

Aus der Klinik für Tropenmedizin am Klinikum Würzburg Mitte gGmbH

Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Würzburg

Chefarzt: Professor Dr. med. August Stich

**Prävalenz von chronischer Hepatitis B bei schwangeren Frauen in einem
Krankenhaus der tertiären Versorgungsstufe in Tansania: Eine
Querschnittsstudie mit Follow-Up.**

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Karin Ursula Geffert

aus Bonn

Würzburg, Mai 2021

Referent: Prof. Dr. med. August Stich

Koreferent: Prof. Dr. med. Matthias Eyrich

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 14. Oktober 2021

Die Promovendin ist Ärztin.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Aufgabenstellung.....	1
1.2 Hintergrund	2
1.2.1 Epidemiologie und geographische Verteilung.....	2
1.2.2 Biologie und Pathogenese	5
1.2.3 Klinik der akuten und chronischen HBV-Infektion.....	5
1.2.4 Diagnostik und Staging.....	7
1.2.5 Transmission	9
1.2.6 Therapie	9
1.2.7 Prävention und Elimination	10
1.2.8 Folgen einer chronischen Infektion mit HBV	13
2. Material und Methoden.....	14
2.1 Studiendetails	14
2.1.1 Studiendesign und -ort	14
2.1.2 Studienpopulation	14
2.1.3 Ethische Aspekte.....	14
2.2 Studienablauf.....	15
2.2.1 Rekrutierung	15
2.2.2 Erhebung der soziodemographischen Faktoren	15
2.2.3 Probensammlung.....	16
2.3 Material	17
2.3.1 Geräte	17
2.3.2 Kits.....	18
2.4 Laboranalyse.....	19
2.4.1 Virologische Analyse mit PCR.....	19
2.4.2 Serologische Analyse mit ELISA Technik	29

2.5 Statistische Analyse	30
3. Ergebnisse	33
3.1 Charakteristika der Studienteilnehmerinnen	33
3.2 Laborergebnisse.....	40
3.2.1 Serologische Ergebnisse.....	40
3.2.2 Virologische Ergebnisse	41
3.3 HBV-Infektion und soziodemographische Charakteristika.....	43
4. Diskussion	46
4.1 Diskussion der Ergebnisse	46
4.2 Herausforderungen, Limitationen und Stärken der Studie	50
5. Zusammenfassung	56
6. Literaturverzeichnis	57
Appendix.....	61
A. Abkürzungsverzeichnis	61
B. Abbildungsverzeichnis	63
C. Tabellenverzeichnis	63
D. Charakteristika der Studienteilnehmerinnen, zusammengefasst für die statistische Auswertung.....	64
E. Fallberichtform	66
F. Einverständniserklärung	67
G. Fragebogen in Englisch.....	72
H. Ethikzertifikate	73
I. Anmerkungen zum Copyright.....	75
J. Danksagung	76

1. Einleitung

1.1 Aufgabenstellung

Die Infektion mit dem Hepatitis B Virus (HBV) ist ein wichtiges, jedoch vernachlässigtes Problem der globalen Gesundheit. Weltweit sind ungefähr 257 Millionen Personen chronisch mit dem Virus infiziert. Diese Menschen haben ein hohes Risiko eine Leberzirrhose oder Leberkarzinom im Laufe ihres Lebens zu entwickeln und daran zu versterben. Eine Impfung gegen diese Erkrankung ist seit 1982 verfügbar. Impfprogramme haben dort, wo die Impfung ausreichend verfügbar ist, einen durchschlagenden Erfolg in der Reduktion von chronischer Hepatitis B gezeigt. Es gibt jedoch Teile der Welt, in denen die Impfung nicht zu einem ausreichenden Schutz führt, da die Infektion schon vor der Gabe der ersten Impfdosis geschieht oder die Impfung nicht oder nur unvollständig verabreicht wird. In Ländern mit einer hohen Prävalenz von Hepatitis B wird das Virus vor allem von Müttern auf Kinder übertragen. Kinder, die sich innerhalb ihres ersten Lebensjahres infizieren, haben ein Risiko von 80-90% eine chronische Infektion zu entwickeln, während das Risiko dazu bei Infektion im Erwachsenenalter nur bei 5% liegt. Tansania, mit einer Prävalenz der chronischen Hepatitis B von 7,2% in der Allgemeinbevölkerung, gilt als Hochendemiegebiet der Erkrankung.

Die WHO nennt in ihrer globalen Strategie zur Elimination von viralen Hepatitiden die Prävention von Mutter-Kind-Übertragung (engl. *mother-to-child-transmission*, MTCT) als eine zentrale Aufgabe. Das beinhaltet unter anderem die Testung von schwangeren Frauen und die Impfung von Neugeborenen gegen HBV innerhalb von 24 Stunden nach der Geburt. Dies ist jedoch in Tansania nicht implementiert. Zudem lagen zum Durchführungszeitraum der Studie nur wenige Daten zu der Frage, wie hoch die Anzahl der betroffenen schwangeren Frauen tatsächlich ist, vor.

Aus diesem Grund untersuchte unsere Studie die Prävalenz von Hepatitis B positiven schwangeren Frauen in einem Krankenhaus der tertiären Versorgungstufe in Mwanza, Tansania, sowie den sozio-ökonomischen Hintergrund und mögliche Risikofaktoren für eine Infektion seitens der Mütter. Ergänzend wurden verschiedene serologische und virologische Analysen des Blutes der Mütter und ihrer Kinder vorgenommen sowie in einem

Follow-Up der Impferfolg bei den Kindern überprüft. Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden bereits in der dazugehörigen Arbeit veröffentlicht (4).

1.2 Hintergrund

1.2.1 Epidemiologie und geographische Verteilung

Hepatitis B ist ein wichtiges, jedoch vernachlässigtes Problem der globalen Gesundheit (5). Die Nachhaltigkeitsziele (engl. *Sustainable Development Goals*, SDGs) der Vereinten Nationen haben die Bekämpfung von Hepatitis B explizit in einem Unterziel von SDG 3 „Gesundheit und Wohlergehen“ formuliert: „3.3 *By 2030, end the epidemics of AIDS, tuberculosis, malaria and neglected tropical diseases and combat hepatitis, water-borne diseases and other communicable diseases* (6)“.

Weltweit sind ungefähr 257 Millionen Menschen chronische Träger des Hepatitis B Virus (7). Chronisch Infizierte haben ein hohes Risiko (zwischen 20-30%) im Laufe ihres Lebens eine Leberzirrhose oder ein hepatozelluläres Karzinom (engl. *hepatocellular carcinoma*, HCC) zu entwickeln (8). Die Zahl der jährlichen Todesfälle aufgrund von Komplikationen einer chronischen Infektion wird auf 0,5-1,2 Millionen geschätzt (9, 10). Die *Global Burden of Disease Study* zeigt einen Anstieg der *disability adjusted life-years* (DALYS) durch Hepatitis im Allgemeinen, einschließlich Hepatitis B. Die DALYS, einer Messzahl zur Bewertung der Auswirkung einer Krankheit auf die Gesellschaft, stiegen von 31,7 Millionen im Jahr 1990 auf 42,5 Millionen im Jahr 2013. Im Gegensatz dazu sank die Belastung durch andere Infektionskrankheiten in den vergangenen Jahrzehnten (10). Gleichzeitig ist eine Hepatitis-B-Infektion auch ein relevantes Problem der 2,6 Millionen Menschen weltweit, die mit HIV und HBV ko-infiziert sind (11). Die hohe Zahl an Ko-Infektionen liegt unter anderem an den ähnlichen Übertragungswegen (u.a. sexuelle Kontakte, intravenöser (i.v.) Drogengebrauch, vertikale Transmission) (12). Diese Ko-Infektion kann zu einem aggressiveren Krankheitsverlauf (13, 14) und damit zu einer höheren Sterblichkeit (15) führen. Dies liegt an der, durch HIV verursachten, Immunsuppression, welche die Wahrscheinlichkeit der spontanen Ausheilung einer Infektion mit Hepatitis B reduziert (15).

Die regionale Endemizität von Hepatitis B kann als hoch ($\geq 8\%$), höher-intermediär (5-7%), niedriger-intermediär (2-4%) und niedrig ($< 2\%$) definiert werden (16). Die höchste

Prävalenz von chronischen Träger:innen finden sich nach WHO-Einteilung der Weltregionen in der Afrikanischen (6,1%) sowie in der Westpazifischen Region (6,2%) (7). Gemeinsam umfassen diese beiden Region 68% der weltweiten Krankheitslast von Hepatitis B (17). Es wird angenommen, dass jährlich ca. 88 000 Todesfälle in Subsahara-Afrika (SSA) durch Hepatitis B verursacht werden (17).

Box 1. Tansania und das tansanische Gesundheitssystem

Tansania ist ein Land im östlichen Teil von Subsahara-Afrika mit ca. 56 Millionen Einwohner:innen. Die Lebenserwartung bei Geburt lag 2018 bei insgesamt 65 Jahren (61 Jahre für Männer und 67 Jahre für Frauen) (1) und somit knapp 20 Jahre geringer als die Lebenserwartung in Deutschland.

Das Gesundheitssystem in Tansania zeigt eine pyramidale Struktur, bei der an der Basis Krankenstationen (engl. *dispensaries, D*) sowie Gesundheitszentren (engl. *health centres, HC*) stehen. Diese bieten eine Primärversorgung und Präventionsprogramme an und sind für die Krankenversorgung des Großteils der Bevölkerung zuständig. Es folgen Distriktkrankenhäuser (engl. *district hospitals, DH*), Regionalkrankenhäuser (engl. *regional hospitals, RH*) und an der Spitze stehen nationale Referenzkrankenhäuser (2). Insgesamt werden ca. 5,6% des tansanischen Bruttoinlandproduktes für Gesundheit ausgegeben (3).

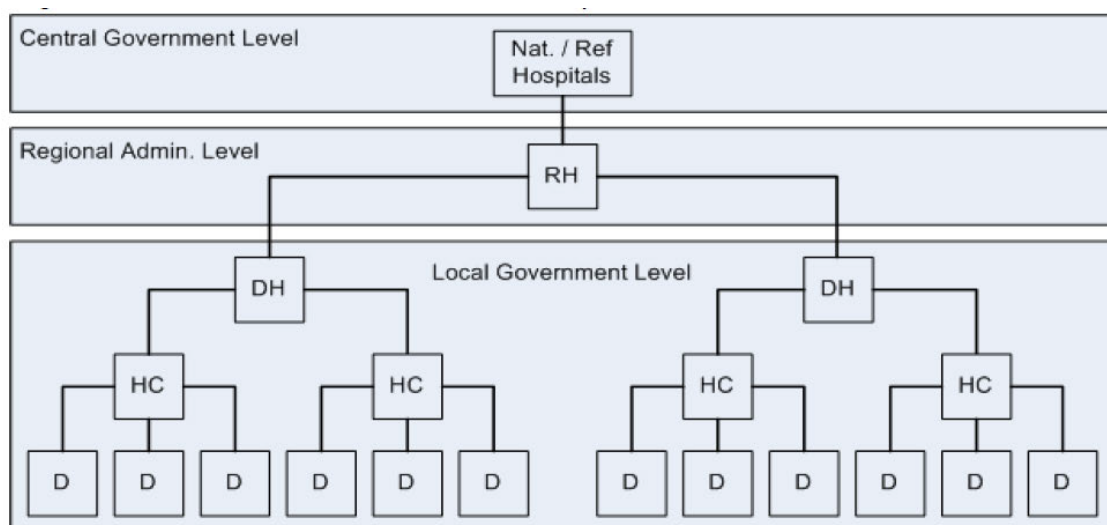


Abbildung 1. Aufbau des tansanischen Gesundheitssystem von Boex et al (2)

Die Angaben zur Prävalenz von chronischer Hepatitis B in Tansania variieren je nach untersuchter Bevölkerungsgruppe und Studientyp. Ein systematischer Review aus dem Jahr 2015 schätzt die Prävalenz in Tansania in der Allgemeinbevölkerung auf 7,2% (18). Ein Übersichtsartikel von Kilonzo et al identifizierte Blutspender:innen, Gesundheitsmitarbeiter:innen, Patient:innen mit Nierentransplantation sowie schwangere Frauen als besondere Risikogruppen in Tansania (19).

Für die Gruppe schwangerer Frauen in Tansania ergeben veröffentlichte Studien unterschiedliche Werte. Je nach Studienort und -setting ergaben sich unterschiedliche Prävalenzen von 3,8% in einem Distriktkrankenhaus in Mwanza (20), 3,9% in einem Tertiärkrankenhaus in Dar es Salaam (21), 4,2% in einem Zentrum für primäre Gesundheitsversorgung in Moshi (22), bis hin zu 8,03% in einem städtischen Gesundheitszentrum in Dar es Salaam (23).



Abbildung 2. Karte von Tansania © FreeVectorFlags.com

1.2.2 Biologie und Pathogenese

Das Hepatitis-B-Virus ist ein Virus, welches zur Familie der Hepadnaviridae gehört. Es besteht aus einer Hülle, einem Kapsid und dem Genom, welches aus einer zirkulären, doppelsträngigen Desoxyribonukleinsäure (DNA) besteht. Für die Diagnostik relevant sind die zugehörigen Proteine: Das Antigen der Virusoberfläche, HBsAg (engl. *Hepatitis B surface antigen*), und das Protein des Viruskapsids, HBcAg (engl. *Hepatitis B core antigen*). Zudem wird das HBeAg (engl. *Hepatitis B envelope antigen*), eine lösliche Form des HBcAg, von befallenen Wirtszellen bei hochreplikativ infizierten Personen sezerniert (24). Bis heute sind mindestens acht verschiedenen Genotypen und verschiedene Untertypen bekannt (A-H), die in unterschiedlicher Häufigkeit in den Weltregionen auftreten. Sie unterscheiden sich darüber hinaus in ihren klinischen Symptomen sowie in ihrem Therapieansprechen (25). So wird unter anderem angenommen, dass bei Genotyp A ein erhöhtes Risiko einer vertikalen Transmission besteht (26). Eine genetische Charakterisierung von HBV-Stämmen aus Tansania zeigte, dass Genotyp A (86,9%) am häufigsten vorkommt, gefolgt von Genotyp D (12,3%) und Genotyp E (0,8%) (27).

Die Schädigung der Organe durch HBV ist hauptsächlich immunvermittelt, wobei die Stärke der Immunantwort das Ausmaß der Schädigung und damit auch die Schwere der Erkrankung determiniert. Diese ist insbesondere durch CD8⁺zytotoxische T-Lymphozyten verursacht (8).

1.2.3 Klinik der akuten und chronischen HBV-Infektion

Die Inkubationszeit einer HBV-Infektion kann zwischen 45-180 Tage betragen, im Schnitt sind es etwa 60-120 Tage (24). Die meisten Menschen mit einer akuten HBV-Infektion haben keine oder nur milde Symptome, wobei die Wahrscheinlichkeit einer schwereren Symptomatik mit dem Alter steigt (28). Bei 30-50% der Infizierten zeigen sich typische Symptome einer akuten Hepatitis wie Übelkeit, Fieber, Ikterus von Auge und Haut oder abdominelle Schmerzen. Nur weniger als 1% erleiden einen fulminanten Verlauf, der zu einem Leberversagen führen kann (8).

Bei immunkompetenten Erwachsenen ist die akute Hepatitis B in über 90% der Fälle selbstlimitierend. Bei immunkompromittierten Erwachsenen entwickelt sich jedoch in 30-90% und bei Säuglingen und Kleinkindern in ca. 90% der Fälle eine chronische Infektion (8).

Eine chronische Infektion bei Hepatitis B wird als Persistenz von HBsAg von sechs oder mehr Monaten definiert (9) und kann in verschiedene Verlaufsformen unterschieden werden:

1. **Chronische Hepatitis durch HBV-Infektion:** Bei der chronischen Hepatitis B zeigen sich erhöhte Transaminasen und eine histologisch gesicherte Leberzellschädigung, bei gleichzeitig sehr unspezifischen oder fehlenden Symptomen. Diese Form geht im Verlauf der Leberzelldestruktion in eine Leberzirrhose über.
2. **Hochvirämische HBs-Träger:innen:** Hochvirämische HBsAg-Träger:innen haben eine bestehende Infektion mit hoher Viruslast ohne Leberzellschädigung. Diese Form kann in eine chronische Hepatitis B übergehen.
3. **Niedrigvirämische HBs-Träger:innen:** Niedrigvirämische HBs-Träger:innen haben eine niedrige Viruslast ohne Leberzellschädigung. Es kann spontan oder unter Immunsuppression zur Reaktivierung kommen.
4. **Okkulte HBV-Infektion:** Eine okkulte Hepatitis-B-Infektion ist das Vorhandensein von niedriger Viruslast bei fehlendem HBsAg (8).

Eine Leberzirrhose kann im Verlauf zu Leberzellinsuffizienz und verschiedenen Symptomen wie Ikterus, Splenomegalie oder auch Ösophagusvarizen mit teilweise letalen Konsequenzen führen. Zudem kann sich mit der Zeit ein Leberversagen entwickeln, welches letztlich zum Tode führt. Auf Grundlage einer chronischen Hepatitis-B-Infektion kann sich auch ein hepatozelluläres Karzinom (HCC) entwickeln (8).

Dieses Risiko der Aggravation wird durch verschiedene Faktoren, wie beispielsweise Ko-Infektionen mit anderen Viren wie HIV oder Hepatitis-C-Virus sowie durch bestimmte Genotypen des Virus, erhöht. Zudem ermöglicht erst eine Infektion mit Hepatitis B eine Infektion mit Hepatitis D, welches mit einer regional unterschiedlichen Prävalenz von 0,5 % bis zu 7,3% in SSA vorkommt (29).

In Mwanza, Tansania, ist außerdem eine Infektion mit Schistosomiasis aufgrund der Nachbarschaft zum Viktoriasee und der damit einhergehenden hohen Prävalenz dieser parasitären Erkrankung zu berücksichtigen (30, 31). Die Schistosomiasis oder Bilharziose befällt, insbesondere bei einer Infektion durch die in Mwanza überwiegend vorkommenden Art *Schistosoma mansoni*, ebenfalls die Leber und kann somit zu einer

Verschlechterung einer, durch die HBV-Infektion verursachten, Leberschädigung führen (31). Jedoch sind zum heutigen Zeitpunkt der genaue Zusammenhang sowie die möglichen Folgen der Schistosoma-/HBV-Coinfektion sowohl epidemiologisch als auch pathophysiologisch noch nicht geklärt (32).

1.2.4 Diagnostik und Staging

Eine HBV-Infektion wird in Zusammenschau von klinischen Symptomen, des Vorhandenseins pathologisch erhöhter Transaminasen sowie den Ergebnissen von spezifischen serologischen Befunden bewertet. Für die Diagnostik werden je nach Situation neben dem Nachweis der spezifischen Antigene auch das Vorhandensein der Antikörper gegen das HBsAg (Anti-HBs), Antikörper gegen HBeAg (Anti-HBe) oder gegen das HBcAg (Anti-HBc) untersucht (24). Für die Einschätzung des klinischen Schweregrades werden routinemäßig zudem noch weitere nicht-invasive Tests wie die Elastographie (FibroScan), der FibroTest oder die Bestimmung der Transaminasen bzw. der *aspartate aminotransferase to platelet ratio index* (APRI) durchgeführt (s. Therapie) (9).

Das Auftreten und die Höhe der serologischen und virologischen Marker verändern sich im Laufe der Infektion (s. Abbildung 3).

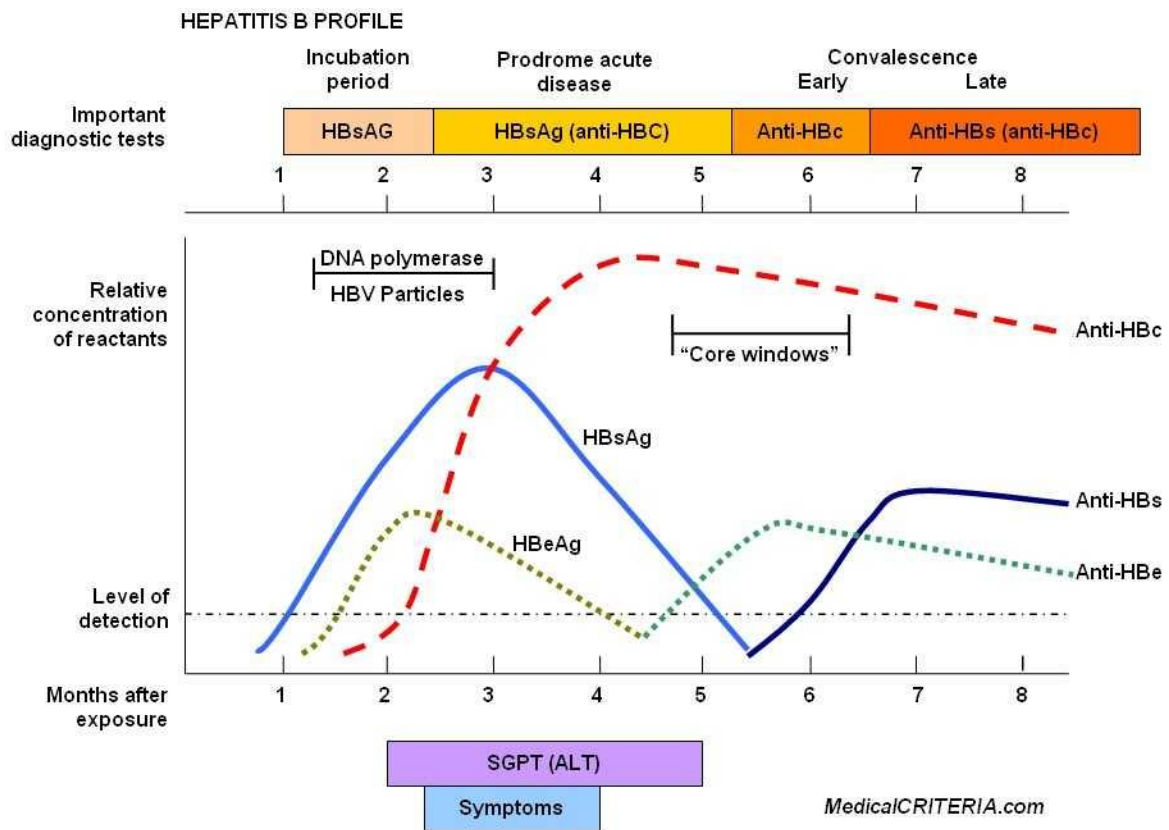


Abbildung 3. Darstellung der unterschiedlichen Marker einer HBV-Infektion mit Ausheilung im Zeitverlauf (33).

