

Aktuelle Perspektiven der Hepatitis-C-Infektion (Epidemiologie, Diagnostik und Therapie)

Recent Developments in Hepatitis C Infection (Epidemiology, Diagnosis and Therapy)

Annemarie Berger

Zusammenfassung: Insgesamt geht man von ca. 200 Millionen chronischen Hepatitis-C-Virus (HCV) Trägern in der Welt aus. Der Hauptübertragungsweg der Hepatitis C ist seit der Einführung der Hepatitis C Testung im Blutspendewesen der i.v. Drogenabusus. Die Inzidenz von Neuinfektionen wird in Deutschland auf ca. 5.000/Jahr geschätzt, allerdings verlaufen die meisten akuten Infektionen unauffällig. Für das initiale Screening sind ELISA Tests zum Nachweis HCV spezifischer Antikörper am schnellsten und kostengünstigsten. Bei immungeschwächten Patienten können diese Tests allerdings aufgrund einer verzögerten oder fehlenden Immunantwort versagen. Falsch positive Resultate (insbesondere bei niedriger Reaktivität im Screening ELISA) können durch die Verwendung von rekombinanten Immunoblots verringert werden. In den letzten Jahren wurden Tests zum Nachweis des HCV Core Antigens entwickelt. Diese erwiesen sich als sehr sensitiv und vergleichbar mit der PCR für die Diagnose einer akuten HCV-Infektion. Zur Abklärung positiver oder unklarer serologischer Befunde oder zur Verlaufskontrolle der Viruslast chronisch infizierter Patienten sind Nukleinsäure Amplifikationstests (NAT) aufgrund ihrer höheren Sensitivität nach wie vor Mittel der Wahl. Die Entscheidung, welcher Patient behandelt werden sollte, ist von sehr vielen Faktoren abhängig. Diese sind das Alter des Patienten, der allgemeine Gesundheitszustand, das Risiko einer Zirrhose, Kontraindikation bzgl. der zu verwendenden Medikamente und die Wahrscheinlichkeit eines Therapieerfolgs (Viruslast, Genotyp). Es ist allgemein anerkannt, daß Patienten mit einer hohen Viruslast (> 2 Million Kopien/ml) und der HCV-Genotyp 1 schlechter auf eine Therapie ansprechen.

Schlüsselwörter: HCV; PCR; RNA; NAT; Antikörpernachweis; HCV-Core-Antigen.

Summary: Worldwide, it is expected that about 200 million people are chronic carriers of hepatitis C virus (HCV). After the introduction of mandatory testing for blood donor screening, intravenous drug abuse has be-

come the main source of transmission of hepatitis C. The incidence is about 5000 cases/year in Germany. Most acute infections are without clinical symptoms. Initial screening is achieved most rapidly and cost-effectively with ELISA assays for the detection of HCV specific antibodies. False negative results may be observed in immunocompromised patients due to a lack of or delayed immune response. The frequency of false positive results, especially in the presence of a low positive reactivity of the screening ELISA, may be reduced by using recombinant immunoblots. In the last years, assays for the detection of HCV core antigen have been developed. These tests show sensitivity comparable to PCR for the diagnosis of acute HCV infection. Nucleic acid amplification tests (NAT) represent as a consequence of their high sensitivity the most appropriate methods for resolution of positive or unusual serologic constellations or for monitoring of viral load. The decision of antiviral therapy in individual cases is dependent on several factors. These include: age, general condition, cirrhosis risk, adverse effects, and probability of therapy response (viral load and genotype). It is generally accepted that patients with a high viral load (> 2 million copies/ml) and HCV genotype 1 show a poorer response to therapy.

Keywords: HCV; PCR; RNA; NAT; Antibody detection; HCV core antigen.

Epidemiologie

Das Hepatitis-C-Virus ist weltweit verbreitet. Die weltweite Prävalenz der chronischen Hepatitis C liegt bei ca. 3 % (0,1 bis 5 % in verschiedenen Ländern). Insgesamt geht man von ca. 200 Millionen chronischen HCV Trägern in der Welt aus. In industrialisierten Ländern werden ca. 20 % der akuten, 70 % der chronischen Hepatitiden, sowie 40 % der Leberzirrhosefälle im Endstadium und 60 % der hepatozellulären Karzinome durch das Hepatitis-C-Virus verursacht. In 30 % der Fälle, bei denen eine Lebertransplantation notwendig wird, ist eine Infektion mit dem Hepatitis-C-Virus die Ursache [1].

