



Prevalentie van het hepatitis C-virus onder de patiëntenpopulatie van de Spoed Eisende Hulp van het Academisch Ziekenhuis Paramaribo



Afstudeerverslag ter verkrijging van de graad van
Bachelor of Applied Technology (BTech.)
in de studierichting Hoger Laboratorium Onderwijs

S. Parag
A. Santokhie

Paramaribo, september 2013

Prevalentie van het hepatitis C-virus onder de patiëntenpopulatie van de Spoed Eisende Hulp van het Academisch Ziekenhuis Paramaribo



Afstudeerverslag ter verkrijging van de graad van
Bachelor of Applied Technology (BTech.)
in de studierichting Hoger Laboratorium Onderwijs

Naam student + studentenreg.nr:	Sharmila Parag	10910
	Anushka Santokhie	10920
Docent-begeleider:	Drs. S. Ottevanger	
Bedrijfsbegeleider:	Drs. J. Roosblad	

Paramaribo, september 2013

Voorwoord

Het leerproces op het Poly Technic College (PTC) wordt gestuurd middels het uitvoeren van projecten met een probleemopdracht en een probleemstelling. Kort gezegd: projectgestuurd onderwijs en probleemgestuurd onderwijs (PGL/PGO). Hierdoor wordt de student in staat gesteld om technische en economische kennis te gebruiken in praktijksituaties, om zelfstandig problemen aan te pakken en op te lossen en om het eigen leerproces te sturen. Ter afronding van de studie wordt er een onderzoek gedaan dat dan in een verslagvorm wordt gezet met daarin alle problemen, onderzoekingen en bevindingen. Na het met succes afronden van het afstudeerproject krijgt de student de titel van Bachelor of Applied Technology (BTech) in de studierichting Hoger Laboratorium Onderwijs.

Ons afstudeerproject gaat over een studie van het hepatitis C-virus en het nagaan wat de prevalentie is binnen de Surinaamse bevolking.

Voor de uitvoering van dit project hebben wij eerst een literatuurstudie gedaan over het hepatitis C-virus, verder zijn wij nagegaan of er gegevens zijn van prevalentie in Suriname en middels steekproefonderzoek en analyse is nagegaan wat de huidige prevalentie in Suriname is.

Onze dank, aan eenieder, die ons heeft geholpen, met name mevrouw Sabajo van het Centraal laboratorium. Bijzondere dank brengen we uit aan de docent-begeleider drs. S. Ottevanger en bedrijfsbegeleider drs. J. Roosblad voor de begeleiding en ondersteuning.

Paramaribo, september 2013

Parag S. 10910

Santokhie A. 10920

Inhoudsopgave

Lijst van tabellen	V
Lijst van figuren.....	VI
Samenvatting.....	VII
Summary	VIII
Inleiding	9
1 De lever.....	11
1.1 Leverfunctieonderzoek.....	11
2 Hepatitis C.....	15
2.1 Hepatitis C-prevalentie	15
2.2 Hepatitis C-data van het Centraal Laboratorium, Suriname	17
2.3 Ontdekking van hepatitis C.....	19
2.4 Taxonomie	19
2.5 Hepatitis C-subtypes: de genotypes	20
2.6 Transmissie	21
2.7 Klinische manifestatie.....	22
2.8 HCV-replicatiecyclus.....	25
2.9 Immuniteit.....	26
2.10 Diagnose van hepatitis	27
2.11 Behandeling van hepatitis C	30
3 Opzet HCV-onderzoek.....	32
3.1 Enquête onderzoek.....	32

4 Analysemethoden	36
4.1. Elisa.....	36
4.2 Moleculaire techniek.....	40
5 Onderzoeksresultaten.....	47
5.1 Serologieresultaten.....	47
5.2 Enquêteresultaten	48
5.3 Viral load resultaten.....	57
Discussie	58
Conclusie	60
Aanbevelingen	61
Literatuurlijst	62
Bijlagen	66
Bijlage 1: Toestemmingsformulier Hepatitis C-onderzoek	66
Bijlage 2: Hepatitis C-vragenlijst.....	68

Lijst van tabellen

	Blz
Tabel 1 Hepatitis C geschatte prevalentie en het aantal besmet door WHO-regio	16
Tabel 2 Aantal opgenomen HCV-positieve patiënten gedurende periode 2001 – 2011	17
Tabel 3: Aantal HCV-positieve patiënten naar etniciteit	17
Tabel 4: Populatie per etniciteit, Suriname (2004 census)	19
Tabel 5: Hepatitis C-positieve de in grijze zone, met extinctiewaarde	48
Tabel 6: Kenmerken van de studiepoulatie, tezamen met hepatitis C-resultaat	49
Tabel 7: Hepatitis C-resultaten verdeeld naar verschillende mogelijke risicofactoren (% naar rij aangegeven)	52
Tabel 8: Mogelijke risicofactoren voor hepatitis C (% naar kolom aangegeven)	53
Tabel 9: Hepatitis C-resultaten verdeeld naar leeftijdscategorie	55
Tabel 10: Odds Ratio van de mogelijke Risicofactoren voor hepatitis C	57
Tabel 11: Resultaten viral load van de ELISA positieve samples	58

Lijst van figuren

	Blz
Figuur 1 De ogen van een patiënt met hepatitis	12
Figuur 2 Hepatitis C-prevalentie in 1999	15
Figuur 3 Prevalentie wereldwijd aangegeven in procenten	16
Figuur 4 Aantal opgenomen patiënten met HCV gedurende periode 2001 – 2011	17
Figuur 5 Aantal opgenomen patiënten met HCV gedurende periode 2001– 2011 naar etniciteit	18
Figuur 6 Cumulatief aantal positieve hepatitis C-gevallen naar leeftijdsgroep en geslacht van zowel gehospitaliseerde als niet-gehospitaliseerde gevallen.	18
Figuur 7a Schematische weergave van HCV	20
Figuur 7b Electronenmicroscopafbeelding van het hepatitis C-virus geproduceerd uit een celkweek	20
Figuur 8a Verloop van een acute HCV-infectie	24
Figuur 8b Verloop van een chronische HCV-infectie	24
Figuur 9 Weergave van verloop van de verschillende aandoeningen van de lever	25
Figuur 10 Weergave van HCV-replicatiecyclus	26
Figuur 11 Het resultaat van een directe ELISA, gebruikt om twee samples te testen Sample 2 bevat het ‘target’ eiwit, sample 1 niet	38
Figuur 12 Het principe van de indirecte ELISA	39
Figuur 13 Het principe van de capture (sandwich) ELISA.	39
Figuur 14 ADVIA Centaur CP®	40
Figuur 15 Weergave reactie “sandwich” ELISA	40
Figuur 16 Weergave reactie PCR	43
Figuur 17 Voorbeeld van een thresholdcyclus ³⁴	44
Figuur 18 Genoomorganisatie van hepatitis C-virus	47
Figuur 19 Hepatitis C-resultaten naar leeftijdscategorie	56

Samenvatting

Wereldwijd is de prevalentie van het hepatitis C-virus (HCV) geschat op ongeveer 3%. Door de World Health Organization (WHO) wordt de HCV-prevalentie in Suriname geschat op 1 - 5,5%. Suriname heeft geen duidelijk beeld van het aantal mensen dat geïnfecteerd is met hepatitis C. Aangezien er maar één Spoed Eisende Hulp (SEH) is in Paramaribo, wordt aangenomen dat patiënten die de SEH bezoeken, een redelijk goede vertegenwoordiging kunnen zijn van de algehele Surinaamse populatie. Met dit project trachten wij de prevalentie van HCV onder de SEH-bezoekers van het Academisch Ziekenhuis Paramaribo (AZP) te onderzoeken, om zodoende een beeld te kunnen krijgen van het aantal mensen dat geïnfecteerd is met het hepatitis C-virus.

Gedurende een maand (5 november 2012 – 5 december 2012) zijn de SEH-bezoekers gevraagd om te participeren in dit onderzoek. Er is uitgegaan van 1500 – 2000 personen die de SEH zullen bezoeken. Ongeacht de reden van bezoek, werden deze patiënten geïncludeerd in de studie mits ouder dan 18 jaar, toestemming gaven (schriftelijk of mondeling) en zich niet in een kritieke toestand bevonden. Bij alle geïncludeerden werd er bloed afgenomen en een vragenlijst ingevuld. In deze vragenlijst werden onder andere opgenomen: leeftijd, etniciteit, en de mogelijke risicofactoren voor het oplopen van HCV. Iedere sample werd onderzocht op hepatitis C-virusantistof met behulp van Enzym Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) test. De HCV-positieve resultaten en de resultaten in de grijze zone verkregen uit de ELISA-test, werden verder getest op viral load, en de HCV-positieve resultaten verkregen uit viral load worden opgestuurd naar Nederland voor de genotypering.

Bij het onderzoek zijn uiteindelijk na exclusie van mensen die hebben geweigerd een totaal van 1998 mensen geïncludeerd. Uit het totaal van 1998 samples waren 13 (0.7%) HCV-positief, 20 (2.0%) bevonden zich in de grijze zone (twijfelachtig resultaat), en de rest (1965 (98.3%)) was negatief. De HCV-prevalentie onder de SEH-bezoekers was aanzienlijk lager dan de geschatte waarde van de WHO.

De gemiddelde leeftijd van alle bezoekers was 42, waarbij er tweemaal meer mannen dan vrouwen waren. Van alle etniciteiten werden de Hindoestanen en de creolen goed gerepresenteerd. Op basis van positieve resultaten binnen de etniciteit zijn er meer Hindoestanen positief getest. Maar naar etniciteit zijn er relatief meer Javanen gevonden.

Van de risicofactoren operatie, tatoeage, permanente make-up, piercings, koti's en besnijdenis bestaat de kans voor het oplopen van hepatitis C-infectie.

Van de HCV-positieve resultaten verkregen van de ELISA-test zijn op één na allemaal viral load positief.

Summary

Worldwide, the prevalence of Hepatitis C virus (HCV) is estimated at about 3%. By the World Health Organization (WHO), the HCV prevalence in Suriname is estimated to be 1.0 - 5.5%. Suriname has no clear picture of the number of people infected with hepatitis C. Since there is only one Emergency Room (ER) in Paramaribo, the patients who visit the ER are thought to be a reasonable representation of the overall Surinamese population.

With this project we seek to investigate the prevalence of HCV under the visitors at the Emergency Room of the Academic Hospital Paramaribo (AZP) in order to have an indication of the number of people infected with hepatitis C virus in Suriname. During one month (5 November 2012-5 December 2012), the ER visitors were requested to participate in this investigation. Regardless of the reason for visiting the ER, all patients 18 years and older, not in critical condition, were asked to participate in the study. All patients had to give informed consent oral, or written. Blood samples and a questionnaire were taken from all included patients. This questionnaire included age, ethnicity, and the various possible risk factors for getting infected with HCV. Each sample was tested for hepatitis C virus antibody using the Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) test. The HCV-positive results and the results in the gray zone obtained from the ELISA were further tested for viral load, and HCV-positive results obtained from viral load were sent to Nederland for genotyping.

After exclusion of people who have declined, there were a total of 1998 questionnaires with corresponding blood samples. From the total of 1998 samples 13 (0.7%) HCV positive, 20 (2.0%) were in the gray zone (questionable result) and the remainder 1965 (98.3%) were negative. The HCV prevalence amongst the emergency room visitors was significantly lower than the estimated value of the WHO.

The average age of all visitors was 42, and there were twice as many men than women. Of all ethnicities, Hindus and Creoles were the largest group. Based on positive results within the ethnicity, there are more Hindus tested positive. But according to ethnicity, there are relatively more Javanese patients with HCV. The following risk factors were associated with an increased chance of HCV: having surgery, tattoo, permanent makeup, piercing's, "koti's" and circumcision.

Of all HCV-positive results obtained from the ELISA, there was with one negative viral load.

Inleiding

Hepatitis C is een virus dat de lever aantast. De overdracht van het hepatitis C-virus (HCV) vindt hoofdzakelijk plaats via bloed-bloedcontact, bijvoorbeeld door het delen van naalden tijdens injecterend drugsgebruik of blootstelling aan geïnfecteerd bloed, bloedproducten of transplantaten. Sinds 2000 manifesteert HCV zich in toenemende mate als seksueel overdraagbare aandoening bij hiv-seropositieve mannen die seks hebben met mannen (MSM). HCV kan eveneens van moeder op kind worden overgedragen. Dit risico neemt aanzienlijk toe wanneer de moeder gecoïnficeerd is met hiv. Ook worden heteroseksuele en andere transmissieroutes van HCV geconstateerd, maar de efficiëntie van deze routes wordt laag verondersteld.¹⁴

De acute fase van een HCV-infectie verloopt meestal zonder of met slechts milde aspecifieke klachten, zoals koorts, misselijkheid, griepigheid en buikpijn, maar soms ook met icterus (geelzucht). Bij 60-85% van de patiënten blijft het virus na infectie in het lichaam aanwezig, zij worden chronisch drager. Klinische complicaties van chronisch dragerschap ontwikkelen zich vaak pas tientallen jaren na infectie. Na 20 jaar ontstaat bij 6-25% van de chronisch geïnfecteerde patiënten levercirrose. De diagnose hepatitis C wordt hierdoor veelal pas in een laat stadium gesteld, zodat de bron en route van infectie moeilijk te achterhalen zijn. Het hepatitis C-virus is, afhankelijk van het genotype, tamelijk goed behandelbaar, schade aan de lever echter niet¹⁵

-Er is vooralsnog geen therapie aanwezig voor HCV in Suriname, echter zijn er wel medische adviezen zoals geen alcoholgebruik, geen vetig eten, wat de progressie van de ziekte kan vertragen bij vroege opsporing. Met dit onderzoek willen we de spreiding van HCV, de viral load en de genotypes, in de Surinaamse bevolking onderzoeken en de determinanten bijvoorbeeld etniciteit evalueren. Als eerst zijn we nagegaan of er gegevens of data zijn van het aantal gevallen van HCV in Suriname.

Wereldwijd is de prevalentie van hepatitis C (HCV) geschat op ongeveer 3%. Door de World Health Organization (WHO) wordt de HCV-prevalentie in Suriname geschat op 1 - 5,5%. Suriname heeft geen duidelijk beeld van het aantal mensen dat geïnfecteerd is met hepatitis C, aldus drs. Lesley Resida, directeur van het Bureau Openbare Gezondheidszorg (BOG) in Suriname. Hij reageert hiermee op uitspraken van het Nederlandse Gezondheidsinstituut (NIGZ) dat 2 tot 10 procent van de Surinamers deze infectieziekte zou hebben. Het instituut is een voorlichtingscampagne in Nederland begonnen die onder andere gericht is op Surinamers (en Arubanen en Antillianen) in Nederland. Suriname en de Antillen zouden namelijk tot de grote hepatitis C-risicogebieden behoren. “Maar er zijn geen cijfers bekend in Suriname”, zegt drs. Resida. “Er is geen grootschalig onderzoek geweest om de besmettingsgraad binnen de

bevolking te bepalen, alleen incidentele bepalingen; als de patiënt al in een vergevorderd stadium is met alle complicaties van dien.”

Met dit project willen we de prevalentie van HCV onder de bezoekers van de de Spoed Eisende Hulp (SEH) van het Academisch Ziekenhuis Paramaribo (AZP) onderzoeken, om zodoende een beeld te kunnen krijgen van het aantal mensen dat geïnfecteerd is met hepatitis C. Voor het bepalen van een representatieve steekproef voor de algehele populatie werd de SEH-populatie geanalyseerd. Deze bleek representatief te zijn wat de man/vrouw-verhouding, betreft, echter niet voor leeftijd of etniciteit. Echter gezien het feit dat het onderzoek gaat over de spreiding van HCV onder de SEH-bezoekers, wordt dit onderzoek gezien als een pilot project, waaruit adviezen kunnen komen volgende grootschalige onderzoeken. Wat de leeftjidsverdeling betreft, is de SEH-populatie significant ouder. De groep boven de 20 jaar in de SEH-populatie was wel vergelijkbaar met de algehele populatie. Gezien het voornoemde, en het feit dat hepatitis C een ziekte is die vooral bij mensen boven de 20 voorkomt, is de studiepoulatie: alle personen boven de 18 jaar die de SEH bezoeken.

Alle patiënten die gedurende de periode 5 november 2012 – 5 december 2012 de SEH hebben bezocht, zijn gevraagd te participeren in dit onderzoek. Uit eerdere SEH-data (verkregen van AZP) is geschat dat er tussen 1500 – 2000 personen de SEH gedurende een maand bezoeken. Ongeacht de reden van bezoek, werden deze patiënten geïncludeerd in de studie mits ouder dan 18 jaar, toestemming gaven (schriftelijk of mondeling) en zich niet in een kritieke toestand bevonden. Bij alle geïncludeerden werd er bloed afgenomen en een vragenlijst ingevuld. De vragenlijst bevatte verschillende determinanten, zoals mogelijke risicofactoren voor het oplopen van HCV: bloedtransfusies in het verleden, tatoeages en/of piercings. Iedere sample werd onderzocht op hepatitis C-virusantistof met behulp van Enzym Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) test. Alle HCV-positieve resultaten verkregen uit Elisa zijn getest op viral load, en worden vervolgens getest op genotypering in Nederland.

Er is eerst algemeen gekeken naar de ziekte en waar deze zich voornamelijk manifesteert. Daarom is begonnen met de lever in hoofdstuk 1 en vervolgens is er informatie gegeven over hepatitis C, in hoofdstuk 2. Hierin worden de prevalentie, de verschillende typen, diagnose en behandeling van HCV besproken, en andere onderwerpen die van belang zijn met betrekking tot dit virus en de ziekte, inclusief bekende data van HCV in Suriname. Als laatst worden het onderzoek, de analysemethoden en de verkregen resultaten besproken in hoofdstuk 3, 4 en 5 respectievelijk. De informatie uit het verslag is gehaald uit artikelen, internetbronnen en verschillende publicaties, waarnaar met behulp van noten specifiek wordt verwezen. Alle bronnen waaruit informatie is gehaald, worden in de referentielijst vermeld.

1 De lever

De lever is een belangrijk orgaan en ligt rechtsboven in de buikholte, vlak achter de ribben. Bij volwassenen weegt de lever ongeveer anderhalve kilo.

De lever heeft veel verschillende functies. In de lever vindt de aanmaak van galvloeistof en stapeling van vitamines en mineralen plaats. Ook worden in de lever veel essentiële stoffen geproduceerd zoals eiwitten en vetten. Verder maakt de lever giftige stoffen en medicijnen onschadelijk en speelt hij een belangrijke rol bij de energiehuishouding.