Die Diagnose einer akuten Infektion wird im Regelfall serologisch über den Nachweis von HBsAg, einen hohen Titer von Anti-HBc-IgM und die klinischen Informationen und Befunde der Serumchemie getätigt. Ergänzend erfolgt im Bedarfsfall noch eine Untersuchung auf HBeAg, Anti-HBe und die quantitative Bestimmung von HBsAg und HBV-DNA. Für den Nachweis einer chronischen Infektion werden HBsAg, Anti-HBc sowie HBV-DNA und auch HBeAg oder Anti-HBe erhoben. Das Auftreten von HBeAg spricht für eine hohe Virusreplikation (24) und ist damit ein Marker für eine hohe Infektiosität. Dahingegen gilt eine Serokonversion zu Anti-HBe als Hinweis auf geringere Viruslast (24).

Die Ergebnisse der serologischen Analyse sollten immer in Zusammenschau bewertet werden (s. Tabelle 1).

Tabelle 1. HBV Labordiagnostik, vereinfachte Darstellung

Interpretation	HBsAg	Anti-HBs	Anti-HBc IgM	Anti-HBc IgG
Ausgeheilte Hepatitis B	-	+	-	+
Z.n. HBV-Impfung	-	+	-	-

Akute Infektion	+	-	+	-
Chronische Infektion	+	-	-	+

1.2.5 Transmission

HBV wird parenteral, hauptsächlich über Blut oder andere Körperflüssigkeiten wie Samenflüssigkeit, Speichel, vaginalen Ausfluss oder Menstruationsblut übertragen. In hochendemischen Ländern ($\geq 8\%$ Prävalenz in der gesamten Bevölkerung) ist der Hauptübertragungsweg die vertikale, das heißt, die prä- und perinatale ($>20\%$) sowie frühkindliche Transmission ($>60\%$). Im Gegensatz dazu werden in Ländern mit niedriger Endemizität ($<2\%$) Adoleszente und Erwachsene überwiegend über einen horizontalen Übertragungsweg angesteckt (70-90%), wie beispielsweise Sexualekontakte, Bluttransfusionen, i.v. Drogenabusus, Nadelstichverletzungen, Tätowierungen, Piercen, oder andere Expositionen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten von Infizierten (7, 8, 34).

1.2.6 Therapie

Mehrere Medikamente, unter anderem die Wirkstoffe Tenofovir oder Entecavir, sind zur Behandlung chronischer HBV-Infektionen zugelassen und werden in internationalen Leitlinien empfohlen (9). Jedoch müssen die Medikamente lebenslang eingenommen werden und führen in aller Regel nicht zu einer Ausheilung der HBV-Infektion (7). Die oral applizierbaren Wirkstoffe unterdrücken die Virusreplikation, verlangsamen das Fortschreiten der Leberzirrhose, verringern die Inzidenz von Leberkrebs und verbessern das Langzeitüberleben der Infizierten. Die Angaben zur medikamentösen Behandlung einer chronischen Hepatitis B-Infektion unterscheidet sich leicht zwischen den verschiedenen Leitlinien. Entsprechend der WHO-Leitlinie von 2015 gilt, dass eine Behandlung mit antiviralen Medikamenten begonnen werden sollte, sobald es Anzeichen für den Beginn einer Leberzirrhose (definiert durch einen APRI-Score ≤ 2) gibt oder die Patient:innen die Kombination aus einem Alter über 30 Jahre, Zeichen einer Leberzellschädigung (definiert durch eine erhöhte Alanin-Aminotransferase (ALT)) und Anzeichen für eine hohe HBV-Replikation (mit einer HBV DNA $>20\ 000$ Internationale Einheit (IU)/ Milliliter (ml)) aufweisen. Für Settings, in denen keine HBV-Viruslast gemessen werden kann, können die ALT-Werte alleine zur Entscheidung herangezogen werden (9). Die Leitlinie der *European*

Association for the Study of Liver (EASL) von 2017 empfiehlt eine Therapie ab einer HBV-DNA > 2000 IU/ml in Kombination mit Anzeichen einer chronischen Leberentzündung (definiert durch eine erhöhte Alanin-Aminotransferase (ALT~40 IU/ Liter (l)) und/oder histologischen Läsionen). Zudem empfiehlt sie die Behandlung bei Patient:innen mit Leberzirrhose, dem Nachweis von HBV-DNA > 20 000 IU/ml und erhöhter Alanin-Aminotransferase (~80 IU/l), Personen über 30 mit dauerhaft erhöhten HBV-DNA Werten oder beim Vorliegen einer chronischer HBV-Infektion bei Patient:innen mit einer familiären Belastung für HCC oder Leberzirrhose und bei extrahepatischen Manifestationen (35). Für schwangere Frauen gelten die gleichen Entscheidungskriterien, jedoch sollte als Medikament der Wahl Tenofovir genutzt werden, wenn eine Therapie begonnen werden muss. Es gibt vermehrt Evidenz dafür, dass eine zeitlich begrenzte, antivirale Therapie in der Schwangerschaft in Ergänzung mit anderen Maßnahmen, wie Impfung, die Transmission von HBV reduzieren kann. Dies gilt insbesondere dann, wenn diese und weitere Maßnahmen, wie beispielsweise regelmäßige klinische Untersuchungen, nicht langfristig flächendeckend und konsequent umgesetzt werden können (9). Weitere Empfehlungen für die antivirale Therapie in der Schwangerschaft wurden zum Zeitpunkt der Leitlinienerstellung noch nicht getroffen, da die Evidenz hierzu, insbesondere hinsichtlich der Effektivität, noch unzureichend ist. Es wird jedoch explizit empfohlen, nichtbehandelte Frauen während und nach der Schwangerschaft regelmäßig zu untersuchen, um mögliche Komplikationen, wie ein Fortschreiten der Leberschädigung, rechtzeitig zu entdecken (9).

1.2.7 Prävention und Elimination

Im Mai 2016 verabschiedete die World Health Assembly mit ihren 194 Mitgliedsstaaten eine globale Hepatitis Strategie, mit dem Ziel, Hepatitis, einschließlich Hepatitis B, weltweit als Herausforderung der öffentlichen Gesundheit zu eliminieren. Das Positionspapier setzt das ambitionierte Ziel einer Reduktion der Inzidenz von chronischer Hepatitis B um 95% sowie einer Reduzierung der Mortalität um 65% bis 2030. Um dies zu erreichen, müsse laut dem Papier der Kampf gegen Hepatitis weltweit eine höhere Priorität erlangen, als dies aktuell der Fall sei. Es werden in der Strategie fünf Maßnahmen genannt, die für die weitere Bekämpfung zentral sind: 1. Impfung, 2. Verhinderung von Mutter-Kind-Übertragung, 3. Sicherheit von invasiven Verfahren im Gesundheitsbereich, 4. Schutz von Personen, die i.v.

Drogen applizieren, 5. Testung und Behandlung. Verschiedene Barrieren in der Bekämpfung von Hepatitis B werden skizziert, unter anderem ein Mangel an politischer Führung, fehlende Datenlage zu Ausmaß und Auswirkung der Erkrankungen, Unwissen der Infizierten über ihren Status sowie ein geringer Zugang zu Behandlungsmöglichkeiten (11). In den folgenden Abschnitten wird auf die beiden zentralen Punkte der Immunisierung und der Prävention der Mutter-Kind-Übertragung genauer eingegangen.

1.2.7.1 Immunisierung

Immunisierung ist eine Grundsäule der Prävention der HBV-Transmission. Eine Impfung gegen Hepatitis B ist seit 1982 verfügbar und bietet einen sicheren und effektiven Schutz vor einer Infektion mit Hepatitis B (13). Aus diesem Grund empfiehlt die WHO seit den 1990er Jahren weltweit ein Impfschema von mindestens drei Impfungen im Kindesalter. Unterstützt durch die *Global Alliance for Vaccines and Immunization (GAVI)*, einer öffentlich-privaten Impfallianz mit dem Ziel, den Zugang zu Impfungen für Kinder in Entwicklungsländern zu verbessern, hat dies weltweit zu einer Abnahme der Infektionen mit Hepatitis B geführt (13, 17).

In Ländern mit einer hohen HBV-Prävalenz soll bereits eine erste Impfdosis innerhalb von 24 Stunden nach der Geburt verabreicht werden (9).

Nur 9 der 47 Länder der Afrikanischen Region der WHO haben im Juli 2017 eine Geburtsdosis im nationalen Impfplan verankert (17, 36). Barrieren für die Implementierung und Umsetzung umfassen unter anderem eine fehlende Finanzierung von GAVI für eine monovalente Impfdosis, Durchführung der Impfungen bei Geburten außerhalb von Gesundheitseinrichtung sowie Schwierigkeiten in der korrekten Lagerung der Impfstoffe unter Einhaltung der Kühlkette (13).

Tansania hat 2006 die dreifache Impfung für Kinder als Teil des *Expanded Programme on Immunization (EPI)* eingeführt. Eine Impfung für Kinder wird im Alter von 6, 10 und 14 Wochen empfohlen. Nach offiziellen Angaben der Regierung wird eine durchschnittliche Durchimpfungsrate von 98% erreicht, nach Umfragen von UNICEF lag diese im Jahr 2018 bei 89%. Es wird bis heute jedoch weiterhin keine Impfung direkt nach der Geburt in Tansania empfohlen (37).

1.2.7.2 Prävention von Mutter-Kind-Übertragung

Die wichtigste Grundlage der Verhinderung der Mutter-Kind-Übertragung ist die Verabreichung einer monovalenten Dosis HBV-Vakzine innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Geburt. Dies gilt insbesondere für Länder mit einer hohen Endemizität, bei der eine Impfung erst 4-8 Wochen nach der Geburt bei bis zu 90% der von HBeAg-positiven Müttern geborenen Kindern zu spät sein kann, da diese sich bereits infiziert haben. Nach der Geburtsdosis sollten zwei oder drei weitere Impfdosen folgen, die genaue Abfolge kann an das nationale Impfschema angepasst werden und die Impfdosen alleine oder in Kombination mit anderen Impfstoffen (z.B. der Diphtherie-Tetanus-Pertussis-Impfung) verabreicht werden (9). Zusätzlich kann bei Kindern von HBsAg-positiven Müttern eine passive Immunisierung mit HBIG weiteren Schutz bieten. In Ländern mit begrenzten Ressourcen ist dies jedoch aufgrund der hohen Herstellungskosten der Immunglobuline sowie der notwendigen Logistik der Umsetzung, von der Testung bis zum regelmäßigen Screening, aktuell nicht umsetzbar (38). Zudem ist die Anwendung von Immunglobulin in einem Umfeld, in dem es keine allgemeinen HBV-Tests bei Schwangeren gibt, nicht sinnvoll (13).

Darüber hinaus wird das HBsAg-Screening schwangerer Frauen als wichtige Maßnahme von der WHO empfohlen (17). Dies wird in den meisten Ländern in SSA nicht routinemäßig durchgeführt (13), ist jedoch notwendig, um chronisch infizierte Frauen zu identifizieren.

Für die Umsetzung dieser Schritte ist unter anderem die Aufklärung der Mütter und anderer Erziehungsberechtigter über die Bedeutsamkeit der Impfungen wichtig. Da ca. 74% der schwangeren Frauen in der Afrikanischen Region der WHO mindestens einmal Kontakt zu einer Schwangerenvorsorge hatten, sollte dies als Möglichkeit genutzt werden (39). In Tansania haben nach Angaben der WHO ungefähr die Hälfte aller Schwangeren (50,6%) mindestens vier Kontakte zu einer Schwangerschaftsvorsorge (3). Zudem könnten Hausbesuche direkt nach der Geburt eine Möglichkeit zur Verabreichung der HBV-Impfdosis sein (13).

Bei eingeschränkten Ressourcen steht daher als kostengünstige Option die Verabreichung einer Einzeldosis-Impfung mit HBV-Impfung innerhalb von 24 Stunden nach der Geburt zur Verfügung (38). Weitere Maßnahmen, wie die Identifizierung von Frauen mit hohem Risiko

für eine Transmission, die antivirale Therapie mit Tenofovir im späteren Schwangerschaftsstadium sowie die Ermittlung von potentiellen Kontaktpersonen, wären zwar ebenfalls wichtig für die Prävention (40), bringen jedoch unterschiedliche logistische und ethische Herausforderungen mit sich, wie beispielsweise die Frage nach der Möglichkeit der Fortführung einer Behandlung der Frauen nach der Entbindung. Für die logistische Umsetzung könnte jedoch als Vorbild und mögliches Netzwerk die HIV-Programme in SSA mit deren gut etablierten Infrastruktur und dem gut geschulten Gesundheitspersonal dienen (40).

1.2.8 Folgen einer chronischen Infektion mit HBV

Neben den oben beschriebenen klinischen und gesundheitlichen Konsequenzen, die von einer Einschränkung der Lebensqualität bis hin zum Tod reichen können, gibt es noch zahlreiche weitere Folgen einer Infektion, die jedoch noch nicht alle im Detail untersucht sind. Es wird, wie auch bei anderen Infektionskrankheiten, die über Blut und sexuell übertragen werden können, vermutet, dass die Diagnose einer Infektion mit Stigmatisierung und Diskriminierung einhergeht. Im Kontext von HIV ist dieser Zusammenhang gut beschrieben, der als eine der Hauptbarrieren für den Zugang zu Behandlung gilt (41). Auch bei Hepatitis B hat die Übersichtsarbeit von Smith-Palmer et al vermehrt Hinweise auf den Zusammenhang einer HBV-Infektion mit einer möglichen internalisierten und sozialen oder auch strukturellen Stigmatisierung gefunden (42). Jedoch wurden dazu bisher nur unzureichend Daten aus afrikanischen Ländern erhoben (43).

2. Material und Methoden

2.1 Studiendetails

2.1.1 Studiendesign und -ort

Die vorliegende Studie ist eine Querschnittsstudie, die von Oktober 2014 bis März 2015 in der Abteilung für Geburtshilfe und Gynäkologie des Bugando Medical Centre (BMC) in Mwanza, Tansania, durchgeführt wurde. Ein Follow-Up der Kinder wurde im März 2018 durchgeführt. Das BMC umfasst 950 Betten und ist das einzige Krankenhaus der höchsten Versorgungsstufe (engl. *Referral Hospital*) für die Lake Region mit einer Bevölkerung von 16 Millionen Menschen. Es ist zudem ein Lehrkrankenhaus mit einer angegliederten medizinischen Fakultät. Das BMC und das Missionsärztliche Institut Würzburg (MI) sind seit den 90er Jahren im partnerschaftlichen Kontakt und haben seit 2004 ein Kooperationsabkommen. Diesem schloss sich die Universität Würzburg im Jahr 2008 an.

2.1.2 Studienpopulation

Die Studienpopulation umfasste alle schwangeren Frauen, die sich im obengenannten Zeitraum am BMC zur Entbindung vorstellten. Zudem wurden einzelne Frauen aus der *antenatal care clinic* (Schwangerenvorsorge) eingeschlossen. Einschlusskriterien waren eine bestehende Schwangerschaft und ein Alter von mindestens 18 Jahren. Mentale Erkrankungen galten als Ausschlusskriterium.

2.1.3 Ethische Aspekte

Zum Zeitpunkt der Durchführung der Studie gab es keine zugelassene Therapie für Hepatitis B in Tansania. Aus diesem Grund war es wichtig, den positiv getesteten Frauen dennoch zumindest die Möglichkeit einer regelmäßigen Vorsorgeuntersuchung und Beratung bei einer Fachärztin am BMC anzubieten. Zudem wurde allen Frauen angeboten, ihr Neugeborenes innerhalb von 24 Stunden nach der Geburt aktiv gegen Hepatitis B zu impfen. Dies wurde von allen Studienteilnehmerinnen angenommen und auch entsprechend durchgeführt. Des Weiteren konnten positiv getestete Kinder ebenfalls ohne Kosten an weiteren Vorsorgeuntersuchungen am BMC teilnehmen.

Das Ethikvotum von CUHAS/BMC Forschungs- und Ethikkommittee liegt unter der Zertifikatsnummer CREC/151/2014 vor (s. Annex). Die Studie ist bei Clinical trials.gov unter der Nummer NCT04325542 registriert.

2.2 Studienablauf

2.2.1 Rekrutierung

Zum Einschluss in die Studie wurden schwangere Frauen, welche sich im Zeitraum Oktober 2014 bis März 2015 zur Entbindung am BMC vorstellten, durch die behandelnde Hebamme gefragt, ob sie bereit wären, an der Studie teilzunehmen. Die Teilnahme erfolgte freiwillig und ohne Bezahlung. Die Zustimmung zur Teilnahme erfolgte nach ausführlicher Aufklärung über die Studienschritte schriftlich mittels einer Einverständniserklärung.

2.2.2 Erhebung der soziodemographischen Faktoren

Die soziodemographischen und möglichen anderen Risikofaktoren wurden durch standardisierte Fragebögen in englischer Sprache erhoben. Das Gespräch dazu wurde von einer Hebamme im Rahmen der Aufnahme auf die Geburtsstation vorgenommen. Die Variablen des Fragebogens wurden, basierend auf einer Literaturrecherche zu bereits veröffentlichten Erhebungen in ähnlichen Studienpopulationen, ergänzt durch die Konsultation von drei Expert:innen mit virologischem und tropenmedizinischem Hintergrund, ausgewählt. Sie umfassten Fragen zu Wohnort, Familienstand, Bildungsgrad, Beruf, Anzahl der Schwangerschaften (einschließlich der aktuellen) und Geburten, Anzahl von Sexualpartnern, Alter beim ersten sexuellen Kontakt, medizinischen Risikofaktoren (Bluttransfusionen, Operationen, intravenösen Injektionen), HBV-Impfung, bestehenden oder vergangenen Infektionen mit sexuell übertragbaren Erkrankungen (engl. *sexual transmitted infections*, STI), Gebrauch von Kondomen, weiblicher Genitalbeschneidung, dem gemeinsamen Benutzen von Zahnbürste oder Rasierer mit dem Partner sowie aktuellen oder vergangenen Ikterus bei sich selber oder in der Familie. Ergänzend wurden das Alter und der HIV-Status im Fallberichtsformular erfasst. Der Fragebogen wurde durch einen Medizinstudenten in Swahili übersetzt und durch einen weiteren tansanischen Kollegen überprüft. Der erste Entwurf des Fragebogens wurde nach ca. 50 Studienteilnehmerinnen aktualisiert und aufgrund der Rückmeldung der Hebammen, die die Befragung durchführten, vereinfacht und angepasst. Dabei wurde insbesondere das

Item zu den medizinischen Risikofaktoren so verändert, dass separat angegeben werden konnte, welcher Risikofaktor erfüllt war. So konnten auch Mehrfachnennungen abgebildet werden.

Jede Studienteilnehmerin erhielt eine anonymisierte Studiennummer. Für die Erhebung der soziodemographischen Faktoren füllte eine Hebamme im Anschluss an das ausführliche Aufklärungsgespräch ein Fallberichtsformular sowie einen standardisierten Fragebogen mit der Studienteilnehmerin aus (s. Annex).

Die Formulare wurden sortiert und werden im Studienbüro des BMC für 10 Jahre nach Erhebung der Daten aufbewahrt. Die Hebammen, welche die Rekrutierung übernahmen, wurden durch eine Trainingseinheit angeleitet sowie durch eine regelmäßige Supervision durch die Doktorandin begleitet.

2.2.3 Probensammlung

Zur Bestimmung des HBV-Status wurde ein HBsAg-Schnelltest der Firma SureScreen (Derby, Vereinigtes Königreich) durchgeführt. Nach Angaben des Herstellers liegen Sensitivität und Spezifität des Tests >99% bei einem Cut-Off von 1 ng/ml HBsAg. Zur Durchführung des Testes wurde Blut aus der Fingerbeere der Studienteilnehmerinnen entnommen. Im Falle eines positiven HBsAg-Schnelltests wurden der Mutter 12 ml EDTA Blut entnommen. Nach Entbindung wurden 1,5 ml des Blutes der Nabelschnur entnommen. Zur Verhinderung einer Kontamination durch das mütterliche Blut wurden die Hebammen angeleitet, die erste Spritze Nabelschnurblut zu verwerfen und keine transplazentare Punktion vorzunehmen (44). Nach der Entnahme wurde das Blut für 10 Minuten bei 1500 Erdschwerebeschleunigung (g) zentrifugiert und das Plasma bei -20°C für weitere Analysen verwahrt.

