegalie</b>	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0
<b>Thrombozytopenie</b>	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1
<b>Neutropenie</b>	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1
<b>Hepatitis</b>	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1
<b>Myoklonien</b>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
<b>Petechien</b>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
<b>RDS</b>	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<b>Hyperbilirubinämie</b>	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1
<b>Bradykardie</b>	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1
<b>Apnoe</b>	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1
<b>Cholestase</b>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1
<b>Ikterus</b>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<b>Geblähter Bauch</b>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
<b>Graue Hautfarbe</b>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
<b>Erhöhte Leberwerte</b>	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0
<b>Pneumonitis</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Lymphadenopathie</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Makulopapulöser Rash</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Legende: Studien als Referenzen angegeben.

1 = Symptom kommt in der Studie vor, 0 = Symptom kommt in der Studie nicht vor, RDS = respiratory distress syndrome

### **3.3 Langzeitfolgen nach HCMV – Infektion über die Muttermilch**

Bisher liegen erst wenige Studien zu Langzeitfolgen nach HCMV – Infektion vor. In den nachfolgend beschriebenen Studien wurde das Langzeit – Outcome bei mit HCMV infizierten Kindern im Alter zwischen neun Monaten und vierzehn Jahren untersucht. Hauptsächlich wurden neurologische, motorische und sprachliche Entwicklungsverzögerungen beobachtet. Der mittlere Intelligenzquotient der infizierten Kinder unterschied sich nicht signifikant von dem der nicht infizierten Kinder.

Peckham et al. [28] zeigten an 46 HCMV – positiven Kindern Langzeitergebnisse im Alter zwischen ein und drei Jahren. Alle Kinder, die in dieser Studie evaluiert wurden, erwarben die HCMV – Infektion postnatal. Die Übertragung über die Muttermilch wurde als ein Hauptfaktor des postnatalen Erwerbs der HCMV – Infektion angesehen.

Nach einem Jahr waren 39% der Kinder seropositiver Mütter die gestillt wurden, infiziert. Vergleichsweise waren es nur 24% der nicht gestillten Kinder seropositiver Mütter. Bei seronegativen Müttern waren 11% der gestillten und 2% der "Flaschenkinder" infiziert. Ein Kind einer Mutter, die nicht stillte aber HCMV in das Kolostrum ausschied, erwarb die Infektion nach einem Jahr. Nach 30 Monaten schied nur eines von 25 Kindern, die noch alle mit 12 Monaten HCMV ausschieden, HCMV nicht mehr in den Urin aus. Dasselbe Kind schied dann aber nach 36 Monaten wieder HCMV in den Urin aus, sodass von einem falsch negativen Befund ausgegangen werden muss. Alle 13 Kinder die noch nach 36 Monaten untersucht wurden, zeigten eine persistierende HCMV – Ausscheidung in den Urin.

Kumar et al. [29] beschrieben bei 48 Kindern im Alter zwischen viereinhalb und 10.7 Jahren Langzeitergebnisse. In dieser Studie wurden drei Gruppen von Kindern untergebracht. Eine Gruppe mit kongenitaler HCMV – Infektion (17 Kinder), eine Gruppe mit postnatal erworbener HCMV – Infektion (allerdings nicht spezifisch über die Muttermilch erworben; 10 Kinder) und eine Gruppe mit HCMV – negativen Kindern (21 Kinder) als Kontrollgruppe.

Urin – Kulturen waren bei vier der kongenital infizierten Kindern positiv. Bei den postnatal infizierten Kindern waren alle Urin – Kulturen negativ. Von den HCMV – negativen Kindern hatten zwei im Alter von 7 1/2 bis acht Jahren eine HCMV – Infektion mit positiven Urin – Kulturen erworben.

Im Hinblick auf den neurologischen Befund wurden die folgenden Befunde erhoben. Der mittlere WISC – R IQ (Weschler Intelligence Scales for Children) der kongenital infizierten Kinder lag bei  $89.5 \pm 11.7$  und unterschied sich nicht signifikant von dem der nicht infizierten Kinder (Mittel 85.9) und dem der postnatal infizierten Kinder (Mittel 89.0). Der mütterliche IQ und der der Kinder korrelierten in allen drei Gruppen eng miteinander (Mütter der nicht infizierten Kinder 80.7, der kongenital infizierten Kinder 86.1 und der postnatal infizierten Kinder 84.5).

Die Untersuchungen des Entwicklungsstatus von Sprechen und Sprache zeigten, bei vier der kongenital infizierten Kinder (23.5%) abnormale auditive Schwellenwerte inklusive einem Kind mit unilateralem sensorineuralem Hörverlust. Zwei Kinder hatten leicht erhöhte Schwellenwerte (30 und 35 dB) unilateral bei 8000Hz. Ein Kind zeigte einen milden bis moderaten sensorineuralen Hörverlust bilateral bei 4000Hz (dies war jedoch nicht HCMV – assoziiert). Bei den postnatal infizierten Kindern konnten keine Gehörabnormalitäten festgestellt werden. Ein nicht infiziertes Kind wies einen milden unilateralen, sensorineuralen Gehörverlust (35 dB) auf. Die Auswertungen der Sprachevaluation waren generell bei allen Kindern nieder. Zusammenfassend trat in der Studie von Kumar et al. nur die Hörstörung als Langzeitfolge einer HCMV – Infektion hervor.

In einer weiteren Arbeit von Kumar et al. [30] wurden 21 von 81 Kindern (25.9%) postnatal mit HCMV infiziert. Von diesen 21 Kindern wurde aber nur eines gestillt. Die Mütter der infizierten Kinder waren jünger als die Mütter der nicht infizierten Kinder (Mütter infizierter Kinder  $16.9 \pm 1.5$  Jahre; Mütter nicht infizierte Kinder  $17.7 \pm 1.48$  Jahre). 16 (76%) der 21 Kinder wurden während der ersten 14 Lebenswochen infiziert. Alle 21 Kinder waren zum Zeitpunkt der Geburt asymptomatisch. Vier von 21 infizierten Kindern wiesen einen Titeranstieg zum Zeitpunkt der Kulturpositivität auf. Die Antikörperspiegel fielen bei den nicht infizierten Kindern rapide und CF – Ak (siehe oben) konnten mit sechs und 12 Monaten nicht mehr nachgewiesen werden. Plazenta – Kulturen waren bei zwei

von 18 Kindern positiv. Bei keinem der HCMV – negativen Kinder waren die Plazenta – Kulturen positiv.

Im Hinblick auf neurologische Auffälligkeiten konnte gezeigt werden, dass der mittlere IQ (Intelligenzquotient) der 21 postnatal infizierten Kinder sich mit 107 nicht signifikant von dem der nicht infizierten Kinder mit 102 unterschied.

Granström [31] untersuchte 46 von 116 HCMV – positive Kinder (39.7%) im Alter von zwei Jahren nach. Zwei der Kinder waren kongenital mit HCMV infiziert, bei fünf Kindern wurde eine perinatale Infektion vermutet (Diagnose im Alter zwischen sechs und 12 Monaten) die restlichen 39 hatten die HCMV – Infektion postnatal erworben. Die größten Unterschiede in dieser Studie fanden sich bei der Beurteilung der Sprach- und Sprechentwicklung. Bei der Beurteilung der Fein- und Grobmotorik waren nur geringe Unterschiede zu finden. Stehen auf einem Bein konnte von den nicht infizierten Kindern besser durchgeführt werden.

Zur Evaluation von Sprache und sozialer Entwicklung wurden folgende Methoden angewandt: 1. Zwölf verschiedene Bilder in einem Buch benennen, 2. Merken von zehn verschieden großen Objekten in Bildern (20cm x 20cm), 3. Merken von zehn verschiedenen Teilen des Körpers. Die maximale Punktezahl bei diesem Test lag bei 32. Weiters wurde eine kurze Überprüfung der Sprachentwicklung von einem Sprachtherapeuten durchgeführt. Dabei erreichten acht Kinder (sechs infizierte und zwei nicht infizierte Kinder) eine Punktezahl <15. Bei 13 Kindern wurde eine schwache Sprechperformance festgestellt. Die anderen Kinder bildeten Sätze mit durchschnittlich drei, oder zumindest zwei verschiedenen Worten. Drei der 13 Kinder mit schwacher Sprechleistung hatten jedoch eine hohe Punktezahl im Sprachtest (26, 27 und 30 Punkte). Von den zehn Kindern die die niedrigsten Werte im Sprachtest hatten und kaum sprachen, waren sieben aus der Infizierten – Gruppe und drei aus der Nicht – Infizierten – Gruppe. Drei dieser Kinder wiesen auch in den anderen Tests schlechte Werte auf. Bei ihnen wurde eine geringe Retardierung vermutet (zwei infizierte und ein nicht infiziertes Kind).

Weiters wurden die grob- und feinmotorische Entwicklung im Alter von zwei Jahren untersucht. Bei der Beurteilung der grobmotorischen Entwicklung wurde auf folgende Untersuchungen zurückgegriffen: 1. Werfen eines Balles, 2. auf einem Fuß mindestens eine Sekunde lang stehen, 3. mit beiden Füßen gleichzeitig springen, 4. Vorwärtsspringen, 5. mit einem Dreirad fahren, 6. auf

Zehenspitzen gehen, 7. Stufen auf und ab gehen. Für die Untersuchung der Feinmotorik wurden die folgenden Untersuchungen herangezogen: 1. Turm mit einer unterschiedlichen Anzahl von Blöcken (4, 6, 8, 9 Blöcke) bauen, 2. eine Brücke aus Blöcken nachbauen, 3. vertikale Linien abzeichnen, 4. einen Kreis nach Vorzeigen nachzeichnen, 5. eine Rosine aus einer Flasche nehmen. Stehen auf einem Bein fiel den infizierten Kindern schwerer als den nicht infizierten Kindern. Es konnten jedoch keine Zeichen einer Ataxie oder anderer Gleichgewichtsstörungen bei den HCMV – infizierten Kindern gefunden werden. Die Ergebnisse der anderen Untersuchungen zu Grob- und Feinmotorik waren bei den infizierten und den nicht infizierten Kindern nicht signifikant unterschiedlich.

