Okkulte Hepatitis B durch Escape-Mutante?

Annette Blaich[a], Charly Nusbaumer[b], Jean-Luc Dreyfus[c], Reno Frei[a]

[a] Abteilung Klinische Mikrobiologie, Universitätsspital Basel, [b] Laboratoire Hôpital du Jura, Delémont,
[c] Arztpraxis für Innere Medizin, Basel

Fallbericht

Ein 81-jähriger Patient war uns zur Abklärung ansteigender Leberfunktionswerte zugewiesen worden. Aus der Anamnese waren eine vor Jahrzehnten abgelaufene Hepatitis unklarer Ätiologie bekannt und seit vielen Jahren leicht erhöhte γ-GT-Werte (100–300 U/l). Folgende Werte fielen bei uns auf: eine ASAT von 51 U/l, eine ALAT von 56 U/l, eine γ-GT von 1199 U/l, eine Alkalische Phosphatase (AP) von 385 U/l, ein Albumin von 31 g/l, ein CRP von 140,8 mg/l und ein BSR-Wert von 90 mm/h (Tab. 1, Monat 1). Auf eine Hepatitis-B-Serologie wurde verzichtet, da die Werte als Ausdruck eines medikamentös verursachten Leberschadens gedeutet wurden. Im Verdacht standen insbesondere der ACE-Hemmer Cilazapril, mit dem der Patient wegen einer arteriellen Hypertonie behandelt wurde, sein mässiger Alkoholabusus und die von ihm eingenommenen Naturprodukte (Permixon®, Legalon®). Nachdem die Behandlung mit Cilazapril eingestellt wurde und der Patient aufgehört hatte, regelmässig Alkohol und die Naturprodukte zu sich zu nehmen, normalisierten sich seine Leberwerte bis auf weiterhin erhöhte γ-GT- und AP-Werte und verminderte Albuminwerte (Tab. 1, Monate 4–13).

Ein halbes Jahr nach Erstkonsultation wurde uns der Patient erneut wegen der persistierend erhöhten CRP-Werte und Blutsenkungsreaktionen zur stationären Aufnahme überwiesen (Tab. 1, Monat 5). Der Patient klagte über geringfügige Steifigkeit und Schmerzen im Bereich der unteren Extremitäten sowie des rechten Trigeminus. Aus der Vorgeschichte war eine derzeit nicht behandlungsbedürftige Polymyalgia rheumatica bekannt. Zum Ausschluss eines Multiplen Myeloms wurde zunächst eine Serumelektrophorese mit Immunfixation veranlasst, die eine diskrete monoklonale Komponente mit einem IgA-Lambda von 2 g/l zeigte. Unspezifisch erhöht waren insbesondere auch IgA (5,12 g/l) und IgG (24,20 g/l) bei grenzwertig niedrigem IgM (0,58 g/l). Durch eine Knochenmarkspunktion konnte der Verdacht eines frühen Multiplen Myeloms ausgeschlossen werden. Das histologische Bild des Knochenmarks zeigte eine durchreifende Hämatopoese ohne Plasmazellvermehrung. Die Ergebnisse der Serumelektrophorese wurden als Ausdruck eines entzündlichen Geschehens interpretiert. Die histologische Untersuchung einer Temporalbiopsie ergab schliesslich den klassischen Befund einer Arteriitis temporalis.

Im Hinblick auf die positive Hepatitisanamnese und die persistierend pathologischen γ-GT-, AP- und Albumin-Werte waren Zweifel aufgekommen, dass es sich um rein medikamentös verursachte Leberveränderungen handelte. Zudem wollte man vor Beginn einer immunsuppressiven Therapie der Arteriitis temporalis ein chronisch-infektiöses Lebergeschehen ausschliessen. Die Hepatitis-B-Serologie wies eine ungewöhnliche Konstellation auf: HBs-Antigen (HBsAg) und Anti-HBe-Antikörper (HBeAk) negativ, HBe-Antigen (HBeAg), Anti-HBc- und Anti-HBs-Antikörper (HBcAk und HBsAk) positiv (Tab. 2, Monat 5). Nicht nachweisen liessen sich Anti-HDV- und Anti-HCV-Antikörper (HDVAk und HCVAk).

