

## Statusartikel

Ugeskr Læger 2021;183:V05210420

# Diagnostik af hepatitis C

Henrik Krarup

Afdeling for Molekylær Diagnostik, Aalborg Universitetshospital

Ugeskr Læger 2021;183:V05210420

### HOVEDBUDSKABER

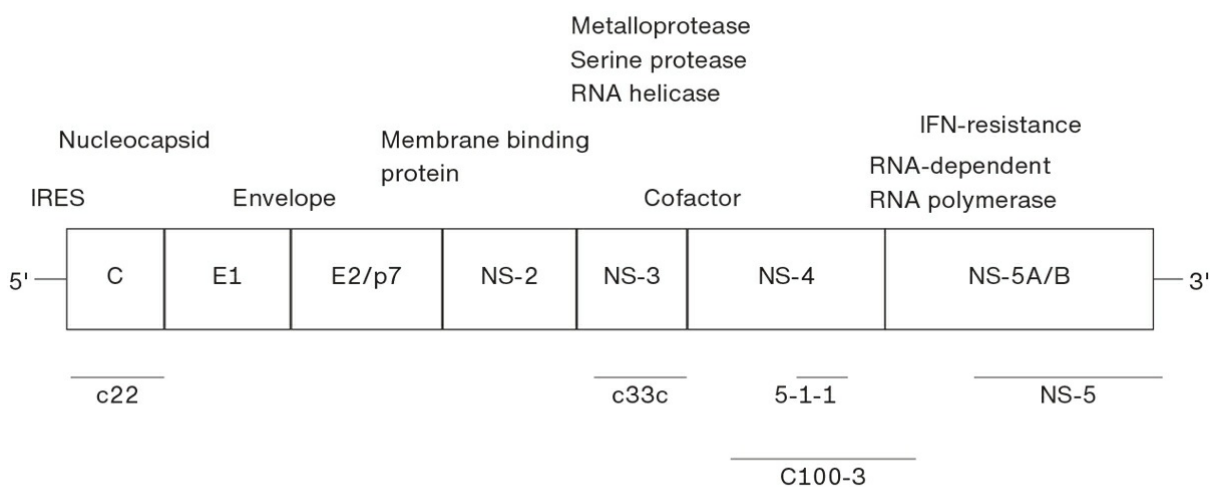
- Alle patienter, hvor man har mistanke om hepatitis C-virus (HCV) screenes for HCV-antistoffer (anti-HCV).
- Ved positiv anti-HCV-test bør HCV-polymerasekædereaktionstest udføres som reflekstest.
- Ved påvisning af HCV-RNA efter opnået virologisk respons må en ny infektion mistænkes.

I denne artikel gennemgås udviklingen i hepatitis C-virus (HCV)-diagnostik gennem 30 år, frem til hvor vi står i dag. En række analyser har været i brug for at vælge patienter til behandling eller behandling til patienter. HCV er også på dette punkt en god historie, og fra at have krævet omfattende og dyr diagnostik er den i dag forenklet til 2-3 analyser.

### PÅVISNING AF HEPATITIS C-VIRUS

Samtidig med publiceringen af en artikel om HCV i Science i april 1989 blev også en artikel om en screeningstest for antistoffer mod HCV (anti-HCV) med et enzymimmunoassay (EIA) publiceret [1, 2]. Denne test var baseret på en udvidelse af den første klon 5-1-1 i NS-4-regionen, c-100-3 (**Figur 1**). Allerede i december 1989 fik blodbankerne på Rigshospitalet og Aalborg Sygehus adgang til anti-HCV-testen. I 1991 kom 2.-generations-anti-HCV-testen, der omfattede epitoper i Core (c22)- og NS-3 (c33)-regionerne [3]. 2.-generationstesten var mere sensitiv og specifik end 1.-generationstesten og falsk positiv-raten faldt dramatisk. I 1993 introduceredes 3.-generations-anti-HCV-testen. Ud over de allerede kendte epitoper blev en epitop i NS-5-regionen introduceret. 3.-generationstesten tilførte meget begrænset nyt ud over måske en forkortet tid fra smitte til serokonversion fra ca. 12 uger til ca. ti uger [4]. Da antistofestene var udviklet til screening af bloddonationer og blodprodukter, blev der også udviklet et konfirmatorisk antistoftestsystem, recombinant immuno blot assay (RIBA). Den første RIBA-test var mindre følsom end screeningstesten og kom aldrig i anvendelse. 2.- og 3.-generationstestene medførte en mere specifik diagnostik af HCV-antistoffer, men sikker diagnostik hos patienter krævede direkte påvisning af HCV med polymerasekædereaktionens (PCR)-teknik, da man med antistofestene ikke kunne skelne igangværende fra tidligere infektion.