### **3.4 Vorteile der Muttermilchernährung für das Frühgeborene**

Muttermilch besitzt gegenüber Kuhmilch weniger Eiweiß und Mineralstoffe, mehr Laktose, deutlich mehr sekretorisches IgA, mehr ungesättigte Fettsäuren und Lysozym. Laktoferrin ist ausschließlich in der Muttermilch zu finden. Dabei haben Mutter- und Kuhmilch den gleichen Energie- und Fettgehalt. [3, 32, 33]

Zu den Vorteilen des Stillens gegenüber der Säuglingsnahrung gehört dass sie kein Fremdeiweiß enthält und somit einen Schutz des Kindes vor früher Sensibilisierung bei familiärer Allergiebelastung darstellt. Weiters schützt Muttermilch durch sekretorisches IgA, Makrophagen und Lymphozyten vor Infektionserkrankungen. Muttermilch hat einen hohen Laktosegehalt. Laktose stellt einen Teil der Bifidusflora dar, die potentiell pathogene Keime an der Ausbreitung hindert. Im Gegensatz zur Säuglingsnahrung enthält humane Milch Lysozym, welches entzündungshemmend wirkt und Bakterien zerstört. Schließlich findet sich in der Muttermilch noch Laktoferrin, welches eine bessere Eisenresorption im Darm gewährleistet und Bakterien Eisen als Wachstumsgrundlage entzieht. [3, 33]

Das Hauptimmunglobulin der Muttermilch ist das sekretorische IgA. Seine höchste Konzentration liegt einige Tage post partum im Kolostrum vor. Hier beträgt die Konzentration bis etwa 50 mg/ml. Diese fällt anschließend bis auf einen basalen Wert von 1 mg/ml ab. Sekretorisches IgA dürfte seine Wirkung sowohl im Darm wie auch im respiratorischen System entfalten, in welches es beim „Gurgeln“

während des Stillens gelangen dürfte. Es wird vermutet, dass eine Komponente der frühen Muttermilch, des Kolostrum, einen stimulierenden Effekt auf die IgA produzierenden Lymphozyten des Kindes hat und so zu höheren IgA Spiegeln bei gestillten Kindern führt. [2, 32]

In der Milch sind auch antibakterielle Antikörper gegen *Clostridium tetani*, *Corynebakterium diptheriae*, *Diplococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, sowie Antikörper gegen Staphylolysin und Streptolysin enthalten. [2, 32]

Zwei weitere antibakterielle Faktoren der Muttermilch stellen Laktoferrin und Transferrin dar. Der Spiegel von Laktoferrin bewegt sich zwischen 1 und 6 mg/ml, während Transferrin nur in geringem Maße vorhanden ist. In Anwesenheit von Antikörpern und Bikarbonat entfaltet Laktoferrin eine starke antibakterielle Wirkung. Vermutlich indem es zu einer Deformierung der Transfer – RNA führt. Dieser Effekt von Laktoferrin kann durch Aufsättigung von Laktoferrin mit Eisen oder Zugabe von Zitrat, mit dem es einen Laktoferrin – Zitrat – Komplex bilden kann, inhibiert werden. Es konnte allerdings gezeigt werden, dass eine Eisentherapie bei Müttern keine negativen Auswirkungen auf die Funktion des Laktoferrin in deren Milch hatte. [2, 32]

Das Laktoperoxidase System stellt einen weiteren Abwehrmechanismus gegen Bakterien dar. Es konnte gezeigt werden, dass das Laktoperoxidase System gegen eine Reihe von Bakterien wirksam ist. Darunter finden sich Streptokokken, Pseudomonaden, *Escherichia coli* und *Salmonella typhimurium*.

Die humane Milch enthält dreitausend Mal mehr Lysozym als Kuhmilch. In vitro konnte gezeigt werden dass Lysozym gegen *Escherichia coli* und einige *Salmonella* – Arten wirksam ist. [32]

Des Weiteren wurden auch Leukozyten in der Muttermilch gefunden. Dabei handelt es sich vor allem um Makrophagen, Schaumzellen, polymorphkernige Leukozyten, sowie T- und B – Lymphozyten. Es konnte gezeigt werden, dass Makrophagen, Schaumzellen und Neutrophile gegen Staphylokokken, *Escherichia coli* und *Candida albicans* wirksam sind. Die Lymphozyten wirken vorwiegend gegen *Escherichia coli*. Lymphozyten sind in der Lage IgA frei zu setzen. Es konnte allerdings gezeigt werden, dass Kulturen von Makrophagen und B – Zellen mehr IgA freisetzen als B – Zellen alleine. Es wird daher angenommen, dass

Makrophagen als IgA Transportmoleküle dienen können, da sie selbst nicht in der Lage sind IgA zu produzieren. [2, 32]

Die Muttermilch enthält ebenso antivirale Bestandteile wie das bereits oben erwähnte sekretorische IgA.

Es wurde auch gezeigt dass Milchfette antivirale Eigenschaften aufweisen und in vivo wie auch in vitro die Infektiosität von Lipid – ummantelten Flavi- und Alphaviren senkten. Freie ungesättigte Fettsäuren und Monoglyzeride sind hierfür verantwortlich. [32]

Weitere im Detail noch nicht erforschte Makromoleküle (Nicht – Immunglobuline), gehören ebenfalls zu den antiviralen Faktoren der humanen Milch. Ihre antivirale Aktivität wurde bei Herpes Simplex Virus und Vesicular Stomatitis Virus nachgewiesen. [32]

Von den in der Muttermilch enthaltenen Lymphozyten kann Interferon nach entsprechender vorausgegangener Stimulation gebildet werden. Wie stark dieser Effekt jedoch tatsächlich ausfällt, ist bisher noch nicht ausreichend beantwortet worden. [32]

Die Zellen der Muttermilch und im Speziellen des Kolostrums dürften durch drei antivirale Mechanismen ihre schützende Aktivität entfalten. Erstens durch die Freisetzung von Interferon, zweitens durch direkte Phagozytose und drittens mittels Produktion spezifischen IgA's. Trotz allem gibt es keine direkten Beweise, dass Milchzellen durch irgendeine dieser Mechanismen eine virale Infektion in vivo beeinflussen. Es gibt aber Beweise, dass Makrophagen und Neutrophile zelluläre Bestandteile, Bakterien und Pilze phagozytieren. Vermutlich geschieht dies auch mit Viren. [32]

In Bezug auf die Frage nach der potentiellen Infektionsgefahr durch Kolostrum zeigte sich, dass bei einem beträchtlichen Prozentsatz an Muttermilchproben Virus – DNA in den ersten 7 Tagen nachgewiesen werden konnte. Die Angaben in der Literatur schwanken hier zwischen 20% [21] und 58.3% [18].

Bezüglich des Effektes der Verfahren zur Inaktivierung des HCMV in der Muttermilch mittels Erhitzen oder Tiefrieren auf die antibakteriellen und antiviralen Inhaltsstoffe der Muttermilch siehe Seite 44 / 45 (Tabelle 5 und 6).

Die Milch von Müttern frühgeborener Kinder unterscheidet sich sowohl in Menge wie auch in Zusammensetzung von der Milch von Müttern reifgeborener Kinder.

Die so genannte „preterm – milk“ enthält höhere Konzentrationen von totalem Stickstoff, Eiweißstickstoff, Natriumchlorid, Magnesium, Eisen, Kupfer, Zink und einen höheren Gehalt an IgA bei früher Laktation. Die Gründe für die andersartige Zusammensetzung der „preterm – milk“ sind noch nicht gesichert. Es wird jedoch vermutet, dass die Zusammensetzung in Zusammenhang mit der oft geringeren Menge die an Milch von der Mutter eines Frühgeborenen produziert wird steht. [34]

Die Vorteile einer Ernährung mit Muttermilch für Frühgeborene entsprechen den Vorteilen für Reifgeborene. Allerdings kommen bei Frühgeborenen noch einige zusätzliche positive Effekte hinzu. So wurde bei gestillten Frühgeborenen eine stärkere Gewichtszunahme nach Entlassung aus dem Krankenhaus, eine niedrigere Infektionsrate und eine verminderte Inzidenz an retrolentaler Fibroplasie im Vergleich zu einer Ernährung durch andere Milchen gefunden. Weitere wichtige Vorteile einer Ernährung des Frühgeborenen mit Muttermilch sind ein protektiver Effekt gegen nekrotisierende Enterokolitis (NEC), Schutz vor Infektionen allgemein, ein vermindertes Allergierisiko, eine verbesserte Retinafunktion, eine verbesserte neurokognitive Entwicklung und eine größere Toleranz gegenüber enteraler Ernährung. [35]

Letztere beruht darauf, dass Muttermilch den Darm schneller passiert als spezielle Formulanahrungen für Frühgeborene. Bei mit Formulamilchen ernährten frühgeborenen Kindern werden eine erhöhte Rate an Erbrechen und ein größeres Magenrestvolumen gefunden. Daraus resultiert, dass es bei mit Formulamilchen ernährten Frühgeborenen länger dauern kann eine voll enterale Ernährung aufzubauen. [34]

In Bezug auf die neurokognitive Entwicklung konnte gezeigt werden, dass Frühgeborene die mit der Milch der eigenen Mutter ernährt wurden, im Alter von 18 Monaten höhere „developmental scores“ und im Alter von 7.5 bis 8 Jahren höhere Intelligenzquotienten aufwiesen als anders ernährte Kinder. Diese Ergebnisse wurden bereits hinsichtlich demographischer, sozialer und klinischer Faktoren untersucht und angeglichen. [34]

Weiters konnte gezeigt werden, dass die Sauerstoffsättigung während des Stillens bei Frühgeborenen höher ist als während des Saugens an der Flasche. Während des Fütterns mit der Flasche atmen Frühgeborene nicht während des Saugens.

Stattdessen wechseln sie kurze Saugepisoden mit Atemzügen ab. Im Gegensatz dazu kombinieren sie während des Stillens Atemzüge und Saugen. [35]

In der Muttermilch konnten unterschiedliche Hormone und Wachstumsfaktoren nachgewiesen werden. Unter Anderem konnte bei Frühgeborenen gezeigt werden, dass „epidermal – growth – factor“ (EGF) die Darmwand durchdringt und in die Zirkulation des Kindes gelangt. Es bleibt hier die wichtige Frage, ob die stillende Mutter durch in der Muttermilch enthaltene Hormone und Wachstumsfaktoren auch einen Einfluss auf den Metabolismus und die Entwicklung des frühgeborenen Kindes ausübt. [34]

Durch epidemiologische Daten steht die Muttermilchernährung auch in Zusammenhang mit einer niedrigeren Inzidenz an juvenilem Diabetes und Malignomen, vor allem Lymphomen. Bezüglich Diabetes werden die Daten noch zusätzlich durch Antikörper im Serum von erstdiagnostizierten diabetischen Kindern untermauert. Hierbei handelt es sich um Antikörper gegen eine Aminosäuresequenz von bovinem Serumalbumin. Diese Antikörper kreuzreagieren mit Antigenen an der Oberfläche von pankreatischen  $\beta$  – Zellen.

