

JÖRG PETERSEN, HAMBURG

# Die Rolle des HBsAg in der Therapie der Hepatitis B

*Die Therapiemöglichkeiten der chronischen Hepatitis B haben sich in den letzten fünf Jahren deutlich verbessert. Neue Ziele der Behandlung sind neben der dauerhaften Suppression der Virusreplikation möglichst auch der HBsAg-Verlust und die HBs-Serokonversion als Zeichen der immunologischen Kontrolle der Erkrankung. Der Abfall des HBsAg-Spiegel unter der Therapie könnte ein früher Marker dafür sein.*

Die Europäische Vereinigung zum Studium der Leber EASL hat in ihren 2009 veröffentlichten Clinical Practice Guidelines zur Hepatitis B den Verlust von HBsAg (Hepatitis B surface Antigen) oder noch besser die Serokonversion zu Anti-HBs Antikörpern als den nachdrücklichst anzustrebenden Therapieendpunkt bezeichnet, der einer spontanen Heilung der Erkrankung auch am nächsten kommt (EASL CPG Hepatitis B, J Hepatology Februar 2009). Unterstützung erfährt dieser Standpunkt von den Studien zum natürlichen Verlauf der chronischen Hepatitis B. Patienten, die HBsAg immunologisch eliminieren konnten, zeigten bessere Überlebensraten, niedrigere Raten an hepatischer Dekompensation und eine Reduktion der Frequenz von hepatozellulären Karzinomen vor allem bei zirrhotischen Patienten (Fattovich G et al. Am J Gastroenterol 1998; 93:896-900). Bei diesen Patienten fand

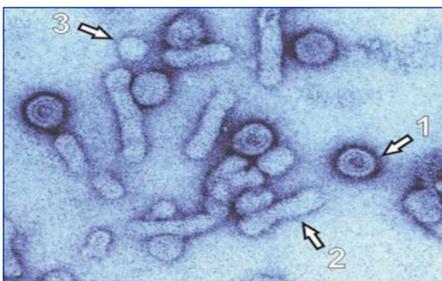


Abb. 1: HBsAg elektronenmikroskopisch: Virione 42 nm (1), Filamente 22nm (2), Sphärische Partikel (3) – Die Produktion defekter HBs Partikel übersteigt die Virionproduktion um einen Faktor von  $10^3$ - $10^6$ , wobei die Regulation der HBsAg-Synthese bislang nur unzureichend verstanden wird

sich zudem in molekularen Studien nur noch sehr wenig cccDNA, welche die Matrix der viralen Replikation im Zellkern infizierter Hepatozyten darstellt (Werle-Lapostolle et al. Gastroenterology 2004; 126:1750-1758). Dieser Aspekt ist für den klinischen Alltag von großer Bedeutung. Das Risiko einer Reaktivierung der Hepatitis B ist bei nur noch anti HBe (core)-positiven und HBsAg-negativen Patienten niedrig, selbst wenn diese sich einer Chemotherapie bei malignen oder anderen Erkrankungen unterziehen müssen (Lok A et al. Gastroenterology 1991;100.182-86).

## HBsAg-VERLUST IN KLINISCHEN STUDIEN

Bislang wurde der HBsAg-Verlust aufgrund der niedrigen Erfolgsrate nicht als primärer Endpunkt in klinischen Studien verwendet. In der Mehrheit der Nukleos(t)idstudien konnten auch nach mehrjähriger Therapie bislang lediglich HBsAg-Verlustraten von etwa 1-2% pro Jahr nachgewiesen werden und das auch nur bei westlichen Patienten, die meist initial HBeAg-positiv waren (Chu CM et al. Hepatology 2007;45.1187-92, Heathcote J et al. EASL 2009 #909). Interferon alpha kann ebenfalls zum HBsAg-Verlust führen, allerdings nach der 6-12 monatigen Therapie auch nur bei sehr wenigen Patienten. Bei HBeAg-positiven Patienten hatten in den zumeist retrospektiv erhobenen Studien lediglich 3-10% HBsAg verloren (Perillo R, Hepatology 2009;49:1063-65, Marcellin P et al. NEJM 2004;351:1206-17). Bei den HBeAg-negativen Patienten war dieser

Prozentsatz meist sogar noch geringer. Interessanterweise scheint die Zahl der Patienten, die HBsAg eliminieren, im Laufe der Jahre nach Beendigung der Interferon-Therapie weiter anzusteigen und zwar sowohl bei HBeAg-positiven und HBeAg-negativen Patienten (Chu CM et al. Hepatology 2007; 45.1187-92, Buster E et al. Gastroenterology 2008;135:459-67). Bei HBeAg-negativen Patienten liegen die aktuellen Zahlen bei 12% nach 5 Jahren, wobei diese Patienten alle initial auf die Interferontherapie angesprochen haben (Marcellin et al. AASLD 2009, #387).

