

Journal für
**Gastroenterologische und
Hepatologische Erkrankungen**

Fachzeitschrift für Erkrankungen des Verdauungstraktes

**Entwicklungen in der
Hepatitis-B-Diagnostik:
Quantitatives HBsAg, HBV-Genotypen
Real-Time PCR HBV-DNA**

Popow-Kraupp T, Strassl R

*Journal für Gastroenterologische
und Hepatologische Erkrankungen*

2012; 10 (1), 19-24

Österreichische Gesellschaft
für Gastroenterologie und
Hepatology

www.oeggh.at



ÖGGH

Österreichische Gesellschaft
für Chirurgische Onkologie

www.aco-asso.at

acoasso
Österreichische Gesellschaft für Chirurgische Onkologie
Austrian Society of Surgical Oncology

Homepage:

**[www.kup.at/
gastroenterologie](http://www.kup.at/gastroenterologie)**

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**

Indexed in EMBASE/Compendex, Geobase
and Scopus

www.kup.at/gastroenterologie

Member of the 

Krause & Pachernegg GmbH · VERLAG für MEDIZIN und WIRTSCHAFT · A-3003 Gablitz

P.b.b. 032035263M, Verlagspostamt: 3002 Purkersdorf, Erscheinungsort: 3003 Gablitz

Entwicklungen in der Hepatitis-B-Diagnostik: Quantitatives HBsAg, HBV-Genotypen, Real-Time PCR HBV-DNA

R. Strassl, T. Popow-Kraupp

Kurzfassung: Die Hepatitis-B-Virus- (HBV-) Infektion stellt aufgrund des breiten Spektrums an möglichen Verlaufsformen eine diagnostische Herausforderung dar. Der unablässigen Forschung ist es zu verdanken, dass das Wissen um die pathogenetischen und molekularen Mechanismen dieser Infektion stetig zugenommen und zu signifikanten diagnostischen Verbesserungen geführt hat. Speziell die quantitative Bestimmung der HBV-Nukleinsäure mittels PCR bedeutete einen diagnostischen Meilenstein, der heute fest in den international gültigen Guidelines verankert ist. Die Einteilung der klinischen Verlaufsformen der persistierenden HBV-Infektion sowie die Überwachung von Patienten unter antiviraler Therapie basieren auf dieser anerkannten Standardmethode. Im Gegensatz dazu stehen weitere Untersuchungsmethoden, wie die HBV-Genotypisierung oder die HBsAg-Quantifizierung, deren Stellenwert derzeit noch kontroversiell diskutiert wird. Aufgrund der bisher vorliegenden Daten scheinen diese beiden Parameter für die Einschätzung des Ansprechens auf die antivirale Therapie von prognostischem Nutzen zu sein. Hervorzuheben ist hier speziell die HBsAg-Quan-

tifizierung, die sich nicht zuletzt wegen ihrer einfachen Durchführung und ihrer Kosteneffektivität als Routineparameter etablieren könnte. Ziel des vorliegenden Artikels ist es, nicht nur einen Einblick in die aktuell gültige Standarddiagnostik zu geben, sondern auch den derzeitigen Forschungsstand kritisch zu beleuchten. Das Verständnis der molekularen Mechanismen ist hierfür essenziell, weshalb diese auch genauer dargestellt werden.

Schlüsselwörter: Hepatitis B, Hepatitis-B-Infektion, HBV-DNA-Quantifizierung, PCR, HBsAg-Quantifizierung, cccDNA, Hepatitis-B-Genotypisierung

Abstract: Developments in the Field of Hepatitis B Diagnosis: Quantitative HBsAg, HBV Genotyping, Real-Time PCR HBV DNA. Due to the wide spectrum of the clinical expression of hepatitis B virus (HBV) infection, HBV diagnosis remains challenging. Continuous research has led to a substantial increase in the understanding of the pathogenetic mechanisms of this infection, resulting in significant diagnostic improve-

ments. HBV DNA quantification was a diagnostic milestone and is anchored in current international guidelines. Quantitative DNA assays play a dominant role in staging patients in the various phases of chronic HBV infection and in the monitoring of patients undergoing antiviral therapy. In contrast, the importance of other parameters, such as HBV genotyping or HBsAg quantification, is still under discussion. Recent data suggest a prognostic value for both parameters. Due to the simplicity and cost effectiveness of the test procedure, HbsAg quantification is the most promising parameter to be routinely performed. The purpose of this article is not only to highlight up-to-date standard diagnostic procedures but also to review the current state of research. Knowledge of the molecular mechanisms is essential for the understanding of the diagnostic value of the different assays, so this is discussed in more detail. **J Gastroenterol Hepatol Erkr 2012; 10 (1): 19–24.**

Key words: hepatitis B, hepatitis B infection, quantitative HBV DNA measurement, PCR, HBsAg quantification, cccDNA, hepatitis B genotyping

■ Einleitung

Durch den Einsatz ultrasensitiver standardisierter Testmethoden für die Diagnostik der Hepatitis B haben sich die Betreuung und die Prognose von Patienten mit einer persistierenden Hepatitis-B-Virus- (HBV-) Infektion signifikant verbessert. Darüber hinaus ergeben sich durch das wachsende Wissen über die Pathogenese und den Verlauf der HBV-Infektion neue Anwendungsgebiete für den Einsatz schon altbekannter diagnostischer Parameter, wie zum Beispiel die quantitative Bestimmung des HBs-Antigens (HBsAg), deren Stellenwert derzeit Gegenstand intensiver klinischer Forschung ist.

