

# HEPATITT C VIRUS

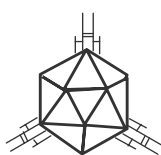
## STRATEGIMØTE

**31. oktober 1996**

**Forelesningsmanuskripter og  
kort referat med anbefalinger**

**Redaktører:**

**Gunnar Hoddevik, Hjørdis Iveland,  
Helge Myrmel,  
Helvi Holm Samdal, Kjell Skaug**



REFERANSEGRUPPE  
FOR EKSTERN KVALITETSSIKRING  
I SEROLOGI OG VIROLOGI



## INNHALDSFORTEGNELSE

Forord .....	2
Deltagerliste .....	3
Program .....	4
Sammendrag og anbefalinger .....	5-8
Innlegg i følge programmet	
Hepatitt C virus:	
Oppbygning, Antigenstruktur, Klassifikasjon, Immunrespons, Patogenese, Kronisitet, Epidemiologi .....	9-15
Diagnostiske muligheter/metoder:	
Påvisning av antistoff, screening og bekreftende undersøkelser .....	16-19
Påvisning av virus, kvalitative og kvantitative analyser .....	20-27
Forebygging av smitte:	
HCV - en biologisk faktor i risikogruppe 3. Inneslutningsnivå og andre tiltak i laboratoriet .....	28-31
Blod, blodprodukter og transplantasjoner .....	32-36
Oppfølging av stikkskader, uhell .....	37-41
Smittevernloven/meldeplikt .....	42-43
Risiko for vertikalsmitte av HCV:	
Barn av HCV positive mødre i Norge Oppfølging av HCV smittet barn .....	44-49
Klinikk og behandling	
Akutt og kronisk infeksjon/behandling Hvilke laboratorieundersøkelser skal gjøres?	50-

## **Forord**

I regi av Referansegruppe for ekstern kvalitetssikring i serologi og virologi ble det holdt strategimøte vedrørende hepatitt C virus på Folkehelsa den 31. oktober 1996. Programmet var satt sammen av en programkomité bestående av: Miklos Degré, Hjørdis Iveland, Helge Myrmel, Svein Arne Nordbø, Helvi Holm Samdal, Gunnar Hoddevik (sekretær) og Kjell Skaug (leder). Rapporten er redigert av: Hjørdis Iveland, Helge Myrmel, Helvi Holm Samdal, Gunnar Hoddevik og Kjell Skaug.

Rapporten inneholder foredragene fra møtet. Disse er gjengitt i sin helhet.

Oslo, mars 1997

Gunnar Hoddevik, Hjørdis Iveland, Helge Myrmel, Helvi Holm Samdal, Kjell Skaug

## **DELTAGERLISTE**

Berdal, Bjørn P., Forsvarets mikrobiologiske laboratorium, Oslo  
Blystad, Hans, Avdeling for bakteriologi, Statens institutt for folkehelse, Oslo  
Csango, Peter, Vest-Agder Sentralsykehus, Kristiansand  
Degré, Miklos, Mikrobiologisk institutt, Rikshospitalet, Oslo  
Dennford, James, Mikrobiologisk avdeling, Rogaland sentralsykehus, Stavanger  
Eggen, Bjørn M., Avdeling for spesialhelsetjenester, Statens helsetilsyn, Oslo  
Haukland, Hanne H., Mikrobiologisk avdeling, Regionsykehuset i Tromsø,  
Hermansen, Nils O., Mikrobiologisk avdeling, Buskerud sentralsykehus, Drammen  
Hoddevik, Gunnar M., Avdeling for virologi, Statens institutt for folkehelse, Oslo  
Holter, Ellen, Mikrobiologisk institutt, Rikshospitalet, Oslo  
Iveland, Hjørdis, Mikrobiologisk avdeling, Buskerud sentralsykehus, Drammen  
Lingås, Egil, Avdeling for sykehushygiene, Rikshospitalet, Oslo  
Mannsåker, Turid, Mikrobiologisk avdeling, Sentralsykehuset i Sogn & Fjordane, Førde  
Mortensen, Lisa, Mikrobiologisk laboratorium, Nordland Sentralsykehus, Bodø  
Myrmel, Helge, Mikrobiologisk avdeling, Haukeland sykehus, Bergen  
Nordbø, Svein Arne, Avdeling for mikrobiologi, Regionsykehuset i Trondheim, Trondheim  
Nordius, Åsa, Mikrobiologisk avdeling, Innherred sykehus, Levanger  
Ragnhildstveit, Eivind, Mikrobiologisk avdeling, Østfold Sentralsykehus, Fredrikstad  
Reinertsen, Even, Lillehammer mikrobiologiske lab., Fylkessykehuset, Lillehammer  
Samdal, Helvi Holm, Avdeling for virologi, Statens institutt for folkehelse, Oslo  
Schrumpf, Erik, Medisinsk avdeling A, Rikshospitalet, Oslo  
Schøyen, Rolf, Mikrobiologisk laboratorium, Vestfold Sentralsykehus, Tønsberg  
Skar, Anne Grete, Mikrobiologisk avdeling, Ullevål sykehus, Oslo  
Skaug, Kjell, Avdeling for virologi, Statens institutt for folkehelse, Oslo  
Stokke, Kjell Torgeir, Først V. Medisinsk laboratorium, Oslo  
Tjade, Trygve, Mikrobiologisk avdeling, Sentralsykehuset i Akershus, Nordbyhagen  
Tveten, Yngvar, Telelab a/s, Laboratorium for medisinsk mikrobiologi, Gulset, Skien  
Vik, Inger Sofie Samdal, Mikrobiologisk laboratorium, Fylkessjukehuset, Molde  
Ørstavik, Ivar, Avdeling for virologi, Statens institutt for folkehelse, Oslo  
Østergård, Hans, Klinisk kjemisk avdeling, Hedmark sentralsykehus, Elverum

## PROGRAM

### Møteleder: Hjørdis Iveland

- 1000 - 1010            1.    Innledning med programoversikt: *Kjell Skaug*
- 1010 - 1040            2.    Hepatitt C virus: *Miklos Degré (25 + 5 min)*  
                              Oppbygning, antigenstruktur, klassifikasjon  
                              Immunrespons  
                              Patogenese, kronisitet  
                              Epidemiologi
- 1040 - 1135            3.    Diagnostiske muligheter/metoder  
                              a.    Påvisning av antistoff, screening og bekreftende  
                                     undersøkelser: *Svein Arne Nordbø (40 + 15 min)*
- Pause, kaffe (*10 min*)
- 1145 - 1240            b.    Påvisning av virus, kvalitative og kvantitative  
                                     analyser: *Kjell Skaug (40 + 15 min)*
- 1240 - 1300            4.    Oppsummering og konklusjon: *Møteleder*
- 1300 - 1345            Lunsj

### Møteleder: Helge Myrmed

- 1345 - 1400            5.    Forebygging av smitte  
                              a.    HCV - en biologisk faktor i risikogruppe 3  
                                     Inneslutningsnivå og andre tiltak i laboratoriet:  
                                     *Ivar Ørstavik (10 + 5 min)*
- 1400 - 1420            b.    Blod og blodprodukter/transplantasjoner:  
                                     *Bjørn Magne Eggen (15 + 5 min)*
- 1420 - 1440            c.    Oppfølging av stikkskader, uhell:  
                                     *Egil Lingås (15 + 5 min)*
- 1440 - 1500            d.    Smittevernloven/meldeplikt:  
                                     *Hans Blystad (15 + 5 min)*
- Pause, kaffe (*10 min*)
- 1510 - 1540            6.    Risiko for vertikalsmitte av HCV:  
                                     *Helvi Holm Samdal (20 + 10 min)*  
                                     Barn av HCV positive mødre i Norge  
                                     Oppfølging av HCV smittet barn
- 1540 - 1610            7.    Klinikk og behandling: *Erik Schrumpf (20 + 10 min)*  
                                     Akutt og kronisk infeksjon/behandling  
                                     Hvilke laboratorieundersøkelser skal gjøres?
- 1610 - 1630            8.    Oppsummering og konklusjon: *Møteleder*

## **SAMMENDRAG OG ANBEFALINGER**

Hepatitt C virus ble først identifisert og beskrevet ved bruk av gentekologiske metoder i 1989 (Choo Q-L et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. Science 244:359-62, 1989) og dette førte raskt til utvikling av tester for antistoffpåvisning. Undersøkelser viste at HCV var årsak til de fleste tilfellene av transfusjonsassosiert non-A, non-B hepatitt. Smitte av HCV skjer i hovedsak med infisert blod. I industrialiserte land er HCV, nest etter alkohol, den viktigste årsak til kronisk leversykdom, cirrhose og hepatocellulært carcinom.

I Norge antar vi at ca. 17000 personer er smittet (MSIS-rapport 18/1996). Blant stoffmisbrukere i Norge er ca. 70 % smittet (Siebke og medarbeidere, 1991. Tidsskrift for Den norske lægeforening, 111: 821-4). Blant førstegangsbloodgivere er prevalensen ca. 0,13 % (2 HCV-antistoff positive påvist blant 1400 undersøkte ved Blodbanken, Ullevål sykehus i 1992, Kjell Skaug, upubliserte data). I ca. 30 % av tilfellene er smitemåten ikke klarlagt og det er derfor fortsatt en del usikkerhet knyttet til betydningen av andre smitteveier enn blodsmitte.

### **HCV-diagnostikk**

Det ble enighet om at det er følgende indikasjoner for undersøkelse på HCV-infeksjon:

- Utredning av akutt/kronisk NANBH
- Patologiske leverfunksjonsprøver
- Immunsvikt og immunsupprimerte (inklusive dialysepasienter)
- Multitransfunderte og blødere
- Gravide med risikoadferd
- Intravenøse stoffmisbrukere
- Bloodgivere/organdonorer
- Stikkskader
- Barn av anti-HCV positive mødre
- Monitorering av behandling

Laboratorietestene faller i 2 kategorier: 1) Tester for påvisning av antistoff mot HCV.  
2) Tester for HCV RNA.

Anbefalt strategi for HCV diagnostikk er vist på side 19.

### ***Påvisning av antistoff mot HCV:***

#### **a) Primærttester:**

Tiden fra smitte til antistoff kan påvises varierer fra 4-22 uker (gjennomsnittlig 12 uker). Nesten alle som smittes danner antistoffer, men vindusfasen kan vare i mange måneder hos immunsupprimerte.

Alle prøver som blir positive med en primærttest skal også undersøkes med en supplerende test.

De 3. generasjons primærttestene som er i bruk i Norge i dag (Murex, Abbott og Ortho) vurderes som likeverdige. Disse testene påviser bare IgG anti-HCV.

#### **b) Supplerende tester:**

Hurtigtester:

Det er få tester på markedet og de har mangelfull dokumentasjon på sensitivitet og spesifisitet.

Foreløpig anbefales det å være restriktiv i bruk av slike tester. Eneste indikasjon er hastesituasjoner i forbindelse med blodtransfusjon og nekrotransplantasjon. Undersøkelsene må alltid gjentas med laboratoriets primærttester.

IgM-tester:

De IgM anti-HCV testene som tilbys i dag anses å ha liten diagnostisk nytte.

RIBA

Tredje generasjon rekombinant immunoblot assay (RIBA-3.0) er den testen som er mest brukt. Antigenene i RIBA er delvis rekombinante og syntetiske peptider og dekker ikke hele viruset på samme måte som i HIV Western Blot. Derfor kan ikke RIBA regnes som en sann konfirmasjonstest. Alle som er anti-HCV positive både i primærttest og RIBA er smittet med HCV.

Det finnes også andre supplerende tester men sensitiviteten og spesifisiteten for disse er dårlig dokumentert.

### ***Påvisning av HCV RNA:***

HCV kan ikke dyrkes. Avhengig av pasientkategori er 50-80 % av RIBA positive også PCR positive. Siden HCV er et RNA virus, må isolert RNA først ekstraheres fra pasientens serum og overføres til komplementært DNA med revers transkriptase (RT). Deretter oppformes en del av virusgenomet: Både egenutviklede (in house) og kommersielle genteknologiske tester er i bruk (PCR, LCR, NASBA).

Prøvebehandling:

Serum eller plasma kan oppbevares ved 2-8° C i opp til 6 timer. Prøvene bør bare frysetines én gang. Gjentatt frysetining kan føre til redusert utbytte og renhet av HCV RNA. Ved lagring ut over 6 timer anbefales at prøvene fryses ved -70° C.



Prøvemateriale: En separat uåpnet prøve sendes til påvisning av HCV RNA EDTA-plasma eller serum, minimum volum 0,2 ml.

Det finnes både kvalitative og kvantitative metoder for påvisning av HCV RNA. Kvantitering av virus i blod brukes til å følge effekten av behandling (Helge Bell og medarbeidere, Scand J Infect Dis. In press, 1997).

## **Sikkerhet i laboratoriet ved behandling av serumprøver**

HCV er sammen med retrovirus, HBV, HDV, HEV og non-A-E hepatittvirus klassifisert i faregruppe 3\*. I utgangspunktet skal agens i faregruppe 3 behandles i inneslutningsnivå 3 som stiller store krav til laboratoriet og personellet. Asterisk \* henviser imidlertid til at disse virus vanligvis ikke smitter luftbårent, og det synes derfor akseptert at serumprøver kan undersøkes utenfor inneslutningsnivå 3. (EU-direktiv og forventede norske forskrifter/retningslinjer). Generelt gjelder at den enkelte avdeling må foreta en selvstendig risikovurdering for valg av sine sikkerhetstiltak .

## **Blod/ blodprodukter/transplantater**

Statens helsetilsyn har under utarbeidelse: "Nasjonale retningslinjer for håndtering og oppbevaring av benvev og annet humant vev" og "Forbygging av donorbetenget infeksjon ved transplantasjon av organer og vev".

Anti-HCV positive utelukkes som blodgivere.

## **Oppfølging av stikkskader, uhell**

I følge litteraturen fører stikkskader med HCV positivt materiale til infeksjon i 3-10 %.

Statens helsetilsyn har under utarbeidelse: "Veileder om forebygging av blodsmitte i helsevesenet".

Det er foreslått følgende oppfølging av stikkskader med positivt HCV materiale: Serumprøve tas umiddelbart (0-prøve), etter 4-6 uker og etter 6 måneder. De siste to prøvene undersøkes på innhold av antistoff og virus-RNA. O-prøven undersøkes bare dersom de to andre prøvene er positive.

## **Smittevernloven/ meldeplikt**

Fra 1992 har bare påvisning av HCV antistoff og klinisk hepatitt eller forhøyet ALAT, vært nominativt meldingspliktig til MSIS.

Strategimøtets anbefaling til Statens institutt for folkehelse er at meldesystemet endres til at alle som blir påvist smittet meldes nominativt.