## HBsAg-ABFALL ALS PRÄDIKTOR

Von einem konzeptionellen Standpunkt aus betrachtet, könnte die Abnahme der HBsAg-Konzentration zu bestimmten Zeitpunkten unter der Therapie, Hinweise auf den nachfolgenden Therapieerfolg geben. So könnte ein Algorithmus, berechnet nach longitudinaler quantitativer HBsAg-Bestimmung, eine bessere Vorhersagbarkeit des Therapieerfolges mit positivem wie negativem Vorhersagewert ermöglichen. Dies wäre von großem Vorteil nicht nur aus Kostengründen, sondern auch im Hinblick auf die Motivation der Patienten, die unter einer nebenwirkungsträchtigen Therapie leiden sowie nicht zuletzt bei den im Allgemeinen schwieriger zu therapierenden HBeAg-negativen Patienten.

## TECHNISCHE PROBLEME

Erfreulicherweise lässt sich HBsAg mittlerweile zuverlässig quantifizieren. Es existieren verschiedene kommerzielle Assays zur Quantifizierung, vor allem das Architect System der Firma Abbott, insbesondere in Europa, und das Elecsys II System der Firma Roche, vornehmlich in den USA, sowie das ADVIA Centaur System der Firma Siemens Healthcare (früher Bayer Healthcare) oder der Hepanostika Test von Biomerieux. Mit Hilfe dieser Tests lassen sich Kinetiken des HBsAg-Abfalls unter Therapie erstellen. Es soll hier jedoch betont werden, dass die HBsAg-Bestimmung nicht ganz einfach ist.

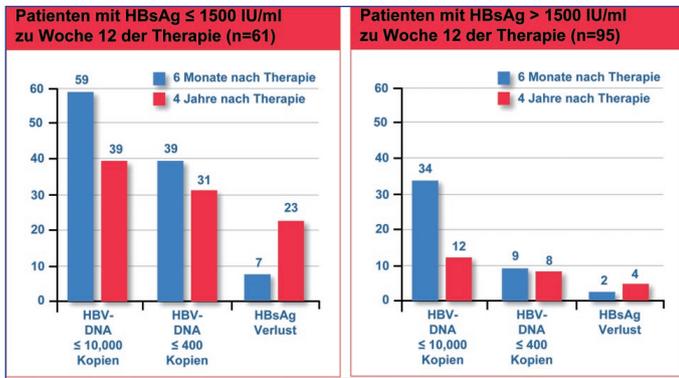


Abb. 2: HBsAg-Reduktion und virologische Antwort in HBeAg neg. Patienten unter PEG-Interferon alfa 2a (+/-Lamivudin)

Entscheidend ist, dass durch geeignete Vorverdünnung der lineare Messbereich des Tests erreicht wird. Daneben gibt es verschiedene Subfraktionen von HBsAg und Störmechanismen in der Messgenauigkeit, die bislang nicht komplett untersucht sind. Zudem sind die Steuerungsmechanismen der HBsAg-Synthese bislang nicht vollständig aufgeklärt (Abb. 1). Erste Ergebnisse kleiner Pilotstudien zeigen, dass der Abfall der Gesamtmenge an gemessenem HBsAg unter Interferon im Vergleich zu den Nucleosidanaloga deutlich akzentuierter in der Anfangsphase zu verlaufen erscheint. Substantielle Reduktionen sind zumeist bereits nach 12-24 Wochen nach Therapiebeginn zu verzeichnen, insbesondere bei Patienten, die zu einem späteren Zeitpunkt das HBsAg eliminieren konnten (Wursthorn et al. Hepatology 2006;44:675-84, Manesis EK et al. Antiviral Therapy 2007;12:73-82, Gish RG et al. Am J Gastroenterol 2007;102:2718-2723).