Das Krankheitsbild der Gelbsucht wurde schon in der Antike beschrieben und zieht sich mit teilweise epidemischen Ausbrüchen als gefürchtete Seuche durch die gesamte menschliche Geschichte. Erst in den 1940er-Jahren erkannte man, dass ein Teil dieser Erkrankungen offensichtlich durch Blut von Mensch zu Mensch übertragen wird, und es wurde der Begriff

der „Serumhepatitis“ geprägt. Die zufällige Entdeckung eines bis dahin unbekanntes und mit der Erkrankung assoziierten Antigens in Australien im Jahre 1965, das als „Australia Antigen“ bezeichnet wurde, erbrachte den Hinweis auf eine virale Erkrankung [1]. Das stetig zunehmende Wissen über diese Erkrankung und ihren Erreger führte letztlich dazu, dass in den frühen 1970er-Jahren das „Australia Antigen“ in „Hepatitis B Surface Antigen“ umbenannt und der Begriff der Hepatitis Typ B eingeführt wurde. Auch heute hat das Hepatitis-B-Virus trotz wesentlicher Errungenschaften auf dem Gebiet der Forschung und der Prävention nichts von seiner Bedeutung verloren [2]. Aus einer persistierenden HBV-Infektion resultierende Folgeerkrankungen, wie die Leberzirrhose und das hepatozelluläre Karzinom, bewirken, dass die HBV-Infektion derzeit an zehnter Stelle der am häufigsten zum Tode führenden Erkrankungen steht [3].

■ Aktuelle virologische Grundlagen

Das Hepatitis-B-Virus, ein Mitglied der Familie der Hepadnaviren, stellt sich im Elektronenmikroskop als doppelschaliges rundes Partikel mit einem Durchmesser von ca. 42–45 nm dar. Das vollständige Virus wird als Dane-Partikel bezeichnet und besitzt eine äußere Hülle, die das Nukleokapsid, bestehend aus der viralen DNA und dem Core-Protein, umgibt. Die äußere Virushülle (Hepatitis B surface [HBs]) wird aus 3 Proteinen

Eingelangt am 1. Juni 2011; angenommen am 12. Dezember 2011; Pre-Publishing Online am 9. Jänner 2012

Aus dem Department für Virologie, Medizinische Universität Wien, Österreich

Korrespondenzadresse: Ao. Univ.-Prof. Dr. med. Theresia Popow-Kraupp, Department für Virologie, Medizinische Universität Wien, A-1090 Wien, Kinderspitalgasse 15; E-Mail: theresia.popow-kraupp@meduniwien.ac.at

gebildet, die als L- (large), M- (middle) oder S- (small) HBs-Protein bezeichnet werden. Neben den Dane-Partikeln finden sich auch noch subvirale Partikelformen, die sich in ihrem Aufbau und ihrer Form grundlegend von den Dane-Partikeln unterscheiden. Diese können entweder in einer filamentösen (17–25 nm) oder in einer sphärischen Form (ca. 20 nm) vorliegen. Die subviralen Partikel tragen kein virales Genom und sind daher auch nicht infektiös. L-, M- oder S-HBs-Proteine bilden auch bei diesen Partikeln die äußere Hülle, wobei diese jedoch, verglichen mit dem vollständigen Virus, hauptsächlich aus SHBs-Proteinen zusammengesetzt ist [4]. Im Vergleich zu den Dane-Partikeln (komplette Viren) werden sie von der infizierten Leberzelle in 1000–10.000-fachem Überschuss produziert und dominieren daher auch im Blut des Infizierten. Alle 3 Formen (Dane-, filamentöse und sphärische subvirale Partikel) werden von den kommerziellen HBsAg-Testsystemen erfasst und kollektiv unter dem Begriff HBsAg zusammengefasst.

Im Inneren des Virus befindet sich das Nukleokapsid, bestehend aus der doppelsträngigen viralen DNA (Genom), der viralen Polymerase und dem Core-Protein. Derzeit werden 10 Genotypen (A–J) des HBV unterschieden, deren Nukleotidsequenzen sich in mindestens 8 % unterscheiden und die eine unterschiedliche geographische Verbreitung aufweisen [5].

Das für Hepadnaviren typische Vorliegen von überlappenden Leserahmen, so genannten „open reading frames“ (ORF), die die doppelte Nutzung einer Nukleotidsequenz erlauben, findet sich auch beim Hepatitis-B-Virus. Vereinfacht dargestellt überlappt der Leserahmen für die virale Polymerase auch die Sequenzen, die für das HBsAg sowie für das HBe-Protein kodieren. Das bedeutet, dass Mutationen im Bereich des Polymerasegens, wie sie zum Beispiel unter Therapie mit Nucleosidanaloga auftreten, auch zu Veränderungen in den epitopen Bereichen des HBsAg führen und damit auch Auswirkungen auf dessen Nachweisbarkeit haben können [4, 6–11].

