

Prof. Dr. med. Josef Eberle

Fallstricke der HIV- und Hepatitis-Diagnostik

Die Zuverlässigkeit der virologischen Diagnostik hat ein hohes Maß erreicht. Trotzdem gibt es Konstellationen, in denen nur der intensive Informationsaustausch mit dem Laborarzt zum Ziel führt. Insbesondere für die Interpretation ungewöhnlicher Befunde sind tiefe Kenntnisse der Arbeitsweise der verschiedenen Testverfahren und der speziellen klinischen Umstände notwendig.

Hepatitis-Diagnostik

Derzeit kann man fünf Formen der Virushepatitis unterscheiden. Sie werden mit den Buchstaben A bis E bezeichnet. Daneben kommen als virale Ursachen für Transaminasenerhöhungen aber auch viele andere Virusinfektionen in Betracht. Diese sogenannten Begleithepatitiden können im Rahmen von Herpesvirusinfektion (hier am häufigsten bei EBV- oder CMV-Primärinfektionen) auftreten und zeichnen sich in der Regel durch eine nur mäßiggradige Transaminasenerhöhung aus. Im Gegensatz zur Infektion mit Hepatitis-Viren stehen hier andere Krankheitszeichen im Vordergrund, z.B. ein Exanthem, respiratorische oder gastrointestinale Symptome. Ein Ikterus wird nur selten beobachtet.

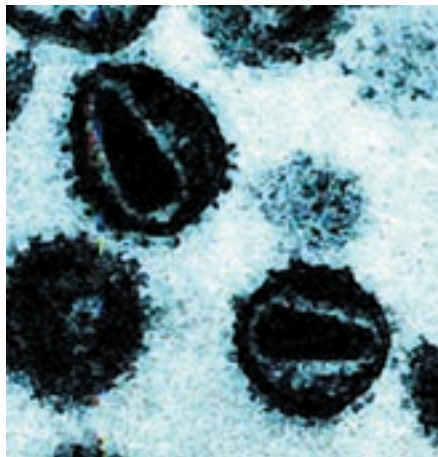
Bei den Hepatitisviren dagegen dominiert die Lebersymptomatik. Die Infektion kann allerdings auch symptomlos verlaufen (insbesondere bei HBV und HCV) und sich erst im chronischen Stadium oder in anderen Organsystemen manifestieren.

Verdacht auf akute Virushepatitis

Zur Abklärung erhöhter Transaminasen empfiehlt sich eine kostenbewusste, rationale Diagnostik gemäß der klinischen Fragestellung. Bei Verdacht auf eine akute Hepatitis-A-Infektion kann der Nachweis beim Auftreten der Symptomatik mit einem IgM-spezifischen Antikörpertest geführt werden (Anti-HAV-IgM). Fällt dieser Test negativ aus, ist eine akute Hepatitis-A-Infektion als Ursache für die Transaminasenerhöhung sehr unwahrscheinlich. Der Hepatitis-A-

Impfschutz wird dagegen in aller Regel mit einem Test nachgewiesen, der nicht zwischen IgG und IgM unterscheidet.

Für die Diagnose einer akuten Hepatitis-B-Infektion eignet sich die kombinierte Testung von HBs-Antigen und Anti-HBc-IgM. Dabei wurde in Einzelfällen bei HIV-Infizierten mit schlechtem Immunstatus eine massive Virusreplikation (HBs-Antigen, HBe-Antigen und HBV-DNA) über mehrere Monate beobachtet,



Elektronenmikroskopisches Bild: HI-Viren

ohne dass eine Entzündungsreaktion in der Leber vorlag. Diese Patienten sind hoch infektiös. Im Rahmen einer erfolgreichen alleinigen HIV-Therapie kann es dann durch die Verbesserung des Immunstatus zu einer fulminanten Entzündungsreaktion (Immunrekonstitutionshepatitis) kommen.

Eine HDV-Diagnostik sollte nur bei bekannter chronischer HBV-Infektion mit ikterischem Flare oder bei diagnostizierter akuter HBV-Infektion angeschlossen werden. Sie erfolgt kostenbewusst mit dem Nachweis von Anti-HDV-IgM.