Für das Follow-Up wurden alle positiv getesteten Mütter und ihre Kinder im März 2018 kontaktiert und zur Kontrolle einbestellt. Von den 22 Kindern von HBV positiven Müttern konnten nur 7 einbestellt und eine Blutprobe von 3ml EDTA Blut gewonnen werden. Das Blut wurde ebenfalls zentrifugiert und das Plasma bei -20°C für weitere Analysen verwahrt.

2.3 Material

Im Folgenden finden sich die Materialien (Geräte + Kit), welche von der Doktorandin bei der Analyse der Proben in Kapstadt, Südafrika, genutzt wurden. Die weiteren Materialien, die bei den Analysen an der Uniklinik in Würzburg genutzt wurden, finden sich zusammengefasst in dem entsprechenden Abschnitt unter „Laboranalyse“.

2.3.1 Geräte

CO ₂ -Inkubator	NU-5510/E/G, NuAire, Plymouth, Vereinigte Staaten von Amerika (USA)
DNA-Sequenzierer	3130x/Genetic Analyzer, Applied Biosystems, Foster, Kalifornien, USA
Elektrophorese-Netzgerät	EPS 3013, Amersham Pharmacia Biotech, Little Chalfont, Vereinigtes Königreich (UK)
Gel-Dokumentationssystem	UVIprochemi II D-77LS-26M, Uvitec, Cambridge, UK
Heizblock	Omeg Scientific, Kapstadt, Südafrika
Mikrotiterplatten mit 96 Wells	MicroAmp Optical 96-well reaction plate, Applied Biosystems, Foster City, USA
Mikrotiterplatten-Waschgerät	MW-12A, Shenzhen Mindray Bio-medical Electronics Co., Guangdong Sheng, China
Mikrotiterplatten-Schüttler	Multi-microplate-Genie, Scientific industries, New York, USA
Mikrotiterplatten-Lesegerät	ELx800, Bio-Tek Instruments, Winoski, USA
Nadeldrucker	LX-300+, Epson, Suwa, Japan
Pipetten	Labnet International, Edison, New Jersey, USA
Real-time PCR Cycler	Rotor Gene, RG- 6000 Corbett Research, Australien

	Bio-Rad CFX96 realtime PCR, Bio-Rad Laboratories, Hercules, Kalifornien, USA
Rotator	DSR2800A, Digisystem Laboratory Instruments, Inc., Taiwan
Sequenzierer	ABI-Prism-3130xl genetic analyzer, Applied Biosystems, Foster, Kalifornien, USA
Sicherheitswerkbank	BioFlow II, Labotec, Dillenburg, Deutschland
Spektrophotometer	NanoDrop-1000, Inqaba Biotec, Kapstadt, Südafrika
Thermocycler	GeneAmp PCR System 9700, Applied Biosystems, Foster City, USA
Vortex Mixer	VM-300, Gemmy Industrial Corporation, Taipei, Taiwan
Zentrifuge	5415 D, Eppendorf, Deutschland CR 412, Jouan, UK Model Allegra-6R, Beckman Coulter, USA Biofuge 13, Heraeus, Hanau, Deutschland

2.3.2 Kits

BigDye Xterminator purification kit	Applied Biosystems, Kalifornien, USA
BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit	Applied Biosystems, Kalifornien, USA
ETI-EBK PLUS (HBeAg)	DiaSorin, Salugia, Italien
ETIAB-EBK PLUS (Anti-HBeAg)	DiaSorin, Salugia, Italien
HBsAg test	Nal Diagnostics, Sure Screen, Derby, UK
Murex HBsAg Version 3	Murex Biotech, Kent, UK
QIAmp MinElute Virus Spin kit	Qiagen, Hilden, Deutschland

2.4 Laboranalyse

In der virologischen Abteilung der Stellenbosch Universität Südafrika wurden zum einen virologische Analysen zur Quantifizierung der Viruslast und zur Sequenzierung der Oberflächenregion des HBV sowie serologische Analysen auf HBeAg, Anti-HBe und eine Überprüfung des Vorhandenseins des HBsAg bei den Proben der Mütter und der Kinder durchgeführt.

Die serologischen und virologischen Analysen der Follow-Up-Proben der Kinder wurden freundlicherweise in der Virologie der Universität Würzburg untersucht. Für die serologische Analysen wurden der ARCHITECT HBsAg Qualitative II, ARCHITECT Anti-HBc II und der ARCHITECT Anti-HBs Immunoassay (Abbott, Irland) und für die Viruslastbestimmung COBAS® Taq-Man® mit High Pure System (Roche, Schweiz) genutzt.

2.4.1 Virologische Analyse mit PCR

Die Polymerasekettenreaktion (engl. *polymerase chain reaction*, PCR) ist ein Verfahren, bei dem durch Vervielfältigung von DNA-Abschnitten eine bestimmte Nukleinsäuresequenz nachgewiesen werden kann. Dazu wird zunächst die DNA aus der Probe extrahiert und von anderen störenden Bestandteilen gereinigt. Im nächsten Schritt durchläuft die DNA typischerweise drei Stufen: Zunächst erfolgt die Denaturierung der DNA in zwei Einzelstränge bei 92-98°C, anschließend folgt die Anlagerung der Primer (engl. *annealing*) bei niedrigerer Temperatur, die entsprechend der Beschaffenheit des Primer angepasst wird. Im nächsten Schritt wird die Temperatur auf 72°C erhöht, damit die DNA-Polymerase aktiv werden und einen zweiten Strang bilden kann (engl. *extension*). Diese Schritte werden mehrfach wiederholt, die genaue Anzahl der Zyklen hängt von der Art des verwendeten Verfahrens ab (45).

Zur Messung der Viruslast kann die quantitative Echtzeit-PCR (engl. *real-time quantitative PCR*) genutzt werden. Dieses beruht auf den Prinzipien der PCR und wird ergänzt durch eine zusätzliche Quantifizierung der DNA. Dafür wird eine Fluoreszenzmessung der PCR-Produkte in der exponentiellen Phase der PCR durchgeführt. Da die Fluoreszenz direkt

proportional mit der Menge der DNA-Produkte steigt, kann somit die Quantität der DNA berechnet werden (45).

2.4.1.1 Quantifizierung der HBV-DNA

Die Quantifizierung der HBV-DNA aus den Proben wurde mit dem QIAamp DSP 96 Virus MDx Virus-Nukleinsäure-Reinigungsverfahren und dem Rotor-Gene 6000 nach einem erprobten Verfahren durchgeführt (46). Die Quantifizierung basierte auf einer Standardkurve, welche mit einem laborinternen Standard erstellt wurde. Dieser wurde mit dem WHO HBV DNA Quantifizierungsstandard (National Institute of Biological Standards and Controls, Herts, UK) mit einer Viruslast von 1×10^6 IU/ml kalibriert. Der Assay verwendet das murine Cytomegalovirus (mCMV) als interne Kontrolle (engl. *internal control*, IC). Die Echtzeit-PCR weist sowohl HBV als auch mCMV mit unterschiedlich markierten TaqMan-Sonden nach. Eine interne HBV-'Laufkontrolle' dient als Positivkontrolle der Analyse. Die Quantifizierung wurde nach einer laborinternen Arbeitsanweisung (engl. *Standard Operating Procedures*, SOPs) durchgeführt. Im Folgenden sind die Schritte im Detail beschrieben.

Vorbereitung

Die Träger-RNA wurde mit 310 µl AVE-Puffer aufgelöst. Es wurden 13,8 ml Puffer AL, 96,0 µl Träger-RNA und 104,2 µl mCMV IC miteinander vermischt. Zur Herstellung der Protease wurde 1,4 ml AVE-Puffer zu lyophilisierte Protease gegeben und gut gemischt.

Für die Herstellung des HBV Taqman Primer/Sondenmix wurden folgende Primer und Sonden genutzt.

HBV Primer 1: 5'- G,T,G,T,C,T,G,C,G,G,C,G,T,T,T,A,T,C,A-3'

HBV Primer 2: 5'- G,A,C,A,A,A,C,G,G,C,A,A,C,A,T,A,C,C,T,T-3'

mCMV Primer 1: 5'-A,A,C,C,C,G,G,C,A,A,G,A,T,T,T,C,T,A,A,C,G-3'

mCMV Primer 2: 5'-A,T,T,C,T,G,T,G,G,T,C,T,G,C,G,A,C,T,C,A -3'

HBV Sonde: 5'FAM- C,C,T,C,T,(T/G),C,A,T,C,C,T,G,C,T,G,C,T,A,T,G,C,C,T,C,A,T,C -3'TAMRA

mCMV Sonde: 5'-VIC-C,T,A,G,T,C,A,T,C,G,A,C,G,G,T,G,C,A,C,A,T,C,G,G,C-3'TAMRA

Primer/Sonde	Konzentration (pmol/ µl)	36-well RotorGene (38 wells)	72-well RotorGene (76 wells)
HBV Primer 1	100	3.8 µl	7.6 µl
HBV Primer 2	100	3.8 µl	7.6 µl
HBV Sonde	100	1.9 µl	3.8 µl
mCMV Primer 1	100	3.8 µl	7.6 µl
mCMV Primer 2	100	3.8 µl	7.6 µl
mCMV Sonde	100	1.9 µl	3.8 µl

Extraktion der DNA

Für die Extraktion von HBV-DNA wurde das QIAmp MinElute Virus Spin Kit genutzt und nach Herstellerangaben durchgeführt (47). Diese sind im Folgenden beschrieben:

25 µl von QIAGEN Protease wurden in beschriftete Kunststoffröhrchen (1.5 ml) gegeben und weitere 200 µl der Proben sowie 200 µl der Pufferlösung (mit 28 µl/ml Träger-RNA) zugegeben. Die Kunststoffröhrchen wurden für etwa 15 Sekunden im Vortex durchmischt und für 15 Minuten in einem Heizblock bei 56°C inkubiert. Anschließend wurde das Röhrchen kurz zentrifugiert, um Tropfen vom Deckel zu entfernen. 250 µl Ethanol (99%v/v) wurden der Probe zugesetzt und 15 Sekunden lang im Vortex gründlich durchmischt. Nach einer 5-minütigen Inkubation bei Raumtemperatur wurden 700 µl Lysat zu der QIAmp MinElute-Säule hinzugefügt und diese 1 Minute lang bei 8000 *revolutions per minute* (rpm) zentrifugiert. Die Säule wurde in ein frisches Sammelröhrchen gegeben und das Filtrat verworfen. 500µl AW1-Puffer wurde allen Säulen zugegeben und erneut 1 Minute lang bei 8000 rpm zentrifugiert. Erneut wurde die Säule in ein frisches Sammelröhrchen gegeben und das Filtrat verworfen. 500 µl AW2-Puffer wurde zu allen Säulen hinzugefügt und erneut bei 8000 rpm für 1 Minute zentrifugiert. Die Säule wurde in ein frisches Sammelröhrchen gegeben und 500 µl Ethanol wurde allen Säulen zugegeben. Nach einer 1-minütigen Zentrifugation bei 8000 rpm wurde die Säule in ein frisches Sammelröhrchen gegeben und

das Filtrat verworfen. Nach dreiminütiger Zentrifugation bei 13000 rpm wurde die Säule in ein frisches Sammelröhrchen gegeben und 60 µl AVE-Puffer wurden auf die Membran der Säule gegeben und eine Minute lang inkubiert. Schließlich wurde die Säule nach 1-minütiger Zentrifugation bei 13000 rpm verworfen und das Eluat in ein frisches 1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen überführt und bis zur weiteren Verarbeitung in einem Gefrierschrank bei -20°C gelagert.

Vorbereitung der Standards und internen Kontrollen

Die HBV-Standardkurve basiert auf einer 10-fachen Verdünnungen des Standards mit 100.000.000 IU/ml. Die serielle Verdünnung für die HBV-Standardkurve wurde unmittelbar vor dem Extraktionsverfahren vorgenommen.

Dafür wurden alle Proben und Kontrollen in Mikrozentrifugenröhrchen gegeben. Als negative Kontrolle wurde Humanplasma (engl. *normal human plasma*, NHP) verwendet. Es wurde 0.25 ml des HBV-Standards 100.000.000 IU/ml ("Chong") aufgetaut und eine zehnfache Verdünnungen dieses Standards entsprechend der folgenden Tabelle vorgenommen:

Laborinterne Kontrolle	Zusammensetzung
100 000 000 Kopien/ml	300µl HBV "Chong" Standard
10 000 000 Kopien/ml	30 µl 100 000 000 IU/ml Kontrolle + 270 µl NHP
1 000 000 Kopien/ml	30 µl 10 000 000 IU/ml Kontrolle + 270 µl NHP
100 000 Kopien/ml	30 µl 1 000 000 IU/ml Kontrolle + 270 µl NHP
10 000 Kopien/ml	30 µl 100 000 IU/ml Kontrolle + 270 µl NHP
1 000 Kopien/ml	30 µl 10 000 IU/ml Kontrolle + 270 µl NHP
100 Kopien/ml	30 µl 1 000 IU/ml Kontrolle + 270 µl NHP
Negative	300 µl NHP

Zudem wurde eine weitere HBV positive Probe als Positivkontrolle verwendet. Als Kontrolle wurde mCMV-Überstand 1:25 mit nukleasefreiem Wasser verdünnt und anschließend bei -70°C gelagert. Die interne mCMV-Kontrolle wurde vor der Extraktion der Proben zum Lysepuffer AL hinzugefügt.

Amplifikation

Zur Durchführung der Amplifikation wurden die Reagenzien folgendermaßen gemischt:

Reagenz	Anzahl/Probe	36 well RotorGene (N=38)	72 well RotorGene (N=76)
Quantitect QPCR mastermix	12,5 µl	475µl	2500 µl
HBV Taqman Primer/Sondenmix	0,5 µl	19 µl	36 µl
Nucleasefreies Wasser	2 µl	76 µl	160 µl

15 µl des Mastermix wurden mit je 10 µl der DNA in jede Vertiefung (engl. *well*) einer 0,2 ml optischen PCR-Platte gegeben und anschließend in das Bio-Rad CFX96 realtime PCR detection system gegeben und analysiert.

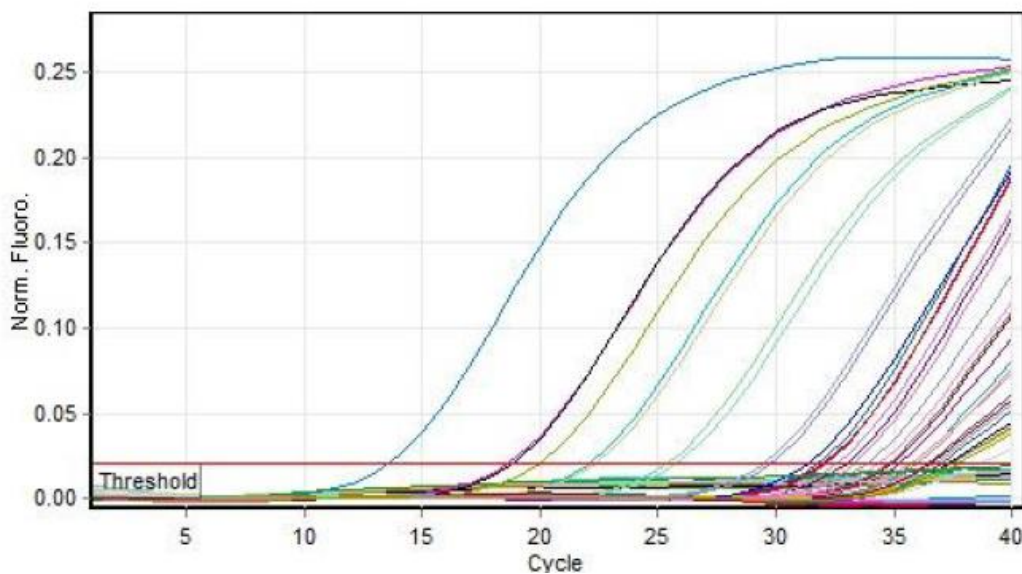


Abbildung 4. Beispiele für Ergebnisse der quantitativen Analyse der real-time PCR

2.4.1.2 Sequenzierung der Oberflächenregion des Hepatitis-B-Virus

Die DNA-Sequenzierung der Oberflächenregion des Hepatitis-B-Virus wurde mit der Methode nach Sanger durchgeführt (48). Proben mit quantifizierbarer HBV-DNA aus dem vorherigen Schritt wurden für die weitere Sequenzierung zur Bestimmung des Genotyps verwendet (49). Dafür wurden folgende Schritte durchgeführt: 1. Eine verschachtelte PCR (engl. *nested PCR*); 2. Visualisierung der Produkte in Gel; 3. Reinigung; 4. Sequenzierungs-PCR; 5. Aufreinigung; 6. Analyse mit Base-Calling. Die Sequenzierung wurde nach laborinternen SOPs durchgeführt. Im Folgenden sind die Schritte im Detail beschrieben.

Nested PCR

Bei der nested PCR werden zwei Primer-Paare zur Amplifikation verwendet, wobei das erste, äußere Primer-Paar ein größeres PCR-Produkt synthetisiert und dann in einem zweiten Schritt dieses Produkt weiter amplifiziert wird. Dadurch erhöht sich die Spezifität und Sensitivität des Verfahrens, wobei gleichzeitig eine erhöhte Kontaminationsgefahr besteht (45). Es wurden folgende Primer verwendet, welche die Reverse-Transkriptase-Region der HBV-Polymerase amplifizieren (49):

Primer Name	Position nach Pugh et al 1986 (50)
HBV Z	1179-1199
HBV 3	2478-2455
HBV P	1292-1311
HBV M	2306-2287
HBV N	1991-1965
HBV H	1767-1793

Für die erste PCR wurde der folgende PCR Master Mix vorbereitet:

2,5 µl	10XPCR Puffer
0,75 µl	50mM Mg Cl ₂
0,5 µl	10mM dNTPS

0,1 µl	Taq Polymerase
0,5 µl	HBV 3 (20p/µl)
0,5 µl	HBV Z (20p/µl)
15,15 µl	dH ₂ O

5 µl virale DNA wurden zu 20 µl PCR-Mastermix in einem Röhrchen hinzugefügt, in den Thermocycler gegeben und die PCR unter folgenden Bedingungen durchgeführt:

95°C	5 Minuten	} 34 Zyklen
94°C	30 Sekunden	
55°C	30 Sekunden	
72°C	1 Minuten	
72°C	2 Minuten	

Der folgende PCR Master Mix wurde für die zweite PCR vorbereitet:

5 µl	10 XPCR Puffer
1,5 µl	50 mM Mg Cl ₂
1 µl	10 mM dNTPS
0,2 µl	Taq Polymerase
1 µl	HBV P (20p/µl)
1 µl	HBV M (20p/µl)
39,3 µl	dH ₂ O

1 µl des Produktes der ersten Runde wurde zu 49 µl PCR-Mastermix gegeben, das Röhrchen in den Thermocycler gestellt und durchlief diesen unter folgenden Bedingungen:

95°C	5 Minuten	}	34 Zyklen
94°C	30 Sekunden		
50°C	30 Sekunden		
72°C	1 Minute		
72°C	7 Minuten		

Herstellung des Gels und Visualisierung

Das 2%ige Agarosegel wurde durch die Kombination von 2 gramm Promega LE-Agarose mit 100 ml 1XTBE-Puffer in einem Erlenmeyerkolben hergestellt. Nachdem es durch ein Schwenken des Kolbens durchmischt worden war, wurde es 3,5 Minuten lang in einer Mikrowelle (700 Watt) erwärmt, bis es sich vollständig aufgelöst hatte. Der Kolben wurde unter einem Wasserhahn abgekühlt und das Gel anschließend ausgegossen.

Auf einer Mikrotiterplatte wurden 2 µl *loading dye* mit 2 µl PCR-Produkt und 5 µl Wasser gemischt. Zur Herstellung des 1 Kb-Markers wurden 1 µl DNA-Leiter, 2 µl *loading dye* und 5 µl Wasser gemischt. Das Gel wurde in den Gelelektrophoresetank gegeben und mit XTBE-Puffer bedeckt. Die Vertiefungen wurden mit 9 µl Reaktionslösung beladen. Die Auftrennung wurde 20 Minuten lang bei 120 V durchgeführt. Danach wurde das Gel in Ethidiumbromidbad (5 µl/ml) etwa 15 Minuten lang gefärbt und anschließend 5 Minuten lang in Wasser entfärbt. Zur Visualisierung des Gels wurde ein Biorad-UV-Transilluminator verwendet und das Ergebnis fotografiert.

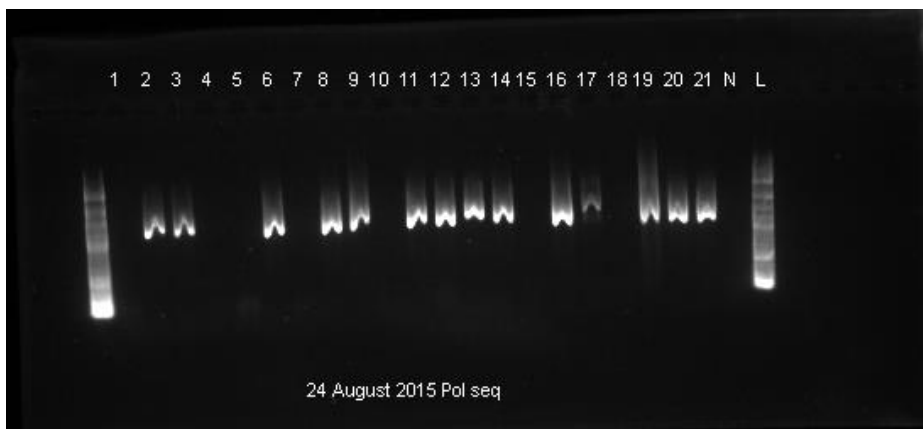


Abbildung 5. Ergebnisse der Gelvisualisierung

Reinigung der PCR-Produkte

Um das PCR-Produkt zu reinigen, wurden jeweils 500 µl Capture-Puffer und 30 µl PCR-Produkt in 1,5 ml Mikrozentrifugenröhrchen gegeben und durch viermaliges Auf- und Abpipettieren gemischt. Die Röhrchen wurden 1 Minute lang bei 1500 g zentrifugiert. Alle Röhrchen wurden mit 500 µl Waschpuffer versetzt. Auch hiernach wurde 1 Minute lang bei voller Geschwindigkeit zentrifugiert. Das Filtrat und die Sammelröhrchen wurden verworfen. Die Säulen wurden in Mikrozentrifugenröhrchen gegeben. Die DNA wurden in 40 µl dH₂O eluiert, 1 Minute bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend 1 Minute bei voller Geschwindigkeit zentrifugiert, um das gereinigte Produkt zurückzugewinnen. Die Säulen wurden verworfen und die gereinigte DNA auf 1%-Agarosegel im gleichen Verfahren wie oben mit 2 µl gereinigter DNA sichtbar gemacht, um sicherzustellen, dass das Produkt während des Reinigungsprozesses nicht verloren gegangen ist.

