

Hepatitis C

Spezifische Diagnostik verbessert die Therapie

Hepatitis C-Infektionen verlaufen in der Frühphase oft unbemerkt; deshalb ist eine sichere Labordiagnostik entscheidend für den Therapieerfolg. Menschen mit einer 2009 entdeckten Genvariante scheinen einen natürlichen Schutz zu besitzen.

Die „Wende“ im Jahr 1989 war nicht nur ein politisches Ereignis, sondern auch eine – weniger beachtete – Wende in der Hepatitisdiagnostik und -therapie. Damals beschrieben Choo et al. das Hepatitis C-Virus (HCV) als Erreger einer bis dahin nicht eindeutig klassifizierbaren Form der Non-A Non-B-Hepatitis. Sie verlief häufig chronisch, mündete in der Folge in eine Leberzirrhose oder ein Leberzellkarzinom und wies eine hohe Letalität auf.

Die historische Koinzidenz ist insofern tragisch, als in der DDR mehrere tausend Frauen im Rahmen der gesetzlich vorgeschriebenen Anti-D-Prophylaxe mit HCV verunreinigte Immunglobulinpräparate erhielten und erkrankten. Da das Virus damals noch nicht bekannt war, konnte es erst nach der Wiedervereinigung nachgewiesen werden; über 2.000 Fälle wurden als entschädigungspflichtig anerkannt.

Den traurigen Rekord iatrogenen (also von Ärzten verursachter) HCV-Infektionen hält allerdings eine von der Weltgesundheitsorganisation unterstützte Brechweinstein-Kampagne gegen die Bilharziose in Ägypten, bei der zwischen 1950 und 1980 schätzungsweise sechs Millionen Menschen angesteckt wurden.

Weltweit sind etwa 170 Millionen Personen mit HCV infiziert, die meisten davon in Zentralasien, Afrika und Südamerika. In der Mongolei liegt die Prävalenz bei fast 50 Prozent, in Deutschland ist sie mit 0,5 Prozent bzw. rund 5.000 Neuerkrankungen pro Jahr vergleichsweise gering.

Piercing, Tätowierungen und Nadelstichverletzungen zählen zu den Risikofaktoren. Am stärksten gefährdet sind Konsumenten intravenös oder intranasal applizierter Drogen bei gemeinsamer Benutzung von Spritzen bzw. Aspirationsröhrchen. In dieser Zielgruppe spielt deshalb die Prävention bei der Krankheitsbekämpfung die Hauptrolle.

Eine im August 2012 publizierte Studie des Robert-Koch-Instituts (DRUCK = *Drogen und chronische Infektionskrankheiten in Deutschland*) lenkte den Fokus auf ältere Patienten mit längerem Drogenkonsum sowie Inhaftierte. Die Ergebnisse sollen in gezielte Präventionsempfehlungen „zum Schutz vor HIV und Hepatitiden bei i. v. Drogengebrauchern“ einfließen (Epidemiologisches Bulletin 33).

Unspezifische Symptome

Beim Hepatitis C-Virus handelt es sich um ein umhülltes Einzelstrang-RNA-Virus mit positiver Polarität, abgekürzt (+)ssRNA, das eine RNA-abhängige Polymerase kodiert. Dadurch kann es in den Wirtszellen sofort – ohne den Umweg über die DNA-Synthese – für die eigene Vermehrung sorgen.

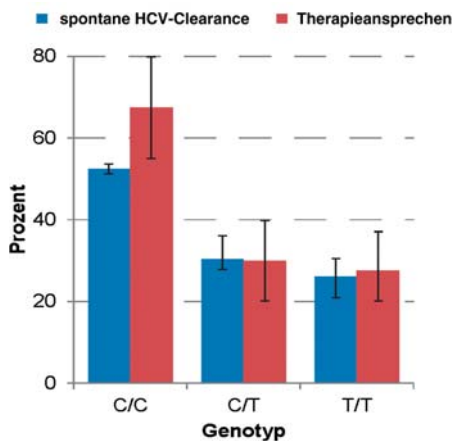
Die Infektion verläuft in der akuten Phase mit den klassischen Symptomen eines grippalen Infektes, wie Müdigkeit, Gelenkschmerzen, Druck im rechten Oberbauch. Eine Gelbsucht gehört nur in 40 Prozent der Fälle zu den Symptomen, so dass die Erkrankung häufig unerkannt bleibt. Dies begünstigt die Entwicklung