## **Smitte mor/barn**

Risiko for vertikal smitte med HCV angis fra 2 - 30 %, avhengig av hvilke populasjoner som er undersøkt og hvilke metoder som er anvendt.

Anti-HCV positive gravide skal undersøkes med PCR. Dette gjøres med henblikk på informasjon og rådgiving om risiko for smitte til barnet, fordi studier som har undersøkt anti-HCV positive gravide med PCR har ikke kunnet påvise vertikal smitte fra HCV PCR negative kvinner.

Barn av anti-HCV positive mødre, uavhengig av mors RNA-status, anbefales undersøket med anti-HCV EIA og HCV PCR. Det tas prøve av barnet ved fødsel (0-prøve) og ved 3 og 18 måneders alder. Navlesnorblod er uegnet som materiale for å avgjøre om barnet er smittet fordi det er vanskelig å unngå kontaminasjon med mors blod.

Det er i dag ikke holdepunkter for å fraråde amming, bortsett fra hvis moren er samtidig infisert med HIV.

## **Behandling**

Alle HCV positive bør henvises til enten infeksjonsmedisiner, gastroenterolog, indremedisiner eller pediater for vurdering med tanke på behandling. Infeksjoner med genotype 2 og 3 responderer bedre på behandling enn de med genotype 1. Typing er ikke noe utvalgs-kriterium for behandling i Norge.

Pasienter med kronisk HCV infeksjon kan tilbys behandling bl.a. med alfa-interferon. Ca. 50 % responderer på behandlingen; ca. halvparten av disse med varig effekt.

# **Hepatitt C virus: Oppbygning, antigenstruktur, klassifikasjon, immunrespons, patogenese, kronisitet, epidemiologi.**

**Miklos Degré, Mikrobiologisk institutt, Rikshospitalet**

Hepatitt C virus (HCV) utgjør størsteparten (<95%) av blodoverførte NonA-nonB hepatitter. De representerer et betydelig helseproblem verden over.

## *VIRUS*

HCV ble identifisert i 1989, som resultat av målbevisste studier av NANB hepatitter, ved hjelp av molekylærbiologiske studier ved rekombinant DNA kloning via passasje i sjimpanse. I løpet av de få årene siden da er det blitt publisert betydelig mengde kunnskap om de ulike aspekter av HCV, fra molekylærbiologi og basal virologi, infeksjonspatologi, immunologi, klinikk, epidemiologi og terapi. Dette til tross for at det er svære problemer med å få virus til å vokse in vitro, og at det ikke finnes noen god eksperimentell dyremodell.

HCV er rund, eller sfærisk, med noe varierende størrelse fra 45 til 60 nm, avhengig av preparasjon, fremstilling av preparat og målemetode. Noe av forklaringen er at core partikkelen er omgitt av en glycoproteinmembran. Denne er utstyrt med mange peplomerer. Det er også en betydelig variasjon i boyant density (fra 1,03 til 1,1 eller mer) f. eks i preparasjoner fremstilt fra plasma. Noe av forklaringen kan være varierende assosiasjon med immunoglobuliner og low-density lipoproteiner. Corepartikkelen er ca 30 nm stor og har etter all sannsynlighet ikosaeder symmetri.

Viruspartiklene er stabile ved nøytral pH, men inaktiveres relativt lett ved sur pH. Det hevdes av virus er relativt termolabilt.

HCV genomet består av enkelttrådet, positiv tråd RNA med ca. 9.500 nukleotider. Nukleotidsekvensen foreligger for hele genomet. Det er etterhvert mange stammer som er sekvensert, og der er en ikke ubetydelig variasjon i nukleotidsekvensene påvist i de ulike stammer. Denne variasjon er av stor betydning, som vi skal komme tilbake til. Genomet består av en sammenhengende leseramme, med terminale ledersekvenser på C og N ender. Genomets organisasjon ligner mest på flaviviridae, selv om det er forskjeller fra de to definerte genus, flavivirus og pestivirus. HCV er blitt klassifisert som et tredje, og eget genus i flaviviridae familien. Genomet koder for et sammenhengende polyprotein, og fra dette får viruset både strukturelle og nonstrukturelle proteiner etter proteolytisk spalting. Fra 5 terminal enden finner vi genet som koder for et strukturelt protein C, for core, deretter E1 og E2 som mest sannsynlig er membranproteiner. De er sterkt modifisert ved N-linked glycosilering. Graden av glycosilering varierer noe, og dette er satt i forbindelse med stammevariasjon. Regionene NS2,3,4 og 5 er plassert mot C terminale ende av genomet, og de koder for nonstrukturelle proteiner, inkludert flere essensielle enzymer: proteinaser, helikase, fusjonsprotein og RNA-avhengig RNA polymerase. 5 (N) terminalen er velkonservert, mens det er betydelig variasjon i de øvrige regioner. Variasjonen i 3 (C) enden har muligens betydning for replikasjonseffektiviteten. Det er en såkalt hypervariable region på 3 enden av E2 gen med over 50% variabilitet. Det er hevdet at denne regionen er involvert i virus-cellebinding og er muligens sete for nøytralisasjonsreaksjonen. Alle disse proteiner representerer antigener, ikke bare de strukturelle, men også de nonstrukturelle og det er flere

antigene epitoper på dem. På grunn av de betydelige variasjoner i både genom og proteinsekvenser er HCV inndelt i 6 hoved typer og i tallrike subtyper. Denne inndeling har store konsekvenser, ikke bare teoretisk og epidemiologisk men også praktisk..

## *REPLIKASJON*

Replikasjonen er neppe endelig klarlagt. Grunnen er bl.a. manglende cellekultursystem. Binding og internalisering foregår overveiende sannsynlig ved reseptor-mediert endocytose, der E proteinene, representerer virus ligand, mens reseptoren ikke er definert. Det er fusjon mellom viral membran og cellemembran, hvoretter nukleokapsidet tømmes i cytoplasma hvor translasjon og prosessering av polyprotein foregår. RNA replikasjon foregår membranassosiert og foregår via fullengde negativ-tråd intermediat. Etter replikasjon spaltes polyprotein i de tre strukturell og nonstrukturelle proteiner. Bortsett fra en vertssignalpeptidase er dette hovedsakelig en autokatalytisk prosess, mediert av virale enzymer. Samling, glycolytisk modifikasjon og modning foregår ved knopp skytning gjennom intracellulære membraner, der endoplasmatiske retikulum synes å være sete for glykosileringen.

## *INFEKSJON - PATOGENESE*

Mennesket er virusets eneste naturlige vert. Infeksjon kan overføres til sjimpanser.

Infeksjonen hos mennesket kan skisseres kort: Akutt infeksjonsfase gir klinisk sykdom kun hos et mindretall av de infiserte. Hovedsakene er at en meget stor andel av de infiserte blir kroniske bærere av virus og utvikler kronisk hepatitt. Konsekvensene av dette kan være kronisk persisterende hepatitt, kronisk aktiv hepatitt, med levercirrhose som fryktet sluttresultat. I tillegg har kronisk HCV infeksjoner en viss assosiasjon med primært hepatocellulært carcinom. Dessuten er det påvist flere ekstrahepatiske manifestasjoner, som kan opptre under forskjellige sykdomsfaser.

Infeksjonskilde er menneske og HCV overføres typisk ved blod og blodprodukter. Overføringen av HCV er vesentlig mindre effektiv enn HBV, og risikogrupperne er mer begrenset. Uten å gå i detaljer kan man si at overføring er sterkt knyttet til transfusjon av blod og blodprodukter og bruk av sprøytespisser. Seksuell overføring er dokumentert, både homoseksuell og heteroseksuell, men i begrenset grad. Multiple seksuelle partnere spiller en viss rolle. Overføring fra mor til nyfødte barn er også dokumentert. At det foregår perinalt p.g.a. blod forurensing er klart, men det er kanskje noe mer usikkert hvorvidt transplacentær overføring foregår. Det å tilhøre en husholdning med et HCV positivt medlem synes også å være en risikofaktor. Hos en meget stor andel av pasienter finner man ingen sikker overføringsmekanisme. Det er derfor mulig at andre overføringsmekanismer finnes.

Sirkulerende virus, viremi, kan påvises få dager etter infeksjon (også i sjimpansemodell), og virus kan påvises i hepatocytter i løpet av ca. en uke. Hos de fleste infiserte pasienter forløper den akutte infeksjonen subklinisk, bare hos ca en fjerdedel opptrer det klinisk gulsott. Inkubasjonstiden er ca 1-2 mndr. Påvirket leverfunksjon ved forhøyede ALT verdier kan regelmessig påvises, likeledes relativt store mengder virus, både i blod og i leveren. Den akutte fasen kan vare i flere måneder.

Hos en betydelig andel av de infiserte, uansett om de har gjennomgått akutt hepatitt eller ikke, etableres det en kronisk bærer tilstand. Andelen varierer noe i forskjellige publikasjoner, fra 50 til 80%. Den kroniske bærertilstanden er langvarig, kanskje hos flertallet livsvarig. Virus kan være tilstede i blod i varierende mengder og i perioder kan blodet også synes å være virusfritt. Leverfunksjonsprøver kan også variere betydelig. Symptomfri bærertilstand kan gå over i kronisk persisterende hepatitt og videre i kronisk aktiv hepatitt med eller uten levercirrhose og med stigende grad av dårlig prognose. Utviklingen kan ta mange år. Utviklingen i leveren karakteriseres ved inflammatoriske forandringer; lymfoide follikler og aggregater av avleiret fett, som dominerer i tidlige faser, mens i senere faser er det en tiltagende nekrose, fibrøs utvikling, med kollagen avleiring og fettavleiring. Levercirrhose utvikler seg hos ca 20% av pasienter med kronisk aktiv hepatitt. Det understrekes av flere at serum transaminase nivåer ikke alltid reflekterer graden av leverskade.

Primær hepatocellulær carcinom (HCC) er en viktig sykdom som må nevnes i relasjon til kronisk HCV infeksjon. Det er høyst usikker hvorvidt HCV har en causal assosiasjon med HCC, men heller bør regnes som en av flere medvirkende faktorer. Selv om HCV-RNA kan ofte påvises i tumor celler er dette ikke integrert i cellens genom. Tiden fra infeksjon til kancerutvikling er svært lang, gjerne 20 år eller mer.

HCV RNA kan påvises i tillegg til hepatocytter også i endel blodceller, monocytter, benmarg B celler og T celler. I de begrensede in vitro dyrkningsforsøk som er utført synes ikke HCV å produsere cytopatogen effekt, men multiplikasjon i disse kulturer er ganske moderat, slik at det er lite virus som produseres.

### *IMMUNRESPONS*

Hvordan reagerer organismen på HCV infeksjon? Det er en omfattende og sterk immunreaksjon som kan påvises hos de kronisk infiserte, men delvis også hos akutt infiserte pasienter. Kronisk infiserte pasienter, og i stor grad også akutt infiserte pasienter produserer antistoffer mot en rekke epitoper, både lineære og konformasjonelle epitoper i E1, E2, samt core, dessuten endel nonstrukturelle proteiner, i første rekke NS2 og NS5. I sjimpanseforsøk er det vist at infiserte dyr produserer anti-core, NS3 og NS5, til tross for at de blir syke. Det indikerer at disse antistoffer ikke har preventiv effekt. Dog er det vist at reinfeksjon med samme inokulum produserte mildere sykdom. Det er interessant at anti-E2 antistoffer ikke ble produsert i infiserte sjimpanser, som ble syke, noe som kan indikere at disse antistoffer kan ha noe med beskyttelse å gjøre. Det er nå vist at det finnes nøytraliserende antistoffer hos mennesker, med en sterk stammespesifisitet. Slik jeg oppfatter er det nå konsensus om at det er ikke antistoffenes utvikling eller manglende sådan som har avgjørende rolle i utvikling av kronisk infeksjon. Hovedårsaken synes å være den betydelige variasjon viktige områder gjennomgår, slik at de nye varianter hele tiden unngår immunresponsen. Det er vist en svær variasjon med tiden, i samme pasient, mest i den sk. hypervariable regionen i E2, slik at viruset opptrer som en rekke quasispecies som unngår immunsystemets reaksjon.

HLA klasse I restricted CD4+T cellerespons kan påvises mot en rekke epitoper på core, NS4 og NS3 proteiner, noe mer varierende mot E1, E2 og NS5 proteiner. CD4+T cellerespons mot core protein er ofte korrelert med frisk bærertilstand. Dette kan indikere at selv om dette ikke er nok til å bli kvitt virus kan det være medvirkende til en proteksjon mot alvorlig sykdom. Den samme reaksjonen er også assosiert med god respons på interferonterapi. HCV spesifikke CD4+ T celler finnes også i den infiserte leveren, både med spesifisitet mot NS3

og NS4. Det er usikkert om disse celler har beskyttende effekt eller om de er medvirkende til utvikling av leverpatologi.

CD8+ CTL er generelt regnet som viktig faktor i eliminering av virusinfiserte celler, og som sådan representerer en viktig forsvarsfaktor. Epitoper i de fleste HCV proteiner blir gjenkjent av CD8+CTL fra infiserte pasienter. Disse kloner produserer antivirale cytokiner som IFN-gamma og TNF. Det er usikkert hvilke rolle disse har i patogenesen, men det synes som det ikke er tilstrekkelig at disse er til stede for å motvirke utvikling av kronisk sykdom. Det er mulig at de har betydning for eliminering av virus i de tilfeller der akutfasen ikke går over i kronisk infeksjon. Det er også mulig at CD8+ celler i seg selv er effektive, men de finner ikke angrepspunkter p.g.a nye mutanter (quasi-species) som unngår både humoral og cellulær immunrespons.

Sirkulerende HCV RNA kan påvises i varierende mengde i blod og hepatocytter. Mengden synes å være korrelert med sykdomsutvikling. Men det betyr ikke nødvendigvis at virus utøver en direkt cytopatogen effekt på leverceller. Det er mulig at en viss grad av cytopatogen effekt forekommer, men idag regner man ikke med at dette er hovedårsaken til celledskade eller hovedrollen i patogenesen. Man regner med at immunmediert celledskade er sannsynligvis hovedkomponenten i patogenesen, der både CD8, CD4 celler deltar i tillegg til antistoffmediert cytotoxicitet. En viss assosiasjon mellom spesielle HLA typer og sykdomsutvikling peker også den veien. F. eks. er HLA-DR-5 assosiert med mild klinisk utvikling.