Sequenzierung

Zur Durchführung der Sequenzierung wurde das BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit genutzt. Der folgende Sequenzierungs-PCR-Mix wurde pro Probe hergestellt:

Reagenz	Kommentar	Menge
Terminator ready reaction mix		1 µl
ABI Sequenzierungspuffer		3 µl
Template	Zwischen 15-25 ng	1 µl
Primer (P, M, H, N)	2.0 pmol/µl	1 µl
Wasser		4 µl
Endvolumen		10 µl

Es wurden 0,9 µl in eine 96-well-Reaktionsplatte gegeben. Die Reagenzien wurden in der oben genannten Reihenfolge zugegeben. Nach der Zugabe der Primer wurden die

Röhrchen auf Eis gelegt, wo der Mastermix weiter zugegeben wurde. Die Röhrchen wurden in den Thermocycler gegeben und mit folgendem Programm sequenziert:

Temperaturprofil der PCR

96 °C	20 Sekunden	}	30 Zyklen
50 °C	20 Sekunden		
60 °C	4 Minuten		
4 °C	Pause		

Aufreinigung

Zur Reinigung und Entfernung von nicht eingebauten Terminatoren und Salzen wurde das BigDye Xterminator purification kit verwendet. Dafür wurden folgende Reagenzien genutzt:

Reagenzien	Volumen/Vertiefung in µl
SAM Lösung	49,5
Xterminator	11

Die XTerminator-Lösung wurde 10 Sekunden lang mit maximaler Geschwindigkeit im Vortex gemischt und in einen sauberen Behälter geben. Das entsprechende Volumen der SAM-Lösung wurde in die Xterminator-Lösung geben, wobei sichergestellt wurde, dass sich keine Partikel in der SAM-Lösung befinden. Die beiden Lösungen wurden homogen miteinander vermischt. Zur Entfernung von Tröpfchen am Deckel wurde die 96-Well-Platte zentrifugiert. 55 µL des vorgemischten Xterminator-Reagenzes wurden zu jeder Vertiefung auf der MicroAmp Optical 96-well-Reaktionsplatte hinzugegeben. Die Platte wurde versiegelt und 30 Minuten lang bei 2000 rpm im Vortex gemischt. Anschließend wurde die Platte 2 Minuten lang bei 1000 g zentrifugiert.

Die Proben wurden mit dem ABI-Prism-3130xl genetic analyzer sequenziert. Zur Zuweisung der Chromatogrammpeaks zu den Nukleobasen (engl. *base calling*) wurde das Softwareprogramm Sequencher genutzt.

2.4.1.3 Analyse der Virussequenzen

Die Analyse der Virussequenzen wurde in Zusammenarbeit mit einem südafrikanischen Kollegen durchgeführt. Zum Vergleich der unterschiedlichen Virussequenzen und möglicher gemeinsamer Verwandtschaftsgrade erfolgte eine phylogenetische Analyse. Diese wurde mit dem Computerprogramm ClustalW, unter der Nutzung der *Neighbor Joining method* basierend auf dem Tamura-Nei Modell mit Hilfe der MEGA6-Software, analysiert (51).

2.4.2 Serologische Analyse mit ELISA Technik

Enzymimmunoassays (engl. *Enzyme Linked Immunosorbent Assays*, ELISA) werden häufig zum Nachweis und zur Quantifizierung von Antigenen oder Antikörpern verwendet. Dabei ist ein Molekül auf einer Oberfläche fixiert, an welches der Analyt sich bindet. In einem zweiten Schritt wird ein weiteres, markiertes Molekül hinzugegeben, welches wiederum spezifisch an den Analyt bindet. Somit kann die Konzentration des Analyt, beispielsweise eines Antigens, nachgewiesen werden, z.B. durch Photometrie (45).

2.4.2.1 Qualitative Bestimmung von Antikörpern

Für die qualitative Bestimmung des Hepatitis-B-e-Antigens wurde das HBeAg Enzymimmunoassay-Kit verwendet und nach Angaben des Herstellers genutzt und auch entsprechend einer Qualitätskontrolle unterzogen. Im Folgenden ist das Vorgehen im Detail beschrieben.

Alle Reagenzien wurden vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur aufgewärmt. 50 µl Inkubationspuffer, 50 µl Kalibrator, Negativ- und Positivkontrollen und Proben sowie 50 µl der Neutralisationslösung wurden in alle Vertiefungen gegeben. Ein *cardboard sealer* wurde aufgetragen. Die Platte wurde leicht geschüttelt, um alle in der Flüssigkeit eingeschlossenen Blasen freizusetzen. Während der Inkubation wurde die Platte zwei Stunden lang bei 37°C inkubiert. Die Arbeitslösung für den Enzymtracers wurde hergestellt. Nach Abschluss der Inkubation wurde der *cardboard sealer* entfernt. Die Vertiefungen wurden jeweils fünfmal mit einem Waschpuffer gespült. Nach dem Spülen wurde die Platte

auf absorbierendes Papier gelegt, um überschüssige Flüssigkeit zu entfernen. 100 µl der funktionierenden Enzym-Tracer-Lösung wurden in alle Vertiefungen gegeben. Ein weiterer *cardboard sealer* wurde aufgetragen, um eine Verdunstung zu verhindern und die Platte wurde erneut leicht geschüttelt. Nach einer einstündigen Inkubation bei 37°C wurde die Platte erneut gespült. Danach wurden 100 µl Chromogen-/Substratlösung in alle Vertiefungen gegeben. Nach einer 30-minütigen Inkubation bei Raumtemperatur wurde 100 µl Stopplösung in alle Vertiefungen gegeben. Am Ende des Verfahrens wurde die Absorption der Proben durch ein Photometer bei 450/630 nm gemessen. Für die Qualitätskontrolle wurden die Ergebnisse der leeren sowie der Kalibratorenvertiefung nach der Messung der Absorbierung kritisch überprüft, ob sie sich innerhalb der definierten Spannweite befinden, was der Fall war.

Für die qualitative Bestimmung des Antikörpers gegen Hepatitis-B-e-Antigens wurde das Anti-HBeAG Enzymimmunoassay-Kit verwendet und nach Herstellerangaben genutzt. Zur Überprüfung des Hepatitis-B-Oberflächenantigens wurde Murex HBsAg Version 3 verwendet und nach Herstellerangaben angewandt. Beide Verfahren sind im Grundprinzip analog zu dem oben beschriebenen Verfahren.

2.5 Statistische Analyse

Die statistische Analyse wurde von der Doktorandin selbstständig nach Rücksprache mit der statistischen Beratung der Universität Würzburg durchgeführt. Die Daten wurden in eine Microsoft Excel-Tabelle übertragen und die Eingabe doppelt überprüft. Unstimmige Angaben wurden in Rücksprache mit dem Studienteam bereinigt. Statistische Analysen wurden mit der Software IBM SPSS Version 25 durchgeführt.

Die Darstellung der Häufigkeit und die Angabe der Prozente erfolgt unter Ausschluss von fehlenden Daten. Für die Berechnung der Häufigkeit der Fehlgeburten, ein Parameter, welcher nicht im Fragebogen abgefragt wurde, wurde die Anzahl der vorangegangenen Geburten von der Anzahl der Schwangerschaften subtrahiert und von der Zahl 1 abgezogen. Die daraus resultierenden Werte, die unter 0 lagen (z.B. -1), wurden erneut mit dem Antwortbogen überprüft und wenn kein Fehler in der Dateneingabe vorlag, von der weiteren Auswertung ausgeschlossen.

Zur Auswertung der Kategorie „Anderes“ bei den Berufsgruppen wurden die genannten Ergebnisse den folgenden, deduktiv erstellten Gruppen zugeordnet: (Hochschul-) Lehrerinnen, Studentinnen und Schülerinnen, Schneiderinnen, Kleinunternehmerinnen, Sonstige (für alle weiteren Nennungen mit $n < 10$) und keine Nennung. Für die weitere Analyse und Darstellung wurde die Gruppe Kleinunternehmerinnen und Händlerinnen zusammengelegt, da sie einem übergeordneten Berufsfeld ohne klare Trennung zwischen den einzelnen Kategorien zuzuordnen sind. Die Übersetzung und Zuordnung wurden durch die Doktorandin durchgeführt und durch einen tansanischen Kollegen geprüft.

Für die weitere Auswertung und den Vergleich der HBsAg-positiven und -negativen Studienteilnehmerinnen wurden die Parameter mit mehreren Antwortmöglichkeiten in Absprache mit der Studienleitung und der statistischen Beratung zu zwei bzw. drei inhaltlich zusammenpassenden Variablen pro Parameter kombiniert, um Variablen mit zu kleinen Werten vermeiden. Das geschah folgendermaßen: Die ursprüngliche Frage nach einer Impfung gegen Hepatitis B konnte mit a) alle drei, b) mindestens eine oder c) keine beantwortet werden. Für die Auswertung wurden a) und b) zusammengefasst, so dass am Ende die beiden Kategorien i) mindestens eine Impfung und ii) keine Impfung miteinander verglichen wurden. Das Verfahren wurde ebenfalls für die Fragenkategorien Familienstand, Schwangerschaft, Geburten, Ikterus angewandt. Für die Fragenkategorien Ausbildung, Arbeit, Anzahl an Sexualpartnern wurden drei übergeordnete Variablen gebildet und miteinander verglichen.

Um eine mögliche Korrelation der Variablen zu beurteilen, wurde für alle Variablen, die die Kriterien der Kreuztabelle (2x2) erfüllten, eine binäre logistische Regression durchgeführt und das Chancenverhältnis (engl. *Odds Ratio*, OR), das 95%-Konfidenzintervall (engl. *Confidence Interval*, CI) und der p-Wert berechnet. In den Fällen, bei denen eine Variable den Wert 0 hatte und eine Berechnung daher nicht möglich war, wurde der Wert 0,5 zu allen Variablen hinzugefügt und anschließend die Berechnung durchgeführt (52). Aufgrund der verhältnismäßig geringen Anzahl an HBsAg-positiven Frauen wurde weitere Analysen zum Beispiel auf Confounder aus statistischer Sicht als nicht sinnvoll eingeschätzt.

Ein p-Wert unter 0,05 wurde als starke Evidenz gegen die Nullhypothese von keinem Zusammenhang gewertet, wenn das Konfidenzintervall zudem nicht den Wert 1 beinhaltete.

3. Ergebnisse

3.1 Charakteristika der Studienteilnehmerinnen

Insgesamt 743 Frauen nahmen an der Studie teil, alle waren schwanger und im Alter von 18 bis 47 Jahren. Das mittlere Alter lag bei 26 Jahre (Interquartilsabstand (IQR): 31-22). Die genaue Verteilung des Alters ist in der Abbildung 6 als Histogramm dargestellt.

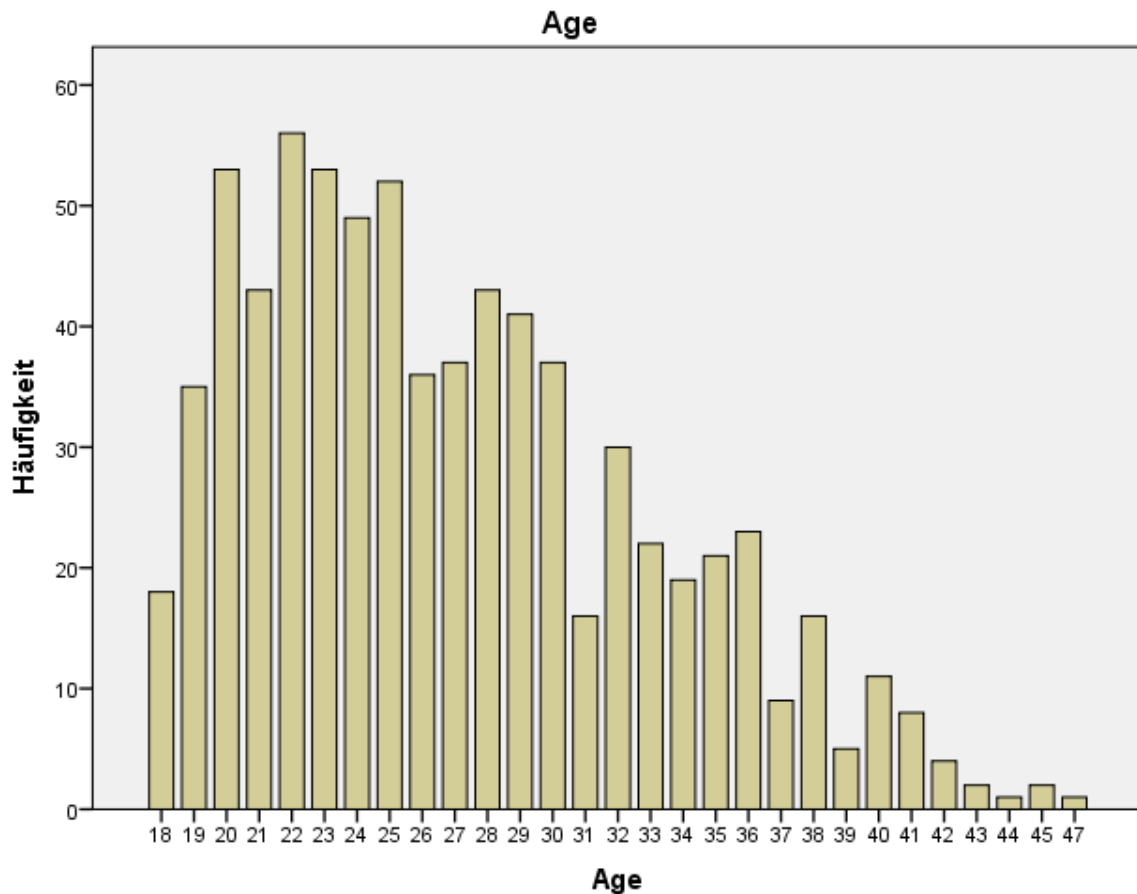


Abbildung 6. Histogramm der Altersverteilung der Studienteilnehmerinnen

Nach eigenen Angaben waren 42 (5,7%) der Frauen HIV-positiv, 678 (92,0%) HIV-negativ und 17 (2,3%) konnten keine Aussage über ihren HIV-Status treffen. Von allen HIV-positiven Frauen gaben jedoch nur 37 (88%) an, regelmäßig antiretrovirale Medikamente (ARV) einzunehmen. Vaginale Blutungen wurden bei einem kleinen Teil der schwangeren Frauen berichtet (41, 5,6%) und ein noch kleinerer Teil gab an, Medikamente (über ARV hinaus) einzunehmen (24, 3,3%), hierunter am häufigsten Antimalariamittel, gefolgt von

Anthelminthika, verschiedenen Antibiotika, u.a. Cotrimoxazol-Prophylaxe, und anderen Medikamenten (s. Tabelle 2).

Tabelle 2. Eingenommene Medikamente in der Schwangerschaft und Häufigkeit der Nennung durch Studienteilnehmerinnen

Medikament	Häufigkeit der Nennung
Antimalariamittel	
- Amodiaquine	1
- Sulphadoxin-Pyrimethamin	2
- Artemether-Lumefantrin	1
Antibiotika	
- Amoxicillin	1
- Cotrimoxazol Prophylaxe	3
- Metronidazol	1
- Nitrofurantoin	1
- Erythromycin	1
Anthelminthika	3
Heparin	1
Insulin	1
Antihypertensiva	
- Methyldopa	1
- Andere	1
Hemvit Syrup (Eisen, VitB12, Zink, Folsäure, Lysin)	3
Paracetamol	1
Andere (nicht identifizierbar)	1

Die meisten Frauen lebten im Stadtgebiet (710, 95,6%), waren verheiratet oder in einer festen Beziehung (689, 92,7%). Eine Grundschulbildung hatten 314 (42,3%) und eine Sekundarschulbildung und/oder ein Studium 389 (52,4%) abgeschlossen. Mehr als die Hälfte der Frauen (429, 57,7%) war erwerbstätig, davon arbeiteten 26 (3,5%) im Gesundheitssektor. Insgesamt 312 Frauen (42,0%) waren nicht erwerbstätig und/oder

Hausfrau (s. Tabelle 3 und 4). Die Detailauswertung der Kategorie „Anderes“ (Tabelle 3) zeigt, dass der Großteil der Frauen in einem Kleinunternehmen beruflich tätig waren (*Biashara* in Swahili) und somit auch der Kategorie der „Händlerin“ zugeordnet werden können.

Tabelle 3. Weitere Berufsgruppen unter den Studienteilnehmerinnen (Kategorie „Anderes“)

Berufsgruppe	Häufigkeit der Nennung
Kleinunternehmerinnen	177
(Hochschul-)Lehrerinnen	32
Sonstige (u.a. Soldatinnen, Village Officer)	29
Schneiderinnen	24
Studentinnen, Schülerinnen	19
Keine Nennung	6
Gesamt	287

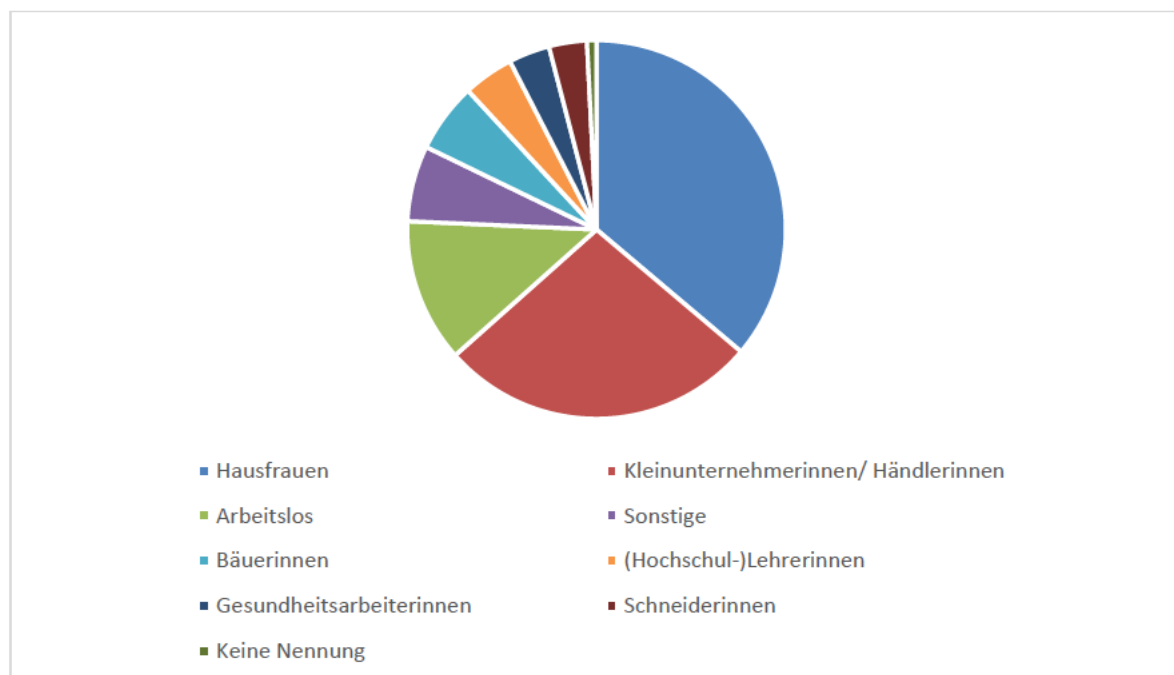


Abbildung 7. Angaben der Studienteilnehmerinnen zu ihrem Arbeitsstatus (zusammengefasst)

Bei 271 Frauen (36,5%) handelte es sich um die erste Schwangerschaft (s. Abbildung 8). Entsprechend hatte auch ein Großteil der Frauen (299, 40,3%) noch kein Kind geboren. Der Unterschied zwischen der Anzahl der Primigravidae und den Primiparae (n=28) erklärt sich

vermutlich durch Fehlgeburten. Die große Mehrheit der Frauen (674, 91,8%) hatten den Berechnungen zufolge noch keine Fehlgeburt erlebt, 39 (5,3%) Frauen jedoch eine und 21 (2,9%) Frauen zwei oder mehr.