Der Nachweis einer akuten HCV-Infektion ist selten, da diese Infektion meistens asymptomatisch verläuft und daher nicht im akuten Stadium entdeckt wird. Meist ist der Nachweis von Anti-HCV mit nachfolgendem Bestätigungstest ausreichend. Dagegen ist bei entsprechendem Expositionsverdacht (z.B. Drogenkonsum, Nadelstichverletzung an HCV-Infiziertem) und klinischer Symptomatik eine HCV-PCR gerechtfertigt.

Reaktivierung oder Neuinfektion

Erneute Transaminasen-Erhöhungen oder ein ikterischer Flare bei Patienten mit chronischer Hepatitis bzw. früher exponierten Patienten können verschiedene Ursachen haben. Neben einer Superinfektion durch andere Hepatitisviren (HAV oder HBV bei bekannter HCV-Infektion; HDV bei chronischer HBV-Infektion) sollte eine Reaktivierung (HCV oder HBV) ausgeschlossen werden. Offensichtlich bedeutet die Entwicklung von Anti-HBs des neutralisierenden Antikörpers im Lauf einer HBV-Infektion nur die Kontrolle des Körpers über das Virus, aber nicht seine Elimination aus dem Körper. Bei besonderen Formen der Immunsuppression (Knochenmarkstransplantation, HIV-Infektion oder Behandlung mit Rituximab) muss mit Reaktivierungen gerechnet werden. Zum Nachweis einer Reaktivierung eignen sich, neben den bereits oben erwähnten Antikörpertests, quantitative Nukleinsäurenachweisverfahren (bDNA, PCR) für HCV- und HDV-RNA sowie für HBV-DNA. Bei der Hepatitis-B könnten auch Änderungen von HBe-Antigen, Anti-HBe, HBs-Antigen und Anti-HBc-IgM für die Interpretation wichtig sein. Bei immungeschwächten HIV-Infizierten unter initialer antiretroviraler Therapie sollte man auch an die Möglichkeit einer stärkeren zytotoxischen T-Zellantwort im Sinne einer Immunrekonstitution denken.

Spezielle Probleme bei der Hepatitis-Diagnostik

Was nun, wenn bei der Frage nach einer Hepatitis-B-Infektion allein Anti-HBc (Antikörper gegen das Core-Antigen des Hepatitis-B-Virus) positiv sind? Dieser nicht ganz seltene Befund kann unterschiedliche Ursachen haben. Zum

einen kann es sich um einen Hinweis auf eine früher abgelaufene HBV-Infektion handeln, bei der Anti-HBs unter die Nachweisgrenze gesunken ist. Eine andere Möglichkeit ist eine chronische HBV-Infektion mit niedriger Virusreplikation und ohne nachweisbares HBs-Antigen. Eine dritte Möglichkeit besteht in einer unspezifischen Reaktion gegen das im Test benutzte Antigen, insbesondere wenn das Testsignal niedrig ist und kein Anti-HBe nachgewiesen werden kann.

Um zu einer Diagnose zu kommen, kann man eine einmalige Hepatitis-B-Impfung durchführen und nach vier Wochen auf Anti-HBs testen. Falls eine alte HBV-Infektion vorliegt, sollte ein hoher Anti-HBs-Titer messbar werden, als Ausdruck der anamnestic Immunreaktion. Die zweite Möglichkeit kann man durch HBV-DNA im Blut mit einer sensitiven HBV-PCR nachweisen.

Hepatitis-B-Mutanten

Noch seltener als isolierte positive Anti-HBc ist ein Fehlen von HBs-Ag (Hepatitis-B-Surface-Antigen) bei massiver Virusreplikation, nachgewiesen durch hohe Werte für HBV-DNA mittels Nukleinsäuretests. Dieser Befund kann auf Mutationen der antigenen Determinante des HBs-Antigens zurückgehen. Da verschiedene Hersteller unterschiedliche antigene Determinanten in den Testen benutzen, können die Ergebnisse davon abhängen, welcher Test benutzt wurde. Eine Sequenzierung der antigenen Determinante beim Patienten ist geeignet, sogenannte Immun-Escape-Varianten zu entdecken. Solche werden gelegentlich bei peripartal von der Mutter infizierten Kindern nach Impfung oder bei Infektionen unter Immunsuppression gefunden, also in Situationen, bei denen eine große Virusmenge und ein nicht voll funktionstüchtiges Immunsystem mit partieller Immunität zusammentreffen.

