

Aus dem Institut für Virologie der Universität zu Köln
Direktor: Universitätsprofessor Dr. rer. nat. Dr. h. c. Herbert Pfister

Prävalenzen und Risikofaktoren für Hepatitis-B- und -C-Virus-Infektionen
bei HAART-naiven HIV-Patienten

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von
Frank Wilhelm
aus Bonn

promoviert am:
08. Mai 2013

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln,

2013

- Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. Dr. h. c. Th. Krieg
1. Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. rer. nat. Dr. h. c. H. Pfister
2. Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. med. G. Fätkenheuer

Erklärung:

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts habe ich Unterstützungsleistungen erhalten von Herrn Prof. Dr. rer. nat. Dr. h. c. H. Pfister und Herrn Dr. rer. nat. R. Kaiser.

Weitere Personen waren an der geistigen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorliegenden Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Köln, den 06.12.2012

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Experimente sind von mir mit Unterstützung von Herrn Dr. rer. nat. R. Kaiser und der medizinisch-technischen Assistentin D. Hammerschmidt durchgeführt worden.

Die Krankengeschichten wurden von mir selbst ausgewertet.

Mein besonders herzlicher Dank gilt Herrn Dr. rer. nat. Rolf Kaiser für die beständige und intensive Betreuung während der Zeit meiner Promotion.

Herrn Universitätsprofessor Dr. rer. nat. Dr. h. c. Herbert Pfister danke ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und seine wohlwollende Unterstützung bei der Fertigstellung meiner Arbeit.

Herrn Prof. Dr. phil. nat. Dr. h. c. Wolfram Gerlich danke ich für Beratung und die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Herrn Privatdozent Dr. med. Stefan Reuter danke ich für die wertvolle Zusammenarbeit bei Suche und Interpretation der klinischen Daten und insbesondere bei der Fertigstellung der Publikation.

Frau Dörte Hammerschmidt möchte ich für die Unterstützung bei der Laborarbeit danken.

Für die Beratung in Fragen der Statistik danke ich Herrn Bastian Beggel.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	7
1. Einleitung	
1.1 Hintergrund	9
1.2 Fragestellung und Ziele	10
2. Okkulte Hepatitis B Virus Infektion (OBI)	
2.1 Einführung und kurzer historischer Abriss	12
2.2 Verlaufsformen und Ursachen einer OBI	13
2.2.1 Modell der chronischen Hepatitis B Erkrankung	13
2.2.2 Szenarien und Ursachen einer OBI	15
2.3 Molekulargenetische Testung und Prävalenz	18
2.4 Klinische Relevanz	20
2.4.1 OBI und HBV-assoziierte chronische Leber- Erkrankungen	20
2.4.2 OBI und chronische HCV-Koinfektion	22
2.5 Transmission von HBV	23
2.6 OBI bei HIV-Koinfizierten – ein Review	24
2.6.1 Ergebnisse	24
2.6.2 Einschränkung in Studien	34
2.6.3 Zusammenfassung	36
3. Material und Methoden	
3.1 Patienten und Datenakquisition	41
3.2 Diagnostik	42
3.2.1 HBV-Serologie	42
3.2.2 HBV-DNA Bestimmung	42
3.2.3 HBV-DNA Sequenzierung	43
3.3 Statistik	44
4. Ergebnisse	
4.1 HBV-Serologie und HCV	45
4.2 Soziokulturelle Aspekte	51

4.3 HBV-DNA und OBI	52
4.4 HBV-DNA-Sequenzierung	53
4.5 HIV-Resistenz	55
4.6 Klinische Parameter	57
4.7 Anti-HBs als Indikator für eine bessere zelluläre Immunantwort	58
4.8 Determinanten und Beobachtungen für replikative HBV-Infektion, HCV-Infektion, OBI und isoliertes Anti-HBc	59
5. Diskussion	
5.1 HBV-Serologie und -DNA	67
5.2 OBI	68
5.3 Isoliertes Anti-HBc	70
5.4 HCV	71
5.5 HBV-DNA-Analyse	72
5.6 HIV-Resistenzen	74
5.7 Limitierungen	75
6. Zusammenfassung	77
7. Anhang	79
7.1 Abbildungsverzeichnis	79
7.2 Tabellenverzeichnis	79
8. Literaturverzeichnis	81
9. Vorabveröffentlichung von Ergebnissen	94
10. Lebenslauf	95

Abkürzungsverzeichnis

3TC	Lamivudin
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
ALT	Alanin-Aminotransferase
Anti-HBc	Antikörper gegen Hepatitis B (Virus) core-Antigen
Anti-HBe	Antikörper gegen Hepatitis B (Virus) e-Antigen
Anti-HBs	Antikörper gegen Hepatitis B (Virus) surface-Antigen
Anti-HCV	Antikörper gegen Hepatitis C (Virus)
Anti-HDV	Antikörper gegen Hepatitis Delta (Virus)
AP	Alkalische Phosphatase
AST	Aspartat-Aminotransferase
CD4	Cluster of differentiation 4
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CID	common infective dose
DNA	Desoxyribonukleinsäure
FTC	Emtricitabin
GBV-C	GB (George Barker) Virus C
GGT	Gamma-Glutamyltransferase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (alte Bezeichnung der AST)
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase (alte Bezeichnung der ALT)
HAART	Hochaktive antiretrovirale Therapie
HBeAg	Hepatitis B e-Antigen
HBIG	Hepatitis B Immunglobulin
HBsAg	Hepatitis B surface-Antigen
HBV	Hepatitis B Virus
HCC	Hepatozelluläres Carcinom
HCV	Hepatitis C Virus
HDV	Hepatitis Delta Virus
HIV	Humanes Immundefizienz Virus
IQR	Interquartile range
IU	International Unit
IVDA	Intravenöser Drogen-Abusus
LDH	Laktat-Dehydrogenase

MHR	major hydrophilic region
MSM	Männer, die Sex mit Männern haben
N	Anzahl
NNRTI	nicht-nukleosidische Reverse Transkriptase Inhibitoren
NRTI	nukleosidische (bzw. nukleotidische) Reverse Transkriptase Inhibitoren
OBI	okkulte Hepatitis B Virus Infektion
P	probability value
PBMC	periphere mononukleäre Blutzellen
PCR	Polymerase-Ketten-Reaktion
PDR	primary drug resistance
PI	Protease-Inhibitor
q-PCR	quantitative Polymerase-Ketten-Reaktion
RKI	Robert-Koch-Institut
RESINA	Die Bedeutung von Resistenzmutationen gegenüber antiretroviralen Substanzen bei therapienaiven HIV-positiven Patienten in Nordrhein-Westfalen
RNA	Ribonukleinsäure
RTq-PCR	Real-time quantitative Polymerase-Ketten-Reaktion
TDF	Tenofovir
ULN	Upper limit of normal
VL	Viruslast

1. Einleitung

1.1 Hintergrund

Die Koinfektion bei HIV-Patienten mit Hepatitisviren findet zunehmend Beachtung. Verbesserungen in der medikamentösen Therapie, nämlich die hochaktive antiretrovirale Therapie (HAART), führen zu steigenden Lebenserwartungen bei HIV-Infizierten (60, 98). Lebererkrankungen stellen eine der führenden Ursachen in Morbidität und Mortalität innerhalb dieser Patientengruppe dar (13, 99, 160). Des Weiteren führen Koinfektionen mit Hepatitis-B- (HBV) und Hepatitis-C-Virus (HCV) zu Einschränkungen in der antiretroviralen Therapie, da es öfter zu einer Hepatotoxizität der Medikamente kommt (78, 132). Koinfektionen mit HBV und HCV sind häufig, da diese Erkrankungen ähnliche Transmissionswege besitzen (4).

Diagnostik, Progression, Morbidität und Mortalität von HBV- und HCV-Infektionen können durch eine HIV-Koinfektion beeinflusst werden.

Eine chronische HBV-Infektion, definiert als Persistenz von HBV surface Antigen (HBsAg) über mehr als 6 Monate, wird in ungefähr 10% der Fälle bei nicht-HIV-infizierten Erwachsenen beobachtet, während bei HIV-Koinfizierten die Chronifizierungsrate höher ist (32, 49, 63). Ebenso werden eine höhere virale Replikation von HBV und trotz niedrigerer Transaminasen eine schnellere Progression zur Leberzirrhose beobachtet (32). Deshalb sollte bei einer chronischen Hepatitis B eine HAART immer auch Medikamente beinhalten, die ebenso gegen HBV wirksam sind.

Entgegen allgemeiner Auffassung persistiert HBV in Form seiner kovalent geschlossenen, zirkulären DNA bei vielen Personen auch dann in geringen Mengen in Leberzellen, wenn die Infektion auf Grund des negativen HBsAg-Nachweises im Serum ausgeheilt zu sein scheint. Dies wird als okkulte Hepatitis B Infektion (OBI) bezeichnet. Eine klare Definition der OBI wurde auf einer internationalen Expertenkonferenz in Taormina, Italien, im Jahr 2008 vorgeschlagen: die Persistenz von replikationsfähigen HBV-Genomen im Körper bei negativem HBsAg-Nachweis im Serum; der zuverlässige Nachweis von HBV DNA ist jedoch nur im Lebergewebe möglich, da im Serum HBV-DNA in den meisten Fällen nicht nachweisbar ist (48, 123). Die Mechanismen, die zu einer OBI führen, sind nicht vollständig geklärt, man geht jedoch von einem multifaktoriellen Prozess aus (3, 65, 154). Die Prävalenzen der OBI bei HIV-Patienten sind sehr unterschiedlich und abhängig von den Nachweismethoden für die OBI, der geographischen Region und der Art des Patientenkollektivs (59, 103, 110, 123, 143).

Besonders problematisch ist die landläufige Definition der OBI als „HBV DNA-positiv, HBsAg negativ“, wenn nur das Serum untersucht wurde. In den meisten Fällen reicht die Nachweisempfindlichkeit der Tests für HBV-DNA nicht aus, um die im Allgemeinen minimale Virämie zu erkennen; diese beträgt in der Regel unter 200 internationalen Einheiten (IU) pro ml, was circa 1160 Kopien entspricht. Als Goldstandard gilt die Leberbiopsie, die jedoch in den seltensten Fällen verfügbar ist (48, 123). Es konnten bisher keine eindeutigen Risikofaktoren oder Determinanten für eine OBI mit nachweisbarer Virämie gefunden werden. Ebenso ist ihre klinische Relevanz nicht geklärt.

Desweiteren besteht bei HIV-Infizierten auf Grund zunehmender Immunsuppression die Gefahr eines Verlusts der Antikörper gegen HBsAg (Anti-HBs) im serologischen HBV-Profil, d.h. Anti-HBs sinkt unter die Nachweisgrenze bzw. auf Konzentrationen, die für eine Immunität nicht mehr ausreichend sind. Die Möglichkeit einer HBV-Reaktivierung oder einer Reinfektion besteht (63, 106). Es ist jedoch auch möglich, dass durch die Vermehrung von HBV sogenannte Escape-Mutanten entstehen, die durch das bereits gebildete Anti-HBs nicht neutralisiert werden. Das von dieser neuen Virusvariante gebildete andersartige HBsAg ist nicht immer in jedem kommerziellen Test zu erkennen (26). Dies wird laut Taormina-Definition als „falsche“ OBI bezeichnet (123).

Die Prävalenz der Hepatitis C wird bei HIV-Infizierten in der westlichen Welt auf bis zu 30% geschätzt (4, 132). Das HI-Virus beeinflusst eine HCV-Infektion ungünstig. Im Detail werden eine höhere HCV-Replikation und eine schnellere Progression zu Leberzirrhose und Leberversagen beobachtet (132).

1.2 Fragestellungen und Ziele

Es gibt viele Studien zu HBV- und HCV-Koinfektionen bei HIV-Patienten, jedoch waren die meisten Patienten dann schon einer HAART unterzogen worden (132, 144). Während eine HAART keinen großen Einfluss auf die Prävalenz der Antikörper gegen HBV Core-Antigen (Anti-HBc) und HCV (Anti-HCV) haben wird, ist eine starke Beeinflussung der Replikationsfähigkeit beider Viren anzunehmen. Die aktive Infektion mit replizierenden HBV und/oder HCV lässt sich am besten durch den Nachweis der viralen Nukleinsäuren im Serum nachweisen. Für therapienaive HIV-Patienten liegen keine eindeutigen Daten zu HBV- und HCV-Koinfektionen vor (40, 107).

Im vorliegenden Projekt wurden zunächst die Prävalenz und Verteilung von serologischen und molekularen Markern für eine HBV- und die Prävalenz einer HCV-Infektion für eine große deutsche Kohorte analysiert. Im Rahmen der so genannten RESINA-Studie werden Daten aus 35 Zentren in Nordrhein-Westfalen zu primären Medikamentenresistenzen bei therapie-naiven HIV-Patienten gesammelt, um die HIV-Therapie individuell zu verbessern (135). Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurden retrospektiv Daten zur Charakterisierung der HBV- und HCV-Infektion bei diesen Patienten erhoben. Speziell handelt es sich hier um eine Subanalyse von Patienten aus Düsseldorf (N=520) und Köln (N=402), sodass die Gesamtzahl bei 922 liegt. Desweiteren sollten Risikofaktoren, Determinanten und die klinische Relevanz von HBV und HCV für HIV-Infizierte auf Grund soziokultureller Daten und klinischer Laborparameter ermittelt werden. Ein besonderer Schwerpunkt ist die Erfassung und Charakterisierung der OBI in Anbetracht des erhöhten Risikos einer HBV-induzierten Leberzirrhose bei HIV-Patienten. Weiter sollte für Patienten, die HBV-DNA im Serum aufwiesen, das Genom zur Detektion von Mutationen sequenziert werden, da Resistenz- sowie Escape-assoziierte Mutationen auf Therapie und Diagnostik Auswirkungen haben.

Dies ist die erste große Untersuchung zur Charakterisierung von HBV- und HCV-Koinfektionen bei therapie-naiven HIV-Patienten in Deutschland.

2. Okkulte Hepatitis B Virus Infektion (OBI)

2.1 Einführung und kurzer historischer Abriss

Normalerweise haben die serologischen HBV-Parameter folgende Bedeutung: HBsAg zeigt eine aktuelle HBV-Infektion an; Antikörper gegen das Core-Antigen (Anti-HBc) zeigen bei negativem HBsAg eine abgelaufene HBV-Infektion mit Viruseliminierung und Remission der Krankheit an; Anti-HBs zeigen eine Immunität gegen eine HBV-Infektion an. Im Rahmen der Heilung einer Hepatitis B verschwindet HBsAg aus dem Serum, i.d.R. gefolgt von der Entwicklung von Anti-HBs bei gleichzeitig koexistierenden Anti-HBc (61,64). Aber schon 1978 wurde offensichtlich, dass es zu diesem Schema Ausnahmen gibt: so wurde berichtet, dass die Transfusion von Blut, das nur Anti-HBc aufwies („Anti-HBc-only“), zu HBV-Infektionen bei den Empfängern führte (62). Auch konnte HBV-DNA in Patienten gefunden werden, die negativ für HBsAg und positiv für Anti-HBs waren (104, 151). In Tierstudien mit Schimpansen konnte die virale Fitness einer HBsAg-negativen, also okkulten, HBV-Infektion gezeigt werden, indem die Affen eine akute Hepatitis bei Empfang von diesem Blut entwickelten (152).

So wurde das Konzept einer okkulten (auch stillen oder latenten) HBV-Infektion (OBI) entwickelt, definiert als HBV-Infektion mit niedriger Virus-Replikation bei negativem HBsAg und unabhängig vom Vorhandensein von Anti-HBc und/oder Anti-HBs. Es gilt der Ausschluss der Phase vor der Serokonversion von HBsAg zu Anti-HBs; hier verschwindet patientenindividuell HBsAg bei gleichzeitig noch nicht nachweisbarem Anti-HBs. Ebenso die sogenannte Fenster-Periode, bei der in der unmittelbaren Phase nach der Infektion noch kein HBsAg nachweisbar ist (65). Am häufigsten wird eine OBI bei Trägern des Anti-HBc-only-Status beobachtet (29), aber sie wurde auch bei Patienten, die positiv für Anti-HBs (in ganz seltenen Fällen sogar ausschließlich Anti-HBs positiv) waren oder sogar keinen einzigen serologischen Parameter für HBV aufwiesen, berichtet (29,45, 104, 151). Besonders im Rahmen einer HCV-Koinfektion scheint eine serologisch komplett negative OBI mit ungefähr 20% relativ häufig zu sein (154).

Ebenfalls können die klinischen Verläufe, die zu einer OBI führen unterschiedlich sein. Es wurde sowohl über Fälle nach einer akuten, selbst-limitierenden Infektion – teilweise erst zwei bis drei Jahrzehnte später nachweisbar durch HBV-DNA im Serum – als auch bei chronischen HBV-Infektionen und solchen, die erfolgreich mit

Medikamenten behandelt wurden, berichtet (14, 88, 94, 128, 162). Hohe Prävalenzen zeigen sich bei Patienten mit Hepatozellulärem Carcinom (116) und HCV-Koinfizierten (21, 45).

2.2 Verlaufsformen und Ursachen einer OBI

2.2.1 Modell der chronischen Hepatitis-B Erkrankung

(nach Torbenson & Thomas, modifiziert durch Allain et al. (3, 154))

In Individuen, wo HBV persistiert, konnten drei klinische Stadien definiert werden:

Das erste Stadium ist das der chronischen Hepatitis B, definiert als positiver serologischer Nachweis von HBsAg über mehr als 6 Monate. Hier finden sich in der Regel hohe DNA-Spiegel, über 10^5 Kopien pro ml, erhöhte Leberenzyme und es liegt das größte Transmissionsrisiko vor (87). Normalerweise findet man im Serum auch HBeAg (83, 111), aber auf Grund von pre-Core-Mutationen, die die Expression des HBeAg verhindern, zunehmend auch nicht (55).

Das zweite Stadium ist das des sogenannten „asymptomatischen Trägers“. Hier bleibt das HBsAg positiv, während die DNA-Spiegel niedrig, oft unter 10^5 Kopien pro ml, und die Leberenzyme meist normal sind und eine Serokonversion von HBeAg nach Anti-HBe stattgefunden hat. Die Infektiosität bei HBeAg Negativen ist statistisch geringer (84, 90).

Im letzten und dritten Stadium der viralen Persistenz, der sogenannten okkulten Hepatitis B, ist das HBsAg schließlich nicht mehr nachweisbar, der Status der drei Antikörper variabel und die DNA-Spiegel in der Regel unter 10^4 IU pro ml (1 IU entspricht circa 5,8 Kopien), oft auch unter 10^2 IU pro ml (3, 154). Nach jüngsten Erkenntnissen weist man bei Patienten mit OBI für gewöhnlich Mengen von unter 200 IU pro ml nach, was etwas mehr als 10^3 Kopien pro ml entspricht (123).

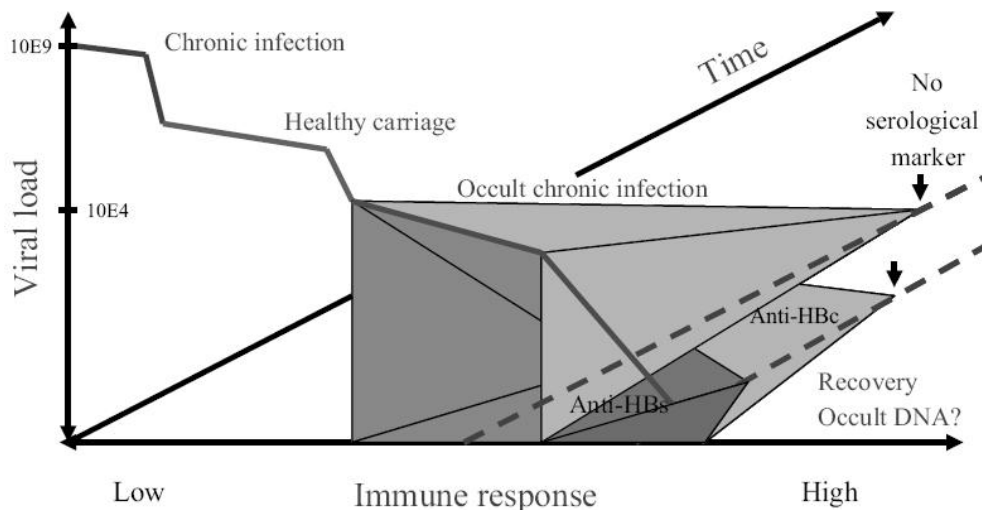


Abb. 1: Modell der chronischen HBV-Infektion nach Allain et al. und Torbenson & Thomas

Diese drei Stadien kann man in einem dreidimensionalen Modell mit den Dimensionen Stärke der Immunantwort, Viruslast und Zeit verbinden. Abhängig von der Stärke der Immunantwort sinkt die Viruslast und die chronische HBeAg-positive HBV-Infektion geht in den meist asymptomatischen Träger-Status mit positiven Anti-HBe über. Steigt die Immunantwort weiter, wird das HBsAg im Serum undetektierbar und die Viruslast sinkt weiter. Als Grenze zu dieser okkulten Infektion werden Werte von ca. 10^4 IU pro ml angenommen. Mit der Zeit werden zunächst die Anti-HBe, nachher auch die Anti-HBc im Serum undetektierbar. Dies ist dann das zeitlich letzte Stadium, wo nur noch HBV-DNA, meist unter 10^3 Kopien pro ml, bei völliger Abwesenheit von serologischen Markern, nachweisbar ist (3).

Zusammengefasst wäre nach diesem Modell die okkulte Hepatitis B ein klinisches Stadium in einer Serie von mehreren abhängig von der individuellen Immunantwort. In diesem Modell überschneidet sich also die okkulte Hepatitis B mit einer ausgeheilten, abhängig vom Nachweis von HBV-DNA. Dieses Modell ist keineswegs starr, sondern eine Bewegung zwischen den Stadien ist möglich, wie auch klinische Beobachtungen gezeigt haben. Faktoren hierfür können eine Einschränkung der Immunantwort sein, z.B. Chemotherapie oder eine HIV-Infektion, aber auch eine Steigerung der Immunantwort wie durch eine Interferon-alpha Therapie. Für einen Wechsel zwischen den Stadien können auch virale Faktoren wie Mutationen in S- oder X-Gen verantwortlich sein (154).

2.2 Szenarien und Ursachen einer OBI

Nach Allain et al. können nun verschiedene Szenarien zu einer okkulten Hepatitis B führen:

- a) Eine OBI ergibt sich aus einer scheinbar abgelaufenen und ausgeheilten Infektion. Diese Patienten weisen Anti-HBc und Anti-HBs auf. Die Infektion ist jedoch nicht ausgeheilt, sondern das Virus wird vom Immunsystem des Patienten gut kontrolliert. Bei einer OBI repliziert das Virus über Jahre mit niedrigen DNA-Spiegeln weiter; HBV-DNA ist in Leber, peripheren mononukleären Blutzellen und auch im Serum nachweisbar (94, 128, 109, 162, 163). Die Ursachen der OBI sind meist unklar, man vermutet unter anderem eine inkomplette Immunantwort durch zytotoxische T-Zellen, die nur die meisten, aber nicht alle infizierten Zellen töten (94, 128). Ebenso konnte beobachtet werden, dass das Virus nicht nur in freier Form zirkuliert, sondern auch Komplexe mit Anti-HBs bildet (68, 69). Einige Studien konnten dies aufzeigen: für teilweise mehrere Jahrzehnte nach einer akuten, selbstlimitierenden Hepatitis B konnten HB-Viren in Form von Immunkomplexen und in Anwesenheit von Anti-HBs persistieren (162). Hohe Anti-HBs-Titer können also mit HBsAg, was in Relation dazu geringer konzentriert ist, Komplexe eingehen und es neutralisieren, sodass es durch diagnostische Assays nicht mehr nachweisbar ist. Der genaue Mechanismus für diese teilweise lange Persistenz ist aber unklar (65).
- b) Escape-Mutanten können das Bild einer OBI erzeugen. Es ist bereits länger bekannt, dass Mutationen in der a-Determinante der S-Region des Virus zu einer veränderten bis nicht mehr vorhandenen Antigen-Erkennung des HBsAg durch diagnostische Assays führen. Die a-Determinante beinhaltet die wichtigsten Epitope zur Erkennung durch Antikörper (65). Es konnte gezeigt werden, dass in Patienten mit OBI Mutationen im Bereich der Aminosäuren 98 bis 156 signifikant öfter auftraten als in anderen Virusgenombereichen des S-Gens und in Kontrollgruppen mit positivem serologischen HBsAg (161). Gründe, die zu diesen Mutationen führen, sind die individuelle Immunantwort des Patienten, aktive wie passive Impfung und antivirale Medikamente. Am bekanntesten ist der Aminosäureaustausch von Glycin nach Alanin an Stelle 145 des HBsAg (G145R); es sind aber noch zahlreiche andere Mutationen bekannt (25). Bezüglich dieses Hintergrunds wurden die diagnostischen Assays von den jeweiligen Firmen auch

zur Erkennung von Escape-Mutanten neben dem Wildtyp-Virus verändert. Dies geschieht durch Nutzung von polyklonalen anstatt monoklonalen Antikörpern oder durch mehrere monoklonale Antikörper. Jedoch sind nicht alle Antikörperteste derart optimiert und können alle Mutanten entdecken (50, 161). Wichtig ist die Unterscheidung, ob die Escape-Mutanten zu dem klinischen Bild einer OBI führen oder ob Escape-Mutanten durch die OBI erst entstehen. Im ersteren Fall handelt es sich meist um Vaccine-Escape-Mutanten. Diese werden bei Behandlung mit Hepatitis B Immunglobulinen (HBIG) selektioniert, häufig handelt es sich um Neugeborene HBV-infizierter Mütter oder Transplantatempfänger (158). Laut Taormina-Konferenz sollten diese Fälle als „falsche“ OBI klassifiziert werden, denn man findet auch normale Mengen an HBV-DNA im Serum (123). Im Gegensatz dazu ist es ein häufiges Phänomen, dass eine wirkliche OBI die Entstehung von Escape-Mutanten begünstigt. Man findet hier erstens deutlich mehr Mutationen in der major hydrophilic region (MHR; Aminosäuren 103 bis 173 des HBsAg), die für die Antigenerkennung entscheidend ist, und zweitens auch andere Mutationen als bei Vaccine-Escape-Mutanten (7, 48). Bei Patienten mit positivem Anti-HBs findet man gezielt Mutationen, die auf Grund des Selektionsdruckes der vorhandenen Antikörper entstehen und die Antigenität des HBsAg verändern, bei Patienten ohne Nachweis von Anti-HBs scheinen Mutationen eher zufällig zu entstehen bis per Akkumulation auch Escape-Varianten erzeugt werden (36).

c) OBI mit isoliert positivem Anti-HBc. Hierfür gibt es zwei Hauptgründe (52). Der erste ist, dass nach Jahren im asymptomatischen Träger-Status das HBsAg unter die Nachweisgrenze der Assays sinkt. Bei einigen Patienten sind die Antikörper gegen das HBeAg noch detektierbar, aber in der Regel mit niedrigen Titern. Der zweite Grund ist, dass – ähnlich wie bei Punkt a) – bei einer scheinbar ausgeheilten, aber nach wie vor auf niedrigem Spiegel replizierenden HBV-Infektion, die Anti-HBs nach Jahren unter die Nachweisgrenze der Assays sinken.

d) Nachweis von HBV-DNA ohne jeglichen serologischen Marker. Diese Patienten scheinen in einem sehr späten Stadium der chronischen HBV-Infektion zu sein, wo auch Anti-HBc nicht länger detektierbar sind. Verschiedene Gruppen konnten solche Fälle nachweisen. Der genaue Mechanismus hierfür ist noch unklar (3).

Laut Hu et al. kommen auch noch andere Gründe für eine OBI in Frage:

e) Die Integration von Virus-DNA in körpereigene Zellen. Dies ist sowohl während einer akuten, als auch einer chronischen Hepatitis möglich. In Patienten mit einer okkulten Hepatitis B konnte integrierte HBV-DNA nachgewiesen werden (16, 75). Es konnte allerdings bei Patienten mit okkulten Hepatitis B das Phänomen beobachtet werden, dass diese Integration nur Teile des Virusgenoms betrifft (91). Die HBV-DNA-Integration könnte also zu einer Veränderung der viralen DNA-Sequenz führen, welche wiederum zu einer Veränderung der Expression von HBsAg führt und in serologisch HBsAg-negativen Patienten resultiert. Besonders bei Patienten mit Entwicklung eines HCC während der HBV-Infektion konnten hohe Raten der HBV-Integration festgestellt werden (75). Bei Patienten mit okkulten Hepatitis B, besonders solche mit HCC, konnte eine signifikant höhere Rate an integrierter HBV-DNA nachgewiesen werden (92, 93).

