

Protocollo diagnostico

DIAGNOSI MICROBIOLOGICA DELL' EPATITE C

Dott. Paolo Lanzafame - U.O. Microbiologia e Virologia

Dott. Claudio Paternoster - U.O. Malattie Infettive

Dott.ssa Danila Bassetti – U.O. Microbiologia e Virologia

Peer review:

Dott. Giovanni de Pretis – U.O. Gastroenterologia

Dott. Mauro Mattarei – U.O. Medicina Interna Presidio Ospedaliero di Rovereto

Premessa

Il presente progetto si sviluppa nell'ambito dei programmi di attività volti a migliorare l'appropriatezza prescrittiva e analitica delle indagini di laboratorio

Obiettivi

Gli obiettivi prefissati dal presente protocollo sono:

- 1) Razionalizzare l'uso delle indagini microbiologiche sulla base delle evidenze scientifiche;
- 2) Ridurre il numero di esami inappropriati;
- 3) Rendere partecipe il clinico sui criteri interpretativi degli esami microbiologici;
- 4) Razionalizzare e migliorare l'utilizzo delle risorse sulla base delle evidenze scientifiche.

Metodologia di lavoro

Si è costituito un gruppo di lavoro multidisciplinare composto da dirigenti sanitari delle U.O. Microbiologia e Virologia e U.O. Malattie Infettive dell' Ospedale di Trento, il coordinamento è stato effettuato dalla U.O. Microbiologia e Virologia i cui componenti del gruppo hanno elaborato una bozza di protocollo sulla base dell'analisi della letteratura e valutazione delle evidenze scientifiche sull'argomento e di eventuali linee guida e protocolli già esistenti. La bozza è stata revisionata da ciascuno dei membri del gruppo e quindi discussa in riunioni congiunte.

Il protocollo è stato sottoposto a valutazione (Peer review) dei direttori di UU.OO. maggiormente coinvolti nella gestione dei pazienti con infezione da virus dell'epatite C. Il presente protocollo sarà oggetto di revisione tra tre anni (2014) a meno di nuove evidenze scientifiche sull'argomento.

Ricerca delle fonti: La ricerca bibliografica è stata effettuata per mezzo di parole chiave su siti di ricerca generali: Yahoo, Google e su siti di ricerca specialistici: Pubmed, Areas (Cochrane Italia), NGC, Goldenhour, ASM.

Modalità di diffusione e valutazione dell'impatto

Il presente protocollo, approvato dalla Direzione Sanitaria Aziendale, dopo discussione anche in sede Comitato del Dipartimento Medicina di Laboratorio, sarà diffuso capillarmente distribuendo una copia a tutti i direttori di presidio ospedaliero, di U.O. e di distretto dell' APSS. Sarà inoltre possibile la consultazione on-line all'indirizzo URP: <http://www.apss.tn.it/Public/ddw.aspx?n=26921>

La valutazione dell' impatto conseguente alla applicazione sarà a cura dell' U.O. Microbiologia e Virologia dell' Ospedale di Trento che dovrà effettuare una prima valutazione al termine dei sei mesi successivi all' avvio di utilizzo del protocollo, ulteriori valutazioni saranno effettuate con periodicità annuale.

Il virus

L' HCV è un virus a RNA di piccole dimensioni (55-65 nm) appartenente alla famiglia dei *Flaviviridae* genere *Hepacivirus* di cui è l'unico rappresentante. E' fornito di *envelope* che contiene un capsido a simmetria icosaedrica. All'interno del capsido è contenuto l' RNA virale, costituito da circa 9,7 kbase. Il genoma di questo virus non penetra all'interno del nucleo della cellula infettata, la replicazione dell' RNA virale avviene all'interno del citoplasma degli epatociti. L' *envelope* è costituito da due glicoproteine associate alla membrana, E1 e E2, avvolte in uno strato lipidico derivante dall'ospite. Il core virale è generato da una poliproteina codificata dal genoma virale e processata dalle proteasi cellulari nel reticolo endoplasmatico, è una proteina multifunzionale che definisce i componenti strutturali del virus. Le proteine del core interagiscono con l'RNA virale genomico per formare il nucleocapsido. Il core appare implicato nello sviluppo della steatosi epatica e dell'oncogenesi.

L'HCV presenta una notevole variabilità genetica sulla base della quale sono stati definiti diversi genotipi e sottotipi. Sono attualmente noti 6 principali genotipi di HCV, che differiscono fino al 34% nella sequenza nucleotidica, numerati da 1 a 6 ed i corrispondenti sottotipi identificati con una lettera minuscola (1a, 1b, etc.). La prevalenza dei vari genotipi è differente nelle diverse aree geografiche: i genotipi 1-3 sono predominanti nei Paesi industrializzati, mentre il genotipo 4 è più diffuso nel Medio Oriente e nelle regioni dell'Africa centrale, i genotipi 5 e 6 sono endemici rispettivamente nel sud dell'Africa e nel Sud-Est asiatico. Il genotipo virale rappresenta un importante predittore degli *outcomes* terapeutici.

Epidemiologia

In Italia l'infezione cronica da HCV è una causa importante di morbosità e mortalità: è, probabilmente, la causa principale di mortalità per cirrosi ed epatocarcinoma ed è l'indicazione più frequente al trapianto di fegato. La possibilità di guarigione dipende dalla diagnosi accurata e dalla conseguente adozione di un precoce protocollo terapeutico antivirale.