**FIGUR 1** Organisering af hepatitis C-virusgenomet.



C: Core, E: Envelope, NS: Non-structural, IRES: Internal ribosome entry site.

I 1990 blev de første kvalitative HCV-PCR-test præsenteret [5, 6]. Det stod tidligt klart, at valg af primere fra forskellige områder af genomet medførte forskellig sensitivitet af testen [7]. De første in house-HCV-PCR-metoder var præget af både falsk positive og falsk negative resultater [8, 9] og fandt kun meget begrænset anvendelse i rutinediagnostik. I 1991 var den første kvalitative, in house-HCV-PCR-test tilgængelig i Danmark. I to anti-HCV-positive kohorter, der blev screenet med henholdsvis 2.- og 3.-generations-EIA fandt man i begge 67% HCV-PCR-positive som udtryk for kronisk hepatitis C [4].

## HEPATITIS C-VIRUS-POLYMERASEKÆDEREAKTIONSTEST I RUTINEDIAGNOSTIK

I 1994 blev der publiceret præliminære data på en kommercielt tilgængelig, kvantitativ HCV-PCR-analyse [10]. Testen havde en ca. tifold lavere sensitivitet end de etablerede kvalitative test og vandt derfor aldrig indpas i rutinediagnostik. Samme år introduceredes i Danmark en kvantitativ in house-HCV-PCR-test, som var i anvendelse i mere end ti år, indtil realtidsbaserede PCR-analyser blev tilgængelige [11]. I dag har kommercielle kvantitative HCV-PCR-metoder en meget høj specificitet og sensitivitet, det sidste fordi der i dag oprenses fra betydeligt større prøvemængder, end det var muligt tidligere. Fravær af HCV-RNA i blodet efter endt behandling er fortsat den bedste markør for vedvarende virologisk respons (SVR).

## HEPATITIS C-VIRUS-CORE-ANTIGEN-TEST

HCV-core-antigen (HCV Ag)-test blev introduceret kort efter, at de første HCV-PCR-analyser var tilgængelige. I starten havde HCV Ag-testene en lavere sensitivitet end HCV-PCR-testene og vandt derfor ikke indpas i vestlige lande. Siden er HCV Ag-testene blevet mere sensitive og specifikke, og i lande, hvor HCV-PCR-test enten er meget dyr eller svært tilgængelig, er HCV Ag-test et godt alternativ [12]. I Danmark kunne HCV Ag-test være anvendelig i »fremskudte« testfaciliteter, men den har hidtil udelukkende været brugt i forskningssammenhænge.

Med anti-HCV-screening og rutine-HCV-PCR-test var sikker diagnostik etableret. Alle analyser, der er tilføjet det diagnostiske armamentarium herefter (Tabel 1), har været relateret til planlægning og monitorering af behandling.

**TABEL 1** Analyser anvendt i HCV-diagnostik fra 1989 til 2021.

Startårstal	Analyse
1989	Anti-HCV, 1. generation
1991	Anti-HCV, 2. generation HCV-RNA, kvalitativt
1993	Anti-HCV, 3. generation
1994	HCV-RNA, kvantitativt
1998	HCV-genotype
2008	Ribavirin, kvantitativt
2010	IL28B-genotype
2014	Q80K-bestemmelse
2015	Resistensbestemmelse: Sanger-sekventering/NGS
2018	Point of care test til anti-HCV
2019	Dried blood spot til anti-HCV- og HCV-RNA-bestemmelse

HCV = hepatitis C-virus; IL = interleukin; NGS = næstegeneration-sekventering.

