

Bestimmung der Hepatitis C (HCV)-Viruslast

In der klinischen Diagnostik wird zunehmend der hochempfindliche Nachweis der HCV-RNA mittels Nukleinsäure-Amplifikationstechnologie (NAT) eingesetzt. Die quantitative Real-Time PCR hat sich dabei als ein Test von sehr hoher Spezifität und Sensitivität erwiesen.

Diagnostik der HCV-Infektion

Das Hepatitis C Virus wird über Blut und Blutprodukte übertragen. Das Risiko einer transfusionsbedingten Hepatitis konnte u.a. durch die breite Anwendung von HCV-Blut-screeningtesten stark reduziert werden. Die Inzidenz von HCV-Infektionen ist bei intravenösem Drogenmissbrauch am höchsten und etwas geringer bei anderer perkutaner Exposition.

Da mit HCV infizierte Patienten spezifische Antikörper bilden, konnten immunserologische Tests zum spezifischen Nachweis dieser Antikörper entwickelt werden. Das Vorhandensein von Anti-HCV-Antikörpern ist jedoch nur ein Hinweis für eine vorangegangene HCV-Infektion und kann nicht als Marker für eine gegenwärtige Infektion verwendet werden. Eine alternative Viruskultur zur direkten Detektion ist nicht verfügbar.

Die Messung von Leberenzymen ist kein direktes Maß für den Grad der HCV-Infektion, da erhöhte Werte durch verschiedene Ursachen bedingt sein können.

Im Gegensatz dazu kann die Virämie durch Bestimmung der HCV-RNA mittels PCR (Polymerase-Kettenreaktion) gemessen werden. Mit der PCR ist es möglich, eine HCV-Virämie noch vor der immunologischen Serokonversion nachzuweisen. Die Veränderung der HCV-RNA im Serum oder Plasma dient zur Bewertung der viralen Reaktion auf antivirale Behandlung.

Real-Time PCR

Bei der Diagnostik mittels PCR werden spezifische Bereiche aus dem Erregergenom amplifiziert. Bei der Real-Time PCR findet die Detektion mit Hilfe von Fluoreszenzfarbstoffen statt. Diese sind in der Regel an Oligonukleotid-Sonden gekoppelt, die spezifisch an das PCR-Amplifikat binden. Die

Detektion der Fluoreszenzintensitäten im Verlauf der Real-Time PCR ermöglicht den Nachweis und die Quantifizierung der Produkte, ohne die Probenröhrchen nach der PCR wieder öffnen zu müssen. Das eliminiert die Gefahr einer carry-over Kontamination.

Der „viral load“ wird in internationalen Einheiten IU/ml ausgedrückt. Nach dem offiziellen Bericht der WHO¹ entspricht 1 IU des WHO Standards ca. 4 HCV-Genomäquivalenten (Kopien). Die Methode erlaubt die zuverlässige Bestimmung der HCV-Viruslast von allen HCV-Genotypen 1 bis 6.

Bewertung der Ergebnisse

Die Linearität der Methode erstreckt sich über einen breiten Messbereich (43 bis 7×10^7 IU/ml). Eine Detektion (nichtlinear) ist auch im Bereich 1–42 IU/ml gegeben. Somit verbessert sich sowohl die obere, wie auch die untere Nachweisbarkeitsgrenze spürbar und besteht nicht mehr die Notwendigkeit der Durchführung von zwei unterschiedlichen Methoden für den qualitativen und den quantitativen Nachweis.

Dies dient der empfindlicheren Erkennung einer Virämie in der Frühphase einer akuten Infektion, der verbesserten Differenzierung chronischer HCV-Infektionen sowie der Verlaufskontrolle unter antiviraler Therapie.

Die Ergebnisse, die erzielt werden können, werden in der unten stehenden Tabelle aufgeführt.

Material

Für die Untersuchung werden mindestens 5 ml EDTA-Blut oder Vollblut benötigt.

Bitte verwenden Sie für molekularbiologische Untersuchungen ein separates Blut-Röhrchen.

Literatur

- 1 WHO consultation on International Standards for in vitro Clinical Diagnostic Procedures based on Nucleic Acid Amplification Techniques (NAT), April 2002.
- 2 Hepatitis C-Virus-Infektion. PJ Grob et al. Praxis 2000; 89:1587-1604.

	ERGEBNIS	ERLÄUTERUNG
HCV-RNA nicht nachweisbar	nicht nachweisbar	
HCV-RNA nachweisbar	schwach nachweisbar	Erreger-RNA nachgewiesen, weniger als 15 IU/ml
	15-42 IU/ml	Erreger-RNA unterhalb des Linearitätsbereichs
	43- 7×10^7 IU/ml	Erreger-RNA innerhalb des Linearitätsbereichs
	> 7×10^7 IU/ml	Erreger-RNA oberhalb des Linearitätsbereichs