De lever heeft een grote reservecapaciteit en een groot herstelvermogen. Vanwege de grote reservecapaciteit van de lever geven leverziekten vaak pas in een laat stadium klachten als de lever geheel verschrompeld of aangetast is. In een vroeg stadium hebben veel mensen met leverziekten geen klachten. Dit komt doordat het gezonde deel van de lever de verschillende functies goed genoeg kan uitvoeren. ¹⁵

1.1 Leverfunctieonderzoek

Bij het leverfunctieonderzoek wordt een bloedonderzoek gedaan. Hierbij worden de leverfuncties zoals leverenzymen, eiwitten en bilirubine (galkleurstof) in het bloed onderzocht. De verkregen waarden zeggen iets over het functioneren van de lever en worden daarom ook wel de ‘leverfuncties’ genoemd. De waarden van de leverfuncties vallen binnen de normale grenzen (referentiewaarden) bij gezonde mensen. Als de waarden van de leverfuncties abnormaal zijn, kunnen deze wijzen op een leverziekte. In het beginstadium van een leverziekte zijn er meestal nog geen lichamelijke klachten, terwijl de leverfuncties al wel veranderd zijn. Dit heeft te maken met de grote reservecapaciteit van de lever. Lichamelijke klachten treden pas op wanneer de lever al behoorlijk beschadigd is. Veranderde leverfuncties wijzen niet altijd op een leveraandoening. Afwijkende leverfuncties kunnen ook veroorzaakt worden door alcoholgebruik, medicijngebruik, ondervoeding, ernstig overgewicht en erg vet eten.

Leverfunctieonderzoek wordt gedaan ter controle. Bijvoorbeeld bij mensen met een leveraandoening. Door middel van leverfunctieonderzoek worden het verloop en de ernst van de ziekte gecontroleerd. Bij gebruik van bepaalde medicijnen, die (erg) schadelijk kunnen zijn voor de lever, wordt ook regelmatig leverfunctieonderzoek gedaan. ¹⁶

De mate van de verhoging en de verhouding tussen de verschillende leverfuncties geven aan aan welke soort leveraandoening gedacht moet worden. Om een definitieve diagnose te stellen is

aanvullend onderzoek vaak noodzakelijk. In de meeste gevallen zal dit een echo van de lever zijn, CT-scan of een leverpunctie.¹⁶

Verschillende leverfuncties

Het standaardleverfunctieonderzoek bestaat uit verschillende bepalingen. Deze hebben allemaal te maken met de verschillende processen die zich in de lever afspelen.¹⁶

Deze zijn:

- Bilirubine
- Albumine
- ALAT, ASAT en LDH
- Alkalische fosfatase (AF) en gamma
- Protrombinetijd (PTT of stollingstijd)

Deze bepalingen worden hieronder verder toegelicht.

Bilirubine

Bij de afbraak van rode bloedlichaampjes uit de rode bloedkleurstof ‘hemoglobine’ komt bilirubine vrij. Bilirubine wordt vanuit het bloed opgenomen in de lever, omgevormd en vervolgens met de galvloeistof afgevoerd naar de galblaas. De omgevormde bilirubine verlaat het lichaam met de ontlasting.

Een verhoogd bilirubinegehalte in het bloed betekent dat de lever niet optimaal functioneert en dit gaat vrijwel altijd gepaard met geelzucht, ook wel icterus genoemd (zie figuur 1). Hierbij kleurt als eerste het oogwit maar later ook de huid geel. Dit komt doordat bilirubine een intens gele kleur heeft.¹⁶



*Figuur 1 De ogen van een patiënt met hepatitis*⁶

Er zijn veel verschillende leveraandoeningen waarbij het bilirubinegehalte in meer of mindere mate is verhoogd. Bijvoorbeeld bij:

- levercirrose

- primaire biliaire cirrose (PBC)
- verschillende vormen van hepatitis
- het syndroom van Gilbert
- aandoeningen waarbij de afvoer van galvloeistof is belemmerd, zoals bij galstenen, primaire scleroserende cholangitis (PSC) en de aangeboren aandoening ‘galgangatresie’.¹⁶

Bij pasgeboren baby’s wordt regelmatig een verhoging van het bilirubinegehalte vastgesteld, wat meestal ook geelzucht veroorzaakt. Dit komt omdat de eerste dagen na de geboorte de lever nog niet optimaal functioneert. De bilirubine wordt niet snel genoeg vanuit het bloed in de lever opgenomen. Na enkele dagen verdwijnt de gele kleur vaak vanzelf. Soms wordt lichttherapie toegepast, waarbij de baby onder een UV-lamp of in rechtstreeks zonlicht achter het raam wordt gelegd. De bilirubine wordt dan versneld afgebroken.¹⁶

Albumine

Albumine is een belangrijk eiwit dat aangemaakt wordt door de lever, en afgegeven wordt aan het bloed. Albumine dient onder andere als transportmiddel voor calcium (kalk), bilirubine, geneesmiddelen, hormonen en vetzuren.¹⁶

Een laag albuminegehalte in het bloed kan een aanwijzing zijn voor een slecht functionerende lever, maar is niet karakteristiek voor een leveraandoening. Het kan ook andere oorzaken hebben, zoals een nieraandoening, een schildklierafwijking of ondervoeding.¹⁶

ALAT, ASAT en LDH

ALAT (Alanine-Amino-Transferase), ASAT (Aspartaat-Amino-Transferase) en het LDH (melkzuurdehydrogenase) zijn enzymen die hoofdzakelijk voorkomen in levercellen. Er ontstaat een verhoogd gehalte van deze enzymen in het bloed, als levercellen beschadigd zijn.¹⁶

Verhoogde waarden van ALAT, ASAT en LDH kunnen wijzen op:

- verschillende vormen van hepatitis;
- een belemmerde afvoer van galvloeistof door bijvoorbeeld galstenen of een vernauwing in de galwegen door bijvoorbeeld een tumor;
- andere afwijkingen in de lever, zoals leverkanker;
- een hartaandoening (hartinfarct) in sommige gevallen.¹⁶

Alkalische fosfatase (AF) en gamma-GT

Alkalische fosfatase en gamma-GT zijn ook enzymen. Een verhoogde concentratie in het bloed kan wijzen op verschillende aandoeningen van de lever of galwegen.¹⁶

Een licht verhoogde gamma-GT-waarde heeft meestal te maken met gebruik van alcohol en/of medicijnen, leververvetting en extreem overgewicht. Een sterk verhoogde gamma-GT-waarde wijst op alcoholmisbruik of een belemmerde afvoer van galvloeistof. Dit kan veroorzaakt worden door galstenen, een vernauwing of afwijking aan de galwegen.¹⁶

Een verhoogde alkalische fosfatasewaarde, in combinatie met normale ALAT en ASAT, wijst in de richting van een galwegaandoening. Alkalische fosfatase wordt ook aangemaakt in de cellen van de darm, nieren, placenta en botten. Een verhoogd gehalte kan dus ook wijzen in de richting van een aandoening buiten de lever en galwegen.¹⁶

Protrombinetijd (PTT of stollingstijd)

De protrombinetijd wordt gebruikt om te onderzoeken of de bloedstolling te snel of te langzaam is. De lever maakt verschillende stollingsfactoren aan, die samen zorgen voor de bloedstolling. Een verlengde stollingstijd kan betekenen dat de lever te weinig stollingsfactoren aanmaakt. De oorzaak hiervan kan een leveraandoening zijn.¹⁶

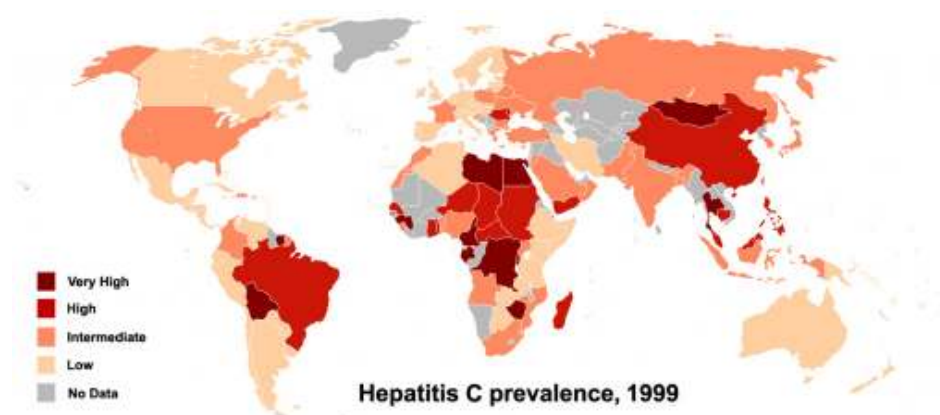
2 Hepatitis C

Hepatitis is een ontsteking van de lever waarbij levercellen beschadigd raken of zelfs afsterven. Het woord is afkomstig uit het Grieks. Het woord ‘hepar’ betekent lever en ‘itis’ betekent ontsteking.¹⁵ Er zijn verschillende soorten hepatitis, omdat een ontsteking van de lever verschillende oorzaken kan hebben. Hepatitis kan veroorzaakt worden door een virus; we spreken dan van virale hepatitis (hepatitis A, B, C, D, E). Hepatitis kan ook veroorzaakt worden door langdurig alcoholgebruik, medicijngebruik of een verstoring van het eigen afweersysteem (bepaalde auto-immuunaandoeningen zoals primaire billaire cirrose).¹⁶

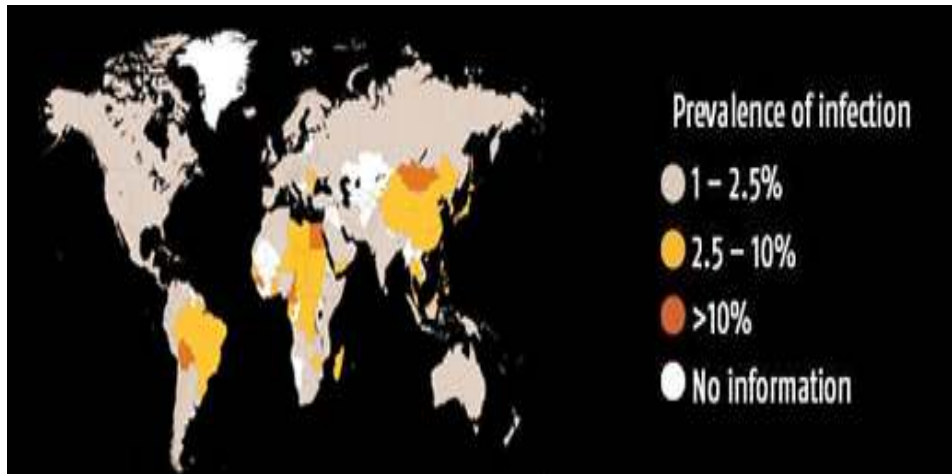
Bij hepatitis C gaat het om een ander virus dan bij hepatitis A en B.² Hepatitis C is een virale leverontsteking die niet zeer zeldzaam is. Deze vorm van hepatitis is pas eind jaren tachtig ontdekt; tot dan toe werd deze aangeduid als 'Hepatitis non A non B'. Besmetting trad op dat moment meestal op door bloedtransfusies. Wereldwijd zijn circa 250-300 miljoen mensen geïnfecteerd.⁵ Pas recentelijk, in april 2012 werden de resultaten gerapporteerd van een combinatietherapie, waarbij Tegobuvir samen met ribavirine en twee andere nieuwe en krachtige HCV-remmers werd toegediend.⁷

2.1 Hepatitis C-prevalentie

Door de WHO is wereldwijd de prevalentie van hepatitis C (HCV) geschat op ongeveer 3%. In een recente studie door *Urbanus et al* (AMC, 2012) is gebleken dat onder de eerste generatie Surinamers in Nederland er een 2.7 – 3% HCV-prevalentie wordt geschat. Door de WHO wordt de HCV-prevalentie in Suriname geschat op 1 – 5.5%.⁵ Zie onderstaande figuren, waarbij in figuur 2 de prevalentie in niveau wordt aangegeven en in figuur 3 wordt het in procenten aangegeven.



Figuur 2 Hepatitis C-prevalentie in 1999⁵



Figuur 3 Prevalentie wereldwijd aangegeven in procenten ⁵

De hepatitis C-geschatte prevalentie en het aantal besmetten in de verschillende WHO-regio's worden hieronder in de tabel aangegeven.

Tabel 1 Hepatitis C-geschatte prevalentie en het aantal besmet door WHO-regio²⁴

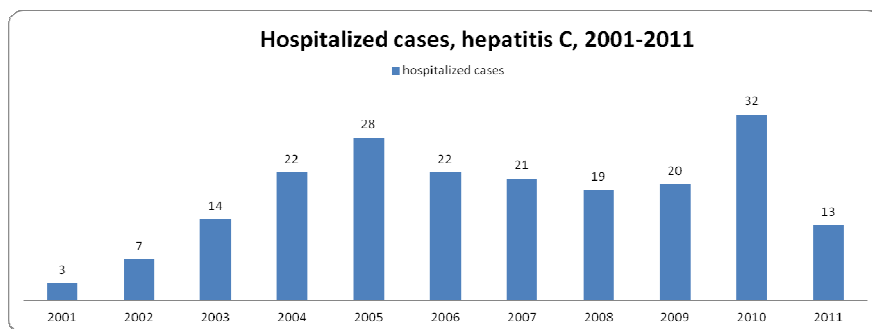
WHO-regio	TOTALE BEVOLKING (MILJOENEN)	HEPATITIS C PREVALENTIE%	GEÏNFECTEERDE BEVOLKING (IN MILJOENEN)	AANTAL LANDEN DOOR DE WHO GETEST WAAR ER GEEN GEGEVENS BESCHIKBAAR ZIJN
AFRIKA	602	5,3	31,9	12
ZUID-AMERIKA	785	1,7	13,1	7
OOSTELIJKE MIDDELLANDSE ZEE	466	4,6	21,3	7
EUROPA	858	1,03	8,9	19
ZUIDOOST-AZIË	1 500	2,15	32,3	3
WESTELIJKE STILLE OCEAAN	1 600	3,9	62,2	11
TOTAAL	5 811	3,1	169,7	57

2.2 Hepatitis C-data van het Centraal Laboratorium, Suriname

Hieronder zijn de gegevens over hepatitis C hier in Suriname, welke verkregen zijn van het Centraal Laboratorium.⁹

Tabel 2 Aantal opgenomen HCV-positieve patiënten gedurende periode 2001 – 2011⁹

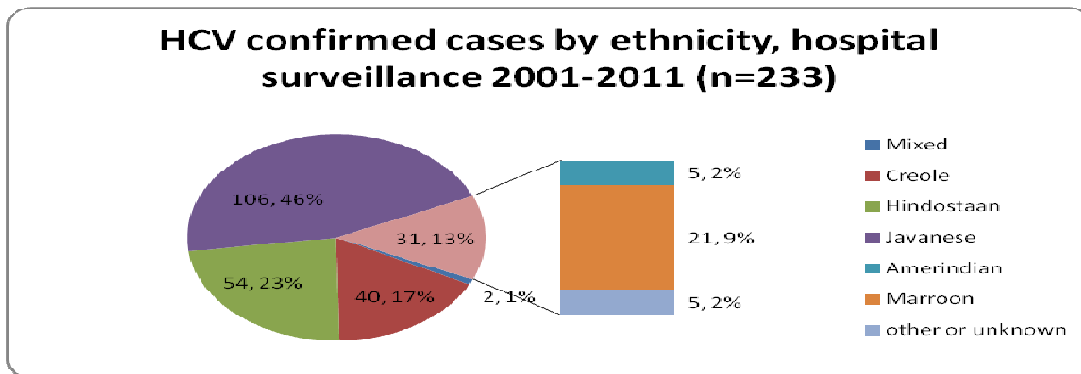
	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
hospitalized cases	3	7	14	22	28	22	21	19	20	32	13



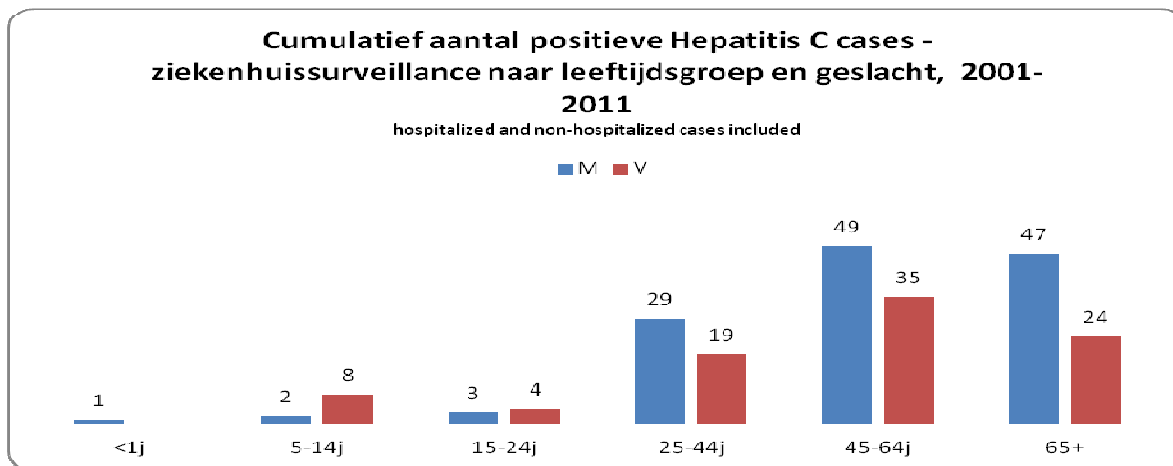
Figuur 4 Aantal opgenomen HCV-positieve patiënten gedurende periode 2001 – 2011⁹

Tabel 3 Aantal HCV-positieve patiënten naar etniciteit⁹

Etniciteit	HCV by ethnicity confirmed cases hospital surveillance Suriname 2001-2011
Gemengd	2
Creolen	40
Hindoestanen	54
Javanen	106
Indianen	5
Marrons	21
Anders of onbekend	5
Totaal	233



Figuur 5 Aantal opgenomen HCV-positieve patiënten gedurende periode 2001 – 2011 naar etniciteit⁹



Figuur 6 Cumulatief aantal positieve hepatitis C-gevallen naar leeftijdsgroep en geslacht van zowel gehospitaliseerde als niet-gehospitaliseerde gevallen.⁹

In onderstaande tabel zien we de totale populatie van Suriname per etniciteit volgens een census-telling van 2004. Van belang was te weten hoe de verschillende etniciteiten verdeeld zijn, omdat in het onderzoek ook gekeken wordt naar etniciteit.¹²

Tabel 4: Populatie per etniciteit, Suriname (2004 census)¹²

Etniciteit	Aantal	Percentage (%)
Marron	72,553	15

Creool	87,202	18
Hindoestaan	135,117	27
Javaan	71,879	15
Gemengd	61,524	12
Anders	31,975	6
Onbekend	32,579	7
Total	492,829	100

2.3 Ontdekking van hepatitis C

In 1970 waren de eerste testen voor hepatitis A (HAV) en hepatitis B (HBV) beschikbaar, en die werden gebruikt om bloedmonsters te testen voor post-transfusie. Een derde vorm van hepatitis wordt ontdekt, die zowel hepatitis A als B negatief was, die ook wel aangeduid werd als non-A, non-B hepatitis.¹¹ In 1989, ontdekten Choo en zijn medewerkers het hepatitis C-virus (HCV) als de oorzakelijke overgedragen non-A, non-B hepatitis. In het begin werd een virale complementaire DNA-cloon uit serum van een chimpansee geïsoleerd, die experimenteel geïnfecteerd was met non-A-, non-B hepatitis en welke gebruikt werd om een screeningstest te ontwikkelen voor dit onbekend agent. Door gebruik van dit eerste cDNA-cloon als hybridisatie probe, isoleerden Choo en collega's dan een bijna full-length viraal genoom, dat gemakkelijk geclassificeerd werd als een familie van dierlijk pestivirus gebaseerd op overeenkomsten van genoomorganisatie en virale eigenschappen.²