Nel mondo si calcolano 180 milioni di persone infettate da HCV, di cui in media il 25% (15% - 45%) guarisce spontaneamente, mentre il 75% va incontro ad una infezione cronica. Di questi ultimi, il 15% - 25% evolverà verso un'insufficienza epatica grave, con rischio di sviluppo di carcinoma epatocellulare e indicazione prioritaria al trapianto epatico.

In Italia i soggetti che hanno contratto l'epatite C sono due milioni, i nuovi casi sono circa tremila l'anno e diecimila le persone che annualmente muoiono per le conseguenze dell'infezione. L'incidenza attuale stimata di nuove infezioni da HCV nella popolazione generale è molto bassa: 4-6/100.000/anno).

Nella popolazione generale non appartenente a particolari categorie a rischio la prevalenza dell'infezione cronica da HCV (positività per HCV RNA) è caratterizzata da un effetto di coorte, per cui:

- è generalmente superiore al 3% nei soggetti nati tra il 1940 e il 1949 e superiore al 5% in quelli nati prima del 1940, con prevalenze particolarmente elevate in alcune aree del Sud e delle Isole (25%);
- è generalmente inferiore all'1,5% nei soggetti nati tra il 1950 e il 1959 e si riduce ulteriormente nelle generazioni più giovani, senza importanti differenze per area geografica.

I sottogruppi che hanno una prevalenza di infezione significativamente elevata (in genere superiore al 10%) rispetto alla popolazione generale sono:

- soggetti che fanno o hanno fatto uso di stupefacenti per via endovenosa;
- emodializzati;
- soggetti che hanno ricevuto fattori della coagulazione emoderivati prima del 1987;

DIPARTIMENTO MEDICINA DI LABORATORIO
U.O. MICROBIOLOGIA E VIROLOGIA

- emotrasfusi e trapiantati prima del 1992.

La prevalenza dell'infezione è probabilmente più alta rispetto alla popolazione generale (pur se esistono maggiori incertezze al riguardo) anche nelle seguenti categorie:

- soggetti attualmente conviventi o che abbiano convissuto con individui con infezione da HCV;
- soggetti con attività sessuale promiscua che hanno una storia di malattie sessualmente trasmesse.

Clinica

L'infezione ha un' incubazione di 4-12 settimane; l'infezione acuta è generalmente asintomatica (60-70%) e, pertanto, di difficile individuazione, le forme itteriche sono rare anche se l'aumento delle transaminasi è costante. I pochi casi diagnosticati sono quelli sintomatici (astenia, malessere generale: 10-20%) e con ittero (10-20%) ed i soggetti sottoposti a monitoraggio dopo esposizione a rischio. Non sono note forme fulminanti.

In circa il 70% dei casi l'epatite acuta evolve verso la cronicizzazione. Dei soggetti con infezione cronica il 30-40% presenta una malattia stabilizzata e non evolutiva, prevalentemente si tratta di soggetti a transaminasi persistentemente normali, mentre il 60-70% sviluppa una epatite cronica con caratteri di attività, prevalentemente nei soggetti con transaminasi elevate o fluttuanti.

Dei soggetti con epatite cronica attiva il 20-30% sviluppa una cirrosi epatica in un periodo di 20-30 anni, 10-20% dopo 20 anni. Fattori che favoriscono la progressione di malattia sono: l'età avanzata all'infezione, il sesso maschile, il consumo di alcool, gli stati di immunodepressione (soprattutto l'infezione da HIV), le infezioni con HBV e HDV, il sovraccarico di ferro, la steatosi epatica, l'uso di farmaci epatotossici o l'esposizione a contaminanti ambientali epatotossici.

L'epatocarcinoma si sviluppa quasi esclusivamente nei soggetti con cirrosi epatica con una frequenza del 10-20% dopo 5 anni (incidenza 0.2-0.4% per anno).

Oltre ai rischi di progressione della malattia epatica, i soggetti con epatite cronica C possono presentare manifestazioni extraepatiche, ancora non bene determinate né quantificate. Si tratta in genere di manifestazioni di tipo immunologico: la crioglobulinemia mista sintomatica o no (la più comune), la cheratoconguntivite secca, il lichen planus, la glomerulonefrite, i linfomi a cellule B. Inoltre sono state rilevate manifestazioni dermatologiche, come la porfiria cutanea tarda, e psichiatriche, come depressione e altri deficit psico-intellettivi.

La diagnosi di laboratorio:

La diagnosi di laboratorio dell'infezione da HCV è oggi estremamente attendibile. Sono infatti diffusamente disponibili test in grado di individuare i soggetti con infezione da HCV con sensibilità e specificità vicine al 100%. La diagnosi di infezione da HCV si basa essenzialmente sulla positività degli anticorpi anti HCV e sull'aumento delle transaminasi (soprattutto ALT).

Considerando che la malattia è quasi sempre asintomatica, sia nella fase acuta che cronica non complicata, la diagnosi è molto spesso occasionale o a seguito di un test di screening per anticorpi anti HCV (per interventi chirurgici, in soggetti a rischio, in donatori di sangue, ecc.) o in caso di un riscontro casuale di ipertransaminasemia.

I test diagnostici per la diagnosi di infezione da HCV si possono distinguere in test indiretti che mettono in evidenza la risposta anticorpale agli antigeni virali (anti-HCV, RIBA) e test diretti che mettono in evidenza la presenza del genoma virale (HCV-RNA qualitativo e quantitativo) o di antigeni del core del virus (HCV core Ag).