Wir äusserten den Verdacht einer niedrig replizierenden okkulten Hepatitis-B-Virus-Infektion (OHB) mit oder ohne Escape-Mutante. Den gleichen Befund konnten wir aus einer zweiten Serumprobe vier Wochen später, ebenfalls auf der diagnostischen Plattfom Axsym (Abbott) (Tab. 2, Monat 6), erheben. Unsere Ergebnisse wurden von zwei auswärtigen Labors auf einer anderen Plattform (Elecsys, Roche) bestätigt. Um den Verdacht einer niedrig replizierenden OHB zu verifizieren, wurde die Viruslast aus zwei Blutproben von verschiedenen Tagen bestimmt. Als Ausdruck einer wenig aktiven Hepatitis-B-Infektion wurde eine geringe Viruslast von 275 IU/ml (ca. 1375 Kopien/ml) aus Serum bzw. 499 IU/ml (ca. 2495 Kopien/ml) aus EDTA-Plasma nachgewiesen. Eine anschliessende Sequenzanalyse des HBsAg wies die grösste Homologie mit dem Genotyp D auf. Im Vergleich zum Genotyp-D-Wildtyp wurden folgende Mutationen identifiziert: G44E, P120H, R122Q, D144G, F161Y und G185E. Die am häufigsten publizierte Escape-Mutation G145R wurde jedoch nicht gefunden.

Aufgrund der Arteriitis temporalis wurde eine Therapie mit Prednison (70 mg, 1-0-0) initiiert und die Dosis im Verlauf langsam reduziert. Während dieser immunsuppressiven Behandlung wurde dem Patienten zur Prophylaxe einer verstärkten HBV-Replikation begleitend die Therapie mit Lamivudin (100 mg, 1-0-0) verordnet. Auch ein halbes Jahr später (Tab. 2, Monat 11) liess sich die initiale Konstellation der HBV-Serologie noch nachweisen. Die γ-GT war weiterhin pathologisch, die AP- und die Albumin-Werte normalisierten sich (Tab. 1, Monat 15) anhaltend im Follow-up bis jetzt (Monat 31). Unter der Prednisontherapie war es im Verlauf zu osteoporotischen Kompressionsfrakturen der BWK 10 und 12 gekommen, die konservativ behandelt wurden. Ein perforiertes Duodenalulkus des Patienten wurde exzidiert und sein Abdomen lavagiert. Im Anschluss kam es aufgrund von Wundheilungsstörungen zu einer sekundären Wundheilung und einer Narbenhernie. Mit der derzeitigen Dosis von 5 mg Prednison (1-0-0) geht

Tabelle 1. Klinisch-chemische Parameter im Verlauf.

Monat	ALAT (10–37) U/l	ASAT (11–36) U/l	γ-GT (11–66) U/l	AP (43–106) U/l	Bilirubin (5–26) µmol/l	Albumin (35–52) g/l	CRP (<10,0) mg/l	BSR (0–19) mm/h
1	56 +	51 +	1199 +	385 +	10	31 –	140,8 +	90 +
4	32	30	312 +	170 +	10	31 –	83,2 +	95 +
5	15	25	166 +	124 +	7	29 –	58,5 +	80 +
8	19	22	150 +	88	18	36	<3,0	18 +
11	55 +	47 +	346 +	123 +	31 +	34 –	51,5 +	nb
12	67 +	33	1366 +	383 +	14	29 –	44,2 +	nb
13	37	30	796 +	231 +	7	22 –	29,2 +	nb
15	22	26	233 +	86	12	34 –	21,4 +	nb
29	11	26	97 +	67	11	36	21,5 +	nb
31	16	25	146 +	67	15	37	8,7	29 +

Werte mit +: über die Norm erhöht; Werte mit –: unter die Norm erniedrigt; Werte in Klammern: Referenzbereich; nb = nicht bestimmt.