2.4 Taxonomie

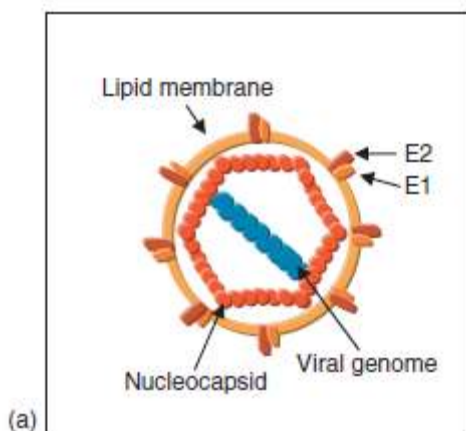
HCV wordt geclassificeerd als het enige lid van het geslacht *Hepacivirus* en wordt samen gegroepeerd met de generatie *Pestivirus*, *Flavivirus* en voorlopig de GB-virussen, in de familie *Flaviviridae*. Volgens fylogenetische analyses is HCV nauwer gerelateerd aan pestivirussen dan aan flavivirus.²

Structuur en erfelijk materiaal van het hepatitis C-virus

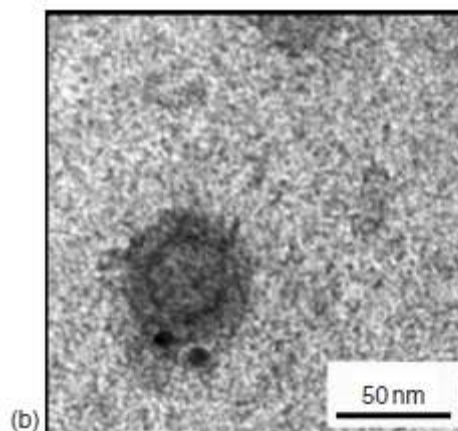
Het hepatitis C-virus is 50 nanometer groot (zie figuur 7a en 7b). Het virus is een enkel streng RNA-virus met een kern (core) en een kapsel (lipide envelope). In het bloed van

geïnfecteerde patiënten treft men meestal tussen de 1000 en 1 miljoen virussen per milliliter aan. Dat lijkt veel, maar is in feite weinig vergeleken met bijvoorbeeld hepatitis B waarvan tot 10 miljoen virussen per milliliter voorkomen. De relatief lage concentratie aan virussen in het bloed en de kleine diameter van het virus zijn twee van de belangrijkste redenen waarom het zo moeilijk was om het virus te ontdekken.²

Het erfelijk materiaal van het virus, het genoom, bestaat uit een RNA-streng die is opgebouwd uit meer dan 9000 bouwstenen. Een van de belangrijkste eigenschappen van het hepatitis C-virus, is de grote verscheidenheid (variabiliteit) van het erfelijk materiaal. Er zijn 7 hoofdgenotypen (zie paragraaf 2.4). Er zijn wel bepaalde delen van het virus die hetzelfde zijn, zoals de kern. De grootste verscheidenheid is aanwezig in de genen die de mantel van het virus uitmaken. De mantel is het buitenste deel van het virus en het deel dat in contact komt met de buitenwereld, en dus in contact komt met het immuunsysteem.²



Figuur 7a Schematische weergave van het HCV-virus²



Figuur 7b Electronenmicroscopieafbeelding van het hepatitis C-virus geproduceerd uit een celkweek²

2.5 Hepatitis C-subtypes: de genotypes

Op basis van de genetische structuur kan men de hepatitis C-virussen ruwweg onderverdelen in een reeks genotypes en subtypes. De belangrijkste onderverdeling is in genotypes.⁸ Gebaseerd op heterogeniteit zijn er zeven hoofdgenotypen, die met uitzondering van typen 5 tot en met 7, weer onderverdeeld worden in subtypes. De onderverdeling vindt plaats aan de hand van nucleotide sequentieafwijkingen.

De subtypes worden aangeduid met kleine letters gevolgd door het nummer van het genotype (bv. genotype 1, subtype b = b1).⁸

Deze genotypes zijn niet uniform over de wereld verdeeld. In Europa en de Verenigde Staten komen voornamelijk HCV-genotypes 1a/b, 2a/b, 3a en in Europa de laatste jaren ook steeds meer 4d voor. Genotype 4 heeft de overhand in Noord- en Centraal-Afrika, genotype 5 komt vrijwel alleen in Zuid-Afrika voor, genotype 6 vrijwel alleen in Zuidoost-Azië en genotype 7 is slechts bij enkele patiënten waargenomen. Ook verschilt de verdeling van genotypes per transmissieroute. In Nederland zijn genotypes 1a, 3a en 4d vooral geassocieerd met injecterend drugsgebruik, 1b, 2a/b/c met geïnfecteerde bloedtransfusies en nosocomiale transmissie, en verspreiden 1a en 4d zich momenteel onder hiv-seropositieve MSM.⁴

In Nederland bleken de positieve HCV-patiënten van Surinaamse afkomst voornamelijk type 2 te hebben. Er is daarom aangenomen dat HCV-genotype 2 in Suriname prevalent is. Er is in ons onderzoek ook gekeken naar genotypering van de positieve HCV-samples, echter zullen deze resultaten pas later in het jaar gepubliceerd worden.¹

Belang van de indeling

De indeling is van belang omdat het genotype bepalend is voor: replicatiesnelheid, mutatiesnelheid, activiteit, respons op therapie. Men veronderstelde dat de verschillende genotypes een verschillende evolutie gehad hebben, dat infectie met bepaalde genotypes sneller zou leiden tot cirrose of dat sommige genotypes meer aanleiding zouden geven tot hepatocellulair carcinoom (leverkanker) dan andere. De meeste studies tonen aan dat de invloed van het genotype op de evolutie van hepatitis C beperkt is. Voor de reactie op therapie is dit niet het geval, maar er is immers duidelijk aangetoond dat het genotype 1 slechter reageert op een interferonbehandeling dan andere genotypes.¹⁷

2.6 Transmissie

HCV wordt meestal overgedragen door parenterale blootstelling aan bloed en bloedproducten. Het is minder besmettelijk dan hepatitis A en B. De ontwikkeling van effectieve screeningstesten voor bloed en bloedproducten en de implementatie van virale desinfectatieprocedures hebben de route van transmissie in landen waar deze bepalingen aanwezig zijn, bijna uitgesloten. De risicofactor voor het oplopen van HCV-infectie in ontwikkelde landen, is voornamelijk door het gebruik van gecontamineerde naalden bij drugs. In andere landen is HCV-infectie verspreid door het gebruik van inadequaet gesteriliseerde medische instrumenten. In tegenstelling tot HBV, komt seksuele transmissie en maternaal-kind van HCV-spreiding in minder mate voor.² Het Hepatitis C virus wordt niet overgedragen via sperma of vaginaal vocht, zoals bij hepatitis B, maar kan wel overgedragen worden via kleine wondjes op de geslachtsdelen, in de mond of bij de anus. Bij anaal seksueel contact (waarbij sprake kan zijn van bloedcontact) of bij vrijen tijdens de menstruatie is er een zeer gering besmettingsgevaar. In de dagelijkse omgang met

mensen die geïnfecteerd zijn met het hepatitis C-virus is er geen risico op hepatitis C-infectie. Tegenwoordig is bij hiv-geïnfecteerde MSM'ers een stijging van HCV-infectie.¹⁸

De meest voorkomende manieren van overdracht van hepatitis C zijn:

- Via gebruikte naalden

Bijvoorbeeld bij injecties, drugsgebruik, piercings, acupunctuur en tatoeages. In westerse landen worden door artsen alleen steriele naalden gebruikt. In niet-westerse landen is dat helaas nog niet altijd zo.

- Via scheermesjes

Door scheermesjes te gebruiken van iemand die drager is van het hepatitis C-virus. Ook via scheermesjes of scheerapparatuur bij de kapper kan het virus overgedragen worden. Wees met name voorzichtig bij kappers in niet-westerse landen.

- Door gezamenlijk gebruik van tandenborstels

Voor zover dit bekend is, speelt speeksel geen rol in de besmettingsroute van hepatitis C. Speeksel vermengd met bloed kan wel een risico zijn (bijvoorbeeld bij bloedend tandvlees).

- Via bloedtransfusie

In Nederland is dit vanaf 1991 uitgesloten. Sindsdien wordt het bloed gecontroleerd op hepatitis C. In niet-westerse landen is dit nog niet altijd zo. In Suriname worden de bloedproducten ook gecontroleerd, sinds 1997.²⁰

Infectiegevaar:

Het bloed van een HCV-geïnfecteerde is infectueus wanneer HCV-RNA aantoonbaar is. Dit kan na de besmetting al het geval zijn. De incubatieperiode bedraagt gemiddeld zeven weken (spreiding 2-26weken).⁴

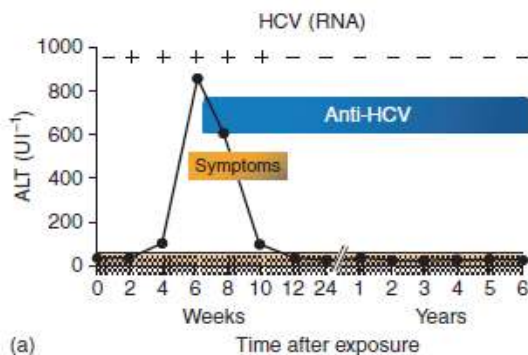
2.7 Klinische manifestatie

Hepatocyten zijn de primaire targets voor HCV. Daarom zijn de histologische veranderingen van hepatitis C hepatocellulaire schade, portal- en parenchymacellenontsteking en necrose. Men denkt dat de ontsteking van de hepatocyt eerder veroorzaakt wordt door immunreactie dan door virale cytopathogeniteit. Leverbeschadiging wordt gekenmerkt door chronische ontstekingscellen, macrofagen, en, ten slotte, verschillende graden van fibrose. De progressie grade van hepatitis fibrose is de belangrijkste determinant voor de uitkomst van chronische hepatitis C in termen van ontwikkeling van cirrhosis (permanente leverbeschadiging) en hepatocellulair carcinoom. Alhoewel, de lever de primaire target is, is aanhoudende HCV-infectie ook geassocieerd met extrahepatische symptomen, zoals niercomplicaties, lymfomen, en diabetes. Een aantal patiënten met chronische hepatitis C ontwikkelt cryoglobulinemia.²

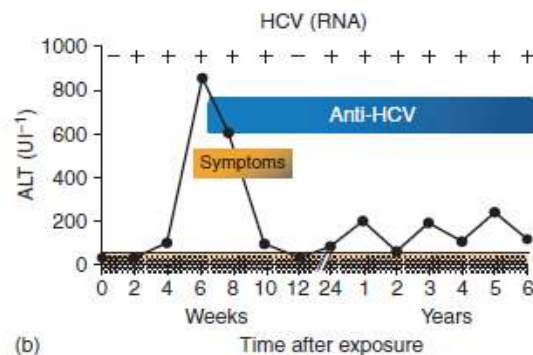
In het begin verloopt een hepatitis C-infectie meestal symptomeloos. In de meerderheid van de gevallen (70%) gaat de infectie ongemerkt over in een chronische vorm. Ongeveer 20-30% van de mensen met de chronische vorm ontwikkelt leverschade (verlittekening) en hiervan krijgt ongeveer 2-5% per jaar leverkanker. Pas 20 of 30 jaar na de besmetting wanneer de lever al is aangetast, krijgen sommige mensen klachten.⁸

Tijdens de incubatieperiode, wordt HCV RNA detecteerbaar in serum door reverse transcriptie-PCR (RT-PCR) en virus titer bereikt meestal een piek van 10^5 - 10^7 genomen per milliliter tussen week 6 en 10, ongeacht het ziekteverloop (zie figuur 8a). Twee of vier weken na begin van viremia, beginnen serum alanine amino transferase (ALAT) levels te stijgen, wat duidt op een hepatocellulaire schade.²

Door deze niet-specifieke tekens en symptomen, blijft acute infectie in de meeste gevallen niet herkenbaar. De duur van viremia in acute hepatitis C is onvoorspelbaar en kan variëren van twee tot meer dan vier maanden. Sommige patiënten worden zelfs HCV-RNA-negatief gedurende herstel, maar later bindt het viremia opnieuw. Globaal gaat ongeveer 50-80% van HCV-infecties over in een chronische-dragerstadium (zie figuur 8b).²



Figuur 8a Verloop van een acute HCV-infectie²



Figuur 8b Verloop van een chronische HCV-infectie²

Enkele gevolgen van hepatitis C

Cirrose

Eindstadium van een chronische ontsteking van de lever is levercirrose. Hierbij is de normale architectuur van de lever vervangen door een hobbelige lever met uitgebreide zones van littekenweefsel die noduli van leverweefsel omvatten. Het normaal functioneren van de lever en de normale bloedvoorziening zijn verstoord. Als gevolg hiervan treden er shunten (bypassen) in en buiten de lever op. Cirrose kan veroorzaakt worden door:

- hepatitis B en C;
- langdurige blootstelling aan toxische factoren (zowel medicamenteus als andere);

- langdurig en overmatig alcoholgebruik;
- ijzer- (haemochromatose) of koperstapelingsziekten (Ziekte van Wilson);
- auto-immune hepatitis of biliaire aandoeningen (Primaire Biliaire Cirrosis (PBC) of Primaire Scleroserende Cholangitis (PSC).

De klachten bij levercirrose kunnen zijn:

- verlies van eetlust;
- misselijkheid en braken;
- afname van gewicht en spierkracht;
- jeukende huid, slechte ademhaling;
- bloedende slokdarmspataders.

Bloedende slokdarmspataders ontstaan doordat het bloed een alternatieve route zoekt om van de lever terug naar het hart te gaan. Waarbij het zelfs mogelijk is dat er bloed opgehoest wordt.

Bij sommige hepatitis C-patiënten blijft ernstige leverschade op termijn niet uit: zij krijgen littekens op de lever, cirrose of leverkanker¹³. Van de patiënten met chronische hepatitis C ontwikkelt ongeveer 20% na 10 jaar cirrose, en 40% ontwikkelt cirrose na 20 jaar.⁸

Risicofactoren voor ontwikkeling van cirrose bij chronische hepatitis C:

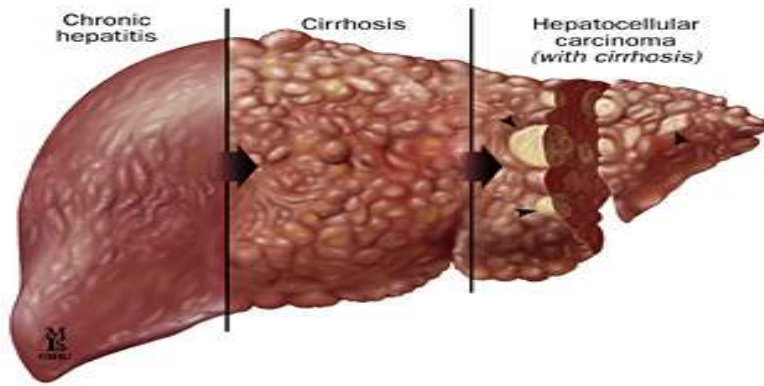
- leeftijd op ogenblik van infectie (hoe ouder bij infectie, hoe agressiever en sneller verloop);
- alcoholgebruik;
- co-infectie met hiv en HBV.⁸

Hepatocellulair carcinoom

10% van de cirrosepatiënten krijgt na 10 jaar leverkanker, dit is 1 à 2 % van de patiënten die geïnfecteerd zijn met hepatitis C. Indien er geen cirrosis aanwezig is, ontstaat er zelden kanker.⁸

Extrahepatische verschijnselen

Ten slotte zijn er verschillende extrahepatische manifestaties van HCV bekend, zoals mixed cryoglobulinaemie, membranoproliferatieve glomerulonefritis, polyarteritis nodosa en siccasyndroom. Verder kan men schildklierlijden en/of porfyria cutanea tarda ontwikkelen.⁸

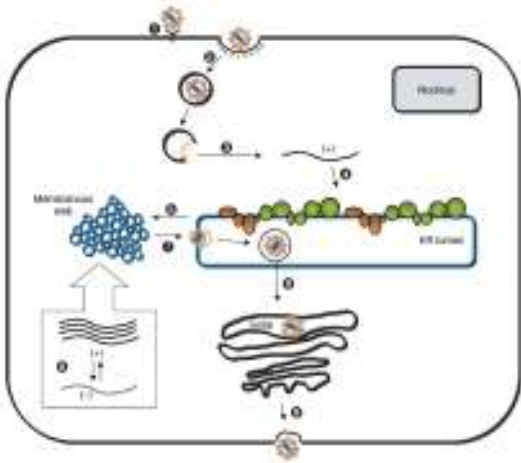


Figuur 9 Weergave van verloop van de verschillende aandoeningen van de lever²⁰.