**AKTUELLE DATEN**

In diesem Jahr wurden zwei interessante Studien in Hepatology veröffentlicht, die sich mit HBsAg-Messungen bei HBeAg-negativen Patienten während der Therapie mit PEG IFN alpha 2a beschäftigen. In der ersten Studie von Moucari und Kollegen (Moucari R et al. Hepatology 2009;49:1141-50) wurden 48 Patienten mit pegyliertem Interferon alpha 2a therapiert. Die Autoren konnten zeigen, dass ein früher Abfall der HBsAg-Konzentration

mit dem Architect System gemessen, hochsignifikant mit einer späteren nicht detektierbaren Menge von HBV DNA assoziiert war, was die Autoren eine SVR (sustained virale response, in Analogie zur Hepatitis C) nannten. Interessanterweise zeigte die Kinetik der HBV DNA unter Therapie keinen Unterschied zwischen SVR Patienten und späteren Relapsen. Patienten, bei denen praktisch keine Änderung der HBsAg-Konzentration bis Woche 12 und 24 zu verzeichnen war, hatten dagegen einen negativen Vorhersagewert (NPV) von 92%, respektive 97%, für eine SVR. Dieser NPV könnte somit in weiteren Studien als mögliches „stopping rule“ für den klinischen Alltag bei PEG IFN Therapien weiterentwickelt werden. In einer zweiten Studie von Brunetto und Kollegen (Brunetto M et al. Hepatology 2009; 49:1151-60) konnte gezeigt werden, dass die „end of treatment“ HBsAg-Konzentration bei 386 therapierten HBeAg-negativen Patienten, retrospektiv betrachtet, mit einer HBV DNA Reduktion auf unter 400 Kopien/ml sechs Monate nach Therapieende streng korrelierte. HBsAg-Spiegel von <10 IU/ml zum Ende der PEG IFN Therapie und Abnahme von HBsAg-Konzentration > 1log<sub>10</sub>

IU/ml zu Woche 48 der Therapie korrelierten signifikant mit einem HBsAg-Verlust drei Jahre nach Beendigung der IFN Therapie. Unter PEG IFN kam es zudem zu einem 30fach stärkeren Abfall der HBsAg-Spiegel im Vergleich zu Patienten, die mit Lamivudin therapiert wurden (Abb. 2). In beiden Studien wurden die Daten retrospektiv ausgewertet, so dass prospektive Studien noch fehlen ebenso wie vergleichbare Daten mit den höher potenten Mitteln Entecavir und Tenofovir. Dennoch könnte die Messung der Konzentration von HBsAg ein zusätzliches Werkzeug zur DNA-Bestimmung im Sinne einer „response guided therapy“ oder in Analogie zu HCV eine stärker individualisierte Therapie der Hepatitis B ermöglichen. Höchstwahrscheinlich werden zukünftige Studien zur Therapie der Hepatitis B daher eine Quantifizierung von HBsAg beinhalten, und dies sowohl für IFN wie für die Nucleos(t)idanaloga. Insbesondere für die Nucleos(t)id-Analoga könnte es wichtig werden, die Messung von HBsAg-Spiegeln als indirekten und nicht-invasiven Surrogatparameter für die Menge an cccDNA in der Leber heranzuziehen. Es ist mittlerweile bekannt, dass der Genotyp bei der Hepatitis B mit der SVR nach