## HEPATITIS C-VIRUS-GENOTYPER

Det var tidligt klart, at HCV fandtes som quasispecies og som en række forskellige genotyper med mange flere subtyper [13, 14]. Samtidig blev det klart, at behandlingsvarigheden kunne differentieres på baggrund af genotypen, ligesom resultatet af interferon (INF)-behandling var meget bedre hos patienter med genotype 3 end hos patienter genotype 1. Fra 1996 blev HCV-genotypning en del af forberedelsen af patienterne til behandling. I mange år undersøgte man udelukkende for genotype 1-4, men i de senere år har man også undersøgt for genotype 5 og 6. Fordelingen af genotyperne i Danmark er genotype (G) 1 46%, G2 8%, G3 43%, G4 3% og G6 < 1% [15].

## UDVÆLGELSE AF PATIENTER TIL BEHANDLING

På baggrund af den omfattende behandlingserfaring med IFN var det tydeligt, at patienter af asiatisk herkomst havde 2-3 gange højere SVR end patienter af europæisk eller afrikansk herkomst, og specielt patienter af afrikansk herkomst havde et meget ringe respons på IFN-behandling. Det viste sig på baggrund af store humangenetiske studier, at enkeltnukleotidpolymorfier i IL-28B-regionen var associeret med SVR. Særligt rs12979860 var stærkt associeret med SVR for genotype CC større end CT og meget større end TT, og fra 2010 og

frem til introduktionen af nye behandlinger af hepatitis C blev genotypning af IL-28B en del af rutinediagnostikken før behandling [15]. Dette sparede mange patienter for en lang, hård og udsigtsløs behandling og kan ses som begyndelsen på personlig medicin.

Med introduktionen af direkte virkende antivirale midler (DAAs) i 2011 kom der behov for undertypning af HCV-genotype 1 i a og b, da genotype 1a havde en behandlingsresistent variant, Q80K. Genotype 1a udgør 74% og 1b 26% af tilfældene i Danmark [15]. Q80K forekom hos 15% af patienterne med genotype 1a, så af økonomiske grunde blev det besluttet at screene for Q80K hos alle patienter med genotype 1a forud for behandling. Med den hastige udvikling i nye DAAs blev denne diagnostik dog hurtigt obsolet.

Hos de få procent af DAA-behandlede, som ikke opnår SVR, kan det være relevant at undersøge HCV-resistens. Dette kan gøres enten med Sanger-sekventering af NS3-, NS5A- og NS5B-regionerne (Figur 1) eller virusgenomsekventering med næste generation-sekventeringsteknik. I Danmark bruges in house-metoder til resistensbestemmelse og udelukkende efter behandlingssvigt.

## ALTERNATIV PRØVETAGNING

Efter at behandlingsstrategien for hepatitis C er ændret, så målet nu er at udrydde HCV, er der behov for nye måder at teste risikogrupper på, især personer med aktivt, intravenøst stofbrug. Der er derfor udviklet patientnære point of care-test (POCT), ligesom nye måder at indsamle prøvemateriale er taget i anvendelse, f.eks. dried blood spots (DBS).

POCT til undersøgelse af anti-HCV er tilgængelige og er både sensitive og specifikke, og som prøvemateriale kan anvendes fuldblod (fingerstik) og mundslimhindetranssudat [16]. Der er yderligere udviklet POCT-analyser til påvisning af HCV-RNA, også disse analyser har meget højere specificitet og sensitivitet end standard-HCV-PCR-test [17].

DBS er blevet et alternativ til venepunktur. DBS kan anvendes til anti-HCV-, kvalitativ HCV-RNA- og lejlighedsvis genotypebestemmelse. Sensitiviteten er generelt lavere end med standard-HCV-PCR-test på serum eller plasma [18, 19].

## HEPATITIS C-VIRUS-DIAGNOSTIK I DAG

Efter 30 år med udvikling af mere end en halv snes forskellige typer test til HCV-diagnostik er ringen ved at være sluttet. Med de meget effektive pangenotypiske DAAs er der principielt kun behov for screening for anti-HCV og HCV-RNA før behandling, suppleret med HCV-RNA-test tre måneder efter behandling med henblik på SVR. HCV-genotypebestemmelse er fortsat nødvendig, hvis man f.eks. pga. prisen vælger at anvende en genotypespecifik behandling. Man kan diskutere, om anti-HCV-screening er nødvendig, når målet er udryddelse af HCV, men prisen på HCV-PCR-test gør fortsat screening med anti-HCV omkostningseffektiv. Hos de få procent af patienterne, hvor behandlingen svigter, vil der være behov for yderligere diagnostik.