Tabelle 2. Hepatitis-B-Serologie im Verlauf.

Monat	Parameter						
	HBsAg	HBsAk (<10) IE/l	HBcAk IgG + IgM	HbcAk IgM	HBeAg	HBeAk	HBV-DNA-PCR quantitativ (12) IU/ml
5	neg	15,1	pos	neg	pos	neg	275
6	neg	18,7	pos	neg	pos	neg	499
11	neg	17,2	pos	neg	pos	neg	nb
29	nb	14,0	nb	nb	nb	nb	<12
31	neg	14,0	pos	neg	pos	neg	<12

Werte in Klammern: Referenzbereich; nb = nicht bestimmt.

es dem Patienten gut, und unter der Behandlung mit Lamuvidin lässt sich aktuell keine HBV-DNA mehr aus EDTA-Plasma in der PCR nachweisen (<12 IU/ml); das serologische Profil präsentiert sich jedoch unverändert (Tab. 2, Monat 29 und 31), so dass weiterhin von einer okkulten Hepatitis B auszugehen ist.

Kommentar

Eine OHB ist durch das Vorhandensein von HBV-DNA im Blut und/oder der Leber bei negativem HBsAg gekennzeichnet. Bei Patienten mit OHB, die eine chronische Hepatitis aufweisen oder aber auch völlig gesund sein können, sind die folgenden serologischen Konstellationen beschrieben [1]:

– negatives HBsAg bei positivem HBeAg (wie bei unserem Patienten),
– isolierte HBcAk,
– isolierte HBsAk (mit und ohne Impfanamnese),
– HBsAg negativ, aber HBcAk und HBsAk positiv (typisches Muster einer abgelaufenen Hepatitis B),
– fehlende serologische Marker einer HBV-Infektion.

In den Studien, die von Torbenson und Thomas reviewed wurden [1], finden sich bei einem Drittel (35%) der Patienten mit OHB HBsAk, jedoch bei nicht einmal der Hälfte (42%) HBcAk und bei ca. 20% der Patienten gar keine serologischen Marker einer stattgefundenen Infektion. Meistens, wie auch bei unserem Patienten, kann nicht sicher geklärt werden, warum sich das HBsAg nicht nachweisen lässt. Zum einen wäre möglich, dass die bei unserem Patienten vorhandenen HBsAk mit dem HBsAg Immunkomplexe gebildet haben. Zum anderen könnte auch ein in seiner Struktur vom Wildtyp abweichendes mutiertes HBsAg vorliegen, so dass es von den diagnostischen Antikörpern unseres HBsAg-Assays nicht erkannt wird, was als Escape-Mutante bezeichnet wird. Beide Mechanismen können zu einer HBsAg-Negativität im Testsystem führen.

Die durch uns veranlasste HBsAg-Sequenzanalyse identifizierte u.a. die Mutationen P120H, D144G und F161Y im Vergleich zum Genotyp-D-Wildtyp. Sequenzabweichungen an diesen Aminosäurepositionen sind im Zusammenhang mit einer verminderten Affinität diagnostischer Antikörper beschrieben [2, 3]. Unser HBsAg-Assay (Abbott) sollte HBsAg mit bestimmten Aminosäuresubstitutionen an diesen Positionen detektieren [2, 3]. Wir wissen jedoch nicht, ob unser Assay auch die in unserem Fall nachgewiesenen 3 (bzw. 6) Sequenzabweichungen bzw. Aminosäuresubsitutionen erkennt. Die einzige bekannte Mutante (T123N), die das Testsystem nicht erkennt (persönliche Mitteilung, Abbott), wurde bei der Sequenzanalyse des HBsAg nicht nachgewiesen. Möglicherweise ist aber auch

durch die Mutationen die Replikationsfähigkeit des Virus und/oder die Genexpression des HBsAg beeinträchtigt, so dass die Menge an gebildetem HBsAg unter den Nachweisgrenzen der Testsysteme liegt.