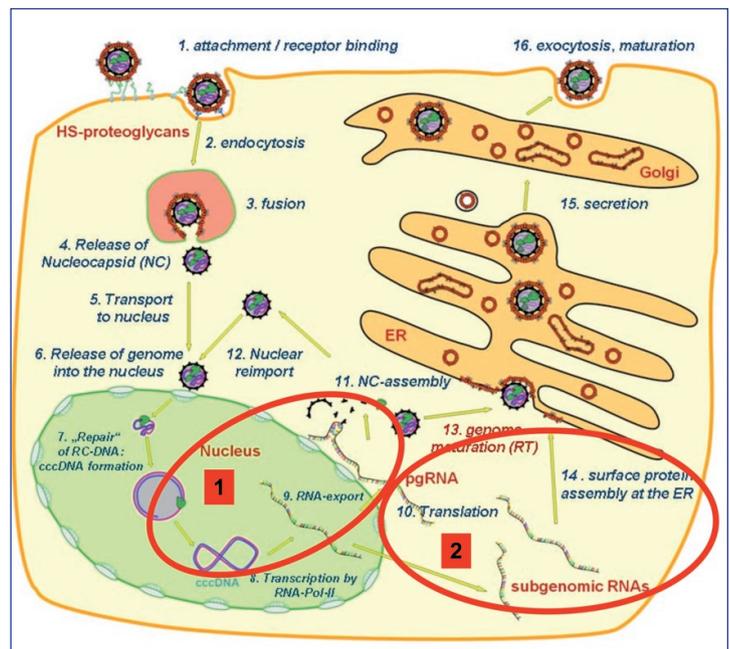


Abb. 3: Replikationszyklus HBV 1: virale Replikation, 2: HbsAg-Synthese

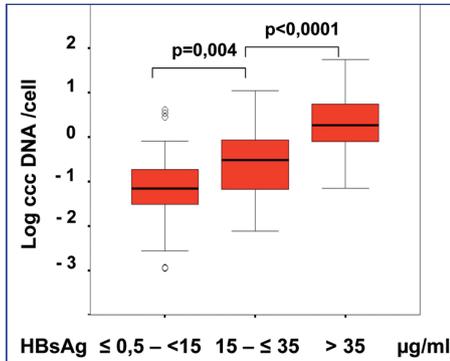


Abb. 4: Korrelation von cccDNA Kopienzahl und HbsAg-Spiegel. Volz et al. *Gastroenterology* 2007;133:845-52

Interferontherapie korreliert, sowohl in HBeAg-positiven wie in HBeAg-negativen Patienten (Bonino F et al. *Gut* 2007;56:699-705, Erhardt A et al. *Hepatology* 2008;48 (suppl):700A). Eine SVR tritt häufiger in HBeAg-positiven Patienten mit Genotyp A und in HBeAg-negativen Patienten mit Genotyp C ein. Hingegen zeigten sich bis-

lang die niedrigsten Raten an SVR in Patienten unter Interferon in HBeAg-negativen Patienten mit Genotyp D. Interessanterweise sind dies diejenigen Patienten, die den geringsten Abfall an HbsAg in der Studie von Brunetto und Kollegen aufwiesen.

In der Abbildung 3 ist der virale Replikationszyklus des Hepatitis B Virus dargestellt. Wichtig für das Verständnis und die Einordnung des HbsAg in die Wertigkeit zukünftiger Untersuchungen ist die Tatsache, dass die virale Replikation von der cccDNA und die Generation von HbsAg unterschiedliche, voneinander unabhängige mRNAs mit unterschiedlichen Promotoren nutzen. Von daher kann die HbsAg-Quantifizierung immer nur einen indirekten Hinweis auf die Menge von cccDNA, also virale Matrize im Zellkern, liefern, zudem die Regulationsmechanismen von cccDNA und HbsAg Synthese bislang nur

unzureichend verstanden werden. Für die Korrelation von HbsAg im Serum mit der Menge an cccDNA in der Leber sind nach ersten Veröffentlichungen (u.a. Volz T et al. *Gastroenterology* 2007;133: 845-52, Abb. 4) beim EASL-Kongress 2009 kürzlich mehrere Studien mit z.T. widersprüchlichen Ergebnissen vorgestellt worden, was die Korrelationsmöglichkeiten von HbsAg und cccDNA betrifft (EASL 2009: T Pollicino et al. Abstract 577; L Lu et al. Abstract 567). Zu diesem sehr interessanten Aspekt, der möglicherweise zur besseren Definition von Therapieendpunkten bei der Hepatitis B beitragen kann, müssen daher noch weitere prospektive Studien abgewartet werden. ■

Prof. Dr. Jörg Petersen  
Leberzentrum Hamburg im  
IFI Institut für Interdisziplinäre Medizin an der  
Asklepios Klinik St. Georg Haus K  
Lohmühlenstraße 5  
20099 Hamburg  
E-Mail: [petersen@ifi-medizin.de](mailto:petersen@ifi-medizin.de)

WOLFRAM H. GERLICH, GIESSEN

## HBsAg-Quantifizierung Warum und wie?

*Das Surface-Antigen (HBsAg) des Hepatitis B Virus (HBV) ist seit seiner Entdeckung in Seren von Patienten mit akuter Hepatitis im Jahre 1968 die Hauptstütze der Hepatitis-Diagnostik. Entsprechend viel Aufmerksamkeit wird der Sensitivität und Spezifität der HBsAg-Testkits geschenkt. Vernachlässigt wurde aber jahrzehntelang die Quantifizierung des HBsAg, obwohl schon in den 1970er Jahren genaue Methoden hierfür entwickelt worden waren (Gerlich & Thomssen 1975).*

Dies hatte mehrere Ursachen:

1. Die Diagnostika-Hersteller scheuten den zusätzlichen Aufwand einer quantitativen Eichung ihrer Tests.
2. Die Kliniker erlagen einem Schwarz-Weiß-Denken und begnügten sich mit einem Positiv/Negativ-Befund.
3. Die Forscher und Institutionen, die quantitative Verfahren und Referenzpräparate entwickelten, waren sich nicht einig und schufen ein Wirrwarr widersprüchlicher, z.T. falscher Maßeinheiten für HBsAg (s.u.).