I test utilizzati presso l'U.O. Microbiologia e Virologia di Trento sono:

1) anti HCV

Test di 3° generazione con tecnologia CMIA (Architect System, Abbott, HCV 3.0) in grado di rilevare anticorpi diretti contro gli antigeni non strutturali: (NS3, NS4, NS5) e strutturale del core (C22)

Nei soggetti con sistema immunitario normale la sensibilità del test è pressoché assoluta (99%) e analogamente la specificità (99%). Tuttavia anche tra una popolazione a bassa prevalenza la specificità del 99% non assicura l'assenza di falsi positivi, che in popolazioni con prevalenza inferiore al 10% possono raggiungere il 35%, mentre in popolazioni a maggiore rischio di infezione il tasso di falsi positivi è del 15%.

La valutazione dei risultati si basa sul rapporto tra la densità ottica del campione (S) ed il cut off (CO): *S/CO ratio*. Un risultato superiore a 5 ha dimostrato, in vari studi, una concordanza del 100% con i test di conferma (immunoblotting), per cui la positività del test con un *S/CO ratio* >5 è di per se diagnostica di infezione da HCV e non necessita di conferma. Per i risultati compreso tra 2 e 5 la concordanza è stata del 70%, mentre per i risultati < 2 la concordanza riportata è dell' 11%, pertanto i test supplementari di conferma sono necessari esclusivamente per campioni con valori di *S/CO ratio* < 5.

Il Servizio di Medicina Trasfusionale di Rovereto utilizza lo stesso sistema diagnostico, presso gli altri presidi ospedalieri dell' APSS è utilizzato un test EIA di 3° generazione (Elecys Roche) ma tutti i positivi o dubbi vengono inviati presso l'U.O. Microbiologia e Virologia di Trento per la conferma. L' U.O. Microbiologia e Virologia ripete i test, con *S/CO ratio* EIA ≤400, ad eccezione di quelli provenienti da Rovereto, ed effettua eventualmente i test di conferma.

Il test non è in grado di precisare il tipo di infezione (cronica o acuta, attiva o non attiva, in atto o pregressa), infatti l'informazione ottenuta con questi test è dal punto di vista virologico piuttosto generica, in quanto indica semplicemente l'avvenuta esposizione al virus e nulla dice dell'attuale stato dell'infezione. Utilizzato nello screening di popolazione il test risulta positivo anche in soggetti che mantengono una semplice risposta anticorpale anamnestica ma non hanno più infezione attiva e non è quindi utile per l'esclusiva individuazione dei soggetti con replicazione virale ed eventuale malattia per la cui definizione sono necessari test diretti.

In base alle conclusioni dell' *Expert Consensus Conference: lo screening per infezione da virus dell'epatite C in Italia. (Rapporti ISTISAN 06/47; 2005)* il test di screening non è giustificato in:

- soggetti che debbano subire un intervento medico invasivo, in quanto le precauzioni standard relative alla contaminazione ematica devono essere sempre rispettate con la massima attenzione indipendentemente da una eventuale infezione virale accertata;
- donne in gravidanza, in quanto al momento non esistono presidi in grado di ridurre il rischio di trasmissione verticale di HCV.

Il test di screening, generalmente, non viene raccomandato in:

- soggetti di età superiore a 70 anni, in quanto generalmente non eleggibili alla terapia antivirale;
- nati dopo il 1950, in quanto la prevalenza è molto bassa se non appartengono a specifici gruppi a rischio.

**DIPARTIMENTO MEDICINA DI LABORATORIO
U.O. MICROBIOLOGIA E VIROLOGIA**

2) Immunoblotting anti HCV (RIBA)

Il test utilizzato (Ortho RIBA HCV 3.0) è un test di 3° generazione basato sul principio di immunoblot su striscia. E' più specifico dell' anti HCV di screening e viene eseguito su campioni con risultati borderline al test di screening (S/CO ratio < 5). I risultati possono essere:

- Positivo: conferma la presenza di anticorpi anti HCV, anche se non è possibile distinguere il tipo di infezione. In questo caso si raccomanda una valutazione medica con eventuale esecuzione di test diretti e determinazione delle transaminasi (ALT);
- Indeterminato: indica un risultato non valutabile per il quale si consiglia un controllo ad almeno un mese di distanza, la valutazione di fattori interferenti (autoanticorpi, fattore reumatoide, farmaci) ed eventualmente esecuzione di un test diretto;
- Negativo: indica un falso positivo al test di screening, non sono necessarie ulteriori valutazioni mediche o di laboratorio. Sono segnalati rari casi di false negatività in infezioni acute con sierconversione tardiva ed occasionali negatività sia del test di screening che del RIBA in soggetti immunocompromessi con sola positività dei test diretti.

3) Antigenemia (HCV core Ag)

La ricerca dell' antigene del core è un test di nuova generazione che può sostituire, in alcuni casi, la determinazione della viremia attraverso la ricerca del genoma virale. L'antigene del core è una struttura poliproteica che è conservata tra tutti i differenti genotipi virali. Il test si effettua con metodica CMIA (Architect, Abbott, HCV Antigen) ed ha una soglia di sensibilità di 3 fmol/L (0,06 pg/ml). L' HCV core Ag è rilevabile molto prima degli anticorpi anti HCV: la finestra sierodiagnostica (presenza del virus in assenza di anticorpi rilevabili) può prolungarsi fino a 12 settimane, mentre l'HCV core Ag è, in genere, rilevabile entro 2-3 settimane dall'infezione, quasi in contemporanea con la rilevazione della viremia con tecniche molecolari.