Ein weiterer Vorteil des Stillens ist die Förderung der Mutter – Kind – Beziehung („bonding“). Dies ist vor allem bei Frühgeborenen wichtig, die oft lange Zeit auf einer Neugeborenen Intensivstation verbringen müssen [35]. Die Vorteile der Muttermilchernährung bleiben über die Stillperiode hinaus bis zum Alter von einem Jahr erhalten und sind sowohl bei partiell gestillten wie auch bei voll gestillten Kindern zu beobachten. [34]

Ein detaillierterer Überblick zu diesem Thema übersteigt den Rahmen dieser Übersichtsarbeit, daher verweise ich lediglich auf die diesbezügliche weiterführende Literatur. [36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43]

### **3.5 Verhinderung der HCMV – Transmission über die Muttermilch**

Koenig et al. [44] untersuchten Muttermilchproben bei drei verschiedene Gruppen Neugeborener: unter 32 Wochen (36 Proben) – Gruppe, 32 bis 36 6/7 Wochen (32 Proben) – Gruppe und über 37 Wochen (33 Proben) – Gruppe. Untersucht wurden die Veränderungen in der Zusammensetzung der Muttermilch bei „Freezing“ und „Heating“ in Hinblick auf Gesamt – Protein, Lysozym, IgA, IgG und IgM. 101 Colostrumproben wurden ebenfalls untersucht.

Beim Erhitzen konnte gezeigt werden, dass die mittlere totale Proteinkonzentration durch Pasteurisieren (62.5°C für 30 Minuten) deutlich gesenkt wurde. Die Reduktion (roh gefroren / pasteurisiert) verhielt sich in allen drei Gruppen ähnlich Gruppe 1:  $8.9 \pm 2.4 / 7.7 \pm 2.1$ , Gruppe 2:  $10.2 \pm 1.9 / 8.8 \pm 1.9$ , und Gruppe 3:  $7.7 \pm 1.5 / 6.7 \pm 1.1$  g/dl. Die Lysozymkonzentration wurde ebenfalls in allen drei Gruppen signifikant gesenkt (Gruppe 1:  $705.6 \pm 847.1 / 242.7 \pm 343.3$ , Gruppe 2:  $788.3 \pm 937.9 / 110.5 \pm 139.0$ , Gruppe 3:  $545.5 \pm 429.8 / 140.1 \pm 246.6$  g/dl). IgA wurde ebenfalls in allen drei Gruppen durch Pasteurisieren gesenkt, allerdings war dieser Effekt in Gruppe 1 weniger stark ausgeprägt als in den anderen zwei Gruppen (Gruppe 1:  $3.102 \pm 1.360 / 2.032 \pm 1.115$ , Gruppe 2:  $3.004 \pm 1.303 / 1.331 \pm 0.878$ , Gruppe 3:  $2.250 \pm 1.267 / 0.858 \pm 0.521$  g/dl). Die IgG – Konzentration wurde ebenfalls durch Pasteurisieren in allen drei Gruppen gesenkt, stärker jedoch in Gruppe 1 ( $0.076 \pm 0.038 / 0.018 \pm 0.026$ , Gruppe 2:  $0.047 \pm 0.042 / 0.010 \pm 0.020$ , Gruppe 3:  $0.054 \pm 0.037 / 0.015 \pm 0.023$  g/dl). IgM war ohnehin nur in sehr geringen Konzentrationen im Kolostrum vorhanden und war nach der Pasteurisierung nicht mehr nachweisbar.

Beim Einfrieren der Muttermilch zeigten die Kolostrumproben, die roh bei -20°C eingefroren wurden, im Vergleich zu den pasteurisierten Proben äußerst geringe Veränderungen der Konzentrationen von Protein, Lysozym, IgA, IgG, IgM.

Hamprecht et al. [45] verwendeten Muttermilch von zwei seropositiven, zwei seronegativen und zwei gesunden Müttern von reifgeborenen Kindern (eine seronegativ, eine seropositive Überträgerin) für zehn Experimente mit Einfrieren bei -20°C für bis zu zehn Tage (18h, -20°C, n= 2; 4d, -20°C, n= 5; 10d, -20°C, n= 3), vier Holder – Pasteurisierungsexperimente (30 Minuten bei 62.5°C) und

vierzehn "short – term" Pasteurisierungsverfahren mit Erhitzen für zehn Sekunden (n= 6) und fünf Sekunden (n= 8) bei 72°C.

Sowohl bei der Holder- als auch bei der "short – term" Erhitzungsmethode konnte HCMV in jeder Stufe der Laktation ausgeschalten werden. Die Infektiosität war bereits bei den initialen sechs Experimenten mit Erhitzen bei 72°C für zehn Sekunden erfolgreich eliminiert worden, sodass man die folgenden Experimente bei 72°C für nur fünf Sekunden durchführte. Beide Verfahren, sowohl Holder- als auch "short – term" Pasteurisierung sind sehr effektive Verfahren um HCMV in der Muttermilch auszuschalten. Sowohl Infektiosität wie auch HCMV – RNA wurden komplett eliminiert. Beim Erhitzen auf 72°C, wie auch bei der Holder – Pasteurisierung wurde die Aktivität von AP (alkalische Phosphatase) und Lipase fast vollständig ausgeschalten. Hingegen konnten beim Erhitzen auf 62°C für zwei Sekunden bis zu 57% der AP – Aktivität und 10% der Lipase – Aktivität erhalten werden.

Virale DNA konnte durch Tieffrieren bei -20°C für 18 Stunden bis zu zehn Tagen nicht reduziert werden. Die Infektiosität von HCMV konnte nur in einem von zehn Experimenten eliminiert werden. In vier von zehn Fällen wurde die "viral – load" nur inkomplett zerstört und in den restlichen fünf Fällen sogar angehoben (bis zum 3.8fachen des Kontrollwertes). Eine hohe "viral – load" kann somit durch Tieffrieren nur sehr insuffizient reduziert werden.

Friis et al. [46] untersuchten die Inaktivierung von HCMV in der Muttermilch durch Lagern der Muttermilchproben bei -20°C für bis zu zehn Tagen, und Pasteurisieren bei 63°C für ein, zwei, vier, acht und 16 Minuten und anschließendem Kühlen in einem Eisbad. Pasteurisieren bei 63°C reduzierte HCMV in der Muttermilch deutlich (3600 pfu/ml zu etwa 10 pfu/ml nach einer Minute). Nach acht Minuten war kein HCMV mehr in der Muttermilch nachweisbar. Konservierung bei -20°C für mehr als drei Tage reduzierte HCMV um bis zu 99% (4300 pfu/ml zu etwa 10 pfu/ml nach den drei Tagen). HCMV – Titer wurden durch Zählung viraler Plaques in der Zellschicht nach Färbung mit Methylenblau bestimmt (pfu= plaque forming unit).

Welsh et al. [47] untersuchten in ihrer Studie die Effektivität von "Freezing", "Heating" und "Lipid antiviral activity" in Hinblick auf die Inaktivierung von HSV-1, Semliki Forest virus (SFV), Coxsackievirus B4 und HCMV in der Muttermilch.

Sowohl Erhitzen auf 20°C für 30 Minuten, wie auch auf 56°C für 30 Minuten führten nicht zu einer vollständigen Eliminierung von HCMV in der Milch. Bei beiden Methoden war noch infektiöses Virus nachweisbar. Hingegen brachten Erhitzen auf 62.5°C für 30 Minuten und Kochen bei 100°C für 5 Minuten (in versiegelten Tuben) eine Reduktion des Virus unter die Nachweisgrenze. Durch diese beiden Methoden war keine Infektiosität mehr gegeben. Nach der Kryokonservierung der Milch bei -15°C für zehn Tage war noch immer infektiöses HCMV nachweisbar.

Dworsky et al. [48] sammelten von 32 Müttern (zwei Gruppen: Gruppe 1: Mütter seropositiv und bereits HCMV in die Muttermilch ausgeschieden; Gruppe 2: Noch keine HCMV – Exkretion in die Muttermilch, diese Milch wurde mit 200 plaque forming units pro 0.2ml AD169 strain HCMV versetzt) Milchproben zwischen zwei und 18 Wochen post partum. Jede Probe wurde in drei bis zehn Teilproben aufgeteilt. Die Virusisolation aus der Muttermilch wurde in drei Gruppen durchgeführt: (1) Virusisolation ohne weiteres Vorgehen, (2) Virusisolation nach Lagerung bei 4°C oder -20°C für ein bis sieben Tage und (3) Virusisolation nach Hitzebehandlung bei 56°C oder 62°C für 30 Minuten.

Holder – Pasteurisierung bei 62°C eliminierte HCMV in zehn der artifiziell infizierten Proben. Die Behandlung bei 56°C eliminierte HCMV in sieben von zehn Proben (70%).

Nach 24 – stündiger Lagerung bei 4°C waren 19 (79.2%) von 24 Proben noch HCMV positiv (neun von 14 in Voruntersuchungen bereits positiven Proben, sechs von sechs im Vorfeld bereits als toxisch klassifizierten Proben und vier die im Vorfeld HCMV negativ waren). In Fünf Proben, die in Voruntersuchungen HCMV positiv waren, konnte nach 24 – stündiger Lagerung bei 4°C kein HCMV mehr nachgewiesen werden. Die Lagerung bei -20°C reduzierte die Infektiosität deutlicher als die Lagerung bei 4°C; nur eine von zehn initial HCMV – positiven Proben war nach wie vor HCMV – positiv. Bei Lagerung über sieben Tage wurde sowohl bei 4°C als auch bei -20°C bei allen 19 evaluierbaren Proben (die restlichen waren toxisch oder inadäquates Material) die Infektiosität eliminiert.