### GRÜNDE FÜR HBsAg-QUANTIFIZIERUNG

Dabei gibt es viele gute Gründe, HBsAg quantitativ zu messen und gut definierte klinisch relevante Referenzpräparate zu verwenden.

- Selbst wenn die HBsAg-Menge bei reinen Screeningtests nicht interessiert, ist es doch für die objektive Feststellung der analytischen Sensitivität und die Qualitätssicherung der Diagnostik notwendig, Referenzpräparate mit definiertem zuverlässig konstantem HBsAg-Gehalt zu verwenden. Hierfür stehen

seit 1975 Standardpräparate des Paul-Ehrlich-Instituts (PEI) (Gerlich & Thomssen 1975), seit 1984 auch der WHO zur Verfügung (Ferguson et al. 2003).

- Die HBsAg-Konzentration im Serum ist ein indirektes Maß für Zahl und Expressionsaktivität der intrahepatischen cccDNA-Formen des HBV-Genoms. Bei geringer HBV-spezifischer Immunabwehr und Vorliegen von HBeAg korreliert die Gesamtmenge des zirkulierenden HBsAg sehr gut mit der Zahl der zirkulierenden HBV-Partikel (gemessen durch realtime PCR auf HBV-DNA). In einer von der WHO und dem PEI initiierten Studie zu Referenzpräparaten für HBsAg und HBV-DNA (M. Chudy et al. 2009) betrug das Verhältnis von HBsAg in den Viruspartikeln zu der Menge an subviralen 20 nm HBsAg-Partikeln bei allen acht bekannten HBV-Genotypen 1:2700 ± 1300. Dieses Verhältnis gilt allerdings nur für HBV-Träger mit HBeAg und >10<sup>7</sup> IU/ml HBV-DNA (W. Gerlich, in Vorbereitung). Starke Abweichungen von diesem Verhältnis spre-

chen dafür, dass entweder das Verhältnis von HBsAg-Expression zu HBV-RNA-Prägenom-Expression (und/oder Transkription, Translation, Sekretion) untypisch ist oder dass es eine selektive starke Suppression der HBV-Reifung durch Therapie oder Immunabwehr gibt. In Extremfällen kann das HBsAg in den üblichen Immunassays stark positive Signale liefern, während HBV-DNA selbst mit empfindlicher Nukleinsäureamplifikationstechniken (NAT) nicht nachweisbar ist.

- Selbstverständlich kann es aber keine HBsAg-Expression ohne intrazelluläre HBV-DNA geben. In der Tat wurde auch und gerade bei erfolgreich therapierten Patienten eine gute Korrelation zwischen der HBsAg-Konzentration im Serum und der intrahepatischen cccDNA gefunden (siehe J. Petersen, Seite 24). Eine Leber-Biopsie ist natürlich viel schwieriger zu erhalten als eine Serumprobe und auch die quantitative Bestimmung der cccDNA ist im Gegensatz zur quantitativen HBsAg-Bestimmung nur in wenigen Forschungslaboren möglich.
- Aufgrund dieser Umstände ist es naheliegend, das HBsAg quantitativ zu bestimmen. Schon in den 1970er Jahren wurde gezeigt, dass eine Abnahme der HBsAg-Menge um mehr als 60% innerhalb von 4 Wochen nach Krankheitsbeginn das Ausheilen einer akuten Hepatitis B anzeigt, während eine geringere Abnahme bzw. Konstanz oder Zunahme in über 90% von Chronifizierung gefolgt war (Gerlich et al. 1977, Abb. 1). Spätere engmaschigere Messungen der HBV-DNA- und HBsAg-Kinetik bei Patienten mit akuter Hepatitis B zeigten, dass die Halbwertszeit des HBsAg zunächst bei 8 Tagen lag, aber nach 4 Wochen auf 6 Tage abgenommen hat, so dass sich also die HBsAg-Elimination im Verlauf der Krankheit auf Grund der Immunantwort beschleunigte und schließlich zum völligen Verschwinden führte.

Die Halbwertszeit der HBV-DNA war dagegen zunächst sehr kurz – 1,6 Tage – nahm aber immer mehr zu, so dass im Endeffekt die HBV-DNA auf niedrigem Niveau persistierte (Chulanov et al. 2003).