Obwohl das Virus bereits seit > 40 Jahren bekannt ist, so ist doch weiterhin ungeklärt, über welche Rezeptoren das HBV an Hepatozyten bindet. Bekannt ist, dass nach dem Eintritt in die Zelle die äußere Hülle abgestreift und das Nukleokapsid in das Zytoplasma entlassen wird (Abb. 1). Dieses wird zur Kernmembran transportiert und dort geöffnet. Die nun frei werdende,



Abbildung 1: Replikationszyklus. Mod nach [12].

offene zirkuläre Form der viralen DNA gelangt in den Zellkern und wird dort kovalent geschlossen. Die daraus resultierende so genannte kovalent geschlossene, zirkuläre DNA („covalently closed circular DNA“ [cccDNA]) liegt fortan als Minichromosom lebenslänglich im Zellkern vor und dient als Matrize für die Transkription der viralen mRNAs [13, 14]. Je nach enthaltenem Startcodon werden die mRNAs unter anderem zu Core-Proteinen, HBs-Proteinen, HBe-Proteinen oder der viralen Polymerase translatiert. Während die HBe-Proteine direkt sezerniert werden und somit nicht mehr am Replikationszyklus des HBV teilnehmen, werden die Core-Proteine und die Polymerase zu reifen Nukleokapsiden zusammengesetzt. Diese Nukleokapside können nun entweder wieder zum Zellkern rücktransportiert werden und somit der Anhäufung von cccDNA im Nukleus dienen [13, 15], oder aber sie werden von HBs-Proteinen umhüllt und bilden vollständige Viruspartikel, die neue Hepatozyten infizieren. Die ständige Anhäufung viraler cccDNA im Kern der infizierten Zellen (bis zu 50 Kopien pro Zelle [16, 17]) ist insofern von besonderer Bedeutung, als die Menge der cccDNA ein Korrelat für die Viruslast der infizierten Zellen ist und somit das Ausmaß der Infektion in der Leber widerspiegelt [12, 18]. Die im Zellkern befindliche genetische Information des HBV kann lediglich durch den Untergang der cccDNA-tragenden Zellen, entweder durch Apoptose oder durch die zytolytische Aktivität der viruspezifischen zytotoxischen T-Zellen, eliminiert werden [13].

Die Bildung der ebenfalls durch mRNAs kodierten HBs-Proteine findet unabhängig von der Virusvermehrung (DNA-Synthese) statt. Sie dienen entweder der Umhüllung der Nukleokapside oder werden als subvirale Partikel (filamentöse oder sphärische Form) direkt und in hohem Überschuss von der infizierten Zelle sezerniert.

■ Pathogenese und Verlaufsformen

Hepatitis B kann sowohl parenteral als auch sexuell oder vertikal übertragen werden, wobei die Infektiosität um das 50–100-Fache höher angegeben wird als die des HI-Virus [19]. Das HBV selbst besitzt keine zytotoxischen Fähigkeiten. Die Zerstörung der infizierten Zellen und die dadurch bedingte klinische Symptomatik erfolgt durch die Abwehrmechanismen des Infizierten. Durch die Interaktion zwischen Virusvermehrung und den auf diese reagierenden individuellen Abwehrmechanismen ergibt sich ein breites Spektrum von klinischen Manifestationen und Infektionsverläufen, wobei das Alter und die Immunkompetenz des Infizierten eine entscheidende Rolle spielen. Das klinische Spektrum reicht von der selbstlimitierten akuten Infektion bei immunkompetenten Jugendlichen und Erwachsenen über die chronische Hepatitis bis zur asymptomatischen, hochvirämisch persistierenden HBV-Infektion bei perinatal infizierten Neugeborenen und stark immunsupprimierten Patienten. Nach dem Zeitpunkt und dem Verlauf der Infektion unterscheidet man eine akute und eine persistierende Verlaufsform.

Akute HBV-Infektion

Diese ist definiert als eine vor Kurzem erworbene Infektion mit fakultativ erhöhten Transaminasen und Leberfunktionsstörungen. Immunkompetenten Jugendlichen und Erwachsenen

gelingt es in 90 %, die akute HBV-Infektion zu überwinden und das Virus zu eliminieren beziehungsweise die Virusvermehrung effizient zu unterdrücken. Nach abgelaufener Infektion finden sich bei diesen die serologischen Befunde einer durchgemachten HBV-Infektion (HBsAg negativ, HBcAk und HBsAk positiv). Beobachtungen, dass es viele Jahre nach der durchgemachten Infektion unter immunsuppressiver Therapie zu einer Reaktivierung der HBV-Infektion kommen kann, sprechen für eine anhaltende latente Persistenz der cccDNA [20].

Persistierende HBV-Infektion

Diese ist definiert als eine Infektion, bei der über einen Zeitraum von > 6 Monaten HBsAg nachgewiesen werden kann. Als Ursache für die persistierende Infektion wird ein unzureichendes Einsetzen viruspezifischer zellulärer Abwehrmechanismen im Rahmen der akuten Infektion angesehen. Weltweit leiden ca. 350–400 Millionen Menschen an einer persistierenden HBV-Infektion [3, 21–23].

