

CAT

Critically Appraised Topic

Heeft immunoblot analyse een toegevoegde waarde naast EIA en PCR voor het opsporen van HCV antistoffen in serum voor de diagnostiek van een HCV infectie?

Author: Dr. Pieter Vermeersch
Supervisor: Prof. Katrien Lagrou
Search/methodology verified by:
Date: 27 march 2007
Expiry date: (2 more years) 26 march 2009

CLINICAL BOTTOM LINE

Gezien de lage prevalentie van HCV in een routine laboratorium (UZ Leuven 2,55% van de stalen in 2006) dient een HCV-positieve screening test te worden geconfirmeerd. De Centers for Disease Control (US) raden immunoblot of PCR met immunoblot in PCR-negatieve stalen aan als confirmatie-test. Het minimum testing algorithm Health Protection Agency (UK) stelt dat een tweede enzyme immunoassay (EIA) in combinatie met PCR een goed alternatief kan zijn voor immunoblot. Deze strategie werd echter nog niet gevalideerd in een groot aantal stalen. Uit een retrospectieve analyse van 17.936 stalen is gebleken dat de EIA Monolisa Plus versie 2.0 (BioRad) een goed alternatief is voor immunoblot voor de confirmatie van AxSYM-reactieve stalen (Abbott). De gecombineerde antigeen/antistof assay Monolisa HCV Ultra (BioRad) biedt geen toegevoegde waarde ten opzichte van Monolisa Plus versie 2.0 voor de confirmatie van AxSYM-positieve stalen in een routine laboratorium gezien de lagere specificiteit.

CLINICAL/DIAGNOSTIC SCENARIO

Hepatitis C (HCV) werd in 1988 geïdentificeerd als de belangrijkste oorzaak van transfusie-gemedieerde non-A non-B hepatitis (21). Hepatitis C is een belangrijke oorzaak van chronische hepatitis met naar schatting meer dan 170 miljoen patiënten wereldwijd en de belangrijkste indicatie voor levertransplantatie in de Westerse wereld. De meeste patiënten zijn besmet door intraveneus druggebruik of bloedtransfusie voor 1992. Een acute infectie met HCV evolueert in 70-85% van de gevallen tot chronische hepatitis C (figuur 1). In ongeveer 20% van de patiënten evolueert de chronische hepatitis verder tot cirrhose en terminaal leverlijden over een periode van 20 tot 40 jaar. HCV zal de komende 10 tot 20 jaar een belangrijk gezondheidsprobleem blijven met een belangrijke financiële impact (10, 14). De seroprevalentie in Vlaanderen wordt door het Belgisch Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid op basis van een seroprevalentie-studie uit 1993-1994 geschat op 0.87% (5). De seroprevalentie bij intra-veneuze druggebruikers daarentegen bedroeg in 2004 meer dan 50% bedroeg, terwijl dit slechts 3% was bij niet-intraveneuze druggebruikers (44).

Klinisch/diagnostisch dient een onderscheid te worden gemaakt tussen het opsporen van een HCV infectie bij patiënten en het screenen van bloeddonoren. Voor deze kritische testevaluatie hebben wij ons beperkt tot de diagnose van HCV bij patiënten in een routine klinische setting. Hierbij dient een optimale balans te worden gezocht tussen enerzijds een

goede negatieve en positieve predictieve waarde en anderzijds een aanvaardbare kostprijs. De clinicus is vooral geïnteresseerd in het opsporen van actieve HCV-infectie waarvoor een behandeling kan worden ingesteld. Actieve HCV-infectie wordt opgespoord met behulp van PCR. De viremie kan echter transient onder de detectielimiet terechtkomen bij een acute infectie alvorens een chronische HCV infectie ontstaat met stabiele detecteerbare hoeveelheden RNA (12, 13, 14). PCR-negatieve patiënten zijn niet besmettelijk (12). Bij het screenen van bloeddonoren daarentegen is de belangrijkste doelstelling om geen HCV-positieve donaties te missen. De klemtoon ligt hier dan ook op een zeer hoge sensitiviteit van de screeningstesten en het reduceren van de window-fase met behulp van PCR. Bloedtransfusiecentra zijn bovendien niet alleen geïnteresseerd in het opsporen van actieve HCV infectie, maar ook in het opsporen van een donoren die een HCV-infectie hebben doorgemaakt omdat dit kan wijzen op een risico-gedrag.

HCV serologie dient te worden afgenomen bij alle patiënten met hepatitis, icterus of gestoorde leverfunctietesten. Daarnaast wordt er door de meeste guidelines op basis van gekende, weliswaar meestal trage, evolutie van chronische HCV infectie naar cirrhose en terminaal leverlijden aanbevolen om ook te screenen in risicogroepen zoals intraveneuze druggebruikers, mensen die een bloedtransfusie kregen voor 1992 en hemofilie-patiënten die stollingsfactoren kregen voor 1987 (1, 4). Ondanks het feit dat er voldoende bewijzen zijn dat HCV-infectie ook kan worden opgespoord via screening (en confirmatie) in asymptomatische volwassenen die niet behoren tot deze risico-groepen, wordt dit afgeraden door de US Preventive Services Task Force aangezien er geen bewijs is dat dit zou leiden tot een verminderde morbiditeit en mortaliteit (6).

De richtlijnen van de Centers for Disease Control (CDC) uit 2003 voor het opsporen en rapporteren van HCV-antistoffen (7) stellen dat er minstens gebruik moet worden gemaakt van een screening test met een hoge sensitiviteit en, minstens voor stalen die zwak positief zijn (S/CO ratio <3.8), een meer specifieke aanvullende test (figuur 2). De CDC specificeert als aanvullende, meer specifieke testen immunoblot analyse of PCR met immunoblot in PCR-negatieve stalen. Een positief resultaat dient in principe niet te worden herhaald (7). De toegenomen specificiteit van deze confirmatie-testen gaat echter ten koste van de sensitiviteit met een belangrijk percentage onbesliste resultaten (12). Daarnaast betekent het systematisch confirmeren met immunoblot en/of PCR een belangrijke meerkost.

Gezien de hoge specificiteit ($\geq 99\%$) van derde generatie EIAs is de vraag gesteld of confirmatie met immunoblot klinisch nog een meerwaarde biedt (16). In risico-populaties met een hoge prevalentie (b.v. tot 80% bij IV drug gebruikers) kan men eventueel onmiddellijk PCR doen bij screening test-positieve patiënten om een actieve infectie uit te sluiten (27). In een populatie met een lage prevalentie zoals in een routine laboratorium is een test met een specificiteit van $>99\%$ echter mogelijk nog onvoldoende. In het UZ Leuven met een prevalentie van 2.7% voor de intramuros stalen was de positief predictieve waarde van een positief resultaat op AxSYM ($S/CO \geq 1$) maar 79.5% ondanks een specificiteit van 99.3% (onbesliste resultaten niet meegerekend).

Een tweede EIA biedt mogelijk beter alternatief dan immunoblot voor de confirmatie van AxSYM-positieve stalen, zowel qua kostprijs als wat het probleem van de immunoblot-onbesliste patiënten betreft (12). Het Britse Health Protection Agency heeft in 2005 een minimum testing algorithm gepubliceerd waarbij een tweede EIA wordt gebruikt als confirmatietest (figuur 3) (2). Daarnaast werd PCR geïntegreerd in het algoritme en wordt er rekening houden met twee klinisch wel-gekaracteriseerde oorzaken van vals-negatieve EIAs: recente blootstelling en immuungecompromitteerde patiënten. Er zijn echter geen studies die deze strategie hebben geëvalueerd in een routine klinisch laboratorium.

QUESTION(S)

- 1) Heeft immunoblot een toegevoegde waarde ten opzichte van een tweede enzyme immunoassay voor de confirmatie van screening test-reactieve stalen in een routine laboratorium?
- 2) Biedt de gecombineerde antigeen/antistof HCV EIA Monolisa Ultra een meerwaarde ten opzichte van de anti-HCV EIA Monolisa Plus?

SEARCH TERMS

- 1) *MeSH Database (PubMed): MeSH term: "Hepatitis C [meta-analysis]", "Hepatitis C [Review]", "Hepatitis C + laboratory test", "Monolisa HCV", "AxSYM HCV".*
- 2) *SUMSearch (<http://sumsearch.uthscsa.edu/>), Institute for Clinical Systems Improvement (<http://www.icsi.org>), The National Institute for Clinical Excellence (<http://www.nice.org.uk/>), Cochrane (<http://www.update-software.com/cochrane>): "Hepatitis C", "Hepatitis C diagnosis"*
- 3) *National Guideline Clearinghouse (<http://www.guideline.gov/>): "Hepatitis C", "Hepatitis C diagnosis"*

RELEVANT EVIDENCE/REFERENCES

- 1) *Guidelines and Recommendations (most recent topics on top)*
 - (1) Medical position statement on the management of hepatitis C. Issued January 2006 by: American Gastroenterological Association. *Gastroenterology*;130:225-230.
 - (2) Investigation of hepatitis C infection (VSOP 515) Issued Aug 10th 2005 by: Standards Unit, Evaluation and standards Laboratory, Centre for Infections (UK).
 - (3) United Kingdom national guideline on the management of the viral hepatitis A, B & C. Issued 2005 by: British Association for Sexual Health and HIV (BASHH)
 - (4) Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. Issued April 2004 by: American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2004 Apr;39(4):1147-71.
 - (5) Biological testing for HIV, hepatitis B and C infections. Issued June 6th 2004 by: Scientific Institute of Public Health, Unit of Epidemiology (Belgium).
 - (6) Screening for hepatitis C virus infection in adults: recommendation statement. Issued March 16th 2004 by: United States Preventive Services Task Force (Independent Expert Panel). *Ann Intern Med* 2004;140:462-4.
 - (7) Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Issued Feb 7th 200 by: Department of Health and Human Services, Centers for disease control and prevention (US). *MMWR Recomm Rep* 2003;52(RR-3):1-13.
 - (8) Diagnostisch Kompas: aantonen van antistoffen tegen HCV en vaststellen van de aanwezigheid van HCV-RNA. Issued 2003 by: College voor zorgverzekeringen (NL)
- 2) *Systematic Reviews and Meta-analyses*
 - (9) Technical review on the management of hepatitis C. Issued January 2006 by: American Gastroenterological Association. *Gastroenterology*;130:231-264.
- 3) *Reviews*
 - (10) Petel K., Muir A.J., McHutchison J.G. Diagnosis and treatment of chronic hepatitis C infection. *BMJ* 2006;332:1013-1017
 - (11) Seme K, Poljak M, Babic DZ, Mocilnik T, Vince A. Acute hepatitis C: diagnosis and management. *J Hepatol* 2005;42:S108-14