Eine weitere Besonderheit bei der Hepatitis B sind prä-core- oder HBe-minus-Mutanten. Hierbei ist die normalerweise gültige Kopplung zwischen Anti-HBe-positivem (und damit HBe-Antigen-negativem) Status und günstiger Prognose aufgehoben. Aufgrund einer genetischen Änderung produzieren diese Viren kein HBe-Antigen mehr und HBV kann in der Leberzelle replizieren, ohne dass die

Antikörper-vermittelte Immunität durch Anti-HBe die weitere Ausbreitung in der Leber begrenzt. Diese Patienten erkennt man an der hohen HBV-DNA-Konzentration ($>10^6$ Genomäquivalenten pro Milliliter) trotz Antikörpern gegen HBe-Antigen. Auch diese Mutanten kann man mittels Nukleinsäuresequenzierung nachweisen.

Weitere Einsatzgebiete der Nukleinsäuresequenzierung sind das Therapieversagen unter Nukleosid- bzw. Nukleotid-Analoga sowie bei HBV/HIV-Koinfizierten vor HBV-Therapie, wenn die HIV-Infektion früher mit Lamivudin behandelt wurde.

Schwierige HCV-Diagnostik

Die Probleme bei der HCV-Diagnostik sind ganz anderer Natur. So kann es schwierig sein, vernünftige Aussagen zum Infektionsstatus zu treffen, wenn sich nach reaktivem HCV-Suchtest im Bestätigungstest nur eine einzelne Bande zeigt. Isolierte Banden können immer auch unspezifisch sein oder sie deuten, wenn sie gegen das HCV-Core-Protein gerichtet sind, z.B. auf eine abklingende Immunreaktion nach Ausheilen einer früher chronischen Infektion. Liegt eine einzelne Antikörper-Reaktion (Bande) gegen das NS3-Protein vor, so kann es sich zudem auch um die einzige Spur einer akuten HCV-Infektion mit spontaner Ausheilung handeln. Hier ist zur Abgrenzung gegen eine floride Infektion mit Replikation ein HCV-RNA-Nachweis empfehlenswert.

HIV-Diagnostik Infektionsnachweis

Für den Nachweis einer HIV-Infektion stehen qualitativ hochwertige Verfahren von multiplen Herstellern zur Verfügung. Die heute gängigen Suchtests der dritten Generation weisen Antikörper gegen alle derzeit bekannten HIV-Typen nach (HIV-1 der Gruppen M und O sowie HIV-2) nach. Bei Testen der vierten Generation wird zusätzlich freies HIV-p24-Antigen nachgewiesen, was in der frühen Phase der Infektion einige Tage vor der Antikörperbildung auftreten kann. Diese Teste verkürzen zwar das diagnostische Fenster, eine HIV-Infektion kann jedoch weiterhin erst dann mit hinreichender

Sicherheit ausgeschlossen werden, wenn das Testergebnis 12 Wochen nach Exposition negativ ist.

Suchtest positiv, Bestätigung fraglich

Aufgrund der hohen Empfindlichkeit dieser Tests können sich Probleme bei der Bestätigung eines reaktiven Ergebnisses geben. Die Bestätigungsverfahren (Westernblot oder Line-Immuno-Assay) sind nämlich beim Antikörpernachweis weniger empfindlich. HIV-p24-Antigen wird grundsätzlich nicht erfasst. Ein reaktiver Suchtest soll deshalb, wenn die Bestätigungsreaktion negativ ist, in der Regel mittels Nukleinsäurenachweisverfahren (PCR, bDNA etc.) weiter abgeklärt werden. Alternativ kann man auch eine zweite, spätere Serumprobe im Antikörpertest analysieren, verliert aber dann wieder die Zeit, die man durch die Erhöhung der Sensitivität der Suchteste gewonnen hat.