Für die Einteilung der individuell unterschiedlichen, komplexen klinischen Verlaufsformen der persistierenden HBV-Infektion wird neben der entzündlichen Aktivität in der Leber vorwiegend das Ausmaß der Virämie herangezogen. Dementsprechend werden folgende Verlaufsformen unterschieden [24]:

1. Chronische Hepatitis B: Persistierende HBV-Infektion, die mit einer histologisch und/oder biochemisch nachweisbaren Leberzellschädigung einhergeht.
2. Hochvirämischer HBsAg-Trägerstatus: Hochreplikative ($> 10^4$ Kopien/ml, $> 2 \times 10^3$ IU/ml) chronische HBV-Infektion mit hochpositivem HBeAg und ohne Zeichen einer Leberzellschädigung. Diese Verlaufsform findet sich meist nach einer vertikalen Übertragung oder bei einer Infektion im Kleinkindalter sowie bei Immundefizienz.
3. Niedrigvirämischer HBsAg-Trägerstatus: Niedrigreplikative ($< 10^4$ Kopien/ml, $< 2 \times 10^3$ IU/ml), HBeAg-negative persistierende HBV-Infektion ohne Zeichen einer Leberzellschädigung. Bei dieser kann es, vor allem unter Immunsuppression, zu einem Anstieg der Virämie und zur Reaktivierung der entzündlichen Aktivität kommen.

Für die diagnostische Abklärung der verschiedenen Verlaufsformen einer persistierenden HBV-Infektion und für die Überwachung der antiviralen Therapie ist eine differenzierte virologische Labordiagnostik notwendig. Für diese sind die Bestimmung der Viruslast und zunehmend auch die Quantifizierung des HBsAg und die Genotypisierung von Bedeutung.

■ Stellenwert der quantitativen Bestimmung der HBV-DNA (= Viruslast)

Die Möglichkeit der quantitativen Bestimmung viraler HBV-DNA war ein Meilenstein für die HBV-Diagnostik. Ergebnisse klinischer Studien zeigten, dass die Menge der im Blut vorliegenden HBV-DNA einen direkten Marker für die virale Replikation darstellt und die Menge der infektiösen Viruspartikel widerspiegelt. Neben der Beurteilung der Infektiosität erlaubt die Bestimmung der Viruslast auch eine Beurteilung des Infektionsverlaufs und ermöglicht damit eine Hilfestellung für das weitere therapeutische Vorgehen. Die aktuelle Einteilung der unterschiedlichen klinischen Verlaufsformen der persistie-

renden HBV-Infektion nach dem Ausmaß der Virämie (siehe oben) unterstreicht den Stellenwert der quantitativen Bestimmung der HBV-DNA. Weiters ist die DNA-Quantifizierung derzeit die Standardmethode für die Überwachung der antiviralen Therapie [25]. So ermöglicht ein rascher Abfall der HBV-Viruslast zu definierten Zeitpunkten nach Therapiebeginn die frühzeitige Aussage über das Ansprechen auf die Therapie und ihren anhaltenden Erfolg [11]. Sollte es im Rahmen der Therapie zur Ausbildung von Resistenzmutationen kommen, so können diese durch einen neuerlichen Anstieg der Viruslast sehr frühzeitig erfasst und anschließend mittels Sequenzanalyse genau definiert werden [14, 26]. Dementsprechend kann eine Umstellung der Therapie vorgenommen werden.

Auch aus technischer Sicht machte die Entwicklung der Testsysteme für die quantitative Bestimmung der HBV-DNA im Laufe der Zeit große Fortschritte. Während frühere Testmethoden ein relativ hohes Detektionslimit aufwiesen, können mit den aktuell gebräuchlichen ultrasensitiven Methoden sehr geringe Viruslasten verlässlich nachgewiesen werden. Erst durch diese Methoden war es möglich, Sonderfälle persistierender HBV-Infektionen, die mit einer extrem geringen Virusvermehrung einhergehen, wie z. B. die okkulte HBV-Infektion oder den „Anti-HBc-only“-Status, zu erfassen [27]. Darüber hinaus haben die ultrasensitiven Testsysteme vor allem die frühzeitige Erfassung von therapieresistenten Virusmutanten und die Beurteilung eines nachhaltigen Therapieerfolgs verbessert [11]. Real-time-PCR-basierte Methoden stellen in den westlichen Ländern die inzwischen am häufigsten dafür verwendeten Nachweissysteme dar. Diese werden so entworfen, dass möglichst hochkonservierte Abschnitte des HBV-Genoms amplifiziert werden, wodurch eine verlässliche Quantifizierung aller HBV-Genotypen möglich ist. Auch der Einfluss von auftretenden Mutationen in der HBV-DNA auf die quantitative Bestimmung kann dadurch weitestgehend ausgeschlossen werden [28]. Während die fortschreitende Automatisierung dieser Systeme eine hohe Standardisierung gewährleistet, wurde die laborübergreifende Vergleichbarkeit der quantitativen Werte durch die Entwicklung eines internationalen quantitativen WHO-HBV-DNA-Standards sichergestellt.

■ Stellenwert der quantitativen Bestimmung des HBsAg

Seit der Entdeckung des „Australia Antigen“ und der Identifizierung des HBV dient die qualitative Bestimmung des HBsAg als Serummarker für eine HBV-Infektion. Obwohl die quantitative Bestimmung des HBsAg bereits in den 1970er-Jahren technisch durchführbar war und schon 1977 erste Daten über ihre Aussagekraft im Rahmen einer akuten HBV-Infektion vorlagen [29], fristete dieser Serummarker jedoch, nicht zuletzt bedingt durch die zunehmende Verfügbarkeit PCR-basierter Methoden für die quantitative Bestimmung der viralen DNA, in den vergangenen Jahrzehnten ein Nischendasein. Die fortschreitenden Entwicklungen bei der Therapie der persistierenden HBV-Infektion und die Ergebnisse rezenter Studien haben dazu geführt, dass die klinische Brauchbarkeit der quantitativen Bestimmung des HBsAg wieder ins Licht des Interesses rückte und neu evaluiert wird [2]. Im Vergleich zu den PCR-basierten Methoden für die Quantifizierung der DNA ist die