- In zwei älteren Studien zur Therapie mit Interferon wurde gezeigt, dass eine niedrige HBsAg-Konzentration vor Therapie unter 30.000 PEI-Einheiten/ml mit einem bleibenden Erfolg (HBeAg-Serokonversion, Normalisierung der Transaminasen) verknüpft war (Burczynska et al. 1994; Erhardt et al. 2000). Dies gilt aber nur für HBeAg-positive Patienten (Abb. 2). Leider wurden diese älteren Befunde wenig beachtet.
- In den letzten Jahren wurde das Hauptaugenmerk auf die Veränderung der HBsAg-Konzentration unter und nach Interferontherapie gelenkt (s. J. Petersen, S. 24). Charakteristisch für die Interferontherapie ist, dass sie bei einigen Patienten noch Jahre nach Therapie-Ende zu einem Verschwinden des HBsAg führt, was sich allerdings schon zu Therapie-Ende durch niedrige HBsAg-Konzentrationen ankündigt (Brunetto et al. 2009). Noch bedeutsamer ist, dass sich der relativ seltene langfristige Erfolg einer 48-wöchigen Interferontherapie schon während der Therapie durch eine stetige Abnahme des HBsAg erkennen lässt, wobei eine Abnahme um mehr als eine halbe 10log-Stufe innerhalb von 12 Wochen einen negativen Vorhersagewert von 90% und einen positiven Vorhersagewert von 89% hat (Moucari et al. 2009; Abb. 3). Angesichts der Tatsache, dass nur 21% bzw. 25% sich einer anhaltenden Heilung (sustained viral response, SVR) nach langfristiger Therapie (48 Wochen) erfreuen, ist ein frühes Erkennen des späteren Erfolgs bzw. Misserfolgs bereits nach 12 Wochen ein sehr wesentlicher Fortschritt. Allerdings handelt es sich bei den beiden Studien nur um retrospektive Analysen, so dass nunmehr prospektive Studien folgen sollten.

| HBsAg-Konzentrations-<br>Änderung in 4 Wochen | Anzahl der Fälle |            |
|---|------------------|------------|
|   | ausgeheilt       | persistent |
| Abnahme >60%                                  | 337              | 2          |
| Konstant oder <60%                            | 2                | 13         |
| Zunahme                                       | 1                | 15         |

Abb. 1: Prognose der akuten Hepatitis B. Deutschland, 1970er Jahre, 370 Fälle, biopsisch bestätigt. Gerlich, Stamm, Thomssen Verh. Dtsch.Ges. Inn.Med. 1977, 83,554-557

| Erfolg  | ja    | nein | P      |
|---------|-------|------|--------|
| HBeAg + | 15,8* | 50*  | <0.003 |
| HBeAg - | 3,8   | 4,5  | ns     |

\* µg/mL, bzw. PEI-KU/mL durch Laurell-Elektrophorese

Abb. 2: Prognostischer Wert der HBsAg-Konzentration vor Interferontherapie. Düsseldorf, 1990er, 96 chronische HB-Patienten. Erhardt et al. Hepatology 2000; 31:716-725

| 48 Patienten mit chron. Hepatitis B, HBeAg-negativ |           |           |           |
|--|-----------|-----------|-----------|
| - 48 W. PEG-Ifn                                    |           |           |           |
| - 12 (25%) bleibende Heilung (SVR, <70 copies/mL)  |           |           |           |
| - 3 HBsAg negativ                                  |           |           |           |
| - Abnahme des HBsAg nur bei SVR                    |           |           |           |
| Woche  | 12        | 24        | 48        |
| Abnahme*   | 0,8 ± 0,5 | 1,5 ± 0,6 | 2,1 ± 1,2 |

\*Differenz log HBsAg IU/mL zum Anfangswert  
Abnahme >0,5 nach 12 W.: 90% NPV, 89% PPV  
>1,0 nach 24 W.: 97% NPV, 92% PPV

Abb. 3: HBsAg-Bestimmung bei Therapie-Monitoring. Moucari et al. Hepatology 2009 April 49(4):1151-7

### MARKER FÜR VIRUSLAST IN DER LEBER

Bislang bestand das Therapie-Monitoring ausschließlich auf der quantitativen Messung der „Viruslast“ im Serum. Diese Messung muss sowohl bei Interferon als auch Nukleos(tid)-Therapie beibehalten werden.

Wie aber erwähnt, zeigt diese Messung nur die kurzfristige Unterdrückung der Virusreifung und -Sekretion. Die eigentliche Viruslast in der Leber kann dagegen mit der HBsAg-Menge besser abgeschätzt werden, wenngleich es große individuelle Unterschiede zwischen intrazellulärer Virusgenomzahl, Expression und tatsächlicher HBsAg-Konzentration geben mag.