Durch intelligente Kombination verschiedener Tests der vierten Generation mit unterschiedlicher Empfindlichkeit für HIV-p24-Antigen lässt sich gelegentlich eine Klärung ohne Einsatz der PCR kostengünstig herbeiführen. Das heißt, man führt zuerst den Test durch, der eine geringere p-24-Antigenempfindlichkeit hat. Falls dieser niedrig-reaktiv ist, wird anschließend der Test mit der höheren p-24-Ag-Empfindlichkeit durchgeführt. Beim tatsächlich HIV-Infizierten sollte dieser zweite mindestens ebenso niedrig-reaktiv sein und es sollte zur weiteren Abklärung eine PCR veranlasst werden. Beim falsch-reaktiven Ergebnis wird der zweite Test möglicherweise negativ ausfallen und damit eine HIV-Infektion ausschließen.

Falsch-positiver Test?

Ein ganz anderes Problem kann hinsichtlich der Spezifität der Anti-HIV-Tests auftreten. Glücklicherweise sind diese Fälle sehr selten. Während die Suchteste mit einer Spezifität von 99,9% nur etwa einen von tausend HIV-negativen Blutspendern irrtümlich als reaktiv einstufen, kann die falsch-positive Rate bei nicht HIV-infizierten Kranken erheblich höher sein und bis zu 1% betragen. Normalerweise werden diese falschen Signale durch den Bestä- >

tigungstest korrigiert. In seltenen Fällen konnte aber gezeigt werden, dass auch die Spezifität der Bestätigungstests limitiert ist. Gerade beim Auftreten von schwachen Reaktionen oder von inkompletten Antikörpermustern ist daher Vorsicht bei der Interpretation der Bestätigungstests angebracht. Im Einzelfall sind weitere Tests unter Einsatz von Nukleinsäurenachweisverfahren aus Plasma und aus Lymphozyten aus mehreren konsekutiven Blutabnahmen nötig, bevor ein abschließendes Urteil gebildet werden kann.

Neugeborenen-Diagnostik

Schwieriger ist die Beantwortung bei Kindern von HIV-infizierten Müttern, weil alle reif geborenen Kinder bis weit in ihr zweites Lebensjahr hinein HIV-Antikörper in sich tragen. Der Antikörpernachweis ist also notwendigerweise positiv. Die Frage nach dem Infektionsstatus kann daher nur durch den Nukleinsäurenachweis beantwortet werden. Im Regelfall werden die Schwangeren aber in der Endphase antiretroviral behandelt und das Kind erhält für die ersten Lebenswochen eine medikamentöse Postexpositionsprophylaxe (PEP). Damit wäre auch im Fall einer HIV-Infektion die Plasmavirulast möglicherweise unter die Nachweisgrenze supprimiert. Deshalb findet der Virusnachweis nicht im Plasma, sondern in den kindlichen Lymphozyten statt (provirale cDNA). Der einzusetzende Test richtet sich selbstverständlich nach dem bei der Mutter vorliegenden Virus und sollte in Zweifelsfällen mit mütterlichen Lymphozyten ein positives Ergebnis liefern. Eine serologische Abschlusskontrolle auf HIV-Antikörper erfolgt beim Kind sicherheitshalber erst nach 18-24 Monaten.

Genotypische Resistenztestung ist Kassenleistung, wenn

- **Viruslast innerhalb von 4-6 Monaten nicht <50 c/ml**
- **erneuter Viruslastanstieg >3fach über dem Tiefstpunkt**
- **Viruslastabfall um <90% nach 8 Wochen Therapie**

Viruslast

Für die Bestimmung der Viruslast gibt es einige kommerzielle Verfahren (bDNA-Bayer, PCR-Roche, PCR-Abbott, NASBA-Biomerieux), die alle vergleichbare Ergebnisse liefern. Auch die Unterschiede beim Nachweis verschiedener Subtypen sind sehr gering geworden. Der Test der Firma Abbott kann im Gegensatz zu den Mitbewerbern auch HIV-1/O-Infektionen empfindlich nachweisen, doch hat dieser Vorzug kein Gewicht, da derartige Infektionen in Deutschland kaum vorkommen. HIV-2 wird von keinem der kommerziellen Systeme erfasst. Die Testergebnisse der Nukleinsäurenachweisverfahren unterliegen zudem – neben technischen Schwankungen – auch einer biologischen Variabilität, so dass nur Änderungen um Faktor 3 und größer signifikant über einer Zufallsschwankung liegen.