einer chronischen Infektion. Dagegen heilt die Erkrankung bei rechtzeitiger Entdeckung durch eine etwa sechswöchige antivirale Therapie dauerhaft aus.

Antikörper- und Erregernachweise

Als Screening-Untersuchung dient der Nachweis von Antikörpern gegen das Hepatitis C-Virus mittels Enzymimmunoassay. Wie bei den meisten Suchtests achtet man darauf, dass ein negatives Ergebnis eine HCV-Infektion mit hoher Wahrscheinlichkeit ausschließt. Dies bedingt einen sehr geringen positiv-prädiktiven Wert von <20 Prozent, und deshalb müssen falsch-positive Resultate durch weiterführende Diagnostik ausgeschlossen werden. Die 2010 aktualisierte Leitlinie des AWMF empfiehlt bei einem HCV-Antikörpernachweis und bei immunkompromittierten Personen die Bestimmung der HCV-RNA mittels RT-PCR (RT = *Reverse Transkriptase*). Fällt dieser Test trotz positivem Antikörpernachweis negativ aus, so muss die PCR nach 4-12 Wochen wiederholt werden.

Um falsch positive Antikörperbefunde von einer überstandenen, ausgeheilten Infektion zu unterscheiden, kann der Immunoblot herangezogen werden. Hierbei dienen virale Polypeptide (core, C100-3, NS3, NS4) als Antigene. Sie werden elektrophoretisch aufgetrennt, auf Nitrocellulose übertragen (*Western Blot*) und dann mit Patientenserum oder -plasma inkubiert. Zielmoleküle sind heute oft



Spontanausheilung (blau) und Therapieansprechen (rot) bei einer HCV-Infektion in Abhängigkeit vom T/C-Dimorphismus auf dem Gen rs2979860, in der Promotorregion des humanen IL28B-Gens auf Chromosom 19. Homozygote CC-Träger haben in ihren Blutzellen eine höhere IL28B-mRNA-Expression und weisen günstigere Verläufe auf als C/T- und T/T-Träger.

rekombinant hergestellte HCV-Antigene (RIBA = *Recombinant Immunoblot Assay*).

Eine Reaktion mit mindestens drei der Antigene gilt bei dauerhaft nicht nachweisbarer HCV-RNA als ausgeheilt. Unspezifische – also falsch positive – Reaktionen sollten im Immunoblot negativ sein. Bei immunkompromittierten Patienten, zum Beispiel bei Co-Infektion mit HIV oder bei Dialyse-Patienten, kann die Antikörperbildung allerdings ausbleiben oder erst verzögert einsetzen, so dass hier unbedingt das Ergebnis der RT-PCR hinzugezogen werden muss. Der Western Blot hat durch die PCR an Bedeutung verloren und wird bei der aktuell stattfindenden Überarbeitung der Leitlinie mit Sicherheit ein Thema sein.

Zielgerichtete Therapie

Es gibt 6 Genotypen und 30 Subtypen des Hepatitis C-Virus, die zur Therapiesteuerung und -überwachung von Interesse sind. Genotyp 1 kann nach heutigem Erkenntnisstand mit PEG-Interferon α , mit dem Nucleosid-Analogon Ribavirin

und mit einem Proteaseinhibitor behandelt werden, während bei den anderen nur PEG-Interferon α und Ribavirin zum Einsatz kommen. Für die Überwachung der Therapie ist ferner die Bestimmung der HCV-RNA Konzentration hilfreich. Da die unterschiedlichen Verfahren schlecht vergleichbare Ergebnisse liefern, sollte für die Verlaufskontrolle möglichst immer derselbe Test angewendet werden.