Zwölf von dreizehn artifiziell infizierten Proben (AD169 strain HCMV) zeigten eine positive Kultur im Vorfeld (eine Probe zeigte nie eine positive Kultur; es ist anzunehmen, dass dies aufgrund von neutralisierenden Faktoren in der Muttermilch der Fall war). Sieben von 11 dieser Proben (63.6%) gelagert bei 4°C und neun von 12 dieser Proben (75%) gelagert bei -20°C für 24 Stunden blieben HCMV – positiv. Nach Lagerung für sieben Tage waren noch eine von sechs Proben (16.7%) bei 4°C und fünf von 12 Proben (41.7%) bei -20°C HCMV – positiv.

Maschmann et al. [49] dokumentierten einen Fallbericht eines männlichen Frühgeborenen (28+1 Gestationswoche). Die Mutter, 36 Jahre alt und brasilianischen Ursprungs, war HCMV – seropositiv. Die Muttermilch wurde bei -20°C gefroren und dem Frühgeborenen ab dem zweiten Lebenstag verabreicht. Das Kind wurde mittels Kaiserschnittentbindung zur Welt gebracht, da eine intrauterine Wachstumsverzögerung vorlag (Geburtsgewicht 490g, Größe 28cm, Kopfumfang 21cm; alle Werte unter der 3. Perzentile). Des Weiteren zeigte das Kind eine unzureichende Gewichtszunahme während der nächsten Wochen (1000g nach 10 Wochen). Es entwickelte sich das Bild einer Hepatopathie mit Hepatomegalie, steigenden Leberwerten und steigender Bilirubinkonzentration mit starkem Verdacht auf eine kongenitale Lebererkrankung. Die Suche nach einer infektiösen, metabolischen oder genetischen Ursache war inkonklusiv. Hinzu kamen eine persistierende Thrombozytopenie und Anämie, die Transfusionen notwendig machten. Das HCMV – Monitoring zeigte während der ersten 16 Wochen keine Infektion an. Am 108. Lebenstag verschlechterte sich das klinische Bild rapide mit sepsisartigen Symptomen und schweren apnoischen Episoden. Die PCR – Ergebnisse für Leukozyten und Plasma waren zu diesem Zeitpunkt positiv. Am Tag 111 wurden auch PCR, IEA (immediate early antigen) und Virus – Kultur aus Urin und BAL (bronchoalveoläre Lavage) positiv. Es wurde keine antivirale Therapie verabreicht. Die zu Grunde liegende Pathologie verschlechterte sich, sodass das Kind schlussendlich am Tag 158 an respiratorischem Versagen aufgrund der enormen Hepatosplenomegalie verstarb. Retrospektive Analysen der gefrorenen Muttermilch, gegeben am Tag der klinischen Verschlechterung und später, zeigten die Präsenz von infektiösem Virus mit sehr hohem HCMV – DNA – Load. Das Kind bekam gefrorene Muttermilch von Tag 43 im Alter von 108 Tagen,

woraus eine "freezing – time" von 65 Tagen resultiert. Die Übertragung von HCMV trat wahrscheinlich zwischen Tag 72 (letzte HCMV – negative Urinprobe) und Tag 108 (Beginn der Symptome) auf. Sogar nach Einfrieren der Muttermilch bei -20°C für ein Jahr war es möglich infektiöses Virus aus der Molke – Fraktion dieser Muttermilch zu isolieren.

**Tabelle 5: Antivirale Faktoren in der Muttermilch, aktiv gegen Bakterien. Übernommen aus [32]**

<b>Antiinfektiver Faktor</b>	<b>In vitro aktiv gegen</b>	<b>Effekt des Erhitzens</b>
Sekretorisches IgA	E. coli; E. coli enterotoxin; C. tetani; C. diphtheriae; D. pneumoniae; Salmonella; Shigella	Stabil bei 56°C für 30 Min.; gering reduziert (bis 30%) bei 62.5°C für 30 Min.; zerstört bei Kochen
Laktoferrin	E. coli; Candida albicans	Zu 2/3 zerstört bei 62.5°C für 30 Min.
Laktoperoxidase	Streptokokkus; Pseudomonas; E. coli; Salmonella typhimurium	Kein Effekt bekannt, vermutlich zerstört bei Kochen
Lysozym	E. coli; Salmonella; M. lysodeikticus	Stabil bei 56°C für 30 Min.; Aktivitätsverlust von 97% bei Kochen für 15 Min.
Lipide	Staphylokokkus aureus	Stabil bei Kochen
Milchzellen	Phagozytose: E. coli; Candida albicans Sensibilisierte Lymphozyten: E. coli	Zerstört bei 62.5°C für 30 Min.

Legende: IgA= Immunglobulin A; E.= Escherichia; C.= Clostridium; D.= Diplokokkus; M.= Mycobacterium; Min.= Minuten

**Tabelle 6: Antivirale Faktoren in der Muttermilch, aktiv gegen Viren. Übernommen aus [32]**

<b>Antiinfektiöser Faktor</b>	<b>In vitro aktiv gegen</b>	<b>Effekt des Erhitzens</b>
Sekretorisches IgA	Polio Typen 1, 2 und 3; Coxsackie Typen A9, B3, B5; Echo Typen 6 und 9; Semliki Forest Virus; Ross River Virus; Rotavirus	Stabil bei 56°C für 30 Min.; gering reduziert (bis 30%) bei 62.5°C für 30 Min.; zerstört bei Kochen
Lipide	Herpes simplex Virus; Semliki Forest Virus; Influenza; Dengue; Ross River Virus; Murine Leukäie Virus; Japan B Enzephalitis Virus	Stabil bei Kochen
Nicht-Immunglobulin Makromoleküle	Herpes simplex Virus; Vesicular Stomatitis Virus	Zerstört bei 60°C; Stabil bei 56°C für 30 Min.; zerstört bei Kochen für 30 Min.
Milchzellen	Über induziertes Interferon aktiv gegen Sendai Virus	Zerstört bei 62.5°C für 30 Min.

Legende: IgA = Immunglobulin A; Min. = Minuten

Hinsichtlich der antiinfektiösen Faktoren ist lediglich das Erhitzen der Muttermilch auf 56°C für 30 Minuten ohne negative Auswirkungen [32], jedoch wird HCMV bei diesen Temperaturen nicht vollständig zerstört.

Tabelle 7: Übernommen von Biotest Pharmazeutika GmbH, A-1053 Wien.

**Verlust (%) an wirksamen Bestandteilen der FM  
bei der Verarbeitung (100 % <sup>Δ</sup> native FM)**

	Tiefrieren - 20°C	56°C 30'	Pasteurisieren	
			62,5°C 30'	70-73°C 15-30'
IgA	0 – 3	0	0 – 33	33 – 100
IgG	↓	0	34	97
IgM	↓	0	100	
Lysozym	↑ 124		0 – 23 – 36	95 – 100
Laktoferrin	0		0 – 63	94 – 100
C <sub>3</sub>	7	100	100	
Makrophagen	57		100	
Lymphozyten	85 – 100		100	
HIV		100		
CMV	(> 1 Wo.) 100		100	
Röteln-V.			100	
Herpes-V.			100	
Hepatitis-V.			?	
Staphylok.			85 – 100	

Legende: IgA = Immunglobulin A; IgG = Immunglobulin G; IgM = Immunglobulin M;  
 C<sub>3</sub> = Komplementfaktor 3; HIV = human immunodeficiency virus;  
 CMV = Cytomegalievirus; V. = Virus; Staphylok. = Staphylokokken

Tabelle 8: Effektivität der verschiedenen Verfahren zur Inaktivierung von HCMV in der Muttermilch.

	Einfrieren (-20°C)	Holder – Pasteurisierung (62.5°C)	„Short – Term – Heating“ (72°C)
<b>HCMV – infektiositätsreduzierender Effekt</b>	nicht effektiv [45, 47, 48, 49]	sehr effektiv [45, 46, 47, 48]	sehr effektiv [45]

**Tabelle 9: Effekte von Holder – Pasteurisierung, Short – Term – Heating und Kryokonservierung auf die immunologischen Faktoren der Muttermilch.**

<b>Effekt auf</b>	<b>Holder-Pasteurisierung</b>	<b>Short-Term-Heating</b>	<b>Kryokonservierung</b>
Sekretorisches IgA	reduziert [44]	vermutlich geringer Effekt	geringe Veränderung [44]
IgG	reduziert [44]		geringe Veränderung [44]
Laktoferrin	zu 2/3 zerstört [32]		
Laktoperoxidase	kein Effekt bekannt [32]		
Lysozym	reduziert [44]		geringe Veränderung [44]
Lipide	stabil [32]		
Milchzellen	zerstört [32]		
Nicht-Immunglobulin Makromoleküle	zerstört [32]		
Totale Proteinkonzentration	deutlich reduziert [44]		geringe Veränderung [44]
Lipase	10% erhalten [45]	fast vollständig zerstört [45]	

Legende: IgA = Immunglobulin A; IgG = Immunglobulin G

## 4 Diskussion

### 4.1 Internationale Empfehlungen

Die Ernährungskommission der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde [50] hat 2003 beziehend auf die Arbeiten von Hamprecht und Maschmann [22, 23] folgende Empfehlungen hinsichtlich des Handlings der Muttermilch in Bezug auf eine Verhinderung einer HCMV – Transmission herausgebracht:

- Erhebung des HCMV – Status der Mutter als Grundlage für jedes weitere Vorgehen bei drohender Frühgeburt
- Ist die Mutter HCMV – negativ, darf abgepumpte Milch unpasteurisiert verfüttert werden und sie darf ihr Kind jederzeit anlegen
- Ist die Mutter seropositiv, so ist das Kolostrum zu verwerfen da es nicht pasteurisiert werden kann und die Muttermilch muss pasteurisiert werden
- Die Pasteurisierung erfolgt mittels Holder – Verfahren bei 63°C über 30 Minuten
- Muttermilch soll bis zur vollendeten 34. Gestationswoche pasteurisiert werden (willkürlich gezogene Grenze)

Jenseits der 34. Gestationswoche ist das Anlegen an die Brust möglich, da zu diesem Zeitpunkt bereits ein annähernd ausgereiftes Immunsystem besteht und von einer gewissen Immunkompetenz ausgegangen werden kann.