Weil das HBV-Genom zirkulär ist, wird es bei Integration in menschliche Chromosomen jedoch immer unterbrochen und verändert. Dass die HBV-Integrate auch replikationskompetent sind, konnte nicht gezeigt werden. So ist es unwahrscheinlich, dass dieser Mechanismus für eine OBI verantwortlich ist.

f) Der Verbleib von HBV-DNA in peripheren mononukleären Blutzellen (PBMC), also Monozyten, T- und B-Zellen. Das Phänomen von HBV-DNA in diesen Zellen während einer akuten oder chronischen HBV-Infektion ist bekannt und scheint geläufig zu sein. Es wurde die Expression von Virusproteinen in diesen Zellen gezeigt (147). Nun wurde auch HBV-DNA in PBMC's bei HBsAg-negativen Patienten, die als geheilt galten, gefunden. Dies führte zur Hypothese, dass PBMC's als ein Reservoir für eine HBV-Persistenz fungieren (114). Ein Hinweis für die Pathogenität dieser Konstellation erfolgte bei Leber-Transplantierten, deren Transplantation Hepatitis B begründet war: es erfolgten mögliche rezidivierende Infektionen über die HBV-DNA der PBMC's (18, 39). Zum Ausschluss von verbliebenen Viren im Blut wurden nämlich vor der Transplantation die HBV-Stämme in Leber und PBMC's miteinander verglichen. Nach der Transplantation war ein Shift der HBV-Stämme von denjenigen aus der Leber zu denen aus PBMC's beobachtet worden.

Für Patienten mit OBI gibt es bisher jedoch keine Daten, die eine Präsenz von HBV-DNA in PBMC's schlüssig bewerten und eine hypothetische Replikation des Virus in diesen Zellen belegen (123).

g) Bei einer HCV-Koinfektion könnte es zu einer Interferenz zwischen den beiden Viren kommen, was in einer okkulten Hepatitis B resultiert. Es ist bekannt, dass eine HCV-Koinfektion zu einem verzögerten Erscheinen, niedrigeren Spiegel und einer kürzeren Verweildauer, also einem schnelleren Absinken unter die Nachweisgrenze, von HBsAg im Serum führt. Auch sind die HBV-DNA-Mengen in dieser Konstellation niedriger (82). Studien mit Zellkulturen konnten zeigen, dass das HCV-core-Protein die Replikation von HBV beeinflusst und zwar in Form einer verringerten viralen Expression (141). Die Expression von HBV-Proteinen in der Leber ist ebenfalls verringert (53).

2.3 Molekulargenetische Testung und Prävalenz

Die HBV-DNA-Spiegel im Serum sind bei der OBI definitionsgemäß laut Taormina-Konferenz unter 10^3 Kopien pro ml (123, 161). Erschwerend kommt hinzu, dass die Beobachtung gemacht wurde, dass die HBV-Virämie nicht konstant auf diesen sehr niedrigen Spiegel ist, sondern fluktuiert, sodass sie phasenweise nicht nachweisbar ist (165). Bei Patienten mit OBI ist die Frequenz und auch die Konzentration von intrahepatischer HBV-DNA gewöhnlich höher als die im Serum, da die Leber der zentrale Ort für die HBV-Replikation ist (19, 22, 154). Viele Studien konnten bei einem Teil der Patienten intrahepatisch HBsAg nachweisen, was eine aktive Translation von Virusproteinen auch bei Patienten mit OBI bedeutet (29, 45).

Die Prävalenz der OBI exakt zu erfassen ist aufgrund dieser Faktoren so gut wie unmöglich:

- 1.) Die Frequenz von nachgewiesener HBV-DNA bei negativem HBsAg ist von der Prävalenz der Hepatitis B in der Bevölkerung der betroffenen Region/des Landes abhängig (3, 65).
- 2.) Die Prävalenz der OBI ist abhängig von der Zusammensetzung der Studienpopulation: Risikofaktoren und klinische Entitäten, die die Prävalenz erhöhen, sind unter anderem ein positiver Anti-HBc-Test, Immunsuppression wie bei HIV, HCV-Koinfektion, Leberzirrhose, HCC (65, 154).
- 3.) Die Bearbeitung der DNA-Probe ist entscheidend. Hier sind wichtig die Probenmenge, die verwendet wird, also der Input von HBV-DNA und die Art

der DNA-Aufbereitung (65, 154). Auf der Taormina-Konferenz wurde ein Input von 1ml Serum empfohlen (123).

- 4.) Die Sensitivität des Assays und die Auswahl der Primer ist sehr entscheidend, gerade in Hinblick auf die niedrigen Virämien bei der OBI (154). Hierzu gab es lange keine gemeinsame Normgrenze oder internationale Vorgabe – außer dass die Sensitivität so hoch wie möglich sein soll. Auf der Taormina-Konferenz wurden für die OBI folgende Empfehlungen ausgesprochen: der Einsatz einer nested PCR oder einer real-time PCR (bei einem Detektionslimit von weniger als 10 Kopien pro Reaktion) sowie ein Set aus mindestens drei Oligonukleotid-Primern, die an verschiedene und hochkonservierte Regionen (Genotyp-übergreifend) des HBV-Genoms binden (48, 123).
- 5.) Bei Nutzung von weniger spezifischen, jedoch sehr sensitiven PCR-Assays, speziell der nested PCR, besteht die Gefahr von falsch-positiven Resultaten aufgrund Kontamination. Dies kann nur durch ein hochspezifisches Verfahren ausgeschlossen werden, wie es durch die Sequenzierung des Amplifikates geschehen sollte (154).
- 6.) Bei Nutzung des Batch- oder Pool-Verfahrens um kostengünstig und schneller zu arbeiten sinkt die Sensitivität (103).
- 7.) Aufgrund der im Serum fluktuierend nachweisbaren HBV-DNA wird die Untersuchung von zu mehreren Zeitpunkten gewonnenen Proben empfohlen (123).

In einer europäischen Studie wurde die Prävalenz der kryptogenen Hepatitis auf 24% geschätzt (10). Bezüglich Europa ist in ungefähr 20 bis 30% dieser Fälle eine okkulte Hepatitis B ursächlich (21). Ein Report aus Indien gibt eine Prävalenz von 9,4% bei 591 Patienten mit kryptogener Hepatitis an; alle Patienten wiesen Anti-HBc auf, Anti-HBe war negativ, Anti-HBs wurde nicht beobachtet (28).

Im Rahmen eines HCC variiert die Prävalenz einer OBI von 5 bis 80% in den verschiedenen Untersuchungen (17, 33, 37, 115, 116, 140).

Bei Patienten mit HCV-Infektion wurde über Prävalenzen von 22 bis 87% berichtet (21, 45, 70, 157).

Zusammengefasst ist es in den meisten Fällen nicht sinnvoll die Ergebnisse verschiedener Forschergruppen und Studien zur Prävalenz der OBI im Vergleich zu interpretieren, da sie sich vor allem in den Punkten 1,2 und 4 methodisch stark unterscheiden.

Eine Auflistung der Ergebnisse verschiedener Gruppen zur Prävalenz der OBI unter HIV-Koinfizierten mit Berücksichtigung der hier genannten Punkte erfolgt in Kapitel 2.6.

2.4 Klinische Relevanz

2.4.1 OBI und HBV-assoziierte chronische Lebererkrankungen

Es ist bekannt, dass eine HBsAg-Serum-Clearance und Serokonversion zu Anti-HBs nicht gleichbedeutend mit einer vollkommenen – nicht nur klinisch, sondern auch histologisch nachzuweisenden – Heilung ist. Dies konnte in verschiedenen Szenarien gezeigt werden.

So wurde bei 16 Patienten 30 Jahre nach einer akuten selbstlimitierenden Hepatitis B der aktuelle Status analysiert. Alle waren positiv für Anti-HBc und keiner hatte klinische Anzeichen einer Lebererkrankung. Bei vier Patienten dieses Kollektivs wurden Leberbiopsien vorgenommen. Alle vier zeigten keine HBV-DNA im Serum und in PBMC's, aber bei zwei konnte HBV-DNA in der Leber nachgewiesen werden. Diese zwei zeigten histologisch auch eine milde Inflammation der Leber; einer hatte moderate Erhöhungen der Alanin-Aminotransferase (ALT). Zusammengefasst zeigen die Ergebnisse, dass vor dem Hintergrund einer akuten Hepatitis eine OBI selten und mit milder chronischer Leberentzündung vorkommt, aber meist als benigne zu werten ist (14).

In einer anderen Studie wurden elf Patienten nach einer Interferon-Therapie und HBsAg-Clearance untersucht. Es zeigte sich eine Besserung der biochemischen Marker: die ALT erreichte bei neun Patienten Normwerte, bei Zweien zeigte sich eine moderate Erhöhung. Ebenso zeigten alle elf auch histologisch eine Besserung. Aber bei Niemandem zeigte sich eine normale Leberhistologie, vielmehr blieb eine milde Entzündung bestehen. Es konnten auch geringe Konzentrationen von HBV-DNA nachgewiesen werden (42).

Die Ergebnisse bei Patienten mit chronischer Hepatitis B und verzögerter HBsAg-Clearance sind stark kontrovers. Einige Studien zeigen im Zeitraum von bis zu 5 Jahren nach HBsAg-Clearance keine histologische Evidenz einer fortwährenden Entzündung (80, 81). Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen konnten andere Gruppen in bis zu 32,7%

der Fälle über eine Krankheitsprogression mit Entwicklung von Zirrhose, HCC und akutem Leberversagen berichten (1, 66). Gründe für diese divergenten Ergebnisse können die Aufnahme von Patienten mit bereits vorbestehender Lebererkrankung (z.B. durch Alkohol), die unterschiedlichen Typen der zugrundeliegenden Lebererkrankung, die Dauer der aktiven Hepatitis B, das Ausmaß der Leberzerstörung während der Hepatitis B und eine Koinfektion mit anderen hepatotropen Viren, besonders HCV, sein (65).

Bei Patienten mit kryptogener chronischer Lebererkrankung konnten ebenfalls Fälle von OBI nachgewiesen werden. In einer spanischen Studie konnte bei 19% von 109 Patienten mit ätiologisch unklarer Erhöhung der Leberenzyme eine okkulte Hepatitis B gezeigt werden. Neun von 18, deren HBV-Serologie bekannt waren, hatten eine komplett negative Serologie. 62% der Patienten mit OBI hatten den histologisch gesicherten Befund einer chronischen Hepatitis und/oder Zirrhose (11). In einer anderen Studie konnten ähnliche Resultate präsentiert werden. 15 von 50 Patienten, also 30%, zeigten eine OBI bei kryptogener Lebererkrankung. Davon hatten 66% erhöhte Leberenzyme und 53% histologisch eine schwere Fibrose bzw. Zirrhose (29).

In einer großen deutschen Studie mit 552 Patienten, die serologisch isoliert positiv für Anti-HBc waren, wurde bei 8,1% oder 44 Patienten HBV-DNA im Serum gefunden. 16 von 39 Patienten, also 41%, zeigten HBV-DNA in der Leber, nur einer davon gleichzeitig im Serum. Es gab keine Korrelation zwischen dem Nachweis von HBV-DNA, ob in Leber oder im Serum, und biochemischen, sonographischen oder histologischen Markern einer Lebererkrankung (72).

Weiterhin kann eine OBI im Rahmen einer Immunsuppression in eine Reaktivierung der HBV-Infektion mit dem typischen Bild einer Hepatitis B übergehen. Zunächst kann diese Reaktivierung der viralen Replikation asymptomatisch sein. Wird jedoch die Immunkontrolle des Patienten wieder hergestellt, z.B. bei einem HIV-Patienten durch eine HAART, kann oft ein schwerer bis fulminanter Verlauf der Hepatitis B erfolgen (123, 124). Außerdem gilt eine OBI als Risikofaktor für die Carcinogenese des HCC (65, 124), besonders wenn zusätzliche leberschädigende Faktoren wie eine HCV-Koinfektion oder Alkoholabusus hinzukommen.

2.4.2 OBI und chronische HCV-Koinfektion

Aufgrund ähnlicher Transmissionswege ist eine Koinfektion mit HBV und HCV keine Seltenheit. Die Prävalenz von Anti-HBc bei HCV-Infizierten ist höher als in der Allgemeinbevölkerung (46). Die meisten Studien konnten ebenso aufzeigen, dass HBV-DNA bei Patienten mit positiver HCV-RNA und negativem HBsAg häufig vorkommt – zw. 22 und 87% (21, 45, 70, 157). Dies scheint bei Patienten mit Nachweis von Anti-HBc häufiger der Fall zu sein als bei Anti-HBc-negativen (46 zu 20%) (21). Ebenso scheint die Frequenz einer OBI signifikant höher zu sein, wenn die Lebererkrankung HCV-abhängig ist (62 zu 19%) (166).

Die klinische Aussagekraft ist aufgrund teils kontroverser Berichte unklar. Einige Studien konnten eine signifikant höhere Inzidenz einer Zirrhose bei Koinfizierten im Vergleich zu HCV-Monoinfizierten zeigen (33% zu 19%) (21), andere nicht (70). Ebenso war in manchen Studien eine Koinfektion mit leicht höheren ALT-Werten und einer erhöhten histologischen Entzündungsaktivität im Vergleich zur HCV-Monoinfektion assoziiert (45, 157), andere Studien berichteten über vergleichbare Leber-bezogene Komplikationen wie bei HCV-Monoinfizierten (70, 71). Die HCV-RNA zeigte bei Koinfizierten in einer Studie signifikant höhere RNA-Spiegel (45), andere Gruppen berichteten über ähnliche (108) oder sogar niedrigere Werte bei Kombination mit positiven Anti-HBc (34).

Zusammengefasst scheint eine OBI im Rahmen einer HCV-Koinfektion mit schnellerer Progression zu Fibrose/Zirrhose assoziiert zu sein. Weiter ist das Ansprechen auf eine Interferon-alpha-Therapie schlechter. Auch wird vermutet, dass die HBV-Replikation für die plötzlich auftretenden und wieder abklingenden Transaminasenerhöhungen, die sogenannten „hepatic flares“, verantwortlich ist (154).

Eine OBI, die nicht über HBV-DNA im Serum nachweisbar ist, sondern nur in der Leber selbst, scheint laut einer italienischen Studie aus dem Jahr 2004 keine klinischen Auswirkungen zu haben. Zwar wurde bei 51 HCV-Monoinfizierten in 29,4% der Fälle HBV-DNA in der Leber gefunden, es gab aber keinen signifikanten Unterschied bezüglich der HCV-Viruslast, der Höhe der Transaminasen, dem Ansprechen auf die HCV-Therapie mit Interferon-alpha plus Ribavirin und vor allem der Histologie, die das sensitivste diagnostische Verfahren ist (38).

2.5 Transmission von HBV

Die Infektiösität von HBV hängt von zwei wesentlichen Faktoren ab: der Menge des infektiösen Materials und der Immunkompetenz des Empfängers. Prinzipiell ist bei Vorhandensein von HBV-DNA eine Infektion nicht auszuschließen, das Risiko ist bei geringer Virämie aber geringer als bei hoher.

Das Risiko einer Transmission via Transfusion ist abhängig von der HBV-Serologie und dem Immunstatus des Empfängers. Lange Zeit galt, dass Spenderblut, das sowohl Anti-HBc als auch Anti-HBs aufweist, HBV nicht übertragen kann. Selbst bei geringen Anti-HBs-Titern von unter 100mIU/ml wurde keine Transmission beobachtet (2, 102). Neuere Daten zeigen, dass auch Spenderblut mit Anti-HBs <100mIU/ml eine HBV-Infektion übertragen kann – besonders bei vergleichsweise hohen Viruslasten und immunsupprimierten Empfängern. Blut mit Anti-HBs-Titern über 100mIU/ml wird als nicht infektiös betrachtet (23). Dagegen ist das Risiko einer post-Transfusion-Hepatitis bei Spenderblut mit isoliert positiven Anti-HBc höher mit maximal 4% (62, 73, 76, 77, 148). In Entwicklungsländern mit hoher HBV-Prävalenz ist die Rate einer Post-Transfusion-Hepatitis höher. In Indien wurde über bis zu 10% berichtet, gleichzeitig wiesen 11 von 24 HBsAg-negativen Bluteinheiten HBV-DNA auf (137). Da in dieser indischen Studie die HBV-DNA-Frequenz höher als die Transmissionsfrequenz war, ist anzunehmen, dass nicht alle Bluteinheiten, die HBV-DNA enthalten, auch zu einer Infektion führen. Eine Korrelationsanalyse zwischen Viruslast im Spenderserum und Infektiösität wurde in Tiermodellen mit Schimpansen sowie Mäusen, die humanes Lebergewebe tolerieren, durchgeführt(3). Die CID_{50} (common infective dose; Menge an pathogenem Material, das bei der Hälfte der Fälle eine Infektion auslöst) wurde genotypunabhängig auf einen Wert zwischen 10 und 100 Kopien pro ml ermittelt. Bei Menschen wurde beobachtet, dass eine OBI mit sehr niedriger Virämie von unter 20IU/ml durch Transmission eine HBV-Infektion auslösen kann, aber andere Fälle mit Viruslasten bis zu 500IU/ml nicht zu einer HBV-Infektion führten. So scheint es weitere Faktoren zu geben, die eine Infektion beeinflussen (23).

Eine OBI beim Spender kann via Organtransplantation, besonders wenn es sich um Lebertransplantationen hält, zu einer de novo-Infektion beim Empfänger führen. Das Risiko hierfür reicht von 25 bis 94%, mit besonders hohen Werten, wenn der Spender serologisch isoliert positiv für Anti-HBc ist (30, 35). Serum-HBV-DNA ist nur selten beim Spender nachweisbar gewesen, dafür aber in der Leber. Im Fall einer

Immunsuppression, wie sie bei einer Organtransplantation vorkommt, ist auch nachgewiesen worden, dass Organe von Anti-HBs-positiven Spendern eine Hepatitis B übertragen können (89, 159).

Viele Studien konnten auch die hohe Prävalenz einer OBI bei Patienten mit Hämodialyse zeigen. Die Prävalenzen von HBV-DNA im Serum reichen von 3,9%, 9 von 239 Patienten (97), bis 58%, 19 von 33 Patienten (20). Erstere Studie konnte bei 7 von 9 Patienten die Vaccine-Escape-Mutante G145R nachweisen. In letzter Studie wurde weiterhin bei 54% HBV-DNA in PBMC's gefunden. Das teilweise Vorhandensein von Anti-HBs lässt bei diesen Patienten eine insuffiziente Neutralisierung des Virus vermuten (65).

Zusammengefasst lässt sich sagen, dass durch eine OBI – auch wenn im Serum keine HBV-DNA nachweisbar ist – eine HBV-Infektion übertragen werden kann, besonders wenn der Empfänger immunsupprimiert ist und der Spender isoliert positiv für Anti-HBc ist. Spenderblut mit Anti-HBs <100mIU/ml muss als potentiell infektiös betrachtet werden.

2.6 OBI bei HIV-Koinfizierten – ein Review

2.6.1 Ergebnisse

Die Auswertung beinhaltet 26 Studien aus den Jahren 1998 bis 2009 (6, 9, 31, 40, 41, 47, 59, 74, 85, 100, 103, 105, 107, 110, 112, 118, 119, 122, 125, 133, 136, 139, 142, 143, 146, 155). Tab. 1.1 und Tab. 1.2 enthalten die Ergebnisse mit Berücksichtigung folgender Parameter: Studiengröße; HBV-Serologie; Anteil HCV-Koinfizierter; HBV-Detektionslimit; HBV-Viruslast; Anteil Patienten, die eine HAART erhielten, PCR-Methode, Land der Untersuchung. Geordnet ist die Tabelle aufsteigend nach OBI-Prävalenz.

2.6.1.1 Prävalenz

Die berichtete Prävalenz einer OBI bei HIV-Koinfizierten variiert zwischen 0 und 89,5% (59, 110, 133). In beiden Fällen, Gruppen, die über sehr niedrige bis nicht

vorhandene Prävalenzen berichten, und Gruppen, die über hohe Prävalenzen berichten, gibt es Faktoren, die die berichteten Ergebnisse teilweise erklären und die Aussagekraft einschränken.

So sind die Kohorten von beiden Studien, die keine Fälle von OBI nachweisen konnten, im Vergleich zu allen anderen sehr immunkompetent mit im Median 506 und 535 CD4-Zellen/ μ l (110, 133).

Auch war der Gebrauch von Lamivudin mit 66% in der Kohorte von Rodriguez et al. sehr hoch. Desgleichen gilt für die Patienten, die Neau et al. untersuchten. Bei berichteter OBI-Prävalenz von nur einem Patienten unter 160, bekamen 90% eine HAART, davon 70% inklusive Lamivudin (105).

Studien, die über sehr hohe Prävalenzen berichteten, erfolgten entweder in HBV-hochendemischen Ländern (HBsAg-Prävalenz in der Allgemeinbevölkerung über 8%) wie bei Mphahlele et al. (22,1%) und Firnhaber et al. (88,4%) (41, 103) oder konnten hohe Prävalenzen aufgrund longitudinaler Analysen vorweisen. Hofer et al. (89,5%) konnten durchschnittlich 3,5 Serumproben über im Median 2,5 Jahre testen (59), Filippini et al. (19,8%) überwachten ihre Patienten über durchschnittlich 2 Jahre (40).

Eine Einschränkung gilt auch für die Studie von Sheng et al. aus Taiwan. Die beobachtete Prävalenz von 3,5% unterschätzt die wirkliche in diesem HBV-hochendemischen Land sicherlich, da die PCR nur ein Detektionslimit von 1000 Kopien/ml hatte (139).

Die übrigen Studien zeigen einen Zusammenhang zwischen der OBI-Prävalenz und der generellen HBV-Prävalenz im jeweiligen Land. Die Einstufung bezüglich des HBV-Endemiegrades erfolgte nach CDC Travelers' Health mit Prävalenzen aus dem Jahr 2006 (27); dazu auch Abb. 2.

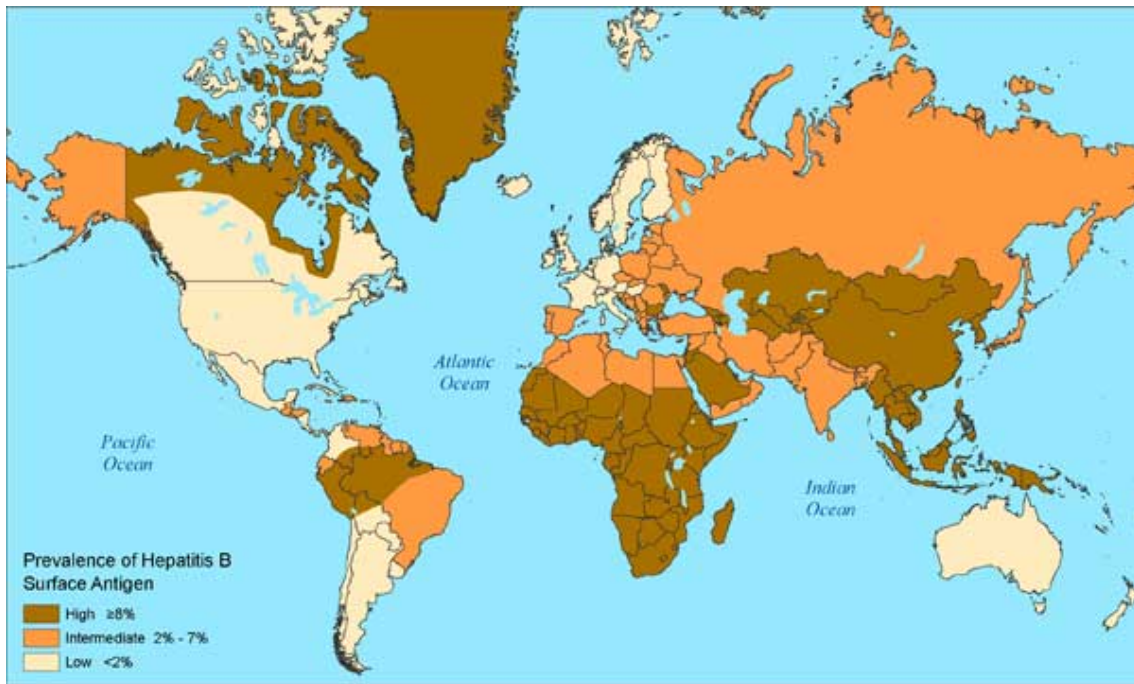


Abb. 2: Weltweite Hepatitis B Prävalenz

In Ländern mit niedriger HBV-Endemie (definiert als HBsAg-Prävalenz von unter 2% in der Allgemeinbevölkerung) berichten 9 von 10 Gruppen über Werte zwischen 1,2 und 10% bei Patienten mit positiven Anti-HBc (47, 85).

In Ländern mit mittlerer HBV-Endemie (HBsAg-Prävalenz zwischen 2 und 7% in der Allgemeinbevölkerung) berichten 6 von 7 Gruppen über Prävalenzen von 13,6 bis 18,8% bei Anti-HBc-Trägern (9, 146).

2.6.1.2 Der HBV-Antikörper-Status

In Deutschland sind laut Robert-Koch-Institut (RKI) 5-8% der Bevölkerung Träger von Anti-HBc, die einen Kontakt mit dem Virus beweisen (131); bei HIV-Koinfizierten liegt die Prävalenz eines Anti-HBc-Trägers zwischen 41,5 und 62,1% in Ländern mit niedriger HBV-Endemie (107,122,142).

Die Rate der chronisch HBV-Infizierten, definiert als HBsAg-Träger, beträgt in Deutschland laut RKI 0,4-0,8 % (sowohl HBV-Monoinfizierte als auch HIV-Koinfizierte berücksichtigt). Bei HIV-Koinfizierten in Gebieten mit ebenso niedriger HBV-Endemie wie Deutschland beträgt die Prävalenz eines HBsAg-Trägers 3,7-7,1% (107,122,142).

Während in Regionen mit niedriger HBV-Endemie nur 0,7-1% der Personen, die nicht HIV-infiziert sind, ausschließlich für Anti-HBc positiv sind (12), liegt die Prävalenz dieser Konstellation zwischen 10 und 20% bei HIV-Koinfizierten (52, 105, 122). Bei HIV-/HCV-Koinfizierten sind über 50% der Personen Träger dieses serologischen Profils (138). Viele Studien konnten die signifikante Assoziation einer HCV-Erkrankung mit isoliert positiven Anti-HBc nachweisen (133).

Von 24 der hier genannten Studien, die Patienten mit OBI entdeckten, hatten nur sieben Gruppen Patienten jeglicher HBV-Serologie auf HBV-DNA untersucht (teilweise nur HBsAg-Negative). Zehn Gruppen beschränkten sich auf Patienten mit positiven Anti-HBc mit/ohne Anti-HBs, sieben Gruppen nur auf solche mit isoliert positiven Anti-HBc.

Von den 17 Gruppen, die Patienten der beiden Serogruppen Anti-HBc mit /ohne Anti-HBs auf HBV-DNA untersuchten, konnten 12 bei Patienten mit isoliert positiven Anti-HBc Virus-DNA häufiger finden, drei Gruppen sogar ausschließlich bei Patienten mit diesem Profil (47, 118,142). Nebbia et al., die mit 343 Patienten ein größeres Kollektiv analysierten, konnten einen signifikanten Zusammenhang zwischen einer OBI und dem Fehlen von Anti-HBs – oder anders ausgedrückt mit dem serologischen Profil von isoliert positiven Anti-HBc – entdecken (107).

Nur drei Gruppen (6, 100, 136) konnten eine OBI häufiger bei Patienten mit beiden Antikörpern entdecken.

Fünf von sieben Gruppen, die auch Patienten mit negativen Anti-HBc auf HBV-DNA untersuchten, konnten Fälle von OBI auch bei letzteren entdecken. Ramia et al. konnten bei zwei von vier Patienten, die nur Anti-HBs aufwiesen, HBV-DNA nachweisen (125), Mphalele et al. bei drei von 20 Patienten dergleichen Serogruppe (103) und Filippini et al. bei drei von 41 Patienten (40) sowie Sheng et al. bei drei von 65 mit komplett negativer HBV-Serologie (139). Shire et al. konnten bei der Hälfte der Patienten mit OBI (6 von 12) negative Anti-HBc nachweisen; leider wurden die Prävalenzen der einzelnen HBV-Serogruppen nicht angegeben (143).

Zusammengefasst ist die größte Prävalenz der OBI bei HIV-Koinfizierten bei Patienten mit isoliert positiven Anti-HBc zu finden. Bei Patienten mit negativen Anti-HBc ist eine OBI nicht auszuschließen.

2.6.1.3 Der HCV-Status

Studien mit HCV-Monoinfizierten konnten zeigen, dass in diesem Patientenkollektiv eine OBI häufig vorkommt. Bei HIV-Infizierten konnten die meisten Studien keinen Zusammenhang zwischen einer OBI und einer HCV-Infektion erkennen. Als Marker wurden stets Antikörper gegen HCV im Serum herangezogen – auch wenn diese keinen Aufschluss auf eine aktuelle HCV-Virämie geben.

Zwei Gruppen aber konnten eine signifikante positive Korrelation zwischen dem Nachweis einer OBI und einer HCV-Infektion erkennen. Araujo et al. konnten in einer kleinen Gruppe von 43 Patienten, von denen sechs Anti-HCV aufwiesen, bei 50% der letzteren und bei 3% der Anti-HCV negativen Patienten eine OBI entdecken (6). Morsica et al. konnten in einer größeren Patientenstichprobe mit 175 Patienten, von denen 101 Anti-HCV positiv waren, bei 21% der Patienten mit HCV-Kontakt und bei 8% der Anti-HCV negativen Patienten eine OBI nachweisen (100). Diese Ergebnisse korrelieren mit den Beobachtungen bei HCV-Monoinfizierten. Die vermutete Begründung ist die gleiche – nämlich eine Interaktion der beiden hepatotropen Viren, bei der HCV die Replikation von HBV auf niedrige Spiegel supprimiert, sodass auch HBsAg aufgrund sehr geringer Expression für Assays nicht nachweisbar ist.