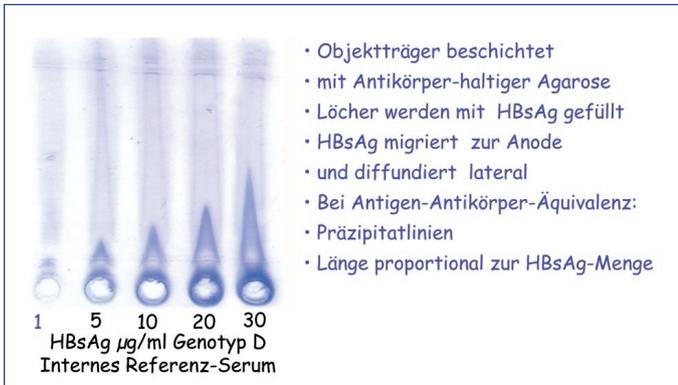


Abb. 4: Quantitative Immun-Elektrophorese (QIE) von HBs-Antigenen (Laurell-Elektrophorese). Gerlich und Thomssen, *Devel. Biol. Standard* 1975. Gerlich et al., 2004. *Hepatitis B Virus Protocols*

## METHODEN UND EINHEITEN

Für zukünftige Studien wird es sehr wesentlich sein, die HBsAg-Konzentration untereinander zu vergleichen, sofern man sich darauf verlassen kann, dass die Messmethoden richtig geeicht sind. Dann wird es auch möglich sein, nicht nur die relativen Änderungen der HBsAg-Menge unter Therapie, sondern auch absolute Werte zu Beginn der Therapie bereits in die Therapieplanung einzubeziehen. Die modernen quantitativen Testkits werden mit Hilfe eines WHO-Standardserums in International Units (IU) per ml geeicht. Die früher häufige Angabe in Nanogramm HBsAg-Protein/ml wird von der WHO ausdrücklich abgelehnt, da bei einem internationalen Ringversuch die Nanogramm-Angaben aufgrund unterschiedlich geeichter Referenzpräparate bis zum Faktor 10 voneinander abwichen (Ferguson et al. 2003). Dennoch ist es möglich, die willkürlichen IU in SI-Einheiten zu eichen, wie dies schon vor 34 Jahren für die PEI-Einheiten gezeigt wurde (Gerlich & Thomssen 1975). Für das zukünftige HBsAg-Genotyp-Panel der WHO wurde in der Mehrzahl der Proben (12/16) eine erstaunlich konstante Beziehung zwischen physikochemisch gemessenen HBsAg-Gehalt in Nanogramm und der HBsAg-Reaktivität im Immunoassay Architect der Fa. Abbott gemessen. Ein Nanogramm entsprach dabei  $1,08 \pm 0,13$  IU.

Allerdings gab es auch vier Ausreißer, die z.T. deutlich höhere IU-Werte pro Nanogramm zeigten. Mit dem In-Haus-Test des Autors, der Laurell-Elektrophorese (Abb. 4), wurde dagegen für alle Proben ein Wert von 1,2 IU pro Nanogramm gefunden. Da nicht vorausgesetzt werden kann,

dass alle Tests alle Genotypen und Varianten gleich gut erkennen, ist in jedem Fall die Angabe von IU/ml empfehlenswert. Man muss dabei im Auge behalten, dass der Internationale Standard der WHO HBsAg des Genotyps A2 enthält, der nur in Mitteleuropa und den USA häufig ist, während 99% der HBV-Träger weltweit andere Genotypen aufweisen. Unter Beachtung dieser Fakten wird die Anwendung einheitlich geeichter Testkits einen wesentlichen Fortschritt bringen.

Zu beachten ist noch, dass die HBsAg-Mengen zu Beginn einer akuten Hepatitis B oder bei HBeAg-positiver unbehandelter chronischer HBV-Infektion meist sehr hoch sind und im Bereich von 30.000 bis 200.000 IU/ml liegen. Der lineare Messbereich der Testkits reicht dagegen u.U. nur bis (einige) Hundert IU/ml, oft sogar nur bis 10 IU/ml. Dies bedeutet, dass man die Probe so stark verdünnen muss, dass das Ergebnis im linearen Messbereich liegt. Dies erfordert sorgfältige Verdünnungsarbeit und eine individuelle Beurteilung der zu erwartenden HBsAg-Konzentration. Dass eine genaue Messung der HBsAg-Menge von Nöten ist zeigen die bisherigen Studien, wo bereits eine Abnahme um den Faktor 3 innerhalb von 3 Monaten für die Bewertung des Therapie-Erfolgs bedeutsam war. Die Unterschiede zwischen den Respondern und Nonrespondern vor The-