- (12) Irving W.L. The role of the virology laboratory in the management of hepatitis C virus infection. *J Clin Virol* 2002;25:3-13
- (13) Pawlotsky J. Use and interpretation of virological tests for hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S65-S73
- (14) Richter S.S. Laboratory assays for diagnosis and anagement of hepatitis C virus infection. *J Clin Microbiol* 2002;40:4407-12
- (15) Ferreira-Gonzalez A., Schiffman M.L. Use of diagnostic testing for managing hepatitis C virus infection. *Semin Liver Dis* 2004;24(S):2:9-18
- (15) Chevalier S., Pawlotsky J. Hepatitis c serologic and virologic tests and clinical diagnosis of HCV-related liver disease. *Int J Med Sci* 2006;3:35-40
- (16) Pawlotsky J. Diagnostic testing in hepatitis C virus infection: viral kinetics and genomics. *Semin Liver Dis* 2003;23(S):2:3-11

4) Original Articles

- (21) Choo Q.L., Kuo G., Weiner A.J., Overby L.R., Bradley D.W., Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from blood-borne non-A non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989;244:359-62
- (22) Zachary P., Ullmann M., Djeddi S., Meyer N., Wendling M., Schvoerer E., Stoll-Keller F., Gut J. Evaluation of three commercially available hepatitis C virus antibody detection assays under the conditions of a clinical virology laboratory. *J Clin Virol* 2005;34:207-10
- (23) Kiely P., Wilson D. Results of HCV screening of volunteer blood donors with chemiluminescent immunoassay and a second- or third generation EIA: overlap of false-positive reactivity and its impact on donor management. *Transfusion* 2000;40:580-4
- (24) Hennig H., Schlenke P., Kirchner H., Bauer I., Schulte-Kellinghaus B., Bludau H. Evaluation of newly developed microparticle enzyme immunoassays for the detexion of HCV antibodies. *J Virol Methods* 2000;40:181-90
- (25) Myrmel H., Navaratnam V., Asjo B. Detection of antibodies to hepatitis C virus: false-negative results in an automated chemiluminiscent microparticle immunoassay (ARCHITECT Anti-HCV) compared to microparticle enzyme immunoassay (AxSYM HCV Version 3.0) *J Clin Virol* 2005;34:211-5
- (26) Pawlotsky J., Bastie A., Pellet C., Remire J., Darthuy F., Wolfe L., Sayada C., Duval J., Dhumeaux D. Significance of indeterminate third-generation hepatitis C virus recombinant immunoblot assay. *J Clin Microbiol* 1996;34:80-3
- (27) Bossi V., Galli C. Quantitative signal of anti-HCV by an automated assay predicts viremia in a population at high prevalence of hepatitis C virus *J clin Virol* 2004;30:45-49
- (28) Colin C., Lanoir D., Touzet S., Meyaud-Kraemer I., Bailly F., Trepo C. and the HEPATIS group. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature. *J Viral Hepat* 2001;8:87-95
- (29) Seed C.R., Margaritis A.R., Bolton W.V., Kiely P., Parker S., Piscitelli L. Improved efficiency of national HIV, HCV, and HTLV antibody testing algoritms based on sequential screening immunoassays. *Transfusion* 2003;43:226-34
- (30) Allain J.P., Kitchen A., Aloysius S., Reeves I., Petrik J., Barbara J.A., Williamson L.M. Safety and efficacy of hepatitis C virus antibody screening of blood donors with two sequential screening immunoassays. *Transfusion* 1996;36:401-5
- (31) Polywka JS, Schröter M., Feucht H., Zöllner B., Laufs R. relevance of reactivity in commercially available hepatitis C virus antibody assays. *J Clin Microbiol* 2001;39:1665-8

- (32) Kiely P., Parker S., Piscitelli L. The significance of third-generation RIBA-indeterminate, RNA-negative results in voluntary blood donors screened with sequential third-generation immunoassays. *Transfusion* 2004;44:349-358
- (33) Fabrizi F., Poordad F., Martin P. Hepatitis C infection and the patient with end-stage renal disease. *Hepatology* 2002;36:3-10
- (34) Schneeberger P.M., Keur I., Van der vliet W., Van Hoek K., boswijk H., Van Loon A.M., Van dijk W.C., Kauffmann R.H., Quint W., Van Doorn L. Hepatitis C virus infections in dialysis centers in The Netherlands: a national survey by serological and molecular methods. *J Clin Microbiol* 1998;36:1711-5
- (35) Dalekos G.N., Boumba D.S., Katopodis K., Zervou E., Sferopoulos G., Elisaf M., Tsianos E.V., Siamopoulos K.C. Absence of HCV viremia in anti-HCV-negative haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:1804-6
- (36) Goubau P., Reynders M., Beuselinck K., Nevens P., Peerlinck K., Desmyter J., Confirmatory strategy of hepatitis C serology based on two screening assays in a diagnostic setting. *Acta Clinica Belgica* 1997;52:31-35

5) *Reference Works, Handbooks and Databases*

- (41) Hepatitis C assays: operational characteristics. Issued by WHO Blood safety and clinical technology. WHO/BTC/01.2 en WHO/BTC/01.5
- (42) Evaluation of Monalisa HCV Ag-Ab ULTRA. Issued by Health Protection Agency Microbiological Diagnostics Assessment Service (iDAS)(UK). PER06001
- (43) Evaluation of Murex HCV Ag/Ab assay. Issued by Health Protection Agency Microbiological Diagnostics Assessment Service (iDAS)(UK). PER06007

6) *Electronic data sources*

- (44) Plasschaert S, Ameye L, De Clercq T, et al. HBV-, HCV- en HIV-seroprevalentiëstudie in een steekproef van drugsgebruikers in behandelingscentra en gevangenen in België, 2004-2005. Report issued December 2005 by: Scientific Institute of Public Health, Unit of Epidemiology (Belgium).
- (45) ARUP Laboratories (University of Utah) The physician's guide to laboratory test selection and interpretation.
(http://www.arupconsult.com/Topics/Infectious_Disease/Viruses/HCV.html)

- www.UpToDate.com

- www.fda.gov

- www.cdrh.gov:

- list of recently approved devices by the CDRH

(<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cftopic/mda/mda-list.cfm?list=1>)

7) *Posters, "grey literature", presentations*

- (51) Administratieve verwerking positieve serologisch screening. Rode Kruis Vlaanderen Dienst voor het Bloed

Heeft immunoblot een toegevoegde waarde ten opzichte van een tweede enzyme immunoassay voor de confirmatie van HCV screening test positieve stalen in een routine laboratorium?**Bespreking en evaluatie van de bestaande guidelines*****CDC guidelines voor het opsporen en rapporteren van HCV-antistoffen***

De richtlijnen van de Centers for Disease Control (CDC) uit 2003 voor de diagnose van HCV (7) stellen dat er gebruik moet worden gemaakt van een screening test met een hoge sensitiviteit en, voor screening test positieve stalen, een meer specifieke aanvullende test. Gezien heel wat laboratoria positieve resultaten met de niet systematisch confirmeren, heeft de CDC een aanvullende aanbeveling toegevoegd waarbij een confirmatie enkel nodig is bij een $S/CO < 3.8$ gezien resultaten $S/CO \geq 3.8$ zeer waarschijnlijk echt positief zijn (figuur 2) (7). Een positief resultaat dient in principe niet te worden herhaald (7). De drie door de Food and Drug Administration (FDA) goedgekeurde screening assays voor bloeddonoren worden in het rapport vermeld: Abbott HCV EIA 2.0, ORTHO HCV version 3.0 ELISA en VITROS anti-HCV chemiluminescence assay. De laatste 2 assays gebruiken exact dezelfde antigenen. De CDC specificeert als aanvullende, meer specifieke testen ofwel immunoblot analyse, ofwel PCR met immunoblot in PCR-negatieve stalen. Deze aanbevelingen zijn overgenomen in tal van andere guidelines zoals in het rapport “biological testing for HIV, hepatitis B and C infections” van het Belgisch Wetenschappelijk instituut Volksgezondheid (figuur 4) (5) en het Diagnostisch Kompas (8).

De cut-off van $S/CO < 3.8$ werd gedefinieerd op basis van een retrospectieve analyse van de CDC van 24.012 stalen in een populatie met een globale prevalentie van 2% (figuur 5). De positief predictieve waarde voor screening test-positieve stalen ($S/CO \geq 1$) getest met Abbott HCV EIA 2.0 of ORTHO Version 3.0 ELISA was 71% ten opzichte van Chiron RIBA HCV 3.0 SIA, de enige FDA-goedgekeurde immunoblot test. Wanneer de stalen werden opgesplitst op basis van S/CO ratio, was de positieve predictieve waarde nauwelijks 5% voor stalen met een S/CO ratio van < 3.8 (met 16.9% immunoblot onbesliste stalen) en 99% voor stalen met een S/CO ratio van ≥ 3.8 (met 2.4% immunoblot onbesliste stalen). Op basis van deze resultaten stelt de CDC dat confirmatie met immunoblot en/of PCR nodig is in positieve stalen met een S/CO van < 3.8 .

Confirmatie met immunoblot en PCR

Immunoblot en PCR hebben beide een zeer hoge specificiteit en worden in studies als gouden standaard gebruikt. Er zijn echter drie belangrijke bedenkingen in verband met het gebruik van immunoblot en/of PCR voor confirmatie. Ten eerste geven beide testen verschillende informatie en kunnen zij elkaar niet vervangen vanuit klinisch oogpunt. PCR laat toe om patiënten met een actieve infectie te identificeren terwijl immunoblot toelaat om mensen te op te sporen die antistoffen hebben tegen HCV onafhankelijk van het feit of ze de infectie hebben overwonnen (28). Ten tweede zijn beide testen duur. Het systematisch uitvoeren van beide testen bij alle screening test-positieve stalen zoals gebeurd voor bloeddonaties betekent een belangrijke kost. Tenslotte laten beide testen regelmatig geen besluit toe. De toegenomen specificiteit gaat ten koste van de sensitiviteit (12). Ongeveer 5%-10% van de screening test positieve stalen onbeslist zijn met immunoblot (7.3% met Chiron RIBA HCV 3.0 SIA in de retrospectieve analyse van de CDC). Een onbeslist resultaat op immunoblot kan wijzen op een vals-positief resultaat, een recente infectie waarbij de

seroconversie nog bezig is, chronische HCV-infectie (zeker bij immuungecompromitteerde patiënten) of een doorgemaakte HCV (7, 26, 32).