I fremtiden vil kun klinikernes nysgerrighed sætte grænser for enkeltheden i HCV-diagnostik.

**Korrespondance** Henrik Krarup. E-mail: h.krarup@dadlnet.dk

Antaget 1. juli 2021

Publiceret på [ugeskriftet.dk](http://ugeskriftet.dk) 15. november 2021

**Interessekonflikter** ingen. Forfatterens ICMJE-formular er tilgængelig sammen med artiklen på [ugeskriftet.dk](http://ugeskriftet.dk)

Referencer findes i artiklen publiceret på ugeskriftet.dk

Artikelreference Ugeskr Læger 2021;183:V05210420

## SUMMARY

### Diagnostics of hepatitis C

Henrik Krarup

Ugeskr Læger 2021;183:V05210420

This review summarises the evolution of hepatitis C virus diagnostics over the past 30 years up to the present. A number of analyses have been used to select patients for treatment or treatment for patients. In this aspect, HCV is a good story, since previously the diagnostics required extensive and expensive tests, but today two to three analyses are sufficient.

## REFERENCER

1. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989;244:359-62.
2. Kuo G, Choo QL, Alter HJ et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989;244:362-4.
3. van der Poel CL, Bresters D, Reesink HW et al. Early antihepatitis C virus response with second-generation C200/C22 ELISA. *Vox Sang* 1992;62:208-12.
4. Krarup HB, Jacobsen SE, Varming K et al. Performance of hepatitis C virus (HCV) antibody test systems in relation to HCV-RNA detection in the diagnosis of HCV infection. *Dan Med Bull* 1998;45:89-91.
5. Weiner AJ, Kuo G, Bradley DW et al. Detection of hepatitis C viral sequences in non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 1990;335:1-3.
6. Kato N, Yokosuka O, Omata M et al. Detection of hepatitis C virus ribonucleic acid in the serum by amplification with polymerase chain reaction. *J Clin Invest* 1990;86:1764-7.
7. Bukh J, Purcell RH, Miller RH. Importance of primer selection for the detection of hepatitis C virus RNA with the polymerase chain reaction assay. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:187-91.
8. Zaaijer HL, Cuypers HT, Reesink HW et al. Reliability of polymerase chain reaction for detection of hepatitis C virus. *Lancet* 1993;341:722-4.
9. Damen M, Cuypers HT, Zaaijer HL et al. International collaborative study on the second EUROHEP HCV-RNA reference panel. *J Virol Methods* 1996;58:175-85.
10. Zeuzem S, Rüster B, Roth WK. Clinical evaluation of a new polymerase chain reaction assay (Amplacor HCV) for detection of hepatitis C virus. *Z Gastroenterol* 1994;32:342-7.
11. Krarup HB, Drewes AM, Madsen PH. A quantitative HCV-PCR test for routine diagnostics. *Scand J Clin Lab Invest* 1998;58:415-22.
12. EASL recommendations on treatment of hepatitis C: Final update of the series. *J Hepatol* 2020;73:1170-218.
13. Bukh J, Purcell RH, Miller RH. At least 12 genotypes of hepatitis C virus predicted by sequence analysis of the putative E1 gene of isolates collected worldwide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:8234-8.
14. Simmonds P, Holmes EC, Cha TA et al. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. *J Gen Virol* 1993;74:2391-9.
15. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2017;2:161-76.
16. Tang W, Chen W, Amini A et al. Diagnostic accuracy of tests to detect Hepatitis C antibody: a meta-analysis and review of the literature. *BMC Infect Dis* 2017;17(suppl 1):695.
17. Saludes V, Antuori A, Lazarus JV et al. Evaluation of the Xpert HCV VL Fingerstick point-of-care assay and dried blood spot HCV-RNA testing as simplified diagnostic strategies among people who inject drugs in Catalonia, Spain. *Int J Drug Policy*

2020;80:102734.

18. Soulier A, Poiteau L, Rosa I et al. Dried blood spots: a tool to ensure broad access to hepatitis C screening, diagnosis, and treatment monitoring. *J Infect Dis* 2016;213:1087-95.
19. Mössner BK, Staugaard B, Jensen J et al. Dried blood spots, valid screening for viral hepatitis and human immunodeficiency virus in real-life. *World J Gastroenterol* 2016;22:7604-12.