quantitative Bestimmung des HBsAg kostengünstig und relativ einfach durchführbar. Hinzu kommt, dass durch die Verfügbarkeit eines quantitativen WHO-HBsAg-Standards die Ergebnisse verschiedener Laboratorien und Testplattformen vergleichbar sind – eine wichtige Voraussetzung für den Einsatz dieser Methode in klinischen Studien. Ergebnisse dieser Studien zeigten sehr bald, dass die Bestimmung der HBsAg-Konzentration im peripheren Blut Rückschlüsse auf die Größe und die Expressionsaktivität des intrahepatischen cccDNA-Pools erlaubt [30]. Untersuchungen, in denen die cccDNA aus Leberbiopsieproben quantitativ bestimmt wurde, zeigten, dass die Menge der intrahepatischen cccDNA direkt den Anteil der infizierten Leberzellen widerspiegelt und ihre Konzentration in Abhängigkeit von der Immunantwort des Infizierten variiert [31]. Geringe Konzentrationen viraler cccDNA sprechen für eine effiziente Kontrolle der persistierenden HBV-Infektion durch das Immunsystem des Infizierten und somit langfristig für ein besseres Outcome des Patienten. Die im Zellkern befindliche cccDNA schafft die Voraussetzung für die Etablierung einer persistierenden HBV-Infektion, da von ihr ausgehend die virale Replikation sowie – von dieser unabhängig – die Transkription und Translation des HBsAg initiiert wird. Untersuchungen zeigen eine hohe Übereinstimmung zwischen dem Ausmaß der HBsAg-Expression und der intrahepatischen cccDNA-Konzentration, wodurch die quantitative Bestimmung des HBsAg im peripheren Blut einen wertvollen Surrogatmarker für die intrahepatische cccDNA darstellt, die auf diese Weise ohne invasive Maßnahmen relativ einfach bestimmt werden kann [30, 32]. Mittlerweile liegen Ergebnisse von zahlreichen, meist retrospektiven Studien über die klinische Brauchbarkeit der HBsAg-Quantifizierung und über den Zusammenhang zwischen der Konzentration des HBsAg und jener der viralen DNA vor [33–42]. Bedingt durch unterschiedliche Patientenkollektive erbrachten diese Studien zum Teil widersprüchliche Ergebnisse. Eine positive Korrelation zwischen HBsAg und DNA-Konzentration konnte in mehreren Studien für die frühe Phase der HBV-Infektion, jedoch nicht zweifelsfrei für die persistierende Infektion gezeigt werden [36, 38, 40].

Klinische Studien über den Stellenwert der quantitativen Bestimmung des HBsAg bei Patienten unter antiviraler Therapie erbrachten sehr wichtige Erkenntnisse für die Einschätzung des Therapieerfolges und für eine mögliche Optimierung der Therapiedauer.

1. Die Bestimmung der HBsAg-Konzentration vor Therapiebeginn ermöglicht eine bessere Vorhersage über eine HBsAg-Serokonversion – und damit über einen anhaltenden Therapieerfolg – als die Bestimmung der HBV-DNA-Konzentration [35, 43].
2. Ein früher Abfall der HBsAg-Konzentration unter Therapie besitzt einen hohen prädiktiven Wert für einen langfristigen Therapieerfolg [41].
3. Eine geringe HBsAg-Konzentration zu Therapieende geht mit einem langfristig besseren Therapieerfolg einher [35].

So vielversprechend diese Ergebnisse auch im Hinblick auf die Therapie der persistierenden HBV-Infektion sind, so müssen doch auch die Schwächen der quantitativen Bestimmung des HBsAg in Erwägung gezogen werden. Der zunehmende Einsatz von Nukleosid- und Nukleotidanaloga für die Therapie der persistierenden HBV-Infektion, die die virale Polymerase

und somit die Virusreplikation hemmen, bedingt, dass sich durch den Selektionsdruck Mutationen in diesem Genomabschnitt bilden können, die eine unmittelbare Auswirkung auf die antigen Struktur des HBsAg haben. Die Konsequenz daraus kann eine reduzierte oder fehlende Nachweisbarkeit des HBsAg durch die vorhandenen Testsysteme sein, die natürlich mit einer Unterquantifizierung oder einer nicht durchführbaren Bestimmung der HBsAg-Konzentration einhergeht [4, 8].

Zusammenfassend ist zu sagen, dass das quantitative HBsAg aktuell als ein sehr vielversprechender Parameter gilt, der relativ früh eine verlässliche Aussage über einen Therapieerfolg zu ermöglichen scheint. Der genaue Stellenwert dieses neuen alten Parameters für die diagnostische Abklärung und das therapeutische Vorgehen bei den verschiedenen Verlaufsformen der persistierenden HBV-Infektion ist aber noch nicht vollkommen geklärt. Es bedarf somit noch weiterer, sorgfältig durchgeführter klinischer Studien, damit die quantitative Bestimmung des HBsAg auch in die Guidelines der Fachgesellschaften aufgenommen werden kann.