Confirmatie met immunoblot heeft geleid tot de creatie van een nieuwe groep “immunoblot onbesliste/PCR negatieve” patiënten waarmee de clinicus en de viroloog niet goed weg kunnen. In 1 studie met AxSYM HCV 3.0 waren 66 van de 309 PCR-negatieve stalen onbeslist met RIBA (27). Het probleem is dat dit juist de stalen zijn waarvoor confirmatie met immunoblot een meerwaarde biedt. Hertesten van patiënten die immunoblot onbeslist/PCR negatief zijn op een ander tijdstip biedt vaak nog geen oplossing. Zo waren in een studie 60 van de 62 immunoblot onbesliste/PCR-negatieve bloeddonoren opnieuw immunoblot onbeslist/PCR-negatief bij een volgende staalname gemiddeld 4 weken later, terwijl 1 donor negatief was met immunoblot en PCR en 1 donor zwak positief was met immunoblot en negatief met PCR. (26). In een andere studie (met AxSYM HCV 3.0) waarbij werd gekeken naar andere beschikbare resultaten van 16 immunoblot onbesliste/PCR-negatieve patiënten zonder gekende HCV-infectie bleken 15 van de 16 patiënten herhaaldelijk immunoblot onbeslist/PCR-negatief over een periode van 4 maand tot 4 jaar, terwijl 1 patiënt ervoor en erna negatief was met immunoblot (31). Deze resultaten suggereren dat immunoblot onbesliste/PCR-negatieve stalen meestal niet wijzen op vroege seroconversie of chronische hepatitis in niet-immuungecompromitteerde personen, maar eerder op vals-positieve resultaten of voorbijgaande infectie aangezien antistof titers kunnen afnemen in de tijd (26). In beide studies (26, 31) had immunoblot geen meerwaarde voor de diagnose van patiënten met een actieve HCV infectie.

Alternatief: Minimum testing algorithm van het Health Protection Agency

Gezien de hoge specificiteit ($\geq 99\%$) van derde generatie EIAs biedt een tweede EIA mogelijk een beter alternatief voor de confirmatie van screeningstest positieve stalen in een routine laboratorium, zowel qua kostprijs als wat het probleem van de immunoblot-onbesliste patiënten betreft (12). Gezien het klinisch belang van het vaststellen van viremie (12) heeft het Britse Health Protection Agency (HPA) in 2005 een minimum testing algorithm gepubliceerd voor de diagnose van HCV infectie waarbij PCR werd geïntegreerd voor de diagnose van actieve infectie (figuur 3) (2). Dit in tegenstelling tot de CDC guidelines die gericht zijn op het bepalen van de anti-HCV antistof status. Daarnaast wordt ook rekening gehouden met de twee klinisch wel-gekaracteriseerde oorzaken van vals-negatieve EIAs: recente infectie en immuungecompromitteerde patiënten. Bij immuungecompromitteerde patiënten (o.a. orgaantransplantatie, levercirrhose) met een negatieve serologie dient aansluitend een PCR te gebeuren om HCV uit te sluiten en bij patiënten met een recente blootstelling (b.v. prikaccident) dient PCR te gebeuren en moet een opvolgstaal worden gevraagd. Negatieve resultaten met PCR zijn ook beschreven bij hemodialyse-patiënten (11, 12, 13, 16) en bij HCV-geassocieerde cryoglobulinemie (16), doch deze groepen worden niet vermeld in het HPA algoritme.

Het minimum testing algorithm specificeert dat de aanvullende test een even goede sensitiviteit en bij voorkeur een betere specificiteit moet hebben dan de screening test. De aanvullende test is bij voorkeur ook van een ander format en/of maakt gebruik van andere antigenen. Hierdoor kan het aantal screening-test positieve stalen waarop PCR dient te gebeuren worden gereduceerd. Het gebruik van verschillende antigenen die niet door een zelfde fabrikant zijn ontwikkeld is van belang om te vermijden dat beide testen dezelfde vals-positieve resultaten detecteren. De overlap van vals-positieven en vals-negatieven varieert in functie van de gekozen assays en dient dan ook concreet te worden geëvalueerd (23).

Deze richtlijn is echter een consensus tekst die de visie weergeeft van de meerderheid van de betrokken experts en er zijn geen studies die dit algoritme hebben geëvalueerd in een routine laboratorium op een groot aantal stalen. Deze strategie is wel geëvalueerd bij

bloeddonoren waarbij screening test positieve stalen werden getest met een tweede EIA. In twee studies waren geen enkele van de donoren die enkel met de eerste EIA reactief was RNA-positief (29, 30). Deze resultaten kunnen echter niet zomaar naar een routine laboratorium worden geëxtrapoleerd aangezien de specificiteit in gehospitaliseerde patiënten lager is dan in gezonde bloeddonoren (b.v. bijsluiter AxSYM HCV versie 3.0: 99.60% in patiënten vs. 99.84% in gezonde donoren).

Huidig algoritme UZ Leuven

In het UZ Leuven wordt de AxSYM HCV 3.0 (Abbott) als screening test gebruikt (figuur 6). Uit de literatuur blijkt dat de AxSYM HCV zeer gevoelig is (24, 27, 41), maar dat de positief predictieve waarde niet zo goed is, vooral bij lage S/CO ratios (27, 31).

Twijfelachtige (≥ 0.8 - < 1.0) en positieve stalen (≥ 1.0) worden vervolgens getest met Monolisa Plus anti-HCV 2.0 (HCV Plus, BioRad), een tweede EIA. Uit vergelijkend onderzoek is gebleken dat de HCV Plus zeker een even hoge specificiteit heeft als de AxSYM HCV in een routine klinisch laboratorium (22). De test is dan ook interessant als confirmatietest (22) en wordt in die hoedanigheid gebruikt bij Het Rode Kruis Vlaanderen Dienst voor het Bloed (41). In een vergelijkende studie bleek de window fase ten opzichte van PCR bij seroconversie-panelen gemiddeld 3 dagen langer dan met de twee gevoeligste assays AxSYM HCV en Vitros ECI anti-HCV (23 vs. 20 dagen) (42). Voor de klinische diagnose van HCV lijkt dit verschil echter niet doorslaggevend aangezien na acute blootstelling ook PCR moet worden gedaan. Beide assays gebruiken antigenen van verschillende producenten. De antigenen van AxSYM HCV zijn van Chiron, terwijl de antigenen van Monolisa van het Instituut Pasteur zijn.

Indien AxSYM HCV positief is en HCV Plus sterk positief is ($S/CO > 3$), wordt het resultaat als positief beschouwd. Dit is gebaseerd op een studie die in 1997 door P. Goubau et al. werd uitgevoerd in het UZ Leuven waarin werd vastgesteld dat de positief predictieve waarde in stalen die sterk positief zijn met de screening test en een tweede EIA 98% was (36). Anders wordt gebruik gemaakt van de INNO-LIA immunoblot (Innogenetics) voor de confirmatie. De INNO-LIA immunoblot is een derde-generatie immunoblot zoals de Chiron RIBA HCV 3.0 SIA.

Voorstel voor een nieuw algoritme met confirmatie door middel van een tweede enzyme immunoassay

Er zijn twee belangrijke bedenkingen met betrekking tot het huidige algoritme in het UZ Leuven. Enerzijds wordt de meerwaarde van confirmatie met immunoblot in twijfel getrokken en anderzijds wordt in het huidige algoritme geen rekening gehouden met de klinische achtergrond van de patiënt. Een algoritme dat gebaseerd is op het Minimum testing Algorithm van het HPA biedt mogelijk een beter alternatief, maar er zijn geen studies die een dergelijke strategie hebben geëvalueerd in een routine laboratorium.

Wij hebben daarom retrospectief de resultaten geëvalueerd van een strategie waarbij AxSYM wordt gebruikt als screening test en AxSYM-reactieve stalen worden geconfirmeerd met HCV Plus en vervolgens gekeken in welke soort patiënten HCV serologie vals-negatief kan zijn.

Evaluatie van confirmatie met HCV Plus

Methodologie

1) Stalen

De resultaten van een strategie met confirmatie van AxSYM-reactieve stalen met HCV Plus werd geëvalueerd in 17.936 intramuros-stalen van 2005 en 2006. Er werd 1 patiënt

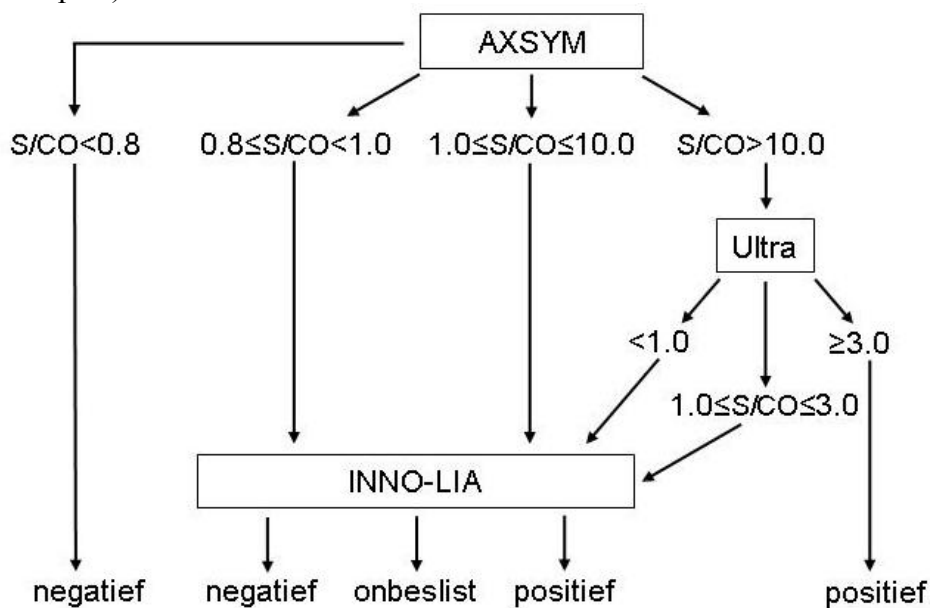
geëxcludeerd die blot niet interpreteerbaar was na wisseltransfusie. De intramuros aanvragers zijn weergegeven in tabel 1.