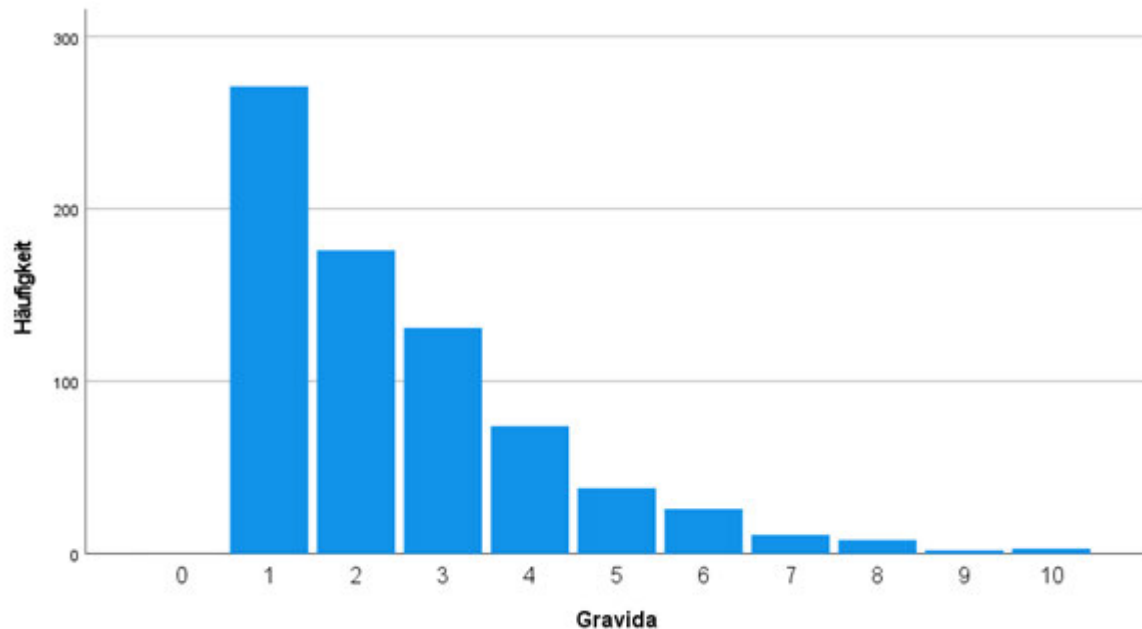


Abbildung 8. Anzahl der Schwangerschaften bei den Studienteilnehmerinnen

Zweihundertsiebenundachtzig (40,5%) Patientinnen gaben an, in ihrem Leben nur einen Sexualpartner gehabt zu haben, und ein Großteil (712, 95,8%) gab an den ersten sexuellen Kontakt im Alter von 15 oder älter gehabt zu haben.

Nur eine kleine Zahl von Teilnehmerinnen (14, 1,9%), hatte vor Beginn der Studie eine oder mehrere Hepatitis-B-Impfungen erhalten und nur 5 (0,7%) der Frauen hatten zuvor einen HBV-Test gemacht.

Die Mehrheit der Frauen (733, 98,7%) benutzte nur manchmal oder nie ein Kondom. Rasierklingen wurden häufiger in der Familie geteilt als Zahnbürsten (162, 21,9% vs. 91, 12,2%). Eine Beschneidung wurde in 23 (3,1%) Fällen angegeben. Nur eine kleine Anzahl an Frauen (33, 4,7%) berichtete über eine bekannte Vorgeschichte von STIs (HIV ausgeschlossen, da separat abgefragt). Die überwiegende Mehrheit hatte weder ein Bluttransfusion, oder i.v. Injektionen erhalten, noch sich einer Operationen unterzogen (insgesamt 556, 77,5%, siehe zusammengefasste Tabelle B im Annex).

Insgesamt waren 22 von den 743 getesteten Frauen (3,0%) HBsAg-positiv.

Tabelle 4. Charakteristika und Risikofaktoren der Studienteilnehmerinnen gesamt und jeweils aufgeteilt nach HBsAg Status. Prozentzahlen beziehen sich auf die Verteilung innerhalb der einzelnen Gruppen (Gesamt, HBsAg-positiv oder -negativ)

	Gesamt	HBsAg-positiv	HBsAg-negativ
	n (%)	n (%)	n (%)
Alter [Jahren] n=743			
Mittelwert ±	26,98 ± 6,03	27,45 ± 5,4	26,97 ± 6,05
Standardabweichung			
18-20	106 (14,3)	1 (4,5)	105 (14,6)
21-30	447 (60,2)	16 (72,7)	431 (59,8)
31-40	172 (23,1)	4 (18,2)	168 (23,3)
>40	18 (2,4)	1 (4,5)	17 (2,4)
Blutungen in der Schwangerschaft n=736			
Ja	41 (5,6)	- -	41 (5,7)
Nein	695 (94,4)	22 (100)	673 (94,3)
Medikamenteneinnahme (außer ARV) n=727			
Ja	24 (3,3)	3 (14,3)	21 (3,0)
Nein	703 (96,7)	18 (85,7)	685 (97,9)
HIV-Status n=720			
HIV positiv	42 (5,8)	2 (9,1)	40 (5,7)
HIV negativ	678 (94,2)	20 (90,9)	658 (94,3)
Einnahme ARV n=718			
Ja	37 (5,6)	2 (9,1)	35 (5,0)
Nein	681 (94,4)	20 (90,9)	661 (95,0)
Wohnort n=742			
Stadt	710 (95,7)	21 (95,5)	689 (95,7)
Land	32 (4,3)	1 (4,5)	31 (4,3)
Familienstand n=737			
Single	44 (6,0)	3 (13,6)	41 (5,7)
Zusammenlebend	125 (17,0)	3 (13,6)	122 (17,1)

Verheiratet	564 (76,5)	16 (72,7)	548 (76,6)
Geschieden	2 (0,3)	-	2 (0,3)
Verwitwet	2 (0,3)	-	2 (0,3)
Ausbildung n=740			
Informell	37 (5,0)	1 (4,5)	36 (5,0)
Grundschule	314 (42,4)	9 (40,9)	305 (42,5)
Sekundarschule	276 (37,3)	8 (36,4)	268 (37,3)
Universität	113 (15,3)	4 (18,2)	109 (15,2)
Arbeit n=741			
Gesundheitssektor	26 (3,5)	2 (9,0)	24 (3,3)
Händlerin	25 (3,4)	- -	25 (3,5)
Hausfrau	268 (36,2)	6 (27,2)	262 (36,4)
Bäuerin	44 (5,9)	- -	44 (6,1)
Arbeitslos	91 (12,3)	3 (13,6)	88 (12,2)
Anderes	287 (38,7)	11 (50,0)	276 (38,4)
Anzahl an Schwangerschaften n=740			
Eine	271 (36,5)	10 (45,5)	261 (36,3)
Zwei	176 (23,8)	6 (27,3)	170 (23,7)
Drei	131 (17,7)	3 (13,6)	128 (17,8)
Vier	74 (10,0)	2 (9,1)	72 (10,0)
Fünf oder mehr	88 (11,9)	1 (4,5)	87 (12,1)
Anzahl an vorangegangenen Geburten n=737			
Keine	299 (40,3)	12 (54,5)	287 (39,9)
Eine	170 (23,0)	4 (18,1)	166 (23,2)
Zwei	121 (16,4)	3 (13,6)	118 (16,5)
Drei	69 (9,4)	2 (9,0)	67 (9,4)
Vier	35 (4,7)	1 (4,5)	34 (4,8)
Fünf oder mehr	43 (5,8)	-	43 (6,0)
Fehlgeburten n=733			
Keine	673 (91,8)	20 (90,9)	653 (91,8)

Eine	39 (5,3)	2 (9,1)	37 (5,2)
Zwei oder mehr	21 (2,9)	- -	21 (3,0)
Anzahl an Sexualpartnern n=709			
Eins	287 (40,5)	7 (33,3)	280 (40,7)
Zwei-drei	372 (52,3)	12 (57,1)	360 (52,3)
Vier oder mehr	50 (7,1)	3 (9,5)	81 (7,0)
Alter beim ersten Sexuakontakt n=741			
Unter 15	29 (3,9)	- -	29 (4,0)
15 oder älter	712 (96,1)	21 (100,0)	691 (96,0)
HBV Impfung n=701			
Eine Impfung	2 (0,3)	- -	2 (0,3)
Drei Impfungen	12 (1,7)	- -	12 (1,7)
Keine Impfung	687 (98,0)	21 (100,0)	666 (98,0)
STIs in der Vergangenheit n=734			
Ja	35 (4,8)	2 (9,1)	33 (4,6)
Nein	699 (95,2)	20 (90,9)	679 (95,4)
Kondomgebrauch n=737			
Immer	4 (0,5)	- -	4 (0,6)
Manchmal	485 (65,8)	17 (77,3)	468 (65,5)
Nie	248 (33,6)	5 (22,7)	243 (34,0)
Weibliche Genitalbeschneidung n=731			
Ja	23 (3,1)	1 (4,5)	22 (3,1)
Nein	708 (96,9)	21 (95,5)	687 (96,9)
Zahnbürste mit Partner geteilt n=735			
Ja	91 (12,4)	3 (13,6)	88 (12,3)
Nein	644 (87,6)	19 (86,4)	625 (87,7)
Rasierer mit Partner geteilt n=740			
Ja	162 (21,9)	3 (13,6)	159 (22,1)
Nein	578 (78,1)	19 (86,4)	559 (77,9)
Ikterus n=741			

In der Familie	40 (5,4)	- -	40 (5,6)
Bei der Teilnehmerin	33 (4,5)	2 (9,1)	31 (4,3)
Keine Vorgeschichte	668 (90,1)	20 (90,9)	648 (90,1)
Bluttransfusion n=718			
Ja	58 (8,2)	3 (13,6)	55 (7,9)
Nein	660 (91,8)	19 (86,4)	641 (92,1)
Operation n=717			
Ja	9 (1,3)	1 (4,5)	8 (1,2)
Nein	708 (98,7)	21 (95,5)	687 (98,8)
I.v. Injektion n=718			
Ja	112 (15,6)	3 (13,6)	108 (15,5)
Nein	606 (84,4)	19 (86,4)	587 (84,5)

Die Angaben für die Art der Entbindung erfolgte nur unregelmäßig, so dass nur die Daten von 17/22 HBsAg-positiven Frauen berücksichtigt werden konnten. Davon entbanden 12 Frauen vaginal, während bei 5 Frauen ein Kaiserschnitt durchgeführt wurde.

3.2 Laborergebnisse

3.2.1 Serologische Ergebnisse

Von den 743 getesteten Frauen wurden 22 (3,0%) mit dem Schnelltest als HBsAg-positiv identifiziert, was sich auch in der Kontrolle im Labor bestätigte. Von den 22 HBsAg-positiven Proben waren 2 (9%) HBeAg-positiv und Anti-HBe-negativ. Es waren von 15 Kindern, die von HBsAg-positiven Müttern geboren wurden, Nabelschnurblutproben verfügbar. Von diesen wurden 5/15 (33%) positiv auf HBsAg getestet. Drei Jahre nach der Geburt wurden 7 (32%) der 22 Kinder von HBsAg-positiven Müttern erfolgreich kontaktiert und einbestellt. Die anderen 15 Kinder konnten nicht nachverfolgt werden. Fünf (71%) der sieben Kinder, die nachbeobachtet wurden, hatten protektive Anti-HBs-Spiegel (>10 mIU/ml). Bei einem Kind lag der Anti-HBs-Spiegel bei 7 IU/ml. Das andere Kind war HBsAg-positiv und auch positiv für HBeAg, was auf eine Hepatitis-B-Infektion hindeutet.

3.2.2 Virologische Ergebnisse

HBV-DNA war bei 21 von 22 der HBsAg-positiven schwangeren Frauen nachweisbar. Die mittlere Viruslast (Median) bei denjenigen mit nachweisbarer HBV-DNA betrug 241 IU/ml (IQR: 83 - 1730). Von 14 Proben waren in 10 (71%) der HBV-Genotyp A und in 4 (29%) der Genotyp D nachweisbar. Nabelschnurblutproben wurden nicht auf HBV-DNA getestet, da die Menge des Materials nicht ausreichte.

Das oben genannte HBsAg-positive Kind hatte in der Nachbeobachtung nach drei Jahren (in Tabelle 5 als B1 angegeben) eine Hepatitis-B-Viruslast von $6,3 \times 10^7$ IU/ml und war mit dem HBV-Genotyp D infiziert.

Tabelle 5. Virologische und serologische Ergebnisse der HBsAg-positiven Mütter und ihrer Kinder

Nr	Untersuchung Mutter					Untersuchung Kind	Nachuntersuchung Kind		
	HIV Status	Anti-HBe	HBe-Ag	Geno-typ	HBV Viruslast (IU/ml)	HBsAg Nabel-schnurblut	HBsAg	Anti-HBs*	Anti-HBc
1	N	P	N	ND	89,5	N	N	P	N
2	N	P	N	A	144	N	N/A	N/A	N/A
3	N	P	N	A	288	N/A	N/A	N/A	N/A
4	P	P	N	ND	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
5	N	P	N	ND	48,4	N	N/A	N/A	N/A
6	P	P	N	ND	162	P	N	P	N
7	N	P	N	A	2160	P	N/A	N/A	N/A
8	N	P	N	N/A	61,5	N	N/A	N/A	N/A
9	N	P	N	A	241	N/A	N/A	N/A	N/A
10	N	P	N	A	1870	N	N	P	N
11	N	P	N	ND	27,4	P	N/A	N/A	N/A
12	N	N	P	A	570	N/A	N	N	N
13	N	P	N	A	322	N	N	P	N
14	N	P	N	A	108	N	N/A	N/A	N/A
15	N	P	N	A	1720	N	N/A	N/A	N/A
16	N	P	N	ND	57,8	N	N/A	N/A	N/A
17	N	P	N	A	1020	N	N/A	N/A	N/A
18	N	P	N	D	2890	P	N/A	N/A	N/A
19	N	P	N	ND	411	P	N/A	N/A	N/A
20	N	N	P	D	25,9*10 ⁷	N/A	P	N	P
21	N	P	N	D	76	N/A	N/A	N/A	N/A
22	N	P	N	D	176	N/A	N	P	N
N/A = nicht verfügbar, ND = nicht nachweisbar, N=negativ, P=positiv							*>10 mIU/ml		

Die paarweise Distanzanalyse des Virus, welches aus der Probe des Kindes (B1) und der Probe der Mutter (M20) an einem 593 bp-Fragment der Polymerase-/Oberflächenantigen-Region gewonnen wurde, ergab keine Basenunterschiede an der entsprechenden Stelle zwischen den beiden Sequenzen, was auf Ähnlichkeit hindeutet (s. Abbildung 9). Auch die anderen Proben sind in der Darstellung eingefügt (jeweils MXX). Es wurde keine Impfstoff-Mutation in der vom Kind abgeleiteten Sequenz beobachtet.

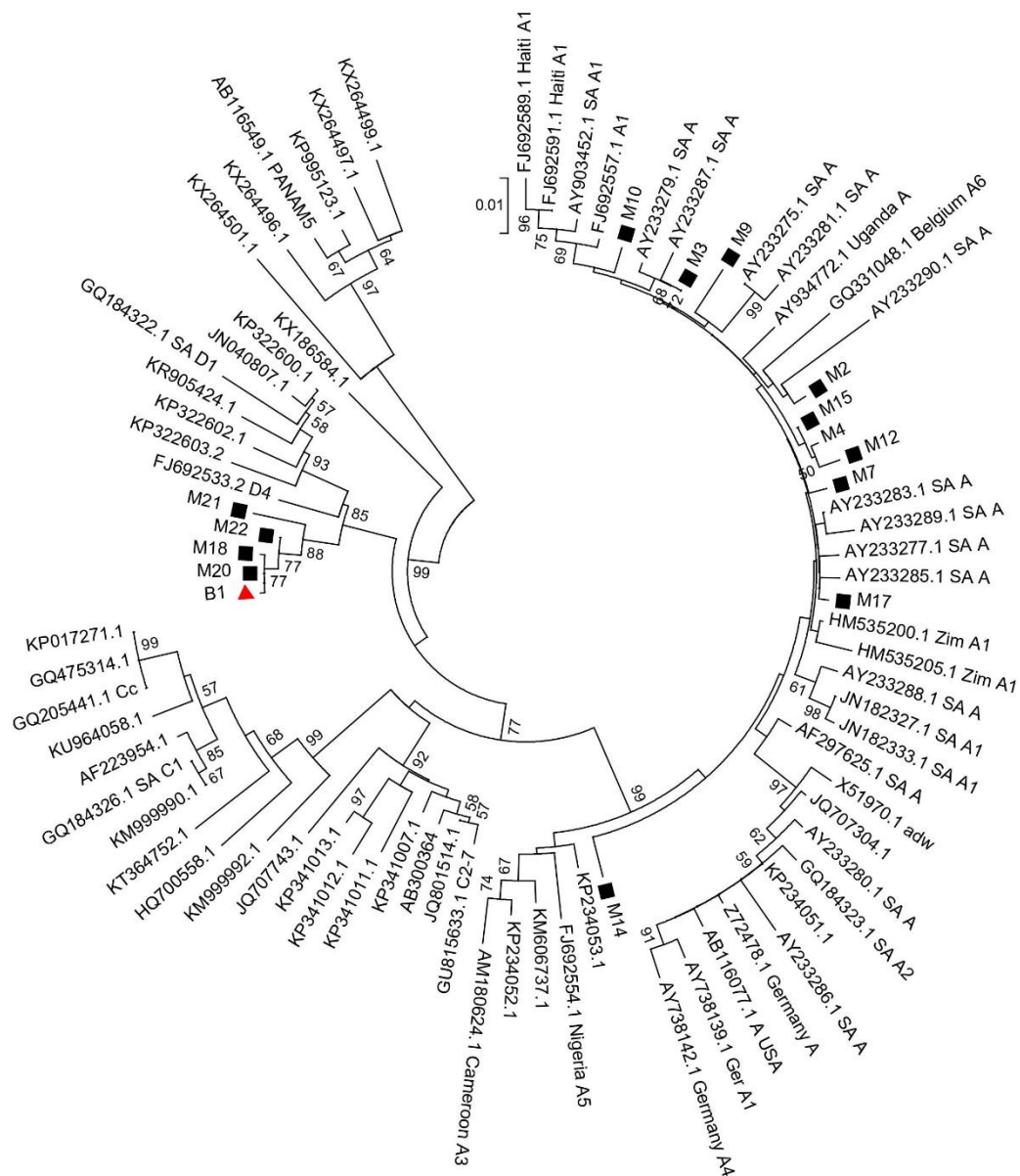


Abbildung 9. Phylogenetische Analyse der Proben übernommen von Geffert et al (4)

3.3 HBV-Infektion und soziodemographische Charakteristika

Die logistische Regression zeigte, dass die Wahrscheinlichkeit einer HBV-Infektion höher war, wenn eine Person angab, nur selten oder nie Kondome benutzt zu haben (OR=3,514, 95% CI=1,4-8,0). Keines der weiteren Charakteristika zeigte einen statistischen Hinweis auf einen bestehenden Zusammenhang.

Tabelle 6. Ergebnisse der logistischen Regression der soziodemographischen Charakteristika und Risikofaktoren der Studienteilnehmerinnen. Adaptiert von Geffert et al (4)

	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall	p-Wert
Alter [Jahren]			
18-20	1		0,480
21-30	3,898	0,511 29,724	
31-40	2,500	0,276 22,672	
>40	6,176	0,369 103,494	
HIV-Status			
HIV positiv	1,645	0,371 7,286	
HIV negativ	1		0,512
Wohnort			
Stadt	1		0,956
Land	1,058	0,138 8,124	
Familienstand			
Single + Getrennt+ Verwitwet	2,351	0,671 8,242	0,182
Zusammenlebend + Verheiratet	1		
Ausbildung			
Keine Bildung	1		0,981
Primärbildung	1,062	0,131 8,629	
Sekundärbildung + Universität	1,146	0,145 9,067	
Arbeit			
Gesundheitssektor	3,241	0,663 15,845	
Anderweitig Berufstätig	1,240	0,508 3,030	
Nicht Berufstätig + Hausfrau	1		0,348
Anzahl an Schwangerschaften			
Eine	1,459	0,622 3,424	
Zwei oder mehr	1		0,385
Anzahl an vorangegangenen Geburten			
Keine	1,790	0,763 4,197	
Eine oder Mehr	1		0,181
Anzahl an Sexualpartnern			
Einer	1		0,762
Zwei-Drei	1,333	0,518 3,431	
Vier oder mehr	1,667	0,336 8,263	
Alter beim ersten Sexualekontakt			
Unter 15	1,834	0,750 4,486	
15 oder Älter	1		0,184
HBV Impfung			
Eine oder mehrere Impfungen	1		0,884
Keine Impfung	1,069	0,434 2,634	
STIs in der Vergangenheit			
Ja	2,058	0,461 9,175	
Nein	1		0,344
Kondomgebrauch			

Immer	1			0,008
Manchmal + Nie	3,514	1,382	8,036	
Weibliche Genitalbeschneidung				
Ja	1,487	0,191	11,557	
Nein	1			0,705
Zahnbürste mit dem Partner geteilt				
Ja	1,121	0,325	3,867	
Nein	1			0,856
Rasierer mit dem Partner geteilt				
Ja	1			0,348
Nein	1,801	0,526	6,165	
Ikterus				
In der Familie und selber	1			0,903
Keinen	1,096	0,251	4,785	
Risiko durch Operationen, i.v. Injektionen, Bluttransfusion				
Risikofaktor	1,307	0,503	3,396	
Kein Risikofaktor	1			0,5833

4. Diskussion

4.1 Diskussion der Ergebnisse

Im Gegensatz zu der berichteten höher-intermediären Prävalenz von Hepatitis-B-Infektionen in Tansania (18) zeigte unsere Studie im Untersuchungszeitraum 2014/2015 bei schwangeren Frauen, die in einem tertiären Krankenhaus in Mwanza eine Schwangerenvorsorge besuchten oder dort entbanden, eine niedrig-intermediäre Prävalenz von chronischer Hepatitis B von 3,0% (22 von 743).