Un risultato positivo conferma l'attività replicativa virale e non servono ulteriori determinazioni che non abbiano una precisa motivazione clinica, come ad esempio l' ammissione alla terapia o la risposta virologica durante ed a fine trattamento terapeutico.

In caso di risultato negativo si tratta, in genere, di replicazione virale minima e/o non rilevabile, ma può trattarsi anche di guarigione spontanea o indotta dalla terapia. L' utilità di altri controlli a distanza è da valutare clinicamente in ogni singolo caso.

La ricerca dell'antigene, in presenza di test di screening (CMIA o EIA di 3° generazione) negativo è giustificata in alcuni casi particolari:

- soggetti in cui può esserci una risposta immunitaria deficiente con ridotta produzione di anticorpi;
- soggetti con fondato sospetto clinico di infezione;
- screening di pazienti ad elevato rischio di infezione (dializzati, tossicodipendenti per via ev).

4) Viremia (HCV-RNA) quantitativa

Test eseguito con tecnica molecolare PCR real time (Cobas TaqMan HCV Roche) che consente, mediante l'esecuzione di un singolo test, di determinare la presenza e contemporaneamente quantificare l' HCV-RNA (range dinamico 30 - 2x10⁸ UI/ml) permettendo di soddisfare sia le esigenze cliniche (test qualitativo) che di monitorare la

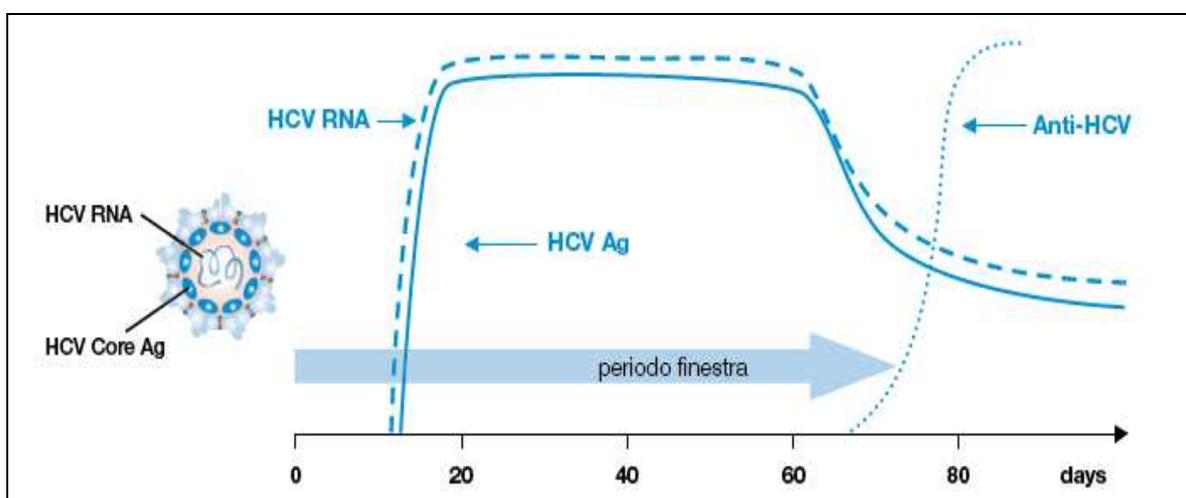
**DIPARTIMENTO MEDICINA DI LABORATORIO
U.O. MICROBIOLOGIA E VIROLOGIA**

risposta al trattamento antivirale (test quantitativo) e fornisce un'informazione accurata sui livelli di HCV circolante (carica virale o viral load).

I risultati sono espressi in numero di copie di RNA per ml o in UI/ml, il limite di sensibilità è <50 UI/ml.

Non c'è una correlazione accertata tra HCV-RNA quantitativo e gravità istologica o progressione della malattia, è invece accertato il valore predittivo di risposta virologica sostenuta la riduzione > 2 log della carica virale dopo 12 settimane di trattamento

La determinazione dell'HCV-RNA quantitativo trova indicazione soltanto nei pazienti candidati a trattamento, per monitorare la risposta terapeutica e prima e nel successivo follow-up.



Timeline dei marcatori di infezione da HCV

5) Genotipo virale

Sono stati identificati 6 genotipi di HCV (da 1 a 6) e diversi sottotipi degli stessi (a, b, c). Sono disponibili diversi test commerciali per la determinazione dei genotipi e sottotipi: il più diffuso è il test Inno-Lipa.

Come per la carica virale, non vi è correlazione tra genotipo e gravità istologica o progressione della malattia. Non vi è neanche correlazione tra genotipo e carica virale.

La determinazione del genotipo è utilizzata per studi epidemiologici o, nel singolo individuo, per determinare la probabilità di risposta ed il protocollo terapeutico con antivirali. Viene pertanto eseguito soltanto in previsione della terapia per valutare la probabilità di risposta e per stabilire la durata del trattamento.

La conoscenza del genotipo, di per sé, non determina la decisione terapeutica.

In casi in cui la decisione terapeutica è difficile (ad esempio nei soggetti di età avanzata) può rappresentare un dato aggiuntivo che aiuta a scegliere se trattare o no il soggetto.