Hinweise für eine beeinträchtigte HBV-Replikation aufgrund einer Koinfektion mit HCV oder HDV gab es bei unserem Patienten nicht. Zu einer eingeschränkten Virusreplikation mit nicht nachweisbarem HBsAg bei Patienten mit OHB trägt wahrscheinlich auch das wirtsspezifische Immunsystem bei (T-Zell-Lymphozyten und Zytokine), denn unter einer Immunsuppression können diese Patienten die HBV-Replikation reaktivieren [4]. Vor einer immunsuppressiven Therapie sollte eine OHB deshalb durch eine HBV-DNA-PCR ausgeschlossen werden. Insbesondere dann, wenn es sich um Risikopatienten für eine HBV-Infektion handelt oder wenn pathologische Leberwerte oder positive serologische HBV-Marker vorliegen. Im Falle einer positiven HBV-DNA-PCR kann so vor der Immunsuppression eine präemptive antivirale Therapie eingeleitet werden.

Weitere Hinweise für eine OHB sind Leberfunktionsstörungen unklarer Ätiologie sowie isolierte HBcAk. Der Goldstandard für den Ausschluss bzw. Nachweis einer OHB ist die HBV-DNA-PCR aus einer Leberbiopsie. Diese Untersuchung kann aber auch mit einer sensitiven PCR aus EDTA-Blut versucht werden. Die zu einer Suppression der HBV-Replikation führenden viralen (z.B. genetischen) und wirtspezifischen (z.B. immunologischen) Faktoren bei Patienten mit OHB können nicht nur eine HBsAg-Negativität, sondern auch sehr niedrige bis nicht nachweisbare Mengen an HBV-DNA im Blut (wie zuletzt bei unserem Patienten) zur Folge haben. Interessanterweise können diese Patienten in der Leber jedoch vergleichbare Mengen an HBV-DNA aufweisen wie Patienten mit HBsAg-positiver HBV-Infektion [5].

Aufgrund der potentiellen Schwächen bei der HBsAg-Detektion empfehlen wir für das routinemässige Screening auf eine HBV-Infektion die Bestimmung von HBsAg und HBcAk und zusätzlich bei begründetem Verdacht auf eine Hepatitis mit auffälligen Leberwerten eine HBV-DNA-PCR, auch bei negativer Hepatitis-B-Serologie.

Korrespondenz:
Dr. med. Annette Blaich
Fachbereichsleiterin Infektionsserologie
Abteilung Klinische Mikrobiologie
Universitätsspital Basel
CH-4031 Basel
blaicha@uhbs.ch

Literatur

1 Torbenson M, Thomas DL. Occult hepatitis B. Lancet Infect Dis. 2002; 2(8):479–86.
2 Moermann B, Moons V, Sommer H, Schmitt Y, Steffen S. Evaluation of sensitivity for wild type and mutant forms of hepatitis B surface antigen by four commercial HBsAg assays. Clin Lab. 2004;50(3–4): 159–62.
3 Weber B, van der Taelem-Brulé N. Performance of hepatitis B surface antigen (HBsAg) assays for the detection of recombinant and native mutants and screening for HbsAg mutants in isolated anti-Hbc positive sera.14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Prague. 2004; P1076.
4 Hollinger FB, Sood G. Occult hepatitis B virus infection: a covert operation. J Viral Hepat. 2010;17(1):1–15.
5 Werle-Lapostolle B, Bowden S, Locarnini S, Wursthorn K, Petersen J, Lau G, et al. Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy. Gastroenterology. 2004;126(7):1750–8.