Det er hevdet at i en del tilfeller kan autoimmune reaksjoner, i tillegg til spesifikk immunrespons, ha betydning for utvikling av kronisk HCV infeksjon. Det er påvist antistoffer mot en lite karakterisert vertsepitop, kalt GOR. I tillegg har mange pasienter med type 2 autoimmun hepatitt med antistoffer mot lever- og nyremikrosomer (anti-LKM), HCV viremi. Fordi membranbundet cytokrom P450 er target for LKM antistoffer har det vært foreslått at HCV viremi kunne være assosiert med vertsrettet immunrespons. Det er også en klar assosiasjon mellom HCV infeksjon og «mixed cryoglobulinemi» (purpura, arthralgia, muskulær svakhet, evt. glomerulonefritt). Dette synes å være en konsekvens av cryprecipitable immunkomplekser bestående av reumatoid faktor og spesifikke HCV antistoffer.

Det bør også nevnes at utvikling av sykdomsutviklingen under HCV infeksjon influeres sterkt av endel kofaktorer, bl.a. koinfeksjon med HBV og alkoholmisbruk. Andre faktorer som synes å ha innflytelse er overføringsmåte og ikke minst virusstamme.

Som oppsummering over sykdomsutviklingen kan man si at det dominerende trekk er den hyppige etablering av kronisk infeksjon. Dette til tross for en sterk immunologisk respons. Vi kjenner ikke til hele forklaringen på hvorfor dette skjer men noen forhold kan ha betydning: Forekomst av B-celle og T-celle «escape» mutanter. Det er hevdet at mengde virus som produseres er utilstrekkelig til å indusere en effektiv immunrespons. Andre hevder at kompleksdannelse med lipider maskerer de virale antigener slik at de ikke når frem til immunsystemet i tilstrekkelig grad. Andre enda mer hypotetiske mekanismer kan være produksjon av defekte partikler som interfererer med immunresponsen, nedregulering av vertsgenfunksjoner mht. MHC klasse I antigen ekspresjon og sekresjon av cytokinhemmere. Dette viser bare at det er store hvite flekker på kartet når det gjelder forståelsen av patogenesen for HCV infeksjoner.

## *EPIDEMIOLOGI*

Noen ord om epidemiologi: HCV infeksjoner forekommer over hele kloden og representerer et betydelig helseproblem. Inntil ganske nylig var de hyppigste årsak til blodoverførte hepatitter. Hyppigheten varierer betydelig i ulike deler av verden. Blant blodgivere ble det påvist forekomst fra 0.02 til 1,23%. Forekomst av høye hyppigheter har en annen fordeling enn for HBV (høy frekvens i Japan, Spania, Ungarn, Saudi Arabia, Syd-Italia), og spesielt høy forekomst ble det påvist i Egypt, nesten 20%. Positiviteten er alderskorrelert, den varierer avhengig av en rekke demografiske parametere, f. eks. sosial status, kjønn, rase, etc.

Et viktig trekk i HCV epidemiologi er forekomst av de ulike varianter av virus. Jeg har allerede nevnt at det er en betydelig variasjon i basesekvens i de ulike isolater, og at denne variasjonen også kommer til uttrykk i aminosyreskvens og antigenstruktur. Det er utført en rekke undersøkelser for å kartlegge disse variasjoner og å utnytte dem i første rekke taksonomisk, til inndeling av typer og subtyper, deretter for å karakterisere hvorvidt de ulike varianter har biologisk avvikende egenskaper. Disse variasjonene har konsekvenser for prognose, valg av behandling og sannsynligvis for eventuell framtidig vaksineproduksjon. Det er i løpet av de siste få år kommet et betydelig antall publikasjoner om HCV, og jeg har på følelsen at vi er på ingen måte kommet til en definitiv avklaring på feltet. Det anvendes noe forskjellige metoder til identifisering av de forskjellige typer og subtyper. De viktigste er basert på genetisk analyse av 5' noncoding region og core region, dessuten identifikasjon av typespesifikke antigener ved ELISA, fortrinnsvis i nonstruktural region 4. Metodene er delvis typespesifikk PCR, restriksjonsenzym fragmentlengdepolymerase og hybridisering. Resultatene oppnådd med de ulike metoder er ikke alltid 100% sammenlignbare.

Det differensieres idag mellom 6 hovedgrupper, og mange, kanskje 30 eller flere subgrupper på grunnlag av variasjon i gensekvensene. Genotypefordelingen varierer sterkt geografisk, og mellom forskjellige populasjoner som er testet. I presumptivt frisk populasjon, representert ved blodgivere finner man overvekt av type 1.

Jeg har forsøkt å lage en oversiktstabell over forekomst av de 6 hovedtypene i en blodgiverpopulasjon. Det ble relativt raskt klart at det representerer en svært omtrentlig oversikt. Det er klart at visse trend er felles, men ellers er det en ganske betydelig variasjon i de forskjellige publiserte materialer. Det er neppe tvil om at type 1 er den mest utbredte, og representerer flertallet av infeksjonene, spesielt i Europa og USA, i noen materialer over 60%. Spesielt type 1b er dominerende i mange materialer. Type 2 og type 3 har også en ganske omfattende utbredelse, type 3 spesielt i Europa og Sydøstasia. Type 4 forekommer fortrinnsvis i Midtøsten, type 5 i Sydafrika mens type 6 i Sydøstasia og i noen materialer i Sydafrika. Saken blir mer komplisert når noen forfattere bruker en litt annen inndeling, som ble introdusert av Simmonds et. al., karakterisert med romertall hvor I svarer til 1a., II for 1B, III for 2a, etc. Fordelingen i Europa er ganske lik den man finner i Australia, mens i deler av Europa, f.eks i Ungarn er type 1 helt dominerende. Foreløpig er det vanskelig å trekke noen generelle slutninger, når man ser at i land vi er vant til å behandle under overskriften Sydøstasia er det betydelig forskjeller i forekomst f. eks. i Japan, HongKong, Macao og Taiwan. Det må dog bemerkes at de fleste materialer er relativt begrenset, de fleste prosenter er basert på totalmaterialer på langt under hundre smittede. Det er derfor svært foreløpige konklusjoner man kan trekke.

I en norsk studie hvor pasienter med kronisk hepatitt C infeksjon ble behandlet med alfa-interferon (H. Bell et al.), fant en dominerende forekomst av type 3. Dette er forskjellig fra

det en ellers finner hos HCV-smittede i Europa.





# Påvisning av HCV-antistoff, screening og bekreftende undersøkelser

Svein Arne Nordbø, Avdeling for mikrobiologi, Regionsykehuset i Trondheim

## 1) Primære antistofftester

I 1989 publiserte Choo og medarbeidere sitt arbeid med å klonere hepatitt C virus (HCV) og utviklingen av rekombinante antigener som kunne detektere antistoffer som var spesifikke for HCV(1). Allerede i løpet av 1990 ble de første kommersielle anti-HCV testene tilgjengelige på det norske markedet. Disse såkalte 1. generasjons ELISA-testene var basert på rekombinante antigener fra NS3/NS4 regionen på den ikke-strukturelle delen av HCV-genomet. Disse testene hadde relativt lav sensitivitet og spesifisitet, og ble senere erstattet av 2. generasjons tester som i tillegg hadde andre rekombinante antigener fra NS3-regionen samt fra den strukturelle delen av genomet (kapsid-antigen). Både spesifisitet, og spesielt sensitiviteten ble forbedret ved introduksjonen av disse testene. Det kom etter hvert mange kommersielle aktører på markedet med meget variabel kvalitet på sine produkter. P.g.a. patentrettigheter er antall aktører på dette markedet blitt betydelig redusert i løpet av de siste årene. Kvaliteten på testene er imidlertid blitt betydelig forbedret. I dag er det nesten utelukkende de såkalte 3. generasjons testene som benyttes fordi de er 2. generasjons testene overlegne m.h.t. sensitivitet. Felles for 3. generasjons testene er at de i tillegg til tidligere antigener også har antigener rettet mot NS-5 regionen. Det har vært stor faglig uenighet om berettigelsen av bruken av NS-5 komponenten, og det er bare beskrevet noen få tilfeller hvor man har hatt nytte av dette antigenet i relasjon til økt sensitivitet i forbindelse med serokonversjon. Introduksjonen av dette antigenet medførte i starten en forringelse av screeningstestenes spesifisitet, og sera som kun har reagert med dette antigenet har stort sett vært utslag av uspesifikke reaksjoner. Den reelle forbedringen av sensitiviteten til 3. generasjonstestene skyldes i alt vesentlig grad en forbedring av antigenene i NS3-regionen (c33c-antigenet) (2).

### *Serokonversjon*

Serokonversjonsstudier baserer seg i alt vesentlig på antistoffundersøkelser i forbindelse med transfusjonsoverførte infeksjoner, og angivelse av serokonversjonstid varierer svært mye i ulike publikasjoner. For 1. generasjonstestene varierer serokonversjonstiden fra få uker til ca. 1 år (3), mens den for 2. generasjonstestene i enkelte publikasjoner angis å ligge mellom 10 og 26 uker (4). I en fransk undersøkelse (5) fant man at gjennomsnittlig serokonversjonstid med 3. generasjonstestene var 17 dager (7-30 dager). Ved transfusjonssmitte vil de fleste være HCV-RNA positive (PCR) i løpet av 1-2 uker (5). Flere studier har vist at man har liten diagnostisk nytte av å påvise spesifikke HCV-IgM antistoffer i serum (6). Disse testene er mindre sensitive enn IgG-testene, og av til forblir disse testene negative selv om pasienten har hatt en akutt HCV-infeksjon. I en smittesituasjon bør derfor den eksponerte pasienten følges opp med påvisning av antistoff (3. generasjons ELISA), og evt. tester for påvisning av HCV-RNA.

### *Antistoffrespons*

De fleste som blir smittet med HCV utvikler en kronisk infeksjon som genererer en antistoffrespons som varer resten av livet. Da 1. generasjons testene var i bruk ble det rapportert flere tilfeller hvor pasienter som var blitt smittet med HCV ble seronegative etter en tid. Dette fenomenet er såvidt vites ikke publisert ved bruk av 3. generasjons testene. Det er derimot publisert flere tilfeller hvor immunsupprimerte pasienter har vært HCV-RNA positive, men anti-HCV negative. HCV-undersøkelser av denne gruppe pasienter bør derfor basere seg på HCV-RNA deteksjon, og ikke antistoffundersøkelser alene(7).

De fleste barn som blir født av HCV-positive mødre blir ikke smittet. De maternelle antistoffene kan normalt påvises i serum hos disse barna i inntil 15 måneders alder (egne observasjoner). Barn som blir smittet av HCV-positive mødre vil ikke få et tilsvarende jevnt fall i anti-HCV titer, og de vil som regel være HCV-RNA positive.

### *Hurtigtester*

Det er få kommersielle hurtigtester på det norske markedet. De fleste baserer seg på et modifisert ELISA-prinsipp på en membran. Behovet for å utføre slike tester er svært begrenset, og vil først og fremst være knyttet til akutsituasjoner i forbindelse med transfusjoner og evt. organtransplantasjoner. I slike situasjoner bør alltid sera retestes med en ordinær 3. generasjons test. Prinsippielt bør man unngå å bruke hurtigtester i vanlige kliniske situasjoner da dette vanligvis ikke får akutte terapeutiske konsekvenser.

### *Serotype spesifikke antistoffer*

Det finnes kommersielle ELISA-tester for påvisning av typespesifikke antistoffer, og som kan benyttes i epidemiologisk sammenheng. Disse testene er meget kostbare og gir ikke alltid et entydig svar. I en behandlingssituasjon vil genotyping være å foretrekke framfor serotyping.

## **2) Supplerende antistofftester**

For serologisk bekreftelse av en repetitiv positiv screeningtest benyttes såkalte immunoblot assays hvor man får visualisert en mer differensiert antistoffprofil mot ulike antigener. Det finnes flere forskjellige kommersielle alternativer, men RIBA (recombinant immunoblot assay) er vanligvis den testen som blir betraktet som referansemotoden. Kvaliteten på de øvrige supplerende testene er meget variabel (8). Det har skjedd en betydelig forbedring av både sensitivitet og spesifisitet av RIBA-testene. 3. generasjons RIBA har omtrent samme sensitivitet som 3. generasjons screeningtestene, og andelen av usikre resultater etter RIBA-testing med siste generasjons tester er blitt betydelig redusert (9). Alle sera som tester positivt i RIBA bør betraktes som potensielt infektøse. Det er som regel ikke indikasjon for å gjenta RIBA-testing av sera fra pasienter som tidligere har testet positivt. En ikke ubetydelig andel av seraene med usikkert RIBA-resultat er reelt positive, og det er derfor viktig at disse seraene blir undersøkt med PCR eller tilsvarende metodikk for påvisning av HCV-RNA (9). Evt. kan undersøkelsene gjentas etter noen uker.

## **3) Strategi for HCV-diagnostikk**

Et flytskjema som skisserer hvordan HCV-diagnostikken anbefales praktisert er vist på side 19.

De som ønsker flere detaljer vedrørende de diagnostiske testene og deres anvendelse, henvises til en nylig publisert oversiktsartikkel om dette emnet (10).

*Referanser:*

1. Choo Q-L, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Science 1989; 244: 359-63.
2. Barrera JM, Francis B, Ercilla G, Nelles M, Achord D, Darner J, Lee SR. Vox Sang 1995; 68: 15-18.
3. Oliva JA, Maymo RM, Carrio J, Delgado O, Mallafre JM. Kidney Int Suppl 1993; 41: S153-56.
4. Krajden M. Crit Rev Clin Lab Sci 1995; 32: 41-66.
5. Courouche AM, LeMarrec N, Girault A, Ducamp S, Simon N. Transfusion 1994; 34: 790-95.
6. Zaaijer HL, Mimms LT, Cuypers HT, Reesink HW, van der Pol CL, Taskar S, Lelie PN. J Med Virol 1993; 40: 184-87.
7. Locasciulli A, Alberti A. Leuk Lymphoma 1995; 17: 245-49.
8. Zaaijer HL, Vrielink H, van Exel Oehlers, Cuypers HT, Lelie PN. Transfusion 1994;34: 603-07.
9. Buffet C, Charnaux N, Laurent Puig P, Chopineau S, Quichon JP, Briantais MJ, Dussaix E. J Med Virol 1994; 43; 259-61.
10. Roggendorf M, Lu M, Meisel H, Riffelmann M, Schreier E, Viazov S. J Hepatol 1996; 24 (Suppl. 2): 26-34.