Ein Grund für eine niedrigere Prävalenz als die der Durchschnittsbevölkerung könnte die Rekrutierung der Studienteilnehmerinnen in einem tertiären Krankenhaus sein. Zum Zeitpunkt der Studie lagen die Entbindungskosten dort bei ca. 150 000 tansanischen Schillingen (TZS, umgerechnet im Jahr 2014 ca. 66 € bei einem Wechselkurs von 1 € = 2256,78 TZS (53)), während eine Entbindung in einer anderen öffentlichen Gesundheitseinrichtung kostenfrei war. Auch der hohe Prozentsatz abgeschlossener Sekundar- oder Hochschulbildung (52,6 %), verglichen mit der nationalen Einschulungsrate in der Sekundarschule von 23 % im Jahr 2017, ist ebenfalls ein Indikator für eine mögliche soziale Selektion (54). Eine andere Studie, welche in einem Zentrum der Primärgesundheitsversorgung mit kostenfreier Behandlung in der Region von Mwanza erhoben wurde, zeigte eine etwas höhere HBsAg-Prävalenz (3,8%) unter schwangeren Frauen (20). Dies könnte auf eine geringere Prävalenz in dieser Gegend im Vergleich zum übrigen Land hindeuten, wo in einem Übersichtsartikel eine Prävalenz von 7,17 % bestimmt wurde (18).

Auch in anderen Ländern in SSA wurden Unterschiede in der Hepatitis-B-Prävalenz bei schwangeren Frauen zwischen Regionen oder Orten innerhalb eines Landes berichtet. In Kenia lag die nationale Hepatitis-B-Prävalenz unter schwangeren Frauen bei 9,3%, während die HBV-Prävalenz sogar innerhalb eines Distrikts zwischen 4,3% und 17,8% im Jahr 2012 schwankte (55). Ähnlich wurden in Nigeria große Unterschiede in der HBV-Prävalenz zwischen verschiedenen Regionen beobachtet (56).

Die Anzahl an Angaben zu Medikamenteneinnahme in der Schwangerschaft ist sehr niedrig, angesichts der Empfehlungen der WHO zur Einnahme von Antihelminthika und der

intermittierenden Einnahme von Antimalariamittel in der Schwangerschaft in entsprechenden Risikogebieten, zu denen Mwanza gehört (57, 58). Auch in der tansanischen *Antenatal Care Leitlinie* wird dies empfohlen (59). Die vorliegende niedrige Zahl kann möglicherweise auf eine unzureichende Dokumentation und/oder Abfrage, die ungenügende Umsetzung der bestehenden Empfehlung oder eine Kombination der Faktoren zurückzuführen sein.

In der Literatur findet sich eine Vielzahl an möglichen Risikofaktoren für eine Hepatitis-B-Infektion bei schwangeren Frauen. Ein Überblicksartikel von Gasim et al identifizierte folgende Faktoren als Risikofaktoren für Frauen in Afrika: Bluttransfusion, HIV-Infektion, weibliche Beschneidung, soziodemographische Faktoren wie Alter, Bildungsstand, vorausgegangene Schwangerschaften. Andere Faktoren wie intravenöser Drogenabusus, Aufenthalt im Gefängnis oder Anzahl an Sexualpartnern wurden aufgrund von religiösen und kulturellen Vorbehalten nicht analysiert, jedoch ebenfalls als potentielle Risikofaktoren erwähnt (60). Als weitere potentielle Einflussfaktoren wurden auch Zahnbehandlungen (61), Gelbsucht bei sich selber und beim Ehepartner, Tattoos sowie das gemeinsame Benutzen von Hygieneartikeln mit dem Partner (wie beispielsweise Zahnbürste oder Rasierklingen) (62) in der Literatur genannt. Speziell in tansanischen oder anderen afrikanischen Studien waren Multigravidität, Wohnort in der Stadt, jüngeres Alter (15-24 Jahre), Vorkommen anderer sexuell übertragbarer Krankheiten, Bluttransfusionen, Verwendung oraler Kontrazeptiva, Anämie, Tätowierung des Körpers und nicht sichere Injektionen mit einer HBV-Infektion assoziiert (20, 63, 64). Keiner der untersuchten Risikofaktoren in unserer Studie zeigte jedoch einen Wert, der einen nicht-zufälligen Zusammenhang andeutet. Einzig das Merkmal der fehlenden oder seltenen Kondombenutzung erzielte einen Nachweis für eine statistische Assoziation (OR=3,514; 95% CI=1,4-8,0; p-Wert=0,008) für ein positives HBsAg-Ergebnis. Dieses Ergebnis sollte jedoch im Kontext betrachtet werden: Es gaben nur vier Teilnehmerinnen an, "immer" (d.h. bei jedem Geschlechtsverkehr) Kondome zu benutzen. Da schwangere Frauen untersucht wurden, scheint die Angabe von „immer“ aller Wahrscheinlichkeit nicht der Realität zu

entsprechen und weist auf eine Verzerrung bei der Klassifizierung sowie bei den Antworten hin. Auch das weite Konfidenzintervall unterstützt diese Annahme. Die fehlende statistische Signifikanz für andere Merkmale könnte auf die verhältnismäßig geringe Anzahl von HBsAg-positiven Fällen zurückzuführen sein. Zusätzliche Studien mit größeren Stichproben wären erforderlich, um diese Annahme zu bestätigen.

Zwei Frauen waren positiv für das HBe-Antigen, welches ein Hinweis auf eine hohe Virusreplikation ist. Eine dieser Frauen (siehe Tabelle 5; Nummer 20) wies mit $25,9 \times 10^7$ IU/ml die höchste Viruslast auf. In der Nachuntersuchung war ihr Kind positiv für HBsAg, HBeAg und Anti-HBc und hatte eine Viruslast von $6,3 \times 10^7$ IU/ml. Auch wenn keine andere Probe von diesem Kind verfügbar ist, kann davon ausgegangen werden, dass diese Ergebnisse auf eine vertikale Übertragung unter der Geburt hinweisen, die zu einer chronischen HBV-Infektion geführt hat. Tatsächlich zeigten die phylogenetische Verwandtschaft und die paarweise Distanzanalyse identische Nukleotidbasen für die sequenzierte Polymerase-Region des Virus aus dem Blut der Mutter und des Kindes. Man könnte daher argumentieren, dass die Empfehlung, Tenofovir bei hochvirämischen HBV-infizierten Schwangeren innerhalb des dritten Trimesters einzusetzen, möglicherweise dazu hätte beitragen können, eine Infektion beim Kind zu verhindern (65). Leider war Tenofovir zum Zeitpunkt der Durchführung der Studie in Tansania für die Behandlung von einer HBV-Infektion bei Schwangeren nicht zugelassen. Die Verabreichung des Impfstoffs nach der Geburt allein reichte demnach nicht aus, um eine Infektion des Kindes zu verhindern. Zudem besteht auch die Möglichkeit, dass eine intrauterine Ansteckung stattfand. Da keine Nabelschnurprobe von diesem Kind gewonnen werden konnte, kann diese These jedoch nicht belegt werden. Die Ergebnisse der Sequenzierung zeigten, dass der infizierte Stamm für einen Impfstoff sensibel war. Eine Mutation, die auf eine Impfstoffresistenz hinweisen könnte, konnte nicht festgestellt werden. Damit ist die Möglichkeit ausgeschlossen, dass das Kind aufgrund eines Impfstoffversagens infiziert worden sein könnte.

Keine der anderen Frauen hatten eine Viruslast von >200 000 IU/ml, welche eine Indikation zur Behandlung von schwangeren Frauen mit HBV-Infektion nach den Leitlinien der EASL darstellen würde (35). Das Follow-Up mit erneuter Blutuntersuchung war nur bei oben genanntem Kind mit HBsAg-positiver Nabelschnurblutprobe sowie bei sechs weiteren Kindern möglich, bei welchen in allen Fällen kein HBsAg im Nabelschnurblut nachgewiesen worden war. Bei der Nachuntersuchung wiesen 5 der 7 der Proben schützende Anti-HBs-Spiegel und kein Anti-HBc auf, was auf eine erfolgreiche Impfung hinweist. Die anderen beiden Kinder hatten keine protektiven Anti-HBs-Spiegel. Das Follow-Up war bei 15 Kindern aus unterschiedlichen Gründen nicht möglich. Dazu gehörten unter anderem eine Änderung der Kontaktdaten, ein Umzug in vom Studienort weit entfernte Gebiete oder keine zeitlichen Kapazitäten für einen Besuch in der Klinik.

Dass 5 von 15 Nabelschnurblutproben positiv auf HBsAg waren, sollte wegen des hohen Risikos einer Kontamination mit mütterlichem Blut während der Entbindung mit Vorsicht interpretiert werden. Eine Kontamination mit mütterlichen Blut könnte erklären, warum das Kind mit einer HBsAg-positiven Nabelschnurblutprobe im Follow-Up ohne HBsAg-Nachweis blieben. Zwar wurden während der Nabelschnurblutentnahme Vorsichtsmaßnahmen zur Reduzierung der Kontaminierung vorgenommen, jedoch muss aufgrund einer hohen Personalfuktuation sowie des hohen Arbeitspensums der Hebammen in Betracht gezogen werden, dass auch nicht-angeleitetes Personal die Proben entnommen haben könnte. Darüber hinaus spiegelt das Vorhandensein von HBsAg im Nabelschnurblut nicht notwendigerweise eine Infektion mit HBV wider und deutet lediglich auf eine Virusexposition hin, wie eine neuere Studie von Liu et al gezeigt hat (34).

Die Prävalenz des HBV-Genotyp variiert je nach geographischer Region: Genotyp A kommt hauptsächlich im südlichen, östlichen und zentralen Afrika vor, während Genotyp D im nördlichen und Genotyp E im westlichen Afrika vorherrschen (66). Die Ergebnisse der PCR-Sequenzierung und der phylogenetischen Analyse zeigen eine hohe Prävalenz des Genotyps A (71,4%) und eine geringere Prävalenz des Genotyps D (28,6%), was mit früheren Ergebnissen aus Tansania übereinstimmt (27). Genotyp A hat möglicherweise einen schwereren Krankheitsverlauf und schwerwiegendere Konsequenzen als Genotyp D, doch sind weitere Studien erforderlich, um dies zu beweisen (25, 66).

Verschiedene Studien weisen auf ein generelles Unwissen in der Bevölkerung über die Transmission von HBV sowie damit verknüpfte Vorurteile und Stigmatisierung hin (43). Dies wurde durch ein Erlebnis bei der Durchführung der vorliegenden Studie bestätigt: Ein Ehemann einer Studienteilnehmerin, der von einem Medizinstudenten über die Zielsetzung der Studie informiert worden war, suchte äußerst aufgeregt den Kontakt mit der Doktorandin. Wortgewaltig schilderte er seine Bedenken, dass eine potentielle Infektion seiner Frau auf eine mögliche Untreue hinweisen könnte und welche Konsequenzen dies für ihn und seine Familie haben würde. Es stellte sich wenig später heraus, dass seine Frau gar nicht positiv getestet worden war. Dennoch war es ein eindrucksvolles Beispiel dafür, mit welchen Vorurteilen eine Infektion mit Hepatitis B assoziiert sein kann.

4.2 Herausforderungen, Limitationen und Stärken der Studie

Die Studie weist unterschiedliche konzeptionelle, methodische und inhaltliche Einschränkungen auf. Zunächst ist zu berücksichtigen, dass die Konzeption der Studie ursprünglich auf eine Fall-Kontroll-Studie mit Follow-Up ausgerichtet war: Es sollte eine größere Studienpopulation ($n=9000$) von Frauen getestet und behandelt werden, die Fälle sollten direkt in der Geburtshilfe des BMCs rekrutiert werden, die Kontrollen in der Kinderklinik im Rahmen der durchgeführten Routineimpfungen. Da nur die Kinder der Fall-Mütter die Geburtsdosis HBV-Vakzine erhalten hätten, wäre so ein Vergleich der beiden Gruppen hinsichtlich der Effektivität der Impfdosis möglich gewesen. Zudem sollten die Kinder der HBsAg positiv getesteten Mütter engmaschig betreut und virologisch sowie klinisch regelmäßig durch eine PhD-Studentin vor Ort kontrolliert werden. Diese Konzeption beruhte jedoch auf der Annahme, dass eine HBsAg-Prävalenz von ca. 5% unter den schwangeren Frauen am BMC vorläge, worauf die damaligen Studien hinwiesen. Nach den ersten beiden Monaten stellte sich jedoch eine deutlich niedrigere Prävalenz heraus, so dass eine deutlich höhere Zahl an Teilnehmerinnen für ein statistisch eindeutiges Ergebnis notwendig gewesen wäre. Zudem wurden kurz vor dem Beginn der Erhebung höhere Gebühren für eine Entbindung eingeführt, was zu einer deutlich sinkenden Geburtenzahl am BMC führte. Im Vorjahr der Studie entbanden nach Angaben der Abteilungsleitung ca. 6000 Frauen am BMC, was ungefähr 500 Frauen pro Monat entspricht. In den ersten zwei Monaten konnten jedoch nur ca. 500 Frauen in die Studie eingeschlossen werden, was nach Angaben der Hebammen an der gesunkenen Zahl der

Entbindungen lag. Somit hätte nicht nur eine höhere Zahl an Frauen rekrutiert, sondern sich auch der Zeitraum der Untersuchung deutlich verlängert werden müssen, was aus Kapazitätsgründen nicht umsetzbar war. Deshalb entschied sich die Studienleitung für eine Begrenzung der Studie auf eine Querschnittsstudie mit Follow-Up.

Die Verwendung des HBsAg-Schnelltests als einzige Screening-Methode für die chronische Hepatitis-B-Infektion hat den Nachteil, dass okkulte HBV-Infektionen nicht entdeckt werden können. Bei okkulten HBV-Infektionen können herkömmliche HBsAg-Tests aufgrund von Mutationen des HBV-Oberflächenantigen-Gens eine Infektion nicht nachweisen (67). Die Methode der Wahl zum Nachweis okkulten HBV-Infektionen ist der molekularbiologische Nachweis des Virus im Blut, was jedoch am Studienort zum Durchführungszeitpunkt nicht durchführbar war. Nach einem 2017 erschienenen Bericht von Allain et al liegt die Prävalenz einer okkulten HBV-Infektion in der Allgemeinbevölkerung in Gebieten mit hoher Prävalenz in Westafrika und Asien nur zwischen 0,001-1% (68). Aus diesem Grund kann angenommen werden, dass die möglicherweise verpassten Fälle von okkulten HBV-Infektion die Studienergebnisse nicht wesentlich beeinflusst haben.

Eine weitere Herausforderung war die hohe Arbeitsbelastung des Personals und die damit verbundenen fehlenden Nabelschnurblutproben bei einigen Entbindungen. Im Gespräch mit den Hebammen wurde mehrfach von den Schwierigkeiten berichtet, dass insbesondere nachts eine Probenentnahme kaum möglich war, wenn mehrere Frauen gleichzeitig entbanden. Der Doktorandin war es aufgrund der Sicherheitsbestimmungen und Vorschriften nachts nicht möglich, in das Krankenhaus zu gehen und die Probenentnahme zu unterstützen.

Die fehlenden Werte einiger soziodemographischer Angaben der Teilnehmerinnen sowie die hohe Anzahl von Verlusten bei der Nachbeobachtung sind eine weitere Einschränkung der Studie. Eine umfassendere Datensammlung hätte eine präzisere Analyse insbesondere der soziodemographischen Faktoren, aber auch des Risikos einer HBV-Übertragung von Mutter zu Kind ergeben. Ähnliche Schwierigkeiten wurden bereits in der Literatur über klinische Studien in Ländern mit niedrigem Einkommen berichtet, wobei dort insbesondere die Schwierigkeiten des Follow-Ups, gefolgt von nicht adäquatem Training, fehlender

zeitlicher Verfügbarkeit sowie mangelnde Finanzierung als Herausforderung genannt wurden (69).

Auch die Bearbeitung des Fragebogens weist einige methodische Schwächen auf. Eine Verzerrung zu Gunsten der sozialen Erwünschtheit (70), insbesondere im Zusammenhang mit dem Sexualverhalten, ist im Kontext eines katholischen Krankenhauses bei Durchführung der Befragung durch eine externe Person wahrscheinlich. Zudem kam es vermutlich häufig zum sogenannten *Recall bias*, also zu einer verzerrten Erinnerung hinsichtlich vergangener Ereignisse wie beispielsweise früheren Injektionen und anderen medizinischen Behandlungen (71). Dies bedeutet, dass die Ergebnisse der Analyse der soziodemographischen Faktoren wegen möglicher zu niedriger oder falscher Antworten (z.B. zur Anzahl der Sexualpartner, zum Alter beim ersten Sexualkontakt, zu den medizinischen Eingriffen) mit Vorsicht zu interpretieren sind. Zudem erlaubt die spezifische Studiengruppe keine allgemeine Übertragung der Ergebnisse auf schwangere Frauen im Allgemeinen in Tansania.

Für eine wissenschaftliche *best practice* sollte ein sogenannter *Statistical Analysis Plan* zu Anfang festgelegt werden, welcher vor Beginn der Datenerhebung die Durchführung der statistischen Analyse im Detail beschreibt. Optimalerweise sollte dieser Plan folgende Informationen umfassen: Administrative Informationen, Festlegung des Studiendesigns, Nennung statistischer Prinzipien (einschließlich der Abweichung vom eigentlichem Studienprotokoll), Beschreibung der Studienbevölkerung sowie eine umfangreiche Erläuterung der Analyse einschließlich der Methodik (72). Eine detaillierte Beschreibung der statistischen Analyse vorab sowie eine genaue Dokumentation der Gründe für eine Abweichung von dieser, gelten seit einigen Jahren als wichtiger Baustein für gute, solide wissenschaftliche Praxis. Damit soll eine nachträgliche Manipulation der Daten und Analysen, einschließlich des sogenannte *p-hacking* verhindert werden. Bei diesem Vorgehen werden statistische Analysen so oft durchgeführt, bis ein scheinbar statistisch signifikantes Ergebnis durch die mehrfache Analyse der Daten erreicht wird. Anschließend werden dann nur selektiv die statistisch signifikanten Ergebnisse publiziert (73). Aus diesem Grund wurden die Analyseergebnisse in der vorliegenden Studie im Detail in der zugehörigen Publikation veröffentlicht und in den Kontext gesetzt (4). Zudem wurden

einige der genannten Punkte des *Statistical Analysis Plans* im Studienprotokoll beschrieben (wie beispielsweise die Beschreibung der Studie und der Studienpopulation) sowie die Studie unter *ClinicalTrials.gov* registriert. Für ein Folgeprojekt sollte jedoch zusätzlich angestrebt werden, einen zuvor festgelegten statistischen Analyseplan wie oben beschrieben zu erstellen.

Die Durchführung einer Studie zur Hepatitis-B-Infektion in einem Umfeld, in dem keine ausreichende medikamentöse Therapie zur Verfügung steht, birgt ein ethisches Dilemma. Auch wenn es nicht möglich war, die Frauen selbst mit antiviralen Medikamenten zu behandeln, wurde ihnen angeboten sich kostenfrei in einer Sprechstunde zu Lebererkrankungen am BMC vorzustellen.

Generell ist anzumerken, dass die Durchführung einer Studie in einem Setting wie dem BMC in Mwanza, durchgeführt von einer Medizinstudentin aus Würzburg, eine ethische und interkulturelle Herausforderung ist. Die Literatur weist vielfach auf die besonderen Herausforderungen hin, die durch Forschungskollaborationen zwischen Ländern mit hohem und niedrigem Einkommen (74, 75) sowie durch den Aufenthalt von Medizinstudierenden aus Ländern mit hohem Einkommen in Ländern mit wenigen Ressourcen (76) entstehen können. Die Rahmenbedingungen, welche durch die Studienleitung geschaffen wurden, versuchten diesen Aspekten von Planungsbeginn der Studie an zu begegnen: So beruhte die Zusammenarbeit zwischen dem BMC und dem MI auf einer langjährigen Partnerschaft und einem intensiven wissenschaftlichen Austausch. Zudem war geplant, dass neben der Würzburger Doktorandin eine tansanische Ärztin als PhD-Studentin eingebunden wird, was aufgrund der Änderung der Studiendurchführung jedoch nicht mehr zustande kam. Die Doktorandin hatte sich vorab durch ein Praktikum am Missionsärztlichen Institut, eine Einweisung in die Laborarbeit in der Abteilung der Virologie der Uniklinik Würzburg sowie durch die Teilnahme an verschiedenen Kursen, einschließlich der Sommerakademie „Tropenmedizin und Globale Gesundheit“ des MI, auf die Aufgaben in Tansania und Südafrika vorbereitet. Dennoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass einige der oben genannten Schwächen der Studien durch diese Konstellation entstanden sind. In diesem Kontext sollte ebenfalls erwähnt werden, dass in Forschungskollaborationen zwischen Ländern mit hohem und niedrigem Einkommen die

Forscher:innen aus Ländern mit niedrigem Einkommen in den Publikationen überproportional häufig nur in der Mitte und nicht an prominenter Position am Anfang oder Ende genannt werden (77). Auch bei der vorliegenden Studie ist dies der Fall, was mit der Verteilung des Arbeitsaufwandes begründet wurde. Die Durchführung der Studie entsprechend des ursprünglichen Protokolls hätte weitere Publikationen durch die tansanischen Partner:innen ermöglicht.