Genetische Prädisposition

Ein neuer Prognoseparameter für den Verlauf einer Hepatitis C-Infektion wurde 2009 auf dem menschlichen Chromosom 19 entdeckt. Der sogenannte T/C-Dimorphismus rs2979860 (*rs = referenz snp identity*) hat erhebliche Auswirkungen auf den Verlauf der Infektion. Das Gen kodiert für ein Cytokin mit immunmodulatorischen Eigenschaften. Menschen mit dem Genotyp C/C sind bei HCV-Infektionen begünstigt (s. Abbildung), weil sie das Virus häufiger spontan eliminieren und auf eine antivirale Therapie besser ansprechen. Man spekuliert heute, dass dieses Gen möglicherweise die weltweit unterschiedliche HCV-Prävalenz erklärt: Bei 65 Prozent der Europäer wurde der Genotyp CC gefunden, aber nur bei 25 Prozent der Afrikaner. ✿

Literatur:

Thomas D.L. et al. (2009): Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature* 461(7165): 798-801.

Wir danken Herrn Prof. Dr. med. R. Stefan Ross, Universität Essen, für die Unterstützung beim Abfassen des Manuskripts.



Prof. Dr. med. Lutz Gürtler
lutzg.guertler@vodafone.de
ge, gh

So einfach kann
Färben sein:

VENTANA BenchMark.

Die neue Leichtigkeit
des Färbens –
vollautomatisch, flexibel
und zuverlässig.

Roche Diagnostics Deutschland GmbH
Sandhofer Straße 116
68305 Mannheim

www.roche.de/gewebediagnostik

VENTANA und BENCHMARK
sind Marken von Roche.

© 2012 Roche Diagnostics.
Alle Rechte vorbehalten.

HCV-Tests im Überblick

Die Entdeckung einer Infektion mit dem Hepatitis C-Virus (HCV) beginnt in der Regel mit einem Screening, da die Krankheit anfangs kaum spezifische Symptome zeigt. Einen Hinweis auf eine gerade ablaufende, bereits abgelaufene oder möglicherweise chronische Infektion erhält man durch die Bestimmung spezifischer Antikörper gegen das Hepatitis C-Virus. Das diagnostische Verfahren der Wahl dafür ist der ELISA (*Enzym Linked-Immuno-Sorbent-Assay*). Um eine möglichst hohe Validität des Tests zu erreichen, werden Proteine aus mindestens drei verschiedenen Regionen des Virusgenoms zur Antikörperbildung eingesetzt. Im Falle des hier von *Ortho Clinical Diagnostics* vorgestellten HCV 3.0 ELISA sind das ein RNA-bindendes Capsid, eine virale Helikase und eine RNA-Polymerase. Das Verfahren wird hauptsächlich von den Blutspendediensten eingesetzt, um HCV-freie Blutprodukte zu gewährleisten. Das qualitative, indirekte Ergebnis liefert im positiven Fall eine Verdachtsdiagnose.

Zur Erhärtung des Verdachts benötigt man den direkten Nachweis der Virus-RNA. Dafür stehen verschiedene Methoden wie die *Reverse Transkriptase-PCR (RT-PCR)*, die Hybridisierung oder ein *branched DNA-Assay* zur Verfügung. Klassische PCR-Methoden werden zunehmend durch quantitative Real-Time-PCR-Verfahren abgelöst.