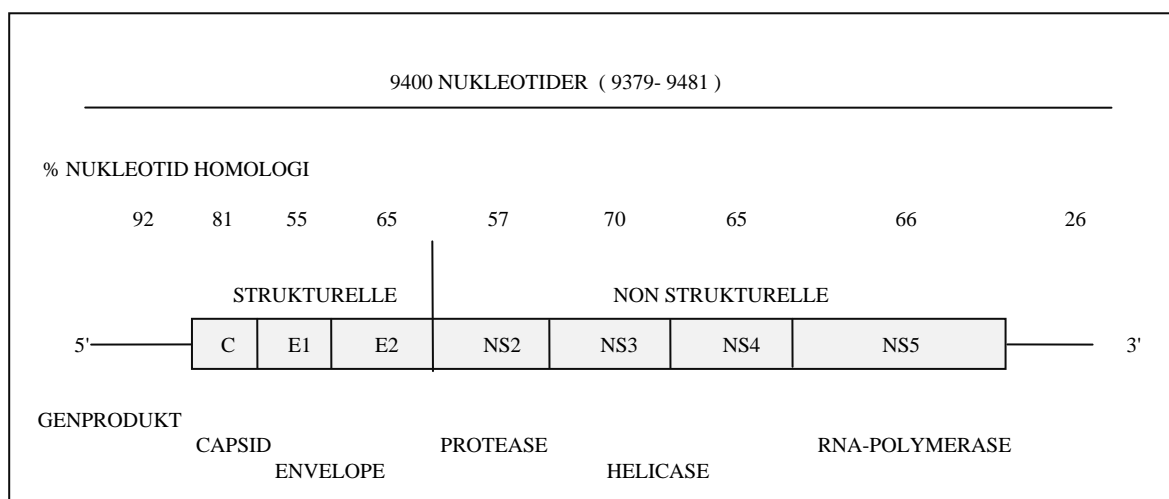


# PÅVISNING AV HCV-RNA, KVALITATIVE OG KVANTITATIVE ANALYSER

Kjell Skaug, Avdeling for virologi, Statens institutt for folkehelse

Hepatitt C-viruset (HCV) ble identifisert med genteknologiske metoder i 1989 (1). Viruset er beslektet med flaviviridae-, pestiviridae-familien. Det finnes minst seks forskjellige genotyper, flere subtyper og varianter er beskrevet. Rutinemessig påvises HCV infeksjoner serologisk. Antistoff mot HCV kan påvises hos de fleste med kronisk HCV infeksjon. Imidlertid, i vindusfasen fra smitte til antistoff kan påvises (fra 4 til 22 (mean 12) uker etter smitte), kan HCV RNA være eneste markør på smitte (2). Med dagens tester blir enkelte først antistoff positive flere mnd etter smitte (Ved Avdeling for virologi, Folkehelse, har vi et eksempel på at en pasient (gravid, stoffmisbruker) har vært HCV RNA positiv i 5 mnd før vedkommende har blitt anti-HCV positiv (Ortho 3 gen EIA)). Direkte påvisning av HCV RNA kan også være eneste markør på smitte blant pasienter med immundefekt og blant de som er satt på immunosuppressiv behandling (3,4,5). 50-80 % av de smittede blir kronisk bærere med viremi (6). Viruset kan ikke dyrkes og det er ingen test for påvisning av HCV antigen. Effekten av behandlingen kan følges med kvantitative analyser av fritt sirkulerende virus (7).

HCV er et lite (30-38nm) enkelt trådet RNA virus. Genomet er ca. 9400 nukleotider langt og koder for ca. 3000 aminosyrer. Ved 5' ende av genomet er det et konservativt område (homologi på 92% mellom de forskjellige HCV genotyper) på ca. 340 nukleotider (Figur 1,2). I de andre deler av virus genomet er det større variasjon. Amplifikasjon av viralt cDNA med revers transkripsjon-PCR (RT-PCR) teknikk av en del av virusgenomet fra 5'-"non coding region" er derfor egnet til påvisning av HCV (8). Mengde virus kan bestemmes med PCR fortynningsteknikk eller med de kommersielle testene AmpliCor HCV Monitor (Roche Diagnostic Systems), NASBA og "branced" DNA (bDNA) teknikk (Chiron Corporation).



Figur 1: Skjematisk presentasjon av HCV RNA genomet

HCV PCR

Sammenlignet med DNA er RNA mer ustabil og det degraderes lett enzymatisk av RNaser. Dette må man ta hensyn til ved behandling, lagring og preparering av prøvene. Rask prøvebehandling anbefales. Dersom prøvene skal lagres kan de tilsettes stabiliserende agens (EDTA inhiberer RNaser, DMSO stabiliserer virus ved frysing/tinging, men DMSO er en sterk PCR inhibitor).

Prøvemateriale, stabilitet og lagring. Etter prøvetaking og sentrifugering er det anbefalt at serum eller plasma kan oppbevares ved 2-8°C i opptil 6 timer. Prøvene bør bare frysetines én gang. Gjentatt frysetining kan føre til denaturering og presipitasjon av proteiner og redusert utbytte og renhet av rensed RNA. Det anbefales at prøvene fryses ved -70°C (9).

Noen anbefaler plasma, mens andre finner at plasma og serum er likeverdig for påvisning av HCV RNA (10). Fra forskjellige prøvematerialer fra to tilfeldige anti-HCV positive har vi sett på utbytte av HCV med bruk av Qiagen: QIAamp HCV kit for isolasjon av HCV RNA. HCV RNA titeret var det samme for serum og EDTA plasma, mens titeret var lavere med ACD plasma. Resultatene kan tyde på at utbytte av HCV RNA kan variere med materiale og hvilken metode som velges for isolering av HCV RNA.

A. Kvalitative tester: HCV RNA kan bla påvises med RT-PCR, Gap-LCR og NASBA teknikk. Det finnes både kommersielle og "in house" baserte teknikker. Det er viktig å velge prosedyrer som reduserer faren for kontaminering.

RT-PCR kan generelt deles inn i tre trinn:

*1. Isolering av RNA:* Arbeidet med isolering av RNA bør foregå raskt og ved lavest mulig temperatur for å hindre degradering av virus RNA bla med RNaser (bruk av RNase frie produkter, plast, DEPC-vann etc.). Dessuten øker utbyttet ved tilsetting av carrier RNA. Flere forskjellige metoder er beskrevet for å isolere RNA. Viralt RNA kan bla ekstraheres med bruk av sodium-dodesyl-sulfat eller proteinase K ved tilsetting av EDTA med påfølgende ekstraksjon med fenol-kloroform og presipitasjon med etanol. Fenol denaturerer proteiner, men ikke RNaser fullstendig. Det er derfor viktig at RNA isolatet tilsettes RNA-guard. Alternativt kan RNA ekstraksjon utføres med bruk av guanidin isothiocyant fenol-kloroform metoden (11). Guanidin isothiocyant virker lyserende på celler og virus og virusgenomet vil bli frigjort. Reagenset denaturer protein og er en sterk inhibitor for RNaser (TRIzol<sup>TM</sup>-reagens, Life technologies). Amplicor (Roche) metoden bruker guanidin isothiocyant som denatureringsreagens men trinnet med fenol-kloroform er sløffet. Viralt RNA kan også renses med bruk av selika (Qiagen: QIAamp HCV kit). Renset RNA med QIAamp HCV er vist å være fritt for nukleaser, andre kontaminanter og inhibitorer som hemmer amplifiseringen (12).

*2. RT-PCR* brukes for amplifikasjon av HCV cDNA og primere fra 5' non-coding terminal ende av genomet. Mens "in-house" testene vanligvis er "nested", med to sett primere, er Roche Amplicor HCV testen basert på ett sett primere (figur 2). Av den grunn vil den analytiske følsomheten for en optimal "in-house" HCV PCR test være noe bedre enn for Amplicor HCV (fire til ti ganger mer følsom (13)). Til tross for dette viser det seg at påvisningen av HCV RNA ved kronisk bærertilstand i et optimalt "in house" og med Amplicor HCV PCR testsystem nærmest gir samhørende resultater. Dette kan bla skyldes at det er få smittede med små mengder fritt sirkulerende virus. En termostabil DNA polymerase

fra *Thermus thermophilus* (rTth) som også har RT aktivitet brukes i Amplicor og anvendes nå i de fleste "in house" testene. For å hindre krysskontaminering med PCR produkter inngår AmpErase™ systemet i Amplicor HCV PCR.

			YS	IS	
1	5'-GCCAGCCCC	GATTGGGGGC	GACTCTCCAC	CATAGATCAC	TCCCCTGTGA
51	GGAAGTACTG	TCTTCACGCA	GAAAGCGTCT	AGCCATGGCG	TTAGTATGAG
101	TGTCGTGCAG	CCTCCAGGAC	CCCCCTCCC	GGGAGAGCCA	TAGTGGTCTG
151	CGGAACCGGT	GAGTACACCG	GAATTGCCAG	GACGACCGGG	TCCTTTCTTG
201	GATCAACCCG	CTCAATGCCT	GGAGATTTGG	GCGTGCCCCC	GCGAGACTGC
251	TAGCCGAGTA	GTGTTGGGTC	GCGAAAGGCC	TTGTGGTACT	GCCTGATAGG
301	GTGCTTGCGA	GTGCCCCGGG	AGGTCTCGTA	GACCGTGAC	C-3'
	IA		YA		

**Figur 2:** Nukleotid sekvensen for HCV 5'-non-codong region (341 nukleotider), sete for primere "in house" PCR (6) er angitt (Y, I) og i Amplicor HCV PCR ( ) er angitt.

3. *Deteksjon av PCR produkt:* PCR produkter detekteres vanligvis med ethidium bromide etter elektroforese i agarosegel og/eller med kolorimetriske metoder, som i Amplicor testen baseres på spesifikk hybridisering av PCR produktet til en fast fase og påfølgende EIA test.

Den analytiske følsomheten for en RT-PCR vil være avhengig av mange faktorer, bla beskaffenhet av prøvemateriale, isoleringsmetodikk for virus RNA, primer-design, en optimal RT-PCR, samt en sensitiv deteksjonsteknikk for PCR produktene. Tilstedeværelse av PCR "inhibitorer", kan føre til falske negative test resultater. Det er derfor viktig at man velger prosedyrer og internkontroller som gir et best mulig testresultat. Grunnet mangel på en "sann" internkontroll er det vanskelig å angi sensitiviteten av testen. Amplicor HCV monitor testen har en intern kontroll, et syntetisk RNA oligonukleotid (2000 kopier/ml), som amplifiseres med de samme HCV primere, men nukleotidsekvensen mellom primer setene er forskjellig fra villtype HCV.

Internasjonale ringtest-undersøkelser viser (14,15) at det er et sterkt behov for standardisering og kvalitetssikring av denne type undersøkelser. EUROHEP HCV-RNA 1995 referanse panelet (15) inneholdt 4 HCV-RNA positive plasma prøver (et svakt positivt), 6 HCV RNA negative plasma prøver, og to serier med fortyninger av prøver med HCV-RNA genotype 1 og 3. Åttiseks laboratorier deltok og ialt ble 136 testsett distribuert. Av disse ble 22 (16%) sett riktig besvart. I 39 (29%) av tilfellene ble den svakt positive prøven negativ og blant 75 (55%) sett var det falske positive og/eller falske negative resultater. Amplicor brukerne hadde færre falske positive enn de med egen produsert PCR. Sensitiviteten for påvisning av HCV genotype 1 var på omtrent 600 genom ekvivalenter/ml (geq/ml) for PCR testene og 7750 geq/ml for bDNA (Chiron). HCV genotype 3 synes å amplifiseres med lavere effektivitet i Amplicor enn i "in house" baserte tester. Dette kan bla skyldes at primere som brukes i Amplicor er designet for genotype 1 og er ikke fullstendig komplimentære med genotype 3.



*B. Kvantitative analyser:* Mengde fritt HCV i serum/plasma kan bestemmes ved bruk av fortynningsserier av isolert RNA med PCR hjemmesnekrede teknikker eller med de kommersielle testene Amplicor HCV monitor kit, NASBA og bDNA. I Amplicor er intra- og inter-assay variasjonen ( $S_D$ ) på omtrent 20 og 40%. Dette betyr at mengden HCV i denne testen bør oppgis i 10-fold titertrinn.

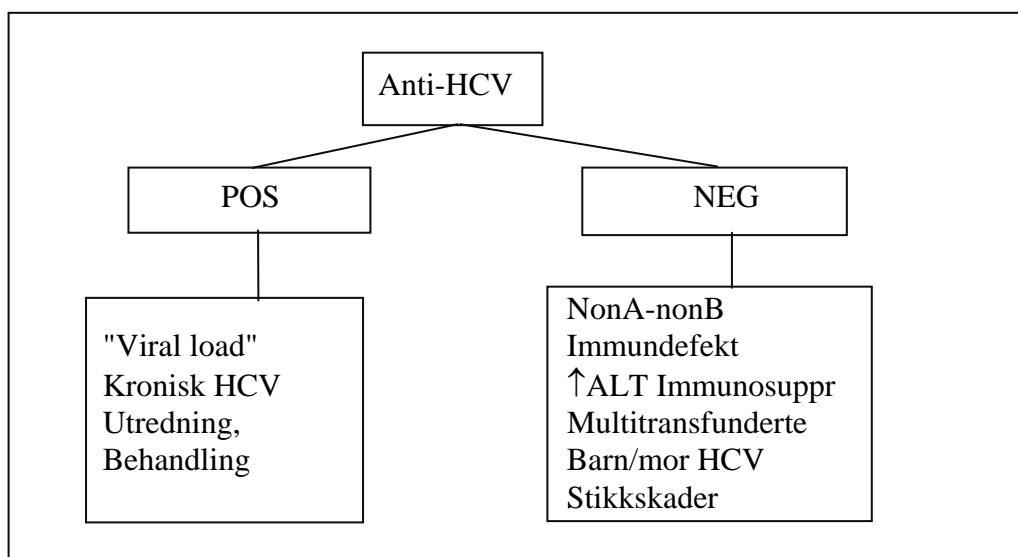
Det er viktig at de metodene som velges for å kvantitere mengde virus ikke influeres av HCV genotype. Amplicor resultatene varierer mhp genotype mens så er ikke tilfelle for bDNA teknikken. Kvantitative undersøkelser med isolert HCV RNA fra prøver med forskjellige genotyper viser samsvarende resultater med fortynningsserier med PCR teknikk og med bDNA teknikken, men ikke for Amplicor monitor testen. For at Amplicor monitor skal samnhøre med de andre testene må Amplicor resultatet gjennomsnittlig multipliseres med en faktor på 3 og 2 for genotype 2 og 3. Resultatene for Amplicor monitor for genotype 1,4,5 og 6 samsvarer med de andre testene (16,17). De kvantitative analyser krever gode standarder og interne kontroller.