Der Hauptübertragungsweg der Hepatitis C ist seit der Einführung der Hepatitis C Testung im Blutspendewesen der i.v. Drogenabusus. Auch hier ist mit sinkenden Infektionsraten zu rechnen, da die Maßnahmen zur Vermeidung einer HIV Infektion auch die Infekti-

Korrespondenzadresse: Dr. med. vet. Annemarie Berger, Institut für medizinische Virologie, Klinikum der J. W. Goethe Universität, Paul-Ehrlich-Str. 40, 60596 Frankfurt/Main, Deutschland.
Fax.: +49 69 6301 -83061,
E-Mail: Annemarie.Berger@em.uni-frankfurt.de

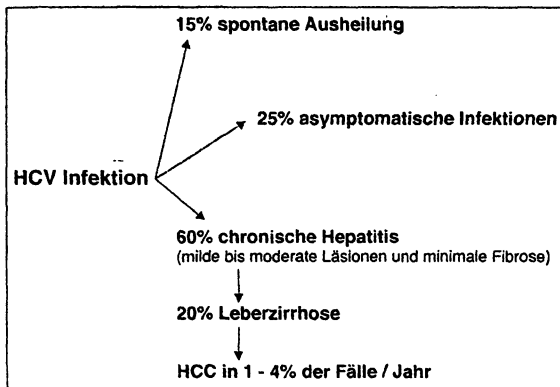


Abbildung 1 Klinischer Verlauf der HCV-Infektion

on mit dem HCV verhindern und die Infektionsgefahr in den letzten Jahren immer mehr ins Bewußtsein gerückt wurde. Die Inzidenz von Neuinfektionen wird in Deutschland auf ca. 5.000/Jahr geschätzt, allerdings verlaufen die meisten akuten Infektionen unauffällig [2]. In 15 % der Infektionsfälle kommt es zu einer spontanen Ausheilung. Die chronische Infektion verläuft sehr unterschiedlich, im Allgemeinen ist die Krankheitsprogression aber sehr langsam (Abb. 1). In 25 % der Fälle ist die Infektion asymptomatisch mit normalen Aminotransferasewerten und allgemein gutartigen histologischen Veränderungen der Leber. Auch in den übrigen Fällen ist das Krankheitsbild eher mild bis moderat. Ungefähr 20 % der Patienten mit einer chronischen Hepatitis C entwickeln in 10–20 Jahren eine Leberzirrhose [3]. Verschiedene Kofaktoren spielen bei der Entwicklung einer Zirrhose eine wichtige Rolle:

- das Lebensalter zum Infektionszeitpunkt. Je älter der Patient zum Infektionszeitpunkt ist, desto schneller ist die Krankheitsprogression.
- Alkoholabusus
- eine Koinfektion mit HIV
- eine Koinfektion mit HBV

Die Inzidenz des hepatozellulären Karzinoms liegt bei 1–4 %/Jahr bei Patienten mit einer Leberzirrhose. Patienten ohne Leberzirrhose dagegen entwickeln nur sehr selten ein Karzinom [4].

Ein generelles Screening auf Hepatitis C ist aufgrund der doch relativ geringen Inzidenz (von ca. 0,4 % in Deutschland) nicht notwendig, sollte aber in jedem Falle in den verschiedenen Risikogruppen (Patienten, die vor 1991 Blut- oder Blutprodukte erhalten haben, Hämophile, i. v. Drogenabhängige, Kinder HCV positiver Mütter und Organspender) durchgeführt werden.

Eine Prävention der Infektionsübertragung basiert hauptsächlich im Screening der Blutspender mittels Antikörper ELISA und PCR und der Infektionsvermeidung bei i.v. Drogenabusus durch Aufklärungsarbeit

zur Vermeidung des sog. „Needle-Sharings“. Eine sexuelle Übertragung der Infektion ist sehr unwahrscheinlich, allerdings steigt die Prävalenz mit der Zahl der Geschlechtspartner, daher wird in diesem Falle der Gebrauch von Kondomen empfohlen. Eine Schwangerschaft und auch das Stillen trotz HCV-Infektion der Mutter sind nicht kontraindiziert. Die Transmissionsrate liegt bei unter 6 %. Das Übertragungsrisiko steigt mit zunehmender Virusbelastung im Blut und bei einer HIV-Koinfektion [5].