La terapia antivirale ottimale è attualmente l'interferone pegilato in combinazione con la ribavirina per un periodo di 24 o 48 settimane, a seconda del genotipo del virus dell'epatite C e della rapidità della risposta terapeutica. Il trattamento è generalmente raccomandato per i pazienti con comprovata infezione da virus dell'epatite C e persistente alterazione dei test di funzionalità epatica e/o fibrosi significativa documentata alla biopsia epatica. Nelle sperimentazioni cliniche tale trattamento è risultato in grado di indurre una risposta virologica sostenuta (SVR) nel 42-52% dei pazienti con genotipo 1 dopo 48 settimane di trattamento e nel

DIPARTIMENTO MEDICINA DI LABORATORIO
U.O. MICROBIOLOGIA E VIROLOGIA

76-84% di quelli con genotipo 2 o 3 a 24 settimane di trattamento; in pazienti con genotipo 4, dopo 48 settimane di trattamento, la SVR si ha nel 65%. Le probabilità di SVR si riducono in soggetti di età superiore a 40-50 anni, in presenza di fibrosi avanzata o cirrosi e in caso di eccesso ponderale.

Nei pazienti con HCV di genotipo 1, se il trattamento con interferone pegilato + ribavirina non produce una riduzione del carico virale di 2 log o la clearance completa dell' RNA virale, definita "risposta virologica precoce" (EVR) dopo 12 settimane, le possibilità di successo del trattamento è inferiore a 1%. La EVR non è in genere valutata nei pazienti con genotipo non-1, in quanto le probabilità di raggiungerla sono superiori al 90%. Il meccanismo di cura non è del tutto chiaro, perché anche i pazienti che sembrano avere una risposta virologica sostenuta possono avere ancora replicazione attiva del virus nel fegato e cellule mononucleari del sangue periferico.

La prescrizione del trattamento deve tener conto dei frequenti effetti indesiderati, che possono richiederne la sospensione o riduzioni di dosaggio che ne diminuiscono l'efficacia.

Tabella 1: definizione dei termini usati correntemente per indicare la risposta alla terapia.

| | |
|---|--|
| RVR Rapid virological response = risposta virologica rapida | HCV-RNA negativo dopo 4 settimane di terapia |
| EVR Early virologic response = risposta virologica precoce | HCV-RNA negativo dopo 12 settimane di terapia |
| SVR Sustained Virological Response = risposta virologica sostenuta | HCV-RNA non rilevabile al termine del follow up a 24 settimane dopo il trattamento |
| Breakthrough= ripositivizzazione prima della sospensione del trattamento | HCV-RNA non rilevabile in corso di trattamento, ma successivamente positivo prima che la terapia sia terminata |
| Non Response = non risposta | HCV-RNA positivo al termine del trattamento |
| Relapse = recidiva | HCV-RNA negativo al termine del trattamento ma nuovamente positivo durante il follow up |
| ETR End of Treatment Response = risposta al termine del trattamento | HCV-RNA non rilevabile alla fine del trattamento (24 settimane per HCV genotipo 2 e 3 (o 16 settimane per i trattamenti "brevi" in caso di genotipi 2), 48 settimane per genotipo 1 e 4) |

6) Transaminasi (ALT)

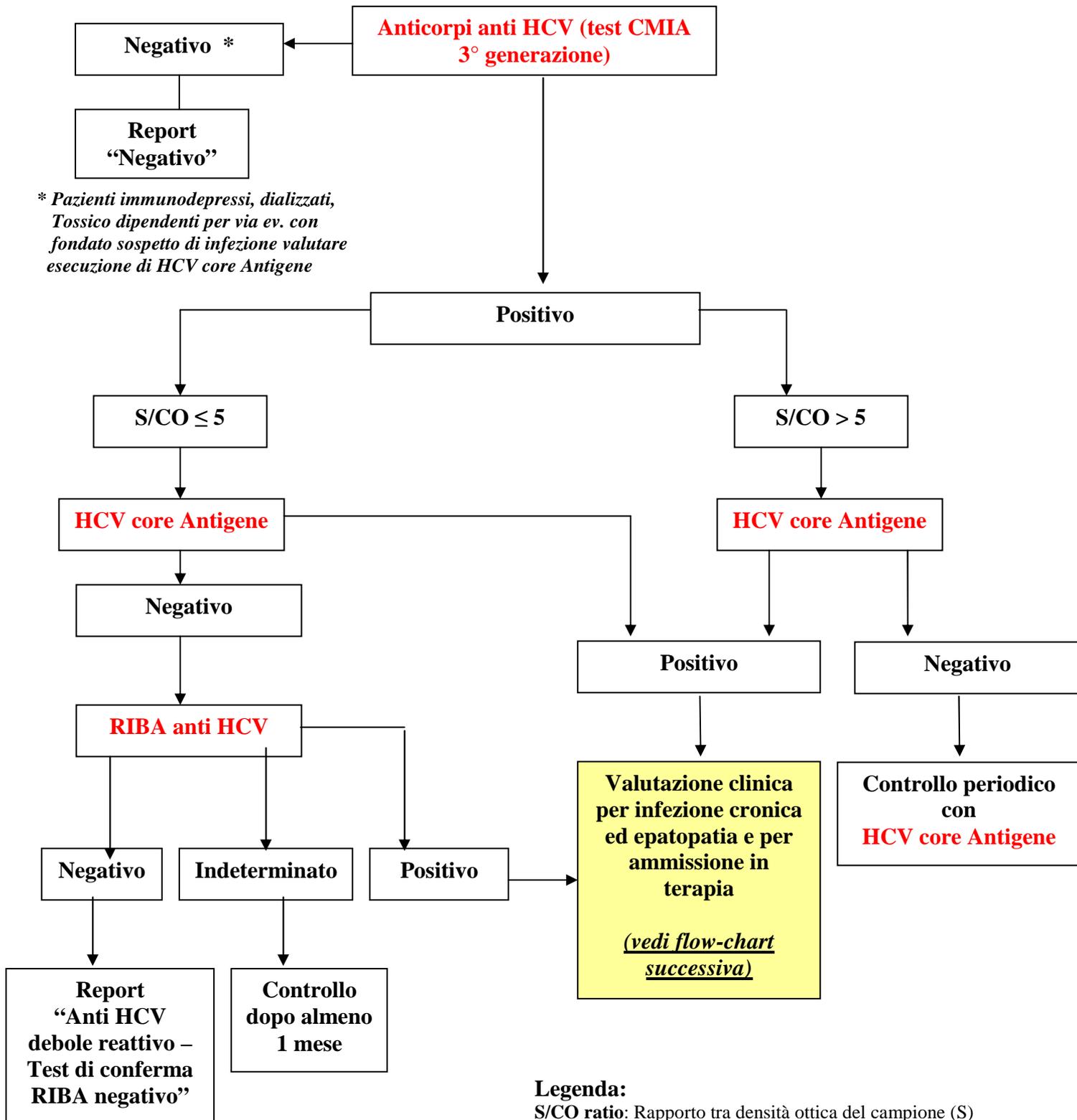
L'aumento delle ALT esprime un'aumentata citolisi epatica e, se è associato a positività del test anti HCV, è indicativo di epatite C.