Tevens werd voor de 619 stalen waarvoor parallele resultaten van serologie en PCR uit de routine beschikbaar zijn gekeken welke PCR-positieve patiënten met de oude en de nieuwe strategie zijn gemist.

2) Gouden standaard

De huidige strategie wordt als gouden standaard gebruikt met specifiek voor deze evaluatie tevens confirmatie met immunoblot in stalen die HCV Plus 2.0 S/CO>3.0 zijn, maar AxSYM $1.0 \leq S/CO \leq 10.0$. De positief predictieve waarde van AxSYM $S/CO > 10.0$ in een routine klinisch staal is meer dan 98% (27).

- AxSYM-negatieve stalen ($S/CO < 0.8$) worden als echt negatief (TN) beschouwd voor de berekening van de specificiteit
- Stalen die AxSYM $S/CO > 10.0$ en Monolisa Plus $S/CO > 3.0$ zijn worden als echt positief (TP) beschouwd
- In andere stalen wordt het resultaat van immunoblot gebruikt. Immunoblot-onbesliste stalen worden niet in rekening gebracht voor het bepalen van de test performantie. Van al deze stalen werd wel een PCR uitgevoerd indien er genoeg staal was om te kijken dat er geen patiënten met een actieve infectie werden gemist (cfr. negatieve klinische impact).



4) Afkortingen

TP= echt positief

TN: echt negatief

FP: vals positief

FN: vals negatief

NA: niet van toepassing

4) Klinische impact

- Er werd gekeken of confirmatie met HCV Plus een potentieel negatieve klinische impact heeft.
- Potentieel negatieve klinische impact:
 - immunoblot-positief staal klasseren als negatief

- immunoblot-negatief staal klasseren als positief indien de patiënt nooit HCV-positief is geweest en het staal PCR negatief is
- immunoblot onbeslist/PCR positief staal klasseren als negatief

Evaluatie

1) Resultaten in de 637 AxSYM positieve stalen ($S/CO \geq 1.0$)

	Immunoblot Negatief	Immunoblot Positief	Immunoblot Onbeslist	AxSYM>10.0 HCV Plus>3.0
HCV Plus <1.0	119	5*	27	NA
HCV Plus ≥ 1.0	2 [#]	54	8	422

Er is 1 staal van een patiënt die gekend AxSYM+, HCV Plus+, PCR- en blot- is (FP) en 1 staal van een patiënt die als bloeddonor werd gediagnosticeerd als vermoedelijk HCV+ rond 1990 (dus eigenlijk niet vals+)

* 1 HIV+ patiënt, 1 ITE-patiënt die 2 dagen later overleed, en 3 patiënten die HCV doormaakten en al meer dan 7 jaar PCR-negatief zijn.

HCV Plus negatief/immunoblot-onbesliste stalen

Deze 27 stalen waren PCR negatief. Er waren 8 stalen van patiënten die gekend zijn als immunoblot onbeslist/PCR negatief, 3 stalen van een levertransplant patiënt die PCR+ tot in 2003 en na transplantatie in 2003 immunoblot-onbeslist is geworden, 4 stalen van patiënten die HCV hebben doorgemaakt en al minstens 7 jaar PCR-negatief waren en 1 staal van een patiënt die 7 maand later negatief was met immunoblot en PCR. De andere 11 stalen waren van patiënten die niet gekend waren.

HCV Plus positief/immunoblot-onbesliste stalen

De 8 stalen waren PCR negatief. Er waren 3 stalen van transplantpatiënten die gekend zijn als HCV-positief (1 staal van een levertransplant en 2 van een lever- en niertransplant) en 5 stalen van patiënten waarvan geen andere gegevens beschikbaar zijn.

2) Resultaten in 102 AxSYM borderline stalen ($0.8 \leq S/CO < 1.0$)

	Immunoblot Negatief	Immunoblot Positief	Immunoblot Onbeslist	AxSYM>10.0 HCV Plus>3.0
HCV Plus <1.0	89	5*	6	NA
HCV Plus ≥ 1.0	0	2**	0	NA

* 1 staal van een HIV+ patiënt, 2 stalen van een patiënt die een lever- en niertransplantie kreeg (al PCR+ sedert 1998), 1 staal van een patiënt die 10 dagen voordien inductietherapie kreeg voor een beenmergtransplantatie, en 1 staal van een patiënt waarvan de blot vermoedelijk vals positief is volgens de hepatoloog

** 1 staal van een patiënt die EIA+/PCR- is sedert 2001 (en nu AxSYM negatief geworden is) en 1 staal van een 1 patiënt waarvan geen andere stalen beschikbaar zijn (opname voor heupprothese).

HCVPlus negatief/immunoblot-onbesliste stalen

Er waren 6 immunoblot-onbesliste stalen die negatief zijn met de nieuwe strategie. Al deze stalen waren negatief met PCR. Er waren 2 stalen van patiënten die gekend zijn als blot

ind/PCR-, 3 stalen van patiënten die gekend HCV negatief zijn (nu vermoedelijk vals reactief) en 1 staal van een patiënt die niet gekend is.

3) Analytische en klinische performantie

AxSYM S/CO \geq 1.0=positief

TP: 481 TN: 17.286

FP: 121 FN: 7

Blot ind: 41

Sensitiviteit TP/(TP+FN): 98.57% (481/488)

Specificiteit TN/(TN+FP): 99.30% (17.286/17.407)

Negatief predictieve waarde TN/(TN+FN): 99.96% (17.286/17.293)

Positief predictieve waarde TP/(TP+FP): 79.90% (481/602)

AxSYM S/CO \geq 1.0 met confirmatie met HCV Plus

TP: 476 TN: 17.405

FP: 2 FN: 12

Blot ind: 41

Sensitiviteit TP/(TP+FN): 97.54% (476/488)

Specificiteit TN/(TN+FP): 99.99% (17.405/17.407)

Negatief predictieve waarde TN/(TN+FN): 99.93% (17.405/17.417)

Positief predictieve waarde TP/(TP+FP): 99.58% (476/478)

AxSYM S/CO \geq 0.8 met confirmatie met HCV Plus

TP: 478 TN: 17.405

FP: 2 FN: 10

Blot ind: 41

Sensitiviteit TP/(TP+FN): 97.95% (478/488)

Specificiteit TN/(TN+FP): 99.99% (17.405/17.407)

Negatief predictieve waarde TN/(TN+FN): 99.94% (17.405/17.415)

Positief predictieve waarde TP/(TP+FP): 99.58% (478/480)

4) klinische impact

De specificiteit en de negatief predictieve waarde van de combinatie van AxSYM en HCV Plus voor confirmatie zijn uitstekend. Er waren slechts 2 vals positieve resultaten ten opzichte van de gouden standaard (waarvan 1 patiënt gekend was als HCV positief) en van de 8 immunoblot-onbesliste stalen die HCV Plus positief waren, waren de patiënten waarvan andere resultaten beschikbaar waren gekend HCV-positief.

Er waren daarentegen 10 vals-negatieve resultaten met deze strategie. Indien we echter kijken naar de patiënten waarbij er vals negatieve resultaten waren, zien we dat 5 van de 10 vals-negatieve stalen afkomstig zijn van HIV+ patiënten en transplant-patiënten. Bij deze patiënten dient echter PCR te gebeuren aangezien zij ook negatief kunnen zijn met immunoblot. Indien we deze patiënten excluseren, is de sensitiviteit 98.96% i.p.v. 97.95% met AxSYM S/CO \geq 0.8. Daarnaast waren er ook 3 patiënten die al >7 jaar PCR negatief zijn. Het is geweten dat antistoffen negatief kunnen worden na een doorgemaakte infectie. Zo was er ook 1 patiënt die negatief was geworden met immunoblot en nog reactief was met HCV Plus. De laatste 2 patiënten die vals negatief waren met HCV Plus zijn 1 ITE patiënt die een sepsis deed en 2 dagen later overleed en 1 patiënt die vermoedelijk vals

positief was met blot. Alle 33 immunoblot onbesliste stalen die HCV Plus negatief waren, waren PCR negatief. Het herklasseren van deze stalen had dan ook geen negatieve klinische impact.

Rekening houdend met deze bedenkingen zijn vanuit klinisch oogpunt de sensitiviteit en de specificiteit van de combinatie van AxSYM en HCV Plus ook uitstekend. Wel is het aangewezen om die patiënten te identificeren waarin serologie vals negatief kan zijn bij een chronische infectie.

5) Identificeren van patiënten die negatief kunnen zijn met HCV Plus terwijl ze actieve HCV hebben

Vals-negatieve resultaten met serologie in patiënten met actieve HCV zijn vooral beschreven bij immunogecompromitteerde patiënten. In de literatuur zijn ook negatieve resultaten met PCR beschreven bij hemodialyse-patiënten (11, 12, 13, 16). Naar schatting zijn 2.6% van de seronegatieve nierdialyse-patiënten PCR-positief met eerste en tweede generatie EIAs (33). De introductie van derde generatie EIAs heeft het aantal vals negatieve resultaten bij dialyse patiënten doen dalen. In 1 studie waren maar 6 van de 2.576 EIA-negatieve patiënten PCR-positief (0.23%) (34). Daartegenover staat echter dat er in totaal maar 67 PCR-positieve dialyse-patiënten waren. In een andere studie daarentegen waren alle 20 PCR-positieve stalen reactief met een derde generatie EIA (35).