2.8 HCV-replicatiecyclus

HCV-infectie begint door binding aan de glycoproteïne E1/E2-complex envelop op de oppervlakte van het virusdeel aan de juiste receptordie vermoedelijk leidt de binding aan de glycoproteïne tot clathrin-gemedieerde endocytose en een subsequeante fusiestap van binnen een endosomal gedeelte (zie figuur 10). Cellulaire factoren die betrokken zijn in virusbinding en binnendringen, zijn glycosaminoglycans, straatveger (scavenger) receptor klasse B type 1 (SR-B1), CD8, en laag-dichtheid lipoproteïne (LDL) receptor. Echter, voor deze meeste factoren, is de juiste rol niet goed begrepen en een of meerdere additionele factoren kunnen nodig zijn voor het productief binnendringen. Bij het vrijkomen van het RNA-genoom, vindt de translatie van polyproteïne door IRES plaats, op het ruwe endoplasmatisch reticulum (rER), waar gastheercellen signaal peptidase, signaal peptide peptidase, en viraal protease katalyse proteïne binden.²

Gedurende of na binding, wordt het membraan-geassocieerd replicatiecomplex, dat de RNA-amplificatie via negatieve-strengs RNA-tussenproducten katalyseert, gevormd (figuur 4). Deze membraan-geassocieerde complexen zijn samengesteld van viraal RNA, viraal proteïne, en waarschijnlijk gastheercelfactoren. Nieuwe gesynthetiseerde positieve-streng RNA's worden of gebruikt voor translatie of dienen als patroon voor verdere RNA-synthese of gaan interactie aan met de proteïnekern om de virale nucleocapside te binden. De E-proteïnen worden behouden in rER-membraan wat een indicatie geeft dat virale enveloppen worden gegenereerd door ontluiking in de lumen van dit organel. Men denkt dat overgebleven delen geëxporteerd worden door de secretoire weg en na fusie van het transportblaasje met de plasmamembraan, komen virionen vrij. Echter, de meeste stappen zijn slecht begrepen en verschillende veronderstellingen worden aangenomen die gebaseerd zijn op studies met heterogene expressiesystemen en analogieën aan nauw gerelateerde virussen.²



Figuur 10 Weergave van HCV-replicatiecyclus²

2.9 Immunititeit

Het hepatitis C-virus heeft een grote variatie aan zijn kapsel eiwitten, waarmee het zich onder heel diverse gedaantes aan het immuunsysteem presenteert. De samenstelling van de hypervariabele regio in de loop van een infectie met het hepatitis C-virus kan heel snel veranderen. Het virus kan zich dan ook telkens als een iets gewijzigd, als het ware ‘nieuw’ virus aan het immuunsysteem presenteren. Dit is vermoedelijk een van de belangrijkste strategieën die het virus gebruikt om aan het immuunsysteem te ontsnappen. Die variatie in de kapsel eiwitten verklaart een van de meest typische verschijnselen bij hepatitis C, namelijk het feit dat de levertests (de transaminasen) vrij kunnen schommelen. Het duurt enige tijd voor het immuunsysteem een vreemde structuur, zoals een virus, herkent. Is de herkenning eenmaal tot stand gekomen, dan zullen cellen van het immuunsysteem de levercellen waarin het virus zich vermenigvuldigt, herkennen en daarna vernietigen. Daardoor komen stoffen die zich in de levercellen bevinden in het bloed terecht en stijgt hun bloedgehalte. Als het virus ondertussen zijn kapsel eiwitten verandert, valt de immunologische herkenning weg en stopt ook de aanval op de levercellen. De levertests gaan dan weer dalen. Dit kan de reden zijn dat de testen snel tussen verhoogde en normale waarden kunnen schommelen. Als na enige tijd het immuunsysteem het gewijzigde virus herkent, begint de cyclus opnieuw. Bij andere virussen echter, zoals bij hepatitis B, is het erfelijk materiaal veel stabiel. De hepatitis B-virussen die je bij verschillende patiënten kan vinden, verschillen dan ook veel minder.¹⁶ Verschillende cellulaire proteïnen blijken een bijdrage te leveren bij HCV-replicatie.²

De ontwikkeling van HCV-antilichamen leidt niet tot beschermende immunititeit. De snelle evolutie van het virus binnen zijn gastheer, vooral in hypervariabele gedeeltes van de envelopeiwitten, verklaart mogelijk waarom het virus voortdurend aan het menselijk

afweersysteem kan ontsnappen. Zelfs wanneer een eerste HCV-infectie spontaan uit het lichaam wordt verwijderd, is dit geen garantie voor beschermende immuniteit tegen een mogelijk volgende blootstelling. In hoogerisicogroepen, zoals injecterende drugsgebruikers, komen zowel HCV-herinfectie (het oplopen van een nieuwe HCV-infectie nadat een eerdere HCV-infectie met of zonder tussenkomst van therapie uit het lichaam is verwijderd) als HCV-superinfectie (het oplopen van een nieuwe HCV-infectie bovenop een al bestaande HCV-infectie) veelvuldig voor. Gedeeltelijke immunologische bescherming, die resulteert in lagere en slechts tijdelijke viremie, dan wel bescherming biedt tegen specifieke virusvarianten, wordt niet uitgesloten.⁴

Na het doormaken van een hepatitis C-infectie, wordt in de meeste gevallen geen immuniteit opgebouwd. Wanneer we na een eerder doorgemaakte infectie nogmaals in contact komen met het virus, is het mogelijk opnieuw geïnfecteerd te raken. In tegenstelling tot hepatitis A en B, bestaat er nog geen vaccinatie tegen hepatitis C. Inenten tegen deze vorm van leverontsteking is dus niet mogelijk.¹⁵

2.10 Diagnose van hepatitis

Bij chronische hepatitis C is regelmatige controle belangrijk om de ernst van de ontsteking vast te stellen. Controle vindt plaats door middel van bloedonderzoek en soms in combinatie met een echo of een punctie van de lever. Er wordt dan een beeld van de uitgebreidheid van de ontsteking verkregen en ook of er sprake is van levercirrose. Dit is ook van belang voor het controleren van de behandeling.¹⁹

Hepatitis C kan vastgesteld worden door middel van

1. *Bloedonderzoek*

Door middel van bloedonderzoek kan er getest worden op hepatitis C (zie Hepatitis C-antistof bepaling (ELISA test, confirmatietest)), en verschillende leverfuncties kunnen onderzocht worden. Deze leverfuncties geven een beeld van het functioneren van de lever. Bij een leverontsteking kunnen waarden van de leverfuncties verhoogd zijn⁸ (zie paragraaf 1.1).

2. *Echografie*

Vaak wordt er een echo van de lever gemaakt. Daarbij wordt met behulp van ultrasonische golven (dus zonder radioactiviteit) een beeld van de lever, de galblaas en andere buikorganen bekeken. Voor de patiënt is het onderzoek erg eenvoudig: na het aanbrengen van wat gel op de huid wrijft men met een sonde over de buik. Bij de

echografie wordt gekeken naar letsels in de lever en/of tekens van cirrose. De test is relatief goedkoop, volledig vrij van complicaties en kan gemakkelijk herhaald worden.⁸

3. *CT-scan of computertomografie*

Bij afwijkingen zal men vaak aanvullend andere beeldvormingsonderzoekingen van de lever uitvoeren, in de eerste plaats CT-scan (met radioactieve straling) of NMR (met magneetgolven). Met een CT-scan kan men afwijkingen aan de lever opsporen.⁸

4. *Leverbiopsie of leverpunctie*

Met een leverbiopsie of leverpunctie wordt een stukje weefsel van de lever weggenomen onder plaatselijke verdoving. Dit gebeurt met een lange holle naald. Deze naald wordt tussen de rechter ribben ingebracht en in de lever geschoven. Een stukje weefsel wordt weggehaald. Dit wordt ook wel een leverbiopt genoemd. Dit biopt wordt onder de microscoop onderzocht. Op deze manier kan vastgesteld worden of er sprake is van een ontsteking, fibrose en/of cirrose. Ook de aard van een ontsteking en het stadium van de cirrose of andere leverziekte kunnen op deze manier vastgesteld worden.⁸

5. *Echogeleide leverbiopsie of leverpunctie*

Een leverbiopsie of leverpunctie wordt soms gedaan in combinatie met een echografie. Op het beeldscherm wordt nagegaan waar de naald precies ingebracht wordt. Dit is nodig als er een bepaald stukje leverweefsel weggenomen moet worden.⁸

6. *Hepatitis C-antistofbepaling (ELISA-test, confirmatietest)*

De hepatitis C-antistoftest toont de aanwezigheid van het hepatitis C-virus aan door de detectie van antistoffen die het lichaam als reactie op de infectie maakt. Het is dus een onrechtstreekse methode. Men detecteert niet het virus zelf maar wel de antistoffen die de gastheer tegen het virus heeft gemaakt. De aanwezigheid van de antistoffen wijst op het feit dat de patiënt in contact is geweest of nog is met het virus. Deze antistoffen bieden ook geen immuniteit of bescherming. Voor veel andere virussen wijzen de gedetecteerde antistoffen wel op genezing, bij hepatitis C dus niet.⁸

Een nadeel van de antistoftest is dat hij niet onmiddellijk positief is na infectie. Als iemand vandaag met het hepatitis C-virus geïnfecteerd wordt, duurt het even voor de antistoffen tegen het hepatitis C-virus aantoonbaar zijn. Die periode varieert van patiënt tot patiënt, en van testmethode tot testmethode. Bij de eerstegeneratietest duurde het gemiddeld 16 weken na besmetting voor de test positief werd, met de nieuwere tests 10 weken of minder. Meer dan 99% van de met hepatitis C geïnfecteerden personen heeft (na verloop van 6 maanden) een positieve antistoftest. De EIA-tests zijn soms echter vals positief, dat wil zeggen dat men soms een positief testresultaat kan vinden bij een persoon die niet met hepatitis C geïnfecteerd is. Dat is een probleem dat men bij meer virussen kan aantreffen, zoals bij hiv. Daarom werden zogenaamde supplementaire of

confirmatietests ontwikkeld. De bekendste is de RIBA-test (recombinant immunoblot essay).⁸

7 *Hepatitis C-RNA-bepaling* (door middel van de PCR-techniek)

De meest 'definitieve' test in verband met het virus is het rechtstreeks aantonen van het hepatitis C-viraal RNA in het bloed. Het lijkt paradoxaal dat het gemakkelijker is het erfelijke materiaal van het virus aan te tonen dan het virus zelf, of anders gezegd, dat men de aanwezigheid van het virus in het bloed enkel kan aantonen door te bewijzen dat het erfelijk materiaal van het virus in het bloed aanwezig is. Dit namelijk omdat het virus klein is en in heel lage aantallen in het bloed aanwezig. Daardoor is het zo goed als onmogelijk om het virus rechtstreeks aan te tonen met de gebruikelijke immunologische laboratoriumtechnieken die men gebruikt om bijvoorbeeld hepatitis B rechtstreeks te detecteren. Aantonen van het erfelijk materiaal in lage concentratie kan wel, door het gebruik van moleculair biologische technieken.⁸

De PCR-techniek is niet eenvoudig en dient in correcte technische omstandigheden te gebeuren. Het virale RNA is erg broos en het bloed van de patiënt dient binnen enkele uren in het gespecialiseerde laboratorium aanwezig te zijn; zo niet moet men het bloed invriezen op $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en in ingevroren toestand naar het gespecialiseerde laboratorium sturen. Er kan technisch van alles misgaan: bloed te lang laten staan, niet correct behandeld, herhaaldelijk ontdooid en weer bevroren, bewaard op $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ in plaats van $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, problemen met de reactieproducten (primers en dergelijke). De methode is arbeidsintensief en vereist ervaren technici en is in elk geval veel moeilijker hanteerbaar dan de eenvoudige antistoftest, die in elk laboratorium uitgevoerd kan worden. De PCR-techniek wordt gebruikt om er zeker van te zijn dat het virus aanwezig is, onder meer om de aanwezigheid van infectie te bevestigen bij patiënten met een positieve antistoftest. De test is ook belangrijk bij patiënten met een positieve antistoftest en normale levertests, om aan te tonen dat ze drager zijn van het virus. Ten slotte speelt de PCR- test een rol in het opvolgen van de reactie op een antivirale therapie. Hierbij kunnen de resultaten zowel kwalitatief (positief of niet) als kwantitatief (viral load) worden weergegeven.⁸

8 *Genotypering en kwantitatieve HCV-RNA*

Men kan het hepatitis C-virale RNA ook kwantitatief gaan bepalen in het bloed, na de uitvoering van een PCR-techniek. Daarbij kan men bepalen hoeveel circulerend viraal RNA, dat wil zeggen hoeveel circulerende virussen, iemand in zijn bloed heeft ofwel de viral load. Die virale load lijkt relatief stabiel te zijn bij een individuele patiënt. De kwantitatieve bepaling van het RNA wordt meestal enkel voor researchdoeleinden gebruikt. De test wordt soms uitgevoerd voor het starten van een antivirale therapie.⁴ Als blijkt dat de patiënt veel virus in zijn bloed heeft, geven sommige geneesheren een hogere dosis interferon. Ook tijdens de behandeling zou men de test kunnen herhalen om te kijken in hoeverre de hoeveelheid virus daalt. De test is interessant voor die

doeleinden, maar de beschikbaarheid van de test is nog erg beperkt. Voor de kwantitatieve RNA-bepaling geldt nog meer dan voor de gewone PCR-test dat het bloed correct behandeld moet worden, wil men geen belangrijke fouten maken. Het genotype is bepalend voor: replicatiesnelheid, mutatiesnelheid, activiteit, respons op interferon-behandeling.⁸

Opmerking: Met serologie alleen kan de diagnose ‘acute hepatitis C-infectie’ niet worden gesteld, tenzij op basis van eerdere serologie een HCV-seroconversie kan worden vastgesteld in de laatste zes maanden.

2.11 Behandeling van hepatitis C

Complexe behandeling

De behandeling van hepatitis C is complex en verschillend per persoon. De behandeling wordt bepaald op basis van de leverfuncties, het type virus, de klachten, het resultaat van eventuele eerdere behandeling en persoonlijke factoren.²¹

Behandeling afhankelijk van het type hepatitis C-virus

Er zijn verschillende typen hepatitis C-virussen. Voor de behandeling is noodzakelijk eerst te weten welk genotype het is. Bij patiënten met genotype 2 of 3 duurt de therapie 24 weken, terwijl patiënten met genotype 1, 48 weken therapie ondergaan.²²

Standaardbehandeling van hepatitis C

De standaardbehandeling bestaat uit een combinatie van peginterferon (injecties) met ribavirin. Deze behandeling verloopt goed in 50 tot 90% van de gevallen, afhankelijk van het genotype, het stadium van de ziekte en diverse andere factoren. Genotype 1a, 1b en genotype 4 hebben minimaal een jaar nodig voor de behandeling. De behandeling van genotypen 2 en 3 daarentegen kan meestal 24 weken zijn.²⁰

• Peginterferonen

Peginterferonen zijn medicijnen die intraveneus toegediend worden met vaak vervelende bijwerkingen. Peginterferonen stimuleren het eigen afweersysteem en remmen de virusdeling af. Het hepatitis C-virus wordt hierdoor onderdrukt. Het doel van de behandeling is verdere leverschade te voorkomen door het hepatitis C-virus volledig uit het bloed en het lichaam te laten verdwijnen. Helaas is de behandeling niet bij iedereen succesvol. Afhankelijk van het effect van de behandeling kan de behandeling verkort of juist verlengd worden.⁶

Ontdekking antivirale middelen

Inmiddels zijn er nieuwe middelen zoals Tegobuvir, die zich direct tegen het virus richten, ontdekt. In een recente studie in Amerika (april 2012) is gekeken naar de effectiviteit van Tegobuvir in combinatie met ribavirine en twee andere nieuwe en krachtige HCV-remmers. Een twaalf weken durende behandeling met deze cocktail werd bijzonder goed verdragen en deed bij een groot aantal patiënten het virus volledig verdwijnen. Deze studie is een belangrijke stap in de ontwikkeling van een veilige, interferon-vrije, volledig orale en zeer werkzame behandeling van infecties met het HCV.⁷

3 Opzet HCV-onderzoek

Het onderzoek heeft plaatsgevonden bij eenieder boven de 18 jaar die de eerste hulp (SEH) van Paramaribo heeft bezocht tussen 5 november 2012 en 5 december 2012. Getracht is om 2100 mensen te includeren. Patiënten moesten:

1. minstens 18 jaar oud zijn;
2. bereid zijn om een buisje met bloed af te staan;
3. een vragenlijst beantwoorden (maximaal 15 minuten);
4. een toestemmingsformulier ondertekenen (zie bijlage 1);
5. zich niet in een kritieke toestand bevinden.

Bij alle geïnccludeerden is er 1 buisje bloed (middels vacutainer) en een vragenlijst (zie bijlage 2) afgenomen (maximaal 15 minuten lang). Iedere sample werd onderzocht op hepatitis C-virusantistof met behulp van de ELISA-test. De HCV-positieve resultaten verkregen uit Elisa zijn onderzocht op viral load. Deze worden verder onderzocht op genotypering in Nederland.

3.1 Enquête onderzoek

Alle patiënten ontvingen een informatiebrief over het onderzoek, en werden in de gelegenheid gesteld om additionele vragen te stellen aan een van de veldwerkers die verantwoordelijk waren voor de uitvoering van dit onderzoek.

Patiënten die toestemming hadden verleend aan dit onderzoek werden gevraagd de informed consent-brief te ondertekenen. Daarna werd middels een vragenlijst de patiënt geïnterviewd door een van de veldwerkers. De vragenlijst is van belang om na te gaan wat de mogelijke risicofactoren zijn voor het oplopen van hepatitis C. Verder werd bij elke vraag indien nodig een duidelijke uitleg gegeven over wat de vraag inhoudt en waarvoor die eventueel van belang is.

De resultaten van het hepatitis C-onderzoek zullen worden doorgestuurd naar de huisarts (patiënten wordt gevraagd de naam van hun huisarts op te geven, om de resultaten aan deze door te geven).

3.1.1 Hepatitis C-risicovragenlijst

Hepatitis C wordt overgedragen door HCV-geïnficeerd bloed, maar dit bloed hoeft niet altijd met het oog zichtbaar te zijn. Daarom worden in de risicotest (vragenlijst) een aantal vragen gesteld naar gebeurtenissen waarbij er mogelijk bloed-bloedcontact is geweest zoals: het zetten van een tatoeage, het ondergaan van een acupunctuurbehandeling, of een besnijdenis. De patiënt wordt onder andere ook gevraagd of hij/zij ooit een bloedtransfusie heeft gekregen, ooit is geopereerd, een donororgaan heeft ontvangen of is gedialyseerd in het verleden. Bovendien wordt gekeken naar het plaatsen van boegroes, koti's, piercings of permanente make-up in het verleden. Voor de uitgebreide vragenlijst zie bijlage 2.

3.1.2 Bloedafname/venapunctie voor analyse

Doel: Het afnemen van bloed uit een perifere punctie door middel van punctie voor diagnostiek en evaluatie van de behandeling.

De venapunctie wordt zodanig uitgevoerd dat:

- de veiligheid van de patiënt gewaarborgd wordt;
- de vene bij de eerste poging aangeprikt wordt, zodat bloedafname mogelijk is;
- er geen bloed gemorst wordt. Als het morsen van bloed (technisch) onvermijdelijk is, blijft dit tot een absoluut minimum beperkt;
- de af te nemen hoeveelheid bloed, afhankelijk van de laboratoriumbepalingen die moeten plaatsvinden, tot een minimum beperkt blijft;
- er geen complicaties als gevolg van de venapunctie bij de patiënt optreden.²⁴

Het afnemen van bloed door middel van het vacuümvenapunctiesysteem

Het vacuüm bloedafnamesysteem is een gesloten systeem dat bestaat uit een speciale naald om de vene aan te prikken en speciale opvangbuizen. Het specifieke van het systeem is dat de opvangbuizen zijn gesloten met een rubber dop. In de opvangbuizen heerst er vacuüm. De aanpriknaald is aan de achterzijde voorzien van een naald die omsloten wordt door een ventiel. Na het aanprikken van de vene wordt de opvangbuis op de naald geplaatst. Door het vacuüm in de opvangbuis wordt het bloed aangezogen. Wanneer de opvangbuis van de aanpriknaald wordt verwijderd, sluit het ventiel de aanpriknaald weer af. Hierdoor kunnen bij de bloedafname de

afnamebuizen, voor verschillende laboratoriumbepalingen, gewisseld worden zonder bloed te morsen.²⁴

Bloedafnameprotocol

Bij het afnemen van bloed worden de volgende handelingen gepleegd:

- Het prikmetaal wordt klaargezet: alle benodigheden zoals buizen, vaccutainer naald, watten, alcohol, plakband en afvalbakje.
- De buizen worden dan voorzien van gegevens van de patiënt.
- De patiënt wordt dan gevraagd om te zitten, zo comfortabel mogelijk.
- Dan wordt de hand gezet, gestuwd en wordt aan de patiënt gevraagd om een vuist te maken.
- De elleboogholte wordt dan afgenomen waar de punctie zal geschieden met watten met alcohol.
- De punctie wordt dan onder een bepaalde hoek uitgevoerd. De naald niet te diep insteken, gewoon nagaan hoe ver naar binnen.
- De EDTA-buizen worden aangeplaatst aan de achterzijde van de naald.
- Beide buizen worden gevuld, stuwband wordt losgemaakt, een schoon stukje watten wordt geplaatst, en naald wordt eruit getrokken. Het stuk watten wordt zachtjes ingedrukt en dan dichtplakt met een plakband.
- De EDTA-buizen worden een paar keren geschud zodat het bloed homogeen wordt.
- De naald wordt niet terug gerecapt, maar meteen in de daarvoor bestaande afvalbak gedaan, en de rest van het afval wordt ook meteen opgeruimd.
- De patiënt is dan klaar²⁴.