■ Klinische Relevanz der Bestimmung von HBV-Genotypen

Derzeit werden aufgrund von Unterschieden in der Sequenz des viralen Genoms 10 Genotypen (A–J) sowie weitere Subgenotypen (z. B. A1–A5) des Hepatitis-B-Virus unterschieden, denen auch eine unterschiedliche ethnische und geographische Verbreitung entspricht [5]. So findet man etwa den Genotyp A mit den Subtypen A1–A3 vorwiegend in Afrika und Nord-europa, während B und C vorwiegend in Asien zirkulieren [44–46].

Die Differenzierung von Genotypen erfolgt mittels Sequenzanalyse. Während für die Bestimmung altbekannter HBV-Genotypen bereits alternative und weniger aufwendige Nachweismethoden (z. B. DNA-Hybridisierungstechniken) zur Verfügung stehen, erfordert die Identifizierung neuerer Genotypen nach wie vor die Anwendung von Sequenzierungstechniken. Bisher wird die Durchführung einer Genotypisierung für die Prognose des Krankheitsverlaufs und für die Therapieentscheidung sehr kontroversiell diskutiert und nicht einheitlich von allen Fachgesellschaften empfohlen [5, 11]. Es gilt jedoch als gesichert, dass der Genotyp des HBV Einfluss auf den natürlichen Verlauf der Infektion hat. So weisen akute HBV-Infektionen mit den Genotypen A und D eine höhere Chronifizierungsrate auf als etwa akute Infektionen mit den Genotypen B oder C [47], wobei jedoch ethnische Faktoren keine unerhebliche Rolle spielen dürften. Weiters konnte gezeigt werden, dass Infektionen mit Genotyp C signifikant häufiger mit Mutationen und einer höheren Viruslast einhergehen [48]. Genotypenspezifische Unterschiede im Ansprechen auf eine Therapie wurden bei Patienten unter IFN- α -Therapie festgestellt [49]. Es zeigte sich, dass Patienten, die mit dem Genotyp A oder B infiziert waren, besser auf die Therapie ansprachen und somit eine bessere Chance auf einen prolongierten Therapieerfolg hatten, als jene, die mit Genotyp C oder D infiziert waren [46]. Das unterschiedlich gute Ansprechen der verschiedenen Genotypen auf die IFN-Therapie fand auch in der unterschiedlichen Kinetik des HBsAg-Abfalls unter Therapie seine Entsprechung (stärkster

Abfall bei Genotyp A, intermediär bei Genotyp B und D, geringster Abfall bei Genotyp C und E) [50, 51]. Im Gegensatz dazu konnte jedoch bis jetzt kein genotypenspezifischer Unterschied beim Ansprechen auf die Therapie mit Nucleos(t)idanaloga festgestellt werden [52]. Aufgrund der bisher vorliegenden Studienergebnisse erscheint daher die Bestimmung des Genotyps vor einer geplanten Therapie mit IFN- α sinnvoll, da das Wissen über den Genotyp dann in die Entscheidung für das therapeutische Vorgehen einbezogen werden kann. Auf jeden Fall werden noch weitere Studien benötigt, die auch den Einfluss von weniger verbreiteten Genotypen des HBV auf den natürlichen Infektionsverlauf und das Ansprechen auf die Therapie kritisch untersuchen.

■ Relevanz für die Praxis und Fragen

- Die Infektiosität des Hepatitis-B-Virus ist um das 50–100-Fache höher als die des HI-Virus.
- Die quantitative Bestimmung der HBV-DNA mittels PCR (= Viruslastbestimmung) erlaubt die Beurteilung der Infektiosität des Patienten und ist weiters die Standardmethode zur Überwachung einer antiviralen Therapie.
- Resistenzmutationen können sich bei therapierten Patienten in einem erneuten Anstieg der HBV-Viruslast äußern. Weiterführende Untersuchungen zur Erfassung von Resistenzmutationen (z. B. Sequenzierung) sollten durchgeführt werden.
- Eine scheinbar durchgemachte Hepatitis-B-Virusinfektion kann unter einer immunsuppressiven Therapie reaktivieren. Bereits vor der Einleitung einer immunsuppressiven Therapie sollte daher die Hepatitis-B-Serologie bekannt sein und bei Bedarf unter Therapie regelmäßig kontrolliert werden.

1. Was dient dem Hepatitis-B-Virus als Matrize für die Transkription viraler mRNAs?

- a) Das virale Nukleokapsid
- b) Die HBV-DNA
- c) Die cccDNA („covalently closed circular DNA“)
- d) Das SHBs- („small HBs“-) Protein

2. Was wird beim Nachweis des HBsAg erfasst?

- a) Die HBV-Polymerase
- b) Die HBV-DNA
- c) Das virale Nukleokapsid
- d) Dane-Partikel sowie subvirale Partikel

3. Welche der folgenden Aussagen ist nicht richtig?

- a) Das Hepatitis-B-Virus kann vertikal übertragen werden.
- b) Die subviralen Partikelformen sind nicht infektiös.
- c) HBe-Proteine dienen zur Bildung des Nukleokapsids.
- d) Die cccDNA kann im Zellkern der infizierten Hepatozyten akkumulieren.