## HCV RT PCR FOR BRUK I DIAGNOSTIKK AV HCV INFEKSJONER

I diagnostisk sammenheng kan HCV RT PCR bla brukes til: (1) Påvisning av viremi uavhengig av antistoff test resultat. (2) Skille en aktuell, persisterende infeksjon fra tidligere gjennomgått infeksjon (flere påfølgende prøver). (3) Skille HCV infeksjon fra infeksjon med andre hepatitt virus. (4) Monitorere pasienter som er under behandling.

HCV RNA kan påvises allerede 1-2 uker etter smitte og i inkubasjons-/serokonversjons-tiden, fra smitte til påvisbart antistoff (4 til 22 (mean 12) uker), kan påvisningen av HCV RNA være eneste markør på smitte. I forskjellige studier er det vist at 50-80 % av de smittede blir kronisk bærere. Blant friske bærere kan mengde fritt virus tidvis varie og ofte samnhører dette med fluktuasjonen i ALT verdien. Pasienter som det er aktuelt å undersøke på HCV RNA er vist i Figur 3.

Påvisning av HCV RNA vil også bidra i vurdering av spesifisiteten av anti-HCV testene (primærttest, tilleggstester). Flesteparten av stoffmisbrukere som er positive i anti-HCV primærttesten er RIBA positive, men 10% er enten negative eller har et usikkert resultat i RIBA (tabell 1). Anti-HCV positive stoffmisbrukere med et usikkert resultat i RIBA-3.0 (ett enkelt eller svake bånd) som enten viser reaksjon med c33c eller c22(p), kan enten være nysmittet, kroniske bærere (HCV PCR positive) eller ha gjennomgått HCV infeksjon (HCV PCR negativ) (tabell 2).



Figur 3. Forslag til pasienter som er aktuelt å teste på HCV RNA

Tabell 1: RIBA-3.0 resultater blant anti-HCV positive stoffmisbrukere (230 referanse prøver, Avd. for virologi, Folkehelse, 01.08-95 - 23.09.96)

RIBA-3.0		ANTALL		RIBA-3.0 <sup>a</sup> RESULTAT
ANTALL	BÅND	PRØVER	(%)	
4		116	(50)	POS
3		62	(27)	POS
2		28	(12)	POS
1		16	(7)	USIKKERT
+/-		3	(1,3)	NEG
-		5	(2)	NEG
Totalt		230		

a. Positiv RIBA  $\geq$  2 bånd

HCV PCR testen kan også bidra til å skille en aktuell, persisterende infeksjon fra tidligere infeksjon. Resultatene tyder på at dersom en er sterkt reaktiv i primært testen (Ortho anti-HCV 3rd gen) og RIBA testen er positiv eller usikker, med enten et bånd i c33c eller c22(p), kan dette tyde på nysmitte eller kronisk bærertilstand. På den annen side, dersom en er svakt reaktiv i primær testen, HCV PCR negativ og et bånd i RIBA, kan dette tyde på en gjennomgått HCV infeksjon (tabell 2).

RIBA3.0 testen samt påvisning av HCV RNA kan også brukes i vurdering av spesifisiteten av primært testen (18). Erfaringen er at dersom prøven er svakt reaktiv i primært testen, HCV PCR negativ og med bare c33c eller c22(p) bånd i RIBA 3.0, tyder dette på gjennomgått infeksjon. Prøver med de samme resultatene i primær- og PCR-testen og med c100(p) eller NS5 bånd i RIBA kan tyde på uspesifikk reaksjon i primært testen (figur 4). Det foreligger enkelte rapporter hvor bare et enkelt NS5 bånd i RIBA-3.0 kan påvises ved serokoversjon. Dette må man ta hensyn i vurderingen av resultatene.

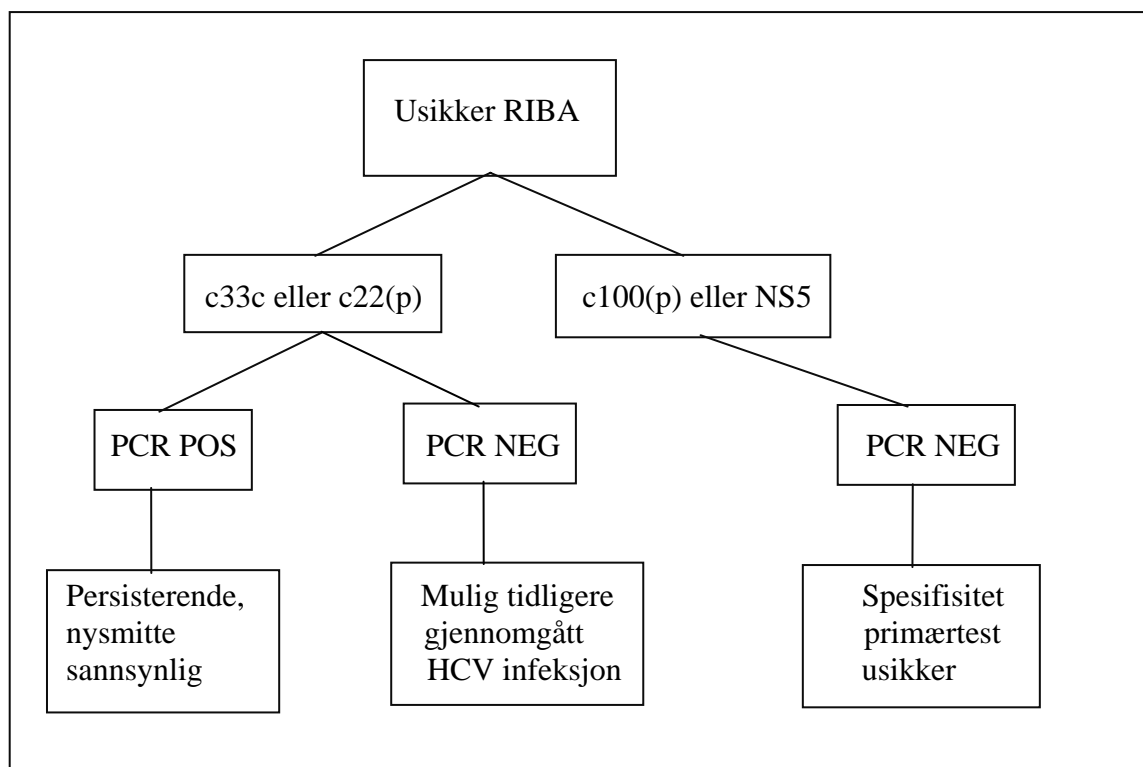
Tabell 2: Anti-HCV positive stoff misbrukere (18) undersøkt med RIBA og HCV PCR, Avdeling for virologi, Folkehelsa

Ortho anti--HCV <sup>a</sup> % CUTOFF	RIBA-3.0		HCV RT PCR	
	Usikkert	Positiv	Negativ	Positiv
100-480	2	2	4	
≥480	5 <sup>b</sup>	9 <sup>c</sup>	4	10
Totalt	7	11	8	10

a. Ortho 3.gen anti-HCV

b. 2/5 med usikker RIBA med c33c eller c22(p), HCV PCR positive

c. 8/9 med c33c og c22(p) bånd, HCV PCR positive



Figur 4: Forslag til svarrutine for prøver som er svakt positive i primærttesten og har et usikkert RIBA resultat og negativt/positivt HCV PCR resultat.

De samme krav stilles til en amplifikasjonstest som til de andre testene mht (1) sensitivitet, (2) spesifisitet, (3) reproduserbarhet, (4) nøyaktighet, (5) og klinisk følsomhet. I vurdering av resultatet må en se på validiteten av PCR testen. Et HCV RT PCR resultatet må vurderes mot klinikk og andre kliniske laboratorieparametere:

Et HCV RT PCR negativt resultat kan tyde på:

- Tidligere gjennomgått infeksjon
- Virus mengde under deteksjonsgrense
- Ikke påvisbart HCV i blod, men persisterende infeksjon i lever eller annet vev
- Kronisk HCV infeksjon, men mengden av fritt sirkulerende HCV kan varierer. Prøven kan være tatt i en periode med liten mengde fritt sirkulerende virus
- Falskt negativt resultat ved uriktig/feilaktig behandling av prøvemateriale
- HCV RNA ikke påvisbart med aktuelle primere
- Falskt negativt resultat, inhibitorer for RT PCR tilstede

Falske positive HCV RT PCR tester er rapportert (mulig kontaminering, Ny prøve anbefales).

Referanser:

1. Choo Q-L, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 244:359-62, 1989
2. Alter HJ. The hepatitis C virus in current perspective. *Ann Intern Med* 115:644-649, 1991
3. Skaug, K et al. Hepatitis C virus (HCV) RNA among anti-HCV-positive blood donors and their recipients *Vox Sang* 64: 215-9, 1993
4. Bjørø K et al. Hepatitis C infection in primary hypogammaglobulinemia following intravenous substitution with contaminated immune globulin. *N Eng J Med* 331: 1607-11, 1994
5. Pawlotsky, J-M et al. Significance of indeterminate third-generation hepatitis C virus recombinant immunoblot assay. *J Clin Microbiol* 34: 80-3, 1996
6. van der Poel C et al. Hepatitis C six years on. *Lancet* 344: 1475-79, 1994
7. Schrupf E et al. Behandling av hepatitt C. *Tidsskr Nor Lægeforen* 116: 1792-4, 1996
8. Garson JA et al. Improvement of HCV genome detection with "short" PCR products. *Lancet* 338: 1466-67, 1991
9. Paver K, Christophers J. The finer points of HCV diagnosis. *PHLS Microbiology digest* 12: 212-218, 1996
10. Miskovsky, EP et al. Clinical characterization of a competitive PCR assay for quantitative testing of hepatitis C virus. *J Clin Microbiol* 34:1975-9, 1996
11. Chomczynski P, Sacchi N. Single step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 162: 156-9, 1987
12. Lin HJ et al. Improved methods for quantification of HIV type I and HCV RNA in blood using spin column technology and chemoluminescent assay of PCR product. *J Med Virol*, In press
13. Nolte FS et al. Preclinical evaluation of Amplicor hepatitis C virus test for detection of hepatitis C virus RNA. *J Clin Microbiol* 33, 1775-8, 1995
14. Zaaijer HL et al. Reliability of polymerase chain reaction for detection of hepatitis C virus. *Lancet* 341: 722-723, 1993
15. Damen M et al. International collaborative study on the second EUROHEP HCV- RNA reference panel. *J Vir Methods* 58: 175-185, 1996
16. Toyoda H et al. Comparison of serum hepatitis C virus RNA concentration by branched DNA probe assay with competitive reverse transcription polymerase chain reaction as a

predictor of response to interferon- $\alpha$  therapy in chronic hepatitis C patients. *J Med Virol* 48: 354-9, 1996

17. Simmonds P et al. Quantitation of different genotypes of hepatitis C virus using competitive polymerase chain reaction, branched DNA and limiting dilution methods. In press

18. Jha J, Arankalle VA, Banerjee K. Hepatitis C virus RNA positivity among RIBA-3 indeterminates *Vox Sang* 69: 145-6, 1995

## **HCV - en biologisk faktor i risikogruppe 3. Inneslutningsnivå og andre tiltak i laboratoriet.**

**Ivar Ørstavik, Avdeling for virologi, Statens institutt for folkehelse.**

Med utgangspunkt i et EU-direktiv<sup>1</sup> med senere tillegg er HCV klassifisert som et agens i faregruppe 3. (Tilsvarende norsk offisiell klassifikasjon forventes.) Denne klassifikasjon er basert på graden av infeksjonsfare:

1. Ved et biologisk agens i gruppe 1 forstås et biologisk agens som sannsynligvis ikke forårsaker infeksjonssykdom hos mennesker.
2. Ved et biologisk agens i gruppe 2 forstås et biologisk agens som kan forårsake infeksjonssykdom hos mennesker og være til fare for de ansatte, det er liten risiko for spredning til samfunnet, det finnes vanligvis effektiv forebygging eller behandling.
3. Ved et biologisk agens i gruppe 3 forstås et biologisk agens som kan forårsake alvorlig infeksjonssykdom hos mennesker og utgjør en alvorlig fare for de ansatte, det kan være risiko for spredning til samfunnet, men det finnes vanligvis effektiv forebygging eller behandling.
4. Ved et biologisk agens i gruppe 4 forstås et biologisk agens, som forårsaker alvorlig infeksjonssykdom hos mennesker og utgjør en alvorlig fare for de ansatte, det kan være stor risiko for spredning til samfunnet, det finnes vanligvis ingen effektiv forebygging eller behandling.

I utgangspunktet skal agens i faregruppe 3 behandles i inneslutningsnivå 3, et inneslutningsnivå som setter ganske store krav til laboratoriet og det personell som er autorisert til å arbeide der. **HCV** er imidlertid klassifisert med asterisk \*, sammen med bl.a. **retrovirus, HBV, HDV, HEV og nonA-nonE hepatittvirus**, for å angi at agens vanligvis ikke smitter som luftbårne. Det synes å fremgå av tillegg til EU-direktivet at dette kan tillate at man lempet på kravene til inneslutningsnivå i noen tilfelle, selv om et tillegg nylig oppfordrer til revurdering av særtiltak<sup>2</sup>.

Det gjelder forøvrig at den enkelte virksomhet (avdeling) skal foreta en **selvstendig risikovurdering og ta utgangspunkt i den reelle risikosituasjon for de sikkerhetstiltak som velges.**

I medisinsk mikrobiologiske avdelinger vil det være naturlig å behandle prøver som kan inneholde HCV på samme måte som prøver som kan inneholde de øvrige virus nevnt over. I det følgende er dette lagt til grunn, og vurderinger/tiltak basert på behandling av blodprøver og andre vevsvæsker som kan inneholde virus.

Tilgjengelig statistikk gir ikke holdepunkter for at risiko for infeksjon med de aktuelle virus som følge av arbeidsuhell er stor i medisinsk mikrobiologiske laboratorier. Personer i flere laboratorier behandler imidlertid daglig prøver som inneholder disse virus. Risiko og tiltak må vurderes på grunnlag av kunnskap om (1)hvilke prøver som inneholder eller kan inneholde virus, (2)smittemåte og (3)aktuelle situasjoner for eksponering.

**Risikoprøver.** I teorien kan hvilken som helst blodprøve inneholde et av de virus det her er tale om. Andelen av prøver som inneholder eller kan mistenkes å inneholde de aktuelle virus vil variere fra avdeling til avdeling. Nedenfor er angitt en liste over "risikopasienter":

1. Intravenøs-stoffmisbrukere
2. Homoseksuelle og biseksuelle menn
3. Pasienter fra høyprevalensområder
4. Innsatte i fengsler
5. Dialysepasienter
6. Pasienter fra klinikker for seksuelt overførbare sykdommer
7. Pasienter hvor rekvirert retro- og/eller hepatittvirusundersøkelse og undersøkelsen utføres selv om klinisk status ikke er kjent. **Unntak: Screeningundersøkelse av blodgivere, gravide o.l.**

**Smittemåter** i laboratoriet.

- Perkutan inokulasjon (stikk med skarpe instrumenter, glasskår)
- Søl og/eller sprut på slimhinner (munn, konjunktiva) og rifter/sår.
- Luftbåren smitte meget lite sannsynlig, men arbeidsruteiner som forhindrer store dråper og sprut må følges.