3.1.3. Afwerken van de afnamebuizen

Voor de projectanalyses kan plasma gebruikt worden. Voor het HCV-onderzoek wordt gebruikgemaakt van EDTA-buizen. De EDTA-buizen worden binnen 4 uren na afname afgedraaid (20 minuten op 5000 rpm) en daarna wordt plasma eruit gepipetteerd. Een deel voor meting van HCV en een ander deel voor de genotypering.

Houdbaarheid: de eerste 8 uren na afname bij kamertemperatuur en daarna opslaan in de vriezer tot monsteranalyse.

Wegzetten samples voor HCV

Benodigheden

- P1000 pipet
- filtertips
- poedervrije handschoenen
- steriele 1,5-2,0ml buizen
- HCV-intekenlijsten

Werkwijze

- EDTA-buizen binnen 4 uur na afname afdraaien 20 minuten op 5000rpm
- Gegevens invullen op de intekenlijst
 - samplenummer
 - HCV-code
 - afname en invriesdatum
- Per patiënt drie buizen wegzetten:
 - 1.HCV
 2. Viral load/genotypering
 - 3.Back-up 1
- Samplenummer en HCV code op de buis noteren
- Met een steriele pipetpunt maximaal 500µl overbrengen per buis (niet overschenken)
- Buisjes meteen wegzetten in de vriezer.

4 Analysemethoden

Voor het onderzoeken van het hepatitis C-virus zijn er verscheidene testmethoden toegepast. De methoden die gebruikt zijn voor de analyse zijn:

- Immunochemische bepaling: Elisa
- Moleculaire technieken: Viral load met behulp van PCR en Genotypering

Genotypering moet nog bepaald worden, waardoor in dit verslag nog geen resultaten aanwezig zijn. Wel is de analysemethode hiervan uitgewerkt. In de volgende paragrafen worden de verschillende testen verder besproken.

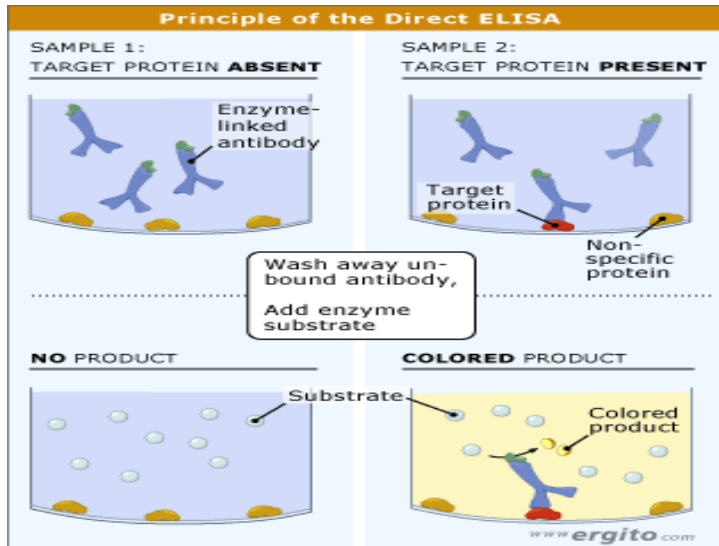
4.1. Elisa

ELISA staat voor Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay. ELISA is een immunochemische reactie die gebaseerd is op het principe de specifieke binding tussen antigeen en antistof. Door het aantonen van antigeen-antilichaambinding in het bloed, is het mogelijk bij te dragen aan de diagnose van een infectieziekte of een auto-immuunziekte.²⁸

De ELISA is gebaseerd op het aantonen van een ‘target’, door middel van de hoge specificiteit en affiniteit van een antilichaam voor deze ‘target’. Het antilichaam is gebonden aan een enzym dat na toevoeging van een kleurloos substraat, bij aanwezigheid van de “target” een duidelijk zichtbaar product maakt. De mate van kleuring van de oplossing die ontstaat, is recht evenredig aan de concentratie van de ‘target’ in het monster.²⁹

Bij ELISA worden meerdere typen onderscheiden namelijk de directe, indirecte en de capture ELISA.

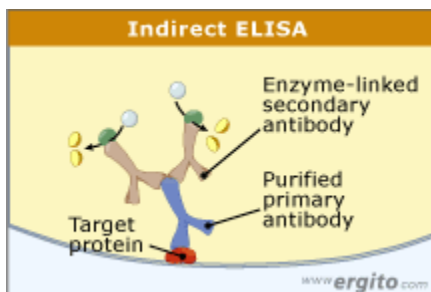
Directe ELISA



Figuur 11: Het resultaat van een directe ELISA, gebruikt om twee samples te testen. Sample 2 bevat het 'target'-eiwit, sample 1 niet. ²⁹

De bovenstaande figuur laat het principe zien van de directe ELISA, de simpelste vorm van de assay. De eiwitten aanwezig in de samples zijn gebonden aan het plastic. Het enzym gebonden antilichaam wordt toegevoegd en dit wordt enkel vastgehouden door het juiste en hiervoor specifieke eiwit. Na elke stap worden de ongebonden eiwitten weggewassen. Het enzym zet het toegevoegde substraat om in een gekleurd product, dat aangeeft in welke mate het 'target'-eiwit aanwezig is. ²⁹

Indirecte ELISA

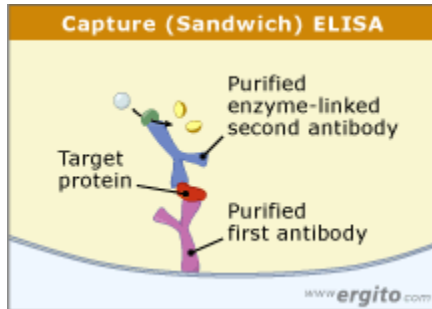


Figuur 12: Het principe van de indirecte ELISA ²⁹

In deze assay wordt de gevoeligheid vergroot door het vergroten van de effectieve enzymconcentratie dat is gebruikt in de directe ELISA. Het primaire antilichaam dat het 'target'-antigeen herkent, bevat nu geen enzym. Nu komt er een tweede antilichaam aan te pas, dat nu het

enzym aan zich gebonden heeft. Zo krijg je dubbele specificiteit, net als bij de IRMA-test. Er kunnen meerdere secundairen binden, zodat de sterkte van het signaal kan worden vergroot; zeer lage concentraties kunnen via deze manier worden gemeten.²⁹

Capture of sandwich ELISA



Figuur 13: Het principe van de capture (sandwich) ELISA.²⁹

Bij deze ELISA zijn er al antilichamen gebonden aan de wells, waarna het monster pas wordt toegevoegd. Enkel het 'target'-eiwit bindt aan het antilichaam. De losse antigenen worden weggewassen en er wordt een tweede antilichaam aan de well toegevoegd. Dit antigeen bevat nu het enzym dat de kleuringreactie kan laten gebeuren. De losse antilichamen worden weer weggewassen en er wordt nu substraat toegevoegd om de kleuringreactie plaats te laten vinden.²⁹

Elk monster is gecodeerd en vervolgens geanalyseerd. Alle monsters zijn getest op ADVIA Centaur CP, die een immuno analyser is. Hierop wordt hepatitis C-antistof aangetoond met behulp van ELISA.

4.1.1 ADVIA Centaur CP

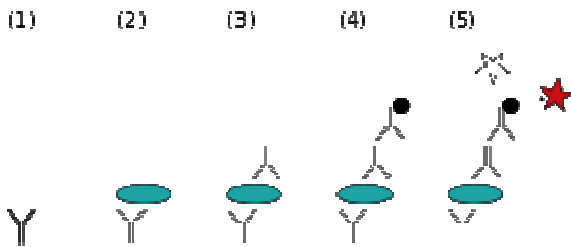
De ADVIA Centaur CP HCV-analyse is een invitro diagnostic immunoassay voor de kwalitatieve bepaling van immunoglobulin G (IgG) antilichamen van hepatitis C-virus in humaan serum of plasma (EDTA, lithium of sodium heparine buis²²).



Figuur 14 ADVIA Centaur CP®³³

Principe:

De ADVIA Centaur CP® HCV-analyse is een indirecte twee keer wassen “sandwich”-analyse. Het monster wordt geïncubeerd met ‘Solid Phase’ die recombinant en synthetisch peptide HCV-antigen bevat. Er wordt dan een antigeen-antilichaamcomplex gevormd als HCV-antilichaam aanwezig is in het monster. 'Lite reagent', die monoclonaal anti-human IgG gelabeld aan acridinium ester bevat, wordt gebruikt om anti-HCV IgG in het monster te detecteren.²²



Figuur 15: Weergave reactie “sandwich” ELISA²⁸

Reagentia en benodigdheden

1 ReadyPack® Analyse: primary reagent pack bevat:

- ADVIA Centaur® HCV Solid Phase, Lite Reagent, en Ancillary Reagent
- 1 Ancillary pack ie ADVIA Centaur CP HCV Ancillary Reagent bevat
- ADVIA Centaur en ADVIA Centaur CP HCV Master Curve cards
- 1 vial HCV Low calibratie
- 1 vial HCV High calibratie
- ADVIA Centaur en ADVIA Centaur CP HCV Calibrator Assigned Value cards²²

Analyse:

Het systeem verricht automatisch de volgende stappen:

- Pipetteert 10µl van het monster in een cuvet.
- Pipetteert 100µl Ancillary Reagent en incubeeft 4 minuten lang bij 37 °C.
- Pipetteert 100µl Solid Phase reagent en 50µl van Ancillary Reagent en incubeeft 17 minuten lang bij 37 °C.
- Verwijdert de Solid Phase van het mengsel en zuigt een ongebonden reagens op.
- Wast de cuvetten met Wash 1, gevolgd door 4 minuten lang incubatie bij 37 °C.
- Wast de cuvetten met Wash 1.
- Pipetteert 300µl van zowel zure reagent als van base reagent om de chemiluminescent reactie op gang te brengen.
- Rapporteeft de resultaten aan de hand van geselecteerde optie.²²

Rapportage: De anti-HCV-resulaten worden in extinctiewaarden uitgedrukt als reactief (positief), niet reactief (negatief) of grijze zone. Een sample is positief met een extinctiewaarde van >11.00, negatief met waarde van < 0.80. en grijze zone is tussen 0.80 en 11.00.²²

4.2 Moleculaire techniek

De test voor de viral load is gebaseerd op Polymerase Chain Reaction (PCR). Dit is een moleculaire techniek welke de ribonucleic acid (RNA) van het virus in het bloed van een patiënt kan detecteren.

De PCR-technieken kunnen voor een van de drie gebruikt worden namelijk:

- Het detecteren van de aanwezigheid van het hepatitis C-virus in het bloed van een patiënt. Dit is een kwalitatieve test en geeft aan of RNA van het virus wel of niet aanwezig is. Wordt meestal gebruikt om na te gaan of het virus nog aanwezig is na therapie.
- Het detecteren van het gehalte van HCV RNA viral load. Dit is een kwantitatieve test. Een hoger viral load geeft aan hoe infectieus het virus is. Personen met een hoger viral load kunnen minder reageren op behandeling aan interferontherapie.
- Om na te gaan welk type van hepatitis C-virus aanwezig is. Wat ook wel genotypering wordt genoemd.

Het belangrijkste klinische aspect om de testen hierboven genoemd te gebruiken is om na te gaan of er een begin gemaakt moet worden en/of doorgedaan moet worden met behandeling van hepatitis C-infectie met alpha interferon. De kwalitatieve RNA-detectietest kan ook gebruikt worden om respons op behandeling te evalueren.³⁰

Voor het bepalen van de viral load is gebruikgemaakt van Real time PCR, en voor genotyping, In-house sequencing. Deze worden in de paragrafen hieronder verder uitgewerkt.

4.2.1 PCR

PCR staat voor *Polymerase Chain Reaction* (polymerasekettingreactie). PCR is een techniek die één enkel exemplaar of enkele exemplaren van een stuk DNA dusdanig kan vermenigvuldigen dat miljoenen kopieën ontstaan van het originele stuk DNA, tot er genoeg van is om het te analyseren. Het woord polymerase in de naam is ontleend aan een van de belangrijkste stoffen

die gebruikt worden in de procedure: DNA-polymerase. DNA-polymerase verdubbelt DNA door aan iedere base de complementaire base te plakken. Hiervoor zijn er primers nodig.

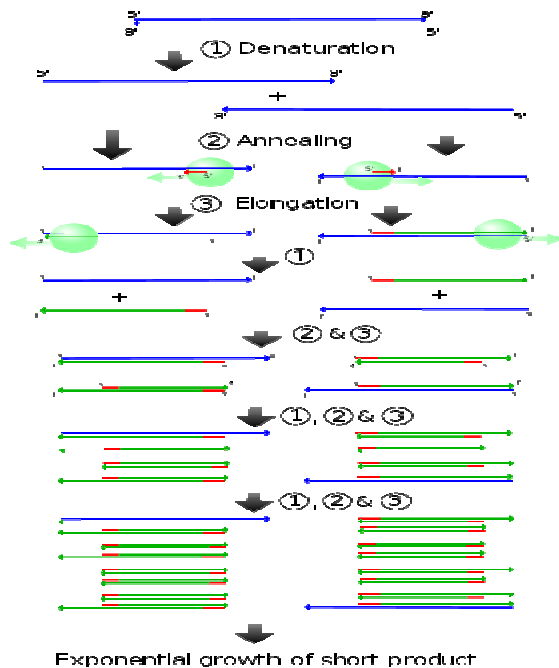
Een primer is een klein stukje enkelstreng DNA dat gebruikt wordt als startpunt van de PCR. Er zijn steeds twee primers nodig, één voor de 5'-strengs en één voor de 3'-streng.³¹

Principe:

Bij deze techniek wordt een oplossing van DNA, losse nucleotiden, primers en DNA-polymerase cyclisch verhit en afgekoeld. Na ongeveer 40 cycli is er een groot aantal fragmenten specifiek DNA gevormd. Dit deel wordt bepaald door de primers, die binden aan het begin en (op de complementaire string) het eind van deze sequentie.

PCR bevat 3 stappen nl.:

1. Denaturatie: In de eerste stap wordt het DNA-mengsel verhit tot 94-98 °C. Dit zorgt ervoor dat de waterstofbruggen die de DNA-strengen verbinden breken, waardoor de dubbele helix uit elkaar valt en het DNA enkelstrengs wordt.
2. Annealing (Hybridisatie): Na de eerste stap wordt de temperatuur verlaagd tot 50-65 °C afhankelijk van de primers, waardoor de primers aan de uiteinden van het te vermeerderen DNA binden.
3. Extensie (Elongatie): Bij een temperatuur van 75-80 °C bindt DNA-polymerase aan de primers die hun complementair DNA hebben gevonden.³¹

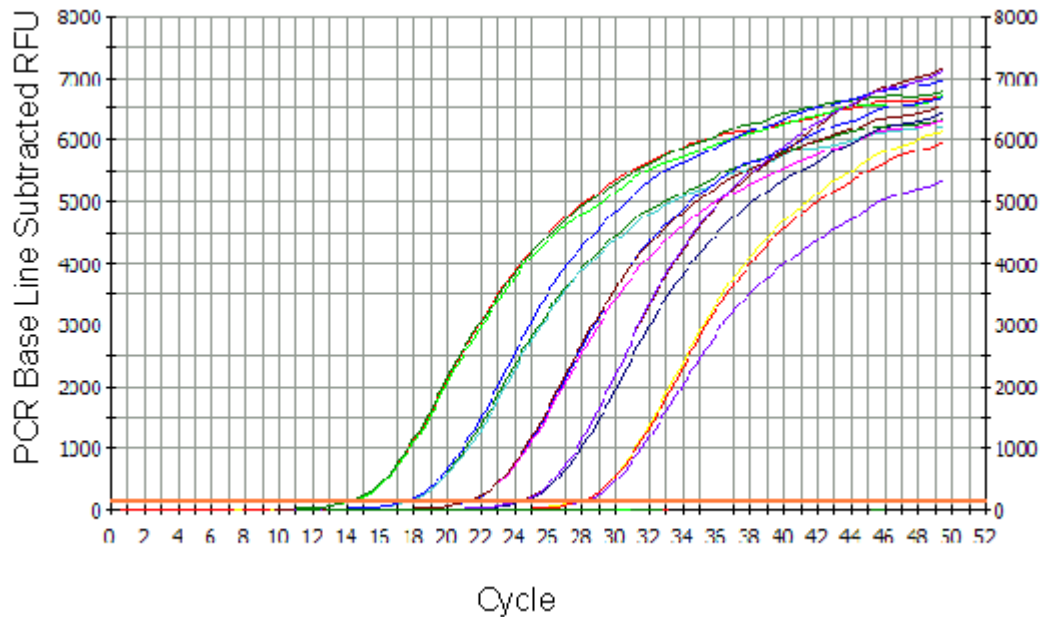


Figuur 16: Weergave reactie PCR³¹

4.2.2 RealTime-PCR

Bij de realtime-PCR-methode, kwantitatieve PCR-methode (qPCR) genoemd, kan tijdens de PCR het DNA al worden aangetoond; dit is een snelle methode voor het opsporen van micro-organismen. De SYBR Green I-methode behoort ook tot een realtime-PCR-methode welke toegepast is voor het bepalen van hepatitis C-virus.³²

De probes die gelabeld zijn, binden aan een specifiek stuk DNA en zijn niet waar te nemen als de probe intact is. Als de PCR-reactie op gang komt, wordt de probe afgebroken en wordt het label zichtbaar, waarbij fluorescerende labels licht van een bepaalde golflengte gaan uitzenden. Hoe meer DNA wordt omgezet hoe sterker het signaal. Dat signaal, uitgedrukt in RFU's (Relative Fluorescent Unit), wordt grafisch uitgezet tegen de thresholdcyclus, de cyclus in het PCR-proces waarbij de excitatie van het licht dat vrijkomt van het label boven de detectiegrens uitkomt. Bij qPCR's worden ook standaarden meegenomen waarvan de hoeveelheid DNA bekend is, waardoor er een ijklijn kan worden geplott. Door de thresholdcyclus af te zetten tegen de excitatie, kan uit deze lineaire grafiek de hoeveelheid DNA berekend worden.³²



Figuur 17: Voorbeeld van een thresholdcyclus ³⁴

4.2.3 Identificatie van hepatitis C middels de SYBR Green I-methode

SYBR Green I is de meest gebruikte kleurstof voor niet-specifieke detectie. Het is een dubbelstrengs DNA (dsDNA) intercalerende kleurstof, die fluoresceert zodra het gebonden is aan het DNA. Een paar specifieke primers is nodig om het doel te amplificeren met deze chemie. De hoeveelheid kleurstof opgenomen is evenredig met de hoeveelheid gevormd doel. De kleurstof emitteert bij 530 nm en de fluorescentie die wordt uitgezonden kan worden gedetecteerd en gerelateerd aan de hoeveelheid doel.

Het grootste nadeel van deze techniek is dat de SYBR Green I zal binden aan alle geamplificeerd dsDNA. Bijgevolg, primer dimeren of niet-specifieke producten kunnen een effect uitvoeren in de kwantificering. Het is echter nog steeds mogelijk om de specificiteit van het systeem te controleren, door een meltcurve te laten lopen aan het einde van de PCR run. Het principe is dat elk product een andere dissociatietemperatuur heeft, afhankelijk van de grootte en base-inhoud, zodat het nog steeds mogelijk is om na te gaan hoeveel van het product geamplificeerd is. Een geldige SYBR® assay - primer paar - moet een unieke, goed gedefinieerde piek op de meltcurve produceren. ^{35/36}

Principe:

De vorming van PCR-producten kan worden gedetecteerd door meting van het SYBR Green I fluorescentiesignaal. SYBR Green I bindt aan de groefjes van de dubbele DNA-helix. In de oplossing vertoont de niet-afhankelijke kleurstof weinig fluorescentie, maar fluorescentie met

een golflengte van 530 nm is aanzienlijk (sterk) verbeterd op DNA-binding. Bij PCR is de toename van SYBR Green I recht evenredig met de hoeveelheid van de dubbele strengs DNA gegenereerd. Aangezien SYBR Green I kleurstof zeer stabiel is (slechts 6% van de activiteit gaat verloren tijdens 30 cycli) en de “LightCycler® 480 instruments” optische filterset overeenkomt met de golflengten van de extinctie en emissie, is de keuze van reagens van invloed op het meten van de totale DNA.^{35/37}

De basisstappen van DNA-detectie door SYBR Green I in real-time PCR op het LightCycler® 480-systeem zijn:

- 1) Aan het begin van de amplificatie, bevat het reactiemengsel gedatureerd DNA, de primers en de kleurstof. De ongebonden kleurstofmoleculen fluoresceren zwak, het produceren van een minimale achtergrond fluorescentiesignaal dat wordt afgetrokken tijdens computer-analyse.
- 2) Na hybridisatie van de primers, kan een enkele kleurstofmoleculen binden aan de dubbele streng. DNA-binding resulteert in sterke toename van de SYBRGreen I-moleculen om licht uit te stralen bij excitatie.
- 3) Bij verlenging, binden meer en meer kleurstofmoleculen aan het nieuwe gesynthetiseerde DNA. Wanneer de reactie continu wordt gecontroleerd, wordt een toename in fluorescentie waargenomen in real-time. Na denaturatie van DNA, voor de komende verwarmingcyclus, worden de kleurstofmoleculen vrijgegeven en het fluorescentiesignaal valt.
- 4) Fluorescentiemetingen worden aan het einde van de verlengingsstap van elke PCR-cyclus uitgevoerd om toezicht te houden op toenemende hoeveelheden geamplificeerd DNA.³⁷

4.2.4 Genotypering van HCV met behulp van in-house sequencing

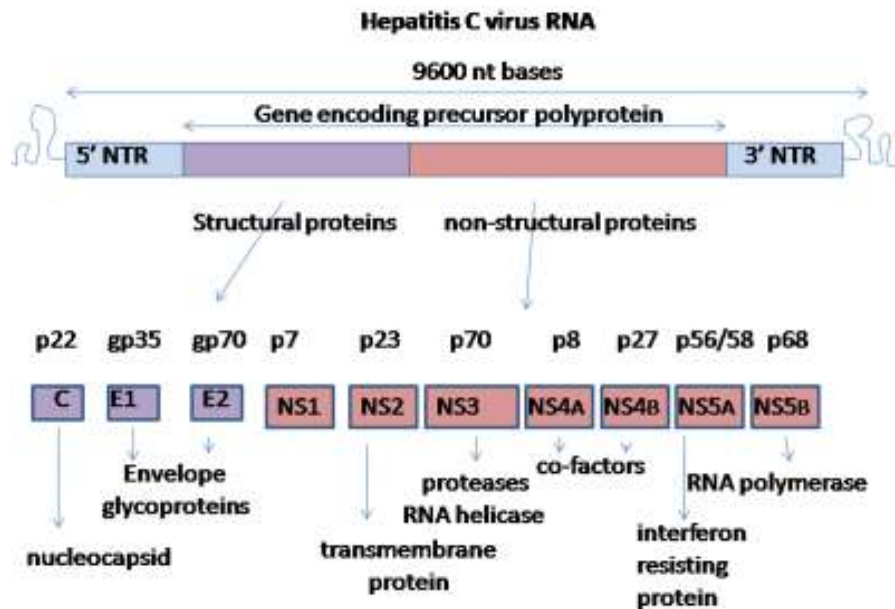
Het bepalen van de exacte lettercode van een stukje DNA is met de techniek sequencen of sequeneren mogelijk. Sequencing laat ook toe kleine fouten op het niveau van de genen op te sporen.

Vóór het sequencen dient het target DNA, eerst miljoenen malen gekopieerd te worden met behulp van PCR. Sequencen is ook gebaseerd op de complementariteit van de genetische code.³⁹

Tijdens een sequence-PCR worden naast gewone deoxynucleotiden ook dideoxynucleotiden aan de reactie toegevoegd. Omdat een dideoxynucleotide een OH-groep mist (de plek voor het hechten van een nieuw nucleotide) stopt de DNA-synthese zodra een dideoxyribonucleotiden wordt ingebouwd. Door de replicatie te blijven herhalen, wordt uiteindelijk op elke plek in de DNA-sequentie een keer een dideoxynucleotide ingebouwd. Hierdoor ontstaan heel veel DNA-fragmenten, die elk 1 nucleotide in lengte verschillen.

Door gelelektroforese worden de fragmenten gescheiden op lengte. Aan de dideoxynucleotiden is een stof gebonden die in een bepaalde kleur fluoresceert. Elke stikstofbase heeft een eigen

kleur. Dat betekent dat elk DNA-fragment de kleur heeft van de laatst ingebouwde nucleotide. Een detector leest vervolgens op volgorde alle kleuren af.⁴⁰



Figuur 18: Genoomorganisatie van hepatitis C-virus⁴⁰

Structuureiwitten gemaakt van het hepatitis C-virus bevatten kerneiwit, E1, E2; ongestructureerde eiwitten bevatten NS2, NS3, NS4, NS4A, NS4B, NS5, NS5A, en NS5B. De eiwitten van het virus zijn gerangschikt in het genoom in de volgende volgorde: N-terminal-kern-enveloppe (E1)–E2–p7-ongestructureerd eiwit 2 (NS2)–NS3–NS4A–NS4B–NS5A–NS5B–C terminal.⁴⁰

Het bepalen van het HCV-genotype van HCV-positieve patiënten vindt plaats met behulp van in-house sequencing.

Procedure van in-house sequencing omvat in het kort:

- Extractie: hier wordt het genetisch materiaal (RNA) geïsoleerd.
- RT-reactie: het RNA wordt omgezet in cDNA.
- Genotyperings-PCR: m.b.v specifieke primers wordt het cDNA vermenigvuldigd.
- Agarose gel-electroforese: door het geamplificeerd product op een gel te analyseren kan worden nagegaan of de PCR is gelukt. Gel-electroforese is een methode om DNA of proteïnen te scheiden in een matrix van agarose. De eiwitten kunnen worden gescheiden door lading en of grootte (IEF agarose wezen onafhankelijk grootte), en DNA-en RNA-

fragmenten op lengte. Zuivering van PCR-producten: om overtollige primers o.a. te verwijderen.

- Sequence-reactie: hier wordt de nucleotidenvolgorde van het geamplificeerd product bepaald door een sequence-apparaat.
- In-house genotypering, dataverwerking: de verkregen sequentievolverde wordt dan met software geanalyseerd om zodoende het juiste gen-type te bepalen.

Apparatuur en hulpmiddelen

- MagNA Pure LC (extractie)
- PCR-apparaat: GeneAmp 9600, 9700 of sensoquist labcycler
- Foto-apparatuur: MD-AP-016

5 Onderzoeksresultaten

Bij het onderzoek zijn in totaal 2122 deelnemers benaderd. Hiervan hebben 124 geen bloed afgestaan wegens verschillende redenen (uit angst geweigerd, het prikken was niet gelukt of participant was al naar huis gestuurd). Uiteindelijk is het totaal aantal aan verkregen bloedmonsters en vragenlijsten 1998. Van deze 1998 zijn 162 vragenlijsten onvolledig ingevuld. De 162 samples zijn echter wel geanalyseerd en meegenomen in het onderzoek. De gemiddelde leeftijd van alle bezoekers was 42. Van alle ethniciteiten werden de Hindoestanen en de creolen goed gerepresenteerd, 711 en 414 respectievelijk. Er waren relatief minder Javanen, Chinezen, en Marrons op de SEH. Van alle 1998 samples bleken er 13 HCV-positief (0.7% van alle samples), 20 (1.0 %) waren in de grijze zone, en de rest, 98.3% was negatief.

5.1 Serologieresultaten

In onderstaande tabel worden de positieve resultaten en de resultaten in de grijze zone weergegeven. Alle vetgedrukte resultaten zijn positief, en de rest behoren tot de grijze zone. Alle resultaten binnen de grijze zone worden nog nader onderzocht op VL, indien positief wordt de sample als positief beschouwd. Indien geen VL wordt aangetoond, wordt het resultaat uiteindelijk als negatief afgegeven. In de verdere uiteenzetting van de resultaten worden de resultaten in de grijze zone buiten beschouwing gelaten aangezien ze nog als twijfelachtig worden beschouwd. Van alle 1998 samples bleken er 13 HCV-positief (0.7% van alle samples), 20 (1.0 %) waren in de grijze zone, en de rest, 98.3% was negatief.

Tabel 5 Hepatitis C-positieve resultaten en -resultaten in grijze zone, met extinctiewaarde

Testnummer	Extinctiewaarde	Testnummer	Extinctiewaarde	Testnummer	Extinctiewaarde
74	7.99	867	>11.00	1342	>11.00
328	>11.00	914	6.58	1379	2.12
355	2.17	941	>11.00	1390	1.12
369	1.69	1048	>11.00	1505	>11.00
495	1.19	1072	1.34	1518	0.94
533	1.34	1150	>11.00	1595	>11.00
562	1.3	1188	>11.00	1601	0.97
656	9.02	1212	>11.00	1649	9.49
660	1.55	1266	7.9	1768	2.16
719	>11.00	1287	>11.00	1846	>11.00
798	9.2	1291	4.86	1898	0.96

5.2 Enquêteresultaten

In de tabellen hieronder worden de enquêteresultaten weergegeven met bijbehorende aantallen en ELISA-resultaten.

Tabel 6 Kenmerken van de studiepopulatie, tezamen met hepatitis C-resultaat

	Hepatitis C-resultaten			
	Positief n = 13 (0.7%)	grijze zone n= 20 (1%)	Negatief n = 1965 (98.3%)	Totaal n = 1998 (100%)
n (%)				
Geslacht				
Man	9 (0.9%)	10 (1.0%)	961 (98.1%)	980 (49.1%)
Vrouw	4 (0.5%)	10 (1.1%)	842 (98.4%)	856 (42.8%)
Missing	0 (0%)	0 (0%)	162 (100%)	162 (8.1%)
Etniciteit				
Javaan	3 (2.2%)	5 (3.6%)	131 (94.2%)	139 (7.0%)
Indiaan	0 (0%)	1 (1.9%)	52 (98.1%)	53 (2.7%)
Hindoestaan	5 (0.7)	7 (1.0%)	699 (98.3%)	711 (35.6%)
Creool	4 (1%)	2 (0.5%)	408 (98.6%)	414 (20.7%)
Marron	0 (0%)	3 (1.4%)	216 (98.6%)	219 (11.0%)
Europeaan	0 (0%)	0 (0%)	18 (100%)	18 (0.9%)
Chinees	0 (0%)	0 (0%)	22 (100%)	22 (1.1%)
Anders	1 (4.5%)	2 (7.8%)	253 (98.8%)	256 (12.8%)
Missing	0 (0%)	0 (0%)	166 (100%)	166 (8.3%)
Leeftijd				
Gemiddeld (± SD)	57.5 ± 17.0	56.2 ± 18.1	42.1 ± 17.3	42.3 ± 17.4
18-28	0	2	490	492
29-38	2	4	396	402
39-48	2	2	303	307
49-58	3	1	262	266
59-68	1	6	188	195
69-78	4	4	102	110
79-88	1	0	44	45
89-98	0	1	12	13
Missing	0	0	161	161
Totaal	13	20	1965	1998

Risicofactoren hepatitis C



Er werd gekeken naar de verschillende risicofactoren waarbij er sprake kon zijn van bloed-bloedcontact. Voor de resultaten zie tabel 7 en 8. Hieronder volgt een weergave van de risicofactoren.

Prikaccident

In totaal waren er 13 prikaccidenten (0.7% van alle gevraagd) vermeld vanuit de vragenlijsten. Geen een van de vermelde prikaccidenten had een positieve hepatitis C-uitslag. Alle patiënten met een prikaccident in het verleden waren negatief.

Bloedtransfusie

10.3 % (n=205) van alle geïnterviewden, afgezien van de missings, gaf aan dat ze in het verleden een bloedtransfusie hadden gekregen. Geen enkele van de 205 had een positieve hepatitis C.

Operatie

34.8% (n=696) van de participanten gaf aan dat ze een operatie hadden ondergaan in het verleden. Van deze deelnemers hadden er 6 (0.9%) een positieve hepatitis C-uitslag. Minder dan de helft (46.2%) van de patiënten met een positieve hepatitis C had een operatie ondergaan. Ongeveer een derde (34.8%) van de patiënten met een negatieve hepatitis C-uitslag vermeldde een operatie in het verleden.

Nierdialyse

Elf (0.6%) van alle participanten zijn gedialyseerd geworden, geen enkele hiervan had een positieve hepatitis C-uitslag

Drugs geïnjecteerd

Van alle participanten meldden 33 dat ze ooit in het verleden drugs hadden geïnjecteerd (1.7%). Alle 33 waren HCV-negatief getest.

Tatoeage geplaatst

26.6 % (n=531) van alle deelnemers had minstens een tatoeage. Hiervan was er 0.6% positief voor hepatitis C (n=3). 98.3% (n=522) van de deelnemers met een tatoeage was HCV-negatief getest.

Van alle hepatitis C-positieven had 23.1% een tatoeage. Van de HCV-negatieven had 26.6% een tatoeage ooit laten plaatsen.

Permanente make-up

Er waren 10 (0.5%) deelnemers die permanente make-up hadden. Een van deze deelnemers had hepatitis C. De overige waren negatief getest.

7.7% (n=1) van de hepatitis C-positieven had permanente make-up. Dit in vergelijking met de HCV-negatieven waar 0.5% (n= 9) permanente make-up had geplaatst.

Piercing

Van de 1998 geïncludeerden hadden er 1082 een piercing (54.2%). Vier van de personen met een piercing testten positief voor hepatitis C. 1068 (98.7% van alle deelnemers met piercing) hadden geen hepatitis C.

Vier (30.8%) van alle HCV-positieven hadden een piercing, en 54.4% van de HCV-negatieven had een piercing.

Boegroes

76 (7.8% van alle mannelijke participanten) hadden boegroes geplaatst. Geen enkele had HCV.

Kotis

Van alle participanten had 3.1% kotis geplaatst (n=61). Hiervan had 1.6% een HCV-positieve uitslag (n=1). 96.7% had een negatieve HCV-uitslag.

Drie procent van alle HCV-negatieven had een koti in het verleden geplaatst. Een van de 13 (7.7%) HCV-positieven had minstens een koti geplaatst.

Besnijden

Er waren 147 participanten (7.3%) die besneden zijn. Van deze waren er 3 (2%) met HCV, en 139 HCV-negatief getest.

Van alle HCV-positieven was 23.1% besneden, en van de HCV negatieven was er 7.1% besneden.

Hemofilie

Zeven van alle deelnemers waren hemofiliepatiënt. Geen enkele was positief voor HCV.

Tabel 7 Hepatitis C-resultaten verdeeld naar verschillende mogelijke risicofactoren (% naar rij aangegeven)

	Hepatitis C-resultaten			
	Positief n(%)	Grijze zone n(%)	Negatief n(%)	Totaal n (100%)
	13 (0.7%)	20 (1.0%)	1965 (98.3%)	1998 (100%)
Mogelijke risicofactoren				
Prikaccident				
Ja	0 (0%)	0 (0%)	13 (100%)	13
Nee	13 (0.7%)	19 (1.1%)	1771 (98.3%)	1803

Missing	0 (0%)	1 (0.5%)	181 (99.5%)	182
Bloedtransfusie				
Ja	0 (0%)	6 (2.9%)	199 (97.1%)	205
Nee	13 (0.5%)	14 (0.9%)	1583 (98.3%)	1610
Weet niet	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	1
Missing	0 (0%)	0 (0%)	182 (100%)	182
Operatie				
Ja	6 (0.9%)	10 (1.4%)	680 (97.7%)	696
Nee	7 (0.6%)	10 (0.9%)	1113 (98.5%)	1130
Missing	0 (0%)	0 (0%)	172 (100%)	172
Nierdialyse				
Ja	0 (0%)	2 (18.2%)	9 (81.8%)	11
Nee	13 (0.7%)	18 (1.0%)	1773 (98.3%)	1804
Missing	0 (0%)	0 (0%)	183 (100%)	183
Drugs geïnjecteerd				
Ja	0 (0%)	1 (3.0%)	32 (97.0%)	33
Nee	13 (0.7%)	19 (1.1%)	1749 (98.2%)	1781
Verward met medicatie i.v.	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	1
Missing	0 (0%)	0 (0%)	183 (100%)	183
Tatoeage				
Ja	3 (0.6%)	6 (1.1%)	522 (98.3%)	531
Nee	10 (0.8%)	14 (1.1%)	1265 (98.1%)	1289
Missing	0 (0%)	0 (0%)	178 (100%)	178
Permanente make-up				
Ja	1 (10.0%)	0 (0%)	9 (90%)	10
Nee	12 (0.7%)	20 (1.1%)	1768 (98.2%)	1800
Weet niet	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	1
Missing	0 (0%)	0 (0%)	187 (100%)	187
Piercing				
Ja	4 (0.4%)	10 (0.9%)	1068 (98.7%)	1082
Nee	9 (1.2%)	10 (1.3%)	721 (97.4%)	740
Missing	0 (0%)	0 (0%)	176 (100%)	176
Boegroes				
Ja	0 (0%)	1 (1.3%)	75 (98.7%)	76
Nee	13 (0.8%)	17 (1.0%)	1690 (98.3%)	1720
Missing	0 (0%)	2 (1.0%)	200 (99.0%)	202
Koti's				

Ja	1 (1.6%)	1 (1.6%)	59 (96.7%)	61
Nee	12 (0.7%)	18 (1.0%)	1721 (98.3%)	1751
Missing	0 (0%)	1 (0.5%)	185 (99.5%)	186
Besnijdenis				
Ja	3 (2.0%)	5 (3.4%)	139 (94.6%)	147
Nee	10 (0.6%)	14 (0.9%)	1628 (98.5%)	1652
Missing	0 (0%)	1 (0.5%)	198 (99.5%)	199
Hemofiliepatiënt				
Ja	0 (0%)	0 (0%)	7 (100%)	7
Nee	13 (0.7%)	20 (1.1%)	1778 (98.2%)	1811
Missing	0 (0%)	0 (0%)	180 (100%)	180

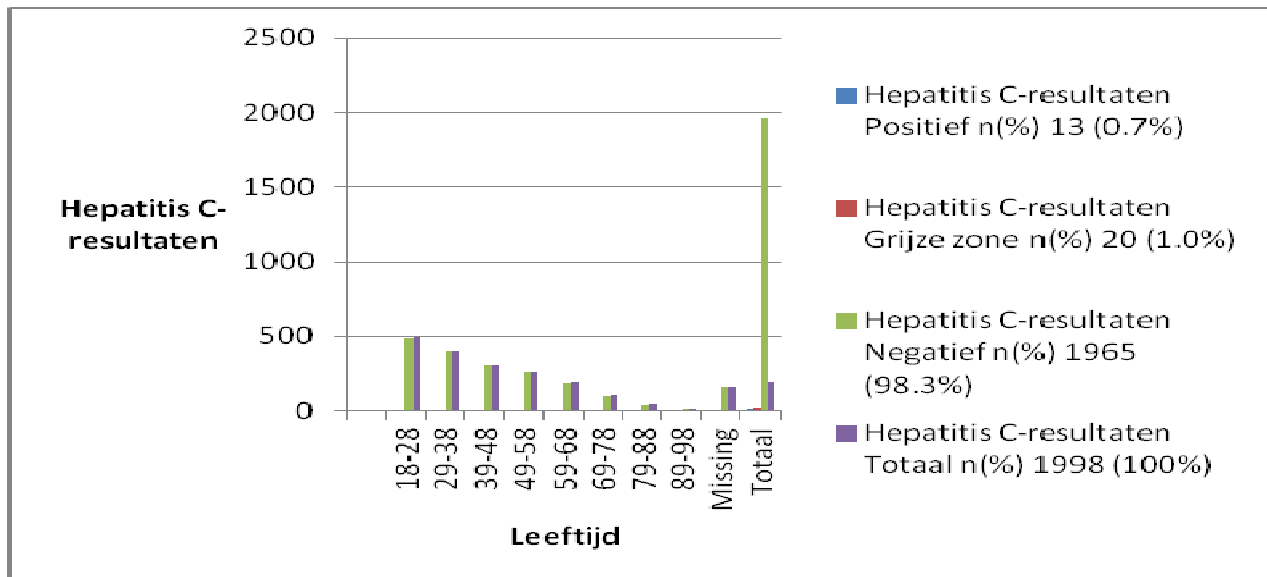
Tabel 8 Mogelijke risicofactoren voor hepatitis C (% naar kolom aangegeven)

	Hepatitis C-resultaten			
	Positief N=13 n (%)	Grijze zone N=20 n (%)	Negatief N=1965 n (%)	Totaal N = 1998 (100%)
Risicofactoren				
Prikaccident				
Ja	0 (0%)	0 (0%)	13 (0.6%)	13 (0.7%)
Nee	13 (100%)	19 (95%)	1771 (90.1%)	1803 (90.2%)
Missing	0 (0%)	1 (5%)	181 (9.2%)	182 (9.2%)
Bloedtransfusie				
Ja	0 (0%)	6 (30%)	199 (10.1%)	205 (10.3%)
Nee	13 (100%)	14 (70%)	1583 (80.6%)	1610 (80.6%)
Weet niet	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.05%)	1 (0.1%)
Missing	0 (0%)	0 (0%)	182 (9.3%)	182 (9.2%)
Geopereerd				
Ja	6 (46.2%)	10 (50%)	680 (34.6%)	696 (34.8%)
Nee	7 (53.8%)	10 (50%)	1113 (56.6%)	1130 (56.6%)
Missing	0 (0%)	0 (0%)	172 (8.8%)	172 (8.6%)
Nierdialysebehandeling				
Ja	0 (0%)	2 (10.0%)	9 (0.5%)	11 (0.6%)
Nee	13 (100%)	18 (90.0%)	1773 (90.2%)	1804 (90.3%)
Missing	0 (0%)	0 (0%)	183 (9.3%)	183 (9.2%)
Drugs geïnjecteerd				
Ja	0 (0%)	1 (5.0%)	32 (1.6%)	33 (1.7%)

Nee	13 (100%)	19 (95.0%)	1749 (89.0%)	1781 (89.3%)
Verward met medicatie	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.05%)	1 (0.1%)
Missing	0 (0%)	0 (0%)	183 (9.3%)	183 (9.2%)
Tatoeage geplaatst				
Ja	3 (23.1%)	6 (30.0%)	522 (26.6%)	531 (26.6%)
Nee	10 (76.9%)	14 (70.0%)	1265 (64.4%)	1289 (64.0%)
Missing	0 (0%)	0 (0%)	178 (9.1%)	178 (8.9%)
Permanente make-up				
Ja	1 (7.7%)	0 (0%)	9 (0.5%)	10 (0.5%)
Nee	12 (92.3%)	20 (100%)	1768 (90.0%)	1800 (90.1%)
Weet niet	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	1 (0.1%)
Missing	0 (0%)	0 (0%)	187 (9.5%)	187 (9.4%)
Piercing				
Ja	4 (30.8%)	10 (50.0%)	1068 (54.4%)	1082 (54.2%)
Nee	9 (69.2%)	10 (50.0%)	721 (36.7%)	740 (37.0%)
Missing	0 (0%)	0 (0%)	176 (9.0%)	176 (8.8%)
Boegroes				
Ja	0 (0%)	1 (5.0%)	75 (3.8%)	76 (3.8%)
Nee	13 (0.8%)	17 (85.0%)	1690 (86.0%)	1720 (86.1%)
Missing	0 (0%)	2 (10.0%)	200 (10.2%)	202 (10.1%)
Koti's				
Ja	1 (7.7%)	1 (5.0%)	59 (3.0%)	61 (3.1%)
Nee	12 (92.3%)	18 (90.0%)	1721 (87.6%)	1751 (87.6%)
Missing	0 (0%)	1 (5.0%)	185 (9.4%)	186 (9.3%)
Besnijden				
Ja	3 (23.1%)	5 (25.0%)	139 (7.1%)	147 (7.4%)
Nee	10 (76.9%)	14 (70.0%)	1628 (82.8%)	1652 (82.7%)
Missing	0 (0%)	1 (5.0%)	198 (10.1%)	199 (10.0%)
Hemofiliepatiënt				
Ja	0 (0%)	0 (0%)	7 (0.4%)	7 (0.4%)
Nee	13 (100%)	20 (100%)	1778 (90.5%)	1811 (90.6%)
Missing	0 (0%)	0 (0%)	180 (9.2%)	180 (9.0%)

Tabel 9 Hepatitis C-resultaten verdeeld naar leeftijdscategorie.

	Hepatitis C-resultaten			
	Positief	Grijze zone	Negatief	Totaal
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
	13 (0.7%)	20 (1.0%)	1965 (98.3%)	1998 (100%)
Gemiddeld (± SD)	57.5 ± 17.0	56.2 ± 18.1	42.1 ± 17.3	42.3 ± 17.4
18-28	0	2	490	492
29-38	2	4	396	402
39-48	2	2	303	307
49-58	3	1	262	266
59-68	1	6	188	195
69-78	4	4	102	110
79-88	1	0	44	45
89-98	0	1	12	13
Missing	0	0	161	161
Totaal	13	20	1965	1998



Figuur 19 Hepatitis C-resultaten naar leeftijdscategorie

In bovenstaande tabel en grafiek is duidelijk dat het aantal positieve resultaten op hogere leeftijd voorkomt, en wel in de leeftijdscategorie 46 tot en met 59.

5.2.1 Odds ratio

De odds ratio is de verhouding tussen twee wedverhoudingen of odds.

De wedverhouding is de verhouding tussen de waarschijnlijkheid dat een gebeurtenis voorvalt (zal voorvallen) en de waarschijnlijkheid dat ze niet voorvalt (zal voorvallen).

Odds ratio geeft de mate van associatie tussen twee variabelen weer.

$$OR = \frac{a \times d}{b \times c}$$

$$OR = \frac{(a/b)}{(c/d)}$$

	Variabele A	
Variabele B	a	b
	c	d

Algemeen:

Als de $OR = 1$ dan is er geen associatie.

Als de $OR > 1$, dan is er een positieve associatie; risicofactor.

Als de $OR < 1$, dan is er een negatieve associatie; beschermende factor.

Tabel 10 Odds Ratio van de mogelijke risicofactoren voor hepatitis C

Risicofactoren	Hepatitis C-resultaten					
	Positief N=13		Negatief N=1965		ODDS RATIO	95 % Confidence Interval
	JA	NEE	JA	NEE		
<i>Prikaccident</i>	0	13	13	1771	0	Nvt
<i>Bloedtransfusie</i>	0	13	199	1583	0	Nvt
<i>Geopereerd</i>	6	7	680	1113	1.4029	0.47-4.20
<i>Nierdialysebehandeling</i>	0	13	9	1773	0	nvt
<i>Drugs geïnjecteerd</i>	0	13	32	1749	0	nvt
<i>Tatoeage geplaatst</i>	3	10	522	1265	0.73	0.20 – 2.65
<i>Permanente make-up</i>	1	12	9	1768	16.37	1.92 – 139.50
<i>Piercing</i>	4	9	1068	721	0.3	0.09-0.98
<i>Boegroes</i>	0	13	75	1690	0	nvt
<i>Koti's</i>	1	12	59	1721	2.43	0.31-19.00
<i>Besnijdenis</i>	3	10	139	1628	3.51	0.96-12.92
<i>Hemofiliepatiënt</i>	0	13	7	1778	0	nvt

Er wordt een OR van 1.42 (95%CI = 0.47 - 4.20) gevonden bij mensen met HCV en operaties in het verleden; dit wil zeggen dat er een associatie is met het oplopen van HCV en operaties in het verleden. Echter deze associatie is niet statisch significant, het betrouwbaarheids interval omvat 1.

Bij permanente make-up laten plaatsen wordt er een OR van 16.37 (95% CI = 1.92-139.50) gevonden. Er is een statistisch significante associatie met het oplopen van HCV, indien er in het verleden permanent make-up is geplaatst.

De risicofactoren besnijdenis, het laten plaatsen van kotis hebben ook een positieve associatie met het oplopen van HCV, echter zijn deze ook niet statisch significant. Het betrouwbaarheidsinterval omvat ook 1.

De overige risicofactoren die niet vet gedrukt zijn, hebben geen positieve associatie met het oplopen van HCV.

5.3 Viral load resultaten

De resultaten verkregen uit ELISA die binnen de grijze zone waren, zijn nader onderzocht op VL. Alle resultaten binnen de grijze zone zijn negatief uitgekomen. De HCV-positieve resultaten verkregen uit ELISA zijn ook onderzocht op viral load. Hiervan blijkt 1 negatief te zijn en de rest positief (zie tabel 11).

Tabel 11: Resultaten Viral load van de ELISA positieve samples

Test-nummer	Extinctie-waarde	Viral Load (copie/ml)
366	>11.00	8.110E+04
719	>11.00	Negatief
867	>11.00	1.05E+04
941	>11.00	4.84E+04
1048	>11.00	7.15E+03
1150	>11.00	8.30E+04
1188	>11.00	3.84E+05
1212	>11.00	7.83E+05
1287	>11.00	7.81E+05
1342	>11.00	4.02E+05
1505	>11.00	1.52E+05
1595	>11.00	2.70E+05
1846	>11.00	4.21E+05

Discussie

Verondersteld werd dat de populatie van de SEH een redelijk goede vertegenwoordiging kan zijn voor de algehele populatie van Suriname. Dit is duidelijk naar voren gekomen uit het onderzoek, vooral als gekeken wordt naar etniciteit. Volgens de census van 2004 zijn de Hindoestanen de grootste groep, gevolgd door de creolen. Bij de populatie van de SEH gedurende de onderzoeksperiode was dit ook het geval.

Aangezien pas na 20 jaar bij 6-25% een chronische Hepatitis C-infectie ontstaat, is de leeftijdsgroep 18 jaar en meer geïnccludeerd bij dit onderzoek.

Er werd bij de risicofactoren *prikaccident, bloedtransfusie, nierdialysebehandeling, drugs intraveneus, tatoeage, piercing, boegroes, hemofiliepatiënt*, geen duidelijk verschil in percentages gezien in de groep van hepatitis C-positief versus hepatitis C-negatief. Prikaccidenten waren zeer zeldzaam, en gelukkig had niemand hepatitis C hierdoor opgelopen. Het feit dat geen enkele persoon met een bloedtransfusie in het verleden hepatitis C-positief werd getest, stemt gerust. Mogelijkerwijs kunnen we zeggen dat we een goede screening hebben hier in Suriname.

Drugs intraveneus is een categorie die mogelijk fout is geïnterpreteerd door de patiënten. Een aantal patiënten hadden als antwoord 'ja vandaag' Waarschijnlijk hebben zij drugs intraveneus geïnterpreteerd als medicijnen intraveneus.

Dat er bij tatoeage en piercing geen duidelijk verschil was te zien, was verrassend. Echter moet er nog gespecificeerd worden naar tatoeages en piercings zelf of thuis laten plaatsen versus een erkende tattoo-shop die zich aan alle hygiëne en veiligheidsvoorschriften houdt.

Dat boegroes geen duidelijke risicofactor waren, was op zich niet verrassend. Bij het plaatsen van boegroes wordt het incisiemesje lang en goed verhit boven een vlammetje, met als gevolg het doden van het hepatitis C-virus.

De risicofactoren *operatie* (46.2% HCV-positieven versus 34.6% HCV-negatieven), *permanente make-up* (7.7 % HCV-positief versus 0.5% HCV-negatief) *kotis* (7.7% HCV-positief versus 3% HCV-negatief) en *besnijdenis* (23.1% HCV-positief versus 7.1% HCV-negatief) lijken een mogelijke risicofactor te zijn voor het oplopen van HCV. Gezien de grote hoeveelheid aan ontbrekende informatie kunnen echter vooralsnog geen concrete uitspraken hierover gedaan worden. Ook moet gekeken worden naar het jaartal waarin mensen de operaties hebben ondergaan. Mogelijk dat deze mensen toch bloed toegediend hebben gekregen tijdens de operatie, het jaartal maakt uit of er wel of niet gescreend is geworden op hepatitis C. Verder moet nagegaan worden of eventueel besnijdenis heeft plaatsgevonden binnen of buiten de gezondheidszorg, en of het plaatsen van permanente make-up in een erkende studio heeft plaatsgevonden. Kotis zijn een interessante risicofactor. Nogmaals moet benadrukt worden dat er

wat ontbrekende informatie is, en pas bij volledigheid hiervan zijn er concrete uitspraken te doen. Maar er kan wel gezegd worden dat er een positieve correlatie is tussen de voornoemde risicofactoren en het oplopen van hepatitis C.

Er moet wel nader gekeken worden of besnijdenissen in het ziekenhuis hebben plaatsgevonden of buiten het ziekenhuis, aangezien hier een mogelijk verschil in hygiëne een rol kan spelen. Idem voor permanente make-up.

Wat de algehele kenmerken betreft, blijkt dat de Javanen een wat hoger risico hebben op het oplopen van HCV. Echter, hier weer moet men heel voorzichtig zijn met deze uitspraak. De groep Javanen is ondergerepresenteerd in de SEH-populatie, en weer moet aangehaald worden de grote groep ‘missings’.

Ook is te zien dat er meer mannen positief testen op HCV dan vrouwen, terwijl er wel ongeveer evenveel vrouwen als mannen binnen de deelnemersgroep waren.

Als laatste belangrijke punt is te noemen het feit dat de groep van hepatitis C positieven ouder is dan de gemiddelde studiegroep. Dit is in lijn met de bevindingen van hepatitis C wereldwijd.⁵

Uit literatuur is gebleken dat MSM een van de manieren van overdracht van HCV is¹⁴. Onderzoek heeft aangetoond dat van de populatie, er tweemaal meer mannen dan vrouwen besmet zijn met HCV. Dus het kan dat dit een van de redenen is waarom mannen meer besmet zijn dan vrouwen.

Vergeleken met de verkregen resultaten van het Centraal Laboratorium zijn de volgende punten waarneembaar:

- Op basis van positieve resultaten binnen de etniciteit is gebleken dat Javanen het meest besmet zijn met HCV, wat ook duidelijk blijkt uit de resultaten van het Centraal Laboratorium.
- Gekeken naar de leeftijdscategorie komen de bevindingen van zowel de data van het Centraal Laboratorium als die van de SEH overeen. Hepatitis-positieve gevallen komen het meest voor in de leeftijdsgroep van 46 tot 66 jaar.

De resultaten van de grijze zone zijn allemaal negatief uitgekomen bij het bepalen van viral load. Dus deze resultaten die als twijfelachtig werden beschouwd, zijn werkelijk negatief.

Van de HCV-positieve resultaten verkregen van de ELISA zijn op een na allemaal viral load positief. Bij het negatieve viral load kan het zijn dat het virus wel aanwezig is, maar in zeer lage concentratie, waardoor het niet aantoonbaar is, maar wel positief aangeeft bij ELISA. Een reden van lage concentratie viral load kan zijn dat persoon spontaan is genezen, waardoor het virus niet aantoonbaar is. Een andere reden kan zijn dat de ELISA-test een gevoeliger test is dan VL.

Conclusie

Uit de verkregen resultaten bij het onderzoek kunnen de volgende conclusies getrokken worden. Er blijken 13 mensen uit de onderzochte populatie besmet te zijn met HCV, dit is gelijk aan 0.7 %. Er zijn tweemaal meer mannen dan vrouwen uit de onderzochte populatie besmet met HCV, echter moet ook vermeld worden dat een groter aantal mannen dan vrouwen betrokken is geweest bij het onderzoek. HCV komt het meest voor bij getrouwde mensen, gevolgd door alleenstaanden. Op basis van etniciteit blijkt dat de Hindoestanen de grootste groep zijn binnen de populatie, gevolgd door creolen, Javanen, en de rest. Op basis van positieve resultaten binnen de etniciteit zijn er meer Hindoestanen positief getest. Maar naar etniciteit zijn er relatief meer Javanen gevonden. Geen van de HCV-positieve respondenten heeft zich ooit geprikt of heeft bloedtransfusie gehad. Ongeveer evenveel mensen besmet met HCV zijn ooit geopereerd vergeleken met de groep die geen HCV heeft. Er zijn geen hemofiliepatiënten met HCV en ook geen dialysepatiënten. De groep positieve HCV-patiënten heeft nooit een donororgaan gekregen. Zij zijn ook nooit drugsgebruikers geweest. 23.1% van de HCV-positieven heeft een tatoeage en minder dan 10% heeft permanente make-up. Bijna de helft van de HCV-dragers heeft een piercing, niemand heeft boegroes en 1 van de 13 heeft koti's. 30% van de ondervraagden is besneden. HCV komt het meest voor in de leeftijdsgroep 46-55 en 66-75. Uit de steekproef van de SEH-populatie is gebleken dat het percentage positieve hepatitis C veel minder is dan het geschatte percentage van de WHO.

De resultaten van de grijze zone zijn allemaal negatief uitgekomen bij het bepalen van viral load. Dus deze resultaten die als twijfelachtig werden beschouwd, zijn werkelijk negatief.

Van de HCV-positieve resultaten verkregen van de ELISA zijn op één na allemaal viral load positief.

Aanbevelingen

In dit project is niet verder geïdentificeerd naar soort genotype, dus het aantal positieve samples dat uit het onderzoek verkregen is, moet verder geïdentificeerd worden naar welk soort genotype. Echter worden de HCV-positieve samples nog deze maand in Nederland onderzocht.

Resultaten die zich in de grijze zone bevinden, zijn verder onderzocht middels PCR-techniek voor bevestiging op HCV. Na verloop van een bepaalde tijd is het het best deze deelnemers opnieuw te laten testen op HCV.

Er zijn 162 onvolledig ingevulde enquêteformulieren. Hierbij moet het aantal deelnemers dat zijn enquêteformulieren niet volledig ingevuld heeft, opgespoord worden, en deze deelnemers moet gevraagd worden hun formulier volledig in te vullen.

Nadat alle informatie die ontbreekt duidelijk is verkregen van alle deelnemers, moet de data-analyse opnieuw worden gemaakt voor een accurater resultaat.

Er kan eventueel een hepatitis C-studie worden uitgevoerd, toegespitst op het testen van Javanen. Aangezien deze behoren tot de grootste groep, moet er extra aandacht aan hen besteed worden bij het voorkomen bij transmissie van het hepatitis C-virus.

Aangezien Hepatitis C-infectie het meest voorkomt bij oudere populatie is het aangeraden om deze populatie standaard te screenen op hepatitis C. En vervolgens na te gaan of de therapie wel haalbaar is.

Het is zeer belangrijk om vooraf te weten of iemand geïnfecteerd is, omdat de besmetting met het virus wel geneesbaar is aan de hand van het type. In een ver gevorderd stadium, waarbij er leverbeschadiging heeft plaatsgevonden, is genezing niet mogelijk.

Het is aan te raden om het aantal HCV-positieve deelnemers op te roepen voor therapie, en hun verder begeleiden.

Literatuurlijst

1. Urbanus, A.T. , Van den Hoek, A, Boonstra, A, Van Houdt, R. De Bruijn, L.J., Heijman, T., Coutinho, R.A., Prins, M. (2011). *People with Multiple Tattoos and/or Piercings Are Not Increased Risk for HBV or HCV in The Netherlands*. Geraadpleegd 20 juli 2013 via <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0024736>.
2. Bartenschlager R. and Bu"hler S. (2008). *Pubmed artikel: Hepatitis*. Geraadpleegd 8 februari 2012 via <http://www.klinikum.uni-heidelberg.de/HCV.104920.0.html>
3. Lalieu E. (2009). *Publicatie: RNA-blokker maakt korte metten met Hepatitis C* Geraadpleegd 8 februari 2012 via <http://www.kennislink.nl/publicaties/rna-blokker-maakt-korte-metten-met-hepatitis-c>
4. LCI(05-05-2011). *LCI-Richtlijnen Hepatitis C*. Geraadpleegd 1 september 2012 via http://www.rivm.nl/Bibliotheek/Professioneel_Praktisch/Richtlijnen/Infectieziekten/LCI_richtlijnen/LCI_richtlijn_Hepatitis_C
5. Muijsenbergh van den M. (2012). *Hepatitis C: Epidemiologie*. Geraadpleegd 1 september 2012 via <http://www.huisarts-migrant.nl/index.php/hepatitis-c/>
6. Nettleman M.S., Marks J.W. (2013). *Medicine Net: Hepatitis C infection*. . Geraadpleegd 20 juli 2013 via http://www.medicinenet.com/hepatitis_c/article.htm
7. Neyts J. (2012). *KU Leuven Nieuws; Archief persbericht Effici"ente en veilige behandeling van hepatitis C dankzij nieuwe molecule*. . Geraadpleegd 1 september 2012 via http://www.kuleuven.be/nieuws/berichten/2012/pb2012_04_262.html
8. Poel van der, B. (2012). *Reader 1.1 Venapunctie voor diagnostiek*. Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC)
9. Drs Sabajo (nd). *Data verzameling van Prevalentie in Suriname*; Centraal Laboratorium.

10. *HCV onderzoeks protocol: Spread of HCV in Suriname; Opportunities for prevention of severe outcomes*; Version number 1.1, Date: 24 januari 2012
11. *Suriname onbekend met aantal hepatitis C besmettingen* (2009); door redactie Suriname. Geraadpleegd 01 september 2012 via <http://www.rnw.nl/suriname/article/suriname-onbekend-met-aantal-hepatitis-c-besmettingen>
12. *National Results Volume 1 (p18); Census 2004/ABS(2005)* Demographic and Social Characteristics; Suriname in numbers no 213-2005/02
13. *Wekelijkse Epidemiologische Record no 49, WHO* (1999)
14. *Nederlandse onderzoek aan Erasmus MC* (2013) Auteur onbekend. Geraadpleegd 8 juli 2013 via <http://www.erasmusmc.nl/mdl/research/hepatologie/hepC/>
15. Maag Lever Darm Stichting (MLDS); *Beschrijving van Hepatitis C*. (nd). Geraadpleegd 8 februari 2012 via <http://www.mlids.nl/ziekten/105/hepatitis-c/>
16. Maag Lever Darm Stichting (MLDS); *Leverfunctie onderzoek* (nd). Geraadpleegd 8 februari 2012 via <http://www.mlids.nl/onderzoeken/33/leverfunctie-onderzoek/>
17. Maag Lever Darm Stichting (MLDS); *Klachten en symptomen bij Hepatitis C* (nd). Geraadpleegd 8 februari 2012 via <http://www.mlids.nl/ziekten/105/hepatitis-c/klachten/>
18. Maag Lever Darm Stichting (MLDS); *Oorzaak van Hepatitis C* (nd). Geraadpleegd 8 februari 2012 via <http://www.mlids.nl/ziekten/105/hepatitis-c/oorzaak/>
19. Maag Lever Darm Stichting (MLDS); *Diagnose van Hepatitis C* (nd). Geraadpleegd 8 februari 2012 via <http://www.mlids.nl/ziekten/105/hepatitis-c/diagnose/>
20. Science News; from Universities, journals, and other Organizations; *Natural Compound Blocks Hepatitis C infection* (2010). Geraadpleegd 1 september 2012 via http://en.wikipedia.org/wiki/Hepatitis_C

21. Maag Lever Darm Stichting (MLDS); *Behandeling van Hepatitis C* (nd). Geraadpleegd 8 februari 2012 via <http://www.mlds.nl/ziekten/105/hepatitis-c/behandeling/>

22. *Hepatitis C; Glossary* (2013); Global Alert and Response (GAR); World Health Organization (WHO). Geraadpleegd 20 juli 2013 via <http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/whocdscsrlyo2003/en/index7.html>

23. *Hepatitis C - peginterferon alfa and ribavirin (TA200)* (2010); NICE: National Instituut for Health and Care Excellence. Geraadpleegd 10 februari 2012 via <http://www.nice.org.uk/guidance/ta200>

24. *Hepatitis C in detail* (2012); Vlaams Hepatitis contactpunt. Geraadpleegd 1 september 2012 via <http://www.hepatitisc.be/INFO-HEPATITIS-C/HEPATITIS-C-IN-DETAIL/>

25. *Hepatitis C; Key Facts* (2013); Global Alert and Response (GAR); World Health Organization (WHO). Geraadpleegd 20 juli 2013 via <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>

26. *Hepatitis C Risicotest* (nd); GGD Amsterdam; Nationale Hepatitis C Campagne Geraadpleegd 8 februari 2012 via <http://www.heptest.nl/site/>

27. *Hepatitis C in het kort* (nd); Nederlandse Leverpatiëntenvereniging (NLV); Het Nederlands Hepatitis Centrum (NHC). Geraadpleegd 8 februari 2012 via <http://www.leverpatientenvereniging.nl/leverziekten/virale-hepatitis/hepatitis-c/>

28. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), geraadpleegd op 12 september 2013 via <http://en.wikipedia.org/wiki/ELISA>

29. Linden van der A, de Wijze de D, Kallemeijn W, Blommaart M, Poorter de E (2005); Reader, Biochemische Technieken, Semester 5, Chemie, Hogeschool Zeeland

30. Assessment report: Hepatitis C viral load testing (2000), MSAC application1021, geraadpleegd 13 september 2013 via <http://www.health.gov.au/haf/msca>

31. Polymerase chain reaction, geraadpleegd op 13 september 2013 via http://en.wikipedia.org/wiki/Polymerase_chain_reaction

32. Real-time polymerase chain reaction, geraadpleegd op 13 september 2013 via http://en.wikipedia.org/wiki/Real-time_polymerase_chain_reaction

- 33 ADVIA Centaur CP®, geraadpleegd op 13 september 2013 via <http://www.healthcare.siemens.com/immunoassay/systems/advia-centaur-cp-immunoassay-sys>
- 34 Molecular Biology Core Facility, Real Time PCR, geraadpleegd op 13 september via <http://www.etsu.edu/com/mbcf/Services/RealTimePCR.aspx>
- 35 Ponchel F, Toomes C, Bransfield K, Leong F, Douglas S.H., Bell S. M, Combaret V, Puisieux A, Mighell J. A., Robinson P.R, Inglehearn C.F., Isaacs D.I., en Markham A. F.(2003). Methodology article: Real-time PCR based on SYBR-Green I fluorescence: An alternative to the TaqMan assay for a relative quantification of gene rearrangements, gene amplifications and micro gene deletions. Geraadpleegd 13 september 2013 via <http://www.biomedcentral.com/1472-6750/3/18>
- 36 SYBR Green 1, geraadpleegd op 13 september 2013 via http://en.wikipedia.org/wiki/SYBR_Green_I
- 37 LightCycler® 480 Instrument Operator's manual; Software version 1.5.
- 38 HCV Genotyping, geraadpleegd op 14 september 2013 via https://www1.imperial.ac.uk/departmentofmedicine/divisions/infectiousdiseases/infectious_diseases/mdu/diagnosticservices/hcvgenotyping/
- 39 Sequencing; geraadpleegd op 28 september 2013 via http://en.wikipedia.org/wiki/Real-time_polymerase_chain_reaction
- 40 Sequencing; geraadpleegd op 28 september 2013 via <http://scilogs.be/starttoknow/index.php?op=ViewArticle&articleId=103&blogId=4>

Bijlagen

Bijlage 1: Toestemmingsformulier Hepatitis C-onderzoek

Toestemmingsverklaring

(Toestemmingsverklaring voor de wettelijke vertegenwoordiger / schriftelijk gemachtigde / echtgenoot / andere levensgezel)

Kenmerk CMWO nummer – VG 032 - 2012

Titel van het onderzoek: *Hepatitis C prevalentie studie Spoed Eisende Hulp*

Mij is gevraagd toestemming te verlenen voor deelname aan bovenvermeld medisch-wetenschappelijk onderzoek voor:

Naam: ...

Geboortedatum:...

Ik bevestig dat ik de informatiebrief voor de proefpersoon, heb gelezen, en ik begrijp de informatie. Ik heb voldoende tijd gehad om over de deelname van degene die ik vertegenwoordig na te denken en ben in de gelegenheid geweest om vragen te stellen. Deze vragen zijn naar tevredenheid beantwoord.

Ik geef toestemming voor deelname aan bovengenoemd medisch-wetenschappelijk onderzoek.

Ik weet dat deelname geheel vrijwillig is en dat ik mijn toestemming op ieder moment kan intrekken zonder dat ik daarvoor een reden hoef op te geven.

Ik geef wel/geen* toestemming om de huisarts en/of behandelend specialisten van degene die ik vertegenwoordig op de hoogte te brengen van zijn/haar deelname aan dit onderzoek.

Ik geef toestemming dat bevoegde personen van SWOS, leden van de medisch-ethische toetsingscommissie en bevoegde autoriteiten inzage kunnen krijgen in de medische gegevens en onderzoeksgegevens van degene die ik vertegenwoordig.

Ik geef toestemming om de gegevens te verwerken voor de doeleinden zoals beschreven in de informatiebrief met kenmerk CMWO – VG 032 - 2012 ¹

Naam vertegenwoordiger:

Handtekening:

Datum:

Relatie tot deelnemer:

Handtekening/Duimafdruk deelnemer

Naam onderzoeker:

Handtekening:

Datum:

Een kopie van het ondertekende toestemmingsformulier en de informatiebrief aan de wettelijke vertegenwoordiger meegeven.

* Doorhalen wat niet van toepassing is

¹Indien materiaal bewaard wordt om in de toekomst voor andere doeleinden te verwerken zal hiervoor apart toestemming gevraagd moeten worden. Indien dit materiaal geanonimiseerd wordt, wordt het aanbevolen om ook hier vooraf toestemming voor te vragen.

Bijlage 2: Hepatitis C-vragenlijst

Code: _____

Vragenlijst ingevuld door:

Antwoorden gecontroleerd door:

Informatie verkrijgbaar van het SEH-aanmeldformulier:

Registratienr:

Debiteurennr:

Telefoonnr patient:

Telefoonnr begeleider:

1. Naam (achternaam, voornaam)

2. Bent u een man of een vrouw?

Man

Vrouw

3. Geboortedatum dd - mm - yyyy

Algemene vragen:

4. Geboorteplaats:

5. In welk land zijn uw ouders geboren?

6. Woonplaats?

7. Etniciteit?

a. Javaan

b. Indiaan

c. Hindoestaan

d. Creool

e. Marron

- f. Europeaan
- g. Chinees
- h. Anders, namelijk.....

8. Etniciteit grootouders:

Moeders moeder:	Moeders vader
Vaders moeder:	Vaders vader

9. Wat is uw burgerlijke staat?

- Single
- Concubinaat/samen wonen
- Getrouwd
- Weduwe/weduwenaar
- Gescheiden

10. Heeft u ooit in een ander land gewoond?

Zo ja, waar?

Hoe lang? dd - mm - yyyy tot dd - mm - yyyy

11. Wat is de hoogste opleiding die u heeft gevolgd of momenteel volgt

- Geen schoolopleiding
- Lagere school, klas ____
- Mulo
- Lager Technische School (Beroepsgericht)
- Lager Beroeps Gericht Onderwijs (lbgo)
- Middelbare School (vwo/havo/imeo/NATIN)
- Hoger Beroeps Onderwijs (Universiteit, hbo, AHKCO, IOL, PTC)
- Anders namelijk...

12. Wat is uw beroep?

13. Bent u ooit werkzaam geweest in de gezondheidszorg?

14. Zo ja, was u tijdens uw werk in de gezondheidszorg in direct contact met (bloed)resten?

15. Heeft u zich ooit geprikt aan een gebruikte injectienaald (van iemand anders)?

16. Zo ja, is uw bloed na dit prikongeval onderzocht op ziekten zoals hepatitis-C?

17. Heeft u ooit vanwege uw geloof of cultuur een ingreep ondergaan waarbij in de huid werd gesneden, of door de huid werd geprikt?

Zo ja? Wanneer:

Waar?

18. Kunt u aangeven of u de volgende gebeurtenissen heeft meegemaakt? Zo ja, wanneer en waar was dat?

		Doorhalen wat niet van toepassing is	Zo ja, In welk jaar? Of jaren?	In welk land?
A	Heeft u ooit een bloedtransfusie gehad?	Ja / Nee		
B	Bent u ooit geopereerd?	Ja / Nee		
C	Heeft u ooit injecties gekregen?	Ja / Nee		
D	Bent u ooit bij de tandarts geopereerd? (bijv trekken van een kies)?	Ja / Nee		
E	Bent u een hemofiliepatiënt?	Ja / Nee		
F	Heeft u ooit een nierdialysebehandeling gehad?	Ja / Nee		
G	Heeft u ooit een donororgaan gekregen?	Ja / Nee		
H	Heeft u ooit in het ziekenhuis gelegen?	Ja / Nee		

I	Bent u besneden?	Ja / Nee		
J	Heeft u ooit een acupunctuurbehandeling gehad?	Ja / Nee		
K	Heeft u zich ooit per ongeluk geprikt aan een gebruikte naald?	Ja / Nee		
L	Heeft u ooit drugs geïnjecteerd?	Ja / Nee		
M	Heeft u een tatoeage?*	Ja / Nee		
	Indien ja, was dit in een professionele Tatoezaak*?	Ja / Nee		
N	Heeft u permanente make-up?	Ja / Nee		
	Indien ja, was dit in een professionele studio*?			
O	Heeft u een piercing (oorbellen of andere)?	Ja / Nee		
P	Indien ja, was dit in een professionele studio* ?	Ja / Nee		
Q	Heeft u ooit ander contact met naalden of bloed meegemaakt? Zo ja, wat voor? 	Ja / Nee		

* Een zaak met een vergunning, die zich aan bepaalde hygiënische voorschriften houdt.

19. Heeft u zich ooit laten testen op hepatitis B of C?
Zo ja, wat was de uitslag van de test?

Bent u ooit getest op:	Wat was de uitslag van de laatste test
<p>Hepatitis B</p> <p><input type="checkbox"/> Ja, ik ben getest op hepatitis B Mijn laatste test was in(jaartal)</p> <p><input type="checkbox"/> Nee, ik ben nooit getest op hepatitis B</p> <p><input type="checkbox"/> Weet ik niet</p>	<p><input type="checkbox"/> Nooit geïnfecteerd geweest</p> <p><input type="checkbox"/> Ooit geïnfecteerd geweest, nu niet meer</p> <p><input type="checkbox"/> Momenteel geïnfecteerd (drager van het virus)</p> <p><input type="checkbox"/> Weet ik niet</p>
<p>Hepatitis C</p> <p><input type="checkbox"/> Ja, ik ben getest op hepatitis C Mijn laatste test was in(jaartal)</p> <p><input type="checkbox"/> Nee, ik ben nooit getest op hepatitis C</p> <p><input type="checkbox"/> Weet ik niet</p>	<p><input type="checkbox"/> Nooit geïnfecteerd</p> <p><input type="checkbox"/> Ooit geïnfecteerd geweest, nu niet meer</p> <p><input type="checkbox"/> Momenteel geïnfecteerd (drager van het virus)</p> <p><input type="checkbox"/> Weet ik niet</p>

20. Bent u gevaccineerd tegen hepatitis B (dat zijn 3 vaccinaties achter elkaar)?

- Nee
- Ja
- Weet ik niet

21. Kent u iemand die hepatitis C heeft?

- Nee
- Ja, namelijk
 - Mijn partner
 - Mijn moeder
 - Mijn vader
 - Een van mijn kinderen een broer of zus
 - Een ander familielid
 - Iemand anders