Die American Academy of Pediatrics publizierte 2005 einen Artikel [51], in dem Stillen sowohl bei gesunden Reif- wie auch bei Frühgeborenen empfohlen wird. Diese Empfehlung basiert darauf, dass Muttermilch die beste Ernährung des neugeborenen Kindes bis zum Alter von 6 Monaten in Hinblick auf die Gesundheit, das Wachstum und die Entwicklung des Kindes ist. Es wird von der American Academy of Pediatrics auch darauf verwiesen, dass die Ernährung des Kindes mit Muttermilch sowohl die Inzidenz, wie auch die Schwere zahlreicher infektiöser Erkrankungen bei Frühgeborenen herabsetzt. Hierzu zählen unter anderen die

bakterielle Meningitis, Diarrhoe, Atemwegserkrankungen, nekrotisierende Enterokolitis, Bakteriämie, Otitis media, Harnwegsinfektionen und „late onset sepsis“.

Wie in der Arbeit von Hamprecht et al. [52] beschrieben, empfiehlt die French Society for the Safety of Nutrition keine rohe Muttermilch an frühgeborene Kinder mit einem Gestationsalter unter 32 Wochen oder einem Geburtsgewicht unter 1500 Gramm zu verfüttern.

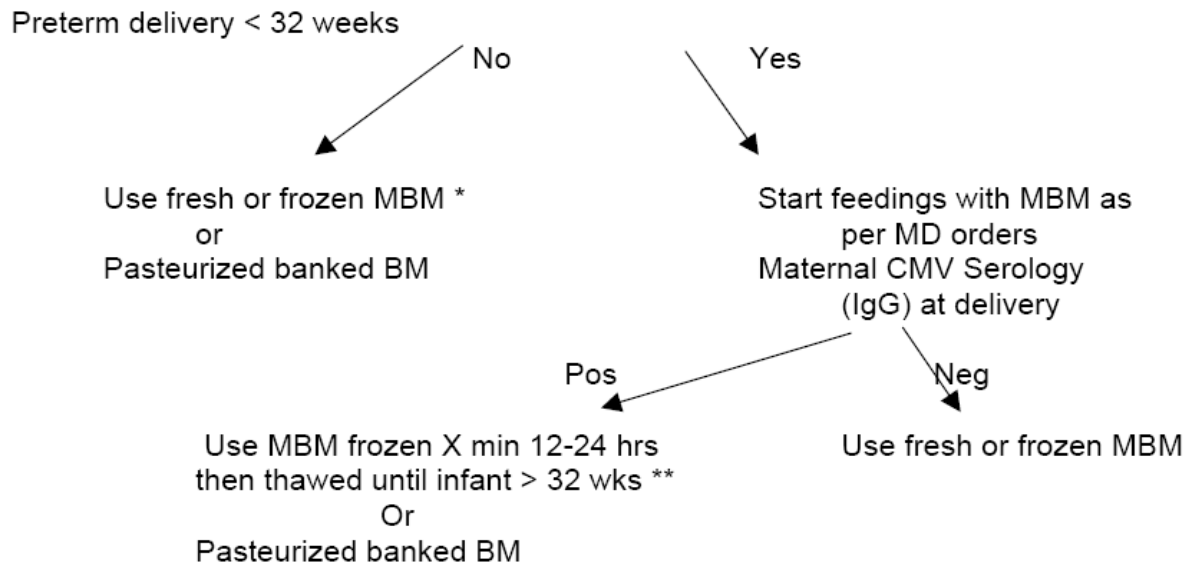
Am Universitätsklinikum Tübingen, dem Olgahospital Stuttgart und der Universitäts – Kinderklinik Würzburg wird primär unbehandelte Muttermilch, supplementiert und nicht pasteurisiert, auch an sehr kleine Frühgeborene HCMV – seropositiver Mütter nach Zustimmung der Eltern verfüttert.

An der Grazer Kinderklinik wird derzeit entsprechend den Empfehlungen der Österreichischen Ernährungskommission [50] bei allen Frühgeborenen < 32 Wochen bzw. < 1500g und HCMV – IgG – positiver Mütter (wird gescreent), die Muttermilch nur pasteurisiert an die Kinder verfüttert. Erst bei Erreichen eines Gewichtes von 1500 Gramm erfolgt die Frischverfütterung.

Weight [53] beschreibt das von der California Perinatal Quality Care Collaborative empfohlene Vorgehen bei Frühgeborenen unter 32+0 SSW:

- Bis der HCMV Status der Mutter geklärt ist, wird die Muttermilch bzw. das Kolostrum für 12 – 24 Stunden bei -20°C eingefroren und anschließend verfüttert
- Ist die Mutter HCMV positiv, wird die Muttermilch für 12 – 24 Stunden bei -20°C eingefroren und danach verfüttert. Dieses Vorgehen wird empfohlen bis das Frühgeborene 32+0 Gestationswochen alt ist
- Ist die Mutter HCMV negativ, kann die Muttermilch frisch verfüttert werden
- Die Pasteurisierung der Muttermilch bis zu einem Alter von 32+0 Gestationswochen ist nach wie vor möglich

**Abbildung 9: Entscheidungsbaum nach Weight [53].**



\* MBM = maternal breastmilk

\*\* Some clinicians may choose to use frozen MBM until infant is nursing directly from the mother.

Legende: hrs = hours; wks = weeks; CMV = cytomegalovirus; BM = breastmilk; Pos = positive; Neg = negative

Das Einfrieren der Muttermilch (bei  $-20^{\circ}\text{C}$ ) hat den Vorteil, dass es kostengünstiger und leichter anwendbar ist als die Pasteurisierung und zudem die antiinfektiös wirksamen Substanzen der Muttermilch erhalten bleiben. Zu bedenken ist andererseits aber, dass diese Methode nicht geeignet ist, um das Virus zu 100% zu eliminieren. Die Verfütterung von unbehandeltem Kolostrum HCMV – positiver Mütter kann aufgrund des potentiellen Infektionsrisikos auch nicht empfohlen werden, obwohl anzunehmen ist, dass in den ersten Tagen noch keine Virusübertragung stattfindet.

Goelz et al. [54] beschreiben drei Lösungsansätze zur Problematik der Transmission des HCMV von der Mutter auf das frühgeborene Kind während der Laktation:

1. Eine ausschließliche Ernährung mittels Formula – Milch, welche zwar das Risiko der HCMV – Infektion minimiert, dafür aber auf Kosten der Vorteile der Muttermilch geht.
2. Der Einsatz der Holder – Pasteurisierung (30 Min. auf 62.5°C) oder des Einfrierens (-20°C über eine variable Zeitspanne). Hier stellt die Holder – Pasteurisierung die derzeit einzige kommerziell verfügbare und standardisierte Methode dar. In der Milchindustrie kommt ein Kurzzeitpasteurisierungsverfahren zum Einsatz (5 Sek. auf 72°C), welches jedoch nicht bis zur Anwendungsreife in der Elimination des HCMV kam. Die Holder – Pasteurisierung vermindert die Spiegel von Lysozym, Laktoferrin und IgG, und eliminiert maternale Lymphozyten zu 100%. Die HCMV – Infektiosität kann durch die Hitzebehandlung allerdings vollständig eliminiert werden. Goelz et al. verweisen darauf, dass das „infektiöse Fenster“ vermutlich der 2. bis 8. Laktationswoche entspricht. In dieser Zeit wäre der Einsatz einer Kurzzeitpasteurisierung sinnvoll. Die Gefriermethode (-20°C) erweist sich als ungeeignet um HCMV aus der Muttermilch zu eliminieren. Es wird angegeben, dass selbst mehrmaliges Gefrier – Tauen und monatelange Lagerung bei -20°C die Virusinfektiosität nicht ausreichend eliminieren konnten.
3. Als dritte Lösungsmöglichkeit geben Goelz et al. das Fortführen der Ernährung mit roher Muttermilch nach vorheriger Aufklärung und Zustimmung der Eltern an. Auf diese Weise kommen dem Kind die Vorteile der Muttermilchernährung zugute, allerdings bleibt das Risiko der HCMV – Infektion bestehen.

Im Review von Robert M. Lawrence [55] werden folgende Vorgehensweisen empfohlen:

- Nabelschnurblut und mütterliches Blut sollten bei allen frühgeborenen und „low birth weight“ Kindern auf HCMV gescreent werden
- Jedes Kind sollte auf Zeichen und Symptome einer kongenitalen HCMV – Infektion untersucht, und bei Verdacht auf HCMV getestet werden
- Alle Kinder HCMV – seropositiver Mütter sollten mittels Kultur oder PCR – Untersuchung aus dem Urin auf eine kongenitale HCMV – Infektion hin untersucht werden, wenn sie die Muttermilch der eigenen Mutter erhalten
- Das niedrige aber vorhandene Risiko einer symptomatischen HCMV – Infektion des frühgeborenen Kindes über die Muttermilch sollte mit der Mutter unter Einbeziehung der bekannten Risiken und Vorteile besprochen werden
- Die Möglichkeiten, sowie Risiken und Vorteile der verschiedenen Verfahren zur Inaktivierung des HCMV in der Muttermilch, vorrangig in Hinblick auf die Verwendung von Muttermilch bei „Risikokindern“, müssen noch genauer evaluiert werden
- Des Weiteren sollten routinemäßige ophthalmologische, neurologische, audiologische und Entwicklungsuntersuchungen aller frühgeborenen und „low birth weight“ Kinder während der ersten 3 bis 4 Lebensjahre vereinbart werden

## **4.2 Kommentare aus der wissenschaftlichen Literatur**

Goelz et al. [54] verweisen darauf, dass die Langzeitentwicklung von frühgeborenen Kindern, die innerhalb der ersten drei Lebensmonate eine HCMV – Infektion erworben haben, bislang noch unklar ist. Weiters werden die bereits oben aufgeführten Vorteile der Ernährung von Frühgeborenen mit Muttermilch aufgelistet.

Im Review von Mark R. Schleiss [56] wird auf das variable und weitläufige Spektrum der HCMV – Übertragung über die Muttermilch hingewiesen. Zusammenfassend hält der Autor fest, dass die Mehrheit der HCMV – seropositiven Mütter das Virus in die Muttermilch sezernieren und eine Infektion bei frühgeborenen „low birth weight“ Kindern zu einer schweren Erkrankung führen kann.