Mit einer Anzahl von 743 teilnehmenden Frauen ist die vorliegende Studie zum heutigen Zeitpunkt die größte Querschnittsstudien zu der Prävalenz von chronischer Hepatitis B bei schwangeren Frauen in Tansania (zum Vergleich die Anzahl der Studienteilnehmer:innen der anderen Studien: 211 bei Mirambo et al (20), 249 bei Manyahi et al (23), 310 bei Rashid et al (21)). Die serologischen und virologischen Analysen lassen zwar weder allgemein gültige noch statistisch eindeutige Schlussfolgerungen zu, weisen jedoch auf die Bedeutung der Mutter-Kind-Übertragung in diesem Kontext hin. Die Studie knüpfte an die bisherige Arbeit des MIs und des BMCs an, auf die Bedeutung von chronischer Hepatitis B in Mwanza aufmerksam zu machen. Bevor die Arbeit begann, war dies ein vernachlässigtes Thema, welches kaum Aufmerksamkeit erfahren hat. Nach einem Projekt zu Hepatitis-B-Infektionen bei Gesundheitsmitarbeiter:innen (78) und der hier beschriebenen Studie wurden verschiedene weitere Studien initiiert und durchgeführt, unter anderem die Primärstudie von Mirambo et al (20), aber auch der Review von Kilonzo et al (19).

Zudem tragen die Ergebnisse zu einem besseren Verständnis der Prävalenz von chronischer Hepatitis B in Tansania bei, was ein wichtiger Schritt in der Bekämpfung von Hepatitis B darstellt. Die Applikation des Impfstoffes direkt nach der Geburt hat möglicherweise dazu beigetragen, dass weniger Kinder von ihren Müttern infiziert wurden, als dies sonst der Fall gewesen wäre. Darüber hinaus wurden den infizierten Mütter und auch den infizierten Kindern spezielle Beratungs- und Untersuchungsmöglichkeiten in der Lebersprechstunde des BMCs angeboten. Die Aufklärung und Diagnose haben möglicherweise das Bewusstsein für die Infektion und entsprechende Übertragungswege geschärft und damit zu einer Verringerung der Transmission beigetragen. Da eine Hepatitis B-Erkrankung neben einer gesundheitlichen Einschränkung auch mit einer sozialen Stigmatisierung einhergehen kann (43), ist jede verhinderte Infektion ein Erfolg für das Individuum und für die Gesellschaft.

Die Implementierung eines Routinescreening auf HBsAg in der Schwangerschaftsvorsorge sowie die Applikation einer HBV-Impfung innerhalb von 24 Stunden nach der Geburt gehören zu den Kernforderungen der WHO zur Reduktion der Krankheitslast von Hepatitis B weltweit (39). Dies wird jedoch weiterhin nicht in den tansanischen Leitlinien zur *Antenatal Care* erwähnt (59). Auch die bei Kilonzo et al beschriebenen Bemühungen der Regierung zur Kontrolle von HBV-Infektionen umfassen zwar die Impfung von Hochrisikogruppen, jedoch nicht die Impfung direkt nach der Geburt. Die vorliegende Studie hat gezeigt, dass die Logistik und Durchführung der beiden Maßnahmen in dem vorliegenden Setting möglich und implementierbar sind. Insbesondere unter Nutzung bereits etablierter Strukturen kann dies realisiert werden, zumal die Impfungen von BCG (Bacille Calmette-Guérin) und dem oralen Polioimpfstoff (OPV, engl. *Oral Polio Vaccine*) ohnehin direkt nach der Geburt durchgeführt werden und durch eine weitere Impfung mit dem HBV-Impfstoff ergänzt werden könnten. Auch wenn diese Studie keine strukturierte Evaluierung vornimmt, scheinen der Aufwand und die Kosten für diese Maßnahmen angesichts des zu erwartenden Nutzens die Investition wert zu sein, was auch vorherige Studien bestätigen (38). Herausforderungen, wie die organisatorische Durchführung, vor allem in Kontexten außerhalb von größeren Gesundheitseinrichtungen, aber auch die fehlende Verfügbarkeit des monovalenten Impfstoffes, bleiben jedoch bestehen und müssen gezielt adressiert werden.

5. Zusammenfassung

Chronische Hepatitis B ist eine Erkrankung von globaler Bedeutung, welches insbesondere afrikanische und südostasiatische Länder betrifft. In Ländern mit hoher Prävalenz wird die Erkrankung häufig von Mutter zu Kind übertragen. Eine Infektion im Kindesalter geht mit dem hohen Risiko der Chronifizierung der Erkrankung einher. In der vorliegenden Studie wurde die HBsAg-Prävalenz von schwangeren Frauen in einem Krankenhaus der Tertiärversorgung in Tansania untersucht, da zum Zeitpunkt der Durchführung keine aktuellen Daten aus der Region und der Bevölkerungsgruppe verfügbar waren. Zudem wurden soziodemographische Faktoren erhoben sowie Blutproben der Mütter und ihrer Neugeborenen gewonnen, sofern die Mütter HBsAg-positiv waren.

Das Ergebnis der HBsAg-Schnellteste ergab eine Prävalenz von 3% unter 743 eingeschlossenen schwangeren Frauen. Dies war niedriger als die Prävalenz in anderen Studien an schwangeren Frauen oder der Allgemeinbevölkerung in Tansania (20-23). Zudem wurde gezeigt, dass 5 (33%) von 15 Nabelschnurblutproben, welche von Kindern von HBV-infizierten Müttern gewonnen wurden, positiv für HBsAg waren, auch wenn diese Ergebnisse mit Vorsicht zu interpretieren sind. Nur eines (14%) von sieben Kindern zeigte in der Nachuntersuchung drei Jahre später Parameter einer chronischen HBV-Infektion. Die Mutter des Kindes hatte kurz vor der Geburt eine hohe Viruslast ($25,9 \times 10^7$ IU/ml) und war HBeAg-positiv. Die Ähnlichkeiten in der Virusequenz lassen darauf schließen, dass die Mutter wahrscheinlich die Infektionsquelle des Kindes ist. Da in Tansania weiterhin keine Standardtherapie für chronische Hepatitis B zugelassen ist, deutet selbst diese verhältnismäßig geringe Zahl entdeckter Fällen, im Vergleich zur ursprünglichen Annahme einer höheren Fallzahl, auf ein relevantes Problem für die Frauen, ihre Kinder und damit auch die gesamte Gesellschaft in Tansania hin.

6. Literaturverzeichnis

1. The World Bank. Data, Life expectancy at birth, total (years) - Tanzania [Internet] Washington DC: The World Bank; 2019 [zitiert 09.03. 2021]. Verfügbar unter: <https://data.worldbank.org/indicator/SP.DYN.LE00.IN?locations=TZ>.
2. Boex JF, L; Malik, A;. Decentralized Local Health Services in Tanzania. Are Health Resources Reaching Primary Health Facilities, or Are They Getting Stuck at the District Level? : Urban Institute; April 2015.
3. World Health Organization. United Republic of Tanzania [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2020 [zitiert 05.11. 2020]. Verfügbar unter: <https://www.who.int/countries/tza/>.
4. Geffert K, Maponga TG, Henerico S, Preiser W, Mongella S, Stich A, et al. Prevalence of chronic HBV infection in pregnant woman attending antenatal care in a tertiary hospital in Mwanza, Tanzania: a cross-sectional study. BMC infectious diseases. 2020;20(1):395.
5. O’Hara GA, McNaughton AL, Maponga T, Jooste P, Ocama P, Chilengi R, et al. Hepatitis B virus infection as a neglected tropical disease. PLOS Neglected Tropical Diseases. 2017;11(10):e0005842.
6. World Health Organization. SDG 3: Ensure healthy lives and promote wellbeing for all at all ages [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2020 [zitiert 06.11. 2020]. Verfügbar unter: <https://www.who.int/sdg/targets/en/>.
7. World Health Organization. Hepatitis B - Factsheet [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2018 [zitiert 05.11. 2020]. Verfügbar unter: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>.
8. Suerbaum S, Hahn, H., Burchard, G.-D., Kaufmann, S., Schulz, Th.F., editor. Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie 2016.
9. World Health Organization. Guidelines for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection. 2015.
10. Stanaway JD, Flaxman AD, Naghavi M, Fitzmaurice C, Vos T, Abubakar I, et al. The global burden of viral hepatitis from 1990 to 2013: findings from the Global Burden of Disease Study 2013. The Lancet. 2016;388(10049):1081-8.
11. World Health Organization. Global Health Sector Strategy on Viral Hepatitis 2016-2021. Towards ending Viral Hepatitis. 2016.
12. Kellerman SE, Hanson DL, McNaghten AD, Fleming PL. Prevalence of Chronic Hepatitis B and Incidence of Acute Hepatitis B Infection in Human Immunodeficiency Virus–Infected Subjects. The Journal of Infectious Diseases. 2003;188(4):571-7.
13. Spearman CW, Afihene M, Ally R, Apica B, Awuku Y, Cunha L, et al. Hepatitis B in sub-Saharan Africa: strategies to achieve the 2030 elimination targets. The lancet Gastroenterology & hepatology. 2017;2(12):900-9.
14. Hoffmann CJ, Thio CL. Clinical implications of HIV and hepatitis B co-infection in Asia and Africa. The Lancet Infectious Diseases. 2007;7(6):402-9.
15. Thio CL, Seaberg EC, Skolasky R, Jr., Phair J, Visscher B, Muñoz A, et al. HIV-1, hepatitis B virus, and risk of liver-related mortality in the Multicenter Cohort Study (MACS). Lancet (London, England). 2002;360(9349):1921-6.
16. Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. Vaccine. 2012;30(12):2212-9.
17. World Health Organization. Global Hepatitis Report, 2017. Geneva 2017.
18. Schweitzer A, Horn J, Mikolajczyk RT, Krause G, Ott JJ. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. Lancet (London, England). 2015;386(10003):1546-55.
19. Kilonzo SG, SW; Mpondo, BCT; Bakshi, FA; Jaka, H. Hepatitis B Virus Infection in Tanzania: Current Status and Challenges. Journal of Tropical Medicine. 2018;2018:10.

20. Mirambo MM, P; Mushi, F; Mtebe, M; Moremi, N; Seni, J; Mshana, S;. Prevalence of Hepatitis B surface antigen among pregnant women attending antenatal clinic at Nyamagana District Hospital Mwanza, Tanzania. *Tanzania Journal of Health Research*. 2016;18(1).
21. Rashid S, Kilewo C, Aboud S. Seroprevalence of hepatitis B virus infection among antenatal clinic attendees at a tertiary hospital in Dar es Salaam, Tanzania. *Tanzan J Health Res*. 2014;16(1):9-15.
22. Msuya SE, Mbizvo EM, Hussain A, Sam NE, Stray-Pedersen B. Seroprevalence of hepatitis B and C viruses among women of childbearing age in Moshi Urban, Tanzania. *East African medical journal*. 2006;83(2):91-4.
23. Manyahi J, Msigwa Y, Mhimbira F, Majigo M. High sero-prevalence of hepatitis B virus and human immunodeficiency virus infections among pregnant women attending antenatal clinic at Temeke municipal health facilities, Dar es Salaam, Tanzania: a cross sectional study. *BMC pregnancy and childbirth*. 2017;17(1):109-.
24. Robert Koch-Institut. Hepatitis B und D [Internet]. Berlin: Robert Koch-Institut; 2018 [zitiert 06.11. 2020]. Verfügbar unter: https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_HepatitisB.html.
25. Guirgis BS, Abbas RO, Azzazy HM. Hepatitis B virus genotyping: current methods and clinical implications. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2010;14(11):e941-53.
26. Torii Y, Kimura H, Hayashi K, Suzuki M, Kawada J, Kojima S, et al. Causes of vertical transmission of hepatitis B virus under the at-risk prevention strategy in Japan. *Microbiol Immunol*. 2013;57(2):118-21.
27. Forbi JC, Dillon M, Purdy MA, Drammeh BS, Tejada-Strop A, McGovern D, et al. Molecular epidemiology of hepatitis B virus infection in Tanzania. *The Journal of general virology*. 2017.
28. McMahon BJ, Alward WL, Hall DB, Heyward WL, Bender TR, Francis DP, et al. Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *J Infect Dis*. 1985;151(4):599-603.
29. Stockdale AJ, Chaponda M, Beloukas A, Phillips RO, Matthews PC, Papadimitropoulos A, et al. Prevalence of hepatitis D virus infection in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2017;5(10):e992-e1003.
30. Olsen A, Kinung'hi S, Magnussen P. Schistosoma mansoni infection along the coast of Lake Victoria in Mwanza region, Tanzania. *Am J Trop Med Hyg*. 2015;92(6):1240-4.
31. Mueller A, Fuss A, Ziegler U, Kaatano GM, Mazigo HD. Intestinal schistosomiasis of Ijunga Island, north-western Tanzania: prevalence, intensity of infection, hepatosplenic morbidities and their associated factors. *BMC infectious diseases*. 2019;19(1):832.
32. Gasim GI, Bella A, Adam I. Schistosomiasis, hepatitis B and hepatitis C co-infection. *Viol J*. 2015;12:19-.
33. MedicalCriteria. Serologic markers for the different phases of acute and chronic hepatitis B virus infection [Internet] 2011 [zitiert 26.03. 2021]. Verfügbar unter: <https://medicalcriteria.com/web/gashep/>.
34. Hou J, Liu Z, Gu F. Epidemiology and Prevention of Hepatitis B Virus Infection. *International journal of medical sciences*. 2005;2(1):50-7.
35. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *Journal of hepatology*. 2017;67(2):370-98.
36. Hepatitis B vaccines: WHO position paper--recommendations. *Vaccine*. 2010;28(3):589-90.
37. World Health Organization. WHO-UNICEF estimates of HepB3 coverage [Internet]. 2018 [Letztes Update 15.07.2018; zitiert 21.02. 2021]. Verfügbar unter: http://apps.who.int/immunization_monitoring/globalsummary/timeseries/tswucoveragehepb3.html.

38. Anderson S, Harper LM, Dionne-Odom J, Halle-Ekane G, Tita ATN. A decision analytic model for prevention of hepatitis B virus infection in Sub-Saharan Africa using birth-dose vaccination. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*. 2018;141(1):126-32.
39. World Health O. Preventing perinatal hepatitis B virus transmission: a guide for introducing and strengthening hepatitis B birth dose vaccination. Geneva: World Health Organization; 2015 2015.
40. Andersson MI, Rajbhandari R, Kew MC, Vento S, Preiser W, Hoepelman AI, et al. Mother-to-child transmission of hepatitis B virus in sub-Saharan Africa: time to act. *Lancet Glob Health*. 2015;3(7):e358-9.
41. Mahajan AP, Sayles JN, Patel VA, Remien RH, Sawires SR, Ortiz DJ, et al. Stigma in the HIV/AIDS epidemic: a review of the literature and recommendations for the way forward. *AIDS*. 2008;22 Suppl 2(Suppl 2):S67-S79.
42. Smith-Palmer J, Cerri K, Sbarigia U, Chan EKH, Pollock RF, Valentine WJ, et al. Impact of Stigma on People Living with Chronic Hepatitis B. *Patient Relat Outcome Meas*. 2020;11:95-107.
43. Mokaya J, McNaughton AL, Burbridge L, Maponga T, O'Hara G, Andersson M, et al. A blind spot? Confronting the stigma of hepatitis B virus (HBV) infection - A systematic review. *Wellcome Open Res*. 2018;3:29-.
44. Zhu Y-Y, Mao Y-Z, Wu W-L, Cai Q-X, Lin X-H. Does hepatitis B virus prenatal transmission result in postnatal immunoprophylaxis failure? *Clin Vaccine Immunol*. 2010;17(12):1836-41.
45. Lottspeich F, Engels J. Kapitel 30. Polymerasekettenreaktion. *Bioanalytik*. 3. Aufl. ed. Spektrum S, editor. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2012. 1208 p.
46. Garson JA, Grant PR, Ayliffe U, Ferns RB, Tedder RS. Real-time PCR quantitation of hepatitis B virus DNA using automated sample preparation and murine cytomegalovirus internal control. *J Virol Methods*. 2005;126(1-2):207-13.
47. Qiagen. QIAamp MinElute Virus Spin Handbook. 2020.
48. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1977;74(12):5463-7.
49. Ijaz S, Arnold C, Dervisevic S, Mechurova J, Tatman N, Tedder RS, et al. Dynamics of lamivudine-resistant hepatitis B virus during adefovir monotherapy versus lamivudine plus adefovir combination therapy. *Journal of medical virology*. 2008;80(7):1160-70.
50. Pugh JC, Weber C, Houston H, K M. Expression of the X gene of hepatitis B virus. *Journal of medical virology*. 1986(20):229-46.
51. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol*. 2013;30(12):2725-9.
52. Deeks J, Higgins J. *Statistical Algorithms in Review Manager 5*. Statistical Algorithms in Review Manager 5. 2007.
53. Berry MR. Advances in dietary exposure research at the United States Environmental Protection Agency-National Exposure Research Laboratory. *Journal of exposure analysis and environmental epidemiology*. 1997;7(1):3-16.
54. The World Bank. Country at a Glance - Tanzania [Internet] Washington DC: The World Bank; 2019 [zitiert 17.05. 2019]. Verfügbar unter: <http://datatopics.worldbank.org/education/country/tanzania>.
55. Afzali H, Momen Heravi M, Moravveji SA, Poorrahnama M. Prevalence of Hepatitis B Surface Antigen in Pregnant Women in Beheshti Hospital of Kashan, Isfahan. *Iran Red Crescent Med J*. 2015;17(7):e20598-e.
56. E. M. Mbaawuaga ME, J. A. Okopi, J.G. Damen,. Hepatitis B Virus (HBV) infection among Pregnant Women in Makurdi, Nigeria. *African Journal of Biomedical Research*. 2008;11:155-9.
57. World Health Organization. Deworming in pregnant women [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2019 [Letztes Update 11.02.2019; zitiert 02.03. 2021]. Verfügbar unter: https://www.who.int/elena/titles/deworming_pregnancy/en/.

58. World Health Organization. Intermittent preventive treatment in pregnancy (IPTp) [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2019 [zitiert 02.03. 2021]. Verfügbar unter: https://www.who.int/malaria/areas/preventive_therapies/pregnancy/en/.
59. Ministry of Health, Community Development, Gender and Children. Antenatal Care Guidelines [Internet]. Dar es Salaam: Government of Tanzania; 2020 [zitiert 09.03. 2021]. Verfügbar unter: <http://repository.out.ac.tz/2490/>.
60. Gasim GI, Murad IA, Adam I. Hepatitis B and C virus infections among pregnant women in Arab and African countries. *Journal of infection in developing countries*. 2013;7(8):566-78.
61. Mahboobi N, Porter SR, Karayiannis P, Alavian SM. Dental treatment as a risk factor for hepatitis B and C viral infection. A review of the recent literature. *Journal of gastrointestinal and liver diseases : JGLD*. 2013;22(1):79-86.
62. Luksamijarulkul P, Mooktaragosa A, Luksamijarulkul S. Risk factors for hepatitis B surface antigen positivity among pregnant women. *J Med Assoc Thai*. 2002;85(3):283-8.
63. Mutagoma M, Balisanga H, Malamba SS, Sebuhero D, Remera E, Riedel DJ, et al. Hepatitis B virus and HIV co-infection among pregnant women in Rwanda. *BMC infectious diseases*. 2017;17(1):618.
64. Zenebe Y, Mulu W, Yimer M, Abera B. Sero-prevalence and risk factors of hepatitis B virus and human immunodeficiency virus infection among pregnant women in Bahir Dar city, Northwest Ethiopia: a cross sectional study. *BMC infectious diseases*. 2014;14:118.
65. Pan CQ, Duan Z, Dai E, Zhang S, Han G, Wang Y, et al. Tenofovir to Prevent Hepatitis B Transmission in Mothers with High Viral Load. *N Engl J Med*. 2016;374(24):2324-34.
66. Kramvis A, Kew MC. Epidemiology of hepatitis B virus in Africa, its genotypes and clinical associations of genotypes. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology*. 2007;37(s1):S9-s19.
67. Makvandi M. Update on occult hepatitis B virus infection. *World journal of gastroenterology*. 2016;22(39):8720-34.
68. Allain J-P. Global epidemiology of occult HBV infection. *Annals of Blood*. 2017;2(5).
69. Dandekar M, Trivedi R, Irawati N, Prabhash K, Gupta S, Agarwal JP, et al. Barriers in conducting clinical trials in oncology in the developing world: A cross-sectional survey of oncologists. *Indian journal of cancer*. 2016;53(1):174-7.
70. Social Desirability Bias. *Wiley International Encyclopedia of Marketing* 2010.
71. Prince M. 9 - Epidemiology. In: Wright P, Stern J, Phelan M, editors. *Core Psychiatry (Third Edition)*. Oxford: W.B. Saunders; 2012. p. 115-29.
72. Gamble C, Krishan A, Stocken D, Lewis S, Juszcak E, Doré C, et al. Guidelines for the Content of Statistical Analysis Plans in Clinical Trials. *JAMA*. 2017;318(23):2337-43.
73. Head ML, Holman L, Lanfear R, Kahn AT, Jennions MD. The Extent and Consequences of P-Hacking in Science. *PLOS Biology*. 2015;13(3):e1002106.
74. Caballero B. Ethical issues for collaborative research in developing countries. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2002;76(4):717-20.
75. Emanuel EJ, Wendler D, Killen J, Grady C. What Makes Clinical Research in Developing Countries Ethical? The Benchmarks of Ethical Research. *The Journal of Infectious Diseases*. 2004;189(5):930-7.
76. Bauer I. More harm than good? The questionable ethics of medical volunteering and international student placements. *Tropical Diseases, Travel Medicine and Vaccines*. 2017;3(1):5.
77. Hedt-Gauthier BL, Jeufack HM, Neufeld NH, Alem A, Sauer S, Odhiambo J, et al. Stuck in the middle: a systematic review of authorship in collaborative health research in Africa, 2014–2016. *BMJ Global Health*. 2019;4(5):e001853.
78. Mueller A, Stoetter L, Kalluvya S, Stich A, Majinge C, Weissbrich B, et al. Prevalence of hepatitis B virus infection among health care workers in a tertiary hospital in Tanzania. *BMC infectious diseases*. 2015;15:386.