Lösung

■ Interessenkonflikt

Die Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur:

1. Winkle S. Geißeln der Menschheit: Die Kulturgeschichte der Seuchen. 3. Aufl. Verlag Artemis & Winkler, Mannheim, 2005.
2. Hadziyannis SJ. Milestones and perspectives in viral hepatitis B. *Liver Int* 2011; 31 (Suppl 1): 129–34.
3. Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. *J Viral Hepat* 2004; 11: 97–107.
4. Lee JM, Ahn SH. Quantification of HBsAg: Basic virology for clinical practice. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 283–9.
5. Lin CL, Kao JH. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 (Suppl 1): 123–30.
6. Scheiblaue H, El-Nageh M, Diaz S, et al. Performance evaluation of 70 hepatitis B virus (HBV) surface antigen (HBsAg) assays from around the world by a geographically diverse panel with an array of HBV genotypes and HBsAg subtypes. *Vox Sang* 2010; 98: 403–14.
7. Gerlich WH. Diagnostic problems caused by HBsAg mutants – a consensus report of an expert meeting. *Intervirology* 2004; 47: 310–3.
8. Beale MA, Ijaz S, Tedder RS. The genetic backbone modulates the phenotype of hepatitis B surface antigen mutants. *J Gen Virol* 2009; 91: 68–73.
9. Scheiblaue H, Soboll H, Nick S. Evaluation of 17 CE-marked HBsAg assays with respect to clinical sensitivity, analytical sensitivity, and hepatitis B virus mutant detection. *J Med Virol* 2006; 78 (Suppl 1): S66–S70.
10. Wu C, Zhang X, Tian Y, et al. Biological significance of amino acid substitutions in hepatitis B surface antigen (HBsAg) for glycosylation, secretion, antigenicity and immunogenicity of HBsAg and hepatitis B virus replication. *J Gen Virol* 2009; 91: 483–92.
11. Vivekanandan P, Singh OV. Molecular methods in the diagnosis and management of chronic hepatitis B. *Expert Rev Mol Diagn* 2010; 10: 921–35.
12. Nguyen T, Desmond P, Locarnini S. The role of quantitative hepatitis B serology in the natural history and management of chronic hepatitis B. *Hepatol Int* 2009; 3 (Suppl 1): S5–S15.
13. Levrero M, Pollicino T, Petersen J, et al. Control of cccDNA function in hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2009; 51: 581–92.
14. Locarnini S. Molecular virology of hepatitis B virus. *Semin Liver Dis* 2004; 24 (Suppl 1): 3–10.
15. Bourne EJ, Dienstag JL, Lopez VA, et al. Quantitative analysis of HBV cccDNA from clinical specimens: correlation with clinical and virological response during antiviral therapy. *J Viral Hepat* 2007; 14: 55–63.
16. Newbold JE, Xin H, Tencza M, et al. The covalently closed duplex form of the hepadnavirus genome exists in situ as a heterogeneous population of viral minichromosomes. *J Virol* 1995; 69: 3350–7.
17. Wong DK, Yuen MF, Yuan H, et al. Quantitation of covalently closed circular hepatitis B virus DNA in chronic hepatitis B patients. *Hepatology* 2004; 40: 727–37.
18. Sung JJ, Wong ML, Bowden S, et al. Intrahepatic hepatitis B virus covalently closed circular DNA can be a predictor of sustained response to therapy. *Gastroenterology* 2005; 128: 1890–7.
19. WHO. Hepatitis B Fact sheet N°204 Revised August 2008. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/> [gesehen 06.05.2011].
20. Dhedin N, Douvin C, Kuentz M, et al. Reverse seroconversion of hepatitis B after allogeneic bone marrow transplantation: a retrospective study of 37 patients with pretransplant anti-HBs and anti-HBc. *Transplantation* 1998; 66: 616–9.
21. Schiff ER. Prevention of mortality from hepatitis B and hepatitis C. *Lancet* 2006; 368: 896–7.
22. McMahon BJ. Epidemiology and natural history of hepatitis B. *Semin Liver Dis* 2005; 25 (Suppl 1): 3–8.
23. Shepard CW, Simard EP, Finelli L, et al. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. *Epidemiol Rev* 2006; 28: 112–25.
24. Peck-Radosavljevic M, Deutsch J, Ferenci P, et al. [4. Austrian consensus-statement for diagnosis and therapy of hepatitis B 2009]. *Wien Klin Wochenschr* 2010; 122: 280–302.
25. Liaw YF, Leung N, Kao JH, et al. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2008 update. *Hepatol Int* 2008; 2: 263–83.
26. Locarnini S. Molecular virology and the development of resistant mutants: implications for therapy. *Semin Liver Dis* 2005; 25 (Suppl 1): 9–19.
27. Said ZN. An overview of occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1927–38.
28. Chevaliez S, Bouvier-Alias M, Laperche S, et al. Performance of the Cobas Ampli-Prep/Cobas TaqMan real-time PCR assay for hepatitis B virus DNA quantification. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 1716–23.
29. Gerlich W, Stamm B, Thomssen R. [Prognostic significance of quantitative HBsAg determination in acute hepatitis B. Partial report of a cooperative clinical study of the DFG-focus of "virus hepatitis"]. *Verh Dtsch Ges Inn Med* 1977; 83: 554–7.
30. Wursthorn K, Lutgehetmann M, Dandri M, et al. Peginterferon alpha-2b plus adefovir induce strong cccDNA decline and HBsAg reduction in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2006; 44: 675–84.
31. Werle-Lapostolle B, Bowden S, Locarnini S, et al. Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy. *Gastroenterology* 2004; 126: 1750–8.
32. Chan HL, Wong VW, Tse AM, et al. Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect hepatitis B virus in the liver and predict treatment response. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 1462–8.
33. Thompson AJ, Nguyen T, Iser D, et al. Serum hepatitis B surface antigen and hepatitis B e antigen titers: disease phase influences correlation with viral load and intrahepatic hepatitis B virus markers. *Hepatology* 2010; 51: 1933–44.
34. Thompson A, Locarnini S, Visvanathan K. The natural history and the staging of chronic hepatitis B: time for reevaluation of the virus-host relationship based on molecular virology and immunopathogenesis considerations? *Gastroenterology* 2007; 133: 1031–5.