Marianne Forsgren [57] schreibt in dem von ihr verfassten Kommentar zur Arbeit von Hamprecht et al. [45], mit dem Thema „Cytomegalovirus in breast milk: reassessment of pasteurization and freeze-thawing“ ebenfalls, dass sehr früh geborene Kinder ein erhöhtes Risiko für den Erwerb einer schweren Erkrankung in Folge einer Infektion mit humanem Cytomegalievirus im Rahmen des Stillens haben. Sie beschreibt die Kryokonservierung (-20°C) als für Spendermilchen empfohlenes Verfahren zur Inaktivierung von HCMV. Für die eigene mütterliche Milch sei dieses Verfahren jedoch nicht ausreichend, da nach wie vor ein Restrisiko bestehen bleibt.

Bryant et al. [58] beschreiben, dass eine symptomatische Infektion mit HCMV über die Muttermilch bei Reifgeborenen normalerweise nicht auftritt. Dies ist auf eine Übertragung von protektiven mütterlichen Antikörpern zurückzuführen, welche ab der 29. Schwangerschaftswoche auftritt. Bei sehr Frühgeborenen fällt diese Schutzfunktion aus, was eine höhere Anfälligkeit für die Entwicklung einer symptomatischen HCMV – Infektion nach Übertragung über die Muttermilch bedingt. Eine primäre HCMV – Infektion kann nachgewiesenermaßen selbst bei Reifgeborenen zu einer Pneumonitis führen. Bezüglich der Langzeitfolgen

verweisen auch Bryant et al. darauf, dass es sehr wenige Studien hinsichtlich dieser Problematik gibt. Er verweist jedoch darauf, dass im Gegensatz zur kongenitalen Infektion bei der postnatal erworbenen Infektion kein sensorineuraler Hörverlust auftritt. Zur Epidemiologie geben Bryant et al. an, dass HCMV in der Muttermilch von 13 – 50% der laktierenden Mütter gefunden werden kann. Diese große Variabilität wird damit erklärt, dass unterschiedlich sensitive Verfahren zum Nachweis von HCMV in der Muttermilch zum Einsatz kommen. Von den seropositiven Müttern scheiden zwischen 32% und 96% das Virus in die Muttermilch aus. Die Spitzenwerte in Bezug auf die Ausscheidung konnten in der dritten bis vierten Woche post partum nachgewiesen werden. HCMV – DNA tritt innerhalb von drei Wochen nach der Entbindung bei der Mehrheit der seropositiven Mütter in Erscheinung. HCMV – DNA, sowie das Virus selbst, konnten bei Müttern, die das Virus auf ihr Kind übertrugen, deutlich früher in der Muttermilch nachgewiesen werden als bei Müttern die das Virus nicht übertrugen. Bezüglich der Inaktivierung von HCMV in der Muttermilch werden auch von Bryant et al. die Pasteurisierung, die Kryokonservierung und die „rapid – high – temperature“ Methode angeführt. Während Pasteurisieren eine gute Elimination des Virus aus der Muttermilch gewährleistet, zerstört diese Methode leider auch viele protektive Faktoren der Muttermilch. Die Kryokonservierung erhält die protektiven Faktoren der Muttermilch zum größten Teil, ist aber nicht sehr effektiv in Bezug auf die Elimination des HCMV. Das Erhitzen auf 72°C für kurze Zeit stellt eine vielversprechende Methode zur Inaktivierung von HCMV bei gleichzeitigem Erhalt der protektiven Faktoren in der Muttermilch dar, muss aber laut Bryant et al. noch weiter untersucht werden. Als eine weitere Methode listen Bryant et al. die Verwendung von Spendermilch einer HCMV – seronegativen Mutter auf. Abgesehen von dem Risiko andere Infektionen zu erwerben ist eine Spendermilch meist eine auf reife Neugeborene ausgelegte Milch und passt von ihrer Zusammensetzung nicht so optimal zur Ernährung eines Frühgeborenen wie die Milch der eigenen Mutter.

Hamprecht et al. [52] beschreiben in ihrer rezenten Übersichtsarbeit, dass die epidemiologischen Daten bezüglich HCMV – Seropositivität und Nachweis in der Muttermilch aufgrund der unterschiedlichen Sensitivität der Nachweisverfahren stark variieren. Es besteht eine hohe Inzidenz einer HCMV – Reaktivierung bei

seropositiven Müttern. Die Risikopopulation für den Erwerb einer frühen und symptomatischen HCMV – Infektion stellen extrem unreife Frühgeborene dar. Ein frühes auftreten von sowohl HCMV – DNA – Laktie wie auch einer Virolaktie in der Molke konnten mit dem Risiko einer Übertragung auf das frühgeborene Kind assoziiert werden. Ein geringes Geburtsgewicht und eine frühe postnatale Übertragung von HCMV stellen Risikofaktoren für eine symptomatische Infektion dar.

Bezüglich der Inaktivierungsverfahren wird beschrieben, dass sowohl durch die Kryokonservierung der Muttermilch, sowie durch Verfüttern einer Mixtur aus nativer und pasteurisierter Muttermilch eine Transmission von HCMV auf das Frühgeborene nicht vollständig verhindert werden kann. Ebenso kann nicht ausgeschlossen werden, dass kryokonservierte Muttermilch, die infektiöses HCMV enthält, in seltenen Fällen eine Erkrankung mit schweren sepsisartigen Symptomen und ebenso eine nekrotisierende Enterokolitis auslösen kann. Dass die Kryokonservierung der Muttermilch kein sicheres Verfahren zur Verhinderung einer symptomatischen HCMV – Infektion bei Frühgeborenen ist, kann laut Hamprecht als gesichert angesehen werden.

Hinsichtlich der Langzeitergebnisse wird auch von Hamprecht et al. auf einen Mangel an Daten zu dieser Thematik verwiesen. Eine über die Muttermilch übertragene HCMV – Infektion dürfte keine negativen Auswirkungen auf die neuromotorische Entwicklung oder auf die Entwicklung des Gehörs haben.

Der Verlauf einer mütterlichen HCMV – Reaktivierung zur Zeit der Laktation folgt einer unimodalen Kinetik. Gleiches konnte für die virale DNA – Laktie gezeigt werden. Die Dynamik der viralen Reaktivierung ist bei jeder laktierenden Mutter gleich, unabhängig davon ob sie eine Überträgerin ist oder nicht. Die maximale „viral – load“ und die Anzahl der viralen Genomkopien zeigen jedoch deutliche Unterschiede zwischen Überträgerinnen und Müttern die das Virus nicht übertragen. Des Weiteren ist die virale Reaktivierung während der Laktation strikt selbstlimitiert. Die Sekretion von HCMV in die Muttermilch beginnt in der ersten postpartalen Woche und erreicht ein Maximum zwischen der vierten und achten Woche. Ein drastischer Abfall tritt zwischen neun und zwölf Wochen ein. Hamprecht et al. schlossen darauf, dass die HCMV – Reaktivierung während der Laktation ein auf die Brust beschränkter Vorgang ist. Der genaue Prozess der Reaktivierung ist jedoch nach wie vor nicht bekannt.

Weight [53] beschreibt die Vorteile der Muttermilch und den möglichen Langzeitschutz gegenüber späteren Kinderkrankheiten. Er bezieht sich auf eine Transmissionsrate von 6% bis 76% und betont, dass gesunde Reifgeborene normalerweise asymptomatisch bleiben. Die Folgen einer über die Muttermilch übertragenen HCMV – Infektion während der ersten zwei Lebensmonate sind schwer von den Komplikationen der Frühgeburtlichkeit abzugrenzen. Holder – Pasteurisierung (62.5°C für 30 Minuten) und short – term – high – temperature Verfahren (72°C für 5 Minuten) sind effektiv in der Inaktivierung von HCMV in der Muttermilch und die Kryokonservierung (Lagerung bei -20°C) ist als ineffektiv anzusehen. Die empfohlene Vorgehensweise ist graphisch in Abb.9 dargestellt.

### 4.3 Eigene Überlegungen

HCMV tritt in der Bevölkerung mit durchschnittlich 60% häufig auf. Bei der Auswertung der epidemiologischen Daten aus der einschlägigen Literatur konnten folgende Ergebnisse ermittelt werden:

Zusammenfassend zeigte sich bei den Studien im Schnitt eine sehr variable Übertragungsrate von 4.2% bis 25.3% (im Median knapp 19%). Die Sekretionsrate von HCMV in die Muttermilch ist mit Angaben zwischen 66% und 96% (im Median 80.67%) als sehr hoch anzusehen. Die Erkrankungsrate der infizierten Kinder lag zwischen 0% und 54% (im Median 38.7%), siehe Übersichtsdarstellung Tabelle 10.

**Tabelle 10:** Statistisch relevante Daten bezüglich mütterlicher HCMV – Seropositivität, HCMV – Nachweis in der Muttermilch, HCMV – seropositive Kinder und erkrankte Kinder [15 – 25]

	<b>HCMV pos. Mütter</b>	<b>Nachweis HCMV in Muttermilch</b>	<b>HCMV pos. Kinder</b>	<b>HCMV-erkrankte Kinder</b>	<b>SS bei HCMV-positiven Kindern</b>
<b>Mean</b>	66.75	80.67	15.80	33.00	25.55
<b>SD</b>	17.08	15.01	7.71	20.47	26.45
<b>Median</b>	66.00	80.67	18.80	38.70	18.18
<b>Min</b>	52.00	66.00	4.20	0.00	4.55
<b>Max</b>	83.00	96.00	25.30	54.00	83.33

Legende: SS = sepsisartige Symptome; pos. = positiv; Angaben in Prozent.

Ausgehend von einer durchschnittlichen Übertragungsrate von etwa 16% und einer mittleren Erkrankungsrate wiederum nur in einem Drittel dieser Kinder, sollte eine gründliche Nutzen- / Risikoabwägung bezüglich Pasteurisierung der Muttermilch und Frischverfütterung erfolgen. In anderen Zahlen ausgedrückt, erwerben durchschnittlich etwa 15.8% der Kinder seropositiver Mütter eine HCMV – Infektion, und durchschnittlich etwa 5.2% erkranken daran symptomatisch. Von

diesen symptomatisch erkrankten Kindern zeigen durchschnittlich etwa 25.6% ein schweres sepsisähnliches Zustandsbild. Dies bedeutet ein Auftreten eines sepsisartigen Zustandsbildes bei 1.33% der Studienkinder. Sepsisartige Symptome wurden bei HCMV – positiven Kindern in acht von zwölf Studien (2/3) beschrieben.

