

Univerza
v Ljubljani *Medicinska*
fakulteta



Nina Kmet Lunaček, dr. med.

**EPIDEMIOLOŠKE, KLINIČNE IN VIROLOŠKE
ZNAČILNOSTI BOLNIKOV S KRONIČNO OKUŽBO Z
VIRUSOM HEPATITISA B V SLOVENIJI**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Ljubljana, 2017



Nina Kmet Lunaček, dr. med.

EPIDEMIOLOŠKE, KLINIČNE IN VIROLOŠKE ZNAČILNOSTI BOLNIKOV S KRONIČNO OKUŽBO Z VIRUSOM HEPATITISA B V SLOVENIJI

Imenovanje mentorice na seji senata dne 20. 4. 2015.

Imenovanje somentorja na seji senata dne 20. 4. 2015.

Komisija za oceno in zagovor imenovana na seji senata dne 15. 3. 2017.

Datum zagovora: 6. 7. 2017.

Mentorica: prof. dr. Mojca Matičič, dr. med.

Somentor: prof. dr. Mario Poljak, dr. med.

Predsednik komisije: prof. dr. Franc Strle, dr. med.

Članica: prof. dr. Katja Seme, dr. med.

Član: prof. dr. Gorazd Avguštin, uni. dipl. biol.

KAZALO

KAZALO.....	III
SEZNAM POGOSTO UPORABLJENIH KRATIC	VIII
IZVLEČEK.....	X
ABSTRACT	XII
1 UVOD	1
1.1 Epidemiološke značilnosti okužbe z virusom hepatitisa B.....	1
1.2 Značilnosti virusa hepatitisa B.....	4
1.2.1 Genotipi virusa hepatitisa B	7
1.2.1.1 Epidemiologija genotipov virusa hepatitisa B	7
1.2.1.2 Vpliv genotipa virusa hepatitisa B na klinični potek	9
1.2.1.3 Vpliv genotipa virusa hepatitisa B na zdravljenje.....	11
1.2.2 Virus hepatitisa B brez e antigena.....	12
1.3 Načini okužbe in dejavniki tveganja za okužbo z virusom hepatitisa B	13
1.4 Naravni potek okužbe z virusom hepatitisa B.....	14
1.4.1 Posebnosti naravnega poteka okužbe z virusom hepatitisa B v mediteranskih državah	18
1.4.2 Posebnosti naravnega poteka kroničnega hepatitisa B brez e antigena	19
1.5 Diagnostika okužbe z virusom hepatitisa B.....	20
1.6 Klinična razvrstitev okuženih z virusom hepatitisa B.....	21
1.7 Zdravljenje kroničnega hepatitisa B.....	22
1.8 Preprečevanje okužbe z virusom hepatitisa B.....	25
1.9 Obravnava okužbe z virusom hepatitisa B v Sloveniji	25
2 NAMEN DELA IN HIPOTEZE	28
2.1 Namen dela	28
2.2 Hipoteze.....	29
3 PREISKOVANE OSEBE IN METODE	30
3.1 Zasnova raziskave in preiskovane osebe.....	30
3.2 Laboratorijske metode	30
3.3 Mikrobiološke metode	30

3.3.1	Določanje HBsAg in HBeAg	30
3.3.2	Določanje virusnega bremena	31
3.3.3	Metode genotipizacije	31
3.3.3.1	Način izbora oseb, ki jim je bil določen genotip virusa hepatitisa B.....	32
3.4	Patohistološki izvid vzorca jeter	32
3.5	Opis uporabljenih statističnih metod	32
3.6	Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko	33
4	REZULTATI	34
4.1	Značilnosti preiskovanih oseb.....	34
4.2	Demografske značilnosti vključenih oseb po posameznih letih v preiskovanem obdobju	36
4.2.1	Gibanje števila preiskovanih oseb po posameznih letih v obdobju 1998–2009	36
4.2.2	Gibanje števila preiskovanih otrok po posameznih letih v obdobju 1998–2009	37
4.2.3	Gibanje števila preiskovanih oseb po posameznih letih v obdobju 1998–2009 glede na spol v povezavi s starostjo.....	38
4.2.4	Gibanje števila preiskovanih oseb po slovenskih bolnišnicah po posameznih letih v obdobju 1998–2009	40
4.3	Dejavniki tveganja za kronično okužbo z virusom hepatitisa B.....	40
4.3.1	Starost in spol kronično okuženih oseb ter dejavniki tveganja	40
4.3.2	Gibanje najpogostejših dejavnikov tveganja za kronično okužbo z virusom hepatitisa B po posameznih letih v preiskovanem obdobju.....	42
4.3.3	Narodnost preiskovanih oseb in dejavniki tveganja.....	43
4.4	Prisotnost ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B pri preiskovanih osebah.....	45
4.4.1	Demografske, epidemiološke, klinične in virološke značilnosti preiskovanih oseb in prisotnost ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B preiskovanih oseb	45
4.4.2	Gibanje števila preiskovanih oseb po posameznih letih v obdobju 1998–2009 glede na prisotnost ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B	50

4.4.3	Demografske, epidemiološke, klinične in virološke značilnosti preiskovanih otrok in prisotnosti ali odsotnosti e antigena virusa hepatitisa B	50
4.5	Genotipi virusa hepatitisa B pri preiskovanih osebah.....	52
4.5.1	Značilnosti preiskovanih oseb, ki jim je bil določen genotip.....	52
4.5.2	Gibanje števila preiskovanih oseb, okuženih z genotipi D in ne-D virusa hepatitisa B po posameznih letih v obdobju 1997–2010	55
4.5.3	Genotipi virusa hepatitisa B in dejavniki tveganja za okužbo	56
4.5.4	Genotipi virusa hepatitisa B v povezavi s prisotnostjo ali odsotnostjo e antigena virusa hepatitisa B	58
4.5.5	Genotipi virusa hepatitisa B in razlike med spoloma.....	59
4.5.6	Genotipi virusa hepatitisa B in zdravljenje	61
4.6	Virusno breme pri preiskovanih osebah	62
4.7	Sočasna okužba z virusom hepatitisa C in humanim virusom imunske pomanjkljivosti.....	65
4.7.1	Sočasna okužba z virusom hepatitisa C	65
4.7.2	Sočasna okužba s humanim virusom imunske pomanjkljivosti.....	66
4.8	Zdravljenje bolnikov s kroničnim hepatitisom B.....	68
4.8.1	Značilnosti zdravljenih bolnikov s kroničnim hepatitisom B	68
4.8.2	Značilnosti nezdravljenih preiskovanih oseb, kronično okuženih z virusom hepatitisa B	70
4.9	Preiskovane osebe glede na geografsko porazdelitev.....	72
5	RAZPRAVA	73
5.1	Kronična okužba z virusom hepatitisa B v Sloveniji	73
5.2	Značilnosti preiskovanih oseb.....	75
5.3	Dejavniki tveganja za okužbo z virusom hepatitisa B	78
5.3.1	Neznan dejavnik tveganja	78
5.3.2	Dejavnik tveganja "okužba z virusom hepatitisa B v družini"	79
5.3.3	Dejavnik tveganja "transfuzija krvi ali krvnih pripravkov"	80
5.3.4	Dejavnik tveganja "tvegano spolno vedenje"	81
5.3.5	Dejavnik tveganja "zdravstveni delavec"	82
5.3.6	Dejavnik tveganja "intravenska uporaba drog"	83
5.3.7	Dejavnik tveganja "hemodializa"	84

5.3.8	Dejavniki tveganja "tetovaža", "prebadanje kože/sluznic", "naključni vbodi zunaj zdravstva".....	85
5.3.9	Dejavnik tveganja "cepljenje v Jugoslovanski ljudski armadi".....	86
5.4	Prisotnost ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B	87
5.4.1	Razširjenost in trendi kronične okužbe z virusom hepatitisa B brez e antigena v preučevanem obdobju.....	87
5.4.2	Pristnosti ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B in starost.....	90
5.4.3	Prisotnosti ali odsotnosti e antigena virusa hepatitisa B in spol	91
5.4.4	Prisotnosti ali odsotnosti e antigena virusa hepatitisa B in dejavniki tveganja za okužbo.....	91
5.4.5	Prisotnost ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B in zdravljenje kroničnega hepatitisa B.....	92
5.5	Genotipi virusa hepatitisa B.....	93
5.5.1	Genotipi virusa hepatitisa B v Sloveniji in njihovi časovni trendi v proučevanem obdobju.....	93
5.5.2	Genotipi virusa hepatitisa B in dejavniki tveganja.....	95
5.5.2.1	Genotipi virusa hepatitisa B in dejavniki tveganja pri moških	95
5.5.2.2	Genotipi virusa hepatitisa B in dejavniki tveganja pri ženskah	96
5.5.3	Genotipi virusa hepatitisa B in virusno breme	96
5.5.4	Genotipi virusa hepatitisa B in protivirusno zdravljenje.....	97
5.6	Virusno breme	97
5.6.1	Virusno breme in spol	97
5.6.2	Virusno breme in starost	98
5.6.3	Koncentracija alanin aminotransferaze ter stadij fibroze in virusno breme	98
5.6.4	Virusno breme in zdravljenje kroničnega hepatitisa B	98
5.7	Sočasna okužba z virusom hepatitisa C in sočasna okužba s humanim virusom imunske pomanjkljivosti	98
5.7.1	Sočasna okužba z virusom hepatitisa C	98
5.7.2	Sočasna okužba s humanim virusom imunske pomanjkljivosti.....	100
5.8	Z okužbo z virusom hepatitisa B povezana ciroza in jetrnocelični rak	101
5.8.1	Ciroza	101
5.8.2	Jetrnocelični rak	101
5.9	Zdravljenje kroničnega hepatitisa B	102

5.9.1	Zdravljenja kroničnega hepatitisa B in starost	102
5.9.2	Povezanost odsotnosti/prisotnosti e antigena virusa hepatitisa B in zdravljenja.....	102
5.9.3	Nezdravljeni bolniki s kriteriji za zdravljenje hepatitisa B	103
5.10	Kronična okužba z virusom hepatitisa B po regijah	103
5.11	Omejitve raziskave.....	104
6	SKLEPI	105
7	VIRI.....	107
8	ZAHVALE	128
9	PRILOGE	129
9.1	Priloga 1: Sklep Komisije Republike Slovenije za medicinsko etiko	129
9.2	Priloga 2: Shematska prikaz bolnikov v podatkovni zbirki glede na HBeAg, virusno breme, koncentracijo ALT in zdravljenje (N = 1729)	130
9.3	Priloga 3: Objavljen članek v reviji Hepatitis Monthly.	131

SEZNAM POGOSTO UPORABLJENIH KRATIC

AASLD – *angl.* American Association for the Study of Liver Diseases – Ameriško združenje za raziskave bolezni jeter

ALT – alanin aminotransferaza

APASL – *angl.* Asian Pacific Association for the Study of the Liver – Azijsko-pacifiško združenje za raziskave jeter

CDC – *angl.* Centers for Disease Control and Prevention - Center za nadzor in preprečevanje bolezni

CHB – *angl.* chronic hepatitis B – kronični hepatitis B

CPZOPD – Center za preprečevanje in zdravljenje odvisnih od prepovedanih drog

DNK – deoksiribonukleinska kislina

EASL – *angl.* European Association for the Study of the Liver – Evropsko združenje za raziskave jeter

ECDC – *angl.* European Centre for Disease Prevention and Control – Evropski center za preprečevanje in nadzor bolezni

EMCDDA – *angl.* European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction – Evropskega centra za nadzor nad drogami in odvisnostjo od drog

HBcAg – c antigen virusa hepatitisa B

HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B

HBsAg – plašni antigen virusa hepatitisa B

HBV – *angl.* hepatitis B virus – virus hepatitisa B

HCC – *angl.* hepatocellular carcinoma – jetrnocelični rak

HCV – *angl.* hepatitis C virus – virus hepatitisa C

HIV – *angl.* human immunodeficiency virus – humani virus imunske pomanjkljivosti

IFN – standardni interferon alfa

IMI – Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo

IU – *angl.* international units – mednarodne enote

IVUD – intravenski uporabnik drog

IZ – interval zaupanja

JLA – Jugoslovanska ljudska armada

JV – jugovzhodni

KIBVS – Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja

MSM – *angl.* men who have sex with men - moški, ki imajo spolne odnose z moškimi

NIJZ – Nacionalni inštitut za javno zdravje

NUC – nukleoz(t)idni analogi

PCR – *angl.* polymerase chain reaction – verižna reakcija s polimerazo

PegIFN – pegiliran interferon alfa

RNK – ribonukleinska kislina

RO – razmerje obolevnosti

SD – standardni odklon

SURS – Statistični urad Republike Slovenije

UKC – Univerzitetni klinični center

ULN – *angl.* upper limit normal – zgornja meja normalne koncentracije

WHO – *angl.* World Health Organization – Svetovna zdravstvena organizacija

ZDA – Združene države Amerike

ZTM – Zavod za transfuzijsko medicino

IZVLEČEK

Okužba z virusom hepatitisa B (HBV) je pomemben javnozdravstveni problem, saj ocenjujejo, da je v svetu okuženih okoli 250 milijonov ljudi. V Evropi je razširjenost okužbe s HBV ocenjena na 2 %, v endemičnih predelih Afrike in Pacifika pa do 22,7 %. V Sloveniji je razširjenost ocenjena na okoli 1 %. Ločimo e antigen HBV (HBeAg)-pozitivno in HBeAg-negativno kronično okužbo s HBV, razširjenost slednje se glede na podatke iz nam dostopne literature v Evropi giba od 70 do 100 % in z leti še narašča. Virus hepatitisa B razdelimo v 10 genotipov (A do J), ki vplivajo na čas serokonverzije HBeAg, izginotje plašnega antigena HBV (HBsAg), kroničnost okužbe oz. nagnjenost k njenemu fulminantnemu poteku, virusno breme, napredovanje nekroinflammatory sprememb v jetrih, dovzetnost za nastanek jetrnoceličnega raka, pojav mutacij v pre-core in core področju genoma HBV ter na odziv na protivirusno zdravljenje.

Glavni namen retrospektivne doktorske naloge, v katero je bilo v obdobju od januarja leta 1997 do decembra leta 2010 vključenih 1.729 na novo odkritih HBsAg-pozitivnih preiskovanih oseb v Laboratoriju za molekularno mikrobiologijo in diagnostiko hepatitisov in aidsa (HIV) Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani, je bila opredelitev epidemioloških, biokemičnih, viroloških, kliničnih, deloma pa tudi patohistoloških značilnosti kronično okuženih s HBV v Sloveniji, ki bi bila hkrati tudi prva raziskava v evropskem in svetovnem merilu, ki bi zajela podatke o razširjenosti kronične okužbe s HBV in njenih značilnosti na enem, relativno homogenem geografskem področju.

Ugotovili smo, da je bilo okuženih s HBV 1,42-krat več preiskovanih moških kot žensk in da je bil največji delež preiskovanih oseb v starostni skupini 30–40 let. V enakem časovnem obdobju smo v primerjavi s podatki Nacionalnega inštituta za javno zdravje ugotovili 35,8 % več HBsAg-pozitivnih oseb. Med preiskovanimi osebami, okuženimi s HBV je bilo 52,4 % neaktivnih nosilcev HBsAg. HBeAg-negativna kronična okužba je bila prisotna pri 85,5 % preiskovanih oseb, v preučevanem obdobju smo ugotovili statistično značilen negativen trend števila primerov s to obliko hepatitisa po posameznem letu ($p < 0,001$). Pri skoraj 60 % preiskovanih oseb je bil dejavnik tveganja za okužbo neznan, sledili so "okužba s HBV v družini" (19,8 %), "transfuzija krvi ali krvnih pripravkov" (8 %), "tvegano spolno vedenje" (4,5 %), "zdravstveni delavci" (3,4 %) ter "intravenski uporabniki drog" (2,3 %). V preučevanem obdobju po posameznih letih smo ugotovili statistično značilen pozitiven trend tistih, ki so navajali dejavnika tveganja "transfuzijo krvi ali krvnih pripravkov" in "tvegano spolno vedenje". Statistično značilen dejavnik tveganja med preiskovanimi moškimi,

starejšimi od 46 let, je bil "cepljenje v Jugoslovanski ljudski armadi" ($p = 0,006$). Med kronično okuženimi Slovenci in tujci ($N = 67$) ni bilo statistično značilnih razlik v starosti, dejavnikih tveganja ali genotipih. Po uvedbi obveznega testiranja nosečnic na HBsAg in obveznega cepljenja otrok proti hepatitisu B je prišlo do statistično značilnega upada števila HBsAg-pozitivnih otrok slovenskega porekla, zabeleženih v podatkovni zbirki ($p = 0,006$). Pet odstotkov preiskovanih oseb je izpolnjevalo mednarodne kriterije za zdravljenje kroničnega hepatitisa B, vendar ga ni prejemale, med njimi pa so prevladovali bolniki z jetrnoceličnim rakom. Z genotipom HBV D je bilo okuženih 84,4 % preiskovanih oseb, 12,4 % z genotipom HBV A, genotipi HBV B, C, F in AD pa so se pojavljali sporadično. V preučevanem obdobju smo ugotovili statistično značilen negativen trend števila primerov genotipa HBV D ($p = 0,01$) po posameznem letu. Moški, ki imajo spolne odnose z moškimi in biseksualni moški so bili statistično značilno bolj pogosto okuženi z genotipi HBV ne-D genotipi, predvsem genotipom A ($p = 0,043$).

Naša raziskava je prva v Sloveniji in drugod v svetu, ki je celostno zajela epidemiološke značilnosti kronične okužbe s HBV na geografskem področju ene države. V preučevanem obdobju je bila v naši državi najpogostejša oblika HBeAg-negativna kronična okužba s HBV, vendar smo časovno ugotavljali pomemben upad njene pogostosti. Večina preiskovanih oseb je bilo okuženih z genotipom HBV D, a je tekom preučevanega obdobja pomembno upadla tudi njegova pogostnost. Zaradi vpliva masivnih migracij prebivalstva v Evropi je v prihodnosti treba pričakovati spremembe tako v epidemiologiji HBeAg-negativne kronične okužbe kakor tudi v razporeditvi genotipov HBV. Med dejavniki tveganja smo odkrili za naše geografsko področje poseben in v nam dostopni literaturi še nikoli opisan dejavnik tveganja pri moških, in sicer cepljenje v Jugoslovanski ljudski armadi (JLA). Vse moške, ki so služili vojaški rok v JLA in bili tam cepljeni, bi bilo smiselno povabiti na testiranje na okužbo s HBV. Moški, ki imajo spolne odnose z moškimi, in biseksualni moški so bili bolj pogosto okuženi z genotipi HBV ne-D, predvsem z genotipom A. Ker je izbira protivirusnega zdravljenja odvisna tudi od genotipa HBV, bi bilo treba uvesti v nacionalne smernice za obravnavo in zdravljenje kroničnega hepatitisa B pri moških z anamnestičnim podatkom o tveganem spolnem vedenju, še posebej tiste, ki imajo spolne odnose z moškimi, pred uvedbo protivirusnega zdravljenja, rutinsko genotipiziranje HBV.

ABSTRACT

Hepatitis B virus (HBV) infection represents a global public health problem, with an estimated 250 million of actively infected persons worldwide. In Europe the average HBV prevalence has been estimated at 2%, whereas in highly endemic areas of Africa and Pacific at up to 22.7%. In Slovenia, the prevalence has been estimated below 1%. Recognizing HBeAg-positive and HBeAg-negative chronic hepatitis B, the latter is according to the available reports more common in Europe, where its prevalence varies between 70 to 100%, and has been increasing. The ten HBV genotypes (A to J) may influence the time of seroconversion of HBeAg, HBsAg seroklirenca, tendency to chronicity, tendency to fulminant course, viral load, the progress of necro-inflammatory changes in liver, susceptibility to hepatocellular carcinoma, mutations in the pre-core and core promoter regions, and the response to antiviral therapy.

The main purpose of the present doctoral thesis was to define epidemiological, biochemical, virological, clinical, and partly pathohistological characteristics of 1,729 persons, whose blood samples tested positive for HBsAg at Laboratory for Molecular Microbiology and Diagnostics of Hepatitis and HIV/AIDS, Institute of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, from January 1997 to December 2010, with the potential of representing the first study in Europe and worldwide, which will cover data on the prevalence and characteristics of chronically infected persons in a distinct, relatively homogeneous geographic area.

There were 1.42 times more HBV chronically infected males than females included, and most of them belonged to the age group 30-40 years. In comparison with the available data of the National Institute for Public Health, in the same time period, 35.8% more HBsAg-positive persons were found. Among investigated persons there were 52.4% inactive HBsAg carriers. HBeAg-negative chronic HBV infection was present in 85.5% of the investigated persons. During the studied period, a statistically significant negative trend of the reported cases of HBeAg-negative chronic infection was found ($p < 0.001$). In almost 60% of our HBV chronically infected persons the risk factor for infection was unknown, which was followed by "HBV infection in family" (19.8%), "blood/blood products transfusion" (8%), "risky sexual behavior" (4.5%), "health-care professionals" (3.4%) and "people who inject drugs" (2.3%), respectively. In the analyzed period a statistically significant positive trend in the prevalence of infection acquired by "blood/blood products transfusion" was observed, followed by "risky sexual behavior". Statistically significant risk factor among men older

than 46 years was "vaccination in the Yugoslav People's Army" ($p = 0.006$). Among chronically infected Slovenians and foreigners ($N = 67$) there were no statistically significant differences in age, risk factors for infection or genotypes. Our study has confirmed for the first time that introduction of mandatory HBsAg testing of pregnant women and hepatitis B vaccination of children resulted in a statistically significant decline of chronic HBV infection among children in Slovenia over the studied period ($p = 0.006$). Five percent of investigated persons, who met treatment criteria, were not treated; those with hepatocellular carcinoma predominated. Eighty four percent of investigated persons were infected with HBV genotype D, 12,4 % with HBV genotype A, HBV genotypes B, C, F and AD were present sporadically. In the analyzed period a statistically significant negative trend in the number of cases of HBV genotype D infection per year ($p = 0.01$) was found, and an increase in number of non-D genotypes per year, which was not statistically significant. Men who have sex with men and bisexual men were statistically significant more likely infected with non-D genotypes, particularly genotype A ($p = 0.043$).

Our study is the first in Europe and in the world, to cover the whole epidemiology of chronic HBV infection in the geographical area of a single country. In the studied period HBeAg-negative chronic HBV infection was predominant in Slovenia, however a significant decrease in its prevalence over the studied years was observed. Similarly, the majority of included persons were infected with HBV genotype D, however its prevalence was declining significantly over the years, pointing out that changes in the epidemiology of HBeAg-negative chronic infection, as well as in the distribution of HBV genotypes in Slovenia are expected in the near future. A significant risk factor for infection in men over 46 years old "vaccination in the Yugoslav People's Army" was found, specific to this geographic area and never described before. Since most men over 46 years of age served military service in the Yugoslav People's Army, HBV testing should be offered to all of them. Men who have sex with men and bisexual men were more often infected with HBV non-D genotypes, particularly genotype A. Since the choice of antiviral therapy depends also on the HBV genotype, the national guidelines for the management and treatment of chronic hepatitis B in men with anamnestic data on high-risk sexual behavior, especially men who have sex with men, should include routine HBV genotyping before the introduction of antiviral treatment induction.

1 UVOD

1.1 Epidemiološke značilnosti okužbe z virusom hepatitisa B

Okužba z virusom hepatitisa B (*angl.* hepatitis B virus – HBV) je glavni razlog kronične bolezni jeter in z njo povezane smrtnosti, ki ostaja kljub učinkovitemu cepivu in cenovno dostopnemu zdravljenju visoka (1–3). Okužba s HBV je relativno pogosta, saj ocenjujejo, da je v svetu aktualno okuženih okoli 250 milijonov ljudi, 400 milijonov pa naj bi bilo nosilcev plaščnega antigena virusa hepatitisa B (*angl.* hepatitis B virus surface antigen – HBsAg) (4). V Evropi je razširjenost okužbe s HBV ocenjena med 0,01–10,4 %, v nekaterih predelih Afrike in Pacifika pa do 22,7 % (5). V Sloveniji ocenjujemo, da je razširjenost okuženih s HBV pod 1 % (6, 7). Razširjenost HBsAg je odvisna od geografskega področja in jo delimo v štiri stopnje: visoko, če je > 8 %, visoko srednjo, če je 5–7 %, nizko srednjo, če je 2–4 % ter nizko, če je < 2 %. Endemični predeli za okužbo so podsaharska Afrika, Azija in področje Mediterana. V Evropi je razširjenost okužbe ocenjena na približno 2 % (5, 7), v Združenih državah Amerike (ZDA) na 0,27 %, na Bližnjem in Srednjem Vzhodu na 3 %, v jugovzhodni (JV) in južni Aziji na 2 % oz. 5,3 %, ter najvišje, na skoraj 9 % v Afriki in nekaterih pacifiških državah (5–7). Tabela 1 prikazuje povprečno razširjenost HBsAg in njen razpon po posameznih geografskih področjih glede na rezultate nedavne meta-analize objav Schweitzerja in sod. (5), ki je zajela podatke 1800 raziskav objavljenih med leti 1965–2012. Globalna razširjenost HBsAg je podana na Sliki 1 (8).

Tabela 1: Povprečna razširjenost plaščnega antigena virusa hepatitisa B in njen razpon po posameznih geografskih področjih glede na rezultate meta-analize objav Schweitzerja in sodelavcev (5).