Resistenztest

Zur genotypischen Resistenztestung stehen heute Systeme verschiedener Firmen zur Verfügung (Abbott-ViroSeq™; Bayer-Truegene™; ViroLab-Virco Type HIV-1™; ViroLogic-GeneSeq HIV™). Daneben gibt es an einigen Universitätslaboren selbst entwickelte Testverfahren zur Sequenzierung des HIV-Proteasesgens und HIV-Reversen Transkriptase. Das Mutations-Muster wird dann mit Hilfe komplexer Algorithmen interpretiert. Teilweise sind diese Algorithmen Bestandteil des kommerziellen Tests. Daneben existieren aber auch frei zugängliche Interpretationsalgorithmen, z.B. ANRS (Agence nationale de recherches sur le sida), Rega Institut – Leuven, Geno2pheno, Genafor – Bonn, und die Stanford HIV Drug Resistance Databank, die es dem Behandler ermöglichen, Einblick in das Zustandekommen einer Bewertung zu nehmen. Resistenztestungen bei einer Therapie mit Fusionsinhibitoren werden von spezialisierten Laboren angeboten (u.a. Nationales Referenzzentrum für Retroviren – Uni Erlangen, Max von Pettenkofer-Institut, LMU-München). Eine Resistenztestung vor Therapiebeginn, wie sie in verschiedenen internationalen Empfehlungen gefordert wird, ist derzeit noch nicht erstattungsfähig.

Autor: Prof. Josef Eberle · Max von Pettenkofer-Institut, Pettenkoferstr. 9a, 80336 München, eberle@imu.de

Wie gut ist der Impfschutz

Die Impfung gegen Hepatitis-A-Viren führt bei nahezu allen Geimpften zu einem Aufbau einer belastbaren Immunität. Nach einer Auffrischimpfung, die idealerweise 6-12 Monate nach der Erstimpfung erfolgt, kann man von einem 10-jährigen Impfschutz ausgehen.

Nach einer kompletten, dreiteiligen Impfung gegen das Hepatitis B-Virus sind dagegen nur bei etwa 90-95% der Impfungen neutralisierende Antikörper gegen das HBV-Oberflächenprotein (HBs-Antigen), also Anti-HBs, nachweisbar. Die erzielbare Schutzrate sinkt mit dem Alter der Impfungen.

Ist vier bis sechs Wochen nach einer kompletten Impfserie Anti-HBs mit mehr als 100 IU/L nachweisbar, so ist ungeachtet eines Absinkens dieses Titers von einem Schutz vor einer klinisch bemerkbaren HBV-Infektion sowie vor einer Chronifizierung im Falle einer Infektion für mindestens 10 Jahre auszugehen. Zusätzlich sind diese Geimpften vor einer HDV-Infektion geschützt.

Bei HIV-infizierten Impfungen hängt die Entwicklung eines dauerhaften Impfschutzes von der Immunsituation zum Impfzeitpunkt ab. Die erzielbare Antikörperantwort (Titerhöhe und vermutlichlich Dauer der Schutzwirkung) ist insgesamt schwächer als bei nicht mit HIV infizierten. Unterhalb von 250 CD4+-Zellen/µl ist kaum noch ein Impferfolg zu erwarten. Einige Autoren schlagen vor, die Impfdosis zu verdoppeln, um einen ausreichenden Schutz zu erzielen. In jedem Fall sollte man jedoch den Impferfolg kontrollieren und gegebenenfalls möglichst unter besseren immunologischen Bedingungen nachimpfen.

Links zu Interpretationsalgorithmen

ANRS über

<http://pugliese.club.fr/index.htm>

Stanford HIV Drug Resistance Databank über

http://hivdb6.stanford.edu/asi/deployed/hiv_central.pl?program=hivdb

Geno2pheno – Genafor über

<http://195.37.60.133/cgi-bin/geno2pheno.pl/>

Rega Institut – Leuven über HIValg:

http://hivdb6.stanford.edu/asi/deployed/hiv_central.pl?program=hivalg