Eine Gruppe, Lo re III et al., konnte allerdings ein hierzu kontroverses Ergebnis präsentieren. Bei 7% von 99 Anti-HCV positiven Patienten konnte eine OBI nachgewiesen werden, hingegen bei 10% von 80 Anti-HCV negativen Patienten. Dies erreichte in ihrer Auswertung nach Berücksichtigung möglicher Confounder Signifikanz. Die Begründung, die diese Gruppe vorschlug, ist, dass HCV in Zusammenhang mit einer HIV-Koinfektion möglicherweise derart dominant ist, dass es die Replikation von HBV sogar komplett unterdrückt, sodass keine HBV-DNA im Serum detektierbar ist (85).

Zu letzterem Ergebnis passt, dass eine multizentrische Studie mit 866 HIV-HCV-Koinfizierten bei keinem eine OBI nachweisen konnte (133). Einschränkend ist aber, dass zwei Drittel dieser Kohorte in ihrer Vergangenheit Lamivudin erhalten hatten und dass die Patienten im Vergleich mit allen anderen Studien äußerst immunkompetent waren: der Median der CD4-Zellzahl pro μl betrug 535 und nur 6% der Patienten hatten CD4-Zellen unter 200 pro μl .

Zusammengefasst ist der Einfluss einer HCV-Infektion unklar. Erklärend und möglicherweise limitierend ist, dass in der Regel nie HCV-RNA bestimmt wurde,

sondern nur Anti-HCV, welche kein Marker für eine aktuelle HCV-Virämie sind. Analysen zu HCV-RNA, dem HCV-Genotyp, der Höhe der HCV-Viruslast und dem Verhältnis dieser zur HBV-Viruslast gäben vermutlich einen sichereren Aufschluss über die Rolle einer HCV-Infektion im Zusammenhang OBI bei HIV.

2.6.1.4 CD4-Zellzahl und HIV-Viruslast

Drei beziehungsweise zwei Gruppen konnten einen signifikanten Bezug zwischen einer OBI und erniedrigten CD4-Zellzahlen und höheren HIV-Viruslasten erkennen.

Cohen Stuart et al. konnten bei therapie-naiven Patienten mit OBI eine mediane CD4-Zellzahl von 105 pro μl beobachten, bei den restlichen Patienten einen medianen Wert von 323. Die HIV-Viruslast war in der gleichen Kohorte bei Patienten mit OBI zwar höher als bei Patienten ohne und auch nie unter 40.000 Kopien/ml, dies erreichte allerdings keine Signifikanz (31).

Auch Lo re III et al. beobachteten bei ihren Patienten mit OBI geringere mediane CD4-Zellzahlen und höhere mediane HIV-Viruslasten, aber signifikant blieb nur der Bezug einer OBI mit HIV-Viruslasten über 1.000 Kopien/ml (85).

Piroth et al. konnten schließlich in ihrem Patientenkollektiv von HIV-/HCV-Koinfizierten einen signifikanten Bezug zwischen einer OBI und niedrigeren CD4-Zellzahlen einerseits sowie höheren HIV-Viruslasten andererseits aufzeigen (118).

Tsui et al. konnten eine Korrelation zu CD4-Zahlen unter 200 pro μl beobachten (155).

Die Vermutung ist, dass mit der Schwere der Immundefizienz eine Suppression einer nicht komplett eliminierten HBV-Infektion unwahrscheinlicher wird und die Replikation der OBI Werte erreicht, dass auch eine geringe Virämie erkannt wird (56,107).

2.6.1.5 Transaminasen als biochemischer Marker eines Leberschadens

13 Studien konnten keinen signifikanten Zusammenhang einer OBI mit erhöhten Transaminasen (ALT, AST) entdecken. Eine OBI war zwar in einigen Fällen mit erhöhten Werten der ALT assoziiert – wie bei Morsica et al. mit durchschnittlich 51

IU/ml bei 27 Patienten mit OBI gegenüber 38 IU/ml bei den restlichen – dies erreichte aber kein signifikantes Niveau (100).

Drei Studien konnten einen signifikanten Bezug zwischen erhöhten Leberwerten und einer OBI beobachten:

Santos et al. konnten nachweisen, dass der Nachweis von HBV-DNA signifikant mit der Erhöhung der ALT über die Norm verbunden war – 60% zu 19% in der Gruppe der HBV-DNA-Negativen (136).

Hofer et al. konnten bei 36% ihrer Anti-HCV negativen Patienten nach Ausschluss anderer Ätiologie keine andere Ursache als eine OBI für eine chronische Hepatitis (ALT-Erhöhung länger als 6 Monate) entdecken. Weiterhin zeigten Patienten mit mindestens einmalig erhöhten ALT-Werten (über einen Zeitraum von 2,5 Jahren im Median) öfter eine OBI als Patienten ohne ALT-Erhöhungen. Diese Beobachtung erreichte aber keine Signifikanz (59).

Drei von vier Studien, die Leberwerte über einen Zeitraum von mindestens einem Jahr dokumentierten, konnten keinen Zusammenhang zwischen einer OBI und erhöhten Leberwerten sehen (31, 85, 107). Filippini et al. hingegen konnten einen signifikanten Zusammenhang zwischen einer OBI und sogenannten „hepatic flares“ erkennen; diese waren definiert als Erhöhung der ALT um das dreifache gegenüber dem Vorwert. Zwar wurden Confounder nicht ausreichend berücksichtigt, aber jeder „hepatic flare“ ging mit plötzlich wieder nachweisbarer HBV-DNA im Serum einher (40).

Dass bei keiner Studie, die größtenteils HIV-therapienaive Patienten beinhaltete, erhöhte Leberwerte nachgewiesen werden konnten, ist nicht sonderlich überraschend. Es wird vermutet, dass die geringen HBV-DNA-Mengen bei OBI nicht ausreichend sind eine klinisch signifikante Inflammation auslösen, die anhand biochemischer Marker erkennbar wäre (85). Ein zweiter Grund liegt möglicherweise in der HIV-bedingten Immundefizienz bei HIV-therapienaiven Patienten, die ebenso keine ausreichende Entzündungsreaktion zulässt. Dies sollte sich theoretisch nach HAART-Beginn ändern, da die Therapie eine Immunrestitution einleitet, die es dem Körper ermöglicht das Virus wieder zu bekämpfen (142). Diese These – eine Transaminasenerhöhung bei Beginn einer HAART – ist bei HBsAg-Positiven hinreichend verifiziert, konnte hingegen für Patienten mit OBI bisher nur von Filippini et al. bestätigt werden.

Cohen Stuart et al. entdeckten schließlich bei ihren Patienten mit OBI signifikant höhere Werte der gamma-Glutamyltransferase (GGT) mit 106 zu 34 IU/ml. Wie dies

einzuordnen ist, lässt sich schwer sagen, da diese Gruppe als Einzige diesen Parameter untersucht hat (31).

2.6.1.6 HAART

Auf den ersten Blick gibt es keinen Unterschied in der Häufigkeit einer OBI zwischen Patienten, die eine HAART erhalten, und solchen, die therapienaiv sind. Anzunehmen ist, dass eine OBI häufiger im Serum nachweisbar ist je stärker die Immundefizienz ausgeprägt ist (142), da es dann eher zu einer Reaktivierung dieser nicht vollständig eliminierten HBV-Infektion kommen kann. Demnach müsste man bei therapienaiven Patienten, die vor dem Beginn ihrer antiretroviralen Therapie stehen, höhere Prävalenzen erwarten. Dass diese Beobachtung bei den hier aufgelisteten 26 Studien nicht gemacht werden kann, schließt das Vorliegen einer OBI jedoch nicht aus. Eine Reihe von Faktoren, die die Prävalenz einer OBI – gemessen als HBV-DNA im Serum - stärker beeinflussen, könnte diesen Zusammenhang verschleiern – dazu zählen unter anderem die Prävalenz der Hepatitis B in der Allgemeinbevölkerung, Sensitivität des PCR-Assays, Anteil an HCV-Koinfizierten.

In Detailbetrachtungen der verschiedenen Studien ergeben sich insgesamt aber Hinweise, dass der Nachweis von HBV-DNA im Serum bei einer OBI seltener ist, wenn eine HAART eingeleitet wird und sogar um so mehr, wenn diese ein Medikament, das auch Wirksamkeit gegen HBV besitzt, enthält (Lamivudin, Tenofovir, Emtricitabin).

Piroth et al. konnten in ihrem Patientenkollektiv von 111 HIV-HCV-Koinfizierten, von denen 78% eine HAART erhielten, beobachten, dass Patienten mit OBI signifikant öfter therapienaiv waren mit 67 zu 23% (118).

Lore III et al. beobachteten, dass bei 179 Patienten, von denen 73% eine HAART erhielten, Patienten mit OBI häufiger eine HAART ohne Medikament, das auch gegen HBV wirksam ist, erhielten. Dies war jedoch nicht signifikant – allerdings konnte eine HAART mit zwei Medikamenten gegen HBV die Wahrscheinlichkeit für eine nachweisbare Virämie bei einer OBI senken (85).

Die Studien von Pogany et al. und Cohen-Stuart et al. beobachteten vier bzw. sieben ART-naive Patienten mit OBI während der ersten drei Jahre der HAART. Diese enthielt immer Lamivudin. Alle wurden HBV-DNA negativ unter der antiretroviralen Therapie und blieben es auch für den Beobachtungszeitraum (31,119).

Nebbia et al. machten die gleichen Beobachtungen bei elf ART-naiven Patienten über einen medianen Zeitraum von 14 Monaten. Auch hier war Lamivudin stets Bestandteil der HAART (107).

Filippini et al. sind die einzige Gruppe, die andere Ergebnisse vorweisen kann: von elf ART-naiven Patienten, die anfangs HBV-DNA positiv waren, wurden zunächst alle HBV-DNA negativ. Fünf Patienten blieben es über den Beobachtungszeitraum (median zwei Jahre), vier wurden unter HAART mit Lamivudin wieder HBV-DNA positiv, zwei unter HAART ohne Lamivudin.

Vier weitere ART-naive Patienten, die anfangs HBV-DNA negativ waren, wurden unter HAART plötzlich HBV-DNA positiv. Zwei erhielten Lamivudin, die anderen beiden nicht.

In allen Fällen, bei denen HBV-DNA im Serum wieder nachweisbar wurde, war die Viruslast unter 1100 Kopien/ml (40).

2.6.1.7 HBV-Viruslast

Weitaus die meisten Patienten wiesen HBV-DNA-Konzentrationen zwischen 10^2 und 10^4 Kopien/ml auf. Es wurde nur über vereinzelte Fälle mit Viruslasten über 10^5 Kopien/ml berichtet.

Beobachtet man die Ergebnisse, kommt man zum Schluss, dass die Anzahl der Fälle mit OBI mit sinkender Viruslast immer größer wird. So war die Viruslast bei 26 von 27 Patienten unter dem Detektionslimit des quantitativen Assays von 312 Kopien/ml in der Kohorte von Morsica et al (100). Shire et al. und Pogany et al. berichteten über jeweils drei von vier Fällen unter dem Limit von 200 Kopien/ml (119, 142).

Damit sind die Viruslasten bei Patienten mit OBI deutlich geringer als bei HBsAg-Trägern, was durch viele Studien auch gezeigt wurde (143).

Diese Ergebnisse stimmen mit den Beobachtungen bei Patienten ohne HIV überein.

2.6.1.8 HBV-Sequenzanalysen

Nur fünf Gruppen haben das HBV-Genom ihrer Patienten mit OBI sequenziert – sofern genügend Material vorhanden war. Einer weiteren Gruppe lagen zumindest die Genotypen vor.

Araujo et al. konnten bei allen drei Patienten Genotyp A nachweisen. Einer zeigte im HBsAg die Stoppmutante L216*, ein anderer die Triple-Lamivudin-Resistenzmutante V173L+L180M+M204V, die mit den Substitutionen E164D und I195M im HBsAg-Protein einhergeht. Dies könnte eine Erklärung für ein serologisch negatives HBsAg sein. Beide Patienten hatten auch relativ hohe Viruslasten über 10^4 und 10^6 Kopien/ml (6), wie es zum Bild einer „falschen“ OBI durch Escape-Mutanten passt.

Pogany et al. entdeckten bei zwei Patienten Genotyp A und einem Genotyp D. Einer der Patienten mit Genotyp A wies Substitutionen an den Positionen 142 und 144 der a-Determinante des HBsAg auf, was ein falsch-negatives HBsAg infolge Escape erklären könnte (119).

Piroth et al. und Quarleri et al. konnten bei jeweils vier Patienten Genotyp A nachweisen. Es lagen keine Resistenzmutationen gegenüber Lamivudin oder anderen Medikamenten vor. Eine Aussage zu Mutationen im HBsAg wurde nicht gemacht (118,122).

Morsica et al. berichteten, dass alle 20 Patienten, bei denen der Genotyp untersucht wurde, Genotyp D aufwiesen (100).

Sucupira et al. konnten bei fünf Patienten dreimal Genotyp D und zweimal Genotyp A nachweisen. Es lagen keine Mutationen im RT-Gen vor, zu HBsAg-Mutationen wurde keine Aussage getroffen (128).

Zusammengefasst ist die Datenlage bezüglich Genotypen und Mutationen im HBsAg sehr dünn. Auch wenn man das Ergebnis von Morsica et al. ausblendet und fünf Studien in 15 von 19 Fällen Genotyp A nachweisen konnten, ist es unmöglich einen Bezug zur OBI herzustellen. Zudem erfolgte keine Unterscheidung der Genosubtypen A1 und A2; HBV-A1 ist in Afrika dominant zu finden, HBV-A2 in Europa und Nordamerika (121). Es ist wahrscheinlich, dass die Ergebnisse die dominante Prävalenz eines HBV-Genotyps in der Allgemeinbevölkerung oder bei HBV-/HIV-Koinfizierten reflektieren (118). Die Häufigkeit und der Stellenwert von Escape-Mutanten bei HIV-Infizierten ist ebenso unklar.

2.6.2 Einschränkungen in den Studien

2.6.2.1 Ursachen für kontroverse Ergebnisse bei der Prävalenz der OBI

- Keine Angaben zur HAART, sowohl ob überhaupt eine erhalten wurde oder auch ob gegen HBV-wirksame Medikamente (Lamivudin, Tenofovir und Emtricitabin) enthalten sind
- Der bei Patienten mit HAART sehr häufige Gebrauch von Lamivudin, aber auch zunehmend der beiden neueren Substanzen, führen zu einer möglichen Unterschätzung in der Prävalenz (112, 118), da die Nukleosid-/Nukleotidanaloga der HAART zu einer verminderten Synthese von HBV-DNA führen; diese wird somit rasch undetektierbar (31, 107); dies ist aber nicht gleichbedeutend mit einer Viruselimination, wie bei Fällen mit wieder positiv werdender HBV-DNA gezeigt wurde (40)
- Die OBI scheint einen fluktuierenden Verlauf zu haben, bei dem Phasen mit nicht nachzuweisender HBV-DNA im Serum oft vorkommen; dies wurde durch longitudinale Studien nahegelegt. Studien, die mehrere Proben über einen größeren Zeitraum analysieren konnten, zeigen höhere Prävalenzen (40, 59)
- Die teils geringe Studiengröße (12 der 26 hier genannten Studien hatten weniger als 100 Patienten untersucht)
- Viele Gruppen haben nur Personen, die Anti-HBc aufwiesen, in ihre Studie mit eingeschlossen, einige sogar nur Patienten, die isoliert diese Antikörper zeigten
- Der Anteil von Patienten mit HCV-Koinfektion ist sehr unterschiedlich; er variiert zwischen den Extremen von 0 und 100%. Die genaue Rolle einer HCV-Koinfektion in der hier zu untersuchenden Entität ist unklar. Einige Studien konnten, wenn leider auch kontroverse, aber signifikante Zusammenhänge in ihren Stichproben erkennen.

2.6.2.2 Limitierung der Aussagekraft klinischer Parameter

- 1.) Erhöhte Leberwerte (ALT,AST), auch als LEE (liver enzyme elevation), hepatic flare wenn 2.5fach über der Norm oder als Transaminitis bezeichnet, sind ein biochemischer Marker für einen Leberschaden. Das Problem bei Patienten, die eine HAART erhalten, ist die Zuordnung der erhöhten Transaminasen zu ihrer Ursache. Es kommen unter anderem die Hepatotoxizität der HIV-Medikamente

selber, die anderer Medikamente, Alkohol-Abusus, eine Hepatitis C oder schließlich die ART-eingeleitete Immunrekonstitution, die zu einer erfolgreichen Bekämpfung opportunistischer Infektionen führt, in Frage. Erhöhte Leberwerte infolge letzterem Punkt können durch eine okkulte Hepatitis B begründet sein (31, 119).

- 2.) Da vermutet wird, dass die bei OBI nur sehr geringen Mengen an HBV-DNA nicht ausreichend sind, eine anhand biochemischer Marker zu erkennende Leberinflammation auszulösen (85), müssten stärkere Marker herangezogen werden um den echten Leberschaden zu detektieren. Dazu zählt insbesondere die Leber-Histologie (100). Keine der hier aufgezählten Studien hat Leberbiopsien an ihren Patienten vorgenommen, sodass es nach wie vor fraglich ist, ob niedrige HBV-DNA-Konzentrationen im Serum Aufschluss über eine Nekroinflammation der Leber trotz normaler Transaminasen geben (86).
- 3.) Klinische Faktoren, die als Prädiktoren oder Risikofaktoren für eine OBI gelten können, wurden von den verschiedenen Gruppen nur teilweise bis gar nicht untersucht – dazu zählen insbesondere CD4-Zellzahl, HIV-Viruslast, ALT, AST.
- 4.) Die teilweise geringe Anzahl an Patienten mit OBI (12 von 24 Studien haben weniger als zehn Patienten)
- 5.) Nur in fünf von 26 Studien wurden die Patienten über einen Zeitraum hinweg beobachtet und hier bezüglich klinischer Parameter nur unvollständig und unregelmäßig. Longitudinale Studien über mehrere Jahre mit regelmäßigen Untersuchungen auf HBV-DNA und klinische Parameter würden die Relevanz einer OBI bei HIV-Infizierten besser beleuchten (86).

2.6.2.3 Sensitivität der HBV-DNA-Detektion

Das Detektionslimit der verwendeten PCR-Assays reicht von 2,6 Kopien/ml (100) bis 1000 Kopien/ml (139), wobei 23 von 25 Gruppen mit einem Limit von mindestens 200 Kopien/ml arbeiten konnten. Entgegen der Annahme, die Prävalenz könnte von der Sensitivität der PCR abhängen, konnten Cohen Stuart et al. beim Vergleich von elf Studien keine Korrelation entdecken (31). Vielmehr wurden die regionalen Unterschiede in der HBV-Allgemeinprävalenz und Unterschiede in der Studienpopulation für die divergenten Prävalenzen einer OBI verantwortlich gemacht. Beurteilt man jedoch die diagnostische Methodik der Studien unter Anbetracht der Forderungen der Taormina-Konferenz – Verwendung von nested-PCR oder einer

sensitiven real-time quantitativen PCR (RTq-PCR), 1ml Probenmenge, Verwendung mehrerer Primersets – so kann man nicht zu der Folgerung von Cohen Stuart et al. kommen und sehr wohl eine Abhängigkeit der beobachteten OBI-Prävalenz von dem diagnostischen Verfahren erkennen. Sieben Studien benutzten den Cobas® Amplicor® HBV Monitor der Firma Roche, einen quantitativen Assay (q-PCR) mit einem Detektionslimit von 200 Kopien/ml, der ein Input von 100µl Serum benötigt und mit nur einem Primerpaar arbeitet. Mit diesem unzureichenden Assay wurden Prävalenzen von 0 bis 5,6% beobachtet. Studien, die eine RTq-PCR nutzten, konnten Prävalenzen von 1,2 bis 88,4% beobachten, wobei für die drei Studien mit den geringsten Prävalenzen Einschränkungen gelten. Shire et al. und Sheng et al. benutzten nur einen Input von 100µl bzw. 200µl Serum und arbeiteten mit einem Detektionslimit von 560 bzw. 1000 Kopien/ml, was im Vergleich zu allen anderen Studien sehr hoch ist. Palacios et al. untersuchten ein Patientenkollektiv, das bereits größtenteils eine HAART erhielt, was den Nachweis von HBV-DNA im Serum verhindern kann. Studien, die eine nested-PCR verwendeten, konnten eine OBI in 14 bis 89,5% der Fälle nachweisen. In Tab. 1.1 und Tab. 1.2 ist das jeweilig verwendete diagnostische Verfahren nachzulesen. Zusammengefasst wurde oft eine unzureichende molekulargenetische Diagnostik angewandt. Die Prävalenz einer OBI wird dadurch unterschätzt.

2.6.3 Zusammenfassung

Eine OBI ist ein nicht seltenes Phänomen bei HIV-Patienten. Abhängig ist die Prävalenz in erster Linie von der HBV-Grundprävalenz in der betroffenen Region. In niedrig-endemischen Ländern beobachtet man in 1,2 bis 10% der Anti-HBc-Träger eine OBI, in mittelgradig-endemischen bis zu 18,8%. Eine OBI geht mit sehr niedriger Virämie einher, in der Regel zwischen 10^2 und 10^4 Kopien/ml. Die höchsten Prävalenzen sind bei Patienten mit isoliert positiven Anti-HBc zu finden, gefolgt von Patienten mit Anti-HBc und Anti-HBs. Seltener – aber nicht auszuschließen – kommt eine OBI auch bei Patienten mit isoliert positiven Anti-HBs und solchen mit komplett negativer HBV-Serologie vor.

Ursächlich liegt am wahrscheinlichsten folgender Mechanismus vor: wie schon das Modell über die chronische HBV-Persistenz von Torbenson/Allain aussagt (Abb.2), ist

eine HBsAg-Serum-Clearance nicht identisch mit einer völligen HBV-Eradikation. Vielmehr stellt die nun okkulte Form der Hepatitis B ein Spätstadium dar, bei der das körpereigene Immunsystem die HBV-Replikation auf einem sehr niedrigen Spiegel in Schach hält oder sogar trotz Erregerpersistenz komplett unterdrücken kann. Da besonders die T-Zell-vermittelte Immunantwort in der Replikation des Virus eine große Rolle spielt, führt eine HIV-induzierte Immundefizienz dazu, dass HBV nicht mehr vollständig supprimiert werden kann. Es kann sich allmählich wieder auf niedrigem Niveau replizieren, sodass es durch sensitive PCR-Assays detektierbar wird (56). So kann man eine virämische OBI auch als HIV-opportunistische Infektion in Folge einer HBV-Reaktivierung interpretieren.

Die Häufigkeit von Escape-Mutanten ist aufgrund der schwachen Datenlage nicht bekannt, jedoch scheinen sie eine untergeordnete Rolle zu spielen (107).

Eine Korrelation mit jeglichen klinischen Parametern ist unklar – falls sie überhaupt vorhanden sein sollte. Es konnten meist nur Assoziationen entdeckt werden, die nicht signifikant waren. Erschwerend ist, dass die Anzahl der Faktoren, die bei HIV-Infizierten eine OBI beeinflussen können, sehr groß ist. Selbst wenn nun eine signifikante Korrelation zu einem Faktor vorläge, können gleich mehrere andere diesen Nachweis verhindern. So konnte nur in wenigen Studien ein Zusammenhang mit niedrigeren CD4-Zellzahlen und höheren HIV-Viruslasten gezeigt werden. Weiter scheint eine HAART die Prävalenz einer OBI zu senken, besonders wenn ein oder zwei Medikamente auch gegen HBV wirksam sind. Eine Korrelation mit erhöhten Transaminasen erweist sich als schwierig. Einzig bei Patienten, die eine HAART erhielten konnte dies in einigen Studien beobachtet werden, da dies bei ART-naiven Patienten durch die stärkere Immundefizienz verbunden mit niedrigen Viruslasten vermutlich verhindert wird. Ein klarer positiver Zusammenhang mit einer HCV-Koinfektion – wie bei nicht HIV-Infizierten bekannt – konnte nicht nachgewiesen werden.

Über die klinische Relevanz sind sich die meisten Studien einig: da erstens kein signifikanter Zusammenhang zwischen ART-naiven Patienten mit OBI und erhöhten Leberwerten gefunden wurde und da zweitens in drei von vier Studien mit ART-naiven Patienten, bei denen HBV-DNA bis zu drei Jahre nach HAART-Beginn verfolgt wurde, die HBV-DNA stets negativ wurde und über den Beobachtungszeitraum auch blieb, und da auch drittens keine erhöhten Transaminasen unter HAART beobachtet wurden, wird

die klinische Relevanz einer OBI bei HIV-Patienten eher gering eingeschätzt (31,112,119).

Als Fazit wird eine OBI von vielen Klinikern als opportunistische Erkrankung eingestuft, die auf Grund niedriger Viruslasten und ihrer teils intermittierenden Natur eher ein diagnostisches Problem ist (107). Eine HAART stellt eindeutig einen Benefit dar, da durch die Immunrekonstitution das Virus wieder erfolgreich bekämpft werden kann. Zweitens scheint der Einsatz von Medikamenten, die auch gegen HBV wirken, wie Lamivudin oder Tenofovir, einen ebenso günstigen Einfluss zu haben (31, 107 119). Hauptziel bei HIV-Infizierten ist deshalb die Kontrolle der Krankheit und Verbesserung der Immunfunktion. Damit lassen sich opportunistische Infektionen – wie eben auch die OBI – kontrollieren und verlieren ihre klinische Relevanz (133).

Kritisch anzumerken ist folgendes:

Trotzdem scheint auch bei HIV-Patienten mit HAART eine OBI mit nachweisbarer Virämie – wenn auch seltener – vorzukommen. Die Studie von Filippini et al. zeigt die intermittierende Natur der OBI, dass auch unter HAART fluktuierende HBV-DNA-Spiegel mit Phasen unter der Nachweisgrenze (oder zeitweise vollständigem Fehlen einer Replikation) vorkommen (40). So muss weiterhin angenommen werden, dass es nicht mit einer totalen Erregereliminierung identisch ist, wenn der HBV-DNA-Nachweis im Serum unter HAART negativ wird – selbst über Jahre hinweg – sondern dass nachwievor mit einer Erregerpersistenz gerechnet werden muss. Und selbst wenn keine Gruppe außer Filippini et al. eine OBI eindeutig mit „hepatic flares“ in Verbindung bringen konnte, ist nicht ausgeschlossen, dass stärkere Marker wie eine Leber-Histologie eine Leberinflammation anzeigen könnten.

