

Screening och verifikationsdiagnostik av hepatit C

Upptäckten av Au-antigenet (senare kallats HBsAg) 1965 och isolering av hepatit A-virus 1979 möjliggjorde aktiv diagnostik av hepatitformerna A och B.

Därvid blev det klart att det måste finnas ytterligare minst 1 form av virushepatit. Denna hepatitform hade påfallande likheter med hepatit B då den framför allt observerades hos missbrukare samt recipienter av blod och blodprodukt. Det akuta skedet brukade dock vara lindrigare än vid hepatit B. Ofta observerades utveckling av kronisk leversjukdom med svängande värden för transaminaser. Då samtliga serummarkörer för både hepatit A och hepatit B förblev negativa kom denna form för gulsot tills vidare att betecknas som hepatit non A non B.

Hepatit non A non B (HNANB) var en utav 80-talets stora diagnostiska gåtor. Sjukdomens stora medicinska betydelse åskådliggörs genom det faktum att blodtransfusioner i USA under första hälften av 80-talet orsakade så mycket som 3s–6 hepatitfall per 1000 enheter blod (antalet kan troligen till stor del tillskrivas virusbärare bland så kallade kommersiella blodgivare "surrogattester" (ALAT och anti-HBc) 1986 gav därstädes en drastisk minskning av transfusionsöverförd HNANB. Dock dröjde det några år innan bestämmelser om surrogattestning även kom att gälla för blod till industriellt framställda blodkomponenter. Dessutom uppvisade missbruksöverförd hepatit en betydande ökning varför antalet HNANB-fall i USA under den kvarstående delen av 80-talet förblev konstant.

Screeningsdiagnostik

Första generationens tester för antikroppar mot hepatit C hade stora brister betr. både sensitivitet och specificitet. Tillsammans med skärpta socioanamnestiska urvalskriterier för blodgivare samt surrogattestning kunde emellertid en omfattande screeningverksamhet under de kommande åren i de flesta länder nästan eliminera hepatit C som transfusionsburen sjukdom. I brist på vaccinationsmöjligheter är däremot intravenöst missbruk en lika betydande smittväg som tidigare.

Under 90-talet har först andra och sedan tredje generationens tester för anti-HCV förbättrat den diagnostisk träffsäkerheten ytterligare. Dock har även dagens antikroppsdiagnostik av hepatit C fortfarande brister då EIA-tester endast kan anses vara screeningtester. Positiva fynd bör verifieras, antingen med hjälp av specifika antikroppstester eller genom påvisning av infekterande agens.

Specifik antikroppsdiagnostik

I screeningstesterna ligger de rekombinant framtagna antigena epitoperna packade i brunnar, på kulor eller mikropartiklar. De specifika antikroppstesterna har motsvarande antigen separerade på en pappersremsa (RIBA= recombinant immunoblotting assay) eller i olika "brunnar" (Matrix). Till skillnad från screeningstester kan specifika antikroppstester därför särskilja specifika från ospecifika immunreaktioner (ospecifika reaktioner beror oftast på kontaminerande rester från de värdceller som använts vid kloning såsom bakterier och/eller svamp).

Principiellt har de specifika antikroppstesterna för verifikation av hepatit C ingen ökad sensitivitet jämfört med dagens screeningstester. Det är även ett problem att de ofta ger

indeterminanta resultat. Antikroppar mot hepatit C-virus kan dessutom komma relativt sent i förloppet och enstaka patienter, f.f.a. immunsupprimerade, bildar inga påvisbara antikroppar alls. Antikroppspåvisning är heller ingen säker metod om ev. smittsamhet skall bedömas.

Diagnostik av infekterande agens

I avsaknad av bättre och säkrare antikroppstester behöver man därför i många situationer kunna påvisa själva agens. Isoleringmetoder för hepatit C-virus (HCV) står f.n. ej till buds. Viruspåvisning görs därför med hjälp av molekylärtekniska metoder. F.f.a. används olika varianter av PCR (polymerase chain reaction)-tekniken. Vid mikrobiologiska laboratoriet i Eskilstuna görs kvalitativa PCR-undersökningar av HCV (HCV-RNA) sedan över 1 år tillbaka med hjälp av kommersiell PCR-test från Roche. Laboratoriet är ackrediterat för denna undersökning.

PCR är en mycket känslig undersökningsmetod. Metoden innebär betydande risk för kontamination och felaktiga undersökningsresultat om inte både provtagning, transport, förvaring och undersökning sker på rätt sätt. För PCR-undersökning av HCV-RNA krävs serum. P.g.a. kontaminationsrisk måste blodprov tagas i separat rör. Andra undersökningar får inte beställas eller utföras på rör innehållande serumprov för PCR. Då heparin hämmar amplifieringen skall heparinrör inte användas. EDTA-rör går däremot bra. Dessutom finns speciellt framtagna vacutainerrör med gel (PPT-rör). Dessa rör tillåter sluten hantering av det smittsamma materialet ända fram till omhändertagandet på laboratoriebänken och medför således stora fördelar både betr. sjukhushygien och ev. risk för kontamination.

Serumprov för HCV-RNA skall i princip alltid transporteras till laboratoriet så snabbt som möjligt. Prov i EDTA-rör bör helst ankomma till laboratoriet helst efter 1, max. 2 dygn. I PPT-rör (vacutainer) har HCV en kontrollerad hållbarhetstid på 72 timmar efter centrifugering vilket är ett utav skälen till att laboratoriet förordar denna provrörstyp. På laboratoriet förvaras provet efter alikvotering alltid i nedfryst tillstånd tills PCR-undersökning utförs.

Kvalitativ diagnostik av HCV-RNA anses f.f.a. vara indikerad vid:

1. Verifikation av positiva screeningstest, f.f.a. om en samtidig smittsamsbedömning önskas
2. Osäkert resultat av specifik antikroppstest (RIBA/ Matrix)
3. Misstanke på infektion i tidigt skede (innan ev. antikroppsbildning har kommit i gång)
4. Uteslutning av risk för vertikal smitta hos gravida med pos. antikroppstest
5. Diagnostik hos immundefekta med neg. Antikroppstest

P.g.a. resultatens prognostiska betydelse tillrådes innan start av behandling av kronisk hepatit C med interferon och ev. annat antiviralt medel både kvantitativ undersökning av HCV-RNA ("viral load") samt genotypning. Kvantitativ HCV-RNA-undersökning tillrådes likaledes i uppföljningssyfte under behandlingens gång. Vare sig kvantitativ HCV-RNA-undersökning eller genotypning kan f.n. utföras vid mikrobiologiska laboratoriet i Eskilstuna. På grund av större känslighet kan emellertid kvalitativ

undersökning av HCV-RNA av följande skäl vara indikerad även i samband med behandling av kronisk hepatit C:

6. Som inledande undersökning före ev. kvantitativ HCV-RNA-bestämning och genotypning
7. Som kontrollundersökning för ”viral clearance” efter avslutad behandling

Arild Lövestad

Överläkare Klinisk mikrobiologi Eskilstuna