GEOGRAFSKO PODROČJE	POVPREČNA RAZŠIRJENOST	
	HBsAg (%)	RAZPON
Afrika	8,83	(0,48–22,38)
Amerike in Karibi	0,81	(0,20–13,55)
Evropa	2,06	(0,01–10,74)
Bližnji in srednji Vzhod	3,01	(0,70–14,77)
Jugovzhodna Azija	1,9	(0,82–6,42)
Pacifik in južna Azija	5,26	(0,37–22,70)



HBsAg – plaščni antigen virusa hepatitisa B

Slika 1: Globalna razširjenost plaščnega antigena virusa hepatitisa B v svetu (8).

Glede na podatke Evropskega centra za preprečevanje in nadzor bolezni (*angl.* European Center for Disease Prevention and Control – ECDC) je v Evropi okuženega od 0,01 % (Danska) do 3,8 % (Bolgarija) prebivalstva (6), glede na meta-analizo objav Schweitzerja pa 0,01 % (Norveška) do 10,32 % (Kirgizija) (5). Tabela 2 predstavlja primerjalni pregled razširjenosti HBsAg v nekaterih evropskih državah glede na dostopne podatke poročil ECDC in meta-analizo objav Schweitzerja in sod. (5, 6).

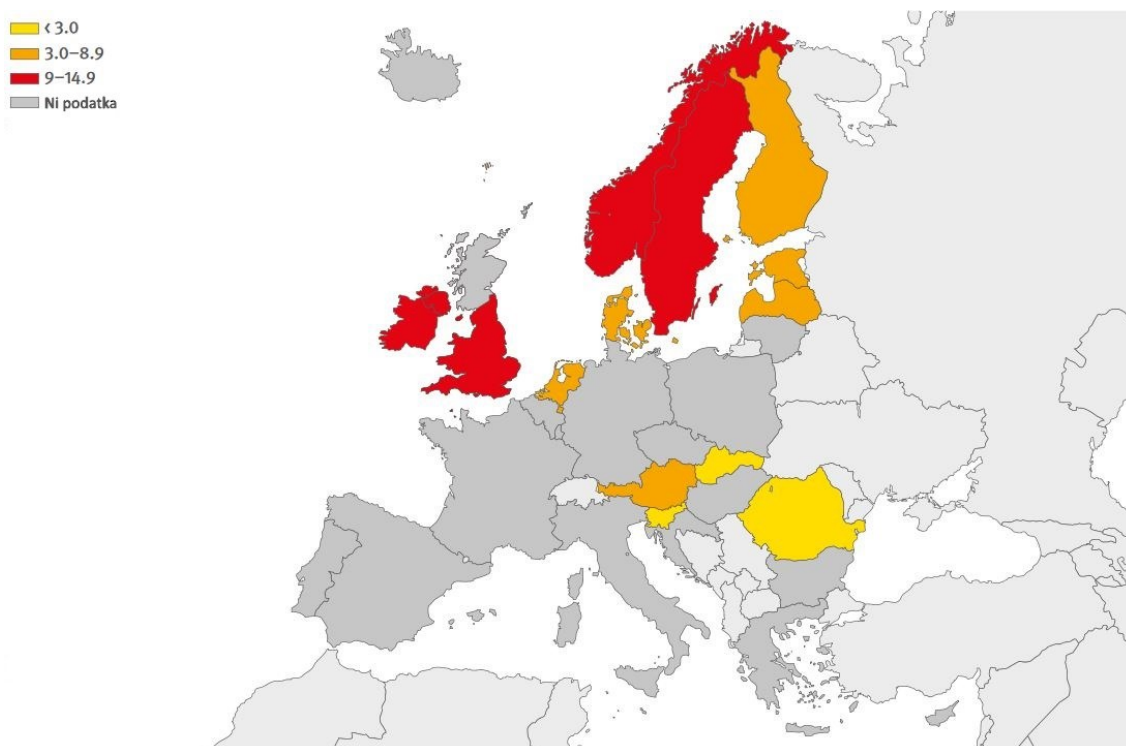
Tabela 2: Primerjava razširjenosti plaščnega antigena virusa hepatitisa B v nekaterih evropskih državah glede na dostopne podatke poročil Evropskega centra za preprečevanje in nadzor bolezni in meta-analizo objav Schweitzerja in sod. (5, 6).

DRŽAVA	ECDC (%)	Schweitzer s sod. (%)
Bolgarija	3,8	3,9
Danska	0,01	0,91
Finska	0,2	/
Francija	0,6	0,26
Italija	1	2,5
Madžarska	0,3	0,53
Slovaška	1,6	1,7
Švedska	< 0,05	0,59
Velika Britanija	0,37	0,01

ECDC – *angl.* European Centre for Disease Prevention and Control – Evropski center za preprečevanje in nadzor bolezni

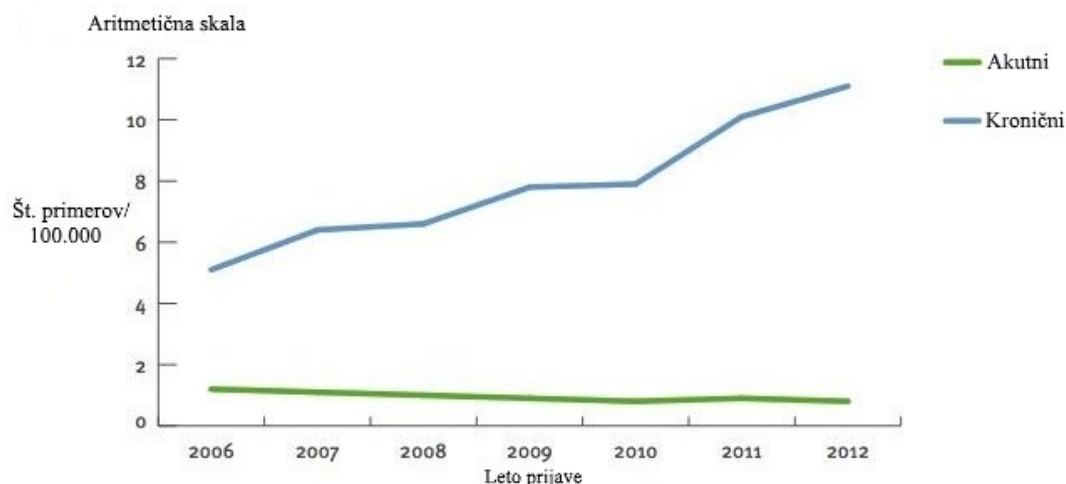
Letna pojavnost kronične okužbe s HBV med evropskimi državami niha. Glede na podatke iz leta 2007 je bila v Sloveniji pojavnost akutne in kronične okužbe nižja od 1 primera/100.000 prebivalcev, podobno kot na Danskem, Finskem, v Franciji, Grčiji, na Malti, Poljskem in Portugalskem. V drugih državah (Ciper, Nemčija, Irska, Italija, Litva in Nizozemska) so beležili pojavnosti od 1 do 2,5 primera/100.000 prebivalcev. Relativno visoka pojavnost je bila v Latviji (7,2 primera/100.000 prebivalcev), v Avstriji (7,8 primera/100.000 prebivalcev) in v Bolgariji (9,8 primera/100.000 prebivalcev), najvišja pa na Islandiji (15 primera/100.000 prebivalcev) (6).

Leta 2013 je bilo ECDC prijavljenih 19.930 primerov okužb s HBV, kar predstavlja pojavnost 4,4 primerov/100.000 prebivalcev. Petnajst odstotkov primerov je bilo opredeljenih kot akutni hepatitis B ter 68,5 % kot kronični hepatitis B (*angl.* chronic hepatitis B – CHB) (9). Slika 2 predstavlja število ECDC prijavljenih primerov CHB na 100.000 prebivalcev v letu 2012 (10).



Slika 2: Število primerov kroničnega hepatitisa B na 100.000 prebivalcev, prijavljenih Evropskemu centru za preprečevanje in nadzor bolezni v letu 2012 (10).

V Evropi je bil med leti 2006–2012 zabeležen padec pojavnosti akutnih primerov okužbe s HBV ter porast pojavnosti kroničnih primerov, kar je predstavljeno na Sliki 3 (10).



Slika 3: Trendi pojavnosti akutnih in kroničnih okužb z virusom hepatitisa B v Evropi med leti 2006–2012 (10).

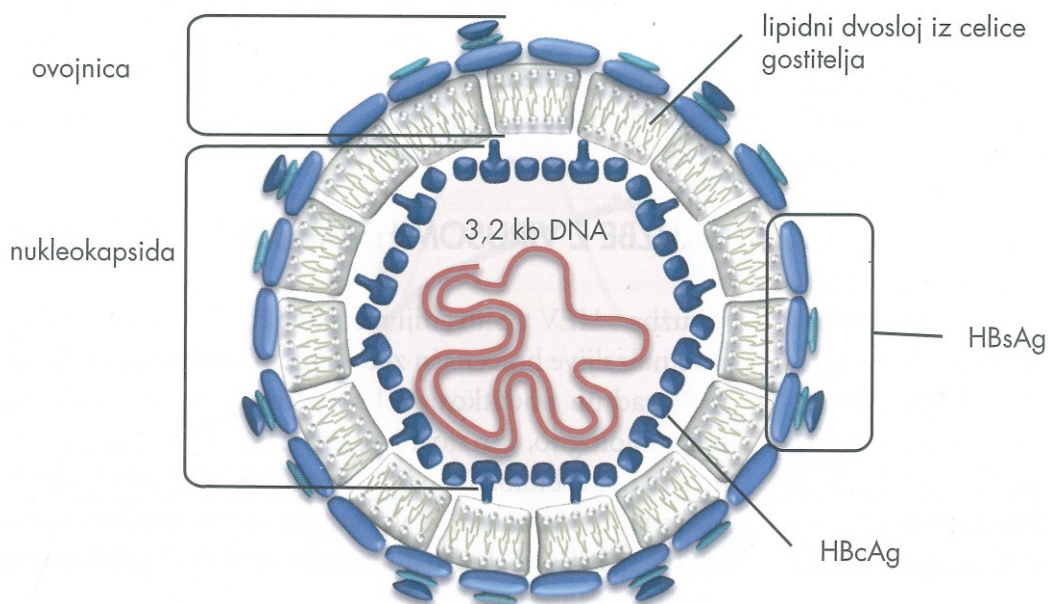
Število prijavljenih primerov CHB ECDC je poraslo iz 4.802 (pojavnost 4,3 primera/100.000 prebivalcev) v letu 2006 na 12.306 (pojavnost 8,6 primera/100.000 prebivalcev) v letu 2012. V omenjenem časovnem obdobju je sicer ostala pojavnost akutnih in kroničnih primerov približno enaka in je znašala okoli 3,5 primera/100.000 prebivalcev. Izmed devetih držav, ki so v celotnem obdobju posredovale vse podatke, je bila tudi Slovenija. V omenjenem obdobju je naša država prijavila 7–25 akutnih okužb na leto, medtem ko je število kroničnih primerov poraslo s 24 na 44. Med leti 2006–2010 je Slovenija ECDC skupno prijavila od 40 do 69 novih primerov okužbe s HBV letno (11).

V Sloveniji ocenjujemo, da je pojavnost kronično okuženih s HBV pod 1 % (12, 13). Zaradi trenutnega geopolitičnega stanja v svetu lahko v naslednjih letih pričakujemo, da se bo zaradi intenzivnih migracij epidemiološka slika okužbe s HBV pri nas in v svetu najverjetneje spremenila (14).

1.2 Značilnosti virusa hepatitisa B

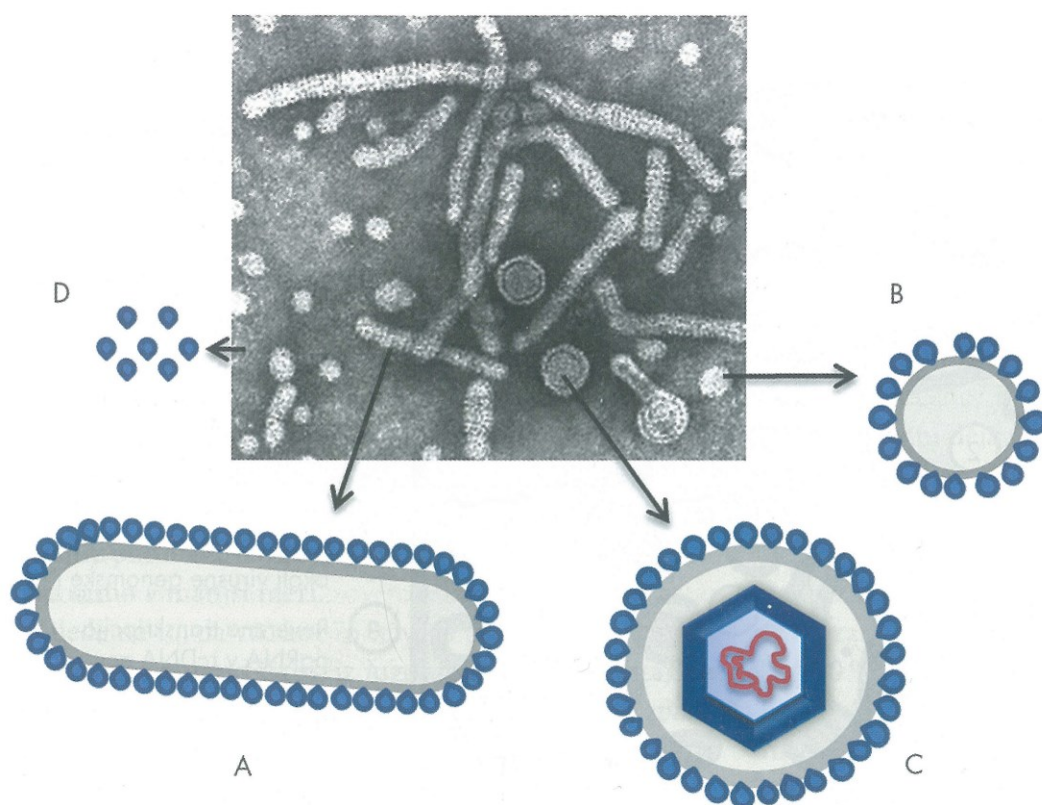
Virus hepatitisa B je virus z deoksiribonukleinsko kislino (DNK) iz družine *Hepadnaviridae*, rodu *Orthohepadnavirusov*. Virus je izredno obstojen pri nizkih temperaturah – pri -20°C preživi tudi do 20 let, pri telesni temperaturi 37°C pa do ene ure (15). Deloma je odporen na ultravijolično (UV) svetlobo, s katero se obdelujejo kri in krvni pripravki, popolnoma pa ga uničijo določene kemikalije (natrijev hipoklorit). Virus so identificirali in karakterizirali Blumberg in sod. leta 1965 in glavni virusni antigen poimenovali Australia antigen (16), za

kar so leta 1976 prejeli Nobelovo nagrado za medicino. Virus hepatitisa B je majhen virus (premera 42 nm), ki ga obdaja nukleokapsida zgrajena iz jedrnega c antigena (*angl.* hepatitis B virus core antigen – HBcAg), obdaja pa jo zunanja lipidna ovojnica, ki vsebuje HBsAg (Slika 4). Virus hepatitisa B je edini humani virus, ki je sestavljen deloma iz enovijačne krožne, deloma iz dvovijačne DNK. Obstajajo tri morfološke oblike virusa: kroglasta in podolgovata ter Danejev delec (celoten virus), v krvi pa krožijo tudi zelo majhni delci HBsAg (Slika 5). Genom sestavljajo 4 kodirajoče regije – S, C, P in X. Področje S kodira HBsAg, področje C beljakovino nukleokapside HBcAg (ki je prisotna le v jetrih) in HBeAg (topna oblika je prisotna tudi v serumu), področje P polimerazo HBV DNK, ki deluje kot reverzna transkriptaza, ter področje X beljakovino, ki deluje kot začetnik prepisovanja genoma (15, 17).



HBsAg – plašni antigen virusa hepatitisa B, HBcAg – jedrni c antigen virusa hepatitisa B, DNA – deoksiribonukleinska kislina

Slika 4: Zgradba in oblika virusa hepatitisa B (15).



A – podolgovata oblika, B – okrogla oblika, C – celotni virus (Danejev delec), D – prosti plaščni antigen virusa hepatitisa B

Slika 5: Morfološke oblike virusa hepatitisa B (15).

Po vstopu v krvotok se HBV pritrdi na preteoglikane jetrnih celic, v katere vstopa preko natrijevega prenašalca žolčnih kislin. To je transmembranski prenašalec na bazolateralni membrani in fiziološko služi ohranjanju enterohepatičnega obtoka žolčnih kislin. Po vstopu v jetrno celico se iz virusa sprosti nukleokapsida, ki vstopi v jedro. V jedru se nekovalentno zaprta krožna DNK (*angl.* relaxed circular – rcDNK) spremni v kovalentno zaprto krožno DNK (*angl.* covalently closed circular – cccDNK). Jedrna HBV DNK služi kot genovski rezervoar virusa in omogoča njegovo vztrajanje tudi v primeru izginotja HBsAg. Celična ribonukleinska (RNK) polimeraza II prepiše cccDNK v pregenomsko RNK (pgRNK) in več podgenomskih sporočilnih (*angl.* messenger – m) RNK. Pregenomska RNA služi kot vzorec reverzni transkriptazi pri tvorbi jedrne beljakovine in virusne polimeraze, subgenomske mRNK pa kot vzorec za tvorbo beljakovine ovojnice ter beljakovino X. Virusne mRNK nato potujejo v citoplazmo, kjer poteka njihovo prepisovanje. Po vezavi virusne polimeraze na pgRNK se prične reverzno prepisovanje. Najprej se sintetizira celotna negativna veriga DNK,

nato še pozitivna veriga DNK. Zrela nukleokapsida potuje bodisi nazaj v jedro, kjer ohranja stabilno cccDNK, bodisi jo v citoplazmi obda HBs beljakovina in z eksocitozo vstopi nazaj v krvotok (17).

Posledica lastnosti reverzne transkriptaze, da ne popravlja napačno vgrajenih nukleotidov, je velika stopnja mutacij (15). Klinično pomembne mutacije in posledica le-teh so predstavljene v Tabeli 3.

Tabela 3: Klinično pomembne mutacije virusa hepatitisa B ter njihove posledice (15).

PODROČJE MUTACIJE	POSLEDICA	VPLIV
pre-core	izguba HBeAg ob nadaljevanju pomnoževanja	HBeAg-negativni hepatitis
core	zmanjšano izražanje mRNK za HBeAg	HBeAg-negativni hepatitis
pre-S in S delecija	sprememba zaporedja AK HBsAg	problem zaznavanja mutiranega HBsAg
področje P	sprememba zaporedja AK virusne DNK polimeraze	odpornost na protivirusna zdravila

AK – aminokislina, DNK – deoksiribonukleinska kislina, HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B, HBsAg – plaščni antigen virusa hepatitisa B, mRNA - sporočilna ribonukleinska kislina

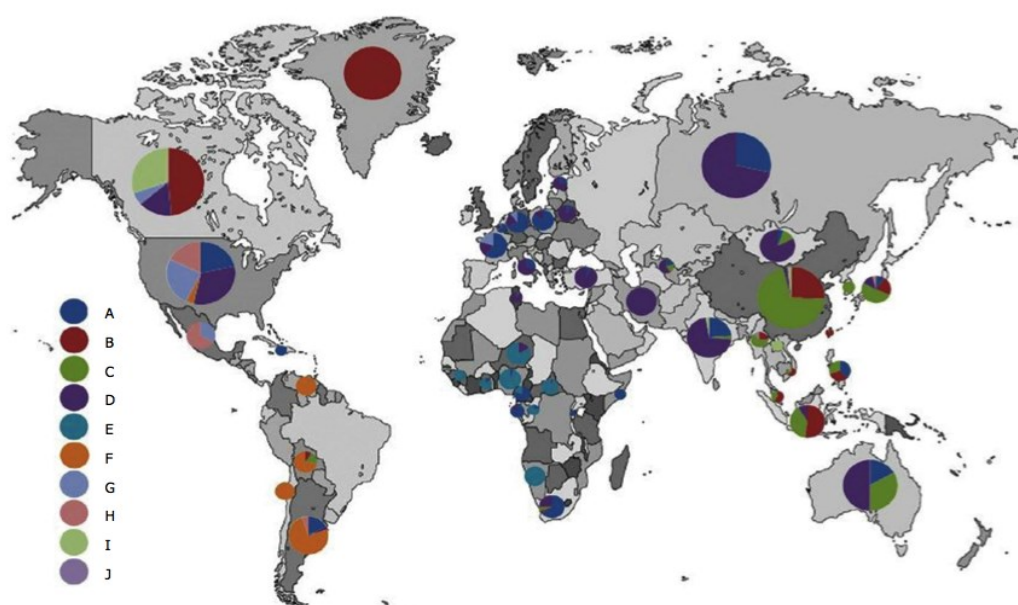
Glede na imunoreaktivnost glikoproteinov virusne ovojnice ločimo različne serotipe HBV. Sprva so glede na antigenske lastnosti HBsAg opredelili štiri serotype (adr, adw, ayr, and ayw), danes pa poznamo devet serotipov HBV (ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayr, adw2, adw4, adrq+ in adrq-). Glede na zaporedje genoma virus razvrščamo v deset genotipov (A–J). Raziskave kažejo, da sta klinični potek CHB in odgovor na protivirusno zdravljenje odvisna od genotipa HBV (18, 19).

1.2.1 Genotipi virusa hepatitisa B

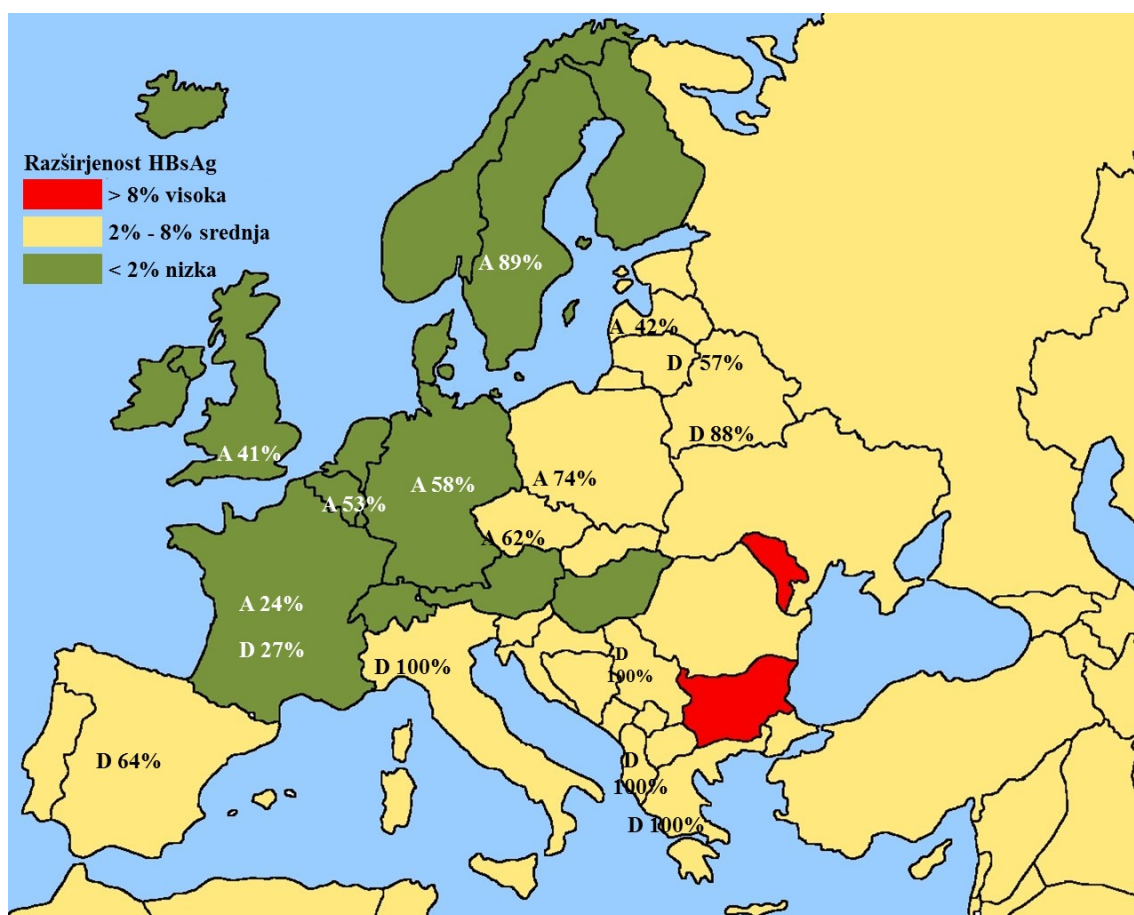
1.2.1.1 Epidemiologija genotipov virusa hepatitisa B

Virus hepatitisa B razdelimo v 10 genotipov (A do J), raziskave pa kažejo na razlike med kliničnim potekom okužbe povzročene z različnimi genotipi HBV. Genotipi HBV se med seboj razlikujejo bodisi več kot 8 % nukleotidnega zaporedja genoma ali v več kot 4 % nukleotidnega zaporedja površinskih genov (18, 19). Genotip A najdemo pretežno v severnih predelih Evrope, severnem delu ZDA, v Indiji in Afriki. Genotipa B in C prevladujeta v Aziji, genotip D pa je najpogostejši v južni Evropi, na Mediteranu, na Bližnjem vzhodu ter v Indiji. Genotip E najdemo le v Zahodni Afriki, genotip F pa v Srednji in Južni Ameriki. Poročila o

genotipu G prihajajo iz Francije, Nemčije in ZDA. Genotip H je prisoten v Srednji Ameriki, genotip I pa v Vietnamu in Laosu. Nazadnje je bil na japonskem otočju Ryukyu odkrit genotip J. Genotipe A–D, F, H in I lahko uvrstimo še v podtipe (18, 19). S HBV okužene osebe so lahko hkrati okužene z več kot enim genotipom. Geografske podobnosti v prevladujočih genotipih se lahko, ni pa nujno, nanašajo tudi na podtipe. Podtipi D prevladujejo v Mediteranu in okolici, podtip A2 v Evropi, podtip A1 pa v Afriki (20, 21). Za afriški podtip A1 je v primerjavi z evropskim A2 značilno zgodnejše izginotje HBeAg, manj pogosta je prisotnost HBeAg (33 % vs. 67 %) in nižje virusno bremene (22). Slika 6 prikazuje razporeditev genotipov HBV v svetu (19), slika 7 pa razporeditev genotipov HBV v Evropi (23).