Van de 619 stalen waarvoor parallel een tweede staal werd opgestuurd voor PCR waren er 375 PCR-positief. Er waren 371 stalen die positief waren met AxSYM en HCV Plus. Er was 1 PCR-positief staal dat negatief met AxSYM ($S/CO < 0.8$) van een levertransplant patiënt en 1 PCR-positief staal dat zwak positief was met AxSYM van een patiënt die corticoïden kreeg voor CREST syndroom. Daarnaast waren er 2 stalen die rand-positief waren met PCR die vermoedelijk vals positief waren volgens de behandelende arts.

Er waren 2 patiënten met gekende actieve HCV waarvan geen parallele stalen beschikbaar waren die negatief waren met de combinatie van AxSYM en HCV Plus in de loop van 2005-2006. Het betrof een HIV+ patiënt die AxSYM-negatief was en een lever- en niertransplant patiënt die AxSYM grijze zone/HCV Plus-/immunoblot positief was (cfr. supra). Daarnaast was er 1 PCR-positief staal dat zwak positief was met HCV Plus. Dit staal was van een HIV+ patiënt.

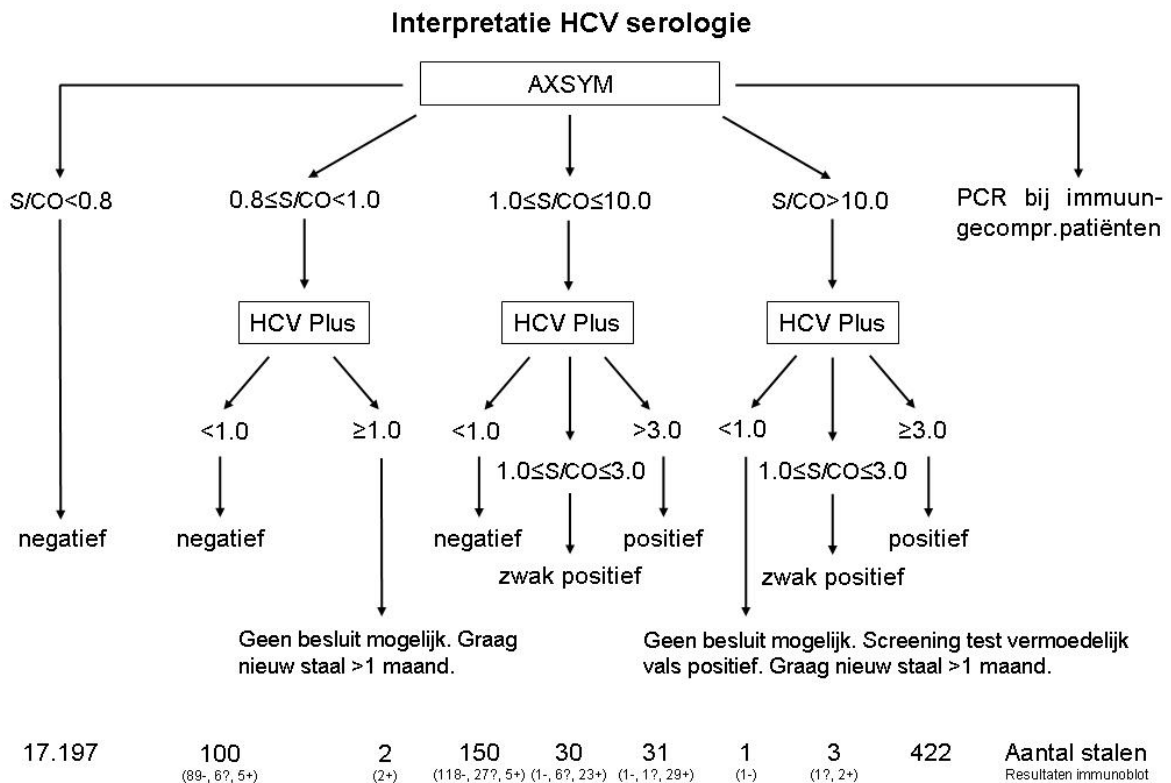
De 9 parallele stalen van hemodialyse-patiënten die gekend waren met HCV waren allemaal positief met AxSYM en HCV Plus. De 3 stalen die PCR-positief waren, waren duidelijk positief met HCV Plus ($S/CO > 5$). In de literatuur is er geen consensus of het zinvol is om systematisch PCR te doen bij dialyse-patiënten als de serologie negatief is. Het lijkt daarom niet nodig om systematisch PCR te doen bij dialyse-patiënten in tegenstelling tot transplant-patiënten, maar enkel indien er een duidelijk klinisch vermoeden is.

Op basis van de literatuur en de gegevens van de patiënten die vals-negatief waren met HCV Plus ten opzichte van immunoblot en PCR besluiten we dat PCR noodzakelijk is om actieve HCV-infectie uit te sluiten in de volgende patiënten:

- 1) Patiënten die immuunsuppressiva krijgen (transplant patiënten, patiënten die hoge doses corticoïden krijgen)
- 2) Patiënten met een congenitale of verworven immuundeficiëntie (o.a. HIV+)

6) Voorstel voor een nieuw algoritme

Wij zouden volgend nieuw algoritme voorstellen op basis van het algoritme van het Minimum Testing Algorithm van het Britse Health Protection agency (cfr. figuur 3). Het aantal stalen in elk van de categorieën en de resultaten volgens de “gouden standaard” (cfr. supra) zijn weergegeven.



7) terugbetaling, TAT, en kostprijs

- Terugbetaling:
- Diagnose en controle van de evolutie van virale hepatitis C, door middel van het aantonen van HC antistoffen (B250)
 - Bevestiging van hepatitis C door middel van een moleculaire techniek, bij een positief serologisch resultaat, met het oog op antiretrovirale behandeling (B800)

TAT: HCV Plus 2 keer/week (Di en Do) vs. immunoblot 1 keer/week (Di)

kostprijs

- AxSYM: 8.12€ (directe kosten: 4.68€)
- HCV Plus: 13.40€ (directe kosten: 6.56€)
- INNO-LIA: 44.41€ (directe kosten: 32.76€)
- Kwantitatieve PCR: +/- 35€ (directe kosten: 25€)

Besparing intramuros stalen: 370 blots/jaar x 44.41€ = 16.432€

Besparing extramuros stalen: 680 blots/jaar x 44.41€ = 30.199€

Biedt de gecombineerde antigen/antistof EIA Monolisa Ultra een meerwaarde ten opzichte van de anti-HCV EIA Monolisa Plus?

Evaluatie van de Monolisa Ultra

Mogelijke meerwaarde van de Monolisa Ultra gecombineerde HCV Ag/Ab assay

Wij hebben tevens gekeken of de gecombineerde HCV Ag/Ab assay Monolisa Ultra (BioRad) een meerwaarde kon bieden ten opzichte van Monolisa Plus voor de diagnose van HCV in een routine laboratorium.

De toevoeging van antistoffen voor het opsporen van HCV antigenen heeft geleid tot een kortere window fase ten opzichte van PCR (7.5 dag vs. 23 dagen voor Monolisa Plus 2.0). De kortere window-fase lijkt vanuit klinisch oogpunt niet onmiddellijk een grote meerwaarde te bieden voor een routine klinisch laboratorium. Bij een gekende recente blootstelling of het vermoeden van een acute HCV infectie dient steeds een PCR te worden gedaan omdat die gevoeliger is en een retrospectieve analyse toonde dat er in 2006 geen enkele nieuwe niet-immuungecompromitteerde patiënt werd gediagnosticeerd die PCR-positief was en negatief met AxSYM HCV en Monolisa Plus 2.0. Er was daarentegen wel 1 gezondheidswerker met een acute HCV-infectie die op het moment van diagnose positief was met PCR en zwak positief met AxSYM en Monolisa Plus 2.0 (zie figuur). Deze gezondheidswerker herinnerde zich niet wanneer de besmetting juist zou zijn gebeurd.

De detectie van antigenen kan echter ook interessant zijn voor het opsporen van patiënten met een actieve HCV-infectie aangezien dit zou kunnen leiden tot een hogere sensitiviteit en minder zwak positieve resultaten ($1.0 \leq S/CO \leq 3.0$).

Methodologie

1) Stalen

- De resultaten van Monolisa Ultra werden prospectief vergeleken met de huidige strategie en de nieuw voorgestelde strategie in 298 opeenvolgende AxSYM-reactieve stalen ($0.8 \leq S/CO$). Er waren 94 intramuros en 204 extramuros stalen.
- Daarnaast werden de resultaten van AxSYM, Monolisa Plus en Monolisa Ultra vergeleken in 68 PCR+ stalen van verschillende genotypes (40 stalen uit de routine waarvoor parallel serologie en PCR werd gevraagd en 28 stalen van patiënten met gekende actieve HCV-infectie van verschillende genotypes).
- stalen die Monolisa Plus of Monolisa Ultra ($1.0 \leq S/CO \leq 3.0$) waren, worden als zwak positief beschouwd

2) Gouden standaard

Cfr. supra

Evaluatie

1) Evaluatie in AxSYM positieve stalen ($S/CO \geq 1.0$)

HCV Plus	Immunoblot Negatief	Immunoblot Positief	Immunoblot Onbeslist	AxSYM >10.0 HCV Plus >3.0
Negatief ($1.0 < S/CO$)	77	1*	17	NA
zwak Positief ($1.0 \leq S/CO \leq 3.0$)	1 [#]	17	5	NA
positief ($S/CO > 3.0$)	0	17	0	143

- * 1 Extramuros-taal met een zwak positieve immunoblot (2 bandjes +/-) en zwak positieve HCV Ultra (1.01) van een patiënt waarvan geen andere resultaten beschikbaar zijn.
- # 1 Extramuros-staal dat zwak positief was ($1.0 \leq S/CO \leq 3.0$) van een patiënt die bij herhaling HCV Plus en HCV Ultra zwak positief en immunoblot negatief was. Het staal was negatief met PCR.

HCV Ultra	Immunoblot Negatief	Immunoblot Positief	Immunoblot Onbeslist	AxSYM >10.0 HCV Plus >3.0
Negatief ($1.0 < S/CO$)	74	1*	16	NA
zwak Positief ($1.0 \leq S/CO \leq 3.0$)	4 [#]	13	4	NA
positief ($S/CO > 3.0$)	0	20	2	143

- * 1 Extramuros-taal van een patiënt met normale levertesten met zwak positieve AxSYM (1.75) en Monolisa Plus (1.53). Er is geen PCR-resultaat beschikbaar. Het staal was bij het hertesten opnieuw negatief. Er zijn geen andere resultaten beschikbaar.
- # 4 Extramuros-stalen die zwak positief waren ($1.0 \leq S/CO \leq 3.0$)
- 1 staal van een patiënt die gekend al jaren blot onbeslist/PCR negatief is met zwak positieve AxSYM (1.69) en negatieve HCV Plus. Het staal was PCR-.
 - 2 stalen van patiënten zonder gekende HCV status die negatief waren met HCV Plus en immunoblot. De stalen waren PCR-.
 - 1 patiënt die niet gekend was en positief was met HCV Plus en negatief met immunoblot en PCR

HCV Ultra negatief/immunoblot-onbesliste stalen (n=16)

De 13 stalen waarvoor genoeg staal beschikbaar was, waren PCR-negatief. Er waren 3 stalen van patiënten die gekend immunoblot onbeslist/PCR-negatief zijn, 2 stalen van patiënten die gekend immunoblot negatief zijn, 2 stalen van patiënten die gekend immunoblot positief zijn, en 8 stalen van patiënten waarvan geen andere HCV serologie gekend was. Eén staal was immunoblot niet interpreteerbaar.

HCV Ultra zwak positief/immunoblot-onbesliste stalen (n=4)

Er waren 2 stalen van patiënten die gekend blot onbeslist/PCR- zijn en 2 patiënten die gekend immunoblot-positief zijn en nu blot ind/PCR-.

HCV Ultra positief/immunoblot-onbesliste stalen (n=2)

Er was 1 staal van een patiënt die gekend blot onbeslist/PCR- is en 1 staal van een patiënt die 6 maand voordien PCR+ was. Beide waren nu PCR-.

2) AxSYM borderline stalen ($0.8 \leq S/CO < 1.0$)

Alle 23 borderline stalen waren negatief met Monolisa Plus en Monolisa Ultra. 22 van de 23 waren negatief met immunoblot en 1 was niet interpreteerbaar.

3) HCV Plus vs. HCV Ultra voor de confirmatie van AxSYM-reactieve stalen

In figuur 7 zijn de resultaten met HCV Plus en HCV Ultra weergegeven samen met het resultaat volgens de gouden standaard. De sensitiviteit van HCV Plus en HCV Ultra ten opzichte van het huidige algoritme waren zeer goed. Met beide testen was er slechts 1 immunoblot-positief staal negatief. Er waren minder zwak positieve ($1.0 \leq S/CO \leq 3.0$)

resultaten met HCV Ultra dan met HCV Plus, maar de specificiteit van HCV Ultra was minder goed dan die van HCV Plus (4 vs. 1 vals-positief resultaat).

De toevoeging van antistoffen tegen HCV gaat ten koste van de specificiteit. Een gelijkaardig probleem van verminderde specificiteit werd door de UK HPA vastgesteld met de Murex HCV Ag/Ab assay waarbij 2% van de 200 geteste gekend HCV-negatieve donoren reactief was bij de eerste test (43).

3) HCV Plus vs. HCV Ultra in PCR-positieve stalen

In figuur 8 ziet u de resultaten van 62 stalen van niet-immuungecompromitteerde PCR-positieve patiënten. De 61 stalen van patiënten die gekend waren met HCV waren AxSYM S/CO>10.0, HCV Plus>3.0 en HCV Ultra >3.0. Het enige staal van een patiënt bij wie een nieuwe diagnose werd gesteld van een acute HCV infectie (PCR >5.000.000 IU/ml) was positief met AxSYM (5.56), zwak positief met HCV Plus (2.05) en positief met HCV Ultra (3.75). Zoals te verwachten op basis van de samenstelling van de 2 assays blijkt de HCV Ultra sterker positief bij de patiënt met een acute HCV infectie. Aangezien deze patiënte zich presenteerde met een beeld van acute hepatitis werd er onmiddellijk ook een PCR aangevraagd, waardoor het zwakkere resultaat met HCV Plus geen negatieve klinische impact had.

Besluit

Gezien de lage waarschijnlijkheid om een patiënt met acute HCV op te pikken door middel van HCV Ultra en de verminderde specificiteit is het niet aangewezen om de HCV Plus te vervangen door de HCV Ultra.

COMMENTS

To DO/ACTIONS

- 1) Implementatie van het nieuwe algoritme
- 2) Rondschrijven aan verwijzers
- 3) Publicatie nieuw algoritme op intranet en internet

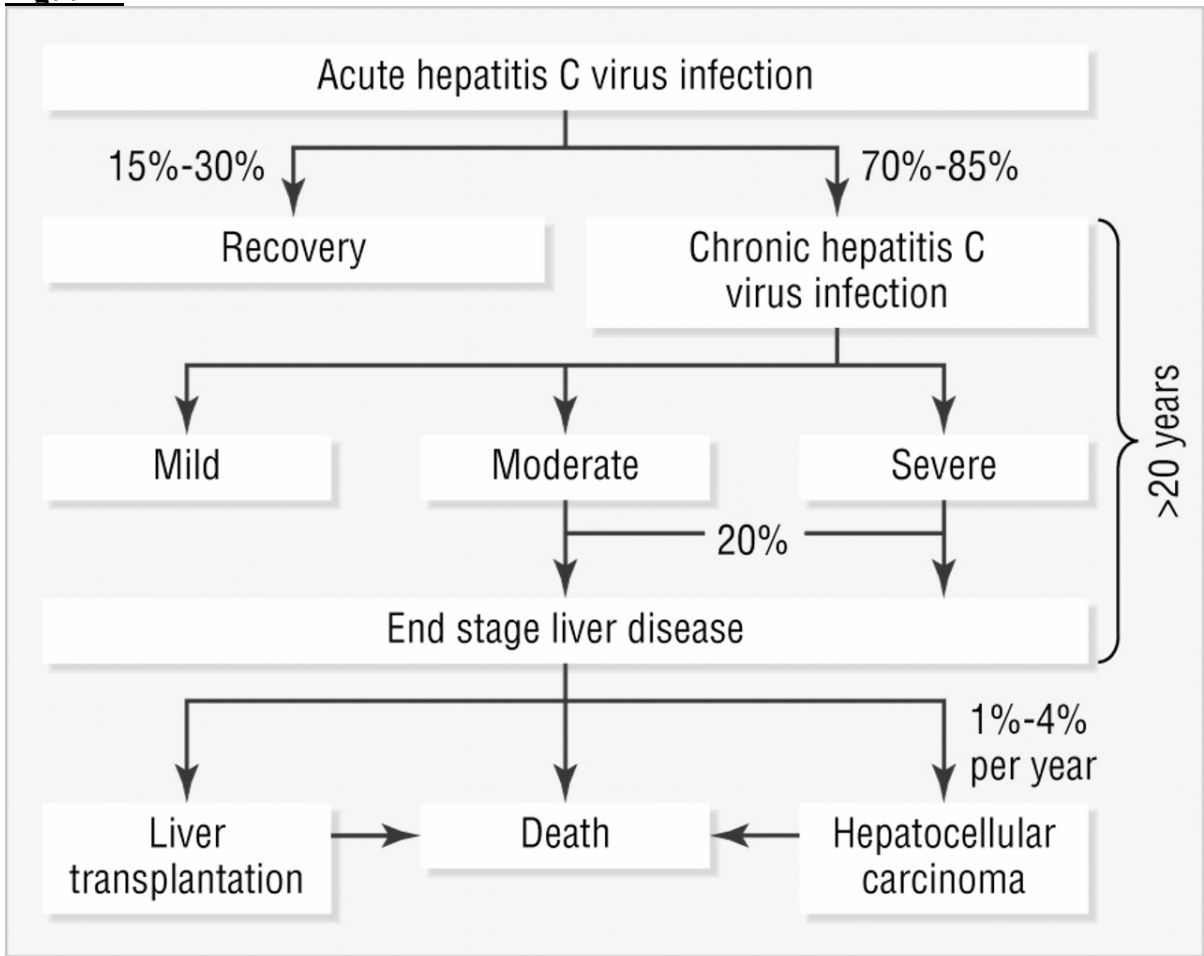
ATTACHMENTS

Tabel 1: intramuros aanvragers

+/- 8.700 stalen/jaar voor HCV serologie

- Gynaeco-verloskunde (incl. fertiliteit) (32%)
- Algemene inwendige (14%)
- Hepatologie en gastro-enterologie (11%)
- Anesthesie en chirurgie (8%) (690 aanvragen/3.300 chir. ingrepen)
- IDEWE (7%)
- Nefrologie (5%)
- Hematologie en oncologie (5%)
- Inwendige andere (11%)
- Andere (incl. transplantcoördinatie, weefselbank) (7%)

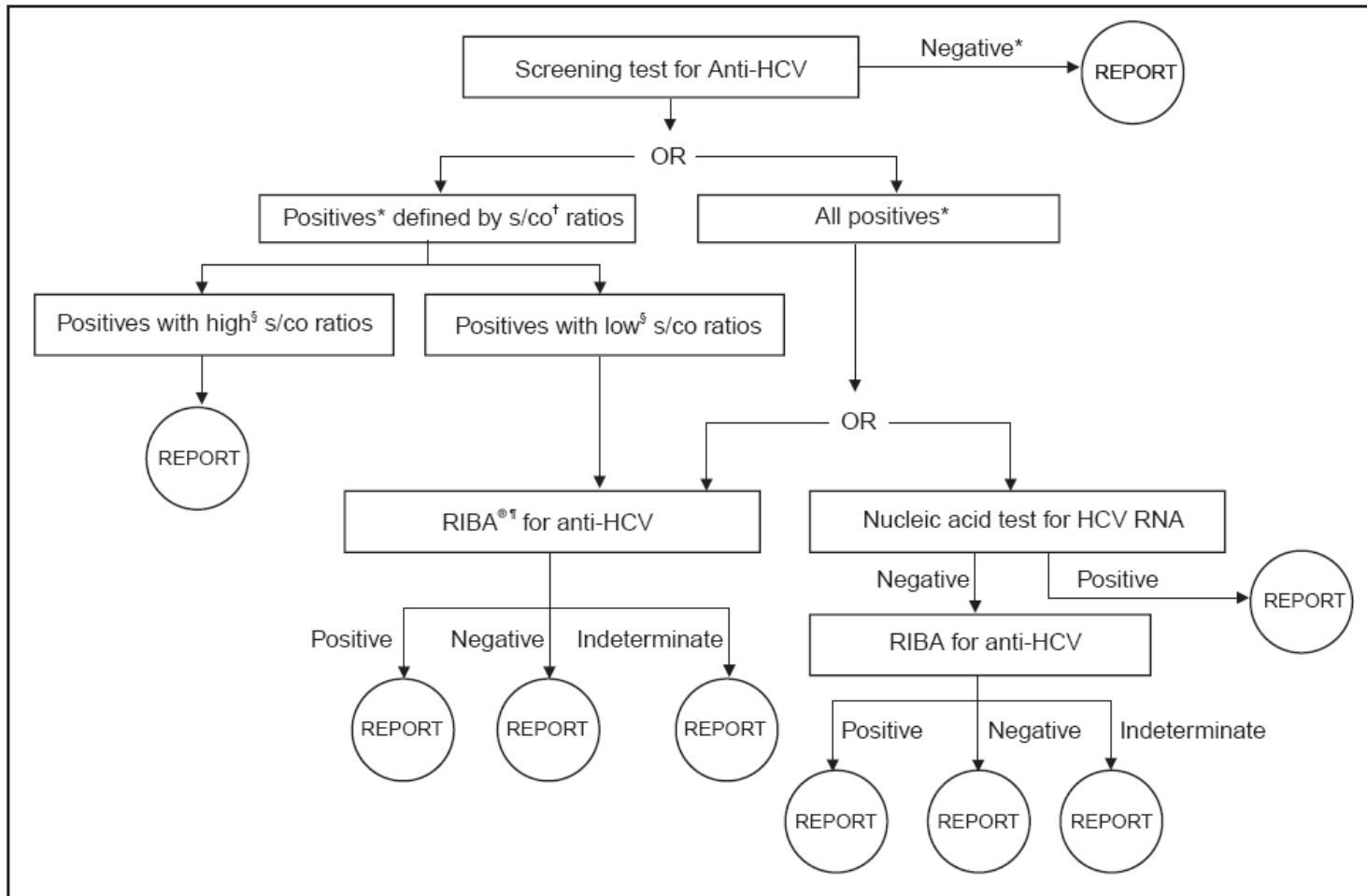
Figuur 1



Uit: Petel K., Muir A.J., McHutchison J.G. Diagnosis and treatment of chronic hepatitis C infection. *BMJ* 2006;332:1013-1017

Figur 2

Laboratory algorithm for antibody to HCV testing (anti-HCV) and result reporting



* Interpretation of screening immunoassay test results based on criteria provided by the manufacturer.

† Signal-to-cut-off.

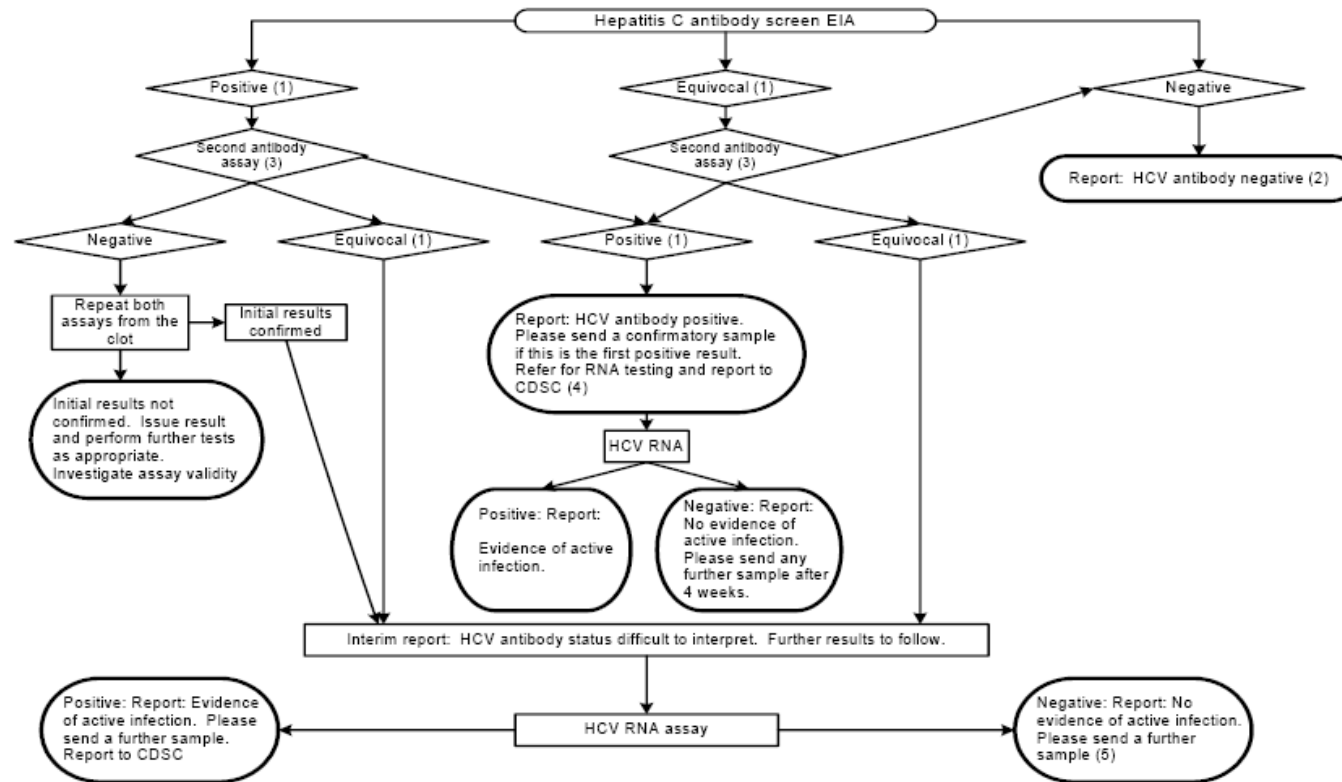
§ Screening-test-positive results are classified as having high s/co ratios if their ratios are at or above a predetermined value that predicts a supplemental-test-positive result $\geq 95\%$ of the time among all populations tested; screening-test-positive results are classified as having low s/co ratios if their ratios are below this value.

¶ Recombinant immunoblot assay.

Uit: Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Issued Feb 7th 200 by: Department of Health and Human Services, Centers for disease control and prevention (US). *MMWR Recomm Rep* 2003;52(RR-3):1-13.

Figuur 3

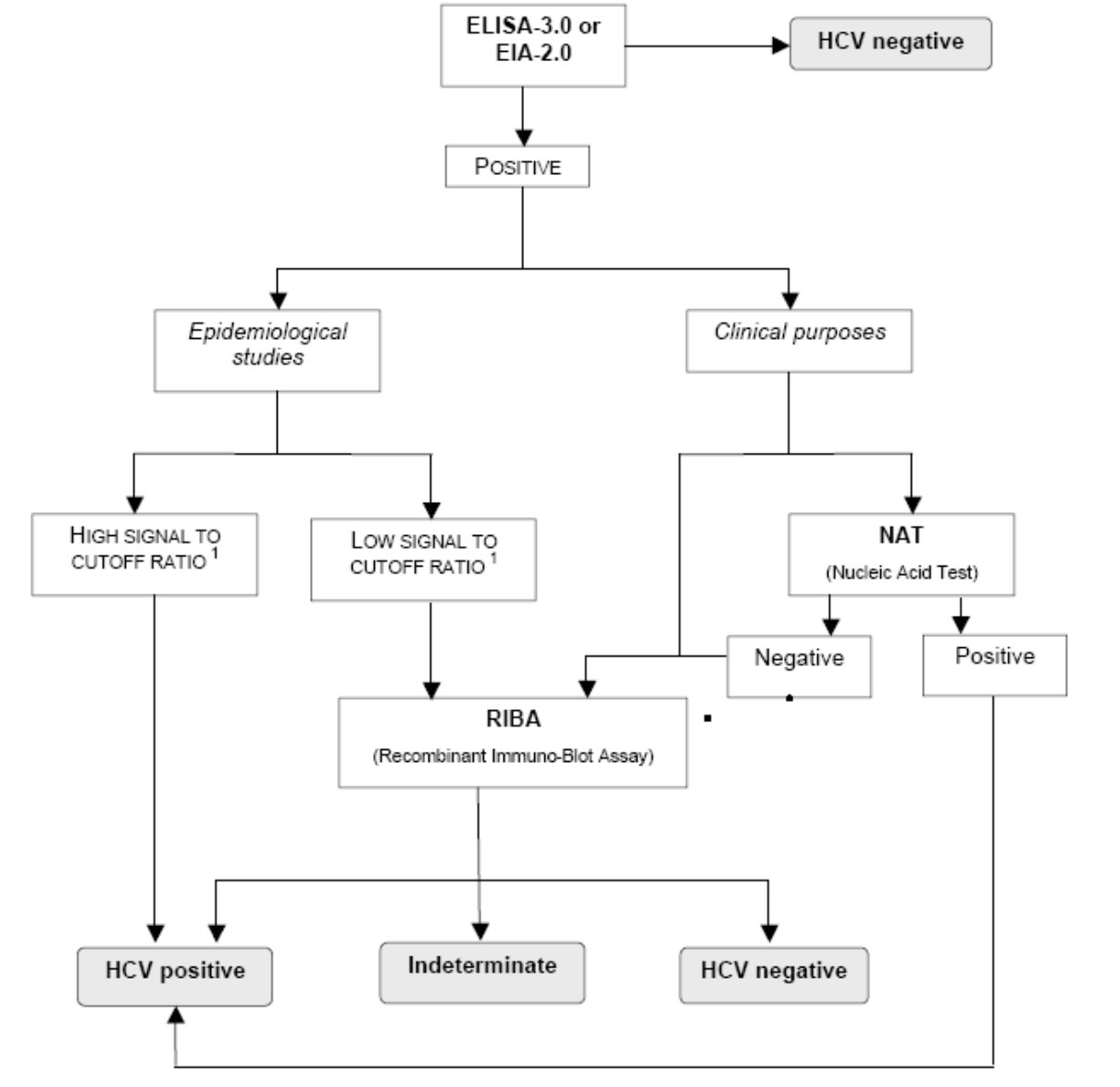
INVESTIGATION OF HEPATITIS C INFECTION (SEE CLINICAL ALGORITHM VSOP 6 HEPATITIS, JAUNDICE AND ABNORMAL LFTs)



Hepatitis C serology notes

1. Interpret according to local criteria.
2. Where recent exposure or infection is suspected, request a further sample and/or refer for RNA detection. If the patient is immunocompromised, refer the sample for HCV RNA detection.
3. The second or confirmatory assay should be of equivalent sensitivity to the screening/primary assay and ideally have improved specificity. Where practical, the second assay should be of a different format and/or employ different HCV antigens from the first. Some Laboratories may wish to use HCV RNA detection as the confirmatory assay at this point, however, if HCV RNA is not detected, further antibody testing will be required.
4. HCV RNA testing selected according to local agreement. Report to CDSC ideally on confirmation of result from second sample.
5. Consider referral for RIBA according to local protocol.