Ob die Art der Entbindung (Sectio vs. vaginal) die Transmissionsrate beeinflusst, ist umstritten.

Weitere Übertragungsmöglichkeiten, insbesondere durch unter unhygienischen Bedingungen durchgeführtes Piercing und Tätowierung, werden zunehmend diskutiert und erforscht [6].

Ein wichtiger Gesichtspunkt ist die Übertragung der HCV-Infektion auf bzw. durch medizinisches Personal. Wurde das Risiko bislang als sehr gering eingeschätzt, so mehren sich inzwischen die Berichte über solche Zwischenfälle [7]. Die Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung von Viruskrankheiten (DVV) hat daher entsprechende Empfehlungen herausgegeben, die insbesondere invasive Tätigkeiten einschränken [8]. Eine wichtige Forderung ist das Screening medizinischen Personals auf anti-HCV-Antikörper, das bislang oft vernachlässigt wurde. Die HCV Prävalenz bei medizinischen Personal liegt mit ca. 0,8 % allerdings nur geringfügig höher als in der allgemeinen Bevölkerung.

Diagnostische Tests

Für das initiale Screening sind ELISA Tests zum Nachweis HCV spezifischer Antikörper am schnellsten und kostengünstigsten. Inzwischen stehen Antikörper Tests der 3. bzw. 4. Generation zur Verfügung, die sich insbesondere durch eine verbesserte Sensitivität durch Hinzunahme weiterer HCV-Antigene gegenüber den Vorgängerversionen unterscheiden. Die verwendeten Epitope der Tests der 3. Generation stammen aus dem Core, Envelope und Nischstrukturbereich (NS3, NS4, NS5) des HCV.

Bei immungeschwächten Patienten können diese Tests allerdings aufgrund einer verzögerten oder fehlenden Immunantwort versagen. Falsch positive Resultate (insbesondere bei niedriger Reaktivität im Screening ELISA) können durch die Verwendung von rekombinanten Immunoblots verringert werden. Allerdings muß bedacht werden, daß es sich bei diesen Tests nicht um echte Bestätigungstests handelt, sondern diese nur als Zusatztests bezeichnet werden können, da sie die gleichen (rekombinanten) Proteine wie die Screening ELISA verwenden. Testreaktionen mit nur sehr unvollständig ausgeprägtem Reaktionsprofil sollten daher immer sehr vorsichtig beurteilt werden. Wir konnten zeigen, daß 50 (37 %) von 134 im AxSYM 3.0 (Abbott, Delkenheim) reaktiven ELISA Proben mit einem Indexwert zwischen 1,0 und ≤ 10 negativ ($n=50$) im Immunoblot (Inno-LIA 3.0, Innogenetics, Belgien) oder grenzwertig (nur eine reaktive Bande,

Tabelle 1 Nachweis einer frischen Serokonversion (HCV Genotyp 1b) im HCV Screening ELISA (AxSYM 3.0, Abbott) und im HCV-Immunoblot (Inno-LIA HCV, Innogenetics)

Datum	AxSYM HCV EIA Ergebnis	(Indexwert)	Reaktive Banden im Inno-LIA	HCV PCR Resultat
28. 2. 00	Neg.			Pos.
10. 4. 00	Pos.	4,1	3 (C1), (C2), NS3	
14. 4. 00	Pos.	6,3	3 C1, C2, NS3	>850.000 IU/ml
17. 4. 00	Pos.	11,7	3 C1, C2, NS3	
4. 5. 00	Pos.	42,7	3 C1, C2, NS3, NS4, (NS5)	

Tabelle 2 Kommerziell verfügbare molekularbiologische Testmethoden zum qualitativen und quantitativen HCV RNA Nachweis und zur Genotypisierung