**Smittesteder** i laboratoriet:

- Prøvemottak (utpakning)
- Forbehandling, omtapning, sentrifugering.
- Analysearbeidet

**Tiltak under behandling i laboratoriet av prøver som kan inneholde HIV, HTLV, HBV, HCV, HDV, HEV, non A-E hepatitt virus.** (I praksis vil det være naturlig å inkludere også prøver som kan inneholde HAV, selv om det er klassifisert i faregruppe 2).

Internasjonalt synes det akseptert å behandle serumprøver som kan inneholde disse virus i inneslutningsnivå 2 med særtiltak. Ved Avdeling for virologi har vi støttet oss på referansene nr. 3-5 nedenfor. Det er ikke utarbeidet noen nasjonal veileder for dette spesielle problemområdet. Dette er i høy grad aktuelt å få etablert, på bakgrunn av de nasjonale forskrifter om blant annet inneslutningsnivåer som er bebudet. **Det understrekes at en fremtidig nasjonal veileder kan avvike fra det følgende på enkelte punkter.**

Generelt gjelder at forebyggelse av laboratorieinfeksjoner må baseres på omhyggelig instruksjon og opplæring. De enkelte arbeidsprosedyrer må gjennomgås med tanke på risikosituasjoner for smitte.

Merking av risikoprøver ("gulmerking") kan være utgangspunkt for forskjellsbehandling. I tillegg til merking utført av rekvirenten, kan merking utføres i laboratoriets prøvemottak på grunnlag av opplysninger på remissen og angitt rekvirering. (Se over om risikopasienter.) For videre behandling i laboratoriet bør alle prøvebeholdere, også for eventuell lagring, være merket. Enkelte umerkede prøver vil kunne inneholde virus, men risiko for infeksjon anses så sterkt redusert at det ikke settes samme krav til prosedyrene som nevnt nedenfor.

Arbeidet må foregå på et tydelig merket område i laboratoriet som ligger for seg selv og ikke må passeres av andre. Det må sikres at den som arbeider ikke blir forstyrret eller kommer i

fysisk kontakt med andre under arbeidet. Arbeidsplassen må bare ha nødvendig utstyr, og utstyr og benkeflate må desinfiseres umiddelbart etter bruk.. Desinfeksjon bør også utføres av og til under arbeidet. Arbeidsplassen kan brukes til arbeid med andre agens, men da må reglene over gjennomføres.

Unngå stikk og skjæreskade ved å unnlate bruk av kanyler og glass overalt hvor dette er mulig. Glass erstattes med plast hvor mulig. Bruk alltid hansker og egen arbeidsfrakk (bak- eller sideknappet). I tillegg er det aktuelt med øye- og munnbeskyttelse og engangs plastforkle, avhengig av risiko for søl/sprut.

Unngå sprut og prosedyrer som gir aerosoldannelse. Prosedyrer som fremkaller store dråpemengder (f. eks. sonikering, kraftig blanding) bør foregå i et sikkerhetskabinett eller tilsvarende inneslutningsutstyr.

Sentrifugering bør foregå i lukkede beholdere (vindkjelerotor).

Analysemaskiner må vurderes med hensyn til sprut og aerosoldannelse. Det er aktuelt å bruke spesielle skjermer eller annen form for inneslutning av utstyret og etablere rutiner for desinfeksjon av området omkring maskinen. Avløpsvæsker fra analysemaskiner bør samles i beholder med desinfeksjonsmiddel eller infeksjonsmuligheten reduseres på annen måte.

For avdelinger som har et stort antall prøver som inneholder slike virus, anbefales et eget rom for manuelle tester og for forbehandling av prøvene.

Det understrekes at retningslinjene over baserer seg på behandling av serumprøver. Ved behandling av viruskonsentrater og dyrkning av virus skal vanligvis arbeidet foregå i inneslutningsnivå 3.

#### Litteratur:

1. Rådsdirektiv 90/679/EØF af 26. november 1990. Det Europæiske Fællesskabers Tidende 31.12.90.
2. Rådsdirektiv 95/30/EF af 30. juni 1995. Det Europæiske Fællesskabers Tidende.06.07.95
3. Health Services Advisory Committee. Safety in Health Service Laboratories. Safe working and the prevention of infection in clinical laboratories. HMSO, London 1990.
4. Advisory Committee on Dangerous Pathogens: HIV - the causative agent of AIDS and related conditions. 2nd revision of guidelines. HMSO, London 1990.
5. Digranes, A, Haukenes, G, Hovig, B, Iveland, H: Forebygging av infeksjoner i laboratorier for medisinsk mikrobiologi. Norsk forening for medisinsk mikrobiologi/Løvens kemiske Fabrik A/S, 1989.



# **Hepatitt C screening ved blodgivning, organ-transplantasjon og annen donasjon av humant vev.** Feil! Bokmerke er ikke definert.

**Bjørn Magne Eggen, Avdeling for spesialisthelsetjeneste, Statens helsetilsyn**

Vi har mest erfaring med blodgivning, og det er der vi har de klareste dataene for infeksjonsfrekvenser. I tillegg til blodgivning vil jeg ta opp spørsmål knyttet til organdonasjon, donasjon av benvev og sæddonasjon, samt se hvilke fordeler og hvilke muligheter vi har i Norge.

## **BLODGIVNING**

Den viktigste sikkerhetsfaktoren for infeksjonssikring av blodprodukter i Norge, er kvaliteten på blodgiverne. Våre seleksjonskriterier (1) slår fast at giverne skal være frivillige, ubetalte, og av nordisk opprinnelse og oppvekst. Blodgiverne er i tillegg svært stabile; gjennomsnittsgiveren er blodgiver i mer enn 10 år. Erfaringsmessig er blodgiverne i tillegg bevisst om å gi melding til blodbanken dersom de blir syke etter å ha gitt blod.

For ytterligere å sikre mottakerne mot infeksjoner, er plasmaproduktene (albumin, gammaglobulin og koagulasjonsfaktorene VIII og IX) gitt ytterligere beskyttelse mot lipidkappede virus gjennom virusinaktivering (solvent-detergent treatment). Fra 1993 virusinaktiveres i tillegg plasma (2).

En lang rekke infeksjoner kan overføres med blod (2), men meldinger om transfusjonsoverførte infeksjoner, inklusive hepatitter, er sjeldne i Norge.

Screening for hepatitt C virus ble innført i norske blodbanker i 1990. Standardprogrammet for undersøkelser av norske blodgivere (1,2) slår fast at alle blodgivere skal undersøkes for anti-HCV ved hver blodgivning. Det gjennomføres ingen surrogat-testing, dog blir nye blodgivere undersøkt for anti-HBV-core. Påvisningen av HCV har vært en viktig påminning om at vårt testreporoar må justeres i tråd med ny kunnskap (5, 6).

Målet er at blod skal være så sikkert som mulig. Absolutt sikkerhet er ikke mulig å oppnå, og vi må diskutere hvor mye ekstra vi er villig til å betale for litt økt sikkerhet (5,6). Forekomsten av HCV-infeksjon er lav blant norske blodgivere. I 1994 fant norske blodbanker, blant 195.000 donasjoner, totalt to tilfeller av serokonvertering (statistikk for blodbankene i Norge, Transfusjonsrådet, 1995). Dersom gj.snittelig vindusperiode er 2 mndr. og hver blodgiver tappes tre ganger pr. år, gir dette en kalkulert risiko for overføring av HCV med blod pga. at giver er i serokonverteringsfase på 0,0005%.

Vi har siden tidlig på 1970-tallet slått fast at personer som har gjennomgått "serumhepatitt", ikke kan være blodgivere. Dette ønsker vi å opprettholde som standardregel, hvilket innebærer at en person ekskluderes som blodgiver dersom det påvises anti-HCV. For å ha helt entydige og enkle rutiner, og for å være absolutt sikker på blod som kan være infeksjøs, blir kassert, forlanger vi at alle blodenheter kasseres fra givere som screener positivt. Kassasjon skal skje umiddelbart (1). Dette innebærer at falske positive resultater er en økonomisk belastning (kostnadene knyttet til tapping av én enhet blod er minst kr. 1.000,-). Givere som er repetetivt falskt positive blir ekskludert som blodgivere - "av tekniske årsaker", under henvisning til at analysemetodene ikke er gode nok. Denne regelen må opprettholdes, også overfor de givere som klart tester falskt positive - hvilket krever grundig informasjon til de aktuelle givere. Givere som har gjennomgått HCV-infeksjon bør henvises til infeksjonsmedisiner, evt. til gastroenterolog.

### **ORGANTRANSPLANTASJONER**

Det er veldokumentert at HCV kan overføres ved organtransplantasjoner, både ved bruk av friske organer og etter nedfrysing (7, 8). Samtidig er overføring av HCV ikke nødvendigvis ensbetydende med kronisk leversykdom, selv om pasienter med immunsuppresjon må antas å være ekstra utsatt også for klinisk HCV-infeksjon. Det er nødvendige med grundige overlegninger i en slik situasjon, også ut fra de etiske problemstillingene (9). En vil ha situasjoner der en finner å måtte bruke et hjerte eller et nyre fra en HCV-positiv donor, fordi smitterisikoen ved å bruke organet er mindre enn totalrisikoen for pasienten dersom transplantasjonen ikke gjennomføres.

Det er bare Rikshospitalet i Oslo som gjør allogene organtransplantasjoner (lever, byrer, hjerte, lunge), mens Det Norske Radiumhospital (Oslo) gjør allogene benmargatransplantasjoner. Transplantasjonskirurgisk Seksjon, Kirurgisk Avd. B, har i kriteriene for seleksjon av organdonorer ført opp behandlet bakteriemi/sepsis og **hepatitt C** som *relative kontraindikasjoner*, mens positiv HIV-test, sprøytenarkomani, ekstracerebral malignitet, hepatitt A og hepatitt B er *absolutte kontraindikasjoner* (10). Denne forskjellen i seleksjonskriterier har direkte sammenheng med hvor stor risikoen er ved de ulike infeksjonene, og med de kravene vevstypelikelighet ved allogen organtransplantasjon.

### **DONASJON AV BENVEV OG ANNET VEV**

Det finnes ikke nasjonale retningslinjer for testing av pasienter som under ortopediske inngrep får tatt ut benvevet som kan være aktuelt som implantat for andre pasienter senere. Etter at vi i Trondheim i 1990 dokumenterte overføring av HCV med frosset benvev (11), har en de fleste steder i landet innført krav om HCV-testing også av benvevdonorer. I et foreløpig utkast til «Nasjonale retningslinjer for håndtering og oppbevaring av benvev og annet humant vev» (12) fra mai 1996 foreslås det bl.a. anti-HCV-testing to ganger, ved donasjon og seks måneder senere siden inkubasjonstiden kan variere fra 4-22 uker. Dersom

en skal redusere kostnadene ved testing, må det evt. skje ved at en unnlater testing av giverne før benvev fryses ned i benbank.

Det er ikke grunn til vevstyping ved slik bruk av benvev. Heller ikke ved bruk av cornea eller hud fra avdøde er det behov for å ta hensyn til vevstypene - og kravene til viruscreening må derfor stilles absolutt.

### **SÆDDONASJON**

Det ovennevnte utkastet til retningslinjer (12) foreslår det samme anti-HCV-testprogrammet for donorer av sæd som for benvevsdonorer. En har ikke diskutert hvorvidt undersøkelse for HCV-genomet (dvs. PCR) kan være aktuell som en tilleggsundersøkelse av sædgivere. Slik undersøkelse kan muliggjøre sæddonasjon også fra ektemann/partner som har gjennomgått HCV - noe som vil være viktig for svært mange par. Det er i dag (iflg. muntlig informasjon fra miljøet) ingen formaliserte krav for testing av sæddonorer for HCV, men i hovedsak testes sæddonorer på frivillig basis for anti-HIV, HBsAg og anti-HCV. Det er i Danmark mulighet til å bruke som sæddonorer menn som er anti-HCV-positive og negative ved HCV-PCR (muntlig informasjon). Dette kan være aktuelt også i Norge, men da begrenset til de situasjonene der mannen i et parforhold har gjennomgått HCV-infeksjon. En negativ HCV-PCR vil trolig ikke være garanti for at HCV-smitte til kvinnen og barnet unngås, selv om sjansene er mindre enn ved positiv PCR.

### **I FORHOLD TIL ALLE ANDRE DONORSITUASJONER HAR BLODBANKENE EN REKKE FORDELER;**

- \*\* **Blodgiverne** er stabile, har klarlagt infeksjonsmønster med liten smitterisiko, og er ansvarsbevisste
- \*\* **smittesituasjonen generelt** i befolkningen er gunstig (både for bakterielle infeksjoner, parasitter og for virus). Hepatitt A er sjelden i Norge, f.eks. er trolig ingen norsk bløder smittet med HAV siden 1961 (9).
- \*\* **oversiktlige miljøer;** vi har i nærmiljøene i og omkring sykehusene god oversikt også over blodgiverne. De norske fagmiljøene er også oversiktlige.
- \*\* **blodbankene er integrert i sykehusene.** Dette gir godt bidrag til "GCP" (god klinisk praksis), og er svært viktig for god total kvalitet. En ensidig satsing på "GMP" (good manufacturing practices - god tilvirkingspraksis) kan føre til tap i kontakt med kliniske miljøer.
- \*\* **tett faglig kontakt** mellom infeksjonsmedisinere, mikrobiologer og transfusjonsmedisinere følger av vår blodbank- og sykehusstruktur.
- \*\* **respekt hos statlige myndigheter** (Statens helsetilsyn, Sosial- og helsedepartementet, Statens institutt for folkehelse). Disse tar fagmiljøene på alvor og søker aktiv medvirkning (jfr. Transfusjonsrådet). Erfaringsmessig har dette sikret en mer 'edruelig' beslutningspolitikk enn i enkelte naboland, dette gjør at vi har unngått unødige

hastevedtak, og fagmiljøene har tillit til å forholde seg til de statlige helsemyndighetene.

## **DET ER IMIDLERTID OGSÅ EN REKKE PROBLEMER I FORHOLD TIL HCV-SCREENING;**

- \*\* **vindusperioden** før positivitet ved anti-HCV-seroversjon.
- \*\* **uklare smittemåter**; det er mange (50%?) som har anti-HCV uten at noen smitterisiko eller -atferd er påvisbar.
- \*\* **falske negative** screeningresultater.
- \*\* **hvilken klinisk betydning har kombinasjonen anti-HCV og negativ HCV-PCR**; er personer med antistoff og uten påvisbare antigen smittefarlige? Bør disse utgå som eller fortsatt være blodgiver? (8).
- \*\* **tolking av analysesvar**; hvordan skal en forstå resultatene om det ikke påvises det 'klassiske reaksjonsmønsteret'.
- \*\* **hvilken informasjon (og hvordan)** skal vi gi til personer der vi påviser gjennomgått HCV-infeksjon?
- \*\* **falske positive** analyser er økonomisk belastende, spesielt i blodbankene.

## **BLODBANKENE HAR ØNSKER TIL HCV-SCREENINGEN;**

- \*\* **Bedre metoder / screeninganalyser**. Kan antistofftesten erstattes av antigen/genom-påvisning?
- \*\* **Bedre spesifisitet** i de analysemetodene som er til rådighet.
- \*\* **Adekvat validering** av analysemetoder og tester, også i forhold til donorer, inklusive blodgivere (som avviker fra vanlige populasjoner i normalmaterialet i mikrobiologi).
- \*\* **Hjelp til tolking av analysesvarene**, særlig om mønster som avviker fra det 'klassiske reaksjonsmønsteret'. Hvilke supplerende/ konfirmerende analyser må til? Skal PCR for HCV være standard metode for konfirmering av infeksjonsitet?

## **HENVISNINGER / LITTERATURREFERANSER**

- 1: Retningslinjer for transfusjonstjenesten i Norge; 2. utgave. Statens helsetilsyn 1994.
- 2: Eggen BM. Blodoverføringer og infeksjoner. Tidsskr Nor Lægeforening 1995; 115: 3035-9
- 3: Larsen J, Hetland G, Skaug K, Mæland A. Virushepatitt og blodtransfusjon. Tidsskr Nor Lægeforen 1991; 111: 825 - 828
- 4: Public Health Service inter-agency guidelines for screening donors of blood, plasma, organs, tissues, and semen for evidence of hepatitis B and hepatitis C. MMWR Morb Mortal Wkly Rep Apr 19 1991; 40 RR 4: 1 - 17
- 5: Hanson M. Blood donor screening. Factors influencing decision making. Arch Pathol Lab Med 1994; 118: 457-61
- 6: Schmidt PJ. Introducing new tests before transfusion. Who shall decide? Arch Pathol Lab Med 1994; 118: 454-6
- 7: Conrad EU; Gretch DR; Obermeyer KR; Moogk MS; Sayers M; Wilson JJ; Strong DM: Transmission of the hepatitis-C virus by tissue transplantation. J Bone Joint Surg Am. 1995 Feb; 77(2): 214-24

- 8: Candinas D; Joller-Jemelka HI; Schlumpf R; Wicki A; Mutimer DJ; Keusch G; Largiader F. Hepatitis C RNA prevalence in a Western European organ donor pool and virus transmission by organ transplantation.  
J Med Microbiol. 1994 Oct; 41(4): 220-3
- 9: Kiberd BA. Should hepatitis C-infected kidneys be transplanted in the United States?  
Transplantation. 1994 Apr 15; 57(7): 1068-72
- 10: Transplantasjonskirurgisk Seksjon, Rikshospitalet, Oslo «Hvem kan være organdonorer». Vedlegg 7, i rapport fra forprosjektet ‘‘bedre organtilgang til transplantasjoner’’, Statens helsetilsyn 26. juni 1995.
- 11: Eggen BM, Juel E, Nordbø SA. HCV-testing av blodgivere. MSIS-rapport nr 51 / 1990; og Eggen BM, Nordbø SA (letter). Transmission of HCV by organ transplantation. N Engl J Med 1992; 326 (6): 411.
- 12: Foreløpig utkast til nasjonale retningslinjer for håndtering og oppbevaring av benvev og annet humant vev, Statens helsetilsyn, mai 1996.  
Utkastet sendes nå (sept/okt 1996) på bred høring til de norske fagmiljøene.

# OPPFØLGING AV STIKKSKADER OG UHELL MED EKSPOSISJON FOR HEPATITT C VIRUS.

Feil! Bokmerke er ikke definert.

**Egil Lingaas, Avdeling for sykehushygiene, Rikshospitalet**

## Definisjon

Med aksidentell eksposisjon menes situasjoner der materiale som kan inneholde blodbårne smittestoff trenger gjennom intakt hud som følge av stikk/skjære-skade eller bitt, eller kommer i direkte kontakt med slimhinner, (øye, nese, munn/svelg) eller åpne sår. Vanligvis vil slike situasjoner oppstå i yrkessammenheng for helsepersonell og enkelte andre yrkesgrupper.

## Smitterisiko ved aksidentell eksposisjon

Epidemiologiske undersøkelser fra flere land viser at helsepersonell har omkring 3 ganger så høy prevalens av anti-HCV som gjennomsnittet i befolkningen. Fram til september 1995 var det publisert 6 undersøkelser av smitterisiko for helsearbeidere etter stikk/kuttskade med HCV-positivt blod. Infeksjonsraten varierer mellom 3% og 10% i disse undersøkelsene. Undersøkelsene omfatter tilsammen 231 helsearbeidere, og serokonversjon ble dokumentert hos 8 (3,5%). Ett tilfelle av smitte er også beskrevet etter blodsprut i øyet.

Det er grunn til å anta at smitterisikoen er relatert til den overførte blodmengde. Det innebærer i så fall at risikoen for smitte er økt ved dype stikkskader, når det er synlig blod på gjenstanden, når gjenstanden har vært brukt til en intravaskulær prosedyre (i motsetning til f.eks. en subkutan eller intramukulær injeksjon) og når skaden skjer med en hul nål med stor diameter (< ch 18). Risikoen er trolig redusert når stikket skjer gjennom en latexhanske og når det skjer med en suturnål.

## Organisering og ansvar

I følge forskrifter om smittevern i helseinstitusjoner - sykehusinfeksjoner skal alle helseinstitusjoner ha skriftlige retningslinjer for forebygging av yrkesbetinget smitte hos helsepersonell, herunder forebygging av blodsmitte. Institusjonene bør også ha et system for oppfølging av ansatte som er blitt eksponert for blodsmitte. Retningslinjene for slik oppfølging bør foreligge skriftlig og være lett tilgjengelige for alle ansatte. Informasjon om retningslinjene må også inngå i programmet for opplæring av nyansatte.

## Førstehjelp

Ved **stikkskade** med spontan blødning anbefales det å tilstrebe litt blødning, eventuelt ved forsiktig klemming omkring stikkstedet. Det anbefales ikke å provosere blødning etter overflatiske stikkskader uten spontan blødning. Vask deretter med vann og desinfiser området til slutt med ett av følgende desinfeksjonsmidler:

- klorheksidin spritopløsning 5 mg/ml
- klorheksidin vandig løsning 1 mg/ml
- jodsprit 2%
- jodoform 0,2 mg/ml

Hvis ingen av disse alternativene er tilgjengelige, kan man bruke vanlig desinfeksjonssprit (etanol 70%, isopropanol 60%).

Ved **blodsprut i øyne, munn, nese** skylles med rikelig vann.

Ved **blodsøl i sår** skylles med rikelig vann. Deretter desinfeksjon med vandig klorheksidin løsning 1 mg/ml eller jodoform 0,2 mg/ml.

### **Blodprøver**

Det må tas blodprøve av den som er blitt eksponert og hvis mulig også av den personen som blodet stammer fra (kildepersonen). Samtykke er nødvendig.

Kildepersonen undersøkes så snart som mulig på HBsAg, anti-HCV og anti-HIV. Dersom kildepersonen er HBsAg positiv, må serum fra den eksponerte snarest undersøkes på anti-HBs titer. Andre analyser er ikke nødvendige i første omgang, men serum må oppbevares for å kunne dokumentere serologisk status på tidspunktet for eksponering og en eventuell senere serokonversjon.

### **Vanlig gammaglobulin**

Vanlig gammaglobulin anbefales ikke til posteksposisjonell profylakse etter stikkskader. Moderne gammaglobulin inneholder minimale mengder av antistoffer mot HBV og HCV.

### **Spesifikk immunprofylakse**

Ved eksposisjon for HCV finnes det ingen spesifikke antistoffer som kan benyttes til posteksposisjonell profylakse slik som ved hepatitt B.

### **Kjemoprofylakse**

Posteksposisjonell antiviral kjemoprofylakse er ikke aktuelt for hepatitt C.

### **Videre oppfølging og kontroll**

Den videre oppfølging er avhengig av resultatene av de serologiske testene. Det er svært viktig at denne oppfølgingen skjer under kontroll av en kompetent lege. Dersom donor er negativ for anti-HCV, eller hvis donor er ukjent, er ingen flere tiltak nødvendige, bortsett fra en kontrollprøve 6 måneder etter skaden. Helsearbeidere som har blitt eksponert for blod som testes positivt for anti-HCV bør følges opp med flere blodprøver med tettere intervaller. Tidspunktet for første prøve vil være avhengig av hvilket system man har valgt for oppfølging av stikkskader på institusjonen. Hvis man foretrekker et standardisert oppfølgingsprogram som skal dekke alle aktuelle smittestoffer anbefales første prøve 6 uker etter skaden. Hvis man utelukkende skal undersøke på HCV kan en ta første prøve 3 uker etter skaden. Forøvrig anbefales det en ny prøve etter 6 måneder. Oppfølging utover 6 måneder anses ikke nødvendig. Det er i tillegg viktig at vedkommende får nødvendig støtte og hjelp for best mulig å kunne takle den psykiske belastning han/hun er utsatt for i denne tiden.

**Serologiske undersøkelser av person som har vært utsatt for mulig yrkesbetinget blodsmitte.**

<b>Feil! Bokmerke er ikke definert.</b>	0-pøve	3(6) uker	6 måneder
Prøver som tas av alle *	Anti-HBs, HBsAg ** Anti-HCV Anti-HIV ASAT/ALAT	Ingen	Anti-HBs, HBsAg ** Anti-HCV Anti-HIV ASAT/ALAT
Tilleggsprøver når kildepersonen er anti-HCV positiv		Anti-HCV HCV-PCR	Anti-HCV  HCV-PCR

\* Prøvene behøver ikke analyseres umiddelbart, med mindre kildepersonen er HBsAg positiv.

\*\* Det er ikke nødvendig å undersøke på HBsAg dersom anti-HBs er positiv.

### **Spesielle forholdsregler i oppfølgingsperioden**

Personer som er blitt utsatt for mulig smitte med HCV skal ikke gi blod i oppfølgingsperioden på 6 måneder.

Det er ingen restriksjoner på yrkesutøvelse i oppfølgingstiden.

Risikoen for seksuell smitte fra den eksponerte er liten. Undersøkelser av smiterisiko til seksualpartnere har imidlertid så langt bare vært publisert for kroniske bærere. Det er mulig at smitterisikoen ved akutt HCV hepatitt kan være større. Det må her tas individuelle hensyn i samråd med en kompetent lege, men generelt anses det ikke å være sterke indikasjoner for bruk av kondom.

### **HCV-SMITTE ETTER STIKKSKADER MED HCV-POSITIVT BLOD; REFERANSER**

**1. Kiyosawa et al. Ann Intern Med 1991;115:367**

107 stikkskader

3 (2,7%) fikk akutt hepatitt C

Ingen serokonverterte uten kliniske symptomer

**2. Lanphear et al. Infect Control Hosp Epidemiol 1994;15:745**

57 stikkskader



3 (6%) serokonverterte  
1 fikk hepatitt uten anti-HCV (2.gen)  
Totalt 4/57 (7%)

**3. Mitsui et al. Hepatology 1992;15:1109**

5/76 (7%) serokonverterte  
2/76 PCR positive uten anti-HCV  
Totalt 9/76 (9%)

Eksponering for HCV-RNA positive pasienter (68):  
10% infeksjonsrate

**4. Mitsui et al. Hepatology 1992;15: 1109**

Anti-cp 10 assosiert med infektivitet

**5. Petrosillo et al. Lancet 1994;344:339**

61 stikkskader  
29 slimhinneeksponeringer  
40 eksponeringer på defekt hud

Ingen serokonverteringer (gj.snittlig oppfølging 10 måneder)

**6. Sodeyama et al. Arch Intern Med 1993;153:1565**

Smittekilden positiv for anti-HCV-2:  
Transmisjonsrate: 0,86% - 1,2%

Smittekilden positiv for anti-c100-3:  
Transmisjonsrate 1,2% - 1,7%

**7. Hernandez et al. J Hepatol 1992;16:56**

Ingen serokonversjon hos 81 eksponerte ved oppfølging i 12 måneder (2. gen test)

**8. Sartori et al. Scand J Infect Dis 1993;25:270**

Smitte med hepatitt C ble dokumentert hos en sykepleier etter blodsprut i øyet i forbindelse med hemodialyse.

# MELDINGSPLIKT HEPATITT C

Hans Blystad, Seksjon for forebyggende infeksjonsmedisin, Folkehelsa

## Dagens meldingsrutiner:

Hepatitt non-A non-B har siden 1970-tallet vært nominativ meldingspliktig til MSIS. Årlig ble det meldt ca 10-15 tilfeller. Meldingssystemet var basert på akutt sykdom. Funn av anti-HCV positivitet ble nominativt meldingspliktig fra februar 1990 under Annen alvorlig infeksjonssykdom. Fra januar 1992 ble diagnostiske kriterier for melding av hepatitt C forandret ved at kun akutt hepatitt C definert som nylig serokonversjon eller akutt sykdom ble meldingspliktig. Disse kriteriene gjelder fortsatt. Antall tilfeller meldt til MSIS som har blitt vurdert som akutt hepatitt C er for 1992: 17, 1993: 27, 1994: 14, 1995 : 31, 1996 t.o.m uke 39/96:11

MSIS mottar ca 500 meldinger om mulig akutt hepatitt C infeksjon årlig. Disse meldingene gjennomgås med henblikk på kliniske opplysninger, alder på pasienten og andre opplysninger. Av de ca. 500 meldinger i 1995 ble 31 kategorisert som antatt akutt sykdom.