Tab. 1.1: OBI bei HIV-Infizierten, Teil 1

Referenz, Jahr und Land	Patienten N und HBV-Profil	Prävalenz OBI	Detektionslimit (in Kopien/ml)	Quantifizierung (in Kopien/ml)	HCV- Anteil	HAART	PCR-Methode Probenmenge Anzahl Primer
Nunez et al (110) 2002, ESP	85 Anti-HBc+	0%	200		>50%		q-PCR, 100 µl, 1 Primer-Paar
Rodriguez et al (133) 2007, multinational	866 HBsAg-	0%	200		100%	66% Lamivudin (3TC)	q-PCR, 100 µl, 1 Primer-Paar
Neau et al (105) 2005, FRA	160 Anti-HBc+ only	0,6% (1 von 160)	200	3500	53%	90% HAART	q-PCR, 100 µl, 1 Primer-Paar
Ghandi et al (47) 2003, USA	84 Anti-HBc+, davon 42 Anti-HBc+ only	1,2% (1 von 84) 2,4% (1 von 42)	84		41,7%	75% HAART	TMA-Assay
Shire et al (143) 2007, USA	877 HBsAg-	1,4% (12 von 877)	560 (10er Pool)	Median 5130	10,1%	19,5% HAART	RTq-PCR, 100 µl 2 Primer-Paare
Shire et al (142) 2004, USA	223 HBsAg-, davon 38 Anti-HBc+ only	1,8% (4 von 223) 10,5% (4 von 38)	200	Median 200		ART-Naiv	q-PCR, 100 µl, 1 Primer-Paar
Tsui et al (155) 2007, USA	400 Anti-HBc+ only	2,0% (8 von 400)	200	Median 494	77,4%	>90% ART-Naiv	q-PCR, 100 µl, 1 Primer-Paar
Palacios et al (112) 2008, ESP	202 Anti-HBc+ only	2,5% (5 von 202)	100	80 bis 580	67%	90% HAART	RTq-PCR, 500µl
Sheng et al (139) 2007, TAI	514 HBsAg-, davon 179 Anti-HBc+ only	3,5% (18 von 514) 7,3% (13 von 179)	1000		8,8%	ART-Naiv	RTq-PCR, 200 µl
Pogany et al (119) 2005, NED	93 Anti-HBc+	4% (4 on 93)	200	Median 200	0%	ART-Naiv	q-PCR, 100 µl, 1 Primer-Paar
Cohen Stuart et al (31) 2009, NED	191 Anti-HBc+, davon 45 Anti-HBc+ only	4,7% (9 von 191) 11,1% (5 von 45)	50	Median 1000	13,6%	ART-Naiv	RTq-PCR
Piroth et al (118) 2008, FRA	111 HBsAg-	5,4% (6 von 111)	16	450 bis 1100	100%	78% HAART	Qualitative PCR
Quarleri et al (122) 2007, ARG	72 Anti-HBc+ only	5,6% (4 von 72)	200	Median 1000			q-PCR, 100 µl, 1 Primer-Paar
Lo re III et al (85) 2007, USA	179 Anti-HBc+	10% (17 von 179)	15		55%	73% HAART	TMA-Assay, 500 µl

Tab. 1.2: OBI bei HIV-Infizierten, Teil 2

Reference, Jahr und Land	Patienten, N und HBV-Profil	Prävalenz OBI	Detektionslimit (in Kopien/ml)	Quantifizierung (in Kopien/ml)	HCV- Anteil	HAART	PCR-Methode Probenmenge Anzahl Primer
Azadmanesh et al (9) 2008, IR	22 Anti-HBc+ only	13,6% (3 von 22)	112	280 bis 812	77,3%	45,5% HAART	RTq-PCR
Araujo et al (6) 2008, BRA	43 Anti-HBc+	14% (6 von 43)	100	Median 6400	14%	91% HAART	Semi-nested PCR 250 µl, 2Primer-Paare und 2 Anti-Sense-Primer
Nebbia et al (107) 2007, UK	343 Anti-HBc+, davon 133 Anti-HBc+ only	14% (48 von 343) 25,6% (34 von 133)	35	Median 200	10%	80% ART-Naiv 20% HAART	RTq-PCR, 500µl
Morsica et al (100) 2009, ITA	175 Anti-HBc+, davon 101 Anti-HCV+	15% (27 von 175) 21 % (21 von 101)	2,6	Median 300	57,8%	69% HAART	Semi-nested PCR 200 µl 2 Primer-Paare und 2Anti-Sense Primer
Santos et al (136) 2003, BRA	101 Anti-HBc+, davon 41 Anti-HBc+ only 60 Anti-HBc+/Anti-HBs+	15,8% (16 von 101) 10% (4 von 41) 20% (12 von 60)	100	Median 5000		59% HAART	Qualitative PCR 2 Primer-Paare
Laguno et al (74) 2008, ESP	90 Anti-HBc+ only	16,7% (15 von 90)	35	Median 5 (IQR 5 -205)	100%	86% 3TC+/-TDF	RTq-PCR, 500µl
Sucupira et al (146) 2006, BRA	32 Anti-HBc+, davon 10 Anti-HBc+ only	18,8% (6 von 32) 30% (3 von 10)	100	Median 40.000		90,6% HAART	RTq-PCR
Filippini et al (40) 2006, ITA	86 HBsAg-, davon 31 Anti-HBc+ only	19,8% (17 von 86) 35,5% (11 von 31)	100	600 bis 3500	38%	ART-Naiv	Qualitative PCR, 200 µl, 1 Primer-Paar
Mphahlele et al (103) 2006, ZA	140 HBsAg-, davon 15 Anti-HBc+ only	22,1% (31 von 140) 33,3 % (5 von 15)	200 (Einzelprobe) 800 (4er Pool)	Median 1000	2,1%	ART-Naiv	Nested-PCR, 200 bzw. 50 µl. 4 Primer-Paare
Ramia et al (125) 2008, RL	94 HBsAg-, davon: 24 Anti-HBc+ only	25,5% (24 von 94) 83,3% (20 von 24)	400		9%		
Firnhaber et al (41) 2008, ZA	43 Anti-HBc+ only	88,4 % (38 von 43)	50	Median 1000	2,3%	ART-Naiv	RTq-PCR, 50µl
Hofer et al (59) 1998, CHE	57 Anti-HBc+ only	89,5% (51 von 57)	100		58%		Nested-PCR 4 Primer-Paare

3. Material und Methoden

3.1 Patienten und Datenakquisition

Die RESINA-Studie beinhaltet eine große Kohorte von HIV-positiven Patienten aus Nordrhein-Westfalen. Insgesamt 35 Zentren haben seit 2001 mehr als 2000 Patienten erfasst. Eingeschlossen in die RESINA-Kohorte wurden Patienten mit Resistenztest zur Beginn der HAART. Eine HIV-Resistenzanalyse wurde zu Beginn und bei eventuell eintretendem Therapieversagen durchgeführt. Darüber hinaus wurden von den Patienten weitere virologische und klinische Daten im Verlauf erhoben.

Für diese Doktorarbeit wurden 922 Patienten, die in den Universitätskliniken Düsseldorf oder Köln behandelt werden, ausgewählt und zusätzlich auf eine Koinfektion mit Hepatitis B oder C Virus untersucht.

Klinische und epidemiologische Parameter beinhalteten Alter, Geschlecht, Modus der HIV-Transmission, Ethnizität und CDC-Stadium. Serologische Parameter umfassten HBsAg, Anti-HBc, Anti-HBs, Anti-HCV und im Fall von positivem HBsAg auch HBeAg, Anti-HBe und Anti-HDV. Die molekulare Analyse beinhaltete die quantitative Bestimmung der HIV-Viruslast und die qualitative HBV-DNA-Bestimmung. Die Sequenzierung von HIV- und HBV-Genomen erfolgte zur Resistenzanalyse, Genotypenbestimmung und Erfassung von Escape-Mutanten von HBV. Falls vorhanden wurden Daten zur quantitativen und qualitativen HCV-RNA-Bestimmung gesammelt. Werte der klinischen Chemie beinhalteten CD4-Zellzahl absolut und relativ, ALT, AST, GGT, LDH, AP, Bilirubin gesamt, Thrombozyten und Hämoglobin.

Die Datenakquisition erfolgte auf zwei Wegen. Einmal wurden Daten aus elektronischen Netzwerken recherchiert, dazu gehörten jeweils die Zentralarchive der Virologie und der Klinischen Chemie der Universitätskliniken Düsseldorf und Köln und Datenbanken der jeweiligen klinischen Abteilungen, in denen die Patienten behandelt wurden. Zum Anderen erfolgte die Datenerfassung durch Sichtung der – teils archivierten – Patientenakten.

Wichtige fehlende Parameter, hauptsächlich HBV- und HCV-Serologie betreffend, wurden nachträglich bestimmt, wenn die entsprechenden Proben noch vorhanden waren.

3.2 Diagnostik

3.2.1 HBV-Serologie

Die Bestimmung der HBV-Antigene und der HBV- und HCV-Antikörper erfolgte mit dem kommerziellen ABBOTT AxSYM-System, einzelne Überprüfungen der HBsAg auch mit dem Abbott Architect-System.

3.2.2 HBV-DNA Bestimmung

Für 554 von 918 Patientenproben wurde eine qualitative HBV-DNA Bestimmung mittels einer In-house PCR durchgeführt. Dies ermöglichte im Fall eines positiven PCR-Resultats eine direkte Sequenzierung der Probe. Es wurden aufgrund der Sequenzunterschiede der HBV-Genotypen verschiedene Primer-Sets für die Amplifikation benutzt: P1 = tgctgctatgcctcatcttc, P2 = caragacaaaagaaaattgg, P3 = caaggtatgtgcccgtttgtcc, P4 = ggtawaaagggactcamgatg. Die Primer P1/P2, P2/P3 und P3/P4 oder P1/P4 wurden kombiniert. Es wurden Pools aus 10 Patientenproben mit je 100µl Plasma von jeder Probe erstellt und Nukleinsäuren aus dem Gesamtvolumen von 1ml für die PCR extrahiert. Die Gewinnung der viralen DNA erfolgte mit dem QIAamp DNA Blood Mini-kit (Qiagen, Hilden, Deutschland), der Ansatz für die PCR mit dem HotStarTaq kit (Qiagen, Hilden, Deutschland). Die PCR-Reaktion erfolgte im Thermocycler Biometra T3 Trioblock mit in Tab. 2 aufgeführtem Protokoll. Die PCR-Produkte wurden zur Amplifikationskontrolle mittels Gelelektrophorese aufgetrennt. Die Banden der entsprechenden Größe, siehe Abb. 3, zeigen eine erfolgreiche Detektion von HBV an. Das Detektionslimit der PCR Reaktion war für ein Inputvolumen von 100µl 150-200 Kopien/ml. Im Falle eines positiven Poolergebnisses wurden die Proben einzeln mit 200µl Probenvolumen erneut amplifiziert und die positiven Proben sequenziert. Ein Resultat wurde als negativ bezeichnet, wenn die Amplifikation mit keiner Primerkombination erfolgreich war.

Tab. 2: Programm zur Durchführung der PCR

Zyklen	Denaturierung	Primer-Annealing	Synthese bei 72 °C
1	12 Min bei 93 °C		
1	30 Sek bei 95 °C	45 Sek bei 65 °C	3 Min
1	30 Sek bei 95 °C	45 Sek bei 60 °C	3 Min
45	30 Sek bei 95 °C	45 Sek bei 55 °C	3 Min
1			10 Min

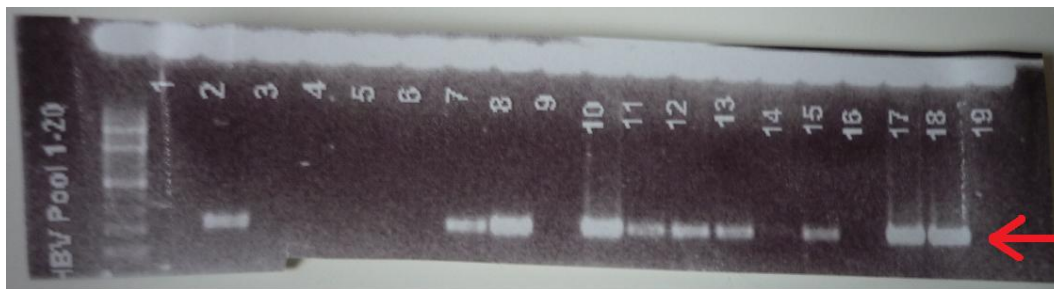


Abb. 3: Fotografie der gelelektrophoretisch aufgetrennten PCR-Produkte; der rote Pfeil zeigt auf Banden mit HBV-DNA, hier sind die Poole 2, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 15, 17 und 18 positiv

3.2.3 HBV-DNA Sequenzierung

Die positiven PCR-Produkte wurden durch folgende drei Primerpaare sequenziert: Paar 1: P1F = gga tgt gtc tgc ggc gtt und P1R = acc cca tct ttt tgt ttt gtt agg (Basen 377 bis 864); Paar 2: P2/3F = aga ctc gtg gtg gac ttc tct und P2R = caa aag aaa att ggt aac agc ggt a (Basen 252 bis 819); Paar 3: P2/3F = aga ctc gtg gtg gac ttc tct und P3R = atg agc ttt gct cca gac c. Das PCR Produkt wurde mithilfe des QIAquick spin PCR purification kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) aufgereinigt. Der Ansatz zur Herstellung der Sequenzprodukte erfolgte mit dem PCR primers Taq Dye Terminator Ready Reaction Mix, BigDye version 2.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Die PCR wurde im Thermocycler Biometra T3 Trioblock mit in Tab. 3 aufgeführtem Protokoll durchgeführt. Die Sequenzprodukte wurden danach mithilfe der Kits MultiScreen purification plates (Millipore, Bedford, MA, USA) und Sephadex G-50 superfine (Amersham, Biosciences, Upsala, Schweden) aufgereinigt. Die Auftrennung nach Größe erfolgte im ABI Prism 3130xl Kapillar Sequenzer. Die Auswertung der

Sequenzen erfolgte mit dem Programm DNASTAR Lasergene SeqMan (GATC Biotec, Konstanz, Deutschland).

Tab. 3: Programm zur Herstellung der Sequenzprodukte

Zyklen	Denaturierung	Primer-Annealing	Synthese
36	10 Sek bei 96 °C	10 Sek bei 50 °C	4 Min bei 60 °C

Die Interpretation der Sequenzen erfolgte via Geno2pheno (HBV) und HIV-GRADE-HBV (www.genafor.org, www.HIV-GRADE.de; beide Internetseiten zuletzt abgerufen am 01.12.2012).

3.3 Statistik

Die statistische Analyse erfolgte über die Internetseiten vassarstats.net und elegans.som.vcu.edu/~leon/stats/utest.html sowie zur Bestätigung durch das Programm R in Version 2.8.1 (www.r-project.org; alle Internetseiten zuletzt abgerufen am 01.12.2012). Der Mann-Whitney-U Test wurde für variable Parameter (HIV-VL, CD4-Zellzahl abs./rel., ALT, AST, GGT, Alter) genutzt um die Mediane für unabhängige Testproben zu vergleichen. Fisher's Exact Test wurde für kategorische Parameter genutzt. Zweiseitige p-Werte kleiner als 0,05 wurden als statistisch signifikant gewertet.

Die multivariaten Analysen wurden mit logistischer Regression durchgeführt. Die Auswahl der Prädiktoren erfolgte durch iterative Hinzunahme des jeweils aussagekräftigsten Features (stepwise forward feature selection). Die Auswahl der Modelle erfolgte Anhand des Akaike Informationskriterium (AIC) und die Bewertung der Modelle in Hinsicht auf ihr Vorhersagegenauigkeit wurde mittels zehnfach-Kreuzvalidierung durchgeführt. Hierfür wurde das für R zur Verfügung stehende ROCR Zusatzmodul für die Berechnung der AUC (area under the receiver operating characteristic) Werte verwendet. Um eine möglichst objektive Bewertung der Modelle zu erreichen, wurde der Datensatz in einen Trainingsdatensatz mit 80% der Daten und einen Testdatensatz mit 20% der Daten aufgeteilt. Die Auswahl der Prädiktoren und die Fixierung der Modelle wurde auf dem Trainingsdatensatz durchgeführt. Der Testdatensatz wurde nur für die finale Bewertung der Modelle verwendet. Nach der Modellfestlegung wurde der gesamte Datensatz herangezogen, um die Regressionsgewichte der Risikofaktoren abzuschätzen.

4. Ergebnisse

4.1 HBV- Serologie und HCV

922 Patienten wurden in die Datenerhebung eingeschlossen, dabei lag bei 918 Patienten zumindest eine Serologie mit Anti-HBc und HBsAg vor, sodass eine Aussage zu einem fraglichen HBV-Kontakt gemacht werden kann. Alle Ergebnisse und Auswertungen bezüglich HBV – auch von Subpopulationen – beziehen sich auf diese 918 Patienten. Bei 76 Patienten war der Anti-HBs-Status nicht erhoben worden und auch keine Rückstellprobe vorhanden. Von diesen Patienten waren zwei positiv für HBsAg, sechs positiv für Anti-HBc und die Majorität mit 68 Patienten negativ für Anti-HBc und HBsAg. So lag insgesamt bei 842 der 918 Patienten eine komplette HBV-Serologie mit HBsAg, Anti-HBc und Anti-HBs vor. 917 der 922 Patienten hatten eine Serologie bezüglich Anti-HCV aufzuweisen.

4,5% der Patienten waren HBsAg-Träger, bei 43,4% konnte ein Kontakt mit HBV nachgewiesen werden (HBsAg und/oder Anti-HBc positiv). In Düsseldorf konnte mit 45,6% ein höherer Anteil Patienten mit HBV-Kontakt im Vergleich zu Köln mit 40,4% beobachtet werden; dies erreichte jedoch keine statistische Signifikanz ($p=0,123$). 9,4% aller Patienten waren isoliert für Anti-HBc positiv. Bei Patienten ohne HBV-Kontakt lag nur bei 21,5% der Nachweis einer HBV-Impfung (Anti-HBs positiv) vor (97 vs. 355 Patienten). Hierbei war für Patienten aus Köln ein höherer Prozentsatz zu beobachten mit 24,5 vs. 18,9%; diese Beobachtung erreichte keine statistische Signifikanz ($p=0,168$). Tab. 4.1 und die Abbildung 4 verdeutlichen die Ergebnisse.

Zwei von 18 HBsAg-Trägern, von denen Daten bezüglich Anti-HDV vorhanden waren, zeigten eine HDV-Superinfektion; interessanterweise waren beide zusätzlich HCV-koinfiziert. Desweiteren zeigten 87,2% der HBsAg-Träger die erwartete Serologie mit positivem Anti-HBc und negativem Anti-HBs. Insgesamt fünf von 41 (12,2%) wiesen kein Anti-HBc auf; da diese gleichzeitig HBeAg positiv waren, könnte es sich um frische HBV-Infektionen handeln. Zwei von 39 (5,1%) wiesen Anti-HBs auf. Tab. 4.2 zeigt die weiteren virologischen Charakteristika der HBsAg-Träger. Patienten mit positivem HBeAg und negativem Anti-HBe waren genauso häufig wie Patienten mit der umgekehrten serologischen Konstellation. Tab. 6 zeigt diese beiden Subgruppen im Vergleich. Es konnten keine signifikanten Assoziationen gefunden werden, jedoch

interessante Trends. So waren Patienten mit HBeAg häufiger in der MSM-Risikogruppe – Männer, die Sex mit Männern haben – zu finden (69 zu 31%, $p=0,076$) und zeigten tendenziell einen schlechteren Immunstatus mit geringeren CD4-Zellzahlen von 113/11 (abs./rel.) zu 186/21 ($p=0,69 / 0,18$) und seltenerem CDC-Stadium A (43 zu 64%). Desweiteren wurde in allen Fällen von positivem HBeAg HBV-DNA nachgewiesen, bei Anti-HBe-Trägern nur bei 64% (7 von 11, $p=0,103$). Interessant ist, dass bei HBeAg-Trägern häufiger ein negatives Anti-HBc (19 zu 0%) und häufiger eine primäre Medikamentenresistenz (PDR) für HIV gefunden wurde (25 zu 6,7%).

Der serologische Nachweis einer HCV-Infektion lag bei 10,6% der Patienten vor. Hierbei war eine HCV-Infektion signifikant häufiger bei Patienten aus Düsseldorf zu sehen mit 14,0 vs. 6,2% ($p=0,0002$). Tab. 5 präsentiert die Ergebnisse. Eine HCV-Infektion konnte bei Patienten mit HBV-Kontakt signifikant häufiger nachgewiesen werden mit 15,2 vs. 6,8% ($p<0,001$; s. Tab. 4.1 und Abbildung 4). Ebenso zeigen Tab. 4.1 und die Abbildung 4 den Zusammenhang der HBV-Serologie mit dem HCV-Status. Sowohl bei Patienten mit Nachweis von Anti-HBc (HBsAg-Träger ausgeschlossen) als auch bei Patienten ohne Nachweis eines HBV-Kontaktes war die Prävalenz einer HCV-Koinfektion deutlich geringer, wenn die Patienten zusätzlich Anti-HBs aufwiesen (12,8 vs. 22,4% und 2,1 vs. 7,1%). Beide Beobachtungen erreichten allerdings keine statistische Signifikanz ($p=0,069$ und $p=0,088$).

6,6% (60 von 913) zeigten serologisch eine HBV-/HCV-Koinfektion (HBsAg und/oder Anti-HBc positiv sowie Anti-HCV positiv), sechs Patienten (0,7%) zeigten eine aktive HBV-/HCV-Koinfektion.

Von 97 Anti-HCV positiven Patienten war bei 78 (80,4%) ein Ergebnis zur HCV-RNA verfügbar. 54 Patienten (69,2%) waren auch RNA positiv, 24 (30,8%) RNA negativ (siehe Tab. 5).

Über die Jahre 2002 bis 2008 konnte ein rückläufiger Trend beobachtet werden, was den Anteil an Patienten, die Marker für einen HBV-Kontakt aufweisen, angeht. Dieser Trend ist in Übereinstimmung mit Daten des Robert-Koch-Instituts, die besagen, dass die Anzahl gemeldeter Fälle von akuter Hepatitis B bundesweit sinken (166). Ein Vergleich mit den RKI-Daten ist zwar problematisch, da in unserer HIV-Kohorte auch die chronisch Infizierten und Selbstlimitierten erfasst werden. Trotzdem zeigt sich auch in dieser Gruppe ein deutlicher Rückgang. Abbildung 5 verdeutlicht den Zusammenhang. Die Regressionsgeraden besitzen jeweils eine starke lineare

Korrelation mit $r=-0,93$ für die RKI-Daten und $r=-0,82$ für die Daten der RESINA-Patienten.

Ebenso konnte ein Trend beobachtet werden, dass die Zahl HBV-geimpfter HIV-Patienten zunimmt. Abbildung 6 zeigt für die Jahre 2001 bis 2009 den Anteil von Patienten mit positiven Anti-HBs bei denjenigen, die negativ für Anti-HBc waren. Die lineare Korrelation besitzt den Wert $r=0,89$.

Tab. 4.1: HBV-Serologie und Anti-HCV-Prävalenz in Abhängigkeit davon

	Alle Patienten N=918		Patienten Düsseldorf N=517		Patienten Köln N=401	
	% (N)	Anteil mit Anti-HCV pos in % (N)	% (N)	Anteil mit Anti-HCV pos in % (N)	% (N)	Anteil mit Anti-HCV pos in % (N)
HBV-Serologie						
HBsAg pos	4,5 (41)	15,4 (6/39)	4,8 (25)	17,4 (4/23)	4,0 (16)	12,5 (2/16)
a-HBc isoliert pos	9,4 (86)	22,4 (19/85)	9,5 (49)	29,2 (14/48)	9,2 (37)	13,5 (5/37)
a-HBc und a-HBs pos	28,9 (265)	12,8 (34/265)	30,2 (156)	17,9 (28/156)	27,2 (109)	5,5 (6/109)
a-HBc pos (a-HBs n.a.)	0,7 (6)	16,7 (1/6)	1,2 (6)	16,7 (1/6)		
a-HBc und a-HBs neg	38,7 (355)	7,1 (25/354)	38,3 (198)	9,5 (17/197)	39,2 (157)	5,1 (8/157)
a-HBs isoliert pos	10,6 (97)	2,1 (2/97)	8,9 (46)	2,2 (1/46)	12,7 (51)	2,0 (1/51)
a-HBc neg (a-HBs n.a.)	7,4 (68)	11,9 (8/67)	7,2 (37)	13,5 (5/37)	7,7 (31)	10,0 (3/30)
HBV-Kontakt	43,4 (398)	15,2 (60/395)	45,6 (236)	20,2 (47/233)	40,4 (162)	8,0 (13/162)
Kein HBV-Kontakt	56,6 (520)	6,8 (35/518)	54,4 (281)	8,2 (23/280)	59,6 (239)	5,0 (12/238)
total a-HBc pos	393		233		160	
total a-HBc neg	525		284		241	

Tab. 4.2.: Virologische Charakteristika der HBsAg-Träger; *zu beachten ist, dass nicht von allen Patienten alle Parameter erhoben werden konnten.*

	HBsAg-Träger N=41
HBeAg/Anti-HBe	
HBeAg pos/Anti-HBe neg	16/33 (48,5%)
HBeAg neg/Anti-HBe pos	16/33 (48,5%)
HBeAg neg/Anti-HBe neg	1/33 (3,0%)
HDV	
Anti-HDV pos	2/18 (11,1%)
Anti-HDV neg	16/18 (88,9%)
HBV-DNA	
HBV-DNA pos	18/24 (75,0%)
HBV-DNA neg	6/24 (25,0%)
HBV-Serologie	
Anti-HBc pos/Anti-HBs neg	34/39 (87,2%)
Anti-HBc neg/Anti-HBs neg	3/39 (7,7%)
Anti-HBc pos/Anti-HBs pos	1/39 (2,6%)
Anti-HBc neg/Anti-HBs pos	1/39 (2,6%)
total Anti-HBs pos	2/39 (5,1%)
total Anti-HBc neg	5/41 (12,2%)

Tab. 5: HCV-Serologie und HCV-RNA

	Alle Patienten N=917 (RNA N=78)	Patienten Düsseldorf N=516	Patienten Köln N=401
HCV-Serologie in %			
Anti-HCV pos	10,6 (97)	14,0 (72)	6,2 (25)
HCV-RNA in %			
RNA pos	69,2 (54)		

Tab. 6: HBeAg- und Anti-HBe-Träger im Vergleich

	HBeAg pos N=16	Anti-HBe pos N=16	p-Wert
Alter median	35	35	0,72
Geschlecht, weiblich	4	2	0,65
Transmission			
MSM	11	5	0,076
Heterosexuell		3	0,226
Endemisch	4	4	
IVDA	1	2	
Andere		2	
Ethnizität			
Kaukasisch	12	11	
Afrikanisch	2	3	
Andere	2	2	
HIV-VL median	49.667	38.109	0,93
CD4abs./rel. median	113/11	186/21	0,69/0,18
CDC-Stadium			
A	6	9	0,289
C	6	3	0,433
Leberwerte			
ALT median; >ULN	45; 12/16	44; 9/15	0,63; 0,46
AST median; >ULN	59; 10/16	40; 7/15	0,51; 0,48
GGT median; >ULN	49; 7/16	43; 5/15	0,84; 0,72
HBV-DNA pos	8/8	7/11	0,103
Anti-HCV pos	3/16	3/16	
HIV-PDR	4/16	1/15	0,333
Anti-HBc neg	3/16	0/16	0,226

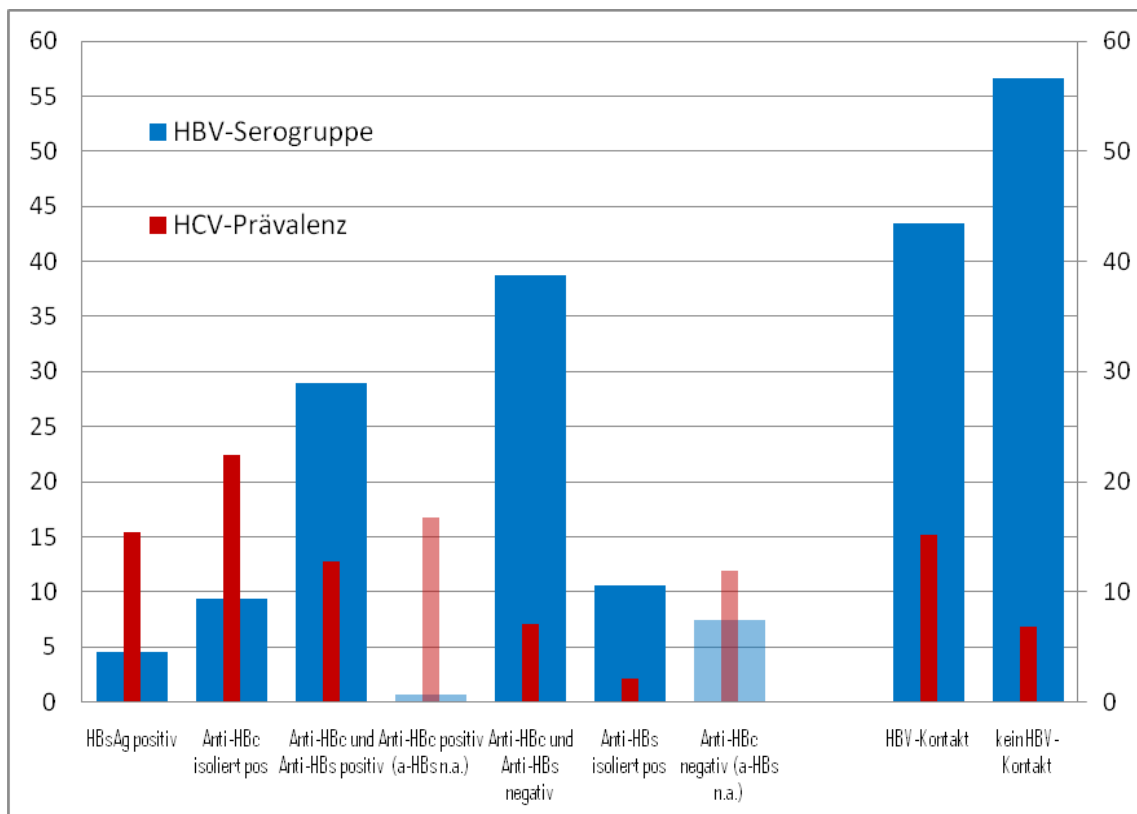


Abb. 4: HBV-Serologien und Anti-HCV Positivität

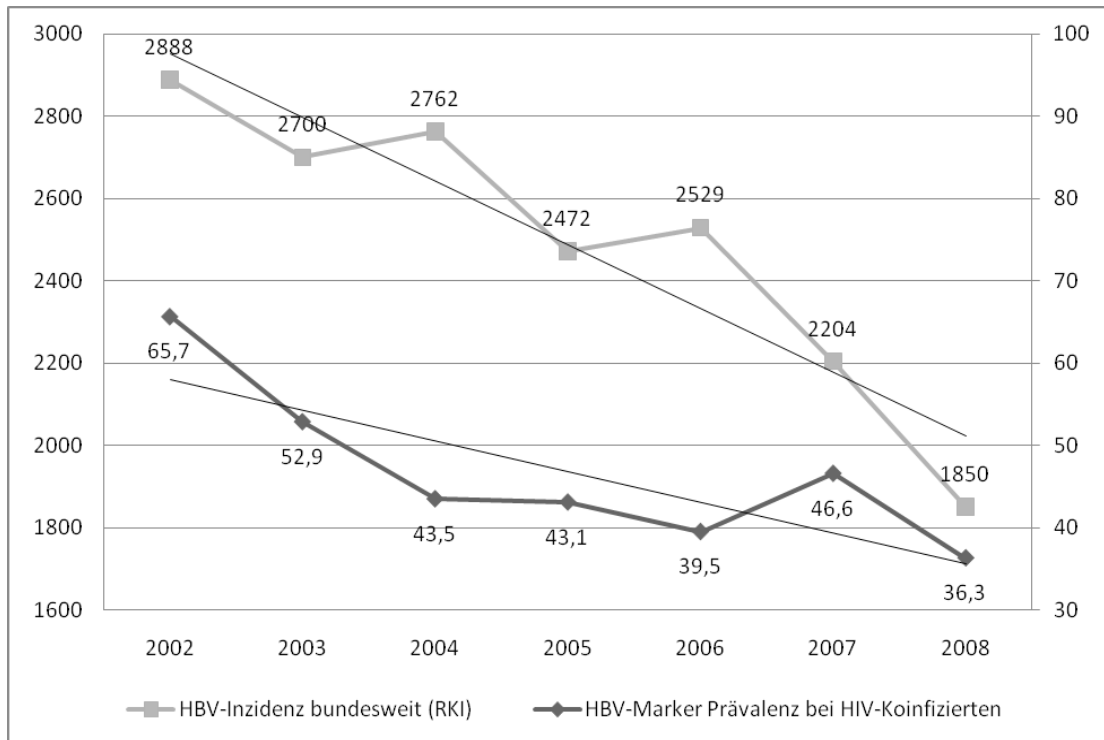


Abb. 5: Vergleich HBV-Inzidenz in Deutschland (RKI) zur HBV-Marker-Prävalenz in der RESINA-Kohorte.