35. Brunetto MR, Moriconi F, Bonino F, et al. Hepatitis B virus surface antigen levels: a guide to sustained response to peginterferon alfa-2a in HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 2009; 49: 1141–50.
36. Brunetto MR, Oliveri F, Colombatto P, et al. Hepatitis B surface antigen serum levels help to distinguish active from inactive hepatitis B virus genotype D carriers. *Gastroenterology* 2010; 139: 483–90.
37. Gish RG, Chang TT, Lai CL, et al. Loss of HBsAg antigen during treatment with entecavir or lamivudine in nucleoside-naïve HBeAg-positive patients with chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2009; 17: 16–22.
38. Jaroszewicz J, Calle Serrano B, Wursthorn K, et al. Hepatitis B surface antigen (HBsAg) levels in the natural history of hepatitis B virus (HBV)-infection: a European perspective. *J Hepatol* 2010; 52: 514–22.
39. Nguyen T, Thompson AJ, Bowden S, et al. Hepatitis B surface antigen levels during the natural history of chronic hepatitis B: a perspective on Asia. *J Hepatol* 2010; 52: 508–13.
40. Lin LY, Wong VW, Zhou HJ, et al. Relationship between serum hepatitis B virus DNA and surface antigen with covalently closed circular DNA in HBeAg-negative patients. *J Med Virol* 2010; 82: 1494–500.
41. Moucari R, Mackiewicz V, Lada O, et al. Early serum HBsAg drop: a strong predictor of sustained virological response to pegylated interferon alfa-2a in HBeAg-negative patients. *Hepatology* 2009; 49: 1151–7.
42. Rijckborst V, Hansen BE, Cakaloglu Y, et al. Early on-treatment prediction of response to peginterferon alfa-2a for HBeAg-negative chronic hepatitis B using HBsAg and HBV DNA levels. *Hepatology* 2010; 52: 454–61.
43. Lee JM, Ahn SH, Kim HS, et al. Quantitative hepatitis B surface antigen and hepatitis B e antigen titers in prediction of treatment response to entecavir. *Hepatology* 2011; 53: 1486–93.
44. Miyakawa Y, Mizokami M. Classifying hepatitis B virus genotypes. *Intervirology* 2003; 46: 329–38.
45. Liu CJ, Kao JH, Chen DS. Therapeutic implications of hepatitis B virus genotypes. *Liver Int* 2005; 25: 1097–107.
46. Kao JH. Hepatitis B viral genotypes: clinical relevance and molecular characteristics. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 643–50.
47. Suzuki Y, Kobayashi M, Ikeda K, et al. Persistence of acute infection with hepatitis B virus genotype A and treatment in Japan. *J Med Virol* 2005; 76: 33–9.
48. McMahon BJ. The influence of hepatitis B virus genotype and subgenotype on the natural history of chronic hepatitis B. *Hepatology* 2009; 3: 334–42.
49. Chen CH, Lee CM, Hung CH, et al. Hepatitis B virus genotype B results in better immediate, late and sustained responses to peginterferon-alfa in hepatitis-B-e-antigen-positive patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 461–8.
50. Janssen HL, van Zonneveld M, Senturk H, et al. Pegylated interferon alfa-2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B: a randomised trial. *Lancet* 2005; 365: 123–9.
51. Marcellin P, Bonino F, Lau GK, et al. Sustained response of hepatitis B e antigen-negative patients 3 years after treatment with peginterferon alpha-2a. *Gastroenterology* 2009; 136: 2169–2179.e1–e4.
52. Wiegand J, Hasenclever D, Tillmann HL. Should treatment of hepatitis B depend on hepatitis B virus genotypes? A hypothesis generated from an explorative analysis of published evidence. *Antivir Ther* 2008; 13: 211–20.

Ao. Univ.-Prof. Dr. Theresia Popow-Kraupp

Geboren 1953. 1977 Promotion zum Doktor der gesamten Heilkunde an der Universität Wien. 1989 Lehrbefugnis als Universitätsdozentin und Fachärztin für Hygiene und Mikrobiologie sowie Virologie. 1994 Ao. Univ.-Prof. 2000 Leitung des nationalen Referenzlabors der WHO für Influenza; 2004 Leitung des nationalen Referenzlabors für Respiratory Syncytial Virus. 2002–2007 Qualitätsbeauftragte des Klinischen Instituts für Virologie der Medizinischen Universität Wien. Seit 2007 Leitung der Klinischen Abteilung für Virologie des Klinischen Instituts für Labormedizin der Medizinischen Universität Wien.



Richtige Lösung von S. 23: 1c; 2d; 3c

← Zurück

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere zeitschriftenübergreifende Datenbank

[Bilddatenbank](#)

[Artikeldatenbank](#)

[Fallberichte](#)

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

[Bestellung e-Journal-Abo](#)

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)