Appendix

A. Abkürzungsverzeichnis

Anti-HBc	Antikörper gegen HBcAg
Anti-HBe	Antikörper gegen HBeAg
Anti-HBs	Antikörper gegen HBsAg
APRI	<i>aspartate aminotransferase to platelet ratio index</i>
ARV	Antiretrovirale Medikation (engl. <i>antiretroviral (drug)</i>)
BCG	Bacille Calmette-Guérin
BMC	Bugando Medical Centre
DALYS	<i>Disability adjusted life-years</i>
DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl. <i>deoxyribonucleic acid</i>)
EASL	<i>European Association for the Study of Liver</i>
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assays</i>
EPI	<i>Expanded Programme on Immunization</i>
HBcAg	<i>Hepatitis B core antigen</i>
HBeAg	<i>Hepatitis B envelope antigen</i>
HBsAg	<i>Hepatitis B surface antigen</i>
HBV	Hepatitis-B-Virus
HCC	Hepatozelluläres Karzinom (engl. <i>hepatocellular carcinoma</i>)
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
IC	Interne Kontrolle (engl. <i>internal control</i>)
IQR	Interquartilsabstand (engl. <i>interquartile range</i>)
GAVI	<i>Global Alliance for Vaccines and Immunization</i>
g	Erdschwerebeschleunigung
IU	Internationale Einheit (engl. <i>International Unit</i>)
l	Liter
mCMV	murines Cytomegalovirus
MI	Missionsärztliches Institut Würzburg
µl	Mikroliter
ml	Milliliter

MTCT	Mutter-Kind-Übertragung (engl. <i>mother-to-child-transmission</i>)
NHP	<i>normal human plasma</i>
OPV	Oraler Polioimpfstoff (engl. <i>Oral Polio Vaccine</i>)
OR	Chancenverhältnis (engl. <i>Odds Ratio</i>)
PCR	Polymerasekettenreaktion (engl. <i>Polymerase chain reaction</i>)
rpm	<i>revolutions per minute</i>
SDGs	Nachhaltigkeitsziele (engl. <i>Sustainable Development Goals</i>)
SOPs	<i>Standard Operating Procedures</i>
SSA	Subsahara-Afrika
STI	sexuell übertragbare Erkrankungen (engl. <i>sexually transmitted infections</i>)
TZS	Tansanischen Schillinge
UK	Vereinigtes Königreich (engl. <i>United Kingdom</i>)
USA	Vereinigte Staaten von Amerika (engl. <i>United States of America</i>)
WHO	Weltgesundheitsorganisation (engl. <i>World Health Organization</i>)
95% CI	95%-Konfidenzintervall (engl. <i>Confidence Interval</i>)

B. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Aufbau des tansanischen Gesundheitssystem von Boex et al (2)	3
Abbildung 2. Karte von Tansania.....	4
Abbildung 3. Darstellung der unterschiedlichen Marker einer HBV-Infektion	8
Abbildung 4. Beispiele für Ergebnisse der quantitativen Analyse der real-time PCR.....	23
Abbildung 5. Ergebnisse der Gelvisualisierung	26
Abbildung 6. Histogramm der Altersverteilung der Studienteilnehmerinnen	33
Abbildung 7. Angaben der Studienteilnehmerinnen zu ihrem Arbeitsstatus.....	35
Abbildung 8. Anzahl der Schwangerschaften bei den Studienteilnehmerinnen	36
Abbildung 9. Phylogenetische Analyse der Proben	43

C. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. HBV Labordiagnostik, vereinfachte Darstellung.....	8
Tabelle 2. Eingenommene Medikamente in der Schwangerschaft	34
Tabelle 3. Weitere Berufsgruppen unter den Studienteilnehmerinnen.....	35
Tabelle 4. Charakteristika und Risikofaktoren der Studienteilnehmerinnen	37
Tabelle 5. Virologische und serologische Ergebnisse der HBsAg-positiven Mütter und ihrer Kinder	42
Tabelle 6. Ergebnisse der logistischen Regression der soziodemographischen Charakteristika und Risikofaktoren	44
Tabelle 7. Zusammengefasst Charakteristika der Studienteilnehmerinnen.....	64

D. Charakteristika der Studienteilnehmerinnen, zusammengefasst für die statistische Auswertung

Tabelle 7. Zusammengefasst Charakteristika der Studienteilnehmerinnen, übersetzt und adaptiert von Geffert et al (4)

	Gesamt	HBsAg-positiv	HBsAg-negativ
	n (%)	n (%)	n (%)
Alter [Jahren]			
Mittelwert ± Standardabweichung	26,98 ±6,03	27,45 ± 5,4	26,97 ± 6,05
18-20	106 (14,3)	1 (4,5)	105 (14,6)
21-30	447 (60,2)	16 (72,7)	431 (59,8)
31-40	172 (23,1)	4 (18,2)	168 (23,3)
>40	18 (2,4)	1 (4,5)	17 (2,4)
HIV-Status			
HIV-positiv	42 (5,8)	2 (9,1)	40 (5,7)
HIV-negativ	678 (94,2)	20 (90,9)	658 (94,3)
Wohnort			
Stadt	710 (95,7)	21 (95,5)	689 (95,7)
Land	32 (4,3)	1 (4,5)	31 (4,3)
Familienstand			
Single + Getrennt+ Verwitwet	48 (6,5)	3 (13)	45 (6,3)
Zusammenlebend + Verheiratet	689 (93,5)	19 (86,4)	670 (93,7)
Ausbildung			
Informelle Bildung	37 (5,0)	1 (4,5)	36 (5,0)
Primärbildung	314 (42,4)	9 (40,9)	305 (42,5)
Sekundärbildung + Universität	389 (52,6)	12 (54,5)	377 (52,5)
Arbeit			
Gesundheitssektor	26 (3,5)	2 (9,0)	24 (3,3)
Berufstätig	356 (48,0)	11 (50,0)	345 (48,0)
Nicht berufstätig + Hausfrau	359 (48,4)	9 (41,0)	350 (48,7)
Anzahl an Schwangerschaften			
Eine	271 (36,6)	10 (45,5)	261 (36,4)
Zwei oder mehr	469 (63,4)	12 (54,5)	457 (63,6)
Anzahl an Geburt			
Keine	299 (40,6)	12 (54,5)	287 (40,1)
Eine oder mehr	438 (59,4)	10 (45,5)	428 (59,9)
Anzahl an Sexualpartnern			
Eins	287 (40,5)	7 (33,3)	280 (40,7)
Zwei-drei	372 (52,3)	12 (57,1)	360 (52,3)
Vier oder mehr	50 (7,1)	2 (9,5)	48 (7,0)

Alter beim ersten Sexualkontakt			
Unter 15	29 (3,9)	0 (0,0)	29 (4,0)
15 oder älter	712 (96,1)	21 (100,0)	691 (96,0)
HBV Impfung			
Eine oder mehrere Impfungen	14 (2,0)	0 (0,0)	14 (1,9)
Keine Impfung	687 (98,0)	21 (100,0)	666 (97,9)
STIs in der Vergangenheit			
Ja	35 (4,8)	2 (9,1)	33 (4,6)
Nein	699 (95,2)	20 (90,9)	679 (95,4)
Kondomgebrauch			
Immer	4 (0,5)	0 (0,0)	4 (0,6)
Manchmal + Nie	733 (99,5)	22 (100,0)	711 (99,4)
Weibliche Genitalbeschneidung			
Ja	23 (3,1)	1 (4,5)	22 (3,1)
Nein	708 (96,9)	21 (95,5)	687 (96,9)
Zahnbürste mit Partner geteilt			
Ja	91 (12,4)	3 (13,6)	88 (12,3)
Nein	644 (87,6)	19 (86,4)	625 (87,7)
Rasierer mit Partner geteilt			
Ja	162 (21,9)	3 (13,6)	159 (22,1)
Nein	578 (78,1)	19 (86,4)	559 (77,9)
Ikterus			
In der Familie oder selber	73 (9,9)	2 (9,1)	71 (9,9)
Keinen	668 (90,1)	20 (90,9)	648 (90,1)
Generelles Risiko durch medizinische Faktoren (Operation, i.v. Injektionen, Bluttransfusion)			
Risikofaktor	161 (22,5)	6 (27,3)	155 (22,3)
Kein Risikofaktor	556 (77,5)	16 (72,7)	540 (77,7)

E. Fallberichtform

Mother

Pat.-No.				
Hospital-No.				



Hepatitis B PMTCT

VISIT DATE (D/D/M/M/Y/Y)

--	--	--	--	--	--

PATIENT CHARACTERISTICS

Date of birth

D	D	M	M	Y	Y

Date of informed consent

D	D	M	M	Y	Y

HBsAg
Positive

Date of HBsAg rapid test

D	D	M	M	Y	Y

Result

HBsAg
negative

DISEASE BACKGROUND

HIV positive

YES NO

Did you ever take ARV-Medication?

YES NO

Did you had a HBV test before?

YES NO

Do you take any other medication?

YES NO

If Medication Yes, please specify: _____

First Day of last menstruation

D	D	M	M	Y	Y

Estimated Birth Date

D	D	M	M	Y	Y

Vaginal bleedings during pregnancy?

YES NO

Comments:

DELIVERY

Vaginal Caesarian Section

Mode of Delivery

YES NO

Birth complications

If Yes, please specify:

F. Einverständniserklärung

PATIENT INFORMATION SHEET & CONSENT FORM

Study title: Hepatitis B – Prevention of Mother to Child Transmission

A case control study to reduce the transmission from Hepatitis B positive mothers to their children with newborn vaccination.

Invitation paragraph

You are being invited to take part in a research study. My name is.....and I am from and in collaboration with Dr. Christa Kasang from Medical Mission Institute, Wuerzburg, Germany and Prof. Kalluvya from Bugando Medical Center Mwanza, Tanzania. We are doing research on Hepatitis B in pregnant woman. I am going to give you information about our research project and request you to participate in this research project. You do not have to make your decision today on whether or not to participate in this research project. Before making your decision you are free to discuss about the research project with any person you feel comfortable with. Please feel free to ask questions on anything you don't understand or need more clarification. In case you have questions later, you can ask anybody in the research team at anytime.

Why is this study being done?

The transmission of Hepatitis B virus from mother to child is very common in Tanzania. Chronic Hepatitis B infection may lead to liver cirrhosis and hepatocellular cancer. The risk for chronic complication rises with early infection age.

In this study we want to prove how much a direct after birth vaccination of newborn reduces the transmission rate from HBV positive mother to child. The WHO recommends a direct after birth vaccination to all children of Hepatitis B infected mothers.

Nevertheless there are no guidelines in Tanzania for routine Hepatitis B screening of pregnant woman and no regulations for adapted vaccination schedules in case of infection.

If you are Hepatitis B positive, your child will be vaccinated direct after birth. After the complementation of the vaccination schedule (4, 8, 12 weeks) blood will be taken from your child to find out if it got infected with Hepatitis B.

Do I have to take part?

It is up to you to decide whether or not to take part. If you do decide to take part you will be given this information sheet to keep and be asked to sign a consent form. If you decide to take part you are still free to withdraw at any time and without giving a reason. A decision to withdraw at any time, or a decision not to take part, will not affect the standard of care you receive.

How many people will take part in the study?

About 1000 mothers and their children will take part in this study.

What will happen if I take part in this research study?

If you decide to take part in the study

You will need to do a Hepatitis B antigen rapid test. If you are Hepatitis B positive you are asked to give additional blood samples (12 ml) through routine blood drawing. Your child will get Hepatitis B vaccination directly after birth and blood will be taken from the cord. After half a year when your child got all four injections, 8 ml blood will be taken from your child to see, if your child is infected or not.

Which Investigations will be done?

If your child became infected with Hepatitis B virus, there will be Hepatitis B serology and a PCR with your and your child's blood. The Hepatitis B serology will be obtained by laboratory analyses from your blood sample and a PCR is done. This is to analyze the genotype of the virus and the viral serology of your blood.

How long will I be in the study?

You will be tested for Hepatitis B Antigen and blood will be taken once. If you are Hepatitis B positive we would like your child to be vaccinated four times (0, 4, 8, 12

weeks) and we would like to take blood after half a year. You will not have any further obligations related to this study.

Can I stop being in the study?

Yes. You can decide at any time to withdraw your consent. The data obtained from you will be removed from the study data base and the specimen obtained will be destroyed.

What side effects or risks can I expect from being in the study?

Taking a blood sample from a vein on the forearm is a routine medical procedure, which will be carried out by experienced medical personnel under sterile conditions. Sometimes a small haematoma may be visible for a few days. Vaccination can cause an early or delayed allergic reaction. In a few cases, the injection canal can get infected.

Are there personal benefits to taking part in the study?

With the rapid test we will find out whether you are Hepatitis B positive or not. Even though there is no treatment yet for this illness in Tanzania, with more awareness you can minimize the transmission to your children or other close relatives. Your child will get an additional dose of vaccination which is an extra protection. With the serology after half a year we will find out whether the vaccination was successful or not.

If you wish your study doctor will discuss the results of the tests with you. All results will be made available to you and your doctor as soon as possible.

What other choices do I have if I do not take part in this study?

Your physician will treat you according to your clinical needs and absolutely independent from your decision to take part in the study.

Will my medical information and my taking part in this study be kept confidential?

All information that is collected about you during the course of the research will be kept strictly confidential. Any information about you which leaves the hospital/surgery will have your name and address removed so that you cannot be recognized by a third party.

What are the costs of taking part in this study?

You will need to pay for regular diagnostic and therapeutic procedures caused by your medical condition. You will not need to pay for any study specific procedures.

You will not be paid for taking part in this study.

What happens if I am injured because I took part in this study?

As pointed out above it is very unlikely that you will be harmed or injured due to study specific procedures. But if you feel so, it is important that you tell your study doctor, Professor Samuel Kalluvya. You can tell the doctor in person or call him/her at [0713 330 766].

What are my rights if I take part in this study?

Taking part in this study is your choice. You may choose either to take part or not to take part in the study. If you decide to take part in this study, you may withdraw your consent at any time. In this case your data will be removed from the study database and your specimens destroyed.

No matter what decision you make, there will be no penalty for you and you will not lose any of your regular benefits. Withdrawing your consent will not affect your medical care. You can still get your medical care from our institution.

Additional Information about your rights while taking part in this study, can be obtained from the Director for Research and Innovations of CUHAS, Prof. G. Kongola (Tel. 028 2500881)

Please give your consent

Signature

I have been given a copy of all 3 pages of this form. I have read it or it has been read to me. I understand the information and have had my questions answered.

I agree to take part in this study.

YES

Date _____

Signature of participant: _____

Signature of witness: _____

G. Fragebogen in Englisch

1. Residence
 - City
 - Rural area
1. Marital status
 - Single
 - Cohabiting
 - Married
 - Divorced
 - Widowed
2. Level of Education
 - Non-formal
 - Primary
 - Secondary
 - College and university
3. Occupation
 - Health sector, if yes for how long____
 - Petty trader
 - Housewife
 - Non employed
 - Formal employed
 - Others _____
4. Parity _____
5. Gravity _____
6. History of life-time sexual Partners

7. Age at first sexual contact
 - <= 15 years
 - >15 years
9. History of risk factors (multiple)
 - Bloodtransfusion
 - i.v. injections
 - operations
 - None
10. HBV Vaccination
 - Received all three vaccinations
 - Received at least one vaccination
 - No vaccination
 - Unknown
11. History of STIs
 - Yes
 - No
12. Condom use
 - Always
 - Sometimes
 - Never
13. Genital circumcision
 - Yes
 - No
14. Sharing toothbrush with husband
 - Yes
 - No
15. Sharing razor with husband
 - Yes
 - No
16. History of jaundice
 - In the family
 - Myself
 - None

H. Ethikzertifikate



**CATHOLIC UNIVERSITY OF HEALTH
AND ALLIED SCIENCES
BUGANDO**



P.O. Box 1464

Phone: (255) 28-250-0881

Email: principal@bugando.ac.tz

Mwanza, Tanzania

Fax: (255) 28-250-2678

Website: www.bugando.ac.tz

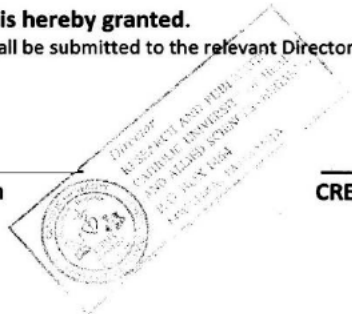
**CUHAS/BMC RESEARCH & ETHICAL COMMITTEE (CREC)
ETHICAL CLEARANCE FORM**

Date	1 st October 2014
Research Clearance Certificate No	CREC/151/2014
Name of researcher/PI	Karin Geffert
Purpose of the research	RES
Title of the Research	Hepatitis B – Prevention of Child Transmission: Implementation of Hepatitis B Newborn Vaccination to Reduce HBV Transmission from Mother to Child
Budget and Sponsor(s)	USD 9000/= Rexroth Foundation
Research period	October 2014 to March 2015

Ethical clearance is hereby granted.

A progress report shall be submitted to the relevant Directorate every 6 months.

CREC Chairperson



CREC Secretary



**CATHOLIC UNIVERSITY OF HEALTH AND
ALLIED SCIENCES
BUGANDO**

P.O. Box 1464 Phone: (255) 28-250-0881 Email: principal@bugando.ac.tz
Mwanza, Tanzania Fax: (255) 28-250-2678 Website: www.bugando.ac.tz

CUHAS DIRECTORATE OF RESEARCH AND INNOVATIONS

AMENDMENT/RENEWAL FORM

AMENDMENT / RENEWAL (Please tick the relevant box)

Date	1 st February 2018
Research Clearance Certificate No	CREC/151/2014
Research period previously allocated	▪ October 2014 – March 2015
Author(s)	Karin Geffert
Name and e-mail address of corresponding author	Karin.geffert@gmail.com
Title of the proposal	Hepatitis B – Prevention of Child Transmission: Implementation of Hepatitis B Newborn Vaccination to Reduce HBV Transmission from Mother to Child
Reason for renewal/amendment	• Follow-up
Comments from Directorate	None

Authorization to amend /renew the above proposal is hereby granted.

The renewal period is February 2018 to March 2018.

Director
Research and Innovations



I. Anmerkungen zum Copyright

Im Folgenden sind die Bestätigungen zur Nutzung von bereits veröffentlichten Abbildungen in dieser Promotion einzeln dargestellt. Auf Anfrage können die Details zu der jeweiligen Erlaubnis eingesehen werden. Die anderen Abbildungen wurden selbstständig von der Doktorandin erstellt.

Abbildung 1: Erlaubnis zur Verwendung von Jamie Boex am 22.03.2021 per E-Mail erteilt.

Abbildung 2: Verwendung unter Verweis auf die Quelle gestattet.

Abbildung 3: Erlaubnis zur Verwendung von Guillermo Firman am 04.02.2021 per E-Mail erteilt.

Abbildung 9: Verwendung der Abbildung nach Creative Commons Attribution License 4.0 möglich, wenn ein vollständiges Zitat auf die Quelle verweist.

J. Danksagung

If you want to go fast, go alone. If you want to go far, go together.

Afrikanisches Sprichwort

Hiermit möchte ich mich ausdrücklich bei allen Personen danken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein großer Dank geht an Prof. August Stich für die Ermöglichung der Promotion sowie die Supervision. Ganz besonders möchte ich mich auch bei meinen beiden Betreuer:innen, Dr. Christa Kasang und Dr. Andreas Müller, für die fachliche, organisatorische und persönliche Unterstützung und Begleitung der Studie an den verschiedenen Standpunkten, bedanken.

Ohne die Mitarbeit der Partner:innen in Tansania wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen und so gilt mein Dank für die Arbeit in Mwanza insbesondere Prof. Samuel Kalluvya für die Schirmherrschaft, Henerico Shimba für die praktische Unterstützung, Stella Mongella für die Kooperation, den Hebammen und Impfschwestern für ihre großartige Arbeit und unzähligen weiteren Menschen, welche die Zeit in Mwanza für mich unvergesslich gemacht haben. Auch den Partner:innen in Kapstadt möchte ich ausdrücklich danken, insbesondere Prof. Wolfgang Preiser und Dr. Tongai Maponga für den fachlichen Austausch und die Unterstützung vor Ort.

Bedanken möchte ich mich auch bei der statistischen Beratung der Universität Würzburg, für die Möglichkeit zur Rück- und Absprache bei statistischen Analyse.

Mein Dank gilt ebenfalls den finanziellen Unterstützer:innen dieser Arbeit, insbesondere der Georg Ludwig Rexroth-Stiftung, dem evangelischen Studienwerk Villigst e.V. sowie dem Zonta Club Würzburg e.V..

Für das Lektorat und die Hilfestellung bei Rückfragen möchte ich mich bedanken bei Andreas, Antje, Dorothea, Sabine, Laura und Matthias. Darüber hinaus gilt mein Dank allen Personen, die mich auf diesem langen Weg begleitet und unterstützt haben, allen voran meine Familie.