	Qualitativ		Quantitativ		Genotypisierung	
Hersteller	Roche	Bayer (Chiron)	Roche	Bayer (Chiron)	Innogenetics	Visible Genetics
Methode	RT-PCR (cDNA Amplifikation)	TMA (RNA-Amplifikation)	RT-PCR (cDNA Amplifikation)	bDNA (Signal Amplifikation)	Reverse Hybridisierung mit typspezifischen Sonden der 5'NCR	Sequenzierung der 5'NCR (Non- Coding-Region)
Probenvolumen	200 ml	100 ml	200 ml	50 ml		
Sensitivität	50 IU/ml	50 IU/ml	600 IU/ml	500 IU/ml	Amplikate der PCR von Roche können verwendet werden.	
Linearer Meßbereich			bis 850.000 IU/ml	8 x 10 ⁶ IU/ml	Es können Probleme bei der Bestimmung des Subtyps (z. B. HCV 1a/1b) auftreten.	

n=12) waren. Es zeigt sich eine starke Korrelation der Anzahl reaktiver Banden im Immunoblot sowohl mit der Höhe des ELISA Testresultates wie auch mit einem positiven HCV-RNA PCR Befund. So konnten im Schnitt ca. 3,3 reaktive Banden nachgewiesen werden, wenn ein positives HCV RT-PCR Resultat vorlag. Bei negativem PCR Resultat lag der Mittelwert reaktiver HCV Proteine im Immunoblot bei 1,8. Jedoch kann sich hinter einem schwach positiven ELISA Resultat auch eine sehr frische Infektion verbergen, wie eine im Rahmen dieser Studie nachgewiesene Serokonversion eines Patienten zeigt (Tab. 1).

Positive Resultate im ELISA sollten daher immer eine HCV PCR Bestimmung nach sich ziehen. Bei Verdacht auf eine akute HCV Infektion bzw. starker Immunsuppression sollte auch im negativen Falle eine HCV PCR durchgeführt werden, da die Zeitspanne bis zum Nachweis spezifischer Antikörper doch erheblich sein kann (bis zu mehreren Monaten). Eine quantitative Bestimmung der HCV RNA sollte nur vor und zur Verlaufskontrolle einer Therapie des Patienten durchgeführt werden.

In den letzten Jahren wurden Tests zum Nachweis des HCV Core Antigens entwickelt. Diese erwiesen sich in den bislang durchgeführten Studien (HCV RNA positive Patienten, Serokonversionspanel) als sehr sensitiv und vergleichbar mit der PCR [9, 10]. So detektierte bei der retrospektiven Untersuchung von Serokonversionen der Antigentest eine HCV Infektion im Schnitt über 1,5 Monate früher als die Antikörper-

tests. Der zeitliche Zugewinn durch die PCR lag somit nur noch bei ca. 2 Tagen [11, 12]. Die gute Verwendungsmöglichkeit des Antigentests zum Nachweis akuter Infektion ist dadurch bedingt, daß im Rahmen einer akuten Infektion nach der Latenzphase, in der sich der Erreger zunächst nur im Gewebe vermehrt ohne im Blut nachweisbar zu sein, sehr schnell eine große Virusmenge produziert und frei wird, die zu Virustitern von 10⁵-10⁷ Kopien/ml führt, so daß auch ein Test mit einer geringeren Sensitivität als Nukleinsäure Ampifikationstests (NAT) sehr schnell die Infektion nachweisen kann. Zur Abklärung positiver oder unklarer serologischer Befunde oder zur Verlaufskontrolle der Viruslast chronisch infizierter Patienten sind NATs aufgrund ihrer höheren Sensitivität nach wie vor Mittel der Wahl.

Virusisolierungsversuche in der Zellkultur sind bislang von nur sehr mäßigem Erfolg, als diagnostisches Mittel oder auch zu Forschungszwecken sind alle bislang etablierten Zellkultursysteme noch nicht gut geeignet.

Für den qualitativen und quantitativen Nachweis der viralen Nukleinsäure stehen eine Reihe von kommerziell erhältlichen Verfahren zur Verfügung (Tab. 2), die seit der Einführung eines internationalen Standards durch die WHO relativ gut vergleichbare Resultate liefern. Diese Tests sind inzwischen auch weitestgehend unabhängig vom HCV-Genotyp, wogegen Vorgängerversionen hier erhebliche Diskrepanzen aufwiesen [13].