Die Frage die sich stellt, ist, ob dieses in Zahlen ausgedrückt geringe Risiko ausreicht um allen Frühgeborenen unter 32 Schwangerschaftswochen oder einem Geburtsgewicht von unter 1500g die Frischverfütterung der Muttermilch zu verwehren und eine generelle Pasteurisierung bis zu einem korrigierten Gestationsalter von 34 Wochen zu empfehlen, wie dies zum Beispiel die österreichische Ernährungskommission vorgibt [50]. Die Richtlinie wurde von der Fachwelt unterschiedlich aufgenommen – einerseits wurde die Richtlinie vielfach zitiert, andererseits wurde auch folgende Kritik laut:

- Die Datenlage zur Erstellung der Richtlinie ist spärlich
- Muttermilch muss über einen bestimmten Zeitraum pasteurisiert werden, wodurch antiinfektiöse Substanzen zerstört werden
- Viele Kliniken haben keine Möglichkeit zum Pasteurisieren. Das bedeutet, die frische Muttermilch muss verworfen werden, was wiederum das Stillen des Frühgeborenen in weiterer Folge nicht unbedingt erleichtert
- Die Grenzziehung für das Ende der Pasteurisierung mit der 34.SSW ist willkürlich gewählt

Aufgrund der rezenten Datenlage kann man festhalten, dass die Transmissionsrate und die Inzidenz einer kindlichen HCMV – Infektion beim Frühgeborenen deutlich niedriger sind als in der von Hamprecht 2001 publizierten Arbeit [22]. Allerdings hat sich auch in einer Nachuntersuchung dieser Kohorte gezeigt, dass eine HCMV – Infektion des Frühgeborenen in der Neonatalperiode keinen wesentlichen negativen Effekt auf das Langzeitoutcome von Frühgeborenen hat [27].

Daher ist eine gründliche Nutzen- / Risikoabwägung bezüglich der Verfütterung pasteurisierter oder frischer Muttermilch an das Frühgeborene individuell für jedes

Mutter – Kind – Paar empfehlenswert und diese im Einzelfall zu diskutieren, d.h. bei jedem kleinen Frühgeborenen muss eine ausführliche Elternaufklärung erfolgen. Hier steht das Risiko einer symptomatischen Infektion dem Risiko der Inaktivierung von wichtigen Substanzen in der Muttermilch (siehe 3.4) gegenüber. Es liegen zurzeit wenige Studien zum Langzeitoutcome nach einer HCMV – Infektion über die Muttermilch vor, jedoch deuten diese darauf hin, dass das Risiko für Spätfolgen als gering anzusehen sein dürfte. Zumindest kann eine Beeinträchtigung des Hörvermögens als ausgeschlossen angesehen werden.

Von den Viruseliminierungsverfahren aus der Muttermilch zeigt sich praktikabel und effektiv alleinig die Holder Pasteurisierung (30 Minuten bei 62.5°C). Als großer Nachteil ist die Zerstörung des Großteils der antiinfektiösen Substanzen der Muttermilch anzumerken, mit möglichen negativen Auswirkungen auf das Frühgeborene (siehe 3.5). Bei der Kryokonservierung (bei -20°C) kann zwar eine weitestgehende Schonung der antiinfektiösen Faktoren der Muttermilch erzielt werden, jedoch bleibt auch das Virus zum größten Teil erhalten und es wird kein ausreichender Transmissionsschutz erreicht. Daher ist die Kryokonservierung als nicht empfehlenswertes Verfahren zur Inaktivierung von HCMV in der Muttermilch anzusehen. Es kann jedoch durch keine der aktuell verfügbaren Inaktivierungsmethoden das Risiko einer HCMV – Infektion zu 100% ausgeschlossen werden.

Häufig steht die Prävention der symptomatischen HCMV – Infektion des Frühgeborenen mittels Inaktivierungsverfahren im Mittelpunkt des wissenschaftlichen und klinischen Interesses, jedoch wird selten auf die nachteiligen Auswirkungen, die durch den Verlust der antiinfektiösen Faktoren der Muttermilch und den durch sie hervorgerufenen Schutz des Kindes vor Erkrankungen eingegangen. Die für das Frühgeborene besonders wertvolle Frühmilch, das Kolostrum, kann nicht pasteurisiert werden und entfällt damit komplett.

Studien bezüglich des Risikos einer HCMV – Infektion im Vergleich zum Risiko aufgrund der Pasteurisierung der Muttermilch und des Verwerfens des Kolostrums zu erkranken, sind momentan in zu geringem Ausmaß vorhanden um konkrete Aussagen darüber treffen zu können. Daher sollte eine individuelle Therapieentscheidung bezüglich Inaktivierung oder Nicht – Inaktivierung von HCMV in der Muttermilch gegenüber einer generell auf alle Frühgeborenen

angewandten Vorgehensweise vorgezogen werden. Auf diese Weise kann zumindest die für das jeweilige Mutter- (Eltern-) Kind – Paar beste Lösung gefunden werden.

#### **4.4 Persönlicher Kommentar**

Als aufklärender Arzt würde ich die betroffenen Eltern gründlich über das Risiko einer Transmission und vor allem das Risiko einer symptomatischen bzw. schwerwiegenden Infektion, und die damit verbundenen geringen Übertragungs- und Erkrankungsraten (siehe oben) informieren. Die Muttermilch kann frisch verfüttert werden. Das Risiko auf diese Weise eine symptomatische bzw. schwerwiegende HCMV – Infektion zu entwickeln ist als gering einzuschätzen. Hingegen gehen bei der Pasteurisierung der Muttermilch wichtige antiinfektiöse Faktoren verloren. Dadurch wird zwar einer HCMV – Infektion über die Muttermilch vorgebeugt, aber auch das Auftreten anderer Infektionen in der Neonatalperiode begünstigt (siehe [51]).

Wäre mein eigenes Kind ein Frühgeborenes und ansonsten gesund und meine Frau HCMV – IgG – positiv, würde ich beim jetzigen Stand des Wissens zu diesem Thema meinem Kind die Muttermilch und auch das Kolostrum frisch verfüttern.

Als Nachbetreuung sollte ein regelmäßiges Screening auf HCMV im Harn stattfinden. Bei einer klinischen und / oder laborchemischen Auffälligkeiten, sollte an die Möglichkeit einer HCMV – Infektion gedacht, und entsprechend eine Diagnostik eingeleitet und die Muttermilch pasteurisiert werden.

Das unterschiedliche Vorgehen der verschiedenen Kliniken in Österreich oder anderen Ländern wäre ein ebenso interessantes Thema (z.B. Umfrage) wie die Situation zu dieser Problematik in Entwicklungsländern, z.B. in Ländern Afrikas. Die Problematik der Transmission von HCMV über die Muttermilch stellt sich in Entwicklungsländern sicherlich anders dar als in Europa oder den USA.

## 5 Literaturverzeichnis

- [1] Halwachs-Baumann G, Genser B. Die konnatale Zytomegalievirusinfektion. Wien (Austria): Springer-Verlag; 2003.
- [2] Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF. Nelson Textbook of Pediatrics. 18th ed. Philadelphia (PA): Saunders Elsevier; 2007. p. 1377-1379.
- [3] Sitzmann FC. Pädiatrie Duale Reihe. 3. Auflage. Stuttgart (Germany): Georg Thieme Verlag KG; 2007. p. 614-615.
- [4] Halwachs-Baumann G, Genser B, Danda M, Engele H, Rosegger H, Fölsch B, et al. Screening and diagnosis of congenital cytomegalovirus infection: a 5-y study. *Scand J Infect Dis* 2000; 32:137-142
- [5] Kimberlin DW, Lin CY, Sánchez PJ, Demmler GJ, Dankner W, Shelton M et al. Effect of ganciclovir therapy on hearing in symptomatic congenital cytomegalovirus disease involving the central nervous system: a randomized, controlled trial. *J Pediatr* 2003;143:16-25.
- [6] Biotest Pharmazeutika. Prophylaxe und Therapie von CMV-Infektionen.
- [7] Kayser FH, Böttinger EC, Zinkernagel RM, Haller O, Eckert J, Deplazes P. *Tschenlehrbuch Medizinische Mikrobiologie*. 11. überarbeitete und erweiterte Auflage. Stuttgart (Germany): Georg Thieme Verlag KG; 2005. p. 390-555
- [8] Diosi P, Babusceac L, Nevinglovschi O, Kun-Stoicu G. Cytomegalovirus infection associated with pregnancy. *Lancet* 1967;1:1063-1066.
- [9] Hayes K, Danks DM, Gibas H, Jack I. Cytomegalovirus in human milk. *N Engl J Med* 1972;27:177-178.
- [10] Stagno S, Reynolds DW, Pass RF, Alford C. Breast milk and the risk of cytomegalovirus infection. *N Engl J Med* 1980;19:1073-1076.
- [11] Dworsky M, Yow M, Stagno S, Pass RF, Alford C. Cytomegalovirus infection of breastmilk and transmission in infancy. *Pediatrics* 1983;72:295-299.
- [12] Yeager AS, Palumbo PE, Malachowski N, Ariagno RL, Stevenson DK. Sequelae of maternally derived cytomegalovirus infections in premature infants. *J Pediatr* 1983;102:918-922.
- [13] Hotsubo T, Nagata N, Shimada M, Yoshida K, Fujinaga K, Chiba S. Detection of human cytomegalovirus DNA in breast milk by means of polymerase chain reaction. *Microbiol Immunol* 1994;38:809-811.
- [14] Hamprecht K, Vochem M, Baumeister A, Boniek M, Speer CP, Jahn G. Detection of cytomegaloviral DNA in human milk cells and cell free milk whey by nested PCR. *J Virol Methods* 1998;70:167-176.