rapie sind noch geringer. Daher sollte man in Zukunft erwägen, wieder von der logarithmischen Darstellung abzukommen. Diese ist für die Viruslast wegen der sehr großen Unterschiede, aber auch wegen der geringeren Messgenauigkeit sinnvoll, sie nivelliert aber relevante HBsAg-Konzentrationsunterschiede zu stark. Nach den Erfahrungen des Autors verstehen die meisten Laborärzte die Bedeutung der HBsAg-Quantifizierung bislang nicht und halten die HBV-DNA-Bestimmung für ausreichend. Es wird sicherlich noch eine Reihe guter klinischer Studien sowie sorgsamer methodischer Arbeiten brauchen, bis dieser alte und nun wieder neue Parameter die gebührende Anerkennung gewinnt. ■

Prof. Wolfram H. Gerlich  
Institut für Medizinische Virologie  
Nationales Referenzzentrum für Hepatitis B Viren  
Frankfurter Straße 107 · 35392 Giessen  
E-Mail: [Wolfram.H.Gerlich@viro.med.uni-giessen.de](mailto:Wolfram.H.Gerlich@viro.med.uni-giessen.de)

Brunetto MR, Moriconi F, Bonino F, Lau GK, Farci P, Yurdaydin C, Piratvisuth T, Luo K, Wang Y, Hadziyannis S, Wolf E, McCloud P, Batrla R, Marcellin P. (2009). Hepatitis B virus surface antigen levels: a guide to sustained response to peginterferon alpha-2a in HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Hepatology*. Apr;49(4):1141-50

Burczynska B, Madalinski K, Pawlowska J., Woynarowski M., Socha J., Gerlich W.H., Willems W.R., Wozniwicz B., Stachowski J. (1994) The value of quantitative measurement of HBeAg and HBsAg before interferon- $\alpha$  treatment of chronic hepatitis B in children. *J. Hepatol.* 21:1097-1102

Chudy M, Hanschmann K-M, KreB J, Gerlich WH, C Nübling M. (2009). Collaborative Study to Establish a World Health Organization International Genotype Panel for Hepatitis B Virus Nucleic Acid Amplification Technique (NAT)-Based Assays. *WHO/BS/09.2121*

Chulanov, V.P., Shipulin, G.A., Schaefer, S., Gerlich, W.H. (2003). Kinetic of HBV DNA and HBsAg in acute hepatitis B patients with and without coinfection by other hepatitis viruses. *J. Med. Virol.*69:313-323

Erhardt A., Reineke, U., Blondin, D., Gerlich W.H., Adams, O., Heintges, R., Niederau, C, Häussinger D. (2000). Mutations of the core promoter and response to interferon treatment in chronic replicative hepatitis B. *Hepatology* 31 (3): 716-25

Ferguson M, Heath A, Lelie N, Nübling M, Nick S, Gerlich W, Decker R, Padilla A. WHO Working Group on Hepatitis and HIV Diagnostic Kits. Report of a collaborative study to 1) assess the suitability of a candidate replacement International Standard for HBsAg and a reference panel for HBsAg and 2) to calibrate the candidate standard in IU. 2003; <http://www.who.int/bloodproducts/cs/en/031987.pdf>

Gerlich W. H., Thomssen R. (1975). Standardized detection of hepatitis B surface antigen: determination of its serum concentration in weight units per volume. *Develop. biol. standard.* Vol 30, 78-87 (S. Karger, Basel)

Gerlich W.H., Stamm, B., Thomssen R. (1977). Prognostic significance of quantitative HBsAg determination with acute hepatitis B. *Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med.* 83, 554-557

Gerlich, W.H., Wend, U., Glebe, D. (2004). Quantitative assay of hepatitis B surface antigen in serum or plasma using Laurell electrophoresis. In: Lau, J., Hamatake, R.: *Hepatitis B Virus protocols book*, p. 57-63, Humana press, Totowa, N.J.

Moucarri R, Mackiewicz V, Lada O, Ripault MP, Castelnau C, Martinot-Peignoux M, Dauvergne A, Asselah T, Boyer N, Bedossa P, Valla D, Vidaud M, Nicolas-Chanoine MH, Marcellin P. (2009). Early serum HBsAg drop: a strong predictor of sustained virological response to pegylated interferon alpha-2a in HBeAg-negative patients. *Hepatology*. Apr;49(4):1151-7