Ogni soggetto con rilievo di ipertransaminasemia, di qualsiasi entità, che non abbia altra evidente giustificazione clinica, dovrebbe essere sottoposto a test anti HCV. In caso di positività è utile il monitoraggio mensile delle ALT per circa 6 mesi: se si confermano valori elevati o fluttuanti è accertata l'epatite cronica. Se le ALT risultano > 10 volte i valori normali, considerare la possibilità di un'epatite acuta o di una riacutizzazione.

Il valore delle ALT è inoltre utilizzato per valutare la risposta biochimica alla terapia e per monitorare il paziente con un'epatite cronica già accertata: utili almeno 1 o 2 determinazioni l'anno.

Vi è una debole correlazione tra valore delle ALT e gravità del danno istologico epatico.

Algoritmo diagnostico dell' Epatite C presso l' APSS di Trento



Legenda:

S/CO ratio: Rapporto tra densità ottica del campione (S) e densità ottica del cut-off (CO)

Flow-chart Epatite C pazienti da ammettere o in monitoraggio terapia antivirale presso l' APSS di Trento

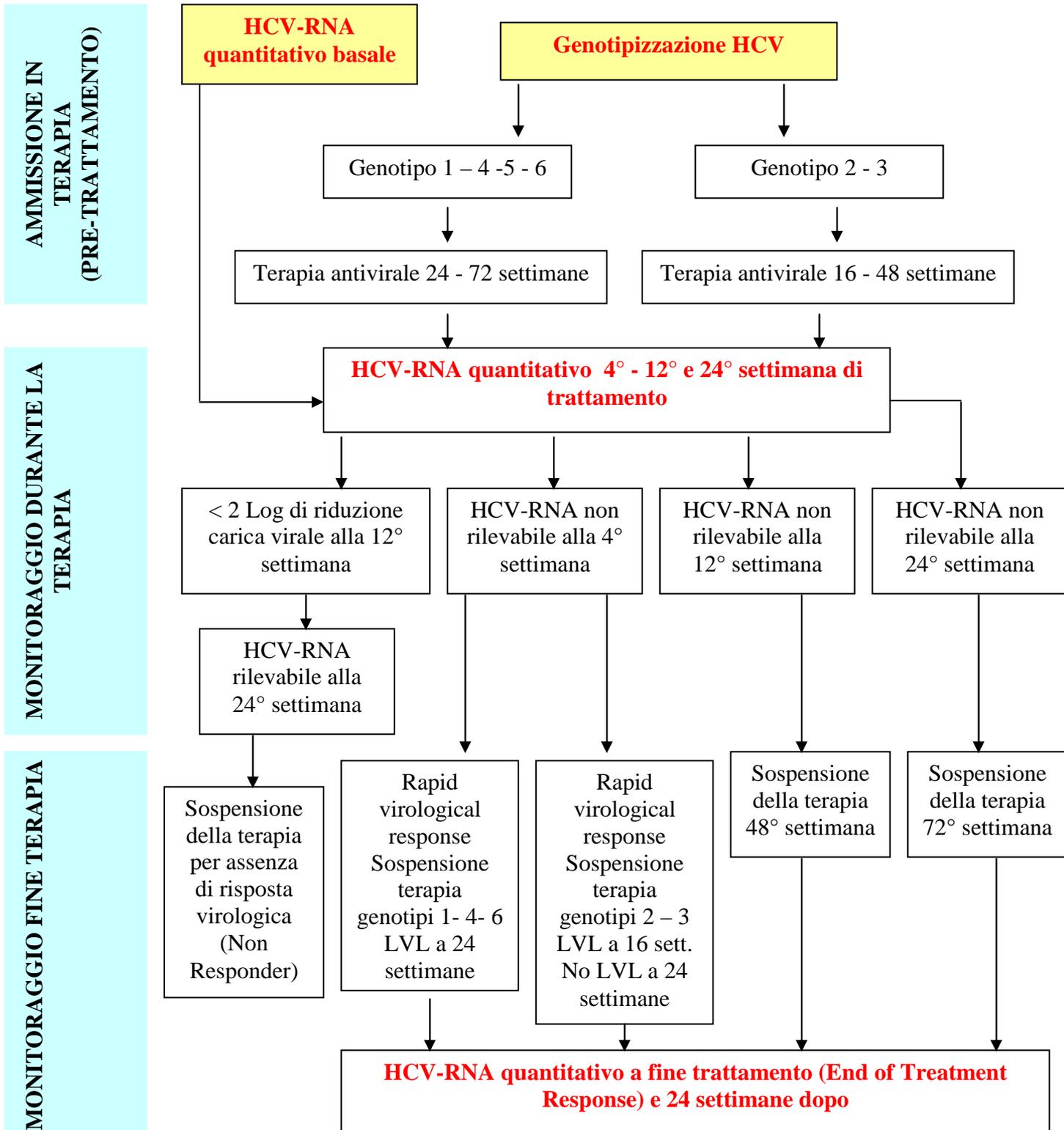


Tabella 2: Interpretazione riassuntiva dei risultati dei test per la diagnosi di Epatite C

| RISULTATI TEST DIAGNOSTICI HCV | | | INTERPRETAZIONE | TEST SUPPLEMENTARI |
|--|----------------|----------------------|------------------------|---|
| Anti HCV screening (CMIA o EIA) | HCVc Ag | Anti HCV RIBA | | |
| Negativo | Non necessario | Non necessario | Non segni di infezione | In soggetti immunodepressi o appartenenti a categorie ad alto rischio di infezione si consiglia HCVc Ag |
| Positivo (S/CO ratio <5) | Negativo | Negativo | Dubbia | Controllo dopo 1 mese |
| Positivo (S/CO ratio <5) | Negativo | Positivo | Infezione pregressa | Controllo periodico (non prima di 3 mesi) |
| Positivo (S/CO ratio <5) | Negativo | Indeterminato | Dubbia | Controllo dopo 1 mese |
| Positivo (S/CO ratio <5) | Positivo | Non necessario | Infezione attiva | Valutare per ammissione terapia antivirale |
| Positivo (S/CO ratio >5) | Negativo | Positivo | Infezione pregressa | Controllo periodico (non prima di 3 mesi) |
| Positivo (S/CO ratio >5) | Negativo | Negativo | Dubbia | Controllo dopo 1 mese |
| Positivo (S/CO ratio >5) | Negativo | Indeterminato | Dubbia | Controllo dopo 1 mese |
| Positivo (S/CO ratio >5) | Positivo | Non necessario | Infezione attiva | Valutare per ammissione terapia antivirale |

Bibliografia

1. Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L; Center for Disease Control and Prevention. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. *MMWR Recomm Rep* 2003; 52: 1-13
2. Bellentani S, Pozzato G, Saccoccio G, Crovatto M, Crocè LS, Mazzoran L. Clinical course and risk factors of hepatitis C virus related liver disease in the general population: report from the Dionysos study. *Gut* 1999;44:874-80.
3. Bouvier-Alias M, Patel K, Dahari H, Beaucourt S, Larderie P, Blatt L, Hezode C, Picchio G, Dhumeaux D, Neumann AU, McHutchinson JG, Pawlotsky JM. Clinical utility of total HCV core antigen quantification: a new indirect marker of HCV replication. *Hepatology* 2002; 36:211-18.
4. Bouzgarrou N, Fodha I, Ben Othman S, Achour A, Grattard F, Trabelsi A, Pozzetto B. Evaluation of a total core antigen assay for the diagnosis of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients. *J. Med. Virol.* 2005; 77:502-8.