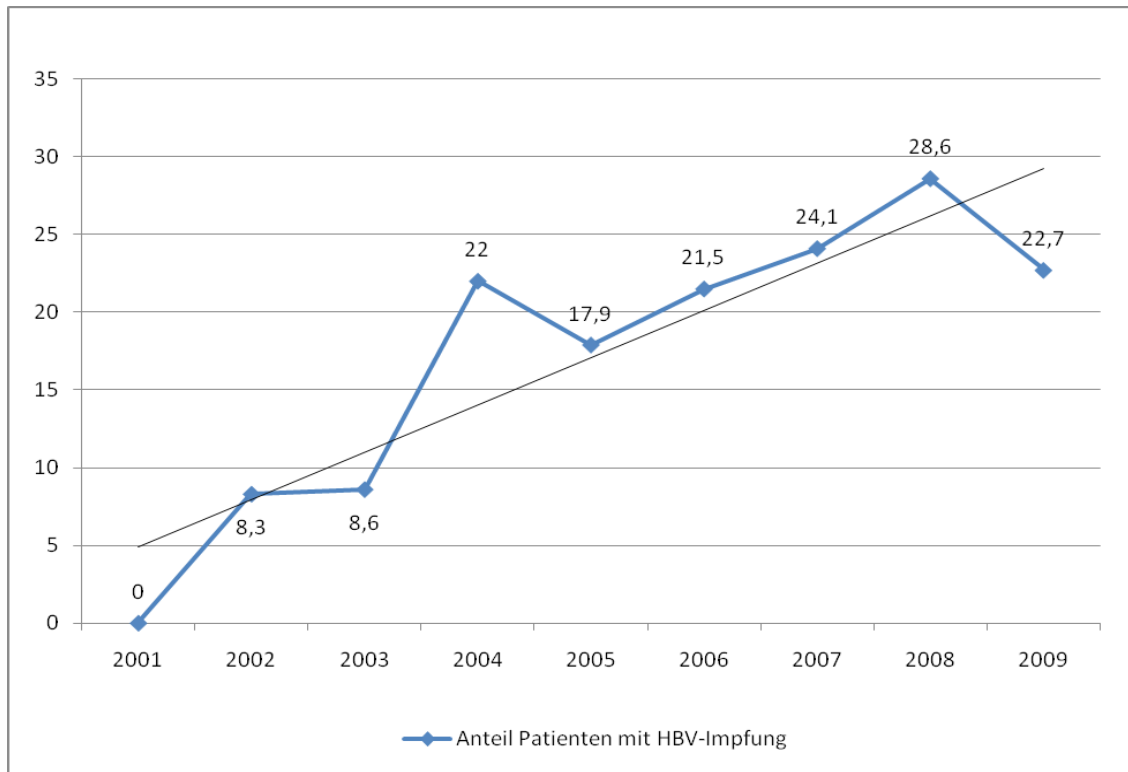


Abb. 6: Anteil Patienten mit HBV-Impfung; es wurden nur Patienten mit negativem Anti-HBc berücksichtigt

4.2 Soziokulturelle Aspekte

Die Patientengruppe wies ein medianes Alter von 37 Jahren auf, 50% der Patienten waren zwischen 31 und 44 Jahre alt. Das männliche Geschlecht überwog mit 75,2 vs. 24,6%. In Köln war der Anteil der Frauen signifikant geringer mit 20 vs. 28,2% ($p=0,004$). Die Majorität der Patienten mit 77,7% waren Kaukasier, gefolgt von Afrikanern (17,1%) und Asiaten (3,5%). In absteigender Reihenfolge wurden folgende HIV-Risikogruppen beobachtet: MSM (46,6%), heterosexuelle Kontakte (23,1%), HIV-endemische Herkunft (17,0%), intravenöser Drogen-Abusus (IVDA, 7,1%). Sehr seltene Transmissionswege waren Bluttransfusion, berufliche Exposition und prä-/perinatale Übertragung (zusammen 1,0%). Hierbei waren Patienten aus Düsseldorf signifikant öfter in der Risikogruppe IVDA (9,7 vs. 3,7%; $p<0,001$), Patienten aus

Köln signifikant öfter in der Gruppe MSM zu finden (52,4 vs. 42.2%; p=0,002). Tab. 7 fasst die Daten zusammen.

Tab. 7: Soziokulturelle Daten der Patientenstichprobe

	Alle Patienten N=918	Patienten Düsseldorf N=517	Patienten Köln N=401	p-Wert
Alter, median in Jahren (IQR)	37 (44-31)	37 (44-30)	38 (45-32)	
Geschlecht %				0,004
weiblich	24,6 (226)	28,2 (146)	20,0 (80)	
männlich	75,2 (690)	71,4 (369)	80,0 (321)	
Ethnizität %				
Kaukasisch	77,7 (713)	76,8 (397)	78,8 (316)	
Afrikanisch	17,1 (157)	18,4 (95)	15,5 (62)	
Asiatisch	3,5 (32)	3,3 (17)	3,7 (15)	
Latino	1,0 (9)	0,2 (1)	2,0 (8)	
Unbekannt/Andere	0,8 (7)	1,4 (7)		
Transmission %				
MSM	46,6 (428)	42,2 (218)	52,4 (210)	0,002
Heterosexuell	23,1 (212)	21,7 (112)	25,0 (100)	
IVDA	7,1 (65)	9,7 (50)	3,7 (15)	<0,001
Endemisch	17,0 (156)	19,1 (99)	14,2 (57)	0,051
Transfusion	0,7 (6)	0,6 (3)	0,7 (3)	
Beruflich	0,2 (2)	0,4 (2)		
Prä-/Perinatal	0,1 (1)	0,2 (1)		
Unbekannt/Andere	5,2 (48)	6,2 (32)	4,0 (16)	

4.3 HBV-DNA und OBI

Bei 554 Patienten wurde eine qualitative HBV-DNA-Bestimmung durchgeführt. Bei 34 Patienten (6,14%) wurde HBV-DNA gefunden, davon waren 16 Patienten negativ für HBsAg, sodass 2,89% der Patienten die Kriterien einer OBI erfüllten. Desweiteren waren sechs HBsAg-Träger negativ für HBV-DNA, sodass von insgesamt 24 HBsAg-Trägern drei Viertel HBV-DNA aufwies, ein Viertel nicht. Insgesamt zeigten 7,22% der Patienten (40 von 554) Marker für eine aktive HBV-Infektion. Tab. 8 fasst die Ergebnisse zusammen.

Tab. 9 zeigt die serologischen HBV-Marker bei Patienten mit OBI. Weder die Anwesenheit von Anti-HBs noch die Abwesenheit aller HBV-Marker schloss eine OBI aus. Wie erwartet zeigte sich bei Patienten mit Anti-HBc eine höhere Prävalenz (4,6 vs. 1,9%; $p=0,119$). Ebenso erwartungsgemäß zeigten Patienten mit isoliert positiven Anti-HBc die höchste Prävalenz mit 6,4% ($p=0,162$).

Tab. 8: Marker einer aktiven HBV-Infektion

	HBV-DNA pos	HBV-DNA neg	Total
HBsAg pos	3,25 % (18)	1,08 % (6)	4,33 % (24)
HBsAg neg	2,89 % (16)	---	---
Total	6,14 % (34)	---	7,22 % (40)

Tab. 9: HBV-Serologie bei OBI-Patienten

	Anti-HBc + Anti-HBs +	Anti-HBc + Anti-HBs -	Anti-HBc - Anti-HBs +	Anti-HBc - Anti-HBs -	Total Anti-HBc +	Total Anti-HBs -
OBI	7	3	1	4	10	6
% der Gruppe	4,3 (7 von 164)	6,4 (3 von 47)	1,9 (1 von 52)	1,9 (4 von 213)	4,6 (10 von 217)	1,9 (6 von 313)

4.4 HBV-DNA-Sequenzierung

Bei 30 der 34 Patienten mit Nachweis von HBV-DNA konnte eine Sequenzierung durchgeführt werden. Folgende Genotypen wurden gefunden: 17 x A2, 7 x D, 3 x G, 1 x C, 1 x E, 1 x A1. Insgesamt zeigten 19 Patienten HBV-Mutationen, also Abweichungen von der Wildtyp-Sequenz des entsprechenden Geno(sub)typs; Tab. 10 beinhaltet die Auflistung aller detektierten Mutationen im Polymerase- sowie korrespondierend im Surface-Gen. Mutationen, die zu einer Medikamentenresistenz führen, wurden bei 5 Patienten beobachtet (17%). Patienten 1 und 2 zeigten eine Mutation, die zu einem verminderten Ansprechen auf Lamivudin führt. Patient 4 zeigte die bekannte Lamivudin assoziierte Triple-Mutation, Patient 5 zwei Lamivudin assoziierte Mutationen und

Patient 3 eine Entecavir assoziierte Mutation. Vier von diesen fünf Fällen wurden bei Patienten mit OBI beobachtet (4 von 13; 30,8%), während einer der Patienten mit positivem HBsAg (1 von 17; 5,9%) eine Medikamenten assoziierte Resistenzmutation aufwies ($p=0,138$). Zudem waren drei der vier Patienten mit OBI negativ für alle serologischen HBV-Marker.

Mutationen, die mit Sicherheit bzw. hoher Wahrscheinlichkeit als Escape-assoziierte-Mutationen beurteilt werden müssen, wurden bei elf Patienten nachgewiesen (zur Problematik der Einteilung von Escape-Mutationen siehe Teil Diskussion). Hier zeigten Patienten mit OBI zum Einen häufiger solche Mutationen (7 von 13) als HBsAg positive Patienten (4 von 17) und zum Anderen auch mehr Escape-Mutationen pro Patient; beide Beobachtungen waren jedoch nicht signifikant ($p=0,132$ und $p=0,069$). Patienten mit OBI zeigten ebenso mehr Mutationen in der MHR, die für die Antigenerkennung entscheidend ist – die drei Patienten mit der höchsten Anzahl an MHR-Mutationen (zweimal drei, einmal sechs) waren alle solche mit OBI. Patienten mit OBI, die negativ für Anti-HBc waren, zeigten signifikant mehr MHR-Mutationen als solche mit Anti-HBc positiver OBI ($p=0,048$).

Patienten mit Genotyp D zeigten signifikant mehr MHR-Mutationen als solche mit HBV-A2 ($p=0,002$). Ebenso tendierten Patienten mit HBV-D häufiger Anti-HCV positiv zu sein (3 von 7) als Patienten mit Genotyp A2 (2 von 16) und tendierten zu höheren CD4-Zellzahlen und niedrigeren HIV-Viruslasten.

Tab. 10: HBV-assoziierte Mutationen im HBsAg-Leseraster

Rot: Mutation, die zu einer Medikamentenresistenz führt; Dunkelblau: Escape-assoziierte Mutation; hellblau: unklar, ob Escape-assoziierte Mutation

Nr.	Genotyp	HBV Polymerase Mutationen	HBsAg Mutationen
1	A2	N131DN, S143AS, I187L, V191IV , L217R, L229M	P111X, K122KR , F134FL , A159V , S167L, V168AV , W182*W , P217LP, F220L
2	E	V191IV	S167LS, W182*W , L226*L
3	D	S119PST, F122L, Q130P, L132M, I169T , M171V, A211G	L109LQ , T125M , F161L , P203A
4	D	H126R, Y135H, V173L , L180M , M204V , Q215S	L97P, T118A , G130E , E164G , I195M, S204N, S207R
5	G	V142T, L180M , M204V , L229F	M133I , Y134H , I195M, C221F
6	A2	L140I	N131K
7	A2	R138K, S219A	G130N , S210R
8	A2	R138KR, S219A	G130DGNS , S210R
9	C	R153QR, S223A, I224V	G145GR , S210N
10	A2	N122D, G152GR, K168KR, S219A	L95S, K160EK , V190A, S193L, I195IT, S210R, F220C
11	D	F122L, Q130P, N139S	T125M , T131A
12	D	Y135S	L84HL, T127P , Y200CY, Y206F, S207N
13	A1	N122H, M129L, V163I	S167* , S207N
14	A2	T128AT, S219A	S210R
15	D	F122V, H126R, L145M	T118V , A128V
16	D	H126R	T118A
17	D	L115M, H126R	T118V , A128V , I208IT
18	G	H100HQ, V103IV, D118DN	I92IN
19	G	-	A166V , S174N, P214LP

4.5 HIV-Resistenz

76 von 912 HAART-naiven Patienten (8,3%) wiesen primäre HIV-assoziierte Resistenzmutationen (PDR) auf. 35 (46%) Patienten zeigten NRTI-Mutationen (M41L, A62V, D67N, T69D, L74V, M184V, L210W, K219E/Q), 36 (47%) NNRTI-Mutationen (L100I, K101E, K103N, V106A, V108I, E138K, V179D/E, Y181C, G190A, P225H, K238T) und 14 (18%) PI-Mutationen (L33F, M46I/L, V82A, I84V, L90M). 12 der 76 Patienten wiesen Resistenzmutationen für zwei Medikamentengruppen auf, ein Patient für alle drei.

Patienten mit HIV-PDR waren signifikant älter (39 vs. 37 Jahre, $p=0,003$) und öfter in den Risikogruppen MSM (62 vs. 45%, $p=0,006$) und IVDA (13 vs. 6%, $p=0,033$) zu finden. Kaukasische Abstammung war weiterhin signifikant mit HIV-PDR korreliert (93 vs. 76%, $p<0,001$). Patienten mit PDR tendierten dazu eine höhere ALT und GGT zu haben. Tab. 11 fasst die Daten zusammen.

PDR war signifikant mit allen Parametern einer aktiven HBV-Infektion (HBsAg positiv und/oder HBV-DNA positiv) und positivem Anti-HCV korreliert. Weiterhin wurde dieser Zusammenhang für eine HBV-Infektion noch stärker, wenn nur Mutationen, die die HIV-Polymerase/RT betreffen, berücksichtigt wurden. Tab. 12 zeigt die Zusammenhänge. Es gab keine Korrelation zwischen HIV- und HBV-Resistenzen.

Tab. 11: Patienten mit und ohne PDR im Vergleich

	HIV-PDR N=76	Keine HIV-PDR N=836	p-Wert
Alter median	39	37	0,003
Geschlecht, weiblich	10,5% (8)	26,0% (217)	0,203
Transmission			
MSM	61,8% (47)	45,2% (378)	0,006
Heterosexuell	11,8% (9)	24,3% (203)	0,015
IVDA	13,2% (10)	6,3% (53)	0,033
Endemisch	5,3% (4)	18,1% (151)	0,006
Andere	7,9% (6)	6,1% (51)	
Ethnizität			
Kaukasisch	93,4% (71)	76,3% (638)	<0,001
Afrikanisch	3,9% (3)	18,3% (153)	0,003
Andere	2,6% (2)	5,4% (45)	
HIV-VL median	53.387	44.877	0,490
CD4 abs./rel. median	209/14	225/15	0,369/0,439
CDC-Stadium			
A	50,7% (37/73)	52,5% (417/795)	0,807
C	32,9% (24/73)	27,7% (220/795)	0,414
Leberwerte			
AST median; >ULN	32; 31,6% (24/76)	32; 34,5% (283/820)	0,852; 0,617
ALT median; >ULN	35; 36,8% (28/76)	28; 27,0% (219/812)	0,121; 0,081
GGT median; >ULN	41; 39,7% (29/73)	34; 32,7% (267/817)	0,119; 0,244
HBV-Serologie			
HBsAg	9,6% (7/73)	4,3% (33/764)	0,042
Isoliert Anti-HBc pos	11,0% (8/73)	10,1% (77/764)	0,838
Isoliert Anti-HBs pos	13,7% (10/73)	11,3% (86/764)	0,563
Anti-HBc/HBs pos	31,5% (23/73)	31,2% (238/764)	1,000
Anti-HBc/HBs neg	34,2% (25/73)	43,2% (330/764)	0,172
HCV-Ak pos	14/75	80/832	0,018
HBV-DNA pos	8/38	26/514	0,001
OBI pos	4/38	12/514	0,019

Tab. 12: HIV-PDR in Relation zu HBV und HCV

	HBsAg pos	HBsAg neg	p-Wert	HBV DNA pos	HBV DNA neg	p-Wert
HIV Resistenz Mutation	7/40 (17.5%)	69/872 (7.9%)	0.042	8/34 (23.5%)	30/518 (5.8%)	0.001
NRTI NNRTI PI	A62V, M184V K103N, V106A			M41L, A62V K103N, E138K, V179D M46I, L90M		
HIV-(N)NRTI-Mutation	7/40 (17.5%)	58/872 (6.7%)	0.019	8/34 (23.5%)	26/518 (5.0%)	<0.001

	Anti-HCV pos	Anti-HCV neg	p-Wert	OBI	Non-OBI	p-Wert
HIV Resistenz Mutation	14/94 (14.9%)	62/813 (7.6%)	0.028	4/16 (25%)	34/536 (6.3%)	0.019
NRTI NNRTI PI	M41L, A62V, E138K, V179E, Y181C, G190A M46I, L90M			M41L E138K, V179D M46I, L90M		
HIV-(N)NRTI-Mutation	11/94 (11,7%)	53/813 (6,5%)	0.085	4/16 (25%)	30/536 (5.6%)	0.013

4.6 Klinische Parameter

Von 918 Patienten konnten bei folgender Anzahl Patienten Daten zum jeweiligen Parameter erhoben werden: HIV-Viruslast bei 913 Patienten, CD4-Zellzahl absolut bei allen, CD4-Zellzahl relativ bei 913, CDC-Stadium bei 872, GOT/AST bei 901, GPT/ALT bei 893, GGT bei 895. Tab. 13 fasst die Ergebnisse zusammen.

Tab. 13: Klinische Parameter der Patientenstichprobe

	Alle Patienten N=918
HIV Viruslast (Kopien/ml)	
Median	44.877
<10.000	23,2 % (212)
10.000-100.000	42,2 % (385)
>100.000	34,6 % (316)
CD4 Zellzahl / mm³	
Median	223
<200	43,8 % (402)
200-500	46,4 % (426)
>500	9,8 % (90)
CD4 Zellzahl (rel.)	
Median	15
<10%	28,6 % (261)
10-20%	41,3 % (377)
>20%	30,1 % (275)
CDC-Stadium	
A	52,3 % (456)
B	19,6 % (171)
C	28,1 % (245)
Leber Parameter	
Mediane AST (U/l)	32
Mediane ALT (U/l)	28
Mediane GGT (U/l)	35
AST > ULN	34,4 % (310)
ALT > ULN	27,9 % (249)
GGT > ULN	33,4 % (299)

4.7 Anti-HBs als Indikator für eine bessere zelluläre Immunantwort

Für Patienten mit serologischen Markern einer aktuellen oder vergangenen HBV-Infektion (HBsAg und/oder Anti-HBc positiv) konnte eine signifikante Korrelation zwischen Anti-HBs und einer besseren zellulären Immunantwort in Form höherer CD4-Zellzahlen gefunden werden. Diese Signifikanz war jedoch bei Betrachtung von Patienten ohne HBV-Kontakt sowie bei Betrachtung der gesamten Patientengruppe nicht mehr zu beobachten. Tab. 14 zeigt die Ergebnisse.

Tab. 14: Anti-HBs und CD4-Zellzahl

	Alle Patienten N=842	HBV-Kontakt N=390	Kein HBV-Kontakt N=452
CD4-Zellzahl /mm³			
Anti-HBs pos	240	240	250
Anti-HBs neg	221	191	230
p-Wert	0,082	0,017	0,470

4.8 Determinanten und Beobachtungen für replikative HBV-Infektion, OBI, HCV-Infektion und isoliertes Anti-HBc

Replikative HBV-Infektion

Patienten mit HBV-DNA hatten signifikant höhere Transaminasen als Patienten ohne HBV-DNA, sowohl im Median als auch öfter über der oberen Normgrenze. Tab. 15 zeigt, dass ALT und AST in 52 und 67% der Fälle mit replikativer HBV-Infektion erhöht waren, aber nur bei 28 und 35% der Patienten ohne replikative HBV-Infektion ($p=0,005$ und $p<0,001$). Patienten mit Nachweis von HBV-DNA waren ebenso signifikant häufiger HBsAg und Anti-HBc positiv ($p<0,0001$ und $p<0,001$). Bezüglich soziokulturellen und anderen klinischen Parametern gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne HBV-DNA; allerdings waren in der ersten Gruppe häufiger Kaukasier (85 vs. 75%, $p=0,295$) und MSM (59 vs. 44%, $p=0,213$) sowie öfter ein CDC-Stadium C, also eine symptomatische AIDS-Erkrankung. (41 vs. 29%, $p=0,174$).

OBI

Wie aus Tab.16 ersichtlich konnte keine signifikante Korrelation zwischen einer OBI und irgendeinem Faktor gefunden werden sondern nur Trends. Ebenso wie die Gesamtheit der Patienten mit replikativer HBV-Infektion waren Patienten mit OBI öfter MSM (69 vs. 44%, $p=0,125$), ebenso war ein CDC-Stadium C häufiger (50 vs. 29%, $p=0,095$). Auch wurde häufiger eine AST über der oberen Normgrenze gefunden (60 vs. 37%, $p=0,101$). Patienten mit OBI waren häufiger Anti-HBc positiv (63 vs. 42%, $p=0,128$). Trotzdem konnte keine serologische Konstellation von HBV-Markern eine OBI ausschließen.

Isoliertes Anti-HBc

Patienten mit isoliert positivem Anti-HBc waren signifikant häufiger Frauen (33 vs. 18%, $p=0,003$) afrikanischer Herkunft (35 vs. 15%, $p<0,0001$) und hatten analog zu letzterer Beobachtung häufiger als Risiko für eine HIV-Transmission die Herkunft aus einem Endemiegebiet (36 vs. 15%, $p<0,0001$). Umgekehrt wurden weniger Kaukasier (62 vs. 80%, $p<0,001$) und MSM (31 vs. 55%, $p<0,0001$) beobachtet. Die 30 Migranten mit afrikanischer Ethnizität waren zu 70% weiblich, von den übrigen 56 Patienten waren nur 12,5% weiblich. Folglich korreliert die Beobachtung zur höheren Häufigkeit des weiblichen Geschlechtes mit der Herkunft und nicht der HBV-Serologie. Es wurde eine geringere Immunkompetenz bei Patienten mit isoliertem Anti-HBc beobachtet. Die relative CD4-Zellzahl war im Median signifikant geringer (14 vs. 16%, $p=0,025$) sowie seltener über 20% (17 vs. 33%, $p=0,004$). Die absolute CD4-Zellzahl war tendenziell geringer (200 vs. 239 Zellen/ μ l im Median, $p=0,093$). Die Beobachtung einer geringeren Immunkompetenz korreliert auch mehr mit der afrikanischen Ethnizität, die somit als Confounder fungiert, als der HBV-Serologie. Die mediane CD4-Zellzahl bei den 30 Patienten mit afrikanischer Herkunft lag bei 113 Zellen/ μ l, während die übrigen 56 Patienten einen Median von 227 Zellen/ μ l aufwiesen.

Eine positive HCV-Serologie wurde signifikant häufiger bei Patienten mit isoliertem Anti-HBc beobachtet (22,4 vs. 10,5%, $p=0,006$). AST und GGT waren bei Patienten mit isoliertem Anti-HBc signifikant häufiger über der oberen Normgrenze (45 vs. 32%, $p=0,03$ und 48 vs. 34%, $p=0,012$). Diese Beobachtung korreliert jedoch mit HCV-Positivität und ist nicht zu beobachten bei Patienten mit isoliertem Anti-HBc, wenn aus dieser Gruppe die HCV-Positiven nicht mitgezählt werden. Eine multivariate Analyse, die die Parameter HIV-VL, CD4-Zellzahl, Transmissionsmodus, Ethnizität, Anti-HCV und Leberwerte mit einbezog, konnte schließlich bestätigen, dass einzig eine Herkunft aus endemischen Ländern, was wiederum mit afrikanischer Herkunft korreliert, und ein positiver Anti-HCV-Status signifikant mit isoliertem Anti-HBc assoziiert sind. Die Odds Ratio für einen Infektionserwerb in endemischen Ländern betrug 4,38, eine positive Serologie für HCV erhöhte die Wahrscheinlichkeit um den Faktor 3,7.

Die einzelnen Resultate sind in Tab.17 zu finden. Die Ergebnisse der multivariaten Analyse zeigt Tab. 18.

Tab. 18: Risikofaktoren für isoliertes Anti-HBc; Multivariate Analyse

Prädiktor	Odds Ratio	95 % Vertrauensbereich	p-Wert
Transmission Endemisches Land	4.38	2.44 - 7.89	< 0.0001
GGT > ULN	1.62	0.95- 2.76	0.068
Anti-HCV+	3.70	1.85 - 7.39	0.0002

HCV-Infektion

Patienten mit positivem Antikörpernachweis auf HCV waren jünger (36 vs. 38 Jahre, $p=0,01$) als solche mit negativen Anti-HCV. Der einzige HIV-Transmissionsweg, der mit HCV assoziiert ist – dafür aber deutlich, war IVDA (62 vs. 1%, $p<0,0001$). Entsprechend waren alle anderen Transmissionswege signifikant seltener. HCV wurde deutlich öfter bei Kaukasiern (93 vs. 76%, $p<0,0001$) und seltener bei Migranten mit afrikanischer Abstammung (2 vs. 19%, $p<0,0001$) gefunden. Alle Leberparameter (ALT, AST, GGT) waren bei Patienten mit HCV deutlich höher (je $p<0,0001$). Die übrigen HIV-betreffenden klinischen Parameter waren bei HCV-Positiven signifikant günstiger. Die HIV-Viruslast war niedriger (12.398 vs. 51.486, $p<0,0001$), die CD4-Zellzahlen sowohl absolut wie relativ höher (290/18 vs. 215/15, $p<0,0001$) und das CDC-Stadium häufiger A (65 vs. 51%, $p=0,009$) und seltener C (19 vs. 29%, $p=0,039$).

HCV-Positive zeigten in der HBV-Serologie häufiger positives Anti-HBc, sowohl insgesamt wie auch isoliert (jeweils $p<0,001$). Da diese univariate Analyse viele signifikante Korrelationen ergibt, besteht die Vermutung, dass einige Parameter sich gegenseitig beeinflussen. So wurde eine multivariate Analyse, die die Parameter HIV-VL, CD4-Zellzahl, Leberparameter, Transmissionsweg und Ethnizität einschloss, durchgeführt, um unabhängige Assoziationen und Risikofaktoren für einen positiven HCV-Status zu finden. Den größten Prädiktor für einen positiven HCV-Status stellte ein intravenöser Drogenabusus dar, der die Wahrscheinlichkeit um den Faktor 192 erhöhte. 92 % der Patienten mit IVDA in ihrer Vergangenheit hatten Anti-HCV. Desweiteren bestanden unabhängige und signifikante Korrelationen mit erhöhten AST- und GGT-Werten, nicht-afrikanischer Ethnizität und einer niedrigeren HIV-Viruslast als 400.000 Kopien/ml. Eine unabhängige Korrelation zwischen HCV-Infektion und erhöhten CD4-Zellzahlen konnte nicht mehr nachgewiesen werden, stattdessen korrelierte dieser

Parameter sehr deutlich mit dem Transmissionsweg IVDA (425 CD4-Zellen/ μ l im Median vs. 228 Zellen/ μ l bei allen anderen Patienten).

Die einzelnen Resultate sind in Tab. 19 zu finden. Die Ergebnisse der multivariaten Analyse zeigt Tab. 20.

Tab. 20: Risikofaktoren für positive Anti-HCV; Multivariate Analyse

Prädiktor	Odds Ratio	95 % Vertrauensbereich	p-Wert
IVDA	191.78	70.60 - 520.98	< 0.0001
HIV VL < 4x10⁵	8.02	1.52 - 42.35	0.012
AST > ULN	2.47	1.16 - 5.26	0.016
GGT > ULN	2.43	1.13 - 5.20	0.020
Kein Afrikaner	2.68	2.26 - 3.18	0.008

Tab. 15: Prävalenzen, Ko-Morbidität und Risikofaktoren für replikative HBV-Infektion bei HIV-Infizierten

	HBV DNA pos. n=34	HBV DNA neg. n=520	p-Wert
Medianes Alter	36	37.5	0.472
Männliches Geschlecht %	82.4 (28)	72.5 (377)	0.316
HIV Transmission %			
MSM	58.8 (20)	43.8 (228)	0.213
Heterosexuell	20.6 (7)	23.1 (120)	0.685
Endemisches Land	14.7 (5)	19.6 (102)	0.511
IVDA	5.9 (2)	6.5 (34)	1.000
Andere/Unbekannt		6.9 (36)	
Ethnische Herkunft %			
Kaukasisch	85.3 (29)	75.4 (392)	0.295
Afrikanisch	11.8 (4)	19.2 (100)	0.367
Asiatisch	2.9 (1)	3.5 (18)	1.000
Andere/Unbekannt		1.9 (10)	
HIV Viruslast (Kopien/ml)			
Median	39.069	52.350	0.934
<10.000	18.1 % (6)	23.8 % (123)	0.532
10.000-100.000	45.5 % (15)	39.7 % (205)	0.583
>100.000	36.4 % (12)	36.6 % (189)	1.000
CD4 Zellzahl / mm³			
Median	196	214	0.613
<200	50.0 % (17)	45.8 % (238)	0.723
200-500	35.3 % (12)	44.6 % (232)	0.373
>500	14.7 % (5)	9.6 % (50)	0.368
CD4 Zellzahl (rel.)			
Median	16	15	0.742
<10%	30.3 % (10)	29.7 % (154)	1.000
10-20%	39.4 % (13)	42.1 % (218)	0.856
>20%	30.3 % (10)	28.2 % (146)	0.842
CDC-Stadium			
A	47.1 % (16)	49.0 % (247)	0.861
B	11.8 % (4)	21.8 % (110)	0.197
C	41.2 % (14)	29.2 % (147)	0.174
Leber Parameter			
Mediane AST (U/l)	42	32	<0.001
Mediane ALT (U/l)	40	29	0.003
Mediane GGT (U/l)	43	36	0.087
AST > ULN	66.7 % (22)	35.2 % (181)	<0.001
ALT > ULN	51.5 % (17)	27.7 % (141)	0.005
GGT > ULN	43.8 % (14)	32.7 % (167)	0.246
HBV Serologie			
HBsAg	52.9 % (18/34)	1.2 % (6/520)	<0.0001
Isoliert Anti-HBs	3.2 % (1/31)	10.9 % (51/467)	0.234
Isoliert Anti-HBc	9.7 % (3/31)	9.4 % (44/467)	1.000
Anti-HBc/HBs neg	12.9 % (4/31)	44.8 % (209/467)	<0.001
Anti-HBc/HBs pos	22.6 % (7/31)	33.6 % (157/467)	0.241
Anti-HBc pos total	73.5 % (25/34)	41.0 % (213/520)	<0.001
HCV Serologie pos %	12.1 (4/33)	9.1 (47/516)	0.534

Tab. 16: Prävalenzen, Ko-Morbidität und Risikofaktoren für OBI bei HIV-Infizierten

	OBI n=16	Keine OBI n=538	p-Wert
Medianes Alter	40	37	0.253
Männliches Geschlecht %	75 (12)	73 (393)	1.000
HIV Transmission %			
MSM	68.9 (11)	44.1 (237)	0.125
Heterosexuell	25 (4)	22.9 (123)	1.000
Endemisches Land	6.2 (1)	19.7 (106)	0.214
IVDA		6.7 (36)	0.617
Andere/Unbekannt		6.7 (36)	
Ethnische Herkunft %			
Kaukasisch	87.5 (14)	75.7 (407)	0.384
Afrikanisch	12.5 (2)	19.0 (102)	0.748
Asiatisch		3.5 (19)	1.000
Andere/Unbekannt		1.9 (10)	
HIV Viruslast (Kopien/ml)			
Median	27.509	50.608	0.966
<10.000	18.8 % (3)	23.6 % (126)	0.774
10.000-100.000	43.8 % (7)	39.9 % (213)	0.799
>100.000	37.5 % (6)	36.5 % (195)	1.000
CD4 Zellzahl / mm³			
Median	202	212	0.875
<200	43.8 % (7)	46.1 % (248)	1.000
200-500	43.8 % (7)	44.1 % (237)	1.000
>500	12.5 % (2)	9.9 % (53)	0.667
CD4 Zellzahl (rel.)			
Median	16	15	0.921
<10%	26.7 % (4)	29.9 % (160)	1.000
10-20%	60.0 % (9)	41.4 % (222)	0.187
>20%	13.3 % (2)	28.7 % (154)	0.253
CDC-Stadium			
A	43.8 % (7)	49.0 % (256)	0.801
B	6.3 % (1)	21.6 % (113)	0.213
C	50.0 % (8)	29.3 % (153)	0.095
Leber Parameter			
Mediane AST (U/l)	39	32	0.163
Mediane ALT (U/l)	32	30	0.779
Mediane GGT (U/l)	32	37	0.808
AST > ULN	60.0 % (9)	36.7 % (195)	0.101
ALT > ULN	33.3 % (5)	29.0 % (153)	0.775
GGT > ULN	33.3 % (5)	33.2 % (175)	1.000
HBV Serologie			
HBsAg		4.5 % (24/538)	1.000
Isoliert Anti-HBs	6.7% (1/15)	10.6 % (51/483)	1.000
Isoliert Anti-HBc	20.0% (3/15)	9.1 % (44/483)	0.160
Anti-HBc/HBs neg	26.7% (4/15)	43.3 % (209/483)	0.291
Anti-HBc/HBs pos	46.7% (7/15)	32.5 % (157/483)	0.270
Anti-HBc pos total	62.5 % (10/16)	42.4 % (228/538)	0.128
HCV Serologie pos %	12.5 (2)	9.2 (49/533)	0.653

Tab. 17: Prävalenzen, Ko-Morbidität und Risikofaktoren für isoliertes Anti-HBc bei HIV-Infizierten

Jeglicher HBV Marker = HBsAg+, Anti-HBs+, Anti-HBc+; außer isoliertes Anti-HBc+

	Isoliert AntiHBc+ n=86	Jeglicher HBV- Marker n=403	p-Wert
Medianes Alter	37	38	0.555
Männliches Geschlecht %	67.4 (58)	82.1 (331)	0.003
Weibliches Geschlecht %	32.6 (28)	17.9 (72)	0,003
HIV Transmission %			
MSM	31.4 (27)	55.3 (223)	<0.0001
Heterosexuell	9.3 (8)	16.1 (65)	0.175
Endemisches Land	36.0 (31)	15.4 (62)	<0.0001
IVDA	14.0 (12)	8.2 (33)	0.094
Andere/Unbekannt	9.3 (8)	5.0 (20)	
Ethnische Herkunft %			
Kaukasisch	61.6 (53)	79.7 (321)	<0.001
Afrikanisch	34.9 (30)	15.1 (61)	<0.0001
Asiatisch	3.5 (3)	3.7 (15)	1.000
Andere/Unbekannt		1.5 (6)	
HIV Viruslast (Kopien/ml)			
Median	30.924	45.722	0.559
<10.000	21.4 % (18)	23.7 % (95)	0.7766
10.000-100.000	44.0 % (37)	41.6 % (167)	0.716
>100.000	34.5 % (29)	34.7 % (139)	1.000
CD4 Zellzahl / mm³			
Median	200	239	0.093
<200	50.0 % (43)	41.7 % (168)	0.187
200-500	43.0 % (37)	47.4 % (191)	0.477
>500	7.0 % (6)	10.9 % (44)	0.331
CD4 Zellzahl (rel.)			
Median	14	16	0.025
<10%	29.1 % (25)	27.6 % (111)	0.792
10-20%	53.5 % (46)	39.6 % (159)	0.022
>20%	17.4 % (15)	32.8 % (132)	0.004
CDC-Stadium			
A	48.8 % (40)	54.4 % (209)	0.394
B	19.5 % (16)	18.5 % (71)	0.876
C	31.7 % (26)	27.1 % (104)	0.417
Leber Parameter			
Mediane AST (U/l)	36	32	0.096
Mediane ALT (U/l)	28	29	0.832
Mediane GGT (U/l)	47	36	0.089
AST > ULN	44.6 % (37)	31.8 % (125)	0.030
ALT > ULN	33.3 % (27)	27.6 % (108)	0.344
GGT > ULN	48.2 % (40)	33.5 % (130)	0.012
♀ CV Serologie pos. %	22.4 (19/85)	10.5 (42/401)	0.006
HBV DNA positiv %	6.4 (3/47)	10.8 (26/240)	0.439

Tab. 19: Prävalenzen, Ko-Morbidität und Risikofaktoren für HCV bei HIV-Infiziert

	Anti HCV+ n=97	Anti HCV- n=820	p-Wert
Medianes Alter	36	38	0.010
Männliches Geschlecht %	69.1 (67)	75.6 (620)	0.213
HIV Transmission %			
MSM	17.5 (17)	49.8 (408)	<0.0001
Heterosexuell	11.3 (11)	24.5 (201)	0.003
Endemisches Land	2.1 (2)	18.9 (155)	<0.0001
IVDA	61.9 (60)	0.9 (7)	<0.0001
Andere/Unbekannt	7.2 (7)	6.0 (49)	
Ethnische Herkunft %			
Kaukasisch	92.8 (90)	76.0 (623)	<0.0001
Afrikanisch	2.1 (2)	18.9 (155)	<0.0001
Asiatisch	3.1 (3)	3.5 (29)	1.000
Andere/Unbekannt	2.1 (2)	1.6 (13)	
HIV Viruslast (Kopien/ml)			
Median	12.398	51.486	<0.0001
<10.000	46.3 % (44)	20.6 % (168)	<0.0001
10.000-100.000	36.8 % (35)	42.8 % (349)	0.275
>100.000	16.8 % (16)	36.6 % (299)	<0.0001
CD4 Zellzahl / mm³			
Median	290	215	<0.0001
<200	36.1 % (35)	44.8 % (367)	0.106
200-500	38.1 % (37)	47.2 % (387)	0.106
>500	25.8 % (25)	8.0 % (66)	<0.0001
CD4 Zellzahl (rel.)			
Median	18	15	<0.0001
<10%	12.4 % (12)	30.4 % (248)	<0.0001
10-20%	44.3 % (43)	40.9 % (333)	0.515
>20%	43.3 % (42)	28.7 % (234)	0.004
CDC-Stadium			
A	65.3 % (62)	50.6 % (393)	0.009
B	15.8 % (15)	20.1 % (156)	0.342
C	18.9 % (18)	29.3 % (228)	0.039
Leber Parameter			
Mediane AST (U/l)	44	31	<0.0001
Mediane ALT (U/l)	38	28	<0.0001
Mediane GGT (U/l)	57	34	<0.0001
AST > ULN	61.1 % (58)	31.8 % (254)	<0.0001
ALT > ULN	46.3 % (44)	26.4 % (208)	<0.0001
GGT > ULN	52.6 % (50)	31.5 % (249)	<0.0001
HBV Serologie			
HBsAg	6.3 % (6/96)	4.0 % (33/819)	0.287
Isoliert Anti-HBs	2.3 % (2/86)	12.6 % (95/752)	0.002
Isoliert Anti-HBc	22.1 % (19/86)	8.8 % (66/752)	<0.001
Anti-HBc/HBs neg	29.1 % (25/86)	43.8 % (329/752)	0.011
Anti-HBc/HBs pos	39.5 % (34/86)	30.7 % (231/752)	0.111
Anti-HBc pos total	61.1 % (58/95)	40.7 % (333/818)	<0.001
OBI %	3.8 (2/53)	2.8 (14/499)	0.656

5. Diskussion

5.1 HBV-Serologie und -DNA

In unserer Untersuchung von 918 HAART-naiven HIV-Patienten waren 4,5% HBsAg-Träger und 43,4% zeigten serologische Marker für einen HBV-Kontakt. Diese Zahlen liegen sehr viel höher als die vom RKI berichteten HBV-Daten für eine Durchschnittsbevölkerung in Deutschland, die für HBsAg-Träger 0,4 bis 0,8% und für Anti-HBc-Träger 5-8% lauten (131). Unsere Ergebnisse für HIV-Infizierte stimmen mit Beobachtungen in anderen Ländern, die eine zu Deutschland vergleichbare HBV-Endemie aufweisen, überein: 3,7 bis 7,1% für HBsAg-Träger und 41,5 bis 62,1% für Personen mit HBV-Kontakt (107,122,142). 9,4% der HIV-Infizierten wiesen serologisch nur Anti-HBc auf. Auch diese Beobachtung deckt sich mit anderen Forschergruppen (52,105,122,142).

Der Nachweis von Anti-HBs war bei Patienten mit positivem Anti-HCV deutlich seltener. Dies spricht für ein vermindertes Gesundheitsbewusstsein bei Personen mit dem Risikoverhalten IVDA – diese lassen sich also seltener impfen – sowie für eine schlechtere Immunabwehr auf Grund des Lebensstils – eine Impfung spricht weniger gut an. Es ist bekannt, dass bei HCV-Positiven sowohl die Anzahl der Non-Responder auf eine HBV-Impfung höher ist als auch die Anti-HBs-Titer geringer sind (79).

Bei 75% der HBsAg-Träger konnte gleichzeitig HBV-DNA gefunden werden. Es ist nicht ungewöhnlich, dass ein gewisser Teil der HBsAg-Träger HBV-DNA-negativ ist, da HBsAg auch bei fehlender viraler Replikation produziert werden kann (127). Shire et al. fanden bei drei von 17 HBsAg-Trägern keine HBV-DNA (142). Eine spezifische HBV-Therapie ist als Ursache für die HBV-DNA-negativen RESINA-Patienten wenig wahrscheinlich, da in den Patientenakten eine solche nicht dokumentiert wurde.

Bei 6,1% der RESINA-Patienten konnte HBV-DNA nachgewiesen werden, 7,2% zeigten Marker für eine aktive HBV-Infektion (HBsAg und/oder HBV-DNA). Für Westeuropa und die USA, also Regionen mit ähnlichem HBV-Endemiegrad wie Deutschland, wurden Prävalenzen zwischen 6 und 14% für eine aktive HBV-/HIV-Koinfektion beobachtet (4). Eine HCV-Koinfektion erhöhte in der RESINA-Kohorte nicht das Risiko für eine HBV-Infektion, es wurde jedoch bei Patienten mit HBV-Kontakt eine HCV-Infektion signifikant häufiger beobachtet als bei Patienten ohne

HBV-Kontakt (20 zu 8%). Hingegen wurden für Patienten mit HBV-DNA signifikant höhere Transaminasen beobachtet, was auch andere Forschergruppen nachweisen konnten (54, 136). Ebenso waren Patienten mit HBV-DNA signifikant öfter Anti-HBc positiv. Angesichts der negativen Beeinflussung einer Hepatitis B durch eine HIV-Koinfektion und der Möglichkeit in einer HAART auch HBV-wirksame Medikamente zu nutzen ist die Kenntnis über Frequenz und Risikofaktoren einer chronischen HBV-Infektion für HIV-Patienten wichtig. Deshalb sollten als Konsequenz erhöhte Transaminasen und positives Anti-HBc immer den Verdacht auf eine HBV-Infektion erheben.

5.2 OBI

Es konnte bei 2,9% von 554 HIV-Infizierten eine OBI entdeckt werden. Die einzige Studie, die vergleichbar ist – also eine ausreichend große Teilnehmerzahl hatte, in einem HBV niedrig-endemischen Land stattfand und vor allem auch Patienten sämtlicher HBV-Serogruppen einschloss – ist die von Shire et al. aus dem Jahr 2007. Von 909 Patienten wiesen hier 1,3% eine OBI auf (143). Die meisten Studien untersuchten nur Patienten mit zuvor nachgewiesenem Anti-HBc. Hier wird über Prävalenzen von 4 bis 10% berichtet (85, 119), was durch unsere Untersuchung, die bei 4,6% der Patienten mit Anti-HBc HBV-DNA fand, bestätigt wird. Betrachtet man nur die Patienten mit isoliertem Anti-HBc steigt die Prävalenz der OBI weiter; hier beträgt sie in unserer Patientenstichprobe 6,4%. Die Majorität der Studien konnte diesen Zusammenhang auch entdecken (31, 40, 103). Trotzdem schließt in Übereinstimmung mit den Resultaten anderer Gruppen die Präsenz von Anti-HBs eine OBI nicht aus, da hier acht von 15 RESINA-Patienten (53%) Anti-HBs zeigten. Im Vergleich dazu hatten sieben von 17 Patienten in der Studie von Lo et al. (85), fünf von 12 bei Shire et al. (143) und 12 von 16 bei Santos et al. (136) Anti-HBs. Ebenso schließen eine komplett negative Serologie und isoliertes Anti-HBs eine OBI nicht aus, vier von 16 RESINA-Patienten zeigten keine serologischen HBV-Marker, ebenso fünf von 12 Patienten bei Shire et al. und drei von 17 bei Filippini et al. (40). Für die vier RESINA-Patienten ist eine Kontamination der Proben oder des Testes auf Grund der Sequenzanalyse der HBV-DNA unwahrscheinlich. Ebenso unwahrscheinlich ist eine frische HBV-Infektion, da serologische Verlaufskontrollen eine Bestätigung der negativen HBV-Marker

erbrachten. Shire et al. konnten zwei Fälle von OBI nach einer erfolgten HBV-Vakzinierung entdecken. Diese Ergebnisse verdeutlichen die serologische Variabilität einer OBI. Desweiteren muss man den intermittierenden Charakter bezüglich der HBV-Replikation bei der OBI bedenken (40, 59). Das bedeutet, dass die Replikation des HBV nicht konstant ist und zeitweise unter der Nachweisgrenze des Tests liegt. Dies führt sehr wahrscheinlich zu einer Unterschätzung in der Prävalenz, da die meisten Studien nicht longitudinal ausgelegt waren. Insgesamt sollte bei therapie-naiven HIV-Patienten neben der Analyse von serologischen HBV-Markern eine HBV-DNA-Bestimmung vor dem Beginn einer HAART stattfinden, besonders bei positivem Anti-HBc.

Es konnte für RESINA-Patienten kein Zusammenhang zwischen einer OBI und erhöhten Transaminasen gefunden werden, hingegen bei Patienten mit replikativer HBV schon. Alle Studien, die HAART-naive HIV-Patienten untersuchten, konnten ebenfalls keine erhöhten Transaminasen entdecken (31, 40, 119, 139, 142), wobei Cohen Stuart et al. bei OBI-Patienten häufiger eine erhöhte GGT fanden (31). Es wird vermutet, dass erst durch die HAART-bedingte Immunrestitution eine anhand der Transaminasen messbare Inflammation ausgelöst wird, wie wenige Studien zeigen konnten (40, 136). Auch CD4-Zellzahl, HIV-Viruslast und CDC-Stadium waren in unserer Untersuchung wie auch fast allen anderen Studien nicht mit einer im Serum nachweisbaren OBI korreliert. Lediglich Cohen Stuart et al. und Tsui et al. konnten einen Zusammenhang zu niedrigeren CD4-Zellzahlen bei therapie-naiven Patienten finden (31, 155). Dies passt zur Theorie, dass im Rahmen der HIV-bedingten Immunsuppression die Virämie einer OBI ansteigt und nun messbare Bereiche erreicht; eine HBV-Reaktivierung kann erfolgen, was als opportunistische Infektion angesehen werden kann (56). Demnach würde man bei HIV-Patienten mit messbar-virämischer OBI eine Korrelation zu höheren HIV-Viruslasten, niedrigeren CD4-Zellzahlen und einem höherem CDC-Stadium erwarten. Bei RESINA-Patienten fiel lediglich eine Assoziation zum CDC-Stadium C auf, welche aber nicht statistische Signifikanz erreichen konnte (50 zu 29,3%, $p=0,095$).

Der Zusammenhang zwischen OBI und einer HCV-Koinfektion wird bei HIV-Patienten – im Gegensatz zu HBV/HCV-Koinfizierten ohne HIV – kontrovers betrachtet. Zwei Gruppen konnten eine positive Korrelation zwischen einer HCV-Koinfektion und einer OBI entdecken (6, 100), eine Gruppe eine negative (85). In unserer Untersuchung konnte für RESINA-Patienten kein Zusammenhang zu einer HCV-Koinfektion nachgewiesen werden.

5.3 Isoliertes Anti-HBc

Patienten mit isoliert positivem Anti-HBc werden häufiger bei HIV- und HCV-Infizierten mit und ohne HIV-Koinfektion sowie bei Patienten mit IVDA unabhängig von einer HCV-Infektion beobachtet (44, 106, 117, 120). Erklärende Ursachen beinhalten die Phase des „diagnostischen Fensters“ vor Produktion von Anti-HBs, falsch positive Tests, eine chronische HBV-Infektion mit niedriger Replikation, HBV-Escape-Mutanten, Koinfektionen mit HCV, welches die HBsAg-Synthese beeinflusst, Immunkomplexe von HBsAg und Anti-HBs sowie niedrige Titer von Anti-HBs bei Immunität (120).

Aussagewert, klinische Relevanz und Risikofaktoren sind wenig erforscht. Bei RESINA-Patienten wurde mit einer Prävalenz von 9,4% dieses serologische Muster gefunden. Als unabhängige Risikofaktoren für isoliertes Anti-HBc wurden afrikanische Herkunft und eine HCV-Koinfektion beobachtet. Die in der univariaten Analyse ebenfalls signifikanten Parameter weibliches Geschlecht, niedrige CD4-Zellzahlen und erhöhte AST sowie GGT korrelierten hingegen für Geschlecht und CD4-Zellzahl mit afrikanischer Herkunft der Patienten und für die Leberwerte mit einer HCV-Koinfektion. Die Signifikanz für diese Parameter ließ sich bei nicht-afrikanischer Ethnizität und negativer HCV-Serologie nicht mehr nachweisen.

Dennoch konnte eine Studie einen Zusammenhang von isoliertem Anti-HBc und weiblichem Geschlecht nachweisen (106). Jedoch wurde zur Ethnizität als möglichem Confounder, so wie bei RESINA-Patienten, keine Aussage gemacht.

Die Vermutung, dass isoliertes Anti-HBc bei HIV-Patienten ein Indikator beziehungsweise die Folge der Schwere der Immundefizienz ist, konnte von einigen Studien nachgewiesen werden. French et al. konnten in einer multivariaten Analyse eine Korrelation mit einer hohen HIV-Viruslast (über 100.000 Kopien pro ml) beobachten (44). Sun et al. fanden eine signifikante Assoziation mit CD4-Zellzahlen unter 100 pro μ l sowie ein höheres Alter bei Patienten mit isoliertem Anti-HBc (150). French et al. und Sheng et al. konnten bei HIV-Patienten unter einer HAART eine Assoziation zwischen der Entwicklung von Anti-HBs und dem Anstieg der CD4-Zellen beobachten (43, 139). Diese Daten legen nahe, dass bei einem erheblichen Teil der HIV-Patienten der HBV-Status von isoliert positivem Anti-HBc darin begründet ist, dass die HIV-bedingte Immunschwäche Anti-HBs unter die Nachweisgrenze der Assays sinken lässt

– diese Antikörper können jedoch bei Immunrestitution wieder nachweisbar werden. Es ist bekannt, dass Anti-HBc auch T-Zell-unabhängig produziert werden kann, Anti-HBs hingegen nicht (96, 156).

Eine OBI konnte bei 6,4% der RESINA-Patienten mit isoliertem Anti-HBc nachgewiesen werden. Andere Studien in HBV-niedrigendemischen Ländern beobachteten Prävalenzen zwischen 2 und 25,6% (107, 155). Für HIV-Patienten wird die Assoziierung einer OBI mit isoliert positivem Anti-HBc sicherlich unterschätzt – berücksichtigt man die intermittierende Virämie mit niedriger Replikation, die oft nicht ausreichende Sensitivität der HBV-DNA Bestimmung und die fehlenden Mehrfachuntersuchungen (40, 59).

5.4 HCV

Für HAART-naive HIV-Patienten konnte eine serologisch nachgewiesene HCV-Koinfektion in 10,6% der Fälle beobachtet werden. Andere Studien ergaben Prävalenzen bis zu 30% (4, 132) in der westlichen Welt. Eine Transmission durch IVDA, erhöhte AST und GGT, nicht-afrikanische Herkunft und niedrige HIV-VL waren unabhängige und signifikante Prädiktoren für eine positive HCV-Serologie. Eine bessere zelluläre Immunabwehr, sichtbar durch höhere CD4-Zellzahlen, korrelierte mehr mit IVDA, wobei über 90% der Patienten mit IVDA Anti-HCV-positiv waren und diese Gruppe wiederum mehr als 60% aller HCV-Positiven ausmachte. Weiter wurde eine hohe Korrelation zwischen Patienten mit isoliertem Anti-HBc und einer positiven HCV-Serologie gefunden. Dies wird durch Beobachtungen anderer Studien bestätigt (44, 67). Es ist deshalb sinnvoll Patienten mit dieser serologischen HBV-Konstellation auf eine HCV-Koinfektion zu untersuchen.

Angesichts unterschiedlicher Berichte ist es nach wie vor nicht sicher, wie eine HCV-Koinfektion den natürlichen Verlauf einer HIV-Infektion beeinflusst. Die Analyse der SWISS HIV Cohort Study ergab für HCV-Infizierte eine schnellere AIDS-Progression und niedrigere CD4-Zellzahlen unter HAART (51). Hingegen konnten andere Forschergruppen keine Beeinflussung einer HIV-Infektion durch eine HCV-Koinfektion entdecken (58, 149). Wiederum andere Studien konnten sogar positive Effekte einer HCV-Koinfektion für HIV-Infizierte nachweisen, was mit den Beobachtungen bei RESINA-Patienten übereinstimmt: In einer longitudinalen Studie

von 168 therapie-naiven HIV-Patienten über 33 Monate konnte eine langsamere Krankheitsprogression mit niedrigeren HIV-VL und höheren CD4-Zellzahlen bei HCV-Koinfizierten beobachtet werden (164). In einer Studie mit HIV-infizierten Kindern wurde ebenso bei HCV-Koinfizierten seltener eine HIV-Progression beobachtet (95). Letztlich konnte eine weitere Forschergruppe für Patienten mit HCV-Genotyp 1 eine signifikant seltenere HIV-bezogene Krankheitsprogression entdecken (101). Diese Resultate lassen vermuten, dass zumindest bei einem Teil der HCV-koinfizierten HIV-Patienten HCV eine Beeinflussung auf HIV ausübt – ähnlich wie die Beeinflussung einer HBV-Infektion durch HCV schon bekannt ist. Dies würde auch erklären, dass – abhängig von bisher noch nicht determinierten Parametern (eventuell HCV-Genotyp) – zwei scheinbar widersprüchliche Gruppen von HIV-/HCV-Koinfizierten beobachtet werden.

Eine weitere Erklärung könnte eine Koinfektion mit dem GB-Virus C (GBV-C) sein. Dieses mit HCV eng verwandte Virus scheint nicht humanpathogen zu sein und bei HIV-Infizierten zu einer Inhibition der HIV-Replikation und einem verlängerten Überleben zu führen (153). Die durchschnittliche weltweite Prävalenz bei Blutspendern für eine akute oder zurückliegende GBV-C Infektion liegt bei circa 20%. Bei HIV-Infizierten konnte eine Prävalenz von 35% ermittelt werden (129). Für Patienten mit IVDA und einer HCV-Infektion ist die Prävalenz noch höher; eine Studie fand bei dieser Konstellation eine Prävalenz von 65,1% (15).

Eine ebenfalls mögliche Erklärung für die bessere Immunfunktion bei HCV-Positiven bzw. Patienten mit IVDA ist, dass diese auf Grund ihrer im Vordergrund stehenden Hepatitis C früher auf HIV gescreent werden, sodass die HIV-Infektion noch nicht so weit wie bei anderen therapie-naiven HIV-Patienten fortgeschritten ist. RESINA-Patienten mit IVDA waren signifikant jünger als Patienten mit MSM (median 33,8 Jahre vs. 38,6 Jahre; $p < 0,001$).

5.5 HBV-DNA-Analyse

Bei 19 von 30 Patienten konnten Abweichungen von der Wildtyp-Sequenz des jeweiligen Geno(sub)typs gefunden werden. Insgesamt fünf Patienten (17%) zeigten Mutationen, die zu Medikamenten-Resistenz führen: vier Fälle von Lamivudin-Resistenz, darunter einmal die bekannte Triple-3TC-Mutante, und ein Fall von

Entecavir-Resistenz wurden beobachtet. Die Mutation V191I wurde nicht von den Tools Geno-2-pheno und HIV-Grade erkannt, sondern vielmehr in der Literatur beschrieben (5). Vier von fünf Fällen wurden bei Patienten mit OBI gefunden. Nur wenige Studien haben bei ihren HIV-Patienten mit OBI eine Sequenzierung des HBV-Genoms vorgenommen. Zusammengefasst wurde in einem von 19 Fällen eine Medikamentenresistenz-Mutation gefunden, nämlich die Triple-3TC-Mutante (6).

Für Mutationen im HBsAg ist das Problem, dass es keine allgemeine Definition gibt, was eine Escape-Mutante ist. Sicher ist, dass „Escape“ dreierlei bedeuten kann: erstens einen diagnostischen Escape, der zu scheinbar HBsAg negativen Patienten führt; zweitens einen vaccine-Escape mit der Konsequenz, dass das nach einer HBV-Impfung gebildete Anti-HBs die Mutanten nicht neutralisieren kann; drittens einen immun-Escape, der zu vermindertem bis nicht vorhandenem therapeutischen Ansprechen auf HBsAg führt (8). Prinzipiell muss jede nicht-synonyme Mutation in der MHR als Escape-Mutation verdächtigt werden, besonders wenn die Umstände wie positives Anti-HBs oder eine OBI dazu passen. Deshalb ist es auch in der vorliegenden Arbeit eine exakte Beurteilung der nachgewiesenen HBsAg-Mutationen schwierig. Jedoch ist zusätzlich zu den beiden bekannten Interpretations-Tools ein Einblick in die Fachliteratur hilfreich. Die Mutationen, die letztlich bei RESINA-Patienten als Escape-assoziiert angesehen wurden, waren in mindestens einer der Übersichtsarbeiten von Roque-Afonso et al. und Avellon et al. als Escape-Mutanten bezeichnet (7, 134). Auch wurden Mutationen, die die Subtyperdeterminanten verändern, als Escape-Mutationen betrachtet. Dazu zählen K122R (57), K160E und T127P. Bei einigen HBsAg-Mutationen war ihre Beurteilung hingegen unklar: Die Mutation F161L liegt direkt neben der Subtyperdeterminante und wurde in dieser Arbeit bei einem Patienten mit OBI nachgewiesen. A166V wurde bei einem RESINA-Patienten mit OBI und positivem Anti-HBs nachgewiesen, jedoch war die Recherche in der Fachliteratur negativ. Die Stop-Mutanten S167* und W182* können zu einer verminderten Sekretion von HBsAg führen und werden bei OBI öfters gefunden (5). Die Beurteilung der Mutationen A128V und T118A/V erweist sich als besonders schwierig. Sie wurden in dieser Arbeit ausschließlich bei Patienten mit Genotyp D2 gefunden – ein bekanntes Phänomen (113). Diese Mutationen sind für die große Variabilität von Genotyp D mitverantwortlich. Auch in dieser Arbeit konnte die Beobachtung gemacht werden, dass die Variabilität von HBV-D gegenüber HBV-A2 deutlich größer ist (24). Ob A128V und T118A/V nun als Polymorphismen (134) oder

als natürlich vorkommende Mutationen im Rahmen einer chronischen HBV-Infektion (8) oder als Escape-assoziierte Mutationen anzusehen sind (7, 113), ist unklar.

RESINA-Patienten mit Anti-HBc negativer OBI hatten signifikant mehr MHR-Mutationen, was verdeutlicht, dass bei dieser Form der OBI Mutationen über längere Zeit per Akkumulation entstehen (36).

Die HBV-Genotypen A2 und D waren die häufigsten, die bei RESINA-Patienten nachgewiesen werden konnten. Eine ähnliche Verteilung der Genotypen für HIV-/HBV-Koinfizierte konnten Ramos et al. in einer spanischen Kohorte nachweisen (126). Es ist bekannt, dass HBV-A2 in Nordwest-Europa und Nordamerika, HBV-A1 in Süd-Afrika und Südost-Asien sowie HBV-D im Mittelmeerraum, Nahen Osten und Indien dominant sind (121). Ebenso ist der HBV-Genotyp mit dem Transmissionsmodus assoziiert. HBV-A2 wird sehr häufig bei sexueller Transmission, etwa bei HIV-infizierten MSM, HBV-D vermehrt bei Patienten mit IVDA beobachtet (144). Deswegen ist es nicht verwunderlich, dass Patienten mit HBV-D eher Anti-HCV positiv sind.

5.6 HIV-Resistenzen

Eine primäre HIV-assoziierte Medikamentenresistenz konnte bei 8,4% der therapie-naiven Patienten beobachtet werden. Dies bestätigt die bekannten Untersuchungen der RESINA-Kohorte, die eine Prävalenz von 9% ergaben (135). Hierbei waren NNRTI-Mutationen mit 42% und NRTI-Mutationen mit 41% häufiger als PI-Mutationen, die bei 17% der Patienten gefunden wurden. Alle Konstellationen einer aktiven HBV-Infektion (HBsAg positive, HBV-DNA positive, OBI) und eine positive HCV-Serologie waren signifikant mit dem Vorhandensein einer PDR korreliert. Entsprechend diesen Korrelationen konnten als Risikofaktoren für eine PDR die Transmissionswege MSM und IVDA sowie eine kaukasische Herkunft gefunden werden ($p=0,006$; $0,033$ und $<0,001$). Die höheren Werte für ALT und GGT bei Patienten mit PDR sind vermutlich auf Koinfektionen mit HBV und HCV zurückzuführen.

Interessant ist, dass bei alleiniger Betrachtung in Bezug auf die Mutationen der HIV-Reversen-Transkriptase die Korrelationen für sämtliche HBV-Marker stiegen, während für HCV die Signifikanz verloren ging. Daraus kann man folgern, dass die

Kontaktpersonen der IVDA-Patienten anscheinend weniger häufig HIV-therapiert sind als die Kontaktpersonen der MSM-Patienten.

Dies ist die erste Untersuchung für den Zusammenhang von primären HIV-Resistenzen und einer viralen Hepatitis. Für eine HBV-Infektion wurden Marker einer aktiven Infektion ungefähr viermal so häufig entdeckt, wenn HIV-Resistenzmutationen vorhanden waren: fast ein Viertel bei Patienten mit HIV-Resistenz (9 von 38), im Gegensatz zu 5,9% bei Patienten ohne HIV-Resistenz (30 von 512), $p=0,0006$. Als Konsequenz daraus sollte insbesondere bei HIV-Patienten mit PDR eine sorgfältige, molekulargenetische Abklärung auf HBV und HCV erfolgen.

5.7 Limitierungen

In der Erfassung der OBI stellt deren niedrige Virämie das größte Problem dar. Die Forderungen der Taormina-Konferenz zur Diagnostik – eine nested-PCR oder RTq-PCR, ein großzügiger Probeninput von 1ml, mehrere Primersets, die Untersuchung mehrerer zu unterschiedlichen Zeitpunkten gewonnenen Proben – wurden in der vorliegenden Arbeit nur teilweise erfüllt. Es wurden zwar mehrere Primersets verwendet, es erfolgte aber lediglich die Untersuchung einer Einzelprobe mit einem Input von 100 μ l mittels einer qualitativen In-house-PCR. Während das Detektionslimit einer RTq-PCR bei üblicherweise 35 Kopien pro ml liegt, wurde in dieser Untersuchung mit einer Detektionsgrenze von 150 bis 200 Kopien pro ml gearbeitet.

In Zusammenhang mit der niedrigen Replikationsrate der OBI stellt deren intermittierende Natur die zweite Limitierung dar. Trotz sensitivster Assays kann die Virämie derart gering sein oder es sogar Phasen ohne Virämie geben, dass ein Nachweis von HBV-DNA im Serum nicht möglich ist. Der HBV-DNA Nachweis ist also bedingt durch die Schwankung der HBV-Replikation und bei geringgradiger Virämie kann der Nachweis nur selten geführt werden. Longitudinale Studien können die Prävalenz besser erfassen und führen weniger zu einer Unterschätzung wie bei Einzelbeobachtungen.

Für die Analyse von Risikofaktoren der OBI ist das größte Problem die geringe Anzahl an Patienten, obwohl die hier vorliegende Untersuchung mit 16 RESINA-Patienten und OBI so groß ist wie andere internationale Studien; die hier erwähnten

anderen Studien hatten 13 Patienten im Schnitt. Bei solchen doch noch geringen Zahlen können Risikofaktoren übersehen werden oder sogar Scheinkorrelationen entstehen.

Desweiteren erfolgte für RESINA-Patienten keine quantitative Bestimmung der HBV-DNA. Deshalb konnte kein Vergleich der verschiedenen Formen einer aktiven HBV-Infektion in Bezug auf mögliche unterschiedliche Viruslasten erfolgen. Für eine HCV-Koinfektion gilt limitierend, dass keine allgemeine Erfassung der HCV-RNA und vom HCV-Genotyp erfolgte. Allerdings waren mit circa 70% die meisten Anti-HCV-Positiven auch virämisch, sodass der Großteil der serologisch HCV-positiven Patienten auch eine aktive HCV-Koinfektion aufwies. Ein eingehendes HCV- und HBV-Screening unter Bestimmung der Viruslasten und HBV-Genotyp erscheinen sinnvoll.

6. Zusammenfassung

Sowohl eine Hepatitis B als auch eine Hepatitis C sind häufige Koinfektionen bei HIV-Patienten (7,2 und 10,6%). Die hier beobachteten Prävalenzen stimmen mit Zahlen in der westlichen Welt überein. In Hinblick auf die hohe Chronifizierungsrate und die schlechtere Prognose bei HIV-Infizierten sollten deshalb alle Patienten vor Beginn der HAART auf HBV und HCV getestet werden. Besonders erhöhte Transaminasen sollten bei unbekanntem Hepatitis-Status den Verdacht auf eine virale Hepatitis lenken.

Eine OBI stellt eine chronische HBV-Infektion dar, die über den Nachweis von HBV-DNA in der Leber bei serologisch negativem HBsAg definiert wird. Eine gleichzeitige Virämie, also der Nachweis von HBV-DNA im Serum, ist nicht zwingend vorhanden und wenn für gewöhnlich mit unter 1000 Kopien pro ml sehr gering. Der Nachweis scheint mit der Schwere der HIV-bedingten Immunsuppression assoziiert zu sein. Dies bedeutet, dass eine HIV-Infektion die Replikation einer OBI nur geringfügig erhöht, jedoch in einem Maße, dass eine OBI öfter und auch von weniger sensitiven Assays erkannt wird.

Für eine OBI mit messbarer Virämie konnten keine klaren Risikofaktoren ermittelt werden. Auch wenn Träger von Anti-HBc häufiger eine OBI hatten, konnte keine Konstellation von serologischen HBV-Markern eine OBI ausschließen. Deshalb sollte bei allen Patienten vor dem Beginn einer HAART die HBV-Serologie routinemäßig mit einer Untersuchung der HBV-DNA kombiniert werden. Trotz der Limitierungen der in dieser Arbeit verwendeten diagnostischen Methoden machte eine OBI fast die Hälfte der Fälle von positiver HBV-DNA aus (2,9 und 6,1%). Es liegt deshalb nahe zu vermuten, dass die hier ermittelten Ergebnisse nur die Spitze des Eisberges darstellen und die Prävalenz einer OBI noch viel höher ist.

Die klinische Relevanz dieser Entität ist aus mehreren Gründen gegeben. Erstens kann eine OBI trotz niedriger Virämie bei Transmission eine HBV-Infektion des Empfängers auslösen. Zweitens kann es im Rahmen der Immunsuppression zu einer HBV-Reaktivierung kommen, die häufig schwerer verläuft als eine übliche aktive HBV-Infektion. Drittens beschleunigt eine OBI – besonders wenn weitere leberschädigende Faktoren vorliegen – den Verlauf zu einer Leberzirrhose und eine OBI hat ihr onkogenes Potential nicht verloren, sie stellt einen Risikofaktor zur Entwicklung eines HCC dar. Viertens liegen bei einer OBI mehr Mutationen im Genom vor als bei anderen Formen einer HBV-Infektion. Mutationen im RT-Gen können zu vermindertem

bis nicht vorhandenem Ansprechen auf Medikamente führen, Mutationen im HBsAg zu vermindertem bis fehlendem Ansprechen auf eine aktive oder passive Immunisierung, was als Escape bezeichnet wird. So konnten bei vier von 13 RESINA-Patienten mit OBI eine Medikamentenresistenz und bei sieben dieser Patienten Escapemutationen im HBsAg gefunden werden. Als Konsequenz scheint es bei jedem Patienten mit OBI sinnvoll zu sein, auch eine Sequenzierung der betroffenen Genomabschnitte zu veranlassen. Die HAART-Kombination sollte bei HBV-Koinfektion – also auch bei einer OBI – zunächst zwei Medikamente enthalten, die auch gegen HBV wirksam sind (3TC, FTC, TDF).

Die serologische Konstellation von isoliertem Anti-HBc scheint ein Indikator für eine schwere Immunsuppression zu sein, während im Gegensatz dazu Anti-HBs als Indikator für eine bessere Immunfunktion erscheint. An dieser Stelle ist positiv anzumerken, dass in den letzten Jahren die Zahl an HIV-Patienten, die bereits vor einer HAART gegen HBV geimpft sind, kontinuierlich ansteigt.

In Analogie zu Daten des RKI über eine rückläufige HBV-Inzidenz in Deutschland, konnte für RESINA-Patienten ein ebenso rückläufiger Trend von Patienten mit HBV-Markern beobachtet werden.

Für eine HCV-Koinfektion waren unabhängige Risikofaktoren IVDA, nicht afrikanische Herkunft und eine niedrige HIV-Viruslast. Eine Korrelation mit erhöhter AST und GGT bestand.

7. Anhang

7.1 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Modell der chronischen HBV nach Allain et al. und Torbenson & Thomas	14
Abb. 2: Weltweite Hepatitis B Prävalenz	26
Abb. 3: Fotografie der gelelektrophoretisch aufgetrennten PCR-Produkte	43
Abb. 4: HBV-Serologien und Anti-HCV Positivität	49
Abb. 5: Vergleich HBV-Inzidenz in Deutschland (RKI) zur HBV-Marker-Prävalenz in der RESINA-Kohorte	50
Abb. 6: Anteil Patienten mit HBV-Impfung	51

7.2 Tabellenverzeichnis

Tab. 1.1: OBI bei HIV-Infizierten, Teil 1	39
Tab. 1.2: OBI bei HIV-Infizierten, Teil 2	40
Tab. 2: Programm zur Durchführung der PCR	43
Tab. 3: Programm zur Herstellung der Sequenzprodukte	44
Tab. 4.1: HBV-Serologie und HCV-Prävalenz in Abhängigkeit davon	47
Tab. 4.2.: Virologische Charakteristika der HBsAg-Träger	48
Tab. 5: HCV-Serologie und HCV-RNA	48
Tab. 6: HBeAg- und Anti-HBe-Träger im Vergleich	49
Tab. 7: Soziokulturelle Daten der Patientenstichprobe	52
Tab. 8: Marker einer aktiven HBV-Infektion	53
Tab. 9: HBV-Serologie bei OBI-Patienten	53
Tab. 10: HBV-assoziierte Mutationen im HBsAg-Leseraster	55
Tab. 11: Patienten mit und ohne PDR im Vergleich	56
Tab. 12: HIV-PDR in Relation zu HBV und HCV	57
Tab. 13: Klinische Parameter der Patientenstichprobe	58
Tab. 14: Anti-HBs und CD4-Zellzahl	59

Tab. 15: Prävalenzen, Ko-Morbidität und Risikofaktoren für replikative HBV- Infektion bei HIV-Infizierten	63
Tab. 16: Prävalenzen, Ko-Morbidität und Risikofaktoren für OBI bei HIV-Infizierten	64
Tab. 17: Prävalenzen, Ko-Morbidität und Risikofaktoren für isolierte Anti-HBc bei HIV-Infizierten	65
Tab. 18: Risikofaktoren für isolierte Anti-HBc; Multivariate Analyse	61
Tab. 19: Prävalenzen, Ko-Morbidität und Risikofaktoren für HCV bei HIV-Infizierten	66
Tab. 20: Risikofaktoren für positive Anti-HCV; Multivariate Analyse	62

8. Literaturverzeichnis

1. Adachi H, Kaneko S, Matsushita E, Inagaki Y, Unoura M, Kobayashi K. Clearance of HBsAg in seven patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 16: 1334-7, 1992.
2. Allain JP, Hewitt PE, Tedder RS, Williamson LM. Evidence that anti-HBc but not HBV DNA testing may prevent some HBV transmission by transfusion. *Br J Haematol* 107: 186-95, 1999.
3. Allain JP. Occult hepatitis B virus infection. *Transfus Clin Biol* 11: 18-25, 2004.
4. Alter MJ. Epidemiology of viral hepatitis and HIV co-infection. *J Hepatol* 44: S6-S9, 2006.
5. Amini-Bavil-Olyae S, Sheldon J, Lutz T, Trautwein C, Tacke F. Molecular analysis of an HBsAg-negative hepatitis B virus mutant selected in a tenofovir-treated HIV-hepatitis B virus co-infected patient. *AIDS* 23: 268-72, 2009.
6. Araujo NM, Branco-Vieira M, Silva AC, Pilotto JH, Grinsztejn B, de Almeida AJ, Trepco C, Gomes SA. Occult hepatitis B virus infection in HIV-infected patients: Evaluation of biochemical, virological and molecular parameters. *Hepatol Res* 2008.
7. Avellon A, Echevarria JM, Weber B, Weik M, Schobel U, Willems WR, Gerlich WH. European collaborative evaluation of the Enzygnost HBsAg 6.0 assay: performance on hepatitis B virus surface antigen variants. *J Med Virol* 83: 95-100, 2011.
8. Avellon A, Echevarria JM. Frequency of hepatitis B virus 'a' determinant variants in unselected Spanish chronic carriers. *J Med Virol* 78: 24-36, 2006.
9. Azadmanesh K, Mohraz M, Aghakhani A, Edalat R, Jam S, Eslamifar A, Banifazl M, Moradmand-Badie B, Ramezani A. Occult Hepatitis B Virus Infection in HIV-Infected Patients with Isolated Hepatitis B Core Antibody. *Intervirology* 51: 270-4, 2008.
10. Bellentani S, Tiribelli C, Saccoccio G, Sodde M, Fratti N, De MC, Cristianini G. Prevalence of chronic liver disease in the general population of northern Italy: the Dionysos Study. *Hepatology* 20: 1442-9, 1994.
11. Berasain C, Betes M, Panizo A, Ruiz J, Herrero JI, Civeira MP, Prieto J. Pathological and virological findings in patients with persistent hypertransaminasaemia of unknown aetiology. *Gut* 47: 429-35, 2000.
12. Berger A, Doerr HW, Rabenau HF, Weber B. High frequency of HCV infection in individuals with isolated antibody to hepatitis B core antigen. *Intervirology* 43: 71-6, 2000.
13. Bica I, McGovern B, Dhar R, Stone D, McGowan K, Scheib R, Snyderman DR. Increasing mortality due to end-stage liver disease in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 32: 492-7, 2001.
14. Blackberg J, Kidd-Ljunggren K. Occult hepatitis B virus after acute self-limited infection persisting for 30 years without sequence variation. *J Hepatol* 33: 992-7, 2000.

15. Boodram B, Hershov RC, Klinzman D, Stapleton JT. GB virus C infection among young, HIV-negative injection drug users with and without hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 2010.
16. Brechot C, Hadchouel M, Scotto J, Fonck M, Potet F, Vyas GN, Tiollais P. State of hepatitis B virus DNA in hepatocytes of patients with hepatitis B surface antigen-positive and -negative liver diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 78: 3906-10, 1981.
17. Brechot C, Jaffredo F, Lagorce D, Gerken G, Meyer zum BK, Papakonstantinou A, Hadziyannis S, Romeo R, Colombo M, Rodes J, Bruix J, Williams R, Naoumov N. Impact of HBV, HCV and GBV-C/HGV on hepatocellular carcinomas in Europe: results of a European concerted action. *J Hepatol* 29: 173-83, 1998.
18. Brind A, Jiang J, Samuel D, Gigou M, Feray C, Brechot C, Kremsdorf D. Evidence for selection of hepatitis B mutants after liver transplantation through peripheral blood mononuclear cell infection. *J Hepatol* 26: 228-35, 1997.
19. Cabrerizo M, Bartolome J, Caramelo C, Barril G, Carreno V. Molecular analysis of hepatitis B virus DNA in serum and peripheral blood mononuclear cells from hepatitis B surface antigen-negative cases. *Hepatology* 32: 116-23, 2000.
20. Cabrerizo M, Bartolome J, De SP, Caramelo C, Carreno V. Hepatitis B virus DNA in serum and blood cells of hepatitis B surface antigen-negative hemodialysis patients and staff. *J Am Soc Nephrol* 8: 1443-7, 1997.
21. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, Orlando ME, Raimondo G. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med* 341: 22-6, 1999.
22. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, Villari D, de FR, Santantonio T, Brancatelli S, Colucci G, Raimondo G. Quantification of intrahepatic hepatitis B virus (HBV) DNA in patients with chronic HBV infection. *Hepatology* 31: 507-12, 2000.
23. Candotti D, Allain JP. Transfusion-transmitted hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 51: 798-809, 2009.
24. Candotti D, Grabarczyk P, Ghiazza P, Roig R, Casamitjana N, Iudicone P, Schmidt M, Bird A, Crookes R, Brojer E, Miceli M, Amiri A, Li C, Allain JP. Characterization of occult hepatitis B virus from blood donors carrying genotype A2 or genotype D strains. *J Hepatol* 49: 537-47, 2008.
25. Carman WF. Molecular variants of hepatitis B virus. *Clin Lab Med* 16: 407-28, 1996.
26. Carman WF. The clinical significance of surface antigen variants of hepatitis B virus. *J Viral Hepat* 4 Suppl 1: 11-20, 1997.
27. CDC Travelers' Health: 2010 Yellow Book Chapter 2 - Travel-Related Vaccine-Preventable Diseases: Hepatitis B
28. Chaudhuri V, Tayal R, Nayak B, Acharya SK, Panda SK. Occult hepatitis B virus infection in chronic liver disease: full-length genome and analysis of mutant surface promoter. *Gastroenterology* 127: 1356-71, 2004.

29. Chemin I, Zoulim F, Merle P, Arkhis A, Chevallier M, Kay A, Cova L, Chevallier P, Mandrand B, Trepo C. High incidence of hepatitis B infections among chronic hepatitis cases of unknown aetiology. *J Hepatol* 34: 447-54, 2001.
30. Chung RT, Feng S, Delmonico FL. Approach to the management of allograft recipients following the detection of hepatitis B virus in the prospective organ donor. *Am J Transplant* 1: 185-91, 2001.
31. Cohen Stuart JW, Velema M, Schuurman R, Boucher CA, Hoepelman AI. Occult hepatitis B in persons infected with HIV is associated with low CD4 counts and resolves during antiretroviral therapy. *J Med Virol* 81: 441-5, 2009.
32. Colin JF, Cazals-Hatem D, Lioriot MA, Martinot-Peignoux M, Pham BN, Auperin A, Degott C, Benhamou JP, Erlinger S, Valla D, Marcellin P. Influence of human immunodeficiency virus infection on chronic hepatitis B in homosexual men. *Hepatology* 29: 1306-10, 1999.
33. Coursaget P, Le CP, Lebouilleux D, Diop MT, Bao O, Coll AM. Detection of hepatitis B virus DNA by polymerase chain reaction in HBsAg negative Senegalese patients suffering from cirrhosis or primary liver cancer. *FEMS Microbiol Lett* 67: 35-8, 1991.
34. De MN, Colantoni A, Friedlander L, Leandro G, Idilman R, Harig J, Van Thiel DH. The impact of previous HBV infection on the course of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 95: 3529-36, 2000.
35. Dickson RC, Everhart JE, Lake JR, Wei Y, Seaberg EC, Wiesner RH, Zetterman RK, Pruett TL, Ishitani MB, Hoofnagle JH. Transmission of hepatitis B by transplantation of livers from donors positive for antibody to hepatitis B core antigen. The National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Liver Transplantation Database. *Gastroenterology* 113: 1668-74, 1997.
36. El CM, Candotti D, Crowther RA, Allain JP. Impact of hepatitis B virus surface protein mutations on the diagnosis of occult hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2010.
37. Enriquez J, Fuchs K, Martinez Cerezo FJ, Seminago R, Madoz P, Torras J, Roggendorf M. Demonstration of HCV-RNA and HBV-DNA in the serum of HBsAg negative patients with hepatocellular carcinoma. *Eur J Epidemiol* 10: 189-94, 1994.
38. Fabris P, Brown D, Tositti G, Bozzola L, Giordani MT, Bevilacqua P, de LF, Webster GJ, Dusheiko G. Occult hepatitis B virus infection does not affect liver histology or response to therapy with interferon alpha and ribavirin in intravenous drug users with chronic hepatitis C. *J Clin Virol* 29: 160-6, 2004.
39. Feray C, Zignego AL, Samuel D, Bismuth A, Reynes M, Tiollais P, Bismuth H, Brechot C. Persistent hepatitis B virus infection of mononuclear blood cells without concomitant liver infection. The liver transplantation model. *Transplantation* 49: 1155-8, 1990.
40. Filippini P, Coppola N, Pisapia R, Scolastico C, Marrocco C, Zaccariello A, Nacca C, Sagnelli C, De SG, Ferraro T, De SC, Sagnelli E. Impact of occult hepatitis B virus infection in HIV patients naive for antiretroviral therapy. *AIDS* 20: 1253-60, 2006.
41. Firnhaber C, Viana R, Reyneke A, Schultze D, Malope B, Maskew M, Di BA, MacPhail P, Sanne I, Kew M. Occult hepatitis B virus infection in patients with isolated core

- antibody and HIV co-infection in an urban clinic in Johannesburg, South Africa. *Int J Infect Dis* 13: 488-92, 2009.
42. Fong TL, Di Bisceglie AM, Gerber MA, Waggoner JG, Hoofnagle JH. Persistence of hepatitis B virus DNA in the liver after loss of HBsAg in chronic hepatitis B. *Hepatology* 18: 1313-8, 1993.
 43. French AL, Lin MY, Evans CT, Benning L, Glesby MJ, Young MA, Operskalski EA, Augenbraun M, Peters M. Long-term serologic follow-up of isolated hepatitis B core antibody in HIV-infected and HIV-uninfected women. *Clin Infect Dis* 49: 148-54, 2009.
 44. French AL, Operskalski E, Peters M, Strickler HD, Tien PC, Sharp GB, Glesby MJ, Young M, Augenbraun M, Seaberg E, Kovacs A. Isolated hepatitis B core antibody is associated with HIV and ongoing but not resolved hepatitis C virus infection in a cohort of US women. *J Infect Dis* 195: 1437-42, 2007.
 45. Fukuda R, Ishimura N, Niigaki M, Hamamoto S, Satoh S, Tanaka S, Kushiya Y, Uchida Y, Iihara S, Akagi S, Watanabe M, Kinoshita Y. Serologically silent hepatitis B virus coinfection in patients with hepatitis C virus-associated chronic liver disease: clinical and virological significance. *J Med Virol* 58: 201-7, 1999.
 46. Gaeta GB, Rapicetta M, Sardaro C, Spadaro A, Chionne F, Freni AM, Ajello A, Costantino A, Giusti G. Prevalence of anti-HCV antibodies in patients with chronic liver disease and its relationship to HBV and HDV infections. *Infection* 18: 277-9, 1990.
 47. Gandhi RT, Wurcel A, McGovern B, Lee H, Shopis J, Corcoran CP, Toner S, Giachetti C, Dockter J, Sax PE, Ukomadu C. Low prevalence of ongoing hepatitis B viremia in HIV-positive individuals with isolated antibody to hepatitis B core antigen. *J Acquir Immune Defic Syndr* 34: 439-41, 2003.
 48. Gerlich WH, Bremer C, Saniewski M, Schuttler CG, Wend UC, Willems WR, Glebe D. Occult hepatitis B virus infection: detection and significance. *Dig Dis* 28: 116-25, 2010.
 49. Gilson RJ, Hawkins AE, Beecham MR, Ross E, Waite J, Briggs M, McNally T, Kelly GE, Tedder RS, Weller IV. Interactions between HIV and hepatitis B virus in homosexual men: effects on the natural history of infection. *AIDS* 11: 597-606, 1997.
 50. Grethe S, Monazahian M, Bohme I, Thomssen R. Characterization of unusual escape variants of hepatitis B virus isolated from a hepatitis B surface antigen-negative subject. *J Virol* 72: 7692-6, 1998.
 51. Greub G, Ledergerber B, Battegay M, Grob P, Perrin L, Furrer H, Burgisser P, Erb P, Boggian K, Piffaretti JC, Hirschel B, Janin P, Francioli P, Flepp M, Telenti A. Clinical progression, survival, and immune recovery during antiretroviral therapy in patients with HIV-1 and hepatitis C virus coinfection: the Swiss HIV Cohort Study. *Lancet* 356: 1800-5, 2000.
 52. Grob P, Jilg W, Bornhak H, Gerken G, Gerlich W, Gunther S, Hess G, Hudig H, Kitchen A, Margolis H, Michel G, Trepo C, Will H, Zanetti A, Mushahwar I. Serological pattern "anti-HBc alone": report on a workshop. *J Med Virol* 62: 450-5, 2000.

53. Guido M, Thung SN, Fattovich G, Cusinato R, Leandro G, Cecchetto A, Cesaro S, Panese P, Rugge M. Intrahepatic expression of hepatitis B virus antigens: effect of hepatitis C virus infection. *Mod Pathol* 12: 599-603, 1999.
54. Hadler SC, Judson FN, O'Malley PM, Altman NL, Penley K, Buchbinder S, Schable CA, Coleman PJ, Ostrow DN, Francis DP. Outcome of hepatitis B virus infection in homosexual men and its relation to prior human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 163: 454-9, 1991.
55. Hadziyannis SJ, Vassilopoulos D. Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 34: 617-24, 2001.
56. Haverkamp M, Smit M, Weersink A, Boucher CA, Hoepelman AI. The effect of lamivudine on the replication of hepatitis B virus in HIV-infected patients depends on the host immune status (CD4 cell count). *AIDS* 17: 1572-4, 2003.
57. Henke-Gendo C, Amini-Bavil-Olyae S, Challapalli D, Trautwein C, Deppe H, Schulz TF, Heim A, Tacke F. Symptomatic hepatitis B virus (HBV) reactivation despite reduced viral fitness is associated with HBV test and immune escape mutations in an HIV-coinfected patient. *J Infect Dis* 198: 1620-4, 2008.
58. Hershov RC, O'Driscoll PT, Handelsman E, Pitt J, Hillyer G, Serchuck L, Lu M, Chen KT, Yawetz S, Pacheco S, Davenny K, Adeniyi-Jones S, Thomas DL. Hepatitis C virus coinfection and HIV load, CD4+ cell percentage, and clinical progression to AIDS or death among HIV-infected women: Women and Infants Transmission Study. *Clin Infect Dis* 40: 859-67, 2005.
59. Hofer M, Joller-Jemelka HI, Grob PJ, Luthy R, Opravil M. Frequent chronic hepatitis B virus infection in HIV-infected patients positive for antibody to hepatitis B core antigen only. *Swiss HIV Cohort Study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 17: 6-13, 1998.
60. Hogg RS, Heath KV, Yip B, Craib KJ, O'Shaughnessy MV, Schechter MT, Montaner JS. Improved survival among HIV-infected individuals following initiation of antiretroviral therapy. *JAMA* 279: 450-4, 1998.
61. Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM. Serologic diagnosis of acute and chronic viral hepatitis. *Semin Liver Dis* 11: 73-83, 1991.
62. Hoofnagle JH, Seeff LB, Bales ZB, Zimmerman HJ. Type B hepatitis after transfusion with blood containing antibody to hepatitis B core antigen. *N Engl J Med* 298: 1379-83, 1978.
63. Horvath J, Raffanti SP. Clinical aspects of the interactions between human immunodeficiency virus and the hepatotropic viruses. *Clin Infect Dis* 18: 339-47, 1994.
64. Hu KQ, Vierling JM. Molecular diagnostic techniques for viral hepatitis. *Gastroenterol Clin North Am* 23: 479-98, 1994.
65. Hu KQ. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications. *J Viral Hepat* 9: 243-57, 2002.

66. Huo TI, Wu JC, Lee PC, Chau GY, Lui WY, Tsay SH, Ting LT, Chang FY, Lee SD. Sero-clearance of hepatitis B surface antigen in chronic carriers does not necessarily imply a good prognosis. *Hepatology* 28: 231-6, 1998.
67. Jilg W, Sieger E, Zchoval R, Schatzl H. Individuals with antibodies against hepatitis B core antigen as the only serological marker for hepatitis B infection: high percentage of carriers of hepatitis B and C virus. *J Hepatol* 23: 14-20, 1995.
68. Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Sequence analysis of pre-S/surface and pre-core/core promoter genes of hepatitis B virus in chronic hepatitis C patients with occult HBV infection. *J Med Virol* 68: 216-20, 2002.
69. Kato J, Hasegawa K, Torii N, Yamauchi K, Hayashi N. A molecular analysis of viral persistence in surface antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 23: 389-95, 1996.
70. Kazemi-Shirazi L, Petermann D, Muller C. Hepatitis B virus DNA in sera and liver tissue of HBsAg negative patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 33: 785-90, 2000.
71. Khan MH, Farrell GC, Byth K, Lin R, Weltman M, George J, Samarasinghe D, Kench J, Kaba S, Crewe E, Liddle C. Which patients with hepatitis C develop liver complications? *Hepatology* 31: 513-20, 2000.
72. Knoll A, Hartmann A, Hamoshi H, Weislmaier K, Jilg W. Serological pattern "anti-HBc alone": characterization of 552 individuals and clinical significance. *World J Gastroenterol* 12: 1255-60, 2006.
73. Koziol DE, Holland PV, Alling DW, Melpolder JC, Solomon RE, Purcell RH, Hudson LM, Shoup FJ, Krakauer H, Alter HJ. Antibody to hepatitis B core antigen as a paradoxical marker for non-A, non-B hepatitis agents in donated blood. *Ann Intern Med* 104: 488-95, 1986.
74. Laguno M, Larrousse M, Blanco JL, Leon A, Milinkovic A, Martinez-Rebozler M, Lonca M, Martinez E, Sanchez-Tapias JM, de LE, Gatell JM, Costa J, Mallolas J. Prevalence and clinical relevance of occult hepatitis B in the fibrosis progression and antiviral response to INF therapy in HIV-HCV-coinfected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses* 24: 547-53, 2008.
75. Lai MY, Chen PJ, Yang PM, Sheu JC, Sung JL, Chen DS. Identification and characterization of intrahepatic hepatitis B virus DNA in HBsAg-seronegative patients with chronic liver disease and hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Hepatology* 12: 575-81, 1990.
76. Lander JJ, Gitnick GL, Gelb LH, Aach RD. Anticore antibody screening of transfused blood. *Vox Sang* 34: 77-80, 1978.
77. Larsen J, Hetland G, Skaug K. Posttransfusion hepatitis B transmitted by blood from a hepatitis B surface antigen-negative hepatitis B virus carrier. *Transfusion* 30: 431-2, 1990.
78. Law WP, Dore GJ, Duncombe CJ, Mahanontharit A, Boyd MA, Ruxrungtham K, Lange JM, Phanuphak P, Cooper DA. Risk of severe hepatotoxicity associated with

antiretroviral therapy in the HIV-NAT Cohort, Thailand, 1996-2001. *AIDS* 17: 2191-9, 2003.

79. Leroy V, Bourliere M, Durand M, Abergel A, Tran A, Baud M, Botta-Fridlund D, Gerolami A, Ouzan D, Halfon P, Zarski JP. The antibody response to hepatitis B virus vaccination is negatively influenced by the hepatitis C virus viral load in patients with chronic hepatitis C: a case-control study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 14: 485-9, 2002.
80. Liaw YF, Chen YC, Sheen IS. Spontaneous clearance of hepatitis B surface antigen in chronic hepatitis B virus infection confers a favorable response. *Hepatology* 29: 296-7, 1999.
81. Liaw YF, Sheen IS, Chen TJ, Chu CM, Pao CC. Incidence, determinants and significance of delayed clearance of serum HBsAg in chronic hepatitis B virus infection: a prospective study. *Hepatology* 13: 627-31, 1991.
82. Liaw YF. Role of hepatitis C virus in dual and triple hepatitis virus infection. *Hepatology* 22: 1101-8, 1995.
83. Lieberman HM, LaBrecque DR, Kew MC, Hadziyannis SJ, Shafritz DA. Detection of hepatitis B virus DNA directly in human serum by a simplified molecular hybridization test: comparison to HBeAg/anti-HBe status in HBsAg carriers. *Hepatology* 3: 285-91, 1983.
84. Lindh M, Horal P, Dhillon AP, Norkrans G. Hepatitis B virus DNA levels, precore mutations, genotypes and histological activity in chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 7: 258-67, 2000.
85. Lo RV, III, Frank I, Gross R, Dockter J, Linnen JM, Giachetti C, Tebas P, Stern J, Synnestvedt M, Localio AR, Kostman JR, Strom BL. Prevalence, risk factors, and outcomes for occult hepatitis B virus infection among HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 44: 315-20, 2007.
86. Lo RV, III, Wertheimer B, Localio AR, Kostman JR, Dockter J, Linnen JM, Giachetti C, Dorey-Stein Z, Frank I, Strom BL, Gross R. Incidence of transaminitis among HIV-infected patients with occult hepatitis B. *J Clin Virol* 43: 32-6, 2008.
87. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 34: 1225-41, 2001.
88. Lorient MA, Marcellin P, Bismuth E, Martinot-Peignoux M, Boyer N, Degott C, Erlinger S, Benhamou JP. Demonstration of hepatitis B virus DNA by polymerase chain reaction in the serum and the liver after spontaneous or therapeutically induced HBeAg to anti-HBe or HBsAg to anti-HBs seroconversion in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 15: 32-6, 1992.
89. Lowell JA, Howard TK, White HM, Shenoy S, Huettner PC, Brennan DC, Peters MG. Serological evidence of past hepatitis B infection in liver donor and hepatitis B infection in liver allograft. *Lancet* 345: 1084-5, 1995.
90. Martinot-Peignoux M, Boyer N, Colombat M, Akremi R, Pham BN, Ollivier S, Castelnau C, Valla D, Degott C, Marcellin P. Serum hepatitis B virus DNA levels and liver histology in inactive HBsAg carriers. *J Hepatol* 36: 543-6, 2002.

91. Marusawa H, Uemoto S, Hijikata M, Ueda Y, Tanaka K, Shimotohno K, Chiba T. Latent hepatitis B virus infection in healthy individuals with antibodies to hepatitis B core antigen. *Hepatology* 31: 488-95, 2000.
92. Matsuzaki Y, Chiba T, Hadama T, Asaoka H, Doy M, Shoda J, Tanaka N, Kinoshita M. HBV genome integration and genetic instability in HBsAg-negative and anti-HCV-positive hepatocellular carcinoma in Japan. *Cancer Lett* 119: 53-61, 1997.
93. Matsuzaki Y, Sato M, Saito Y, Karube M, Doy M, Shoda J, Abei M, Tanaka N, Hadama T, Kinoshita M. The role of previous infection of hepatitis B virus in Hbs antigen negative and anti-HCV negative Japanese patients with hepatocellular carcinoma: etiological and molecular biological study. *J Exp Clin Cancer Res* 18: 379-89, 1999.
94. Michalak TI, Pasquinelli C, Guilhot S, Chisari FV. Hepatitis B virus persistence after recovery from acute viral hepatitis. *J Clin Invest* 94: 907, 1994.
95. Micheloud D, Jensen J, Bellon JM, Gurbindo D, de Jose MI, Moreno D, Ramos JT, Munoz-Fernandez MA, Resino S. Slow progression of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus disease in a cohort of coinfecting children. *Pediatr Infect Dis J* 26: 846-9, 2007.
96. Milich DR, McLachlan A. The nucleocapsid of hepatitis B virus is both a T-cell-independent and a T-cell-dependent antigen. *Science* 234: 1398-401, 1986.
97. Minuk GY, Sun DF, Greenberg R, Zhang M, Hawkins K, Uhanova J, Gutkin A, Bernstein K, Giulivi A, Osiowy C. Occult hepatitis B virus infection in a North American adult hemodialysis patient population. *Hepatology* 40: 1072-7, 2004.
98. Mocroft A, Ledergerber B, Katlama C, Kirk O, Reiss P, d'Arminio MA, Knysz B, Dietrich M, Phillips AN, Lundgren JD. Decline in the AIDS and death rates in the EuroSIDA study: an observational study. *Lancet* 362: 22-9, 2003.
99. Mocroft A, Soriano V, Rockstroh J, Reiss P, Kirk O, de WS, Gatell J, Clotet B, Phillips AN, Lundgren JD. Is there evidence for an increase in the death rate from liver-related disease in patients with HIV? *AIDS* 19: 2117-25, 2005.
100. Morsica G, Ancarani F, Bagaglio S, Maracci M, Cicconi P, Cozzi LA, Antonucci G, Bruno R, Santantonio T, Tacconi L, Baldelli F, Piscopo R, Santoro D, Lazzarin A, d'Arminio MA. Occult hepatitis B virus infection in a Cohort of HIV-positive patients: Correlation with hepatitis C virus coinfection, virological and immunological features. *Infection* 37: 445-9, 2009.
101. Morsica G, Bagaglio S, Ghezzi S, Lodrini C, Vicenzi E, Santagostino E, Gringeri A, Cusini M, Carminati G, Bianchi G, Galli L, Lazzarin A, Poli G. Hepatitis C virus (HCV) coinfection in a cohort of HIV positive long-term non-progressors: possible protective effect of infecting HCV genotype on HIV disease progression. *J Clin Virol* 39: 82-6, 2007.
102. Mosley JW, Stevens CE, Aach RD, Hollinger FB, Mimms LT, Solomon LR, Barbosa LH, Nemo GJ. Donor screening for antibody to hepatitis B core antigen and hepatitis B virus infection in transfusion recipients. *Transfusion* 35: 5-12, 1995.

103. Mphahlele MJ, Lukhwareni A, Burnett RJ, Moropeng LM, Ngobeni JM. High risk of occult hepatitis B virus infection in HIV-positive patients from South Africa. *J Clin Virol* 35: 14-20, 2006.
104. Nalpas B, Berthelot P, Thiers V, Duhamel G, Courouce AM, Tiollais P, Brechot C. Hepatitis B virus multiplication in the absence of usual serological markers. A study of 146 chronic alcoholics. *J Hepatol* 1: 89-97, 1985.
105. Neau D, Winnock M, Jouvencel AC, Faure M, Castera L, Legrand E, Lacoste D, Ragnaud JM, Dupon M, Fleury H, Lafon ME, Dabis F. Occult hepatitis B virus infection in HIV-infected patients with isolated antibodies to hepatitis B core antigen: Aquitaine cohort, 2002-2003. *Clin Infect Dis* 40: 750-3, 2005.
106. Neau D. Isolated antibodies against the core antigen of hepatitis B virus in HIV-infected patients. 2004.
107. Nebbia G, Garcia-Diaz A, Ayliffe U, Smith C, Dervisevic S, Johnson M, Gilson R, Tedder R, Geretti AM. Predictors and kinetics of occult hepatitis B virus infection in HIV-infected persons. *J Med Virol* 79: 1464-71, 2007.
108. Nirei K, Kaneko M, Moriyama M, Arakawa Y. The clinical features of chronic hepatitis C are not affected by the coexistence of hepatitis B virus DNA in patients negative for hepatitis B surface antigen. *Intervirology* 43: 95-101, 2000.
109. Noborg U, Gusdal A, Horal P, Lindh M. Levels of viraemia in subjects with serological markers of past or chronic hepatitis B virus infection. *Scand J Infect Dis* 32: 249-52, 2000.
110. Nunez M, Rios P, Perez-Olmeda M, Soriano V. Lack of 'occult' hepatitis B virus infection in HIV-infected patients. *AIDS* 16: 2099-101, 2002.
111. Okada K, Kamiyama I, Inomata M, Imai M, Miyakawa Y. e antigen and anti-e in the serum of asymptomatic carrier mothers as indicators of positive and negative transmission of hepatitis B virus to their infants. *N Engl J Med* 294: 746-9, 1976.
112. Palacios R, Mata R, Hidalgo A, Munoz L, Viciano I, Del AA, Lopez-Cortes LF, Pena A, de la Torre J, Santos J. Very low prevalence and no clinical significance of occult hepatitis B in a cohort of HIV-infected patients with isolated anti-HBc seropositivity: the BHOI study. *HIV Clin Trials* 9: 337-40, 2008.
113. Panigrahi R, Biswas A, Datta S, Banerjee A, Chandra PK, Mahapatra PK, Patnaik B, Chakrabarti S, Chakravarty R. Anti-hepatitis B core antigen testing with detection and characterization of occult hepatitis B virus by an in-house nucleic acid testing among blood donors in Behrampur, Ganjam, Orissa in southeastern India: implications for transfusion. *Virol J* 7: 204, 2010.
114. Pasquinelli C, Laure F, Chatenoud L, Beaurin G, Gazengel C, Bismuth H, Degos F, Tiollais P, Bach JF, Brechot C. Hepatitis B virus DNA in mononuclear blood cells. A frequent event in hepatitis B surface antigen-positive and -negative patients with acute and chronic liver disease. *J Hepatol* 3: 95-103, 1986.

115. Paterlini P, Driss F, Nalpas B, Pisi E, Franco D, Berthelot P, Brechot C. Persistence of hepatitis B and hepatitis C viral genomes in primary liver cancers from HBsAg-negative patients: a study of a low-endemic area. *Hepatology* 17: 20-9, 1993.
116. Paterlini P, Gerken G, Nakajima E, Terre S, D'Errico A, Grigioni W, Nalpas B, Franco D, Wands J, Kew M, . Polymerase chain reaction to detect hepatitis B virus DNA and RNA sequences in primary liver cancers from patients negative for hepatitis B surface antigen. *N Engl J Med* 323: 80-5, 1990.
117. Perez-Rodriguez MT, Sopena B, Crespo M, Rivera A, Gonzalez del BT, Ocampo A, Martinez-Vazquez C. Clinical significance of "anti-HBc alone" in human immunodeficiency virus-positive patients. *World J Gastroenterol* 15: 1237-41, 2009.
118. Piroth L, Lafon ME, Biquet C, Bertillon P, Gervais A, Lootvoet E, Lang JM, De Jaureguiberry JP, Chene G, Leport C, Co TA, Group AC. Occult hepatitis B in HIV-HCV coinfecting patients. *Scand J Infect Dis* 1-5, 2008.
119. Pogany K, Zaaijer HL, Prins JM, Wit FW, Lange JM, Beld MG. Occult hepatitis B virus infection before and 1 year after start of HAART in HIV type 1-positive patients. *AIDS Res Hum Retroviruses* 21: 922-6, 2005.
120. Ponde RA, Cardoso DD, Ferro MO. The underlying mechanisms for the 'anti-HBc alone' serological profile. *Arch Virol* 155: 149-58, 2010.
121. Pujol FH, Navas MC, Hainaut P, Chemin I. Worldwide genetic diversity of HBV genotypes and risk of hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett* 286: 80-8, 2009.
122. Quarleri J, Moretti F, Bouzas MB, Laufer N, Carrillo MG, Giuliano SF, Perez H, Cahn P, Salomon H. Hepatitis B virus genotype distribution and its lamivudine-resistant mutants in HIV-coinfecting patients with chronic and occult hepatitis B. *AIDS Res Hum Retroviruses* 23: 525-31, 2007.
123. Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR, Buendia MA, Chen DS, Colombo M, Craxi A, Donato F, Ferrari C, Gaeta GB, Gerlich WH, Levrero M, Locarnini S, Michalak T, Mondelli MU, Pawlotsky JM, Pollicino T, Prati D, Puoti M, Samuel D, Shouval D, Smedile A, Squadrito G, Trepo C, Villa E, Will H, Zanetti AR, Zoulim F. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 49: 652-7, 2008.
124. Raimondo G, Pollicino T, Cacciola I, Squadrito G. Occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 46: 160-70, 2007.
125. Ramia S, Mokhbat J, Ramlawi F, El-Zaatari M. Occult hepatitis B virus infection in HIV-infected Lebanese patients with isolated antibodies to hepatitis B core antigen. *Int J STD AIDS* 19: 197-9, 2008.
126. Ramos B, Nunez M, Martin-Carbonero L, Sheldon J, Rios P, Labarga P, Romero M, Barreiro P, Garcia-Samaniego J, Soriano V. Hepatitis B virus genotypes and lamivudine resistance mutations in HIV/hepatitis B virus-coinfecting patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 44: 557-61, 2007.
127. Ranki M, Schatzl HM, Zachoval R, Uusi-Oukari M, Lehtovaara P. Quantification of hepatitis B virus DNA over a wide range from serum for studying viral replicative

- activity in response to treatment and in recurrent infection. *Hepatology* 21: 1492-9, 1995.
128. Rehermann B, Ferrari C, Pasquinelli C, Chisari FV. The hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. *Nat Med* 2: 1104-8, 1996.
 129. Reshetnyak VI, Karlovich TI, Ilchenko LU. Hepatitis G virus. *World J Gastroenterol* 14: 4725-34, 2008.
 130. Robert Koch Institut. Epidemiologisches Bulletin 20/2009 - Aktuelle Daten und Informationen zu Infektionskrankheiten und Public Health: Virushepatitis B, C und D im Jahr 2008
 131. Robert Koch Institut. Epidemiologisches Bulletin 46/2008 - Aktuelle Daten und Informationen zu Infektionskrankheiten und Public Health: Virushepatitis B, C und D im Jahr 2007
 132. Rockstroh JK. Influence of viral hepatitis on HIV infection. *J Hepatol* 44: S25-S27, 2006.
 133. Rodriguez-Torres M, Gonzalez-Garcia J, Brau N, Sola R, Moreno S, Rockstroh J, Smaill F, Mendes-Correa MC, DePamphilis J, Torriani FJ. Occult hepatitis B virus infection in the setting of hepatitis C virus (HCV) and human immunodeficiency virus (HIV) co-infection: clinically relevant or a diagnostic problem? *J Med Virol* 79: 694-700, 2007.
 134. Roque-Afonso AM, Ferey MP, Ly TD, Graube A, Costa-Faria L, Samuel D, Dussaix E. Viral and clinical factors associated with surface gene variants among hepatitis B virus carriers. *Antivir Ther* 12: 1255-63, 2007.
 135. Sagir A, Oette M, Kaiser R, Daumer M, Fatkenheuer G, Rockstroh JK, Knechten H, Schmutz G, Hower M, Emmelkamp J, Pfister H, Haussinger D. Trends of prevalence of primary HIV drug resistance in Germany. *J Antimicrob Chemother* 60: 843-8, 2007.
 136. Santos EA, Yoshida CF, Rolla VC, Mendes JM, Vieira IF, Arabe J, Gomes SA. Frequent occult hepatitis B virus infection in patients infected with human immunodeficiency virus type 1. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 22: 92-8, 2003.
 137. Saraswat S, Banerjee K, Chaudhury N, Mahant T, Khandekar P, Gupta RK, Naik S. Post-transfusion hepatitis type B following multiple transfusions of HBsAg-negative blood. *J Hepatol* 25: 639-43, 1996.
 138. Scheitlin T, Joller-Jemelka HI, Grob PJ. [Hepatitis and HIV infection in users of illegal drugs]. *Schweiz Med Wochenschr* 122: 1432-45, 1992.
 139. Sheng WH, Kao JH, Chen PJ, Huang LM, Chang SY, Sun HY, Hung CC, Chen MY, Chang SC. Evolution of hepatitis B serological markers in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 45: 1221-9, 2007.
 140. Sheu JC, Huang GT, Shih LN, Lee WC, Chou HC, Wang JT, Lee PH, Lai MY, Wang CY, Yang PM, . Hepatitis C and B viruses in hepatitis B surface antigen-negative hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 103: 1322-7, 1992.

141. Shih CM, Lo SJ, Miyamura T, Chen SY, Lee YH. Suppression of hepatitis B virus expression and replication by hepatitis C virus core protein in HuH-7 cells. *J Virol* 67: 5823-32, 1993.
142. Shire NJ, Rouster SD, Rajcic N, Sherman KE. Occult hepatitis B in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 36: 869-75, 2004.
143. Shire NJ, Rouster SD, Stanford SD, Blackard JT, Martin CM, Fichtenbaum CJ, Sherman KE. The prevalence and significance of occult hepatitis B virus in a prospective cohort of HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 44: 309-14, 2007.
144. Soriano V, Mocroft A, Peters L, Rockstroh J, Antunes F, Kirkby N, De WS, Monforte A, Flisiak R, Lundgren J. Predictors of hepatitis B virus genotype and viraemia in HIV-infected patients with chronic hepatitis B in Europe. *J Antimicrob Chemother* 65: 548-55, 2010.
145. Soriano V, Vispo E, Labarga P, Medrano J, Barreiro P. Viral hepatitis and HIV co-infection. *Antiviral Res* 85: 303-15, 2010.
146. Sucupira MV, Mello FC, Santos EA, Niel C, Rolla VC, Arabe J, Gomes SA. Patterns of hepatitis B virus infection in Brazilian human immunodeficiency virus infected patients: high prevalence of occult infection and low frequency of lamivudine resistant mutations. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101: 655-60, 2006.
147. Sugai Y, Okamoto H. State of hepatitis B virus DNA in peripheral blood mononuclear cells from persistently infected individuals: correlation with e antigen and viral DNA in the serum as well as with the activity of liver disease. *Tohoku J Exp Med* 158: 73-84, 1989.
148. Sugg U, Schenzle D, Hess G. Antibodies to hepatitis B core antigen in blood donors screened for alanine aminotransferase level and hepatitis non-A, non-B in recipients. *Transfusion* 28: 386-8, 1988.
149. Sulkowski MS, Moore RD, Mehta SH, Chaisson RE, Thomas DL. Hepatitis C and progression of HIV disease. *JAMA* 288: 199-206, 2002.
150. Sun HY, Lee HC, Liu CE, Yang CL, Su SC, Ko WC, Lin CY, Tsai JJ, Wong WW, Ho MW, Cheng SH, Lin YH, Miao WJ, Hung CC. Factors associated with isolated anti-hepatitis B core antibody in HIV-positive patients: impact of compromised immunity. *J Viral Hepat* 2009.
151. Tanaka Y, Esumi M, Shikata T. Persistence of hepatitis B virus DNA after serological clearance of hepatitis B virus. *Liver* 10: 6-10, 1990.
152. Thiers V, Nakajima E, Kremsdorf D, Mack D, Schellekens H, Driss F, Goudeau A, Wands J, Sninsky J, Tiollais P, . Transmission of hepatitis B from hepatitis-B-seronegative subjects. *Lancet* 2: 1273-6, 1988.
153. Tillmann HL, Heiken H, Knapik-Botor A, Heringlake S, Ockenga J, Wilber JC, Goergen B, Detmer J, McMorrow M, Stoll M, Schmidt RE, Manns MP. Infection with GB virus C and reduced mortality among HIV-infected patients. *N Engl J Med* 345: 715-24, 2001.
154. Torbenson M, Thomas DL. Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis* 2: 479-86, 2002.

155. Tsui JI, French AL, Seaberg EC, Augenbraun M, Nowicki M, Peters M, Tien PC. Prevalence and long-term effects of occult hepatitis B virus infection in HIV-infected women. *Clin Infect Dis* 45: 736-40, 2007.
156. Tsui LV, Guidotti LG, Ishikawa T, Chisari FV. Posttranscriptional clearance of hepatitis B virus RNA by cytotoxic T lymphocyte-activated hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 12398-402, 1995.
157. Uchida T, Kaneita Y, Gotoh K, Kanagawa H, Kouyama H, Kawanishi T, Mima S. Hepatitis C virus is frequently coinfecting with serum marker-negative hepatitis B virus: probable replication promotion of the former by the latter as demonstrated by in vitro cotransfection. *J Med Virol* 52: 399-405, 1997.
158. Veropalumbo E, Marrone A, Vallefuoco L, Perruolo G, Orlando R, Scordino F, Tosone G, Zampino R, Trani B, Genovese A, Spadaro G, D'Orio C, Portella G. Immunocompromised patients with HBsAg a determinant mutants: comparison of HBsAg diagnostic assays. *Intervirology* 53: 183-7, 2010.
159. Wachs ME, Amend WJ, Ascher NL, Bretan PN, Emond J, Lake JR, Melzer JS, Roberts JP, Tomlanovich SJ, Vincenti F, . The risk of transmission of hepatitis B from HBsAg(-), HBcAb(+), HBIGM(-) organ donors. *Transplantation* 59: 230-4, 1995.
160. Weber R, Sabin CA, Friis-Moller N, Reiss P, El-Sadr WM, Kirk O, Dabis F, Law MG, Pradier C, De WS, Akerlund B, Calvo G, Monforte A, Rickenbach M, Ledergerber B, Phillips AN, Lundgren JD. Liver-related deaths in persons infected with the human immunodeficiency virus: the D:A:D study. *Arch Intern Med* 166: 1632-41, 2006.
161. Weinberger KM, Bauer T, Bohm S, Jilg W. High genetic variability of the group-specific a-determinant of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) and the corresponding fragment of the viral polymerase in chronic virus carriers lacking detectable HBsAg in serum. *J Gen Virol* 81: 1165-74, 2000.
162. Yotsuyanagi H, Yasuda K, Iino S, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Tsutsumi T, Kimura S, Koike K. Persistent viremia after recovery from self-limited acute hepatitis B. *Hepatology* 27: 1377-82, 1998.
163. Yuki N, Nagaoka T, Yamashiro M, Mochizuki K, Kaneko A, Yamamoto K, Omura M, Hikiji K, Kato M. Long-term histologic and virologic outcomes of acute self-limited hepatitis B. *Hepatology* 37: 1172-9, 2003.
164. Zhang X, Xu J, Peng H, Ma Y, Han L, Ruan Y, Su B, Wang N, Shao Y. HCV coinfection associated with slower disease progression in HIV-infected former plasma donors naive to ART. *PLoS One* 3: e3992, 2008.
165. Zhang YY, Hansson BG, Kuo LS, Widell A, Nordenfelt E. Hepatitis B virus DNA in serum and liver is commonly found in Chinese patients with chronic liver disease despite the presence of antibodies to HBsAg. *Hepatology* 17: 538-44, 1993.
166. Zignego AL, Fontana R, Puliti S, Barbagli S, Monti M, Carecchia G, Giannelli F, Giannini C, Buzzelli G, Brunetto MR, Bonino F, Gentilini P. Impaired response to alpha interferon in patients with an inapparent hepatitis B and hepatitis C virus coinfection. *Arch Virol* 142: 535-44, 1997.

9. Vorabveröffentlichung von Ergebnissen

Reuter S, Oette M, Wilhelm FC, Beggel B, Kaiser R, Balduin M, Schweitzer F, Verheyen J, Adams O, Lengauer T, Fätkenheuer G, Pfister H, Häussinger D. Prevalence and characteristics of hepatitis B and C virus infections in treatment-naive HIV-infected patients. *Med Microbiol Immunol* 200; 39-49, 2011

10. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus Gründen des Datenschutzes in der elektronischen Fassung meiner Arbeit nicht veröffentlicht.