## Meldingsrutiner i andre nordiske land:

*Sverige* : Alle anti-HCV positive nominative meldingspliktig  
Meldte 1995 : 2 872  
Insidensrate 1995 : 32,5

*Danmark* : Kun klinisk hepatitt C nominativt meldingspliktig  
(Inkl. behandlingsindikasjon, leverbiopsifunn, kjent serokonvertering  
Meldte 1994 : 38

*Finland*: Laboratorierapportering ( Dobbeltmeldinger?)  
Meldte 1995 : 1406  
Insidensrate 1995 27,7

*Island* : Ikke meldingspliktig

## Nytt overslag over antall anti-HCV positive personer i Norge:

Basert på meldinger fra landets mikrobiologiske laboratorier til Avdeling for virologi, Folkehelsa er det i årene 1990-1.halvår 1996 rapportert totalt 22 025 positive anti-HCV prøver. Det er usikkert hvor mange av disse testene som er bekreftet ved RIBA. Man har ingen totaloversikt over hvor mange personer disse prøvene representerer, men en undersøkelse ved Regionsykehuset i Trondheim har vist at 912 positive bekreftede prøver i perioden 1991-95 utgjorde 780 personer. Folkehelsa har tidligere beregnet at , dersom dette er representativt for hele landet, det trolig pr 30.6.96 er til sammen ca 18.000 personer som har fått påvist hepatitt C antistoff i Norge. Dersom dette er riktig, vil det gi en insidensrate for 1995 på 50,9. Dette er en usannsynlig høy insidensrate sammenlignet med de andre

nordiske land. Det er derfor grunn til å tro at det reelle totale tallet på anti-HCV positive personer er 10.000 - 15.000.

### **Framtidige meldingsrutiner:**

Det er helt klart at dagens meldingssystem ikke fungerer bra nok. Det er vanskelig for allmennpraktikere, klinikere og mikrobiologiske laboratorier å avgjøre om et tilfelle med påvist anti-HCV positivitet representerer akutt sykdom. I tillegg forteller akutt sykdom svært lite om den reelle insidens da kun et mindretall av akutte infeksjoner gir symptomer. Folkehelse ønsker å forandre meldingskriterier for hepatitt C i løpet av første halvår 1997. Man ser i dag kun 2 alternativer; (1) Forskrifter endres slik at hepatitt C ikke lenger blir nominativ meldingspliktig og insidens og prevalens må derfor beregnes på grunnlag av frivillig rapportering fra landets mikrobiologiske laboratorier. (2) Alle tilfeller av lab. bekreftede anti-HCV positivitet blir meldingspliktig. MSIS systemet er vanligvis ikke basert på melding av kroniske tilstander, og det siste alternativet betyr at man må opprette et eget "register" over meldte positive. Innføring av generell meldingsplikt vil antagelig bety en øking i antall totale meldinger til MSIS på ca 20%.

Folkehelse vil ta stilling til en eventuell forandring i meldingsplikten tidlig i 1997.

# **VERTIKAL SMITTE AV HEPATITT C VIRUS**

**Helvi Holm Samdal, Avdeling for virologi, Statens institutt for folkehelse**

Hepatitt C virus (HCV) kan overføres vertikalt. Dette er dokumentert i flere studier (1,2). De fleste undersøkelser konkluderer med at risiko for vertikal smitte er lav, men noen studier oppgir frekvens på 30-39%. Metodologiske problemer kan ha hatt betydning for resultatene, kfr. Eurohep undersøkelsen 1995 (Se innlegg v/ K. Skaug). De forskjellige resultatene kan også delvis forklares ut fra at det er ulike populasjoner som er studert.

Risikofaktorer for vertikal smitte er symptomer, sykdomsstadium, coinfeksjoner og virusmengde hos mor. Høyrisiko: Barn født av HCV RNA positive (det påvises fritt sirkulerende virus) kvinner som også er HIV-positive sprøytemisbrukere, er smittet i opptil 39% (3). Videre ble vaginal fødsel korrelert med høyere smittefrekvens sammenliknet med keisersnitt i denne undersøkelsen. Andre studier kan ikke påvise høyere risiko for vertikal smitte av HCV infeksjon fra HIV-positive (4).

En undersøkelse av 11 HIV-negative, HCV RNA positive gravide fant overføring i 18% (5). Til sammenlikning var smitteoverføring fra HIV-negative HCV RNA positive asymptomatiske gravide bare 2,3 % i en annen undersøkelse (6) som fulgte opp 87 barn av 84 gravide. Resultater av titrering av HCV RNA viste tendens til at mødre med infiserte barn hadde høyere titre enn mødre med ikke infiserte barn. Samme studie fulgte også barn av HCV-positive gravide med klinisk hepatitt og konkluderte med at overføringsgraden var økt. Denne og andre undersøkelser (7) antyder at mengde fritt sirkulerende virus hos mor kan ha betydning for vertikal overføring.

Det foreligger få studier av sammenheng mellom virus genotype og vertikal overføring, og resultatene må sees i sammenheng med den epidemiologiske situasjon (8). Det er også utført arbeider hvor det diskuteres om smitte kan bero på forskjell i infeksivitet av viruspartiklene (6, 9).

Arbeider som har undersøkt korrelasjon mellom amming og overføring av HCV konkluderer med at risiko ved amming er minimal og at det ikke er holdepunkter for å fraråde amming (10,11,12).

**BARN AV HCV POSITIVE MØDRE, RESULTATER FRA FOLKEHELSEA**

Ved Avdeling for virologi, Folkehelse har vi fulgt 22 barn født av 22 kvinner med HCV infeksjon. Serum fra 21 av de gravide ble undersøkt for HCV RNA (PCR), 15 var HCV RNA positive og 6 var HCV RNA negative. De 15 HCV RNA positive seraene ble titrert.

Elleve barn av 11 HCV RNA positive mødre, 2 barn av 2 HCV RNA negative mødre og ett barn av mor med ukjent HCV RNA status er nå fulgt i  $\geq 12$  måneder med undersøkelser for HCV antistoffer (EIA) og HCV RNA (PCR), de fleste hver 3. måned.

To av barna til de HCV RNA positive kvinnene har markører på HCV smitte. Hos ett barn som nå er eldre enn 13 måneder, påvises både HCV antistoffer og HCV RNA. Hos et annet barn som nå er 18 måneder, ble HCV RNA påvist i tre ulike prøver opptil 6 måneder, senere prøver er HCV RNA negative, men HCV antistoff positive. Det er spørsmål om dette gjenspeiler fluktuerende virusreplikasjon, eller at barnet har kvittet seg med virus. Samme forløp er også rapportert av andre (5). Risikoen for overføring av smitte til barn av HCV RNA positive gravide i vår undersøkelse er ca. 18% (2/11), og dette samsvarer med andre undersøkelser (5).

De andre 12 barna er HCV RNA negative i alle prøver, og HCV antistoff negative i prøver tatt etter 14 måneders alder.

Åtte av de 22 barna er fulgt i mindre enn 12 måneder. Disse barna er HCV RNA negative i alle prøver.

I vår undersøkelse ble det ikke påvist smitte hos noen barn født av HCV RNA negative gravide. Dette er overensstemmende med andre studier (2,6).

Det er også rapportert at barn smittes når mor har høy mengde virus. For de to smittede barn i vår undersøkelse var så ikke tilfelle når virusmengden hos deres mødre ble sammenliknet med virusmengde hos de andre HCV RNA positive mødre.

Fra fire av barna er det sendt blodprøver fra navlesnor, som har gitt positivt resultat på PCR. I tre av tilfellene viser samtidig tatt serumprøve og/eller senere prøver av barna seg å være PCR negative. Dette viser at navlesnorblod er uegnet for å avgjøre om den nyfødte er smittet, da det er vanskelig å unngå kontaminasjon med mors blod. Dette er også kommentert i andre studier (5,10).

## **OPPFØLGING AV GRAVIDE MED HCV INFEKSJON**

Det foreligger ingen felles retningslinjer for oppfølging av HCV positive gravide og deres barn i Norge. Folkehelsas forslag til retningslinjer presenteres her, og begrunnes som følger:

*Gravide med positiv HCV antistofftest skal undersøkes med PCR*

PCR resultatet har betydning for informasjon og rådgiving om risiko for smitte til barnet. Våre og andre undersøkelser har vist at gravide som er HCV RNA negative ikke overfører smitte til barnet, mens det er risiko for smitte dersom mor er HCV RNA positiv (2-18%). I våre studier synes ikke risiko for smitte å påvirkes i særlig grad av virusmengde hos mor, og kvantitering av virus synes derfor ikke nødvendig.

*HCV positive/HIV negative kan amme sine barn. HCV positive/HIV positive frarådes amming.*

En studie har påvist HCV i morsmelk, men kunne ikke påvise smitte til barnet ved amming (11). Både denne og andre studier finner ikke indikasjon for å fraråde amming, unntak: HIV-coinfeksjon.

## **OPPFØLGING AV BARN FØDT AV HCV POSITIVE MØDRE**

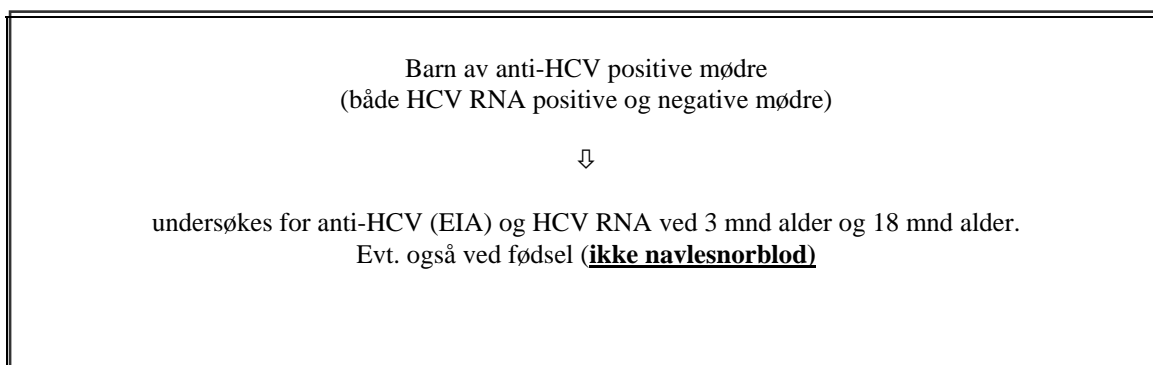
*Barn av HCV positive mødre skal undersøkes med anti-HCV EIA og HCV PCR.*

Ved fødsel er det ikke mulig å skille mellom barnets egenproduserte, og overførte antistoffer fra mor ved testing. De maternelle antistoffer blir borte i løpet av 9-15 måneder hos de enkelte barn, og ved 18 måneders alder er alle barn som ikke er smittet anti-HCV negative.

PCR undersøkelse kan bidra til å påvise smitte, men undersøkelse ved fødsel kan være negativ hvis smitte skjer på dette tidspunkt. Noen barn viser seg også å forbli anti-HCV positive, men HCV RNA negative, og bærertilstand må vurderes.

Konklusjon: Én prøve tatt av barnet ved 18 måneders alder er tilstrekkelig for å avgjøre om smitte har funnet sted. Atten måneder er imidlertid lenge å vente før endelig konklusjon, selv om en er informert om at risikoen er liten. Det foreslås derfor at det i tillegg til prøven ved 18 måneder også tas en prøve ved 3 måneders alder for å ivareta personer i risikomiljøer med behov for kontakt og informasjon. Eventuelt kan det tas prøve også ved fødsel, dette vil kunne gi data om tidspunkt for smitte. I denne forbindelse understrekes at navlesnorblod er uegnet!

Prøver fra barnet skal undersøkes både på HCV antistoffer (EIA) og HCV RNA (PCR).  
Oppfølgingen av barna er den samme uansett om mor er HCV RNA positiv eller negativ.



*Tolkning av resultater av laboratorieundersøkelser med henblikk på HCV infeksjon:*

Konklusjon	Anti-HCV	HCV RNA
Ikke smittet	Negativ	Negativ
Bærer	Positiv	Positiv
Smittet	Negativ	Positiv
Gjennomgått HCV? *	Positiv	Negativ

\* Kvittet seg med virus?

Det tilbys ingen behandling til HCV smittede barn i Norge i dag. I utlandet, blant annet i Italia (13), pågår det imidlertid flere studier på terapiopplegg for barn med HCV infeksjon. Oppfølging og kontakt med HCV infiserte barn i Norge sikrer at de kan nåes hvis det eventuelt kommer tilbud om behandling her.

## **OPPFØLGING AV BARN MED BEKREFTET HCV INFEKSJON**



I dag er det få barn med bekreftet HCV infeksjon i Norge, og liten erfaring med oppfølging. Som tidligere referert er det i flere studier påvist at barn kan kvitte seg med virus. Foreløpig er det usikkert hvor ofte dette skjer, og hvor lang tid det tar før barn som er bærere utvikler alvorlig leversykdom. Vi anbefaler derfor at disse barna følges opp og kontrolleres rutinemessig som andre som er HCV smittet (Se rettleiding: Veiledningshefte om hepatitt C infeksjon, utarbeidet av en ekspertgruppe ledet av Folkehelse).

### **Referanser.**

1. Thaler m et al. Vertical transmission of hepatitis C virus. *Lancet* (1991) 338: 17-18.
2. Ohto H, et al. Transmission of hepatitis C from mothers to infants *N Engl J Med* (1994) 330: 744-750.
3. Paccagnini S et al. Perinatal transmission and manifestation of hepatitis C virus infection in a high risk population. *Pediatr Infect Dis J* (1995) 14: 195-199.
4. Lam JP et al. Infrequent vertical transmission of hepatitis C virus. *J Infect Dis* (1993) 167: 572-576.
5. Ni Y-H et al. Temporal profile of hepatitis C virus antibody and genome in infants born to mothers infected with hepatitis C virus but without human immunodeficiency virus coinfection. *Hepatology* (1994) 20: 641-645.
6. Moriya T et al. Transmission of hepatitis C virus from mothers to infants: its frequency and risk factors revisited. *Biomed & Pharmacother* (1995) 49: 59-64.
7. Lin H-H et al. Possible role of high-titer maternal viremia in perinatal transmission of hepatitis C virus *J Infect Dis* (1994) 169: 638-641.
8. Zuccotti G V et al. Effect of hepatitis C genotype on mother -to-infant transmission of virus *J Pediatr* (1995) 127: 278-280.
9. Hijikata et al. Equilibrium centrifugation studies of hepatitis C virus, evidence for circulating immune complexes. *J Virol* (1993) 67: 1953.
10. Kurauchi O et al. Studies on transmission of hepatitis C virus from mother-to-child in the perinatal period. *Arch Gynecol Obstet* (1993) 253: 121-126.
11. Lin H-H et al. Absence of infection in breast -fed infants born to hepatitis C virus-infected mothers. *J Pediatr* (1995) 126: 589- 591.

12. Fischler B et al. Vertical transmission of hepatitis C virus infection. *Scand J infect Dis* (1996) 28: 353-356.
13. Iorio R et al. Lymphoblastoid interferon alfa treatment in chronic hepatitis C. *Arch Dis Child* (1996) 74: 152-156.