Tabelle 3 Dauer der Therapie in Abhängigkeit vom HCV Genotyp und von der Virusbelastung (EASL Konsensus Statement 1999)

• Therapie naive Patienten: Interferon / Ribavirin Kombinationstherapie:	
– Genotyp 2 und 3 Infektionen (unabhängig vom HCV RNA Menge):	6 Monate
– Genotyp 1 Infektionen:	
■ niedrige Virämie (< 2 Millionen Kopien/ml)	6 Monate
■ hohe Virämie (> 2 Millionen Kopien/ml)	12 Monate
• Naive Patienten, Interferon Monotherapie:	
– 12 Monate	
• Nach fehlgeschlagener Interferon Monotherapie:	
– Kombinationstherapie für 6 Monate oder hochdosiert (> 3 MU/dreimal pro Woche) Interferon für 12 Monate	

Zur Genotypisierung der inzwischen 6 Haupt- und mehreren Subtypen des HCV gibt es neben den sogenannten in-house Methoden auch kommerzielle Verfahren (Tab. 2). Die meisten Tests basieren auf einer Hybridisierung von PCR Amplifikaten mit HCV-Genotyp spezifischen Sonden. Aber auch die Auswertung von Bandenmustern, die durch den Verdau von Amplifikationsprodukten mit Restriktionsenzymen entstehen und natürlich die Sequenzierung verschiedener Genombereiche (insbesondere der NS5 Region) stehen zur Verfügung. Serotypisierungsmethoden basieren in der Regel auf dem Nachweis HCV Typ spezifischer Epitope der NS4 Region. Sie haben den Vorteil, daß keine Nukleinsäure-Amplifikation durchgeführt werden muß, also auch keine Virämie vorliegen muß. Ihr Nachteil besteht darin, daß eine Bestimmung des Subtyps nicht möglich ist und unspezifische Reaktionen und Kreuzreaktionen auftreten können. Zudem weist nicht jeder Patient eine ausreichende Immunantwort gegenüber der NS4 Region auf [14].

Therapie

Die Therapie der Hepatitis C ist nach wie vor schwierig und oft nicht erfolgreich. Zur Zeit stehen nur zwei zugelassene Medikamente (Interferon und das für sich allein unwirksame Ribavirin) zur Verfügung. Insbesondere die Kombination beider Medikamente führt zu einem wesentlich besseren Therapieerfolg mit einer geringeren Rate an Rückfällen nach Absetzen der Therapie (ca. 40 %). Auch neuartige Modifikationen des Interferons wie das Peg-Interferon, das eine bessere Bioverfügbarkeit im Körper aufweist, können die Erfolgsraten (ca. 50 %) weiter verbessern und sind zum Teil bei bislang nicht therapierbaren Patienten erfolgreich [15, 16]. Die Entscheidung, welcher Patient behandelt werden sollte, ist von sehr vielen Faktoren abhängig. Diese sind das Alter des Patienten, der allgemeine Gesundheitszustand, das Risiko einer Zirrhose, Kontraindikation bezüglich der zu verwendenden Medikamente und die Wahrscheinlichkeit eines Therapieerfolgs (Viruslast, Genotyp). Es ist allgemein anerkannt, daß eine hohe Viruslast (> 2 Million Kopien/ml) und der HCV-Genotyp 1 schlechter auf

eine Therapie ansprechen. Dies sollte aber nie der einzige Grund sein, eine Therapie zu unterlassen. Die derzeitigen Therapie-Empfehlungen [17] sind in Tabelle 3 zusammengefaßt. Über die Therapie von Kindern gibt es zur Zeit noch keine großen Studien. Verfügbare Daten zeigen allerdings, daß die Response-Rate einer Interferon-Monotherapie vergleichbar ist mit Daten aus Studien mit Erwachsenen Patienten [18].

An einem Impfstoff gegen das HCV wird seit langem gearbeitet. Die große Varianz des Erregers und die vielen Mutationen insbesondere in der Hüllregion des Virus, die es dem Erreger vermutlich auch ermöglichen, sich der Immunantwort zu entziehen, machen jedoch wie bei dem HI-Virus auch, die Entwicklung einer wirksamen Vakzine äußerst schwierig [19].