- [15] Vochem M, Hamprecht K, Jahn G, Speer CP. Transmission of cytomegalovirus to preterm infants through breast milk. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17(1):53-58.
- [16] Omarsdottir S, Casper C, Zwegberg Wirgart B, Grillner L, Vanpée M. Transmission of cytomegalovirus to extremely preterm infants through breast milk. *Acta Paediatr* 2007;96(4):492-494.
- [17] Miron D, Brosilow S, Freiszer K, Reich D, Halle D, Wachtel D et al. Incidence and clinical manifestations of breast milk-acquired cytomegalovirus infection in low birth weight infants. *J Perinatol* 2005;25(5):299-303.
- [18] Jim WT, Shu CH, Chiu NC, Kao HA, Hung HY, Chang JH et al. Transmission of cytomegalovirus from mothers to preterm infants by breast milk. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23(9):848-851.
- [19] Vollmer B, Seibold-Weiger K, Schmitz-Salue C, Hamprecht K, Goelz R, Krageloh-Mann I, Speer CP. Postnatally acquired cytomegalovirus infection via breast milk: effects on hearing and development in preterm infants. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23(4):322-327.
- [20] Meier J, Lienicke U, Tschirch E, Krügler DH, Wauer RR, Prösch S. Human cytomegalovirus reactivation during lactation and mother-to-child transmission in preterm infants. *J Clin Microbiol* 2005;43(3):1318-1324.
- [21] Yasuda A, Kimura H, Hayakawa M, Ohshiro M, Kato Y, Matsuura O et al. Evaluation of cytomegalovirus infections transmitted via breast milk in preterm infants with a real-time polymerase chain reaction assay. *Pediatrics* 2003;111(6 Pt 1):1333-1336.
- [22] Hamprecht K, Maschmann J, Vochem M, Dietz K, Speer CP, Jahn G. Epidemiology of transmission of cytomegalovirus from mother to preterm infant by breastfeeding. *Lancet* 2001;357:513-518.
- [23] Maschmann J, Hamprecht K, Detz K, Jahn G, Speer CP. Cytomegalovirus infection of extremely low-birth weight infants via breast milk. *Clin Infect Dis* 2001;33(12):1998-2003.
- [24] Vochem M, Hamprecht K, Jahn G, Speer CP. Zytomegalievirusinfektionen von Frühgeborenen über die Muttermilch. *Monatsschr Kinderheilkd* 1997;145:619-625.
- [25] Neuberger P, Hamprecht K, Vochem M, Maschmann J, Speer CP, Jahn G et al. Case-control study of symptoms and neonatal outcome of human milk-transmitted cytomegalovirus infection in premature infants. *J Pediatr* 2006;148:326-331.
- [26] Rieger-Fackeldey E, Genzel-Boroviczény O, Schulze A. Schwere systemische Zytomegalie-Virusinfektion Frühgeborener über die Muttermilch. *Monatsschr Kinderheilkd* 2001;149:1059-1062.

- [27] Whitley RJ, Brasfield D, Reynolds DW, Stagno S, Tiller RE, Alford CA. Protracted pneumonitis in young infants associated with perinatally acquired cytomegalovirus infection. *J Pediatr* 1976;89:16.
- [28] Peckham CS, Johnson C, Ades A, Pearl K, Chin KS. Early acquisition of cytomegalovirus infection. *Arch Dis Child* 1987;62(8):780-785.
- [29] Kumar ML, Nankervis GA, Jacobs IB et al. Congenital and postnatally acquired cytomegalovirus infection: long-term follow-up. *J Pediatr* 1984;104:674-679.
- [30] Kumar ML, Nankervis GA, Cooper AR, Gold E. Postnatally acquired cytomegalovirus infections in infants of CMV-excreting mothers. *J Pediatr* 1984;104:669-673.
- [31] Granstrom ML. Development of children with early cytomegalovirus infection. *Eur J Pediatr* 1979;132:277.
- [32] Welsh JK, May JT. Anti-infective properties of breast milk. *J Pediatr* 1979;94:1-9.
- [33] Kutschera J. Vorlesung Neonatologie: Ernährung des Reif- und Frühgeborenen [Online]. Graz: Virtueller Medizinischer Campus; 2005 [cited 2008 Mar 31].
- [34] Rennie JM, Robertson NRC. Textbook of Neonatology. 3<sup>rd</sup> ed. Oxford: Elsevier LTD; 1999. p.325-248.
- [35] Meier PP, Mangurten HH. Breastfeeding the preterm infant. In: Riordan J, Auerbach K. (eds): Breastfeeding and human lactation. Boston: Jones & Bartlett, 1993;253-278.
- [36] Wheeler TT, Hodgkinson AJ, Prosser CG, Davis SR. Immune components of colostrum and milk - a historical perspective. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2007;12(4):237-247.
- [37] Dahlgren UI, Hanson LA, Telemo E. Maturation of immunocompetence in breast-fed vs. formula-fed infants. *Adv Nutr Res* 2001;10:311-325.
- [38] Howard CR, Weitzman M. Breast or bottle: practical aspects of infant nutrition in the first 6 months. *Pediatr Ann* 1992;21(10):619-631.
- [39] Ferguson M, Molfese PJ. Breast-fed infants process speech differently from bottle-fed infants: evidence from neuroelectrophysiology. *Dev Neuropsychol* 2007;31(3):337-347.
- [40] Dollberg S, Lahav S, Mimouni FB. A comparison of intakes of breast-fed and bottle-fed infants during the first two days of life. *J Am Coll Nutr* 2001;20(3):209-211.

- [41] Pickering LK, Granoff DM, Erickson JR, Masor ML, Cordle CT, Schaller JP et al. Modulation of the immune system by human milk and infant formula containing nucleotides. *Pediatrics* 1998;101(2):242-249.
- [42] Heinig MJ, Nommsen LA, Peerson JM, Lonnerdal B, Dewey KG. Energy and protein intakes of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life and their association with growth velocity: the DARLING Study. *Am J Clin Nutr* 1993; 58(2):152-161.
- [43] Thapa BR. Health factors in colostrum. *Indian J Pediatr* 2005;72(7):579-581.
- [44] Koenig A, de Albuquerque Diniz EM, Barbosa SF, Vaz FA. Immunologic factors in human milk: the effects of gestational age and pasteurization. *J Hum Lact* 2005;21(4):439-443.
- [45] Hamprecht K, Maschmann J, Müller D, Dietz K, Besenthal I, Goelz R et al. Cytomegalovirus (CMV) inactivation in breast milk: reassessment of pasteurization and freeze-thawing. *Pediatr Res* 2004;56(4):529-535.
- [46] Friis H, Andersen H. Rate of inactivation of cytomegalovirus in raw banked milk during storage at -21°C and pasteurization. *BMJ* 1982;285:1604-1605.
- [47] Welsh JK, Arsenakis M, Coelen RJ, May JT. Effects of antiviral lipids, heat and freezing on the activity of viruses in human milk. *J Infect Dis* 1979;140:322-328.
- [48] Dworsky M, Stagno S, Pass RF, Cassady G, Alford C. Persistence of cytomegalovirus in human milk after storage. *J Pediatr* 1982;101:440-443.
- [49] Maschmann J, Hamprecht K, Weissrich B, Dietz K, Jahn G, Speer CP. Freeze-thawing of breast milk does not prevent cytomegalovirus transmission to preterm infants. *Arch Dis Child* 2006;91:288-290.
- [50] Zwiauer K, Deutsch J, Goriup U, Haas H, Haiden N, Holzmann H et al. Prävention von Muttermilch-medierten CMV-Infektionen bei Frühgeborenen. *Monatsschr Kinderheilkd* 2003;151:1346-1347.
- [51] American Academy of Pediatrics, workgroup on breastfeeding. Breastfeeding and the use of human milk (RE9729). *Pediatrics* 1997;100:1035-1039.
- [52] Hamprecht K, Maschmann J, Jahn G, Poets CF, Goelz R. Cytomegalovirus transmission to preterm infants during lactation. *J Clin Virol* 2007;41:198-205.
- [53] Weight NE. Recommendations for minimizing Cytomegalovirus (CMV) exposure in breastmilk-fed very low birth weight (VLBW) preterm infants [Online]. San Diego: San Diego County Breastfeeding Coalition;2005 [cited 2008 May 3rd]. Available from <http://www.breastfeeding.org/pdf/CMVPREMI-2005.pdf>
- [54] Goelz R, Hamprecht K, Vochem M, Maschmann J, Speer CP, Jahn G, Poets CF. Muttermilchernährung der sehr unreifen Frühgeborenen von HCMV-seropositiven Müttern. *Z Geburtsh Neonatol* 2004;208:118-121.

[55] Lawrence RM. Review paper: Cytomegalovirus in human breast milk: risk to the premature infant. *Breastfeed Med* 2006;1:99-107.

[56] Schleiss MR. Acquisition of human cytomegalovirus infection in infants via breast milk: natural immunization or cause for concern? *Rev Med Virol* 2006;16:73-82.

[57] Forsgren M. Cytomegalovirus in Breast Milk: Reassessment of pasteurization and freeze-thawing. *Pediatr Res* 2004;54(4):526-528.

[58] Bryant P, Morley C, Garland S, Curtis N. Cytomegalovirus transmission from breast milk in premature babies: does it matter. *Arch Dis Child* 2002;87:F75-F77.

[xxx] Biron KK. Antiviral drugs for cytomegalovirus diseases. *Antiviral Res* 2006;71:154-163.

# Lebenslauf

## Zur Person

Name: Stefan Kurath  
Adresse: Kreuzgasse 18, 8010 Graz  
Telefon: 0699 18404439  
E – mail: sto4gold@hotmail.com  
Geburtsdatum: 17.01.1984  
Geburtsort: Nürtingen  
Staatsbürgerschaft: Österreich  
Familienstand: ledig



## Bildungsweg

Schulbildung: 1990 – 1994 Volksschule 6, Klagenfurt  
1994 – 2002 BG / BRG Lerchenfeldstrasse, Klagenfurt  
Schwerpunkt Latein (DATUM MATURA)

Studium: ab WS 2003 Diplomstudium Humanmedizin,  
Medizinische Universität Graz  
(Voraussichtlicher Abschluss SS 2009)

Famulaturen im Ausmaß von 17 Wochen im Rahmen des Studiums an folgenden Kliniken / Abteilungen:

- Universitätsklinik Graz, Abteilung für Innere Medizin
- Universitätsklinik Graz, Abteilung für Radiologie
- LKH Klagenfurt, Abteilung für Kinder- und Jugendheilkunde
- Privates Krankenhaus der Elisabethinen Klagenfurt, Abteilung für Chirurgie und Orthopädie

Medizinische Zusatzausbildungen:

02 / 2005    Prechtl's Method on the Qualitative  
Assessment of General Movements.  
International basic training course.

11 / 2007    European Paediatric Life Support – Kurs

Sprachkenntnisse:    Englisch fließend in Wort und Schrift  
Italienisch Grundkenntnisse  
Griechisch Grundkenntnisse

EDV – Kenntnisse:    Microsoft Word  
Microsoft Excel  
SPSS Basiskenntnisse