Figuur 4



Figuur 5

TABLE 2. Antibody to hepatitis C virus (anti-HCV) screening-test-positive average signal-to-cut-off (s/co) ratios by recombinant immunoblot assay (RIBA®) 3.0 and nucleic acid test (NAT) results in groups with different anti-HCV prevalences

Anti-HCV prevalence	Study group	Total tested*	Average s/co ratio	No. (%) screening-test-positive	RIBA results (%)			HCV RNA-positive (%)
					Negative	Ind†	Positive	
2% (average)	Multiple groups§ with prevalences ranging from 0.8% to 4.4%	24,012	Total	689 (100.0)	26.9	7.3	65.9	41.6¶
			<3.8	231 (33.5)	78.8	16.9	4.3	3.7
			≥3.8	458 (66.5)	0.7	2.4	96.9	80.2
9.5%	Hemodialysis patients	2,936	Total	351 (100.0)	9.7	7.3	83.0	80.3
			<3.8	45 (12.8)	64.4	33.3	2.2	4.4
			≥3.8	306 (87.2)	1.6	3.4	95.0	91.5
24.9%	STD clinic clients selected based on risk**	498	Total	124 (100.0)	1.6	4.0	94.4	NA††
			<3.8	3 (2.4)	66.7	33.3	0	NA
			≥3.8	121 (97.6)	0	3.3	96.7	NA

* HCV EIA 2.0 or HCV Version 3.0 ELISA.

† Indeterminate.

§ College students, general population, health-care workers, and sexually transmitted disease (STD) clinic clients not selected by risk factor.

¶ In the low (2%) prevalence group, only a sample of 214 were tested for HCV RNA.

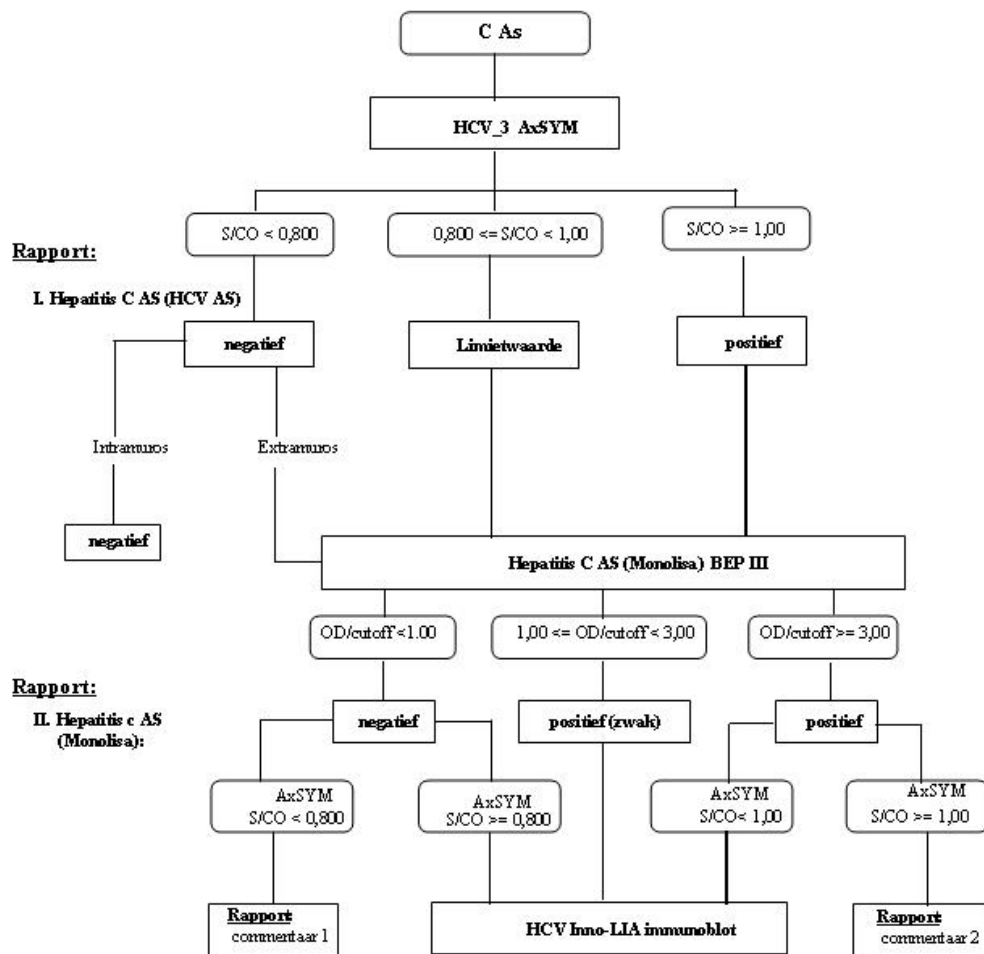
** History of injection-drug use, blood transfusion before 1992, or incarceration.

†† Not available.

Uit: Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Issued Feb 7th 200 by: Department of Health and Human Services, Centers for disease control and prevention (US). *MMWR Recomm Rep* 2003;52(RR-3):1-13

Figuur 6

Hepatitis C virus antistoffen



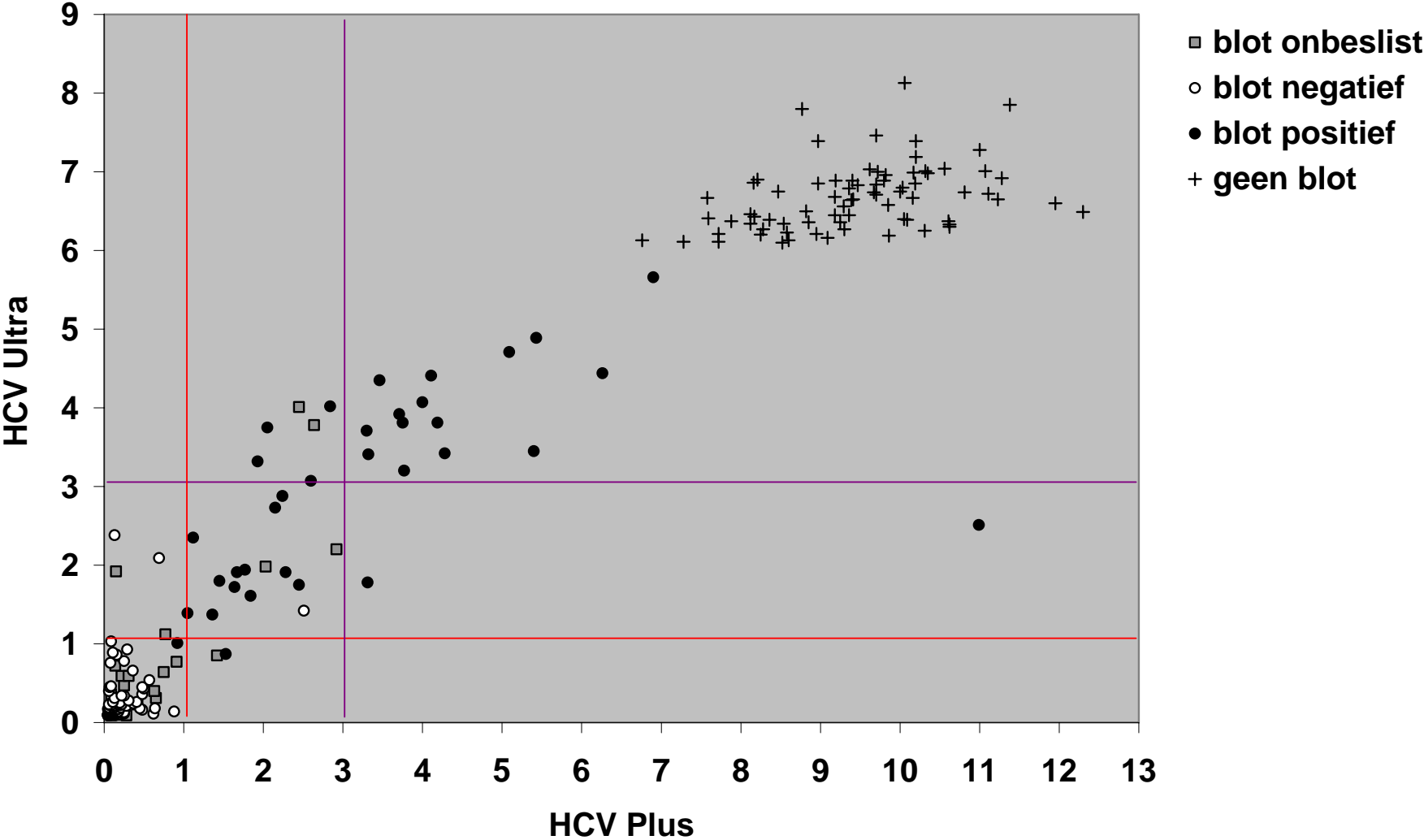
Rapport:

Commentaar 1: Negatieve Hepatitis C antistoffen, confirmatie wordt niet uitgevoerd.

Commentaar 2: Beide screeningstesten voor Hepatitis C antistoffen zijn positief, confirmatie wordt niet uitgevoerd.

Update 030110

Figuur 7: HCV Plus vs. HCV Ultra in AxSYM-positieve stalen



Figuur 8: HCV Plus vs. HCV Ultra in 62 PCR-positieve stalen