Zwei führende Hersteller solcher Tests, Abbott und Qiagen, beschreiben die derzeit entscheidenden Kriterien für die Wahl des Verfahrens: Sowohl der *Real Time HCV Assay* von Abbott Molecular als auch der Qiagen *artus HCV QS-RGQ-Test* können die sechs verschiedenen HCV-Genotypen unterscheiden und sind speziell für eine sichere Quantifizierung der Viruslast im unteren Messbereich ausgelegt. Damit eignen sie sich sowohl für die Diagnose-sicherung als auch für die immer bedeutsamere Therapiesteuerung (S. 215). Unterschiede bestehen vor allem in der Wahl der Automationsplattform für den mittleren bis hohen Probendurchsatz.

ge



Abbott RealTime HCV Assay

Hohe Präzision am klinischen Entscheidungspunkt

Entscheidungen, die neuen Triple-Therapien für Hepatitis C zu stoppen oder fortzuführen, basieren auf RNA-Messungen zu genau festgelegten Zeitpunkten. Das bedeutet: Analytische Unterschiede in den Nachweismethoden nehmen Einfluss auf klinische Entscheidungen. Dies wurde in einer vergleichenden Untersuchung verschiedener Assays zur HCV-Viruslast-Bestimmung mit signifikanten Daten belegt.

Erfahren Sie mehr zur Studie unter StopOrGoHCV.com



Der Abbott RealTime HCV Assay liefert exakte Ergebnisse, auf die Sie sich verlassen können. Jetzt!

- **Hervorragende Präzision** – maximale Zuverlässigkeit bei der Entscheidung zum Fortführen, Verkürzen oder Stoppen der medikamentösen HCV-Triple-Therapie.
- **Hohe Sensitivität** – eine Nachweisempfindlichkeit von 12 IE/mL gewährleistet exaktes Monitoring niedriger Viruslasten, um Veränderungen in der Therapieantwort frühzeitig zu erkennen.
- **Genauer Genotypen-Nachweis** – zuverlässige quantitative Ergebnisse für die HCV-Genotypen 1 bis 6.

Wie zuverlässig sind Ihre HCV-Viruslast-Ergebnisse?

Kontaktinformation

Abbott Molecular • Dr. Beate Martens-Düring • Tel. 06122/58-1749
BeateMartens-During@abbott.com • www.abbott.de

Ortho Clinical Diagnostics

PART OF THE **Johnson & Johnson** FAMILY OF COMPANIES

Screening in bewährter Qualität: Der HCV 3.0 ELISA

Der Ortho HCV 3.0 ELISA-Assay dient als qualitativer Screening-Test für den hochspezifischen Nachweis einer akuten oder chronischen Hepatitis C-Infektion. Als Antigene werden drei – von unterschiedlichen Regionen des Virusgenoms kodierte – Proteine eingesetzt (c22-3, c200 und NS5).

Dank der unterschiedlichen Herkunft der Antigene und deren besonderer Zusammenstellung auf der Mikrotiterplatte erhält man praktisch keine falsch positiven Resultate, und das Zeitfenster bis zur Serokonversion – also bis zur Bildung von Antikörpern – bleibt sehr klein.



Besonderheiten

- Überprüfung der Probenzugabe durch Farbumschlag
- teilbare Mikrotiterplatten
- Standard- oder Kurzkubation möglich
- rekombinante HCV-Proteine aus drei verschiedenen Regionen des Virusgenoms als Antigene
- Einsatz im Automaten und manuell

Ortho Clinical Diagnostics, ein führendes Unternehmen im Bereich der Transfusionsmedizin, brachte den weltweit ersten HCV-Screening-Test auf den Markt und profitiert von dieser langjährigen Erfahrung. Der hier vorgestellte Test wird vor allem bei den großen Blutspendediensten zur Überprüfung von Blutprodukten eingesetzt.

Kontaktinformation

Ortho-Clinical Diagnostics GmbH • Wolfgang Stier • Tel. 06223/77-353
wstier@its.jnj.com • www.orthoclinical.com



Sensitivere Bestimmung der Viruslast: *artus* HCV QS-RGQ

Gezielte Therapieüberwachung

Die Bestimmung der HCV-Viruslast mittels quantitativer RT-PCR gehört heutzutage zu den wichtigsten molekular diagnostischen Routineuntersuchungen bei der Behandlung der chronischen Hepatitis C. Ziel ist es, das Virus restlos aus dem Körper zu entfernen. Im Rahmen einer Standardtherapie mit Ribavirin und Interferon ist eine vollständige Elimination bei einer Viruslast von < 50 IU/mL zum Zeitpunkt 24 Wochen nach Therapieende erreicht (sogenannte *Sustained Virologic Response, SVR*). Diesen Richtwert legte die *European Association for the Science of the Liver (EASL)* für Tests der ersten Generation in einer klinischen Leitlinie fest.

Neue Anforderungen

Mit der aktuellen Einführung hochwirksamer HCV-Medikamente wurde eine neue Ära der antiviralen Therapie eingeläutet. Viele Kliniker und Fachautoren wünschen sich eine völlig interferonfreie Behandlung, doch es liegen auch erste positive Erfahrungen aus klinischen Studien mit Triple-Therapien vor, die entweder Boceprevir oder Telaprevir mit Ribavirin und Interferon kombinieren.



Viruslastbestimmung mit dem *artus* HCV QS-RGQ Test auf der QIASymphony Plattform

Nachweisgrenzen & Befundung

Der Schlüssel für eine effiziente und vor allem kosteneffektive HCV-Therapie ist die noch engere Verzahnung der Diagnose von frühen Ansprechraten via Viruslastkinetik mit der Bestimmung des Zeitpunktes, zu dem keine HCV-Viruslast mehr nachweisbar ist. Aktuell werden für die Erreichung einer *SVR* Werte von < 25 IU/mL in der Klinik diskutiert und praktisch erprobt. P. R. Harrington geht sogar noch weiter: Er schlägt in einer Publikation aus dem Jahr 2011 im Wissenschaftsmagazin *Hepatology* vor, eine ermittelte Viruslast auch unterhalb des *Limit of Detection (LOD)* eines Tests im Befund anzugeben.

Der *artus* HCV-Assay: Wichtige Spezifikationen neu validiert und zertifiziert

Mit den neuen Entwicklungen ist die HCV-Therapie zu einer wirklichen *Response Guided Therapy* geworden. Sie erfordert ein enges Zusammenspiel zwischen Diagnostikern und behandelnden Ärzten.

Um für eine Therapieentscheidung schnell und zuverlässig relevante Informationen liefern zu können, hat QIAGEN in einem intensiven Evaluationsprogramm ausgewählte Leistungsmerkmale des *artus* HCV QS-RGQ Kit's neu geprüft und von der verantwortlichen Zulassungsbehörde bestätigen lassen. Zu den neu ermittelten Merkmalen gehören eine LOD von 21 IU/mL (95%ige Ergebniszuverlässigkeit) sowie die untere Quantifizierungsgrenze von 35 IU/mL (100%ige Ergebniszuverlässigkeit).

Fazit

Diese Schlüssel-Spezifikationen machen QIAGEN zu einem zuverlässigen Partner und den *artus* HCV QS-RGQ Kit in der Kombination mit dem QS-RGQ System zu einer voll validierten Systemlösung für das Hepatitismanagement der Zukunft.

Kontaktinformation

QIAGEN GmbH • Dr. Antje Plaschke-Schlütter
antje.plaschke-schluetter@qiagen.com • www.qiagen.com



So einfach kann
Färben sein:

VENTANA BenchMark.

- **Vollautomatische Färbesysteme**
Alle Schritte auf einem System – inklusive Vorbehandlung
- **Protokollflexibilität**
Ein System für IHC und ISH
- **Geringer Reagenzienverbrauch**
Nur 100 µl Antikörper- bzw. Sondenverbrauch je Objektträger
- **Zuverlässige Färbesultate**
Durch standardisierte Färbbedingungen

► Die BenchMark-Familie:



Roche Diagnostics Deutschland GmbH
Sandhofer Straße 116
68305 Mannheim

www.roche.de/gewebediagnostik

VENTANA und BENCHMARK sind Marken von Roche.

© 2012 Roche Diagnostics.
Alle Rechte vorbehalten.