5. Chapko MK, Sloan KL, Davison JW, Dufour DR, Bankson DD, Rigsby M, Dornitz A, and the Hepatitis C Resource Center Program, Department of Veterans Affairs. Cost effectiveness of testing strategies for chronic hepatitis C. *Am. J. Gastroenterol.* 2005; 100:607-615.
6. Chevaliez S, Pawlotsky JM. Use of virological assays in the diagnosis and management of hepatitis C virus infection. *Clin. Liver Dis.* 2005; 9:371-382.
7. Consensus Conference. Optimization of the procedure for the detection of hepatitis C virus infected subjects. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1997;29:387.
8. Conti A, Pradella M. Le infezioni da virus epatotropi: la strategia diagnostica. *RIMeL/IJLaM* 2010; 6 (Suppl.):1-9
9. Dufour Dr, Talastas M, Fernandez MD, Harris B, Strader DB, Seeff LB. Low positive anti-hepatitis C virus enzyme immunoassay results: an important predictor of low likelihood of hepatitis C infections. *Clin Chem* 2003; 49: 479-86
10. Guadagnino V, Stroffolini T, Rapicetta M, Costantino A, Kondili LA, Menniti-Ippolito F, et al. Prevalence, risk factors and genotype distribution of hepatitis C virus infection in the general population: a community-based survey in Southern Italy. *Hepatology* 1997; 26: 1006-11.
11. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff L; American association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology* 2009; 49: 1335-74
12. Glynn SA., Wright DJ, Kleinman SH, Hirschhorn D, Tu Y, Heldebrandt C, Smith R, Giachetti C, Gallarda J, Busch MP. Dynamics of viremia in early hepatitis C virus infection. *Transfusion* 2005; 45:994- 1002.
13. Global burden of disease (GBD) for hepatitis C. *J Clin Pharmacol* 2004; 44: 20-9.
14. Istituto Superiore di Sanità. Expert Consensus Conference: lo screening per infezione da virus dell'epatite C in Italia. *Rapporti ISTISAN* 06/47; 2005
15. Kondili LA, Chionne P, Costantino A, Villano U, Lo Noce C, Pannozzo F, et al. Infection rate and spontaneous seroreversion of anti-hepatitis C virus during the natural course of hepatitis C virus infection in the general population. *Gut* 2002;50:693-6.
16. Lange C, Sarrazin C. Diagnostic test in acute and chronic hepatitis C: Chapter 12. In Mauss S, Berg T, Rockstroh J, Sarrazin C, Wedemeyer H. *Hepatology: a clinical textbook*. Flying ed. 2nd edition; Dusseldorf 2010: 159-69
17. Laperche S, Le Marrec N, Girault A, Bouchardeau F, Servant-Delmas A, Maniez-Montreuil M, Gallian P, Levayer T, Morel P, Simon N. Simultaneous detection of hepatitis C virus (HCV) core antigen and anti-HCV antibodies improves the early detection of HCV infection. *J. Clin. Microbiol.* 2005;43:3877-83.
18. Maggi G, Armitano S, Brambilla L, Brenna M, Cairo M, Galvani G, et al. Hepatitis C infection in an Italian population not selected for risk factors. *Liver* 1999;19:427-31.
19. Mederacke I, Wedemeyer H, Ciesek S, Streinmann E, Raupach R, Wursthorn K, Manns MP, Tillmann HL.. Performance and clinical utility of a novel fully automated quantitative HCV-core antigen assay. *J. Clin. Virol.* 2009; 46: 210-215.
20. Morota K, Fujinami R, Kinukawa H, Machida T, Ohno K, Saegusa H. A new sensitive and automated chemiluminescent microparticle immunoassay for quantitative determination of hepatitis C virus core antigen. *J Virol Methods* 2009;157:8-14.
21. Nick S, Scheiblauber H. Sensitivities of CE-marked HIV, HCV, and HBsAg assays. *J. Med. Virol.* 2007; 79: S59-S64.

DIPARTIMENTO MEDICINA DI LABORATORIO
U.O. MICROBIOLOGIA E VIROLOGIA

22. Pendino GM, Mariano A, Surace P, Caserta CA, Fiorillo MT, Amante A, et al. Prevalence and etiology of altered liver tests: a population-based survey in a Mediterranean town. *Hepatology* 2005;41:1151-9.
23. Quaglio GL, Lugoboni F, Pajusco B, Sarti M, Talamini G, GICS, et al. Hepatitis C virus infection: prevalence, predictor variables and prevention opportunities among drug users in Italy. *J Viral Hepat* 2003;10:394-400
24. Regione Friuli Venezia Giulia. Progetto regionale HCV protocollo di intervento unificato. Delibera Regionale 2586; 2002.
25. Romanò L, Azara A, Chiaramonte M, De Mattia D, Giammanco A, Moschen ME, et al. Low prevalence of anti-HCV antibody among Italian children. *Infection* 1994; 22:350-2.
26. Ross S, Viazov S, Salloum S, Hilgard P, Gerken G, Roggendorf M. Analytical Performance Characteristics and Clinical Utility of a Novel Assay for Total Hepatitis C Virus Core Antigen Quantification. *J Clin Microbiol* 2010; 48(4): 1161–68
27. Sagnelli E, Stroffolini T, Mele A, Almasio P, Coppola N, Ferrigno L, et al. The importance of HCV on the burden of chronic liver disease in Italy: a multicenter prevalence study of 9,997 cases. *J Med Virol* 2005;75:522-7.
28. Scott J D, Gretch DR. Molecular diagnostics of hepatitis C virus infection: a systematic review. *JAMA* 2007; 297:724–32.
29. Standards Unit, Department for Evaluations, Standards and Training. Investigation of hepatitis C infection by antibody testing or combined antigen/antibody assay. VSOP 5; 2010. Disponibile su URL: <http://www.hpa-standardmethods.org.uk/documents/vsop/pdf/vsop5.pdf>
30. Tillmann HL, Wiegand J, Glomb I, Jelineck A, Picchio G, Wedemeyer H, et al. Diagnostic algorithm for chronic hepatitis C virus infection: role of the new HCV-core antigen assay. *Z Gastroenterol* 2005;43:11–6.

All. 1

SCHEDA RICHIESTA MOTIVATA HCV-RNA
(Compilare obbligatoriamente in tutti i campi)

Paziente (Cognome, Nome) _____

Reparto richiedente _____

Medico richiedente _____

Motivo della richiesta:

- Valutazione ammissione in terapia antivirale**
- Controllo 4° settimana dall' inizio della terapia**
- Controllo 12° settimana dall' inizio della terapia**
- Controllo 24° settimana dall' inizio della terapia**
- Controllo 48° settimana dall' inizio della terapia**
- Controllo 72° settimana dall' inizio della terapia**
- Controllo 24° settimana dalla fine della terapia**

Risultato Anticorpi anti HCV: _____ **Eseguiti il:** _____ **Presso:** _____

Risultato Antigene core HCV: _____ **Eseguito il:** _____ **Presso:** _____

Firma leggibile del richiedente

N.B.: Le richieste di dosaggio HCV-RNA non accompagnati dalla scheda non saranno eseguiti