Literatur

1. WHO. Global surveillance and control of hepatitis C. Report of a WHO Consultation organized in collaboration with the Viral Hepatitis Prevention Board, Antwerpen, Belgien. *J Viral Hepat* 1999;6:35-47.
2. Bundesgesundheitsblatt. Hepatitis C – Erkennung, Behandlung und Verhütung. Merkblatt für Ärzte. Springer Verlag 1999: 42: 971-4.
3. Tong MJ, el Farra NS, Reikes AR, Co RL. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. *N Engl J Med* 1995;332: 1463-6.
4. Di Bisceglie AM. Hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1997;26:34-38S.
5. Thomas SL, Newell ML, Peckham CS, Ades AE, Hall AJ. A review of hepatitis C (HCV) vertical transmission: risks of transmission to infants born with and without HCV viraemia and human immunodeficiency virus infection. *Int J Epidemiol* 1998;27:108-17.
6. Haley RW, Fischer RP. Commercial tattooing as a potentially important source of hepatitis C infection. *Clinical epidemiology of 626 consecutive patients unaware of their hepatitis C serologic status. Medicine (Baltimore)*. 2001;80:134-51.
7. Roß RS, Viazov S, Roggendorf. Zur Diskussion um nosokomiale Hepatitis C-Übertragungen durch infiziertes medizinisches Personal. *Dtsch Med Wschr* 2000;125:1055-7.
8. Empfehlungen zur Verhütung der Übertragung von Hepatitis-C-Virus durch infiziertes Personal im Gesundheitsdienst. *Epidemiologisches Bulletin des RKI*. 2001;3: 15-6.
9. Peterson J, Green G, Iida K, Caldwell B, Kerrison P, Bermich S, Aoyagi K, Lee S. Detection of hepatitis C core antigen in the antibody negativ 'window' phase of hepatitis C infection. *Vox Sang* 2000;78:80-5.
10. Lee SR, Peterson J, Niven P, Bahl C, Page E, DeLeys R, Giordano-Schmidt D, Baggett D, Green G. Efficacy of a hepatitis C

virus core antigen enzyme-linked immunosorbent assay for the identification of 'window-phase' blood donations. *Vox sang* 2001;80:19-23.

11. Courouce AM, Le Marrec N, Bouchardeau F, Razer A, Maniez M, Laperche s, Simon N. Efficacy of HCV core antigen detection during the preseroconversion period. *Transfusion* 2000;40:1198-202.

12. Aoyagi K, Iida K, Ohue C, Matsunaga Y, Tanaka E, Kiyosawa K, Yagi S. Performance of a conventional enzyme immunoassay for hepatitis C virus core antigen in the early phases of hepatitis C infection. *Clin Lab* 2001;47:119-27.

13. Berger A, Braner J, Doerr HW, Weber B. Quantification of viral load: clinical relevance for human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) infection. *Intervirol* 1998; 41:24-34.

14. Prescott LE, Berger A, Pawlotsky JM, Conjeevaram P, Pike I, Simmonds P. Sequence analysis of hepatitis C virus variants produ-

cing discrepant results with two different genotyping assays. *J Med Virol* 1997;53:237-44.

15. Zeuzem S, Feinman SV, Rasenack J, Heathcote EJ, Lai MY, Gane E, O'Grady J, Reichen J, Diago M, Lin A, Hoffman J, Brunda MJ. PeginterferonAlfa-2a in patients with chronic hepatitis C. *N Eng J Med* 2000;343:1666-72.

16. Manns MP, Cornberg M, Wedemeyer H. Current and future treatment of hepatitis C. *Indian J Gastroenterol* 2001 Mar;20 Suppl 1:C47-51.

17. EASL International Consensus Conference on Hepatitis, Paris. 26-28 February 1999, Consensus Statement. *J of Hepatology* 1999;30:956-61.

18. Jonas MM. Treatment of chronic hepatitis C in pediatric patients. *Clin Liver Dis* 1999;3:855-67.

19. Kato N. Genome of human hepatitis C virus (HCV) gene organization, sequence diversity, and variation. *Microb Comp Genomics* 2000;5:129-51.