Slika 6: Globalna razporeditev genotipov virusa hepatitisa B (19).



HBsAg – plaščni antigen virusa hepatitisa B

Slika 7: Razporeditev genotipov virusa hepatitisa B v Evropi (23).

Med različnimi genotipi lahko prihaja do rekombinacij, možne pa so tudi hkratne okužbe z različnimi genotipi (24, 25). Kadar so bolniki okuženi z dvema genotipoma HBV hkrati, so nejasne tako klinične posledice kot odgovor na zdravljenje. Zdravljenje namreč pri bolniku lahko povzroči t.i. premik genotipa. Iz Evrope poročajo o bolnikih po uspešnem zdravljenju CHB genotip A, pri katerih je po zaključenem zdravljenju vzniknila povratna okužba z genotipom D (25). V visoko endemičnih področjih Azije so opisane tako mešane okužbe kot rekombinacije, njihova pogostnost pa je na Kitajskem in Tajskem po ocenah skoraj 50 % (26, 27).

1.2.1.2 Vpliv genotipa virusa hepatitisa B na klinični potek

Raziskave kažejo, da genotipi HBV vplivajo na klinični potek okužbe in na odziv na protivirusno zdravljenje, kar je predstavljeno v Tabelah 4 in 5. Okužba z različnimi genotipi vpliva na čas serokonverzije HBeAg in izginotje HBsAg iz krvi, kroničnost okužbe, virusno

breme, napredovanje nekroinflammatory sprememb, dovzetnost za jetrnocelični rak (*angl.* hepatocellular carcinoma – HCC), nagnjenost h fulminantnemu poteku, pojav mutacij ter, kot že rečeno, na odziv na protivirusno zdravljenje. Do sedaj še ni bilo raziskave, ki bi zajela primerjavo vseh genotipov HBV hkrati.

Tabela 4: Vpliv genotipov na klinični potek kroničnega hepatitisa B (20, 28–44).

KLINIČNA POSLEDICA	GENOTIP HBV
ZGODNEJŠA HBeAg SEROKONVERZIJA	C manj pogosto kot A, B, D in F; D manj pogosto kot A
ODSOTNOST HBeAg	B manj pogosto kot C; B in D pogostejše, kot A; D
IZGINOTJE HBsAg IZ KRVÍ	D manj pogosto kot A
KRONIČNI POTEK	A manj pogosto kot C in D
VIRUSNO BREME	A nižje kot D (otroci); C nižje kot B?; C HBeAg-pozitivni nižje kot D HBeAg-negativni
NAPREDOVANJE	B manj pogosto kot C; A manj pogosto kot D
HCC	C; B pri mlajših brez ciroze; A2 manj pogosto kot A1
FULMINANTNI POTEK	D (nerandomizirane raziskave)
MUTACIJE	pre-core: A < C < B < D core: B < A < D < C pre-S delečija: B manj pogosto kot C

HCC – jetrnocelični rak, HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B, HBsAg – plaščni antigen virusa hepatitisa B, HBV – virus hepatitisa B

V primerjavi z genotipi A, B, D in F je serokonverzija HBeAg najmanj pogosta pri genotipu C (28). V več raziskavah so pokazali, da je stopnja spontane serokonverzije HBeAg višja pri genotipu B kot C (29, 30), stopnja serokonverzije HBeAg pri okuženih z genotipoma A in D pa je približno enaka (30). Do spontane serokonverzije HBsAg in biokemične remisije CHB pogostejše pride pri bolnikih, okuženih z genotipom A kot D (31). Z odsotnostjo HBeAg je najpogostejše povezan genotip D (20, 32).

V primerjavi z genotipoma C in D, genotip A manj pogosto napreduje v kronično okužbo (33).

Z okužbo z nekaterimi genotipi HBV je najverjetneje povezano višje virusno breme, saj je pri genotipu B višje kot pri genotipu C, pri genotipu D pa višje kot pri genotipu C in A (34, 35).

Pri okuženih z genotipi A, C in D pogostejše pride do napredovanja CHB v cirozo in jetrno dekompenzacijo kot pri okuženih z genotipom B (36, 37). Genotip D je v primerjavi z genotipom A povezan s hujšo obliko jetrne bolezni (38).

Meta-analiza objav Wonga s sod. je pokazala, da je pri okuženih z genotipom C razvoj HCC verjetnejši, genotip in visoko virusno breme pa sta neodvisna napovedna dejavnika za njegov nastanek (39). Pogosteje se HCC pojavlja tudi pri mlajših od 35 let brez ciroze (36), ki so okuženi z genotipom B ter pri okuženih s podtipom A1 (40).

O vplivu genotipov na fulminantni potek akutnega hepatitisa B ni bilo opravljenih randomiziranih kontroliranih raziskav, posamezna poročila pa kažejo, da je genotip D pogosteje od ostalih genotipov povezan s fulminantnim potekom (41).

Nacionalna raziskava iz ZDA je pokazala prisotnost pre-core mutacij pri genotipu A v 3 %, pri genotipu B v 46 %, pri genotipu C v 24 % in pri genotipu D v 73 % (42).

Bazalno core področje genoma HBV ter regulatorna zaporedja imajo pomembno vlogo v podvojevanju HBV in tvorbi HBeAg. Mutacije se večinoma klinično kažejo s HBeAg-negativnim CHB, vendar so prisotne tudi pri nekaterih HBeAg-pozitivnih bolnikih (17). Klinične posledice mutacij še niso popolnoma raziskane, najverjetneje pa povzročajo višjo stopnjo pomnoževanja virusa, hujšo okvaro jeter in razvoj HCC (43). Razširjenosti mutacij so odvisne od genotipa HBV – pogostejše so pri genotipu C kot pri genotipu B (34). Nacionalna raziskava iz ZDA je pokazala prisotnost core mutacij genotipu A v 41 %, pri genotipu B v 27 %, pri genotipu C v 60 % in pri genotipu D v 42 % (42).

Pre-S delecija je povezana s hitrejšim napredovanjem CHB in razvojem HCC, večkrat pa se pojavlja pri genotipu C kot pri genotipu B (44).

1.2.1.3 Vpliv genotipa virusa hepatitisa B na zdravljenje

Raziskave kažejo, da genotip HBV vpliva na odziv na protivirusno zdravljenje.

Meta-analiza objav iz leta 2008 je dokazala, da pri zdravljenju z nukleoz(t)idnimi analogi (NUC) ni razlik v odgovoru na zdravljenje glede na genotip HBV (45). Pri genotipu A je v primerjavi z genotipom D večja verjetnost razvoja odpornosti na lamivudin (46).

Po drugi strani je odgovor na zdravljenje s standardnim interferonom alfa (IFN) oz. njegovo pegilirano obliko (PegIFN) odvisen tako od genotipa HBV kot tudi prisotnosti oz. odsotnosti HBeAg, kar je predstavljeno v Tabeli 5.

Tabela 5: Biokemični in virološki odziv na zdravljenje s pegiliranim interferonom alfa glede na genotip virusa hepatitisa B in prisotnost oz. odsotnost e antigena virusa hepatitisa B (47–53).

BIOKEMIČNI IN VIROLOŠKI ODZIV NA PegIFN			
GENOTIP HBV	HBeAg-pozitivni CHB	HBeAg-negativni CHB	HBeAg neopredeljen
A	37–47 %	~ 25–59 %	/
B	25–44 %	~ 40 %	41 %
C	20–28 %	~ 50 %	15 %
D	8–25 %	~ 15–29 %	/
E	/	/	17,9–36 %
F	/	/	50 %
G	/	/	20 %
H	/	/	50 %

PegIFN – pegiliran interferon alfa, CHB – kronični hepatitis B, HBV – virus hepatitisa B, HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B

Janssen in sod. poročajo do 47 % biokemični in virološki odziv na zdravljenje s PegIFN pri HBeAg-pozitivnih bolnikih, okuženih z genotipom A, sledijo genotip B s 44 % odzivom, genotip C z 28 % odzivom ter genotip D s 25 % odzivom (47). Buster in sod. predlagajo PegIFN kot izbor zdravljenja pri vseh HBeAg-pozitivnih bolnikih, okuženih z genotipom A ter pri tistih z genotipom B in C, ki imajo zvišane koncentracije alanin aminotransferaze (ALT) ob nizkem virusnem bremenu (48). Odziv na zdravljenje s PegIFN pri bolnikih, okuženih z genotipi E, F, G in H, je slab (49). V primeru HBeAg-negativnega CHB je raziskava pri 518 bolnikih pokazala boljši odziv na zdravljenje s PegIFN pri bolnikih, okuženih z genotipoma B in C kot pri tistih z genotipoma A in D (50). Tajvanska raziskava je pokazala, da je ob zdravljenju s PegIFN statistično značilno več bolnikov, okuženih z genotipom B izgubilo HBeAg v primerjavi s tistimi, okuženimi z genotipom C (51). Nemška raziskava, ki je primerjala okužene z genotipoma A in D, je pokazala tako pri HBeAg-pozitivnih kot pri HBeAg-negativnih bolnikih boljši odziv na zdravljenje s PegIFN pri genotipu A (52). Triinpolletno sledenje bolnikov po zdravljenju s PegIFN je pokazalo, da so bolniki, okuženi z genotipom A, v stabilnejši remisiji kot tisti, okuženi z drugimi genotipi (53).

1.2.2 Virus hepatitisa B brez e antigena

V večini primerov je odsotnost HBeAg posledica pre-core in core mutacij (54). Virus hepatitisa B brez e antigena je virus, pri katerem je ohranjena sinteza nukleokapsidnega (c) antigena, zaradi mutacij pa ne pride do odcepitev e antigena od prekursorske beljakovine c.

Za tovrstno okužbo je značilna prisotnost HBsAg in anti-HBe protiteles brez HBeAg (55). Razširjenost pre-core mutacij pri bolnikih s HBeAg-negativnim CHB se razlikuje glede na geografsko področje in je odvisna od genotipa HBV. Meta-analiza objav Funka in sod. je pokazala, da je razširjenost pre-core mutacij v izbranih državah Mediterana od 67 do 100 % (56), pri HBeAg-negativnih bolnikih v Hong Kongu pa 45 % (57). Pri ne-A genotipih HBV (B, C, D in E), ki so pogosti v mediteranskih državah (predvsem genotip D), je razširjenost pre-core mutacij in posledično HBeAg-negativnega CHB največja (20, 32). Glavna mutacija vključuje zamenjavo adenina za gvanin na mestu 1896, posledica česar je zaustavitev prepisovanja in nezmožnost tvorbe HBeAg. Pri genotipu A je na mestu 1858 prisoten citozin, kar preprečuje mutacije v področju 1896 in pomeni nizko razširjenost pre-core mutacij. Kadar je na položaju 1858 prisoten timin (genotipi B, C in D), so mutacije pogostejše (17). V državah Severne Evrope, ZDA in določenih predelih Afrike, kjer prevladuje genotip A, je razširjenost pre-core mutacij majhna, posledično pa je manjša tudi razširjenost HBeAg-negativnega CHB (32).

1.3 Načini okužbe in dejavniki tveganja za okužbo z virusom hepatitisa B

Virus hepatitisa B se nahaja v krvi in različnih telesnih tekočinah. Za prenos okužbe sta poleg krvi najpomembnejši semenska tekočina ter slina. Prenaša se parenteralno z okuženo krvjo in krvnimi pripravki (transfuzija okužene krvi ali krvnih pripravkov, menjava pribora med IVUD, neprofesionalno prebadanje kože/sluznic in tetovaža, incidenti v zdravstvu), s spolnimi stiki ter z matere na otroka (v 10 % znotrajmaternično) (55, 58). Raziskave kažejo, da carski rez v primerjavi z vaginalnim porodom ne zmanjša možnosti prenosa okužbe, dojenje pa ne poveča tveganja za prenos HBV na otroka (59). Prenos z matere na otroka je najpomembnejši način prenosa v visoko endemičnih predelih, medtem ko v nizko endemičnih predelih prevladujejo spolni prenos, prenos med IVUD ter prenos z naključnimi vbodi. Pri približno 30 % okuženih način prenosa ni znan (55, 58). V Tabeli 6 je predstavljena razširjenost HBsAg v ZDA glede na dejavnike tveganja za okužbo v posameznih skupinah prebivalstva (17).

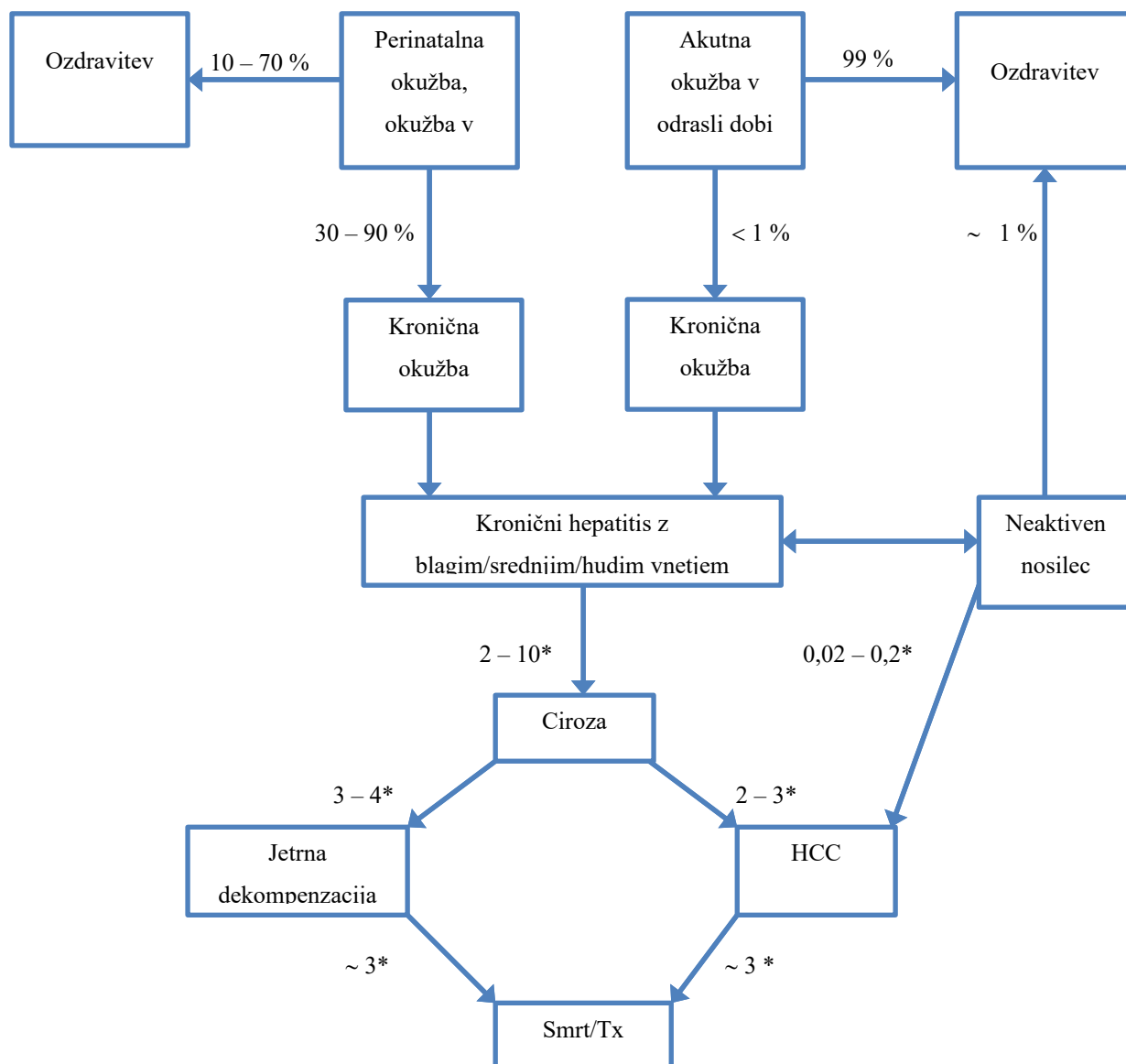
Tabela 6: Razširjenost plaščnega antigena virusa hepatitisa B v posameznih skupinah prebivalstva v Združenih državah Amerike glede na dejavnike tveganja za okužbo (17).

DEJAVNIK TVEGANJA/SKUPINA	RAZŠIRJENOST HBsAg (%)
Prebivalci iz endemičnih predelov	10–20
Prebivalci Aljaske	5–15
Varovanci psihiatričnih ustanov	10–20
IVUD	5–10
Sočasna HIV okužba	5–10
MSM	4–8
Sobivanje v istem gospodinjstvu	3–6
Hemodializa	3–10
Zaporniki	1–8
Tvegano spolno vedenje	0,5
Zdravstveni delavci	0,5

HBsAg – plaščni antigen virusa hepatitisa B, IVUD – intravenski uporabnik drog, HIV – humani virus imunske pomanjkljivosti, MSM – moški, ki imajo spolne odnose z moškimi

1.4 Naravni potek okužbe z virusom hepatitisa B

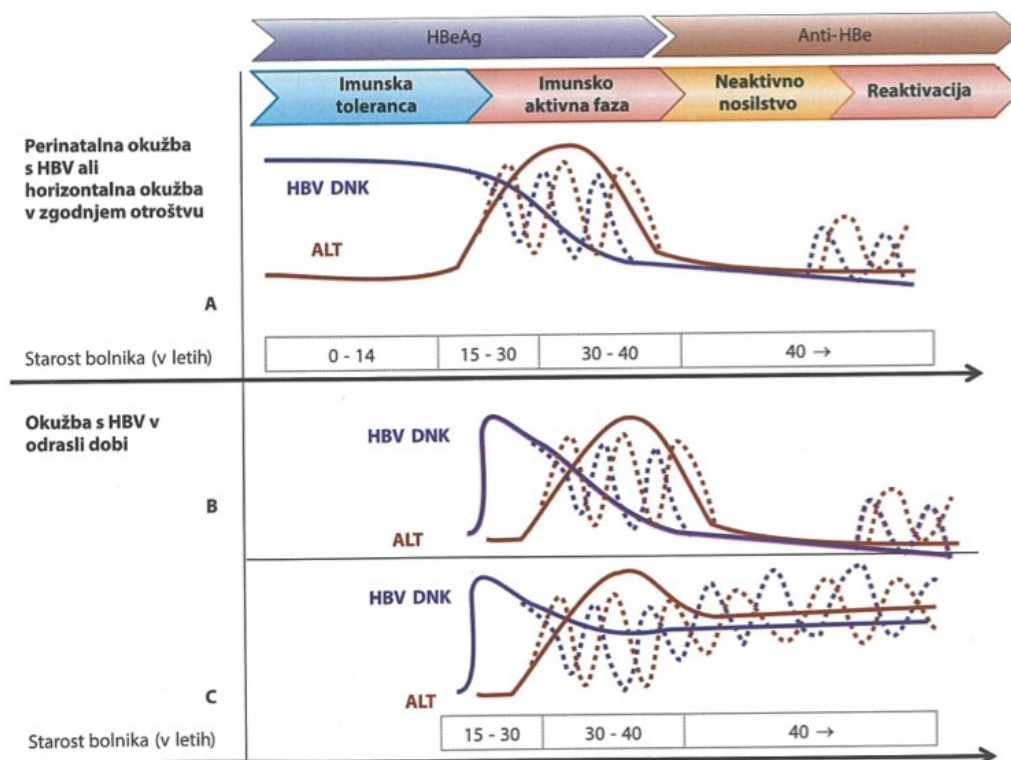
Okužba s HBV poteka najpogosteje subklinično ali brezsimptomno, pri 5–10 % pa virus ostane v organizmu in povzroča kronično okužbo ali kronični hepatitis. Inkubacija traja od 30–120 dni. Približno teden ali dva pred značilno klinično sliko se običajno pri polovici okuženih pojavijo neznačilni prodromalni simptomi in znaki, ki jim sledi zlatenično obdobje, v katerem so bolniki zlatenični, utrujeni, brez apetita, lahko bruhamo in imajo vročino. Ob klinično izraženem akutnem hepatitisu B bolezen navadno pri odraslih bolnikih traja od 4 do 6 tednov, biokemično pa se značilno kaže s porastom koncentracij serumskih aminotransferaz. Večina popolnoma okreva brez trajnih posledic, pri 1 % bolnikov pa je potek akutnega hepatitisa B fulminanten z akutno odpovedjo jeter, ki lahko zahteva tudi presaditev organa. Preboleli hepatitis B pušča trajno imunost. Pet do deset odstotkov oseb, ki prebolijo okužbo s HBV (predvsem tistih s subkliničnim potekom) ter 90 % otrok, ki se okužijo ob rojstvu, ostane trajnih nosilcev HBV. Približno 70 % bolnikov s CHB ima blage, neznačilne težave, z občasno povišanimi koncentracijami serumskih aminotransferaz. Pri ostalih 30 % bolnikov so prisotni znaki in simptomi povezani s kroničnim vnetjem jeter, cirozo ali HCC. Pri 2–3 % kronično okuženih letno pride do razvoja jetrne ciroze, pri 1 % pa do razvoja HCC (55). Glede na prisotnost oz. odsotnost HBeAg ločimo dve obliki CHB, saj se naravni potek kronične okužbe med njima razlikuje (60, 61). Naravni potek okužbe s HBV je predstavljen na Slikah 8 in 9.



* Incidenca na 100 oseb/leto

HCC – jetrnocelični rak, TX – presaditev jeter, HBsAg- plaščni antigen virusa hepatitisa B

Slika 8: Naravni potek okužbe z virusom hepatitisa B (62).



HBV – virus hepatitisa B, DNK – deoksiribonukleinska kislina, ALT – alanin aminotransferaza, HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B, anti-HBe – protitelesa proti e antigenu virusa hepatitisa B

Slika 9: Naravni potek kronične okužbe z virusom hepatitisa B (15).

Prehod akutne okužbe s HBV v kronično obliko je odvisen od starosti okuženega in načina okužbe. Največje tveganje za razvoj kronične okužbe predstavlja prenos z matere na plod oz. novorojenca, še posebej če je mati HBeAg-pozitivna (61). Primarna okužba s HBV v otroštvu napreduje v kronično obliko v 30–90 %, v odrasli dobi pa je napredovanje v kronično obliko prisotno pri 10 % obolelih. Razlog za večjo stopnjo napredovanja v kronično obliko pri novorojencih in majhnih otrocih je najverjetneje posledica nezrelosti imunskega sistema gostitelja (28). Kronična okužba poteka v štirih obdobjih, ki trajajo različno dolgo. Prvi dve sta povezani s prisotnostjo HBeAg v serumu, drugi dve pa nastaneta po izginotju HBeAg, ob pojavu anti-HBe protiteles. Prehod med posameznimi obdobji okužbe pri okuženih osebah najpogosteje ostane neprepoznan (60, 61).

V prvem obdobju t. i. imunske tolerance gostitelja poteka intenzivno pomnoževanje virusa, HBeAg je prisoten, virusno breme in kužnost sta visoka, koncentracije alanin aminotransferaze (ALT) so navadno normalne ter stopnja jetrnega vnetja nizka. Obdobje je značilno predvsem za vertikalni prenos ter okužbo majhnih otrok od HBeAg-pozitivnih oseb in traja do 30 let, še

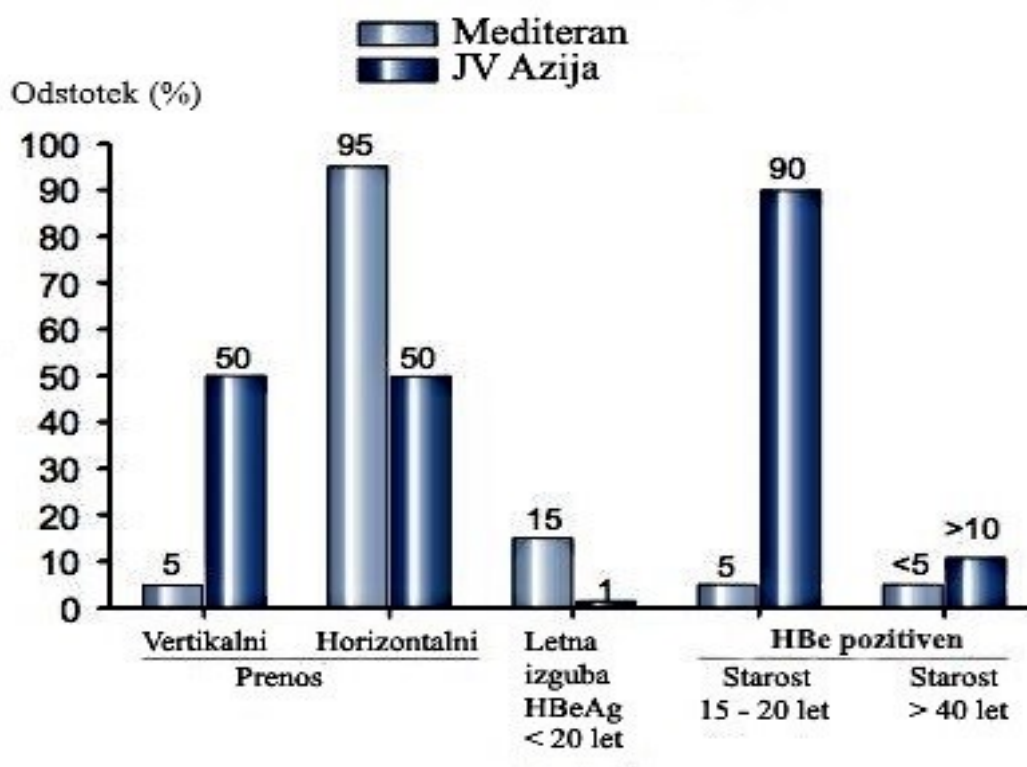
posebno v primeru vertikalnega prenosa s HBeAg-pozitivne matere. V primeru horizontalnega prenosa je to obdobje zelo kratko (60, 61). **Drugo obdobje t. i. imunske odzivnosti** se kaže z različno stopnjo vnetnih sprememb v jetrih in napredovanjem fibroze. Bolniki so HBeAg-pozitivni, virusno breme je visoko in koncentracije ALT povišane. Spontano pride do izginotja HBeAg pri 3 do 12 %. Obdobje imunske odzivnosti se konča s serokonverzijo HBeAg, ali izginotjem HBsAg in pojavom anti-HBs protiteles, pri določenem deležu bolnikov pa se pomnoževanje virusa kljub temu nadaljuje (60, 61). **Tretje obdobje je t. i. neaktivno nosilstvo HBsAg**, v katerem so prisotna protitelesa anti-HBe, pomnoževanje virusa pa je minimalno, brez napredovanja jetrnih sprememb. Večina bolnikov vse življenje ostane v tem obdobju, približno 2 % pa jih izgubi HBsAg in popolnoma okreva (60, 61). Četrto obdobje, ki se navadno pojavi približno 10 let po izginotju HBeAg, je **t. i. HBeAg-negativen/anti-HBe pozitiven CHB**, za katerega so značilni občasni zagoni bolezni, ki jih označujejo pojav povišanih koncentracij ALT in napredovanje vnetnih sprememb v jetrih. To je najpogostejša oblika kronične okužbe s HBV v Evropi, Afriki, na Bližnjem Vzhodu in v mediteranskih državah (32, 56).

Na potek kronične okužbe vplivajo dejavniki virusa (genotip, mutacije), endokrini sistem, gostiteljev imunski sistem ter odnos med virusom in gostiteljem (60, 63). Raziskave na živalih so pokazale, da androgeni pospešijo prepisovanje HBV DNK ter zavirajo tumor supresorski gen v zgodnji hepatokancerogenezi, estrogeni pa prepisovanje HBV DNK zavirajo (60). Adrenergični prekurzor dihidroepiandrosteron sulfat (DHEA), ki je v krvi povišan od pubertete do tretjega desetletja starosti, je pri obeh spolih povezan s serokonverzijo HBeAg, njegove povišane koncentracije pa vplivajo na hitrejše zmanjševanje virusnega bremena in koncentracije HBsAg (64). Na potek okužbe s HBV ima vpliv tudi gostiteljev imunski odgovor. Nekateri aleli kompleksa tkivne skladnosti (MHC) pomenijo zaščito proti kronični okužbi in so povezani z zgodnejšo serokonverzijo HBeAg (60), citokini preprečujejo pomnoževanje virusa, interleukin (IL)-10 in IL-12 pa sta povezana z zgodnejšo spontano serokonverzijo HBeAg (65). Vnetje jeter, fibroza in ciroza so v veliki meri odraz gostiteljevih humoralnih in celičnih obrambnih odzivov. Pomanjkanje CD4⁺ limfocitov T vodi v kronično okužbo, pomanjkanje CD8⁺ limfocitov T pa pomeni okrnjeno zmožnost odstranjevanja virusa. Celice naravne ubijalke po eni strani odstranjujejo stelatne celice, ki so ključni element fibroze, po drugi strani pa dodatno pripomorejo k okvari jeter in vnetju, z ubijanjem okuženih jetrnih celic (60, 65). Na potek okužbe vpliva odnos med gostiteljem in virusom, tako zaradi razlik v spolu, izražanja nekaterih beljakovin na jetrnih celicah gostitelja (npr. furina na

endoplazemskem retikulumu gostitelja, ki ga HBV izkorišča za lasten proces tvorbe HBeAg iz protoproteina v zrelo obliko), zaradi imunskega odziva gostitelja, njegove starosti (vpliv na čas serokonverzije) ter zaradi prisotnosti pre-core in core mutacij (60).

1.4.1 Posebnosti naravnega poteka okužbe z virusom hepatitisa B v mediteranskih državah

V mediteranskih državah Evrope in Afrike je naravni potek kronične okužbe s HBV nekoliko drugačen od predhodno opisanega. Čeprav na potek okužbe vplivajo tako socioekonomski standard, raven higijene kot tudi lokalne razmere in navade, so raziskave pokazale, da so ključnega pomena pri naravnem poteku dejavniki virusa (20). Stopnja endemičnosti v Mediteranu je nizka do srednje visoka (razširjenost HBsAg od 1 do 8 %), za celotno geografsko področje pa velja, da je okužba pri novorojencih redka, primarna okužba pa se večinoma pojavi v otroštvu, posledica česar je zgodnja izguba HBeAg (20). V JV Aziji, kjer je večina kroničnih okužb posledica vertikalnega prenosa HBV, je trajanje HBeAg-pozitivnega obdobja bistveno daljše, saj letno le pri 2 % pride do serokonverzije HBeAg v prvih treh letih življenja, po tem obdobju pa pri 4–5 %, prihaja oz. pri otrocih starejših od treh let. Do 90 % azijskih okuženih otrok ostane HBeAg-pozitivnih do starosti 15 let (20). Nasprotno v evropskih in afriških državah Mediterana do kroničnega poteka okužbe s HBV pride le pri 20–30 % otrok in zgolj 10 % le-teh ostane HBeAg-pozitivnih do odrasle dobe. Stopnja letne serokonverzije HBeAg je bistveno višja (od 14 do 16 %). Ker sta prvi obdobji kronične okužbe s HBV izredno kratki in praktično nezaznavni je v primerjavi z bolniki iz JV Azije razvoj napredovale bolezni jeter, ciroze in HCC bistveno manj pogost. Letna stopnja spontane serokonverzije HBsAg v Mediteranu je 1 % pri otrocih in adolescentih ter 1,5–2 % pri starejših, kar je bistveno višje kot v JV Aziji. Slika 10 predstavlja primerjavo načina prenosa okužbe s HBV, stopnje serokonverzije HBeAg in prisotnosti HBeAg med Mediteranskimi državami in JV Azijo (20).



JV – jugovzhoden, HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B

Slika 10: Primerjava načina prenosa okužbe z virusom hepatitisa B, stopnje serokonverzije e antigena virusa hepatitisa B in prisotnosti e antigena virusa hepatitisa B med mediteranskimi državami in državami jugovzhodne Azije (20).

Genotipi in podtipi HBV vplivajo na naravni potek okužbe, resnost jetrne bolezni in tveganje za razvoj ciroze in HCC (18, 19, 21, 63). V mediteranskih državah prevladuje genotip D, zato je posledično razširjenost HBeAg-negativnega CHB s mutanto pre-core visoka (20, 32).

1.4.2 Posebnosti naravnega poteka kroničnega hepatitisa B brez e antigena

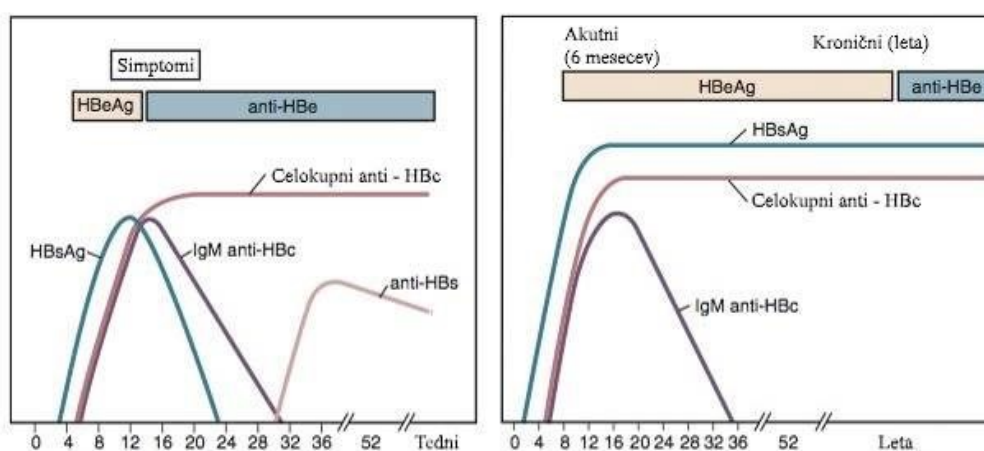
Prvič so HBeAg-negativni CHB opisali leta 1981, na prelomu tisočletja pa je bil tudi formalno sprejet kot obdobje naravnega poteka okužbe z divjim tipom HBV (20). Označujejo ga odsotnost HBeAg, nizko virusno breme, normalne koncentracije aminotransferaz ter napredujoča okvara jetrnega parenhima. Glede na podatke iz nam dostopne literature ima le približno 15–30 % bolnikov s HBeAg-negativnim CHB zvišane koncentracije ALT. Raziskave so pokazale, da so dejavniki, ki vplivajo na razvoj kronične okužbe dolgo trajanje okužbe, moški spol in vertikalni prenos (32, 57). Pogostnost ciroze in HCC je pri bolnikih s HBeAg-negativnim CHB relativno visoka in tveganje se značilno povečuje s starostjo (20,

32).

V evropskih in afriških državah Mediterana ima HBeAg-negativni CHB 70–100 % odraslih bolnikov, medtem ko v JV Aziji, severni Evropi in ZDA prevladuje HBeAg-pozitivni CHB. Razširjenost HBeAg-negativnega CHB v Evropi z leti narašča (32).

1.5 Diagnostika okužbe z virusom hepatitisa B

Pri vsakodnevem delu dokazujemo šest seroloških označevalcev okužbe s HBV: dve virusni beljakovini (HBsAg, HBeAg) in štiri vrste protiteles (anti-HBs, celokupna anti-HBc, IgM anti-HBc in anti-HBe). Prisotnost HBV DNK v plazmi je najbolj zanesljiv kazalec pomnoževanja virusa in bolnikove kužnosti. Z določanjem HBV DNK lahko prepoznamo bolnike z akutnim hepatitisom B, pri katerih še ni prišlo do pojava HBsAg v krvi (prvo diagnostično okno) ter bolnike v obdobju odstranitve HBsAg, pri katerih se še niso pojavila protitelesa anti-HBs (drugo diagnostično okno) (17, 55). Slika 11 prikazuje potek akutne in kronične okužbe s HBV (17).



HBeAg- e antigen virusa hepatitisa B, HBsAg – plaščni antigen virusa hepatitisa B, anti-HBc – protitelesa proti c beljakovini virusa hepatitisa B, anti-HBe – protitelesa proti e beljakovini virusa hepatitisa B, IgM – protitelesa razreda M, anti-HBs – protitelesa proti plaščnemu antigenu virusa hepatitisa B

Slika 11: Serološki označevalci akutne in kronične okužbe z virusom hepatitisa B (17).

Z določanjem HBV DNK lahko potrdimo aktualno okužbo tudi pri osebah, okuženih z mutantnimi sevi, ki jih z nekaterimi serološkimi testi ne moremo dokazati. Z metodo kvantitativnega določanja HBV DNK lahko ločimo neaktivne nosilce HBsAg in bolnike s HBeAg-negativnim CHB (17). Mejna koncentracija, ki ločuje omenjeni stanji je po definiciji

Ameriškega združenja za raziskave bolezni jeter (*angl.* American Association for the Study of Liver Disease – AASLD) iz leta 2007, koncentracija HBV DNK, ≤ 2.000 mednarodnih enot (*angl.* international units – IU)/ml (66).

HBeAg je označevalec okužbe s HBV, ki ga najdemo pri akutnem hepatitisu B in pri kronični okužbi s HBV in se v krvi pojavi nekaj dni po pojavu HBsAg. Prisotnost HBeAg kaže na visoko stopnjo virusnega pomnoževanja in kužnost bolnika. Izginotje HBeAg kaže na prehod iz obdobja bolezni z veliko vnetno aktivnostjo v obdobje z majhno vnetno aktivnostjo oz. v ozdravitev. Navadno se HBeAg spontano odstrani iz organizma v nekaj tednih, hkrati s pojavom anti-HBe protiteles (17). V Sloveniji gre pri bolnikih največkrat za okužbo s pre-core mutanto HBV, ki je značilna za mediteranske dežele.

Pomembno orodje v diagnostiki ter pri odločanju za zdravljenje CHB je biopsija jeter, ki nam da informacijo o stopnji vnetja jeter. Patohistološke spremembe opišemo z gradusom nekroinflammatory sprememb in stadijem fibroze. Gradus oz. stopnja kaže vnetno dogajanje, agresivnost, intenzivnost ter aktivnost vnetja, pa tudi obseg parenhimskih nekroz. S stadijem skušamo napovedati nadaljnji razvoj okvare jeter. Jetrna biopsija je pomembna tudi za izključevanje ostalih vzrokov jetrne bolezni (67). V Sloveniji v zadnji letih za histološko opredelitev sprememb v jetrih pri virusnih hepatitisih uporabljamo lestvico METAVIR, s katero točkovno opišemo stopnjo aktivnosti vnetja in nekroz (gradus od 0 do 18) ter stopnjo fibroze (stadij od 0 do 4) (68, 69). V zadnjem času se uveljavljajo različne neinvazivne metode opredelitve stadija fibroze jeter, med katerimi je ena pomembnejših prehodna elastografija, ki meri elastičnost jetrnega tkiva (70).

1.6 Klinična razvrstitev okuženih z virusom hepatitisa B

Pri bolnikih z **akutnim hepatitisom B** beležimo prisotnost HBsAg in HBeAg ter IgM anti-HBc protiteles v serumu, edini zanesljivi dokaz pa je prisotnost HBV DNK, saj slednjo v serumu dokažemo tudi v obdobju prvega in drugega serološkega okna (17, 55).

Kronični hepatitis B je kronična nekroinflammatory bolezen jeter, ki jo povzroča trajna, več kot šest mesecev prisotna okužba s HBV, ki se serološko kaže z vztrajanjem HBsAg. Kronični hepatitis B glede na prisotnost HBeAg delimo na HBeAg-pozitivni CHB in HBeAg-negativni CHB (66). Pri bolnikih s **HBeAg-pozitivnim CHB** je koncentracija HBV DNK večja od 20.000 IU/ml. Pri bolnikih s **HBeAg-negativnim CHB** se razpon koncentracij HBV

DNK giblje od manj kot 2.000 IU/ml do več kot 1.000.000 IU/ml. Značilno je trajno oz. občasno zvišanje jetrnih aminotransferaz. Biopični vzorec jetrnega tkiva kaže različno izraženo stopnjo vnetja. **Neaktivni nosilci HBsAg** so po definiciji AASLD iz leta 2007 osebe z dlje kot 6 mesecev trajajočo okužbo s HBV brez znakov nekroinflamatorne bolezni (66). V krvi je HBeAg odsoten, prisotna pa so anti-HBe protitelesa. Koncentracija serumske HBV DNK je navadno nižja od 2.000 IU/ml, koncentracije serumskih aminotransferaz pa so navadno v mejah normale (66). Glede na smernice Evropskega združenja za raziskave jeter (*angl.* European Association for the Study of the Liver – Evropsko združenje za raziskave jeter – EASL) iz leta 2012 govorimo o **t. i. neaktivnem nosilstvu HBV** (71). Gre za stanje z virusnim bremenom nižjim od 2.000 IU/ml ter ves čas normalnimi koncentracijami aminotransferaz pod 40 U/l. Bolnike je za uvrstitev v to skupino treba slediti vsaj 1 leto na 3 do 4 mesece. Pri tistih, ki imajo virusno breme nižje od 2.000 IU/ml, a patološke koncentracije aminotransferaz, je treba opraviti biopsijo jeter (71). **Ozdravljeni bolniki** so bili v preteklosti okuženi s HBV, trenutno pa so brez viroloških, biokemičnih ali histoloških znakov aktivne okužbe oz. bolezni, HBV DNK v krvi je odsotna. Za **akutna poslabšanja** CHB so značilna prehodna povišanja aminotransferaz do 10-kratnega presega normalnih koncentracij. O **reaktivaciji HBV** govorimo, kadar se pri bolniku, ki je bil znan nosilec HBsAg, pojavijo znaki aktivne nekroinflamatorne bolezni. **Odstranitev HBeAg** iz telesa pomeni izgubo HBeAg pri osebi, ki je imela le-tega prisotnega v krvi. O **HBeAg serokonverziji** govorimo, kadar pride pri bolniku, ki je imel prisoten HBeAg in odsotna anti-HBe protitelesa, do izgube HBeAg in pojava anti-HBe protiteles. **HBeAg reverzija** pomeni pojav HBeAg pri bolniku, ki ima prisotna anti-HBe protitelesa (66).

1.7 Zdravljenje kroničnega hepatitisa B

Bolnike s CHB zdravimo bodisi s PegIFN oz. IFN in/ali NUC. Za zdravljenje je bilo odobrenih sedem zdravil, trije nukleozidni analogi (lamivudin, entekavir, telbivudin), dva nukleotidna analoga (adefovir in tenofovir) ter IFN in PegIFN (71-75). Cilj protivirusnega zdravljenja je zavrtje pomnoževanja virusa, serokonverzija HBeAg in HBsAg, normalizacija jetrnih aminotransferaz ter zmanjšanje stopnje vnetja jetrnega parenhima. Zdravljenje preprečuje tudi napredovanje jetrnega vnetja v fibrozo, cirozo in HCC. Zdravljenje z NUC je v obliki tablet z malo stranskimi učinki, vendar dokaj pogosto pride do pojava odpornosti virusa zaradi mutacij ob podvojevanju (76). Je dolgotrajno, lahko doživljenjsko. Interferoni so

glikoproteini, ki delujejo neposredno protivirusno, protitumorsko in imunomodulacijsko (55). Pri zdravljenju s PegIFN, ki ga dajemo v obliki injekcij podkožno, pa do razvoja odpornosti virusa ne prihaja, je pa trajanje omejeno na največ eno leto, stranski učinki pa so zelo pogosti in lahko celo ogrožajo življenje. V Tabeli 7 je predstavljena učinkovitost zdravil, ki so trenutno v uporabi za zdravljenje CHB, in njihova uspešnost glede na prisotnost ali odsotnost HBeAg (71).

Tabela 7: Učinkovitost zdravil za zdravljenje kroničnega hepatitisa B (71).

	PegIFN-2a, 2b	LAMIVUDIN	ADEFOVIR	ENTEKAVIR	TELBIVUDIN	TENOFOVIR
Način dajanja	podkožno	oralno	oralno	oralno	oralno	oralno
Odmerek	180 µg/teden	100 mg/dan	10 mg/dan	0,5 mg/ dan	600 mg/dan	245 mg/dan
Trajanje (v tednih)	48	≥ 48	≥ 48	≥ 48	≥ 48	≥ 48
Prenašanje zdravila	relativno slabo	dobro	dobro – spremljaj LF	dobro	dobro	dobro – spremljaj LF
Odpornost na protivirusna zdravila	/	15–30 %	redko	/	6 %	0 %
HBeAg-pozitivni CHB						
Serokonverzija HBeAg	29–32 %	16–18 %	12–18 %	21 %	22 %	21 %
HBV DNK < 60-80 IU/ml	7–14 %	36–44 %	13–21 %	67 %	60 %	76 %
Normalizacija ALT	32–41 %	41–72 %	48–54 %	68 %	77 %	68 %
Izguba HBsAg	3-7 %	< 1 %	0 %	2 %	< 1 %	3 %
HBeAg-negativni CHB						
HBV DNK < 60-80 IU/ml	19 %	72–73 %	51–63 %	90 %	88 %	93 %
Normalizacija ALT	59 %	71–79 %	72–77 %	78 %	74 %	76 %
Izguba HBsAg	4 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %

HBV – virus hepatitisa B, DNK – deoksiribonukleinska kislina, ALT – alanin aminotransferaza, PegIFN – pegiliran interferon alfa, HBsAg – plašni antigen virusa hepatitisa B, CHB – kronični hepatitis B, LF – ledvična funkcija

Klinične smernice za obravnavo in zdravljenje bolnikov s CHB se med posameznimi strokovnimi združenji razlikujejo in so predstavljene v Tabeli 8 (71–75).

Tabela 8: Klinične smernice za obravnavo in zdravljenje kroničnega hepatitisa B, ki jih predlagajo posamezna strokovna združenja (71–75).

		AASLD (2009, 2015)	APASL (2015)	EASL (2012)	WHO (2015)
HBV DNK (IU/ml)	HBeAg +	20.000	20.000	2.000	20.000 ne glede na prisotnost/odsotnost HBeAg
mejna koncentracija	HBeAg –	2.000–20.000	2.000	2.000	moški 30, ženske 19
ALT mejna koncentracija (U/L)		moški 30, ženske 19	50	40	moški 30, ženske 19
Indikacije: HBeAg-pozitivna okužba	HBV DNK > 20.000 IU/ml, ALT > 2x ULN – spremljaj na 3–6 mesecev, opcijsko biopsija pred uvedbo zdravljenja	HBV DNK > 20.000 IU/ml, ALT > 2x ULN – spremljaj na 3 mesece, lahko biopsija pred uvedbo zdravljenja	HBV DNK > 20.000 IU/ml, ALT > 2x ULN – spremljaj na 3 mesece, lahko biopsija pred uvedbo zdravljenja	HBV DNK > 2.000 IU/ml, ALT > ULN – spremljaj na 3–6 mesecev, priporočena biopsija ali neinvazivne metode ocene fibroze	HBV DNK > 20.000 IU/ml, ALT > ULN, starost ≥ 30 let NE GLEDE NA prisotnost/odsotnost HBeAg Zdravi HBV DNK > 20.000 IU/ml, ALT < ULN, starost ≤ 30 let Spremljaj ne glede na prisotnost/odsotnost HBeAg
	HBV DNK > 20.000 IU/ml, ALT ≤ 2x ULN – spremljaj na 3–6 mesecev, biopsija pri > 40 let, ALT trajno 1–2x > ULN ali pozitivni družinski anamnezi HCC Zdravi ob zmernem do hudem vnetju oz. fibrozi	HBV DNK > 20.000 IU/ml, ALT ≤ 1–2x ULN – spremljaj na 1–3 mesece, biopsija pri > 35 let, ALT trajno 1–2x ULN ali pozitivni družinski anamnezi HCC Zdravi ob zmernem do hudem vnetju oz. fibrozi	HBV DNK > 20.000 IU/ml, ALT > 2x ULN – spremljaj na 3 mesece, neinvazivno merjenje fibroze pri > 35 let, ALT trajno zvišan ali pozitivni družinski anamnezi HCC	HBV DNK > 20.000 IU/ml, ALT < ULN – spremljaj na 3–6 mesecev, biopsija pri > 30 let, ALT trajno 1–2x ULN ali pozitivni družinski anamnezi HCC Zdravi ob zmernem do hudem vnetju oz. fibrozi	HBV DNK < 2.000 IU/ml, ALT < ULN – Spremljaj ne glede na prisotnost/odsotnost HBeAg
Indikacije: HBeAg-negativna okužba	HBV DNK 2.000–20.000 IU/ml, ALT 1–2x ULN – biopsija Zdravi ob zmernem do hudem vnetju oz. fibrozi	HBV DNK > 2.000 IU/ml, ALT > 2x ULN – opazuj 3 mesece, biopsija Zdravi	HBV DNK > 2.000 IU/ml, ALT > 2x ULN – spremljaj na 3 mesece, biopsija pri > 35 let in pozitivni družinski anamnezi HCC Zdravi ob zmernem do hudem vnetju oz. fibrozi	HBV DNK > 2.000 IU/ml, ALT > ULN – priporočena biopsija ali neinvazivne metode ocene fibroze Zdravi ob zmernem do hudem vnetju oz. fibrozi	HBV DNK > 20.000 IU/ml, ALT > ULN, ≥ 30 let NE GLEDE NA prisotnost/odsotnost HBeAg Zdravi HBV DNK 2.000–20.000 IU/ml, ALT > ULN, starost ≤ 30 let Spremljaj
	HBV DNK < 2.000 ALT IU/ml ≤ ULN – spremljaj	HBV DNK < 2.000 ALT IU/ml ≤ ULN – spremljaj na 3 mesece, biopsija pri > 35 let	HBV DNK < 2.000 ALT IU/ml ≤ ULN – spremljaj na 3 mesece, biopsija pri > 35 let	HBV DNK < 2.000 ALT IU/ml ≤ ULN – spremljaj	
Ciroza	Kompenzirana	HBV DNK > 2.000 IU/ml – zdravi ne glede na ALT HBV DNK < 2.000 ALT IU/ml – zdravi, če je ALT > ULN	HBV DNK > 2.000 IU/ml – zdravi ne glede na ALT HBV DNK < 2.000 ALT IU/ml – zdravi, če je ALT > ULN	zdravi, če je virusno breme zaznavno	zdravi
	Dekompenzirana	zdravi	zdravi		
HCC		zdravi, Tx?	zdravi, Tx?	zdravi, Tx?	

AASLD – *angl.* American Association for the Study of Liver diseases – Ameriško združenje za raziskave jeter, EASL – *angl.* European Association for the Study of the Liver – Evropsko združenje za raziskave jeter, APASL – *angl.* Asian Pacific Association for the Study of the Liver – Azijsko-pacifiško združenje za raziskave jeter,

WHO – *angl.* World Health Organisation – Svetovna zdravstvena organizacija, HBV – virus hepatitisa B, ALT – alanin aminotransferaza, ULN – *angl.* upper normal limit – zgornja meja normalne koncentracije, HCC – *angl.* hepatocellular carcinoma – jetrnocelični rak, Tx – transplantacija jeter, HBV – virus hepatitisa B, DNK – deoksiribonukleinska kislina, HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B, U – *angl.* units – enote

Trenutno potekajo intenzivne raziskave na področju odkrivanja novih zdravil za zdravljenje CHB (77, 78). Obetajoča so predvsem poročila o možnostih zdravljenja preko nadzora citokinov, saj le-ti igrajo pomembno vlogo v procesu podvojevanja HBV, imajo vlogo pri zamejevanju akutne okužbe in sodelujejo pri odstranjevanju virusa (79).

1.8 Preprečevanje okužbe z virusom hepatitisa B

Osnova preprečevanja prenosa okužbe s HBV je preprečevanje vnosa s HBV okužene krvi in telesnih tekočin. To vključuje testiranje darovane krvi in krvnih pripravkov, organov pred njihovo presaditvijo in semenske tekočine darovalcev. Posameznik se lahko zaščiti s prakticiranjem varnih spolnih odnosov in izogibanjem znanim dejavnikom tveganja (npr. neprofesionalna tetovaža/prebadanje). Intravenski uporabniki drog se zaščitijo z dosledno uporabo pribora za enkratno uporabo in izogibanju menjave pribora za injiciranje (55).

Na voljo imamo tudi pasivno (hiperimuni imunoglobulin B) imunizacijo in aktivno rekombinantno cepivo (80). Pasivno imunizacijo dobijo novorojenci HBsAg-pozitivnih mater in necepljene osebe po izpostavitvi okužbi (npr. Ob vbodu z okuženo iglo). Aktivno imunizacijo je po priporočilih WHO uvedlo v nacionalni program obveznega cepljenja otrok že 98 % držav članic (81).

1.9 Obravnava okužbe z virusom hepatitisa B v Sloveniji

V Sloveniji pristop k celostni obravnavi oseb, okuženih s HBV, poteka integrirano z medsebojnim sodelovanjem Nacionalnega inštituta za javno zdravje (NIJZ) ter interdisciplinarne Nacionalne ekspertne skupine za virusne hepatitis. Nacionalni inštitut za javno zdravje deluje v skladu z Zakonom o nalezljivih boleznih ter pridobiva epidemiološke podatke o pojavnosti okužbe, izvaja sledenje, nadzoruje testiranje krvi in krvnih pripravkov, izvaja presejalna testiranja ter nadzoruje nacionalni Program cepljenja in zaščite z zdravili. Z namenom zmanjšanja škodljivih posledic okužbe s HBV nadzira tudi programe zdravljenja in preprečevanja okužbe pri IVUD in promocijo varne spolnosti. Nacionalna interdisciplinarna ekspertna skupina za virusne hepatitis pa na temelju mednarodnih smernic postavlja

nacionalne klinične smernice za odkrivanje, obravnavo in zdravljenje okuženih s HBV, ki upoštevajo slovenske posebnosti (82).

Brezplačno anonimno testiranje na okužbo s HBV in svetovanje se redno izvaja na Kliniki za infekcijske bolezni in vročinska stanja (KIBVS) v Ljubljani v sodelovanju z Inštitutom za mikrobiologijo in imunologijo (IMI) Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani. Testiranje je možno tudi na Zavodu za transfuzijsko medicino (ZTM) in pri osebem zdravniku. Testiranje na okužbo s HBV se rutinsko izvaja tudi v vseh skupinah z večjim tveganjem za okužbo. Intravenski uporabniki drog so v nacionalni zdravstveni mreži sistematično obravnavani od leta 1995; in sicer v 18 Centrih za preprečevanje in zdravljenje odvisnosti od prepovedanih drog (CPZOPD) (83). V tem sklopu se izvaja redno testiranje IVUD na okužbo s HBV vsakih 6 do 12 mesecev, cepljenje proti hepatitisu B, hkrati pa se izvajajo kampanje za promocijo preprečevanja okužb, celostno svetovanje ter nudenje socialne, psihološke in psihiatrične pomoči. Za moške, ki imajo spolne odnose z moškimi (MSM), so organizirana testiranja v nevladnih organizacijah. Obvezno testiranje nosečnic na HBsAg je bilo v Sloveniji uvedeno v letu 1994 (84). Zaenkrat s podatki o razširjenosti HBsAg pri nosečnicah ali uspešnosti presejalnega testiranja za preprečevanje širjenja okužbe na novorojence v Sloveniji niso na voljo. Novorojenci HBsAg-pozitivnih mater so takoj po porodu po nacionalni doktrini pasivno in aktivno cepljeni (85).

Preventivno cepljenje proti hepatitisu B je v Sloveniji od decembra leta 1997 vključeno v nacionalni program obveznega cepljenja otrok pred nastopom šole, torej so cepljeni otroci rojeni po letu 1992 (80).

Poleg otrok je cepljenje obvezno tudi za skupine prebivalstva s povečanim tveganjem za okužbo: zdravstvene in druge delavce, ki so pri opravljanju svojega dela izpostavljeni možnosti okužbe s HBV (od leta 1983), dijake in študente, ki so pri praktičnem pouku izpostavljeni možnosti okužbe s HBV, novorojence HBsAg-pozitivnih mater (od leta 1988), osebe, ki nimajo niti antigena niti zaščitnih protiteles in živijo v tesnem stiku z osebami, ki so nosilci HBsAg, za bolnike na hemodializi (od leta 1990), varovance zavodov za duševno in telesno zaostale, IVUD (od leta 1993), hemofilike, bolnike s spolno prenesenimi boleznimi, osebe, ki so bile izpostavljene okužbi s HBV, in sicer preko kože ali sluznice ter druge ciljne skupine v skladu z epidemiološkimi indikacijami, ki jih določi NIJZ. Pasivna zaščita s specifičnim imunoglobulinom proti HBV je obvezna za osebe, ki še niso bile cepljene proti hepatitisu B, so bile cepljene nepopolno, ni dokazov o cepljenju ali so bile cepljene, vendar

nimajo zadovoljive zaščite ter so bile izpostavljene okužbi s HBV, in sicer preko kože ali sluznice (85).

Bolnike s hepatitisom B v Sloveniji obravnavajo specialisti infektologi in hepatologi v petih bolnišnicah: KIBVS UKC Ljubljana, Splošna bolnišnica (SB) Celje, UKC Maribor, SB Novo mesto in SB Murska Sobota. Klinične smernice za zdravljenje CHB so v Sloveniji na voljo od leta 2010 (82). Zdravimo bolnike, ki imajo virusno breme nad 2.000 IU/ml in/ali trajno zvišane koncentracije jetrnih aminotransferaz ter patohistološke spremembe v jetrih, ki ustrezajo stopnji fibroze > 2 po lestvici METAVIR. Zdravilo prve izbire sta bodisi entekavir ali tenofovir. Pri mlajših od 30 let z nizkim virusnim bremenom in visokimi koncentracijami ALT je prva izbira enoletno zdravljenje s PegIFN, v primeru neodzivnosti pa tudi tu preidemo na NUC (82). Rezultatov o uspehih zdravljenja CHB na nacionalni ravni zaenkrat nimamo. Lešničar s sod. je na konferenci predstavil svoje rezultate retrospektivno-prospektivne raziskave zdravljenja 82 bolnikov s CHB od leta 1994–2012 v celjski regiji, kjer je remisijo doseglo do 78,6 % bolnikov (86).

2 NAMEN DELA IN HIPOTEZE

2.1 Namen dela

Glavni namen retrospektivne raziskave je bil opredelitev demografskih, epidemioloških, viroloških, kliničnih, deloma pa tudi patohistoloških značilnosti s HBV kronično okuženih oseb v Sloveniji, katerih vzorci krvi so bili vsaj enkrat pregledani v Laboratoriju za molekularno mikrobiologijo in diagnostiko hepatitisov in aidsa (HIV) IMI Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani (v nadaljevanju IMI) med januarjem 1997 in decembrom 2010. Predvidevali smo, da bomo zaradi centralizacije izvajanja virološkega spremljanja oseb, okuženih s HBV in obsežnega arhiva vseh serumskih vzorcev uspeli dobiti do sedaj v nacionalnem, evropskem in svetovnem merilu najbolj zanesljive podatke o razširjenosti in značilnostih kronične okužbe s HBV na enem, relativno homogenem geografskem področju. Pričakovali smo, da se bo delež kronično okuženih brez HBeAg v Sloveniji gibal med deležem, značilnim za države Srednje Evrope, in deležem, značilnim za mediteranske države, ter se v obdobju 1997–2010 postopno povečeval. Na temelju predhodnih opažanj smo pričakovali, da je več kot 95 % slovenskih bolnikov okuženih z genotipom HBV D.

Raziskava predstavlja prvo sistematično raziskavo s HBV okuženih bolnikov v obdobju 1997–2010 na področju Slovenije in hkrati prvo tovrstno raziskavo na nacionalni ravni v svetu doslej. Prvič v svetu bodo na nacionalni ravni okuženi s HBV tudi v klinični praksi razvrščeni po zadnjih priporočenih kriterijih klinične obravnave. S tem se bo na nacionalni ravni izboljšala kvaliteta klinične obravnave in zdravljenja kronično okuženih s HBV. Dobljeni podatki o celostni epidemiologiji oseb z okužbo s HBV brez HBeAg in porazdelitvi genotipov bodo služili kot osnova za izdelavo posodobljenih nacionalnih smernic za obravnavo in zdravljenje bolnikov s CHB v Sloveniji.

2.2 Hipoteze

V doktorski disertaciji smo postavili naslednje hipoteze:

1. Predvidevamo, da bomo uspeli dobiti do sedaj v evropskem in svetovnem merilu najbolj zanesljive podatke o razširjenosti in značilnostih kronične okužbe s HBV na enem, relativno homogenem geografskem področju.
2. Predvidevamo, da se v Sloveniji razširjenost kronično okuženih s HBV brez HBeAg giblje med razširjenostjo, značilno za države Srednje Evrope in razširjenostjo, značilno za mediteranske države ter da delež tovrstne oblike hepatitisa z leti narašča.
3. Predvidevamo, da je slovenska populacija oseb, okuženih s HBV, glede na genotip virusa ena najbolj homogenih populacij v razvitem svetu. Po predvidevanjih je več kot 95 % slovenskih bolnikov okuženih z genotipom HBV D.

3 PREISKOVANE OSEBE IN METODE

3.1 Zasnova raziskave in preiskovane osebe

V raziskavo so bile vključene vse med januarjem 1997 in decembrom 2010 na novo odkrite osebe, okužene s HBV, katerih vzorci krvi so bili vsaj enkrat testirani na IMI, rezultati testiranja pa vnešeni v podatkovno zbirko istega laboratorija. Vzorci krvi so bili pridobljeni iz vseh predelov države. Pridobili smo ustrezajoče demografske, epidemiološke, virološke, biokemične, klinične ter patohistološke podatke preiskovanih oseb s pregledom njihove medicinske dokumentacije v pristojnih zdravstvenih ustanovah: na KIBVS Univerzitetnega kliničnega centra (UKC) Ljubljana, na Oddelku za nalezljive bolezni in vročinska stanja Splošne bolnišnice (SB) Celje, na Oddelku za nalezljive bolezni in vročinska stanja UKC Maribor, na Oddelku za infekcijske bolezni SB Novo Mesto ter na Oddelku za infekcijske bolezni SB Murska Sobota. Pridobljeni podatki so bili pred statistično obdelavo anonimizirani.

3.2 Laboratorijske metode

Za mejno raven ALT smo določili koncentracijo 0,56 $\mu\text{kat/L}$, kar je zgornja meja normalnega (*angl.* upper limit normal – ULN) v laboratorijih večine vključenih slovenskih bolnišnic in velja za oba spola.

3.3 Mikrobiološke metode

3.3.1 Določanje HBsAg in HBeAg

Med leti 1997 in 2010 so na IMI uporabljali različne avtomatske analizatorje in komercialne teste za določanje HBsAg in HBeAg. Do leta 2000 so rutinsko uporabljali encimsko-immunski test na analizatorju Cobas[®] Core (Roche diagnostics, Mannheim, Nemčija). Konec leta 2000 so pričeli uporabljati elektrokemiluminiscenčna imunska testa Cobas[®] HBsAg in Cobas[®] HBeAg (Roche Diagnostics), ki so ju izvajali na analizatorju Elecsys[®] 2010 (Roche Diagnostics). V letu 2006 so prešli na določanje HBsAg na analizatorju ARCHITECT Immunoassay analyzer (Abbott, Weisbaden, Germany). Od takrat so HBsAg rutinsko določali

z imunskim testom HBsAg Qualitative Test (Abbott), ki za dokaz HBsAg uporablja kemiluminiscenčno magnetno tehnologijo.

3.3.2 Določanje virusnega bremena

V kliničnih vzorcih so DNK HBV na IMI začeli rutinsko določati v letu 1997 s testom Digene® HBV DNA Test (Digene Corporation, Gaithersburg, USA), ki temelji na Hybrid Capture® II tehnologiji (hibridizacijski test, ki za zaznavo DNK uporablja kemiluminiscenčno reakcijo). Istega leta so v rutinski diagnostiki pričeli uporabljati test, ki je temeljil na verižni reakciji s polimerazo (*angl.* polymerase chain reaction – PCR) s kolorimetričnim določanjem pomnoženih produktov (AMPLICOR HBV MONITOR™ Test (Roche Diagnostics, Branchburg, USA)). Leta 2004 so omenjeni test zamenjali s testom Versant® HBV DNA 3.0 (Bayer Diagnostics, Berkeley, USA), ki DNK HBV določa z metodo razvejane DNK, leta 2007 pa s komercialnim testom Abbott RealTime HBV Test (Abbott), ki temelji na verižni reakciji s polimerazo v realnem času (real-time PCR – RT PCR).

Od leta 2004 so kot dodatni test uporabljali Cobas® TaqMan® HBV Test (Roche), real-time PCR test.

V analizi so bile vse koncentracije DNK HBV po navodilih proizvajalcev komercialnih testov pretvorjene v IU/ml. Razmerje med enotami je bilo $1 \text{ IU/ml} = 5,6 \text{ kopij/ml} = 0,00002 \text{ pg/ml}$.

3.3.3 Metode genotipizacije

Za dokaz genotipa HBV smo uporabili dvostopenjsko metodo. Real-Time PCR, ki ga je razvil Malström s sodelavci, so na IMI v rutinsko diagnostiko uvedli v letu 2014 (87). Metoda loči med genotipoma A in D v eni sami reakciji, kar omogočajo lovke označene z dvema različnima fluorescenčnima barviloma (barvilo FAM za genotip HBV A in YAK za genotip HBV D).

Za dokaz genotipa HBV v ne-A ne-D pozitivnih vzorcih smo sekvenirali del polimeraznega gena HBV (88) in genotip nato določili z uporabo spletnega orodja NCBI genotyping tool (89). To metodo smo uporabili tudi v primerih, ko so genotip določili na podlagi sekvenc, pridobljenih med rutinskim določanjem odpornosti HBV na protivirusna zdravila. Dobljene

sekvence smo analizirali s pomočjo spletnega orodja geno2pheno (90). Dobljene sekvence smo deponirali na genski banki (GenBank) (Accession numbers: KY613598-KY613603).

3.3.3.1 Način izbora oseb, ki jim je bil določen genotip virusa hepatitisa B

Zaradi relativno majhnega števila preiskovanih oseb z že določenim genotipom HBV smo to število povečali z dodatno izvedbo genotipizacije. Zaradi finančnih in časovnih omejitev smo izmed 450 preiskovanih oseb iz podatkovne zbirke, ki so imele zabeležene vse preučevane demografske, epidemiološke, klinične in virološke podatke, izbrali dodatnih 90 oseb. Uporabili smo za take primere priporočeno sistematično obliko vzorčenja. Osebe smo vključevali po časovnem zaporedju pregleda, in sicer smo v vzorec vključili vsakega petega iz naše podatkovne zbirke.

3.4 Patohistološki izvid vzorca jeter

Patohistološki izvid vzorca jeter, pridobljenega z biopsijo, zabeležen v medicinski dokumentaciji preiskovanih oseb, je bil glede stadija fibroze ovrednoten po lestvici METAVIR. Pri bolnikih, ki so imeli izvid stadija fibroze jeter podan z lestvico ISHAK, smo le-tega opredelili z lestvico METAVIR na način, ki ga v literaturi za patohistološko opredelitev stadija fibroze jeter predlagajo pri bolnikih s kroničnim hepatitisom C, in sicer: ISHAK 0 = METAVIR 0, ISHAK 1–2 = METAVIR 2, ISHAK 3 = METAVIR 2, ISHAK 4–5 = METAVIR 3 ter ISHAK 6 = METAVIR 4 (91). V primeru, ko je bil na voljo le opisni izvid jetrne biopsije, ki je ni bilo mogoče opredeliti v lestvico METAVIR, smo izvide teh biopsij iz analize izključili.

3.5 Opis uporabljenih statističnih metod

Za preučevanje povezanosti med različnimi dejavniki ter prisotnosti ali odsotnosti HBeAg, virusnim bremenom in vrsto zdravljenja smo uporabili univariatno in večkratno logistično regresijo. V primeru majhnega števila oseb v kateri od kategorij nominalne spremenljivke smo za preverjanje povezanosti med dvema nominalnima spremenljivkama uporabili test razmerja verjetij. Pri nominalnih spremenljivkah z več kot dvema kategorijama smo povezanost preverjali s hi-kvadrat testom ali testom razmerja verjetij v primeru pričakovanih frekvenc, nižjih od 5. Razliko med dvema skupinama v numerični spremenljivki smo testirali

s t-testom v primeru normalne porazdelitve spremenljivke po skupinah in v nasprotnem primeru z Mann-Whitneyevim U testom. Za obdobje od leta 1998 do leta 2009 smo podali pojavnost kronične okužbe s HBV, ki vključuje izračun stopnje rasti. Slednja pove, za kakšen odstotek se je število primerov v preučevanem letu spremenilo glede na predhodno leto. Analiza vključuje tudi izračun linearnih trendov. Rezultati so bili predstavljeni kot frekvence (odstotni deleži), če ni drugače zapisano, deleži pa so bili izračunani na dostopnih podatkih.

Za preučevanje povezanosti med značilnostmi vključenih oseb in genotipom HBV smo uporabili univariatno in večkratno logistično regresijo, test razmerja verjetij in Mann-Whitneyev U test.

Vsi statistični preiskusi so bili dvostranski. P-vrednosti nižje od 0,05 smo interpretirali kot statistično značilne. Statistično analizo smo naredili s programom R 3.1.1 in SPSS 23.0.

3.6 Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko

Raziskavo je dne 04. 05. 2015 odobrila Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko v skladu z upoštevanjem pravila dobre klinične prakse in vse zadevne zakonske predpise, ki veljajo v Republiki Sloveniji pod številko 66/04/15. V Prilogi 1 je sklep Komisije Republike Slovenije za medicinsko etiko.

4 REZULTATI

4.1 Značilnosti preiskovanih oseb

Iz podatkovne zbirke smo pridobili 1729 preiskovanih oseb iz vseh predelov države. Glavne značilnosti vključenih oseb so prikazane v Tabeli 9. Med njimi je bilo 1015 (58,7 %) moških. Povprečna starost ($\pm$ standardni odklon – SD) je bila 40,8 ($\pm$ 13,9) let. Med preiskovanimi osebami je bilo 52 otrok, starih 18 let ali manj, od tega 30 (57,7 %) dečkov. Pri 656 (58,5 %) osebah je bil dejavnik tveganja za okužbo s HBV neznan. Najpogostejši navajan dejavnik tveganja je bila "okužba s HBV v družini" ($n = 222$; 19,8 %). Večina preiskovanih oseb (85,5 %) je bila HBeAg-negativnih. Koncentracijo ALT nad 0,56 μ kat/L so imele 504 preiskovane osebe od 951 (53 %) z določeno ravno, nad 1,12 IU/ml ali več pa 250 (26,3 %) preiskovanih oseb. Biopsija jeter je bila narejena pri 137 od 393 preiskovanih oseb, pri katerih smo razpolagali s podatki. Od 104 le-teh jih je 70 (67,3 %) imelo stadij fibroze ≥ 2 po lestvici METAVIR.

Od 735 oseb z določenim virusnim bremenom DNK HBV jih je le-tega več kot polovica (54,8 %) imela pod 2.000 IU/ml, 261 (35,5 %) pa nad 20.000 IU/ml.

Genotip HBV je bil določen pri skupno 186 osebah, prevladujoč je bil genotip D ($n = 157$; 84,4 %).

Petindvajset bolnikov (1,4 %) je imelo cirozo, 14 bolnikov pa HCC (0,81 %). Dva bolnika s HCC sta umrla.

Sočasno je bilo s HCV okuženih 21 od 398 (5,4 %) preiskovanih oseb, s HIV pa 9 od 296 (3 %) preiskovanih oseb.

Zdravljenje CHB je prejelo 161 od 463 bolnikov, za katere smo imeli na voljo tovrstne klinične podatke. Od 154 zdravljenih bolnikov jih je IFN ali PegIFN kadarkoli tekom zdravljenja prejelo 85 (55,2 %). Prikazano število in delež bolnikov, ki so kdajkoli tekom zdravljenja prejeli IFN/PegIFN, je zato večji od 1.

V Prilogi 2 je predstavljen shematski prikaz vključenih oseb, glede na HBeAg, virusno breme, koncentracijo ALT in vrsto zdravljenja.

Tabela 9: Demografske, epidemiološke, klinične in virološke značilnosti preiskovanih oseb, kronično okuženih z virusom hepatitisa B (N = 1729).

Spremenljivka	n (%)
Spol (N = 1729)	
Ženski	714 (41,3)
Moški	1015 (58,7)
Povprečna starost (SD) (let) (N = 1728)	40,8 (13,9)
< 30	414 (24,0)
30-40	452 (26,2)
41-45	227 (13,1)
46-50	223 (12,9)
> 50	412 (23,8)
Narodnost (N = 1729)	
Slovenska	1662 (96,1)
Tuja	67 (3,9)
Dejavniki tveganja za okužbo (N = 1122)	
Neznano	656 (58,5)
Okužba s HBV v družini	222 (19,8)
Transfuzija krvi/krvnih pripravkov	90 (8)
Tvegano spolno vedenje	51 (4,5)
Zdravstveni delavec	38 (3,4)
IVUD	26 (2,3)
Hemodializa	18 (1,6)
Operativni poseg v preteklosti	18 (1,6)
Naključni vbod/ugriz	15 (1,3)
Tetovaža/prebadanje	13 (1,2)
MSM	10 (0,9)
Sobivanje v istem gospodinjstvu	10 (0,9)
Cepljenje v JLA	7 (0,6)
Biseksualni moški	2 (0,2)
Biseksualna ženska	2 (0,2)
Drugo	1 (0,1)
ALT (μkat/L) (N = 951)	
≤ 0,56	447 (47,0)
> 0,56	504 (53,0)
< 1,12	701 (73,7)
≥ 1,12	250 (26,3)
HBeAg (N = 1160)	
Negativen	992 (85,5)
Pozitiven	168 (14,5)
Genotip HBV (N = 186)	
A	23 (12,4)
AD	1 (0,5)
B	2 (1,1)
C	2 (1,1)
D	157 (84,4)
F	1 (0,5)
Virusno breme (IU/ml) (N = 735)	
< 2.000	403 (54,8)
2.000–20.000	71 (9,7)
> 20.000	261 (35,5)
Sočasna okužba	
HCV (N = 389)	
Ne	368 (94,6)
Da	21 (5,4)
HIV (N = 296)	
Ne	287 (97)
Da	9 (3)

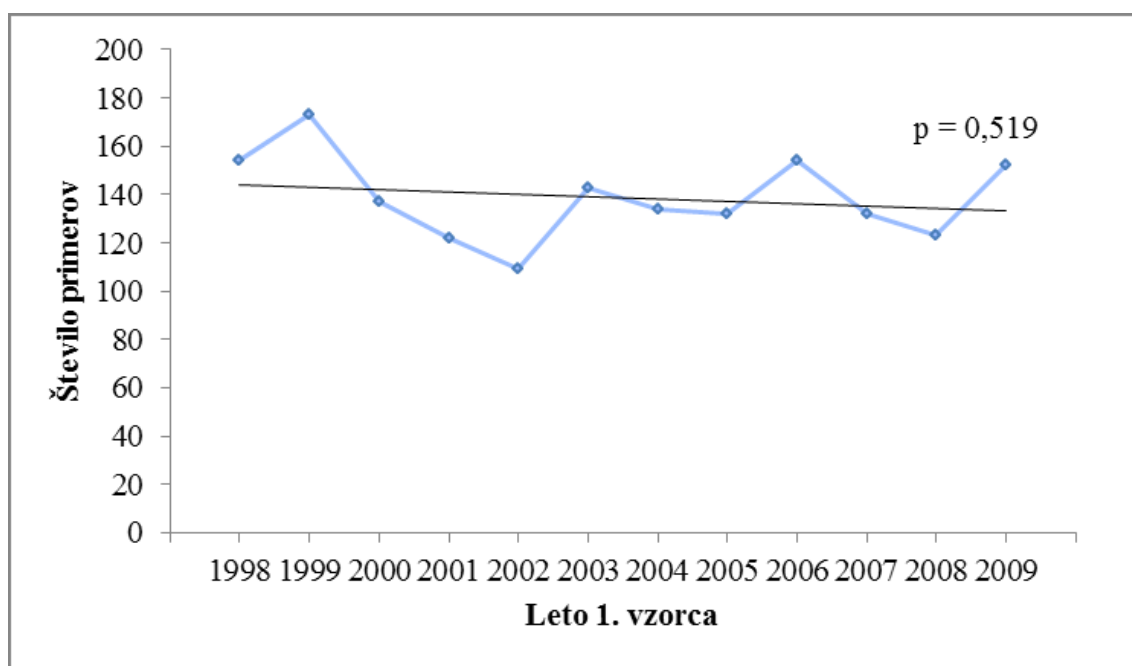
Biopsija jeter (N = 393)	
Ne	256 (65,1)
Da	137 (34,9)
Gradus NIS, mediana (razpon (N = 105))	
	5 (1–12)
Stadij fibroze (METAVIR) (N = 104)	
< 2	34 (32,7)
≥ 2	70 (67,3)
Zdravljenje hepatitisa B (N = 463)	
Ne	302 (65,2)
Da	161 (34,8)
Vrsta zdravljenja (N = 154)	
IFN/PegIFN	85 (55,2)
Lamivudin	87 (56,5)
Entekavir	30 (19,5)
Adefovir	7 (4,5)
Ribavirin	2 (1,3)
Lamivudin in edefovir	7 (4,5)
Lamivudin in entekavir	6 (3,9)
Entekavir in adefovir	1 (0,6)
Drugo	6 (3,9)
Regija (N = 1115)	
Celje	186 (16,7)
Ljubljana	750 (67,3)
Maribor	137 (12,3)
Murska Sobota	11 (1)
Novo Mesto	31 (2,8)

SD – standardni odklon, IVUD – intravenski uporabnik drog, MSM – moški, ki imajo spolne odnose z moškimi, HBV – virus hepatitisa B, ALT – alanin aminotransferaza, HCV – virus hepatitisa C, HIV – humani virus imunske pomanjkljivosti, IFN – standardni interferon alfa, PegIFN – pegiliran interferon alfa, JLA – Jugoslovanska ljudska armada, HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B, NIS – nekroinflamatorne spremembe, IU – *angl.* international units – mednarodne enote

4.2 Demografske značilnosti vključenih oseb po posameznih letih v preiskovanem obdobju

4.2.1 Gibanje števila preiskovanih oseb po posameznih letih v obdobju 1998–2009

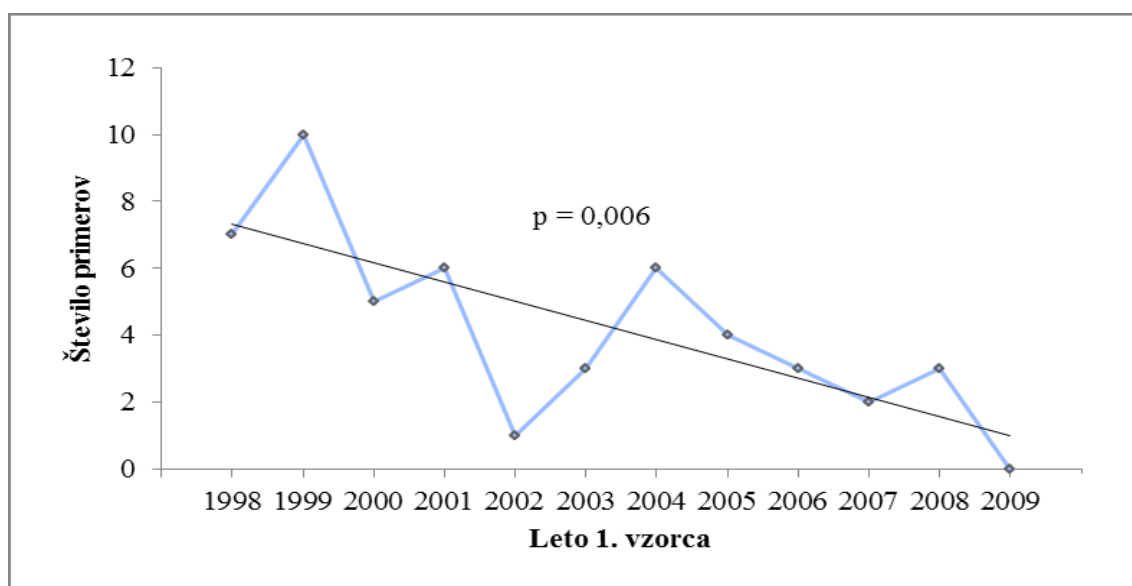
Gibanje števila preiskovanih oseb po posameznih letih v obdobju 1998–2009 je prikazano na Sliki 12. V gibanju števila preiskovanih oseb po posameznih letih v preučevanem obdobju ni prisotnega statistično značilnega linearnega trenda ($p = 0,519$). Iz analize in prikaza so bili zaradi izrazitega odstopanja izključeni podatki za leto 1997 in 2010.



Slika 12: Gibanje števila preiskovanih oseb po posameznih letih v obdobju 1998–2009.

4.2.2 Gibanje števila preiskovanih otrok po posameznih letih v obdobju 1998–2009

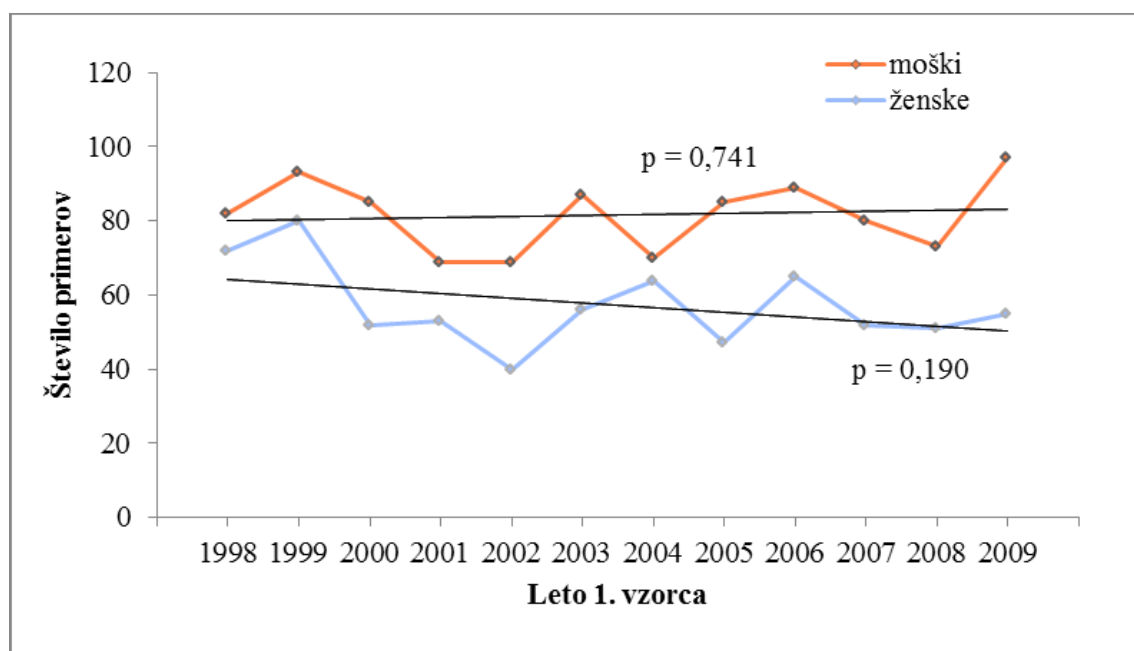
V gibanju števila preiskovanih otrok po posameznih letih v obdobju od leta 1998–2009 je prisoten statistično značilen negativni linearni trend ($p = 0,006$), kar prikazuje Slika 13. Iz analize in prikaza so bili zaradi izrazitega odstopanja izključeni podatki za leto 1997 in 2010.



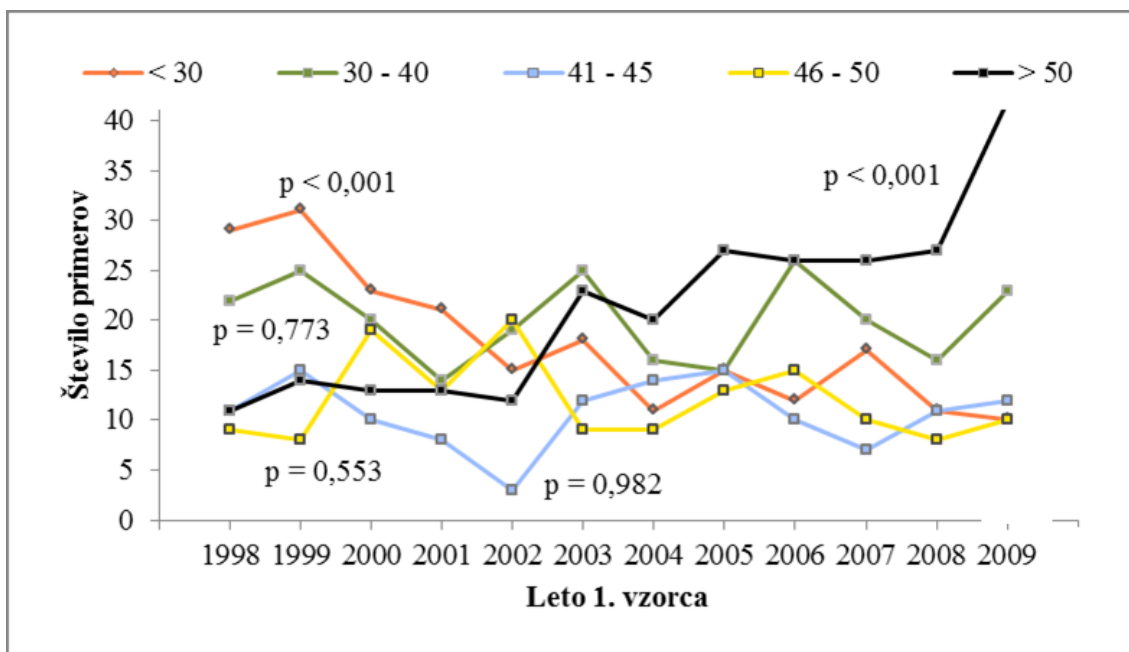
Slika 13: Gibanje števila preiskovanih otrok po posameznih letih v obdobju 1998–2009.

4.2.3 Gibanje števila preiskovanih oseb po posameznih letih v obdobju 1998–2009 glede na spol v povezavi s starostjo

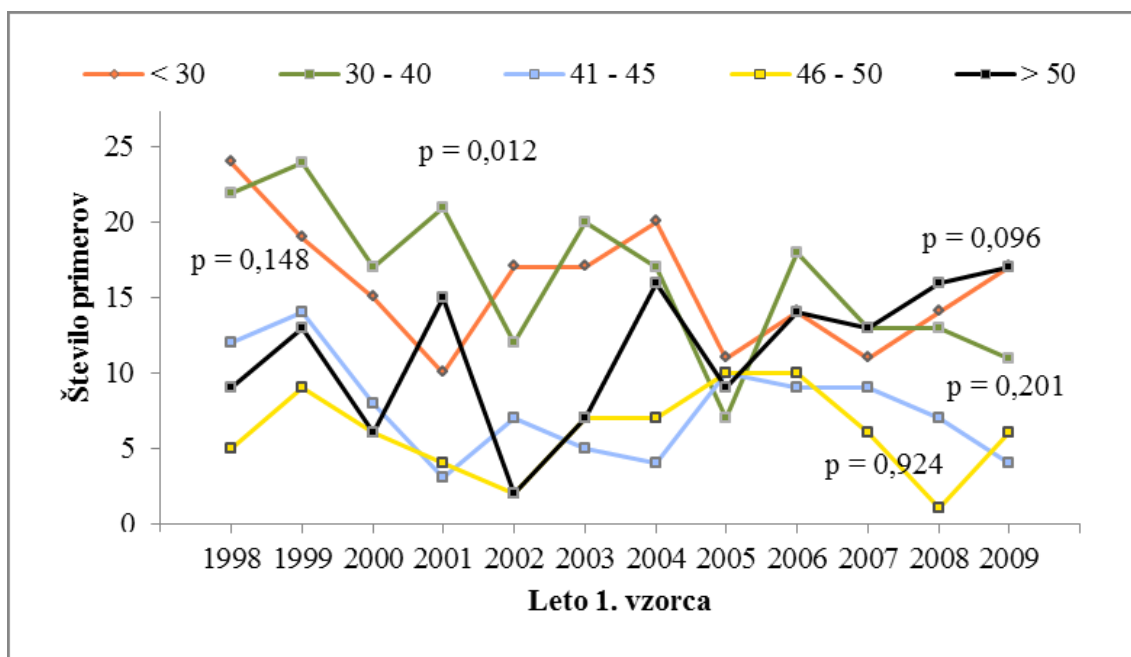
Gibanje števila preiskovanih oseb po posameznih letih v obdobju 1998–2009 glede na spol je prikazano na Sliki 14, glede na spol v povezavi s starostjo pa na Slikah 15 in 16. V gibanju števila preiskovanih oseb po posameznih letih v obdobju 1998–2009 pri moških in ženskah statistično značilen linearni trend ni bil prisoten ($p > 0,05$). Statistično značilen negativni linearni trend v gibanju števila preiskovanih moških v obdobju 1998–2009 je bil prisoten pri moških, mlajših od 30 let ($p < 0,001$), in pozitiven pri moških starejših od 50 let ($p < 0,001$). Statistično značilen negativni linearni trend v gibanju števila preiskovanih žensk v obdobju 1998–2009 je bil prisoten pri ženskah med 30 in 40 letom starosti ($p = 0,012$). Iz analize in prikaza so bili zaradi izrazitega odstopanja izključeni podatki za leto 1997 in 2010.



Slika 14: Gibanje števila preiskovanih oseb po posameznih letih glede na spol v obdobju 1998–2009.



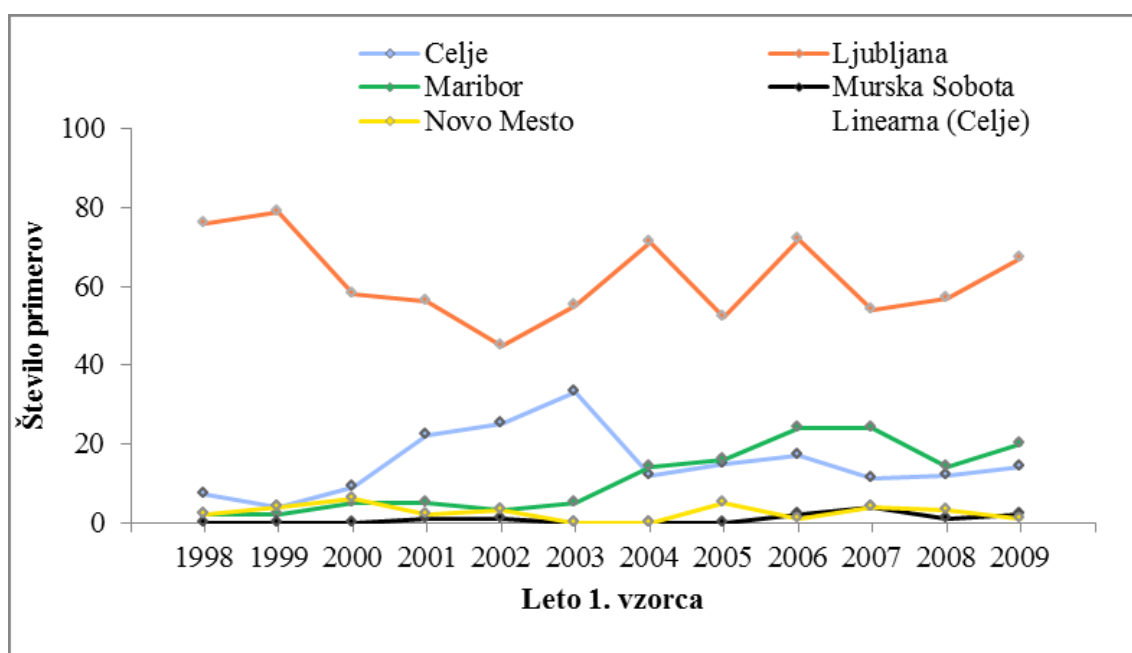
Slika 15: Gibanje števila preiskovanih moških po starostnih skupinah po posameznih letih v obdobju 1998–2009.



Slika 16: Gibanje števila preiskovanih žensk po starostnih skupinah po posameznih letih v obdobju 1998–2009.

4.2.4 Gibanje števila preiskovanih oseb po slovenskih bolnišnicah po posameznih letih v obdobju 1998–2009

Največ primerov kronično okuženih s HBV je bilo v preučevanem obdobju obravnavanih na KIBVS UKC Ljubljana in Splošni bolnišnici (SB) Celje. V SB Celje so beležili porast v obdobju 2000–2003, v Ljubljani pa v obdobju 2002–2004 ter v letu 2006. V UKC Maribor je število obravnavanih poraščalo po letu 2003. V SB Murska Sobota je bilo število vodenih oseb manjše od 5 oz. v obdobju 1997–2000 in 2004–2006 niso zabeležili na IMI od tam nobenega novega primera, kronično okuženega s HBV. V SB Novo mesto je bilo število vodenih primerov manjše od 10 na leto. V obdobju 2003–2004 niso odkrili nobene nove osebe, kronično okužene s HBV. Slika 17 ponazarja gibanje števila preiskovanih oseb v petih slovenskih bolnišnicah po posameznih letih v obdobju 1998–2009. Iz analize in prikaza so bili zaradi izrazitega odstopanja izključeni podatki za leto 1997 in 2010.



Slika 17: Gibanje števila preiskovanih oseb po posameznih letih v obdobju 1998–2009 v slovenskih bolnišnicah, kjer obravnavajo bolnike s hepatitisom B.

4.3 Dejavniki tveganja za kronično okužbo z virusom hepatitisa B

4.3.1 Starost in spol kronično okuženih oseb ter dejavniki tveganja

Tabela 10 prikazuje starostne skupine glede na dejavnike tveganja za okužbo in prisotnost statistično značilnih razlik med starostnimi skupinami. V vseh starostnih skupinah je bil

največji delež tistih z neznanim dejavnikom tveganja. Med osebami, starimi 30 let in več, je bil statistično značilno večji delež takih z neznanim dejavnikom tveganja glede na ostale starostne skupine ($p = 0,006$). Delež oseb z dejavnikom tveganja "okužba s HBV v družini" se je s starostjo statistično značilno zmanjševal ($p < 0,001$). "Transfuzija krvi ali krvnih pripravkov" je bil statistično značilno pogostejši dejavnik tveganja pri osebah, starejših od 50 let ($p < 0,001$), "IVUD" pa pri starih 40 let ali mlajših ($p = 0,017$). "Hemodializa" je bil statistično značilno pogostejši dejavnik tveganja pri osebah, starejših od 50 let ($p = 0,002$). "Cepljenje v Jugoslovanski ljudski armadi (JLA)" je bil statistično značilno pogost dejavnik tveganja pri osebah, starih 46 let in več ($p = 0,006$).

Tabela 10: Dejavniki tveganja za kronično okužbo z virusom hepatitisa B po starostnih skupinah preiskovanih oseb ($N = 1122$) (hi-kvadrat test ali test razmerja verjetij).

Dejavniki tveganja	STAROSTNI RAZRED (let)					p - vrednost
	< 30 (N = 296) (%)	30 - 40 (N = 288) (%)	41 - 45 (N = 158) (%)	46 - 50 (N = 138) (%)	> 50 (N = 242) (%)	
Neznano	49	61	63	59	63	0,006
Okužba s HBV v družini	33	20	17	17	9	<0,001
Transfuzija krvi/krvnih pripravkov	4	5	6	9	17	<0,001
Tvegano spolno vedenje	7	4	3	4	4	0,120
Zdravstveni delavec	1	4	3	7	3	0,061
IVUD	4	4	1	0	1	0,017
Hemodializa	0	1	2	1	4	0,002^a
Operativni poseg v preteklosti	1	2	2	0	3	0,079 ^a
Naključni vbod/ugriz	2	0	3	2	0	0,046^a
Tetovaža/prebadanje	2	1	0	2	1	0,163 ^a
Sobivanje v istem gospodinjstvu	1	2	1	1	0	0,192 ^a
MSM [†]	1	2	0	1	0	0,235 ^a
Cepljenje v JLA	0	0	0	1	2	0,006^a
Biseksualni moški [†]	0	1	0	0	0	0,264 ^a
Drugo	0	0	0	0	0	0,583 ^a

[†] p-vrednost izračunana le na skupini moških, a = test razmerja verjetij

HBV – virus hepatitisa B, IVUD – intravenski uporabnik drog, MSM – moški, ki imajo spolne odnose z moškimi, JLA – Jugoslovanska ljudska Armada

Povprečna starost (Me; $\pm$ SD; razpon) oseb s tetovažo/prebadanjem kot dejavnikom tveganja za okužbo je bila 38,5 (35; $\pm$ 14,3; 19–59) let, povprečna starost (Me; $\pm$ SD; razpon) ostalih pa je bila 40,1 let (40; $\pm$ 13,2; 2–81). Razlika v starosti ni bila statistično značilna ($p = 0,704$) (Mann-Whitneyev U test). Povprečna starost (Me; $\pm$ SD; razpon) oseb s transfuzijo krvi in krvnih pripravkov kot dejavnikom tveganja je bila 47,1 (49; $\pm$ 14,1; 6–80) let, povprečna

starost (Me; $\pm$ SD; razpon) ostalih pa je bila 39,5 (39; $\pm$ 13; 2–81). Razlika v starosti je bila statistično značilna ($p < 0,001$) (Mann-Whitneyev U test).

Tabela 11 prikazuje dejavnike tveganja za okužbo po spolu. Statistično značilno večji delež moških (3 %) kot žensk (1 %) je navedlo "IVUD" ($p = 0,010$). "Naključni vbod/ugriz" je bilo statistično značilno pogostejše navajano med ženskami (2 %) kot med moškimi (1 %) ($p = 0,008$). Dejavnik tveganja "zdravstveni delavec" je navajalo statistično značilno več žensk (8 %) kot moških (1 %) ($p < 0,001$). Glede ostalih dejavnikov tveganja za okužbo s HBV ni bilo najti statistično značilnih razlik med spoloma.

Tabela 11: Dejavniki tveganja za kronično okužbo z virusom hepatitisa B po spolu preiskovanih oseb ($N = 1122$) (hi-kvadrat test ali test razmerja verjetij)

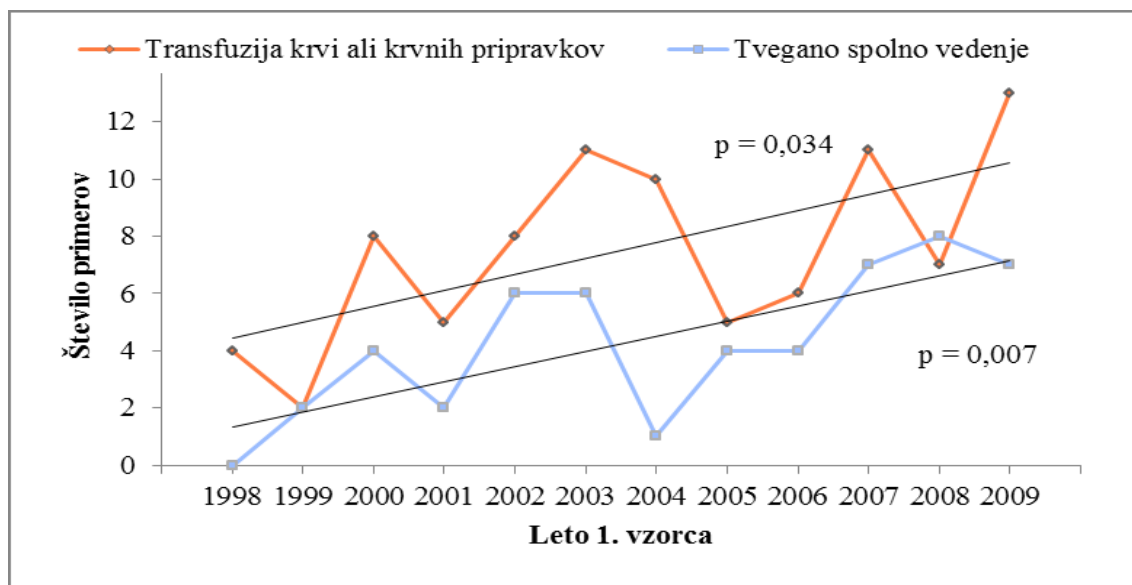
Dejavniki tveganja	SPOL		p - vrednost
	Moški (N = 674) (%)	Ženske (N = 448) (%)	
Neznano	59	57	0,463
Okužba s HBV v družini	18	22	0,152
Transfuzija krvi/krvnih pripravkov	8	8	0,834
Tvegano spolno vedenje	5	3	0,063
Zdravstveni delavec	0	8	<0,001
IVUD	3	1	0,01
Hemodializa	2	1	0,834
Operativni poseg v preteklosti	1	2	0,693
Naključni vbod/ugriz	1	2	0,008
Tetovaža/prebadanje	1	1	0,498
Sobivanje v istem gospodinjstvu	1	1	0,996 ^a
MSM	1	0	
Cepljenje v JLA	1	0	
Biseksualnost	0	0	0,683 ^a
Drugo	0	0	0,313 ^a

a = test razmerja verjetij, HBV – virus hepatitisa B, IVUD – intravenski uporabnik drog, MSM – moški, ki imajo spolne odnose z moškimi, JLA – Jugoslovanska ljudska armada

4.3.2 Gibanje najpogostejših dejavnikov tveganja za kronično okužbo z virusom hepatitisa B po posameznih letih v preiskovanem obdobju

Ugotavljali smo časovne trende najpogostejših dejavnikov tveganja pri preiskovanih osebah, in sicer: "neznano", "okužba s HBV v družini", "transfuzija krvi ali krvnih pripravkov", "zdravstveni delavec", "IVUD" ter "tvegano spolno vedenje". Pri navajanju določenih

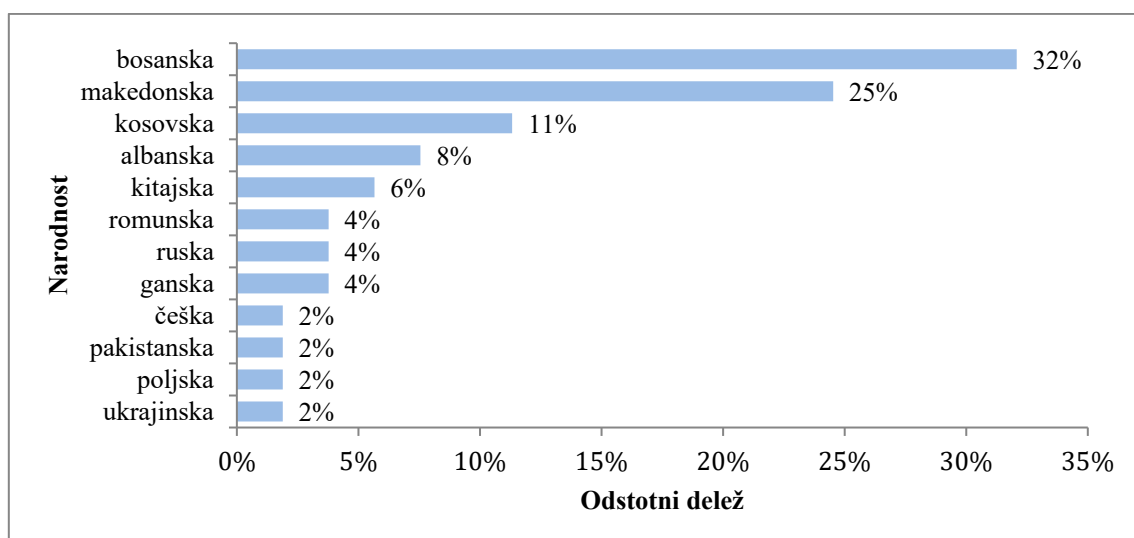
dejavnikov tveganja ("okužba s HBV v družini", "neznano", "IVUD" in "zdravstveni delavec"), v obdobju 1998–2009 po posameznih letih ni bilo zaznati statistično značilnega linearnega trenda. Pri navajanju dejavnikov tveganja "transfuzija krvi ali krvnih pripravkov" in "tvegano spolno vedenje", je bil v obdobju 1998–2009 po posameznih letih prisoten statistično značilen pozitiven linearni trend ($p = 0,034$ in $p = 0,007$) (Slika 18). Iz analize in prikaza so bili zaradi izrazitega odstopanja izključeni podatki za leto 1997 in 2010.



Slika 18: Gibanje navajanja dejavnikov tveganja "transfuzija krvi ali krvnih pripravkov" in "tvegano spolno vedenje" po posameznih letih v obdobju 1998–2009.

4.3.3 Narodnost preiskovanih oseb in dejavniki tveganja

Med preiskovanimi osebami je bilo 67 tujcev, od tega 37 (55,2 %) moških in 30 (44,8 %) žensk. Med tujci s kronično okužbo s HBV z znanim podatkom o narodnosti ($n = 53$) jih je bilo največ bosanske narodnosti (32 %), sledili so Makedonci (25 %) in državljani Kosova (11 %) (Slika 19).



Slika 19: V raziskavo vključeni tujci s kronično okužbo z virusom hepatitisa B po narodnosti (n = 53).

V Tabeli 12 so prikazani dejavniki tveganja za okužbo s HBV glede na narodnost preiskovanih oseb. Slovenski in tuji državljani se v pogostnosti prisotnosti dejavnikov tveganja med seboj statistično značilno niso razlikovali.

Tabela 12: Dejavniki tveganja za kronično okužbo z virusom hepatitisa B glede na narodnost preiskovanih oseb (N = 1122) (hi-kvadrat test ali test razmerja verjetij).

Dejavniki tveganja za okužbo	NARODNOST		p - vrednost
	Slovenska (N = 1061) %	Tuja (N = 61) %	
Neznano	59	54	0,476
Okužba s HBV v družini	20	21	0,758
Transfuzija krvi/krvnih pripravkov	8	11	0,333 ^a
Tvegano spolno vedenje	4	7	0,464 ^a
Zdravstveni delavec	3	2	0,392 ^a
IVUD	2	3	0,627 ^a
Hemodializa	2	3	0,343 ^a
Operativni poseg v preteklosti	2	0	0,154 ^a
Naključni vbod/ugriz	1	0	0,194 ^a
Tetovaža/prebadanje	1	3	0,187 ^a
MSM [†]	1	0	0,300 ^a
Sobivanje v istem gospodinjstvu	1	0	0,289 ^a
Cepljenje v JLA	1	0	0,376 ^a
Biseksualni moški [†]	0	0	0,300 ^a

[†] P-vrednost izračunana le na skupini moških, a = test razmerja verjetij

HBV – virus hepatitisa B, IVUD – intravenski uporabnik drog, MSM – moški, ki imajo spolne odnose z moškimi, JLA – Jugoslovanska ljudska armada

4.4 Prisotnost ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B pri preiskovanih osebah

4.4.1 Demografske, epidemiološke, klinične in virološke značilnosti preiskovanih oseb in prisotnost ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B preiskovanih oseb

Tabela 13 in Slika 20 prikazujeta povezanost demografskih, epidemioloških, kliničnih in viroloških značilnosti preiskovanih oseb in prisotnosti ali odsotnosti HBeAg. Univariatna logistična regresija je pokazala, da je bila s prisotnostjo ali odsotnostjo HBeAg statistično značilno povezana starost preiskovanih oseb. Z vsakim nadaljnjim letom starosti so bili obeti za prisotnost HBeAg nižji ($p < 0,001$). Med HBeAg-pozitivnimi preiskovanimi osebami je bilo statistično značilno več moških (69 %) kot med HBeAg-negativnimi (56,7 %) ($p = 0,003$). Dejavniki tveganja "MSM" in "biseksualni moški", "tvegano spolno vedenje", "okužba s HBV v družini" ali "sobivanje v istem gospodinjstvu", "naključni vbod/ugriz" ter "neznano" so bili statistično značilno pogostejši pri HBeAg-pozitivnih osebah ($p = 0,004$, $p < 0,001$, $p = 0,039$, $p = 0,0042$ in $p = 0,008$). Pri ostalih dejavnikih tveganja nismo ugotovili statistično značilne povezave s prisotnostjo ali odsotnostjo HBeAg.

Preiskovane osebe s koncentracijo ALT nad 0,56 $\mu\text{kat/L}$ oz. 1,12 $\mu\text{kat/L}$ ali več so bile statistično značilno pogostejše HBeAg-pozitivne ($p < 0,001$). HBeAg-pozitivne preiskovane osebe so imele statistično značilno pogostejše opravljeno biopsijo jeter kot HBeAg-negativne ($p = 0,008$). Nezdravljene osebe so bile statistično značilno manj pogosto HBeAg-pozitivne ($p = 0,003$) kot zdravljene. Preiskovane osebe z virusnim bremenom nad 20.000 IU/ml so bile v primerjavi s tistimi z virusnim bremenom pod 2.000 IU/ml statistično značilno večkrat HBeAg-pozitivne.

V večkratni regresijski model je bilo zaradi manjkajočih vrednosti v vsaj eni neodvisni spremenljivki vključenih 260 preiskovanih oseb. Ob kontroli ostalih neodvisnih spremenljivk v modelu so bili obeti za prisotnost HBeAg nižji v starostnih skupinah 30–40 let in 46 let in več v primerjavi z mlajšimi od 30 let ($p = 0,028$ in $p = 0,006$ oz. $p = 0,004$). V primerjavi s HBeAg-negativnimi preiskovanimi osebami so imele HBeAg-pozitivne preiskovane osebe statistično značilno pogostejše koncentracijo ALT višjo od 0,56 $\mu\text{kat/L}$ ($p = 0,048$). Preiskovane osebe, zdravljene z NUC, so bile statistično značilno pogostejše HBeAg-pozitivne v primerjavi s tistimi, ki so prejemale IFN/PegIFN ($p = 0,026$). Preiskovane osebe z virusnim

bremenom nad 20.000 IU/ml so bile v primerjavi z osebami z virusnim bremenom pod 2.000 IU/ml statistično značilno večkrat HBeAg-pozitivne.

Tabela 13: Demografske, epidemiološke, klinične in virološke značilnosti preiskovanih oseb v povezavi s prisotnostjo ali odsotnostjo e antigena virusa hepatitisa B (N=1160) (univariatna in večkratna logistična regresija).

Spremenljivka	HBeAg		Univariatna logistična regresija		Večkratna logistična regresija	
	Negativni (N = 992) n (%)	Pozitivni (N = 168) n (%)	RO (95 % IZ)	p - vrednost	RO (95 % IZ)	p - vrednost
Spol (N = 1160)						
Ženski	430 (43,3)	52 (31)	1			
Moški	562 (56,7)	116 (69)	1,71 (1,20; 2,42)	0,003	1,6 (0,65 ;3,89)	0,304
Povprečna starost (SD) (let) (N = 1156)						
< 30	219 (22,1)	77 (45,8)	1		1	
30-40	275 (27,7)	33 (19,6)	0,34 (0,22; 0,53)	< 0,001	0,3 (0,1 ;0,88)	0,028
41-45	141 (14,2)	15 (8,9)	0,30 (0,17; 0,55)	< 0,001	0,41 (0,12 ;1,38)	0,150
46-50	139 (14)	15 (8,9)	0,31 (0,17; 0,56)	< 0,001	0,14 (0,03 ;0,56)	0,006
> 50	217 (21,9)	28 (16,7)	0,37 (0,23; 0,59)	< 0,001	0,17 (0,05 ;0,56)	0,004
Dejavniki tveganja za okužbo (N = 831)						
Neznano	715 (86)	116 (14)				
Neznano	415 (58)	52 (44,8)	0,59 (0,4; 0,87)	0,008	1,06 (0,18 ;6,04)	0,951
Okužba s HBV v družini/ sobivanje v istem gospodinjstvu	149 (20,8)	34 (29,3)	1,58 (1,02; 2,44)	0,042	1,83 (0,35 ;9,46)	0,473
Transfuzija krvi/krvnih pripravkov	57 (8)	9 (7,8)	0,97 (0,47; 2,02)	0,937	1,56 (0,23 ;10,76)	0,652
Tvegano spolno vedenje	31 (4,3)	15 (12,9)	3,28 (1,71; 6,28)	< 0,001	2,41 (0,43 ;13,64)	0,318
Zdravstveni delavec	29 (4,1)	1 (0,9)	0,21 (0,03; 1,52)	0,087	2,13 (0,13 ;35,41)	0,599
IVUD	15 (2,1)	5 (4,3)	2,1 (0,75; 5,9)	0,149	2,21 (0,21 ;22,83)	0,507
Hemodializa	12 (1,7)	3 (2,6)	1,56 (0,43; 5,6)	0,496	0,73 (0,08 ;6,85)	0,785
Operativni poseg v preteklosti	11 (1,5)	1 (0,9)	0,56 (0,07; 4,35)	0,571		
Naključni vbod/ugriz	14 (2)	0 (0)		0,039⁺		
Tetovaža/prebadanje	6 (0,8)	2 (1,7)	2,07 (0,41; 10,4)	0,365	2,28 (0,15 ;35,78)	0,557
MSM/biseksualni moški	5 (0,7)	5 (4,3)	6,4 (1,82; 22,45)	0,004	12,79(0,48;340,23)	0,128
Cepljenje v JLA	2 (0,3)	1 (0,9)	3,1 (0,28; 34,46)	0,332		
Drugo	1 (0,1)	0 (0)		0,583 ⁺		
ALT (μkat/L) (N = 698)						
≤ 0,56	315 (52,9)	14 (13,7)	1			
> 0,56	281 (47,1)	88 (86,3)	7,05 (3,92; 12,67)	< 0,001	2,83 (1,01 ;7,91)	0,048
< 1,12	473 (79,4)	38 (37,3)	1			
≥ 1,12	123 (20,6)	64 (62,7)	6,48 (4,14;10,13)	< 0,001		
Virusno breme (IU/ml) (N = 544)						
< 2.000	274 (59,7)	11 (12,9)	1			
2.000–20.000	58 (12,6)	4 (4,7)	1,72 (0,53; 5,58)	0,363	2,02 (0,41 ;9,87)	0,387
> 20.000	127 (27,7)	70 (82,4)	13,73 (7,03; 26,82)	< 0,001	9,51 (3,44 ;26,35)	< 0,001

Sočasna okužba

HCV (N = 330)

Ne	260 (95,6)	55 (94,8)	1		
Da	12 (4,4)	3 (5,2)	1,18 (0,32; 4,33)	0,801	

HIV (N = 250)

Ne	197 (96,6)	44 (95,7)	1		
Da	7 (3,4)	2 (4,3)	1,28 (0,26; 6,37)	0,763	

Biopsija jeter (N = 329)

Ne	192 (71,6)	33 (54,1)	1		
Da	76 (28,4)	28 (45,9)	2,14 (1,21; 3,79)	0,008	

Gradus NIS, mediana (razpon) (N = 73)

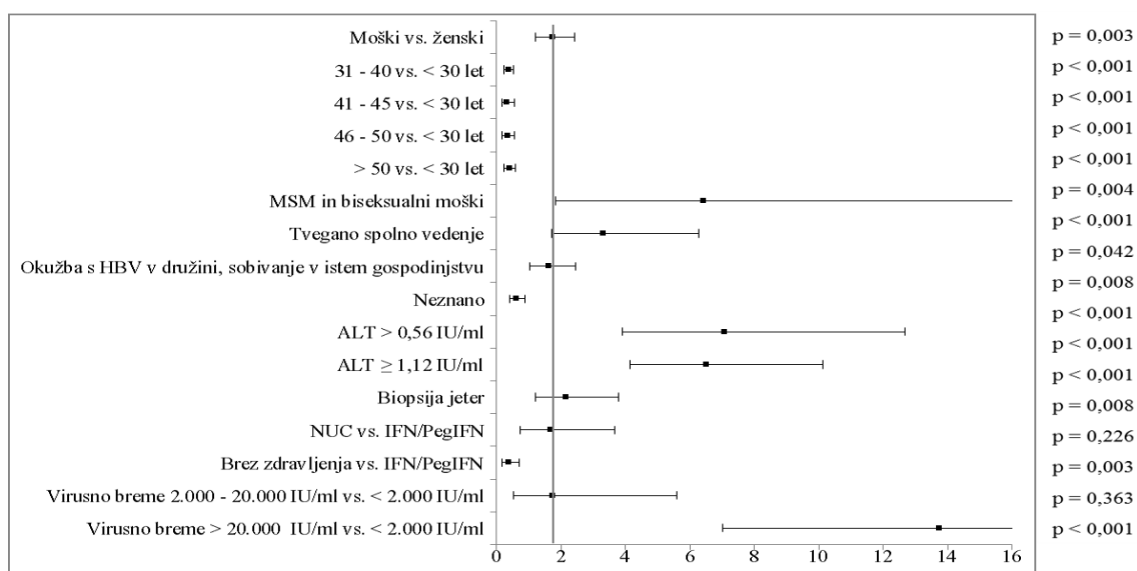
	5 (2 - 11)	5 (2 - 12)	0,91 (0,73; 1,13)	0,39	
< 2	15 (29,4)	10 (45,5)	1		
≥ 2	36 (70,6)	12 (54,5)	0,5 (0,18; 1,4)	0,185	

Zdravljenje hepatitisa B (N = 369)

IFN/PegIFN*	41 (13,5)	15 (23,1)	1			
NUC	35 (11,5)	21 (32,3)	1,64 (0,74; 3,66)	0,226	3,62 (1,17 ;11,18)	0,026
Ne	228 (75)	29 (44,6)	0,35 (0,17; 0,7)	0,003	1,42 (0,51 ;3,99)	0,505

⁺ Test razmerja verjetij,

SD – standardni odklon, IVUD – intravenski uporabnik drog, MSM – moški, ki imajo spolne odnose z moškimi, HBV – virus hepatitisa B, ALT – alanin aminotransferaza, HCV – virus hepatitisa C, IZ – interval zaupanja, HIV – humani virus imunske pomanjkljivosti, IFN – standardni interferon alfa, PegIFN – pegilirani interferon alfa, JLA – Jugoslovanska ljudska armada, NUC – nukleoz(t)idnimi analogi, HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B, NIS – nekroinflammatory spremembe, IU – *angl.* international units – mednarodne enote, RO – razmerje obetov



IVUD – intravenski uporabnik drog, MSM – moški, ki imajo spolne odnose z moškimi, HBV – virus hepatitisa B, ALT – alanin aminotransferaza, IFN – standardni interferon alfa, IFN – standardni interferon alfa, PegIFN – pegilirani interferon alfa, NUC – nukleoz(t)idnimi analogi, p – p vrednost, HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B, IU – *angl.* international units – mednarodne enote

Slika 20: Povezanost med demografskimi, epidemiološkimi, kliničnimi in virološkimi značilnostmi preiskovanih oseb in prisotnostjo e antigena virusa hepatitisa B (razmerja obetov s 95 % intervalom zaupanja) (univariatna logistična regresija).

Mediana starost (razpon) HBeAg-negativnih moških ($n = 562$) je bila 42 (6–80) let, HBeAg-pozitivnih pa ($n = 116$) pa 34,5 (0–80) let. Mann-Whitneyev U test je pokazal, da je razlika v starosti statistično značilna ($p < 0,001$).

Mediana starost (razpon) moških z dejavnikom tveganja "MSM", ki so bili HBeAg-negativni ($n = 4$) je bila 40,5 (34–47) let in HBeAg-pozitivni ($n = 4$) 30,5 (26–35) let. Razlika ni bila statistično značilna ($p = 0,08$).

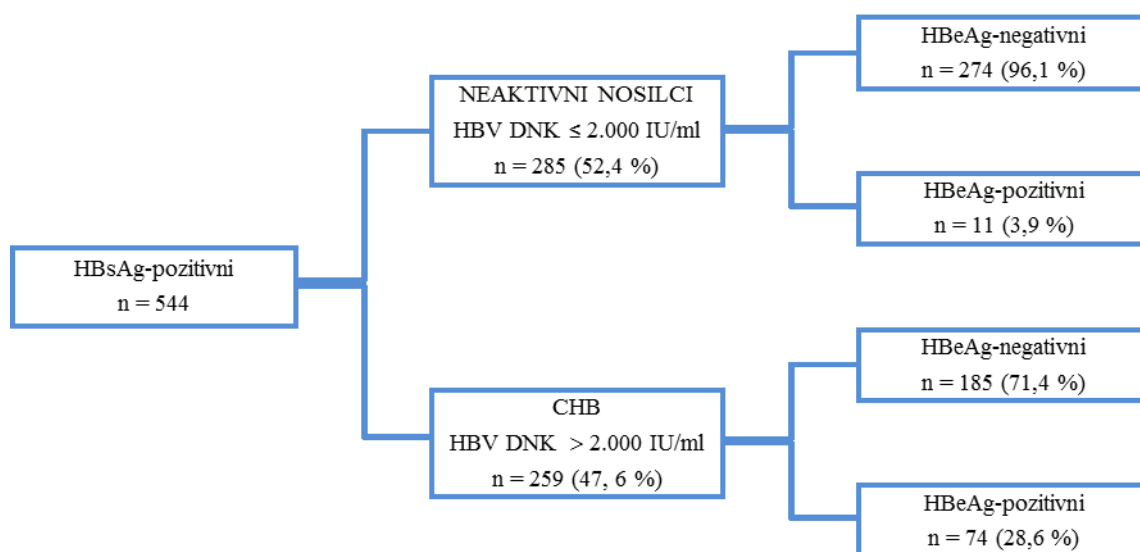
Statistično značilno več oseb s tveganim spolnim vedenjem je bilo HBeAg-pozitivnih kot HBeAg-negativnih. Mediana starost (razpon) HBeAg-negativnih ($n = 31$) je bila 36 (22–60) let in HBeAg-pozitivnih ($n = 15$) 29 (18–55) let. Razlika je bila mejno statistično značilna ($p = 0,062$). Osebe s tveganim spolnim vedenjem se glede na prisotnost ali odsotnost HBeAg niso razlikovale po spolu in genotipu HBV ($p = 0,274$ in $p = 0,504$), kar prikazuje Tabela 14.

Tabela 14: Prisotnost ali odsotnost HBeAg pri preiskovanih osebah z dejavnikom tveganja "tvegano spolno vedenje" glede na spol in genotip virusa hepatitisa B ($N = 46$) (test razmerja verjetij).

Spremenljivka	HBeAg-negativni n (%)	HBeAg-pozitivni n (%)	p - vrednost
Spol ($N = 46$)	31 (67,4)	15 (32,6)	
Moški ($n = 32$)	20 (64,5)	12 (80)	0,274
Ženske ($n = 14$)	11 (35,5)	3 (20)	
Genotip HBV ($N = 10$)	7 (70)	3 (30)	
A ($n = 2$)	1 (50)	1 (50)	0,504
D ($n = 8$)	6 (75)	2 (25)	

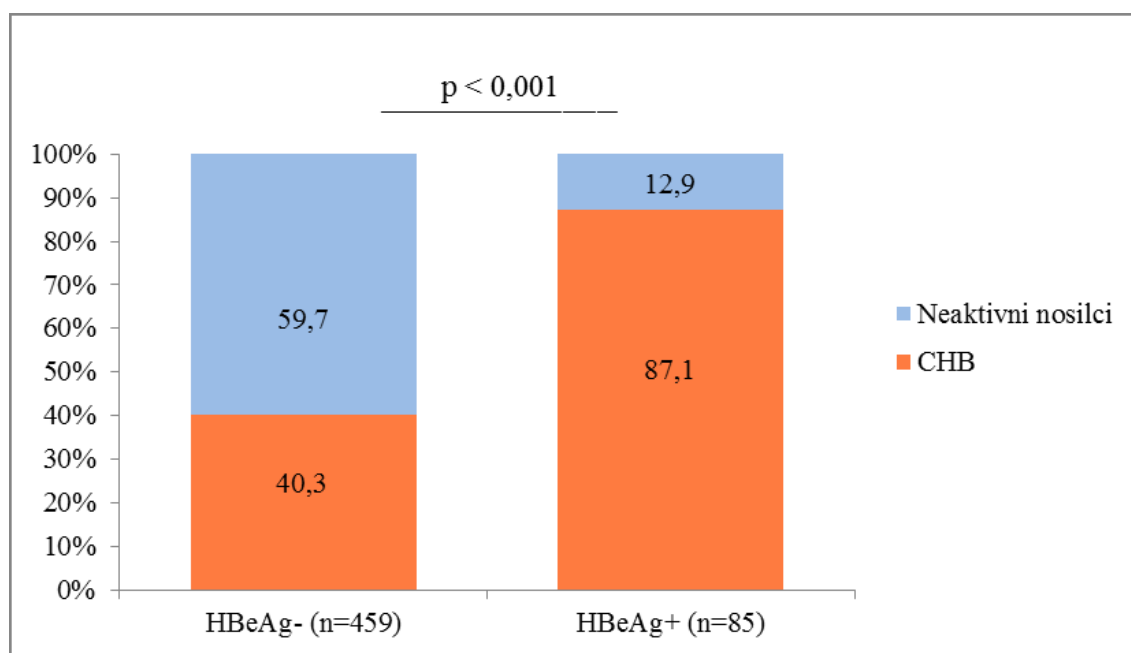
HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B, HBV – virus hepatitisa B

Pri 544 preiskovanih osebah smo imeli hkrati na voljo podatke o prisotnosti ali odsotnosti HBeAg in virusnem bremenu, zato smo jih lahko razdelili v dve skupini: skupino neaktivnih nosilcev ($\text{DNK HBV} \leq 2.000 \text{ IU/mL}$) ter skupino s CHB ($\text{DNK HBV} > 2.000 \text{ IU/mL}$) (razvrstitev po AASLD iz leta 2007) (66), kar je predstavljeno na Sliki 21. Neaktivnih nosilcev HBsAg je bilo 285 oseb (52,4 %), 259 (47,6 %) pa jih je imelo CHB. Statistično značilno več HBeAg-pozitivnih oseb je imelo CHB, kot je bilo med njimi neaktivnih nosilcev HBsAg ($p < 0,001$) (Slika 22).



HBsAg – plaščni antigen virusa hepatitisa B, CHB – kronični hepatitis B, HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B, IU – *angl.* international units – mednarodne enote, HBV – virus hepatitisa B, DNK – deoksiribonukleinska kislina

Slika 21: Razdelitev oseb glede na virusno breme v skupinah neaktivnih nosilcev plaščnega antigena virusa hepatitisa B in bolnikov s kroničnim hepatitisom B glede na priporočila Ameriškega združenja za raziskave bolezni jeter iz leta 2007 (66).

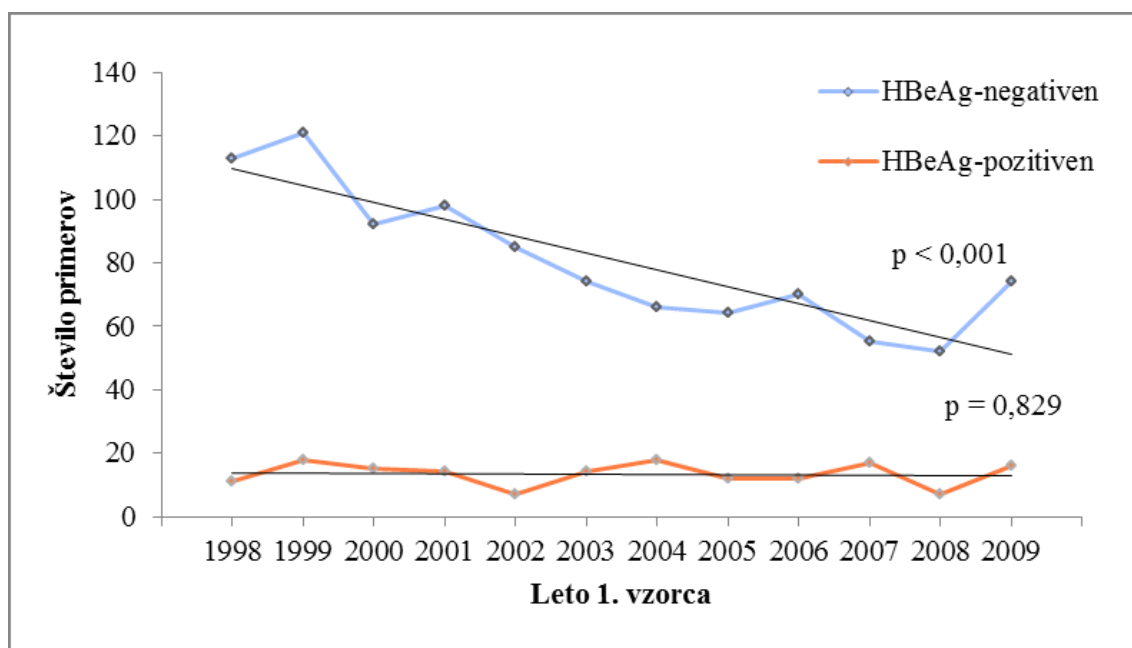


CHB – kronični hepatitis B, HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B

Slika 22: Primerjava neaktivnih nosilcev plaščnega antigena virusa hepatitisa B in bolnikov s kroničnim hepatitisom B glede na prisotnost ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B.

4.4.2 Gibanje števila preiskovanih oseb po posameznih letih v obdobju 1998–2009 glede na prisotnost ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B

Gibanje števila vključenih HBeAg-negativnih preiskovanih oseb po posameznih letih v preučevanem obdobju je pokazalo statistično značilen negativen linearen trend ($p < 0,001$) (Slika 23), gibanje števila vključenih HBeAg-pozitivnih preiskovanih oseb pa ni bil statistično značilen ($p > 0,05$). Iz analize in prikaza so bili zaradi izrazitega odstopanja izključeni podatki za leto 1997 in 2010.



HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B

Slika 23: Gibanje števila preiskovanih oseb po posameznih letih glede na prisotnost ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B v obdobju 1998–2009.

4.4.3 Demografske, epidemiološke, klinične in virološke značilnosti preiskovanih otrok in prisotnosti ali odsotnosti e antigena virusa hepatitisa B

Tabela 15 povzema značilnosti preiskovanih otrok starih 18 let ali manj. Med 52 otroki je bilo 22 (42,3 %) deklic. Povprečna starost ($\pm$ SD) je bila 13,3 ($\pm$ 5,5) let, razpon 0–18 let. Sedemnajst od 40 otrok z ustreznim podatkom (42,5 %) je bilo HBeAg-pozitivnih. Najpogostejši dejavnik tveganja za okužbo je bil "okužba s HBV v družini" (24; 68,8 %). Koncentracijo ALT nad 0,56 μ kat/L je imelo 15 od 29 (51,7 %) otrok, koncentracijo 1,12 μ kat/L ali več pa 9 (31 %) otrok.

Tabela 15: Demografske, epidemiološke, klinične in virološke značilnosti preiskovanih otrok (N = 52).

Spremenljivka	N = 52 n (%)
Spol (N = 52)	
Ženski	22 (42,3)
Moški	30 (57,7)
Povprečna starost (SD; razpon) (let) (N = 52)	13,3 (5,5; 0 -18)
Dejavniki tveganja za okužbo (N = 35)	
Neznano	8 (22,9)
Okužba s HBV v družini	24 (68,8)
Transfuzija krvi/krvnih pripravkov	1 (2,9)
Tvegano spolno vedenje	1 (2,9)
Operativni poseg v preteklosti	1 (2,9)
ALT (N = 29) (μkat/L)	
≤ 0,56	14 (48,3)
> 0,56	15 (51,7)
< 1,12	20 (69)
≥ 1,12	9 (31)
HBeAg (N = 40)	
Negativen	23 (57,5)
Pozitiven	17 (42,5)
Virusno breme (IU/ml) (N = 24)	
< 2.000	9 (37,5)
2.000–20.000	0 (0)
> 20.000	15 (62,5)

HBV – virus hepatitisa B, ALT – alanin aminotransferaza, SD – standardni odklon, IU – *angl.* international units – mednarodne enote

Test razmerja verjetij je pokazal statistično značilno povezanost med prisotnostjo HBeAg in virusnim bremenom nad 20.000 IU/ml ($p = 0,001$). Tabela 16 prikazuje povezanost med demografskimi, epidemiološkimi, kliničnimi in virološkimi lastnostmi preiskovanih otrok in prisotnostjo ali odsotnostjo HBeAg.

Tabela 16: Demografske, epidemiološke, klinične in virološke značilnosti kronično preiskovanih otrok v povezavi s prisotnostjo ali odsotnostjo e antigena virusa hepatitisa B (N=40).

Spremenljivka	HBeAg-negativni n (%)	HBeAg-pozitivni n (%)	p - vrednost
Spol (N = 40)	23 (57,5)	17 (42,5)	
Ženski	9 (39,1)	8 (47,1)	0,616 ^a
Moški	14 (60,9)	9 (52,9)	
Mediana starost (razpon) (let) (N = 40)	14 (0 -18)	17 (0 -18)	0,334 ^c
Dejavniki tveganja (N = 28)	17 (60,7)	11 (39,3)	
Neznano	4 (23,5)	3 (27,3)	0,824 ^b
Okužba s HBV v družini	12 (70,6)	6 (54,5)	0,389 ^b
Transfuzija krvi/krvnih pripravkov	1 (5,9)	0 (0)	0,312 ^b
Tvegano spolno vedenje	0 (0)	1 (9,1)	0,165 ^b
Operativni poseg v preteklosti	0 (0)	1 (9,1)	0,165 ^b
ALT (μkat/L) (N = 22)			
≤ 0,56	10 (66,7)	2 (28,6)	0,092 ^b
> 0,56	5 (33,3)	5 (71,4)	
< 1,12	13 (86,7)	4 (57,1)	0,134 ^b
≥ 1,12	2 (13,3)	3 (42,9)	
Virusno breme (IU/ml) (N = 20)			
< 2.000	8 (66,7)	0 (0)	0,001 ^b
2.000–20.000	0 (0)	0 (0)	
> 20.000	4 (33,3)	8 (100)	

a = hi-kvadrat test; b = test razmerja verjetij; c = Mann-Whiteyev U test

HBV – virus hepatitisa B, ALT – alanin aminotransferaza, HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B, IU – *angl.* international units – mednarodne enote

Od 52 preiskovanih otrok jih je bilo 47 slovenskega porekla. Prvi v raziskavo vključeni otrok slovenskega porekla v podatkovni zbirki je bil rojen leta 1979. Rojenih po letu 1994 je bilo v naši raziskavi 11/52 (21,1 %) otrok, 39 slovenskih otrok in dva tuja, pred letom 1994 pa 41/52 (78,8 %) otrok, osem slovenskih in trije tuji. Razlika v deležu v raziskavi vključenih otrok slovenskega porekla, rojenih pred letom 1994 in po njem, je bila statistično značilna ($p = 0,039$).

4.5 Genotipi virusa hepatitisa B pri preiskovanih osebah

4.5.1 Značilnosti preiskovanih oseb, ki jim je bil določen genotip

Genotip HBV je bil določen pri 186 preiskovanih osebah. Za 127 oseb iz podatkovne zbirke je bil genotip HBV že predhodno določen. Za namen boljše statistične obravnave smo ta vzorec povečali s testiranjem dodatnih, naključno izbranih preiskovanih oseb (opisano v

3.3.3.1) in testirali dodatnih 90 vzorcev. Pri 59 izmed 90 izbranih preiskovanih oseb je določitev genotipa HBV uspela. Pri 31 osebah določitev genotipa HBV ni uspela zaradi sledečih razlogov: pri 24 zaradi nezaznavne HBV DNA oz. virusnega bremena <100 IU/mL ter pri 7 zaradi nezadostne količine seruma.

V celotnem vzorcu ($N = 186$) je bilo 121 (65,1 %) moških in 65 (34,9 %) žensk. Povprečna ($\pm$ SD) starost je bila 40,1 ($\pm 14,4$) let. Demografske, epidemiološke, klinične in virološke značilnosti preiskovanih oseb so predstavljene v Tabeli 17.

Po narodnosti je bilo 173 Slovencev in 13 tujcev (7 Bosancev, dva Romuna, dva Albanca, en Bolgar in en Kitajec). Med Slovenci jih je bilo z genotipom D okuženih 146 (84,4 %), tujcev pa 11 (84,6 %). En tujec azijskega porekla je bil okužen z genotipom B (7,4 %), drugi, bosanskega porekla, pa z mešanim genotipom AD (7,4 %).

V vzorcu je bilo osem otrok, mlajših od 18 let, 6 dečkov in 2 deklici. Povprečna starost ($\pm$ SD) je bila 14,1 ($\pm 5,1$) let, razpon 5–18 let. Sedem jih je imelo okužbo z genotipom D, en otrok kitajskega porekla pa z genotipom B. Pri vseh je bilo virusno breme višje od 20.000 IU/mL. Pri šestih otrocih smo imeli na voljo podatek o HBeAg; pri vseh je bil prisoten.

Tabela 17: Demografske, epidemiološke, klinične in virološke značilnosti preiskovanih oseb z določenim genotipom virusa hepatitisa B (N = 186).

Spremenljivka	N = 186 n (%)
Spol (N = 186)	
Moški	121 (65,1)
Ženske	65 (34,9)
Povprečna starost (SD) (let)	40,1 (14,4)
Dejavniki tveganja za okužbo (N = 155)	
Neznan	78 (50,3)
Kri	65 (41,9)
Kri in spolni	5 (3,2)
Spolni	7 (4,5)
Dejavniki tveganja za okužbo (N = 155)	
Neznano	78 (50,3)
Okužba s HBV v družini	50 (32,5)
Transfuzija krvi/krvnih pripravkov	10 (6,4)
Tvegano spolno vedenje	10 (6,4)
Zdravstveni delavec	5 (3,2)
Hemodializa	4 (2,6)
Tetovaža/prebadanje	3 (1,9)
Naključni vbod/ugriz	2 (1,3)
IVUD	1 (0,6)
MSM	1 (0,6)
Biseksualni moški	1 (0,6)
Sobivanje v istem gospodinjstvu	1 (0,6)
Operativni poseg v preteklosti	1 (0,6)
ALT (μkat/L) (N = 137)	
≤ 0,56	43 (31,4)
> 0,56	93 (68,6)
HBeAg (N = 144)	
Negativen	101 (70,1)
Pozitiven	43 (29,9)
Genotip HBV (N = 186)	
D	157 (84,4)
Ne-D	28 (15,1)
A	23 (12,4)
B	2 (1,1)
C	2 (1,1)
F	1 (0,5)
AD	1 (0,5)
Virusno breme (IU/mL) (N = 127)	
< 2.000	44 (34,6)
2.000–20.000	13 (10,2)
> 20.000	70 (55,1)

Biopsija jeter (N = 86)

Da	57 (66,3)
Ne	29 (33,7)

Fibroza

Gradus NIS, mediana (razpon) (N = 48)	5 (2 - 12)
Stadij fibroze (METAVIR) (N = 47)	
< 2	13 (27,7)
≥ 2	34 (72,3)

Zdravljenje hepatitisa B (N = 89)

Da	72 (80,9)
Ne	17 (19,1)
IFN/PegIFN	42 (59,2)
NUC	29 (40,8)

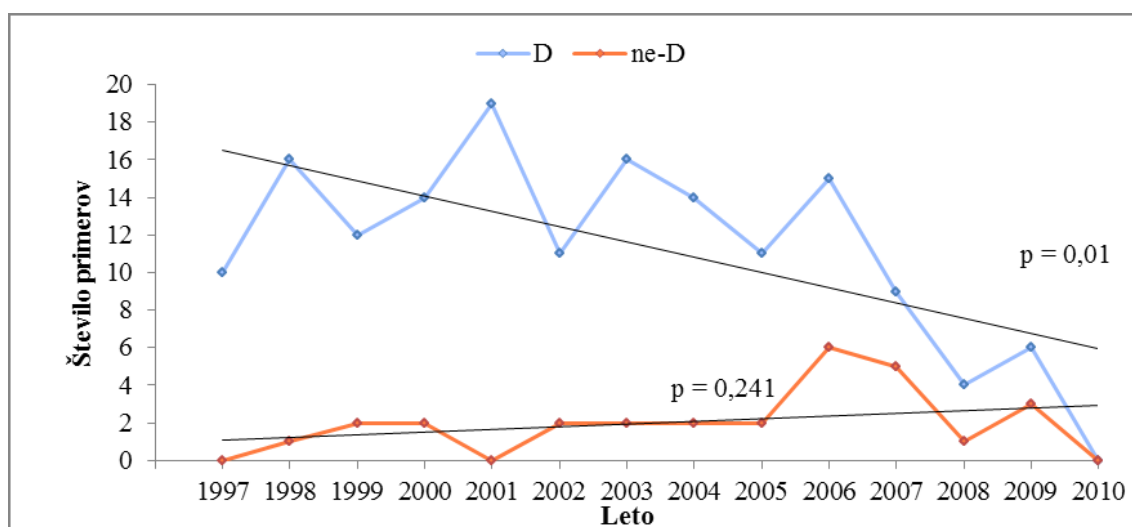
Regija (N = 155)

Celje	46 (29,7)
Ljubljana	92 (60,0)
Maribor	11 (7,1)
Novo Mesto	5 (3,2)

SD – standardni odklon, IVUD – intravenski uporabnik drog, MSM – moški, ki imajo spolne odnose z moškimi, ALT – alanin aminotransferaza, IFN – standardni interferon alfa, PegIFN – pegiliran interferon alfa, NUC – nukleoz(t)idnimi analogi, HBV – virus hepatitisa B, HBeAg- e antigen virusa hepatitisa B, NIS – nekroinflamatorne spremembe, IU – *angl.* international units – mednarodne enote

4.5.2 Gibanje števila preiskovanih oseb, okuženih z genotipi D in ne-D virusa hepatitisa B po posameznih letih v obdobju 1997–2010

Gibanje števila preiskovanih oseb, okuženih z genotipom HBV D in ne-D po posameznih letih v obdobju 1997–2010 je povzeto na Sliki 24. Prisoten je statistično značilen negativen linearni trend okuženih z genotipom HBV D ($p = 0,01$). Rahlo pozitiven linearni trend ne-D genotipov ni statistično značilen ($p = 0,241$).



Slika 24: Gibanje števila preiskovanih oseb, okuženih z genotipom virusa hepatitisa B D in ne-D po posameznih letih v obdobju 1997–2010.

4.5.3 Genotipi virusa hepatitisa B in dejavniki tveganja za okužbo

Univariatna logistična regresija in test razmerja verjetij sta pokazala statistično značilno povezavo med nekaterimi dejavniki tveganja za okužbo in genotipom HBV. Dejavnike tveganja za okužbo smo razdelili v dve glavni skupini: v skupino dejavnikov tveganja za prenos HBV s krvjo in skupino dejavnikov tveganja za spolni prenos HBV. V prvo skupino so bili vključeni: "transfuzija krvi ali krvnih pripravkov", "IVUD", "okužba s HBV v družini", "zdravstveni delavec", "hemodializa", "tetovaža/prebadanje", "naključni vbod/ugriz" ter "kirurški poseg v preteklosti". V drugo skupino smo uvrstili: "MSM", "biseksualni moški" ter "tvegano spolno vedenje". V Tabeli 18 je predstavljena povezava med genotipom HBV in demografskimi, epidemiološkimi, kliničnimi in virološkimi značilnostmi s HBV kronično okuženih oseb.

Tabela 18: Demografske, epidemiološke, klinične in virološke značilnosti v povezavi z genotipom virusa hepatitisa B pri preiskovanih osebah (N=185).

	Ne-D n (%)	D n (%)	RO (95 % IZ)	p - vrednost	A n (%)	p - vrednost †
Spol	28 (15,1)	157 (84,9)			23 (12,4)	0,971 ^a
Moški	17 (60,7)	103 (65,6)	1		15 (65,2)	
Ženski	11 (39,3)	54 (34,4)	0,81 (0,35; 1,85)	0,617	8 (34,8)	
Povprečna starost (SD) (let)	39,9 (14,8)	40,2 (14,4)	1 (0,97; 1,03)	0,913	39,2 (12,3)	0,682 ^b
< 30	8 (28,6)	39 (24,8)	1		5 (21,7)	0,744 ^a
≥ 30	20 (71,4)	118 (75,2)	1, 12 (0,49; 2,97)	0,676	18 (78,3)	

Dejavniki tveganja za okužbo						0,022^a
Kri	6 (25)	59 (45,4)	1		3 (15)	
Spolno	3 (12,5)	4 (3,1)	0,14 (0,02; 0,75)	0,023	3 (15)	
Kri in spolno	1 (4,2)	4 (3,1)	0,41 (0,04; 4,25)	0,453	1 (5)	
Neznano	14 (58,3)	63 (48,5)	0,46 (0,16; 1,27)	0,133	13 (65)	
MSM		0,044^a				
Ne	23 (95,8)	130 (100)	-	0,053 ^a	19 (95)	
Da	1 (4,2)	0 (0)	-		1 (5)	
Biseksualni moški		0,044^a				
Ne	23 (95,8)	130 (100)	-	0,053 ^a	19 (95)	
Da	1 (4,2)	0 (0)	-		1 (5)	
ALT (μkat/L)						0,518^a
≤ 0,56	7 (29,2)	36 (32,1)			0,56	
> 0,56	17 (70,8)	76 (67,9)	0,87 (0,33; 2,28)	0,776	0,56	
HBeAg						0,757^a
Negativen	13 (59,1)	87 (71,9)	1		13 (68,4)	
Pozitiven	9 (40,9)	34 (28,1)	0,56 (0,22; 1,44)	0,228	6 (31,6)	
Virusno breme						
povprečno (SD) (ln IU/mL)	11,3 (5,6)	11,9 (6,1)	1,02 (0,94; 1,1)	0,661	11,6 (5,8)	0,412 ^c
<2.000	9 (39,1)	35 (34)	1		9 (47,4)	0,474 ^a
2.000–20.000	2 (8,7)	11 (10,7)	1,41 (0,26; 7,55)	0,684	1 (5,3)	
>20.000	12 (52,2)	57 (55,3)	1,22 (0,47; 3,19)	0,683	9 (47,4)	
Biopsija jeter						0,714^a
Ne	6 (50)	51 (68,9)	1		5 (62,5)	
Da	6 (50)	23 (31,1)	0,45 (0,13; 1,55)	0,198	3 (37,5)	
Gradus NIS (razpon)						0,753^b
5 (2 - 7)		5 (2 - 12)	1,08 (0,66; 1,77)	0,771	5,5 (2 - 7)	
Stadij fibroze (METAVIR)						0,959^a
< 2	2 (40)	11 (26,2)	1		1 (25)	
≥ 2	3 (60)	31 (73,8)	1,88 (0,28; 12,77)	0,514	3 (75)	
Zdravljenje hepatitisa B						0,461^a
Ne	11 (73,3)	61 (82,4)	1		8 (72,7)	
Da	4 (26,7)	13 (17,6)	0,59 (0,16; 2,13)	0,414	3 (27,3)	
IFN/PegIFN	4 (36,4)	38 (63,3)	1	0,105	4 (50)	0,471 ^a
NUC	7 (63,6)	22 (36,7)	0,33 (0,09; 1,26)		4 (50)	

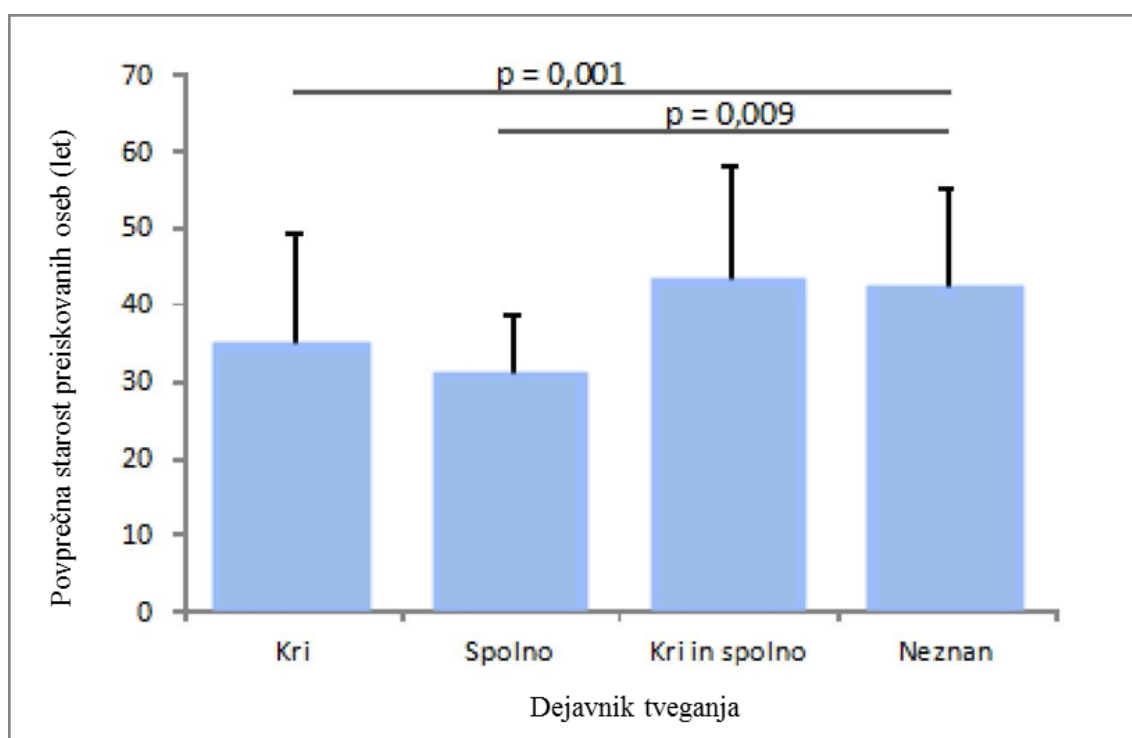
a Test razmerja verjetji b = Mann-Whitney U test; c = t - test

† Primerjava med genotipoma virusa hepatitisa B D in A

SD – standardni odklon, IVUD – intravenski uporabnik drog, MSM – moški, ki imajo spolne odnose z moškimi, ALT – alanin aminotransferaza, PegIFN – pegiliran interferon alfa, NUC – nukleoz(t)idnimi analogi, NIS - nekroinflamatorne spremembe, IU – *angl.* international units – mednarodne enote, RO – razmerje obojestransko, IZ – interval zaupanja, ln – naravni logaritem

Povprečna starost (±SD) oseb z dejavniki tveganja, povezanimi s krvjo (n = 65), je bila 35 (±14,3) let, pri osebah z dejavniki tveganja, povezanimi s spolnim prenosom (n = 7), 31 (±7,7) let, pri osebah z obema dejavnikoma tveganja (n = 5) 43,4 (±15) let in pri osebah brez

znanega dejavnika ($n = 77$) $42,5 (\pm 12,7)$ let (Slika 25). Za primerjavo skupin je bil uporabljen Mann-Whitney U test. Osebe z neznanim dejavnikom tveganja so bile statistično značilno starejše od oseb z dejavniki tveganja povezanimi s krvjo ($p = 0,001$) in oseb z dejavniki tveganja povezanimi s spolnim prenosom ($p = 0,009$). Statistično značilne razlike v starosti oseb z dejavniki tveganja, povezanimi s krvjo, in oseb z dejavniki tveganja, povezanimi s spolnim prenosom ($p = 0,408$), ni bilo. Glede dejavnikov tveganja, povezanih s spolnim prenosom, je bila povprečna starost ($\pm$ SD) preiskovanih oseb, okuženih z genotipom D ($n = 4$), $30,3 (\pm 9)$ let, okuženih z genotipom ne-D ($n = 3$) pa $32 (\pm 7,2)$ let. Razlika ni bila statistično značilna ($p = 0,858$).



Slika 25: Primerjava starosti preiskovanih oseb glede na dejavnike tveganja za kronično okužbo z virusom hepatitisa B.

4.5.4 Genotipi virusa hepatitisa B v povezavi s prisotnostjo ali odsotnostjo e antigena virusa hepatitisa B

Večkratna logistična regresija, ki je vključevala starost, prisotnost ali odsotnost HBeAg, virusno breme in koncentracijo ALT kot neodvisne spremenljivke ter genotip kot odvisno spremenljivko, je pokazala, da imajo HBeAg-pozitivne osebe z dejavnikom tveganja "tvegano spolno vedenje" nižje obete za okužbo z genotipom HBV D kot za okužbo z genotipom HBV ne-D. Rezultati so predstavljeni v Tabeli 19. Regresija je bila narejena kljub

temu, da je bilo kršeno Agrestijevo pravilo, ki navaja, da naj bi bilo na vsako neodvisno spremenljivko v modelu 10 enot ali manj kot kategorij odvisne spremenljivke (92).

Tabela 19: Demografske, epidemiološke, klinične in virološke značilnosti preiskovanih oseb v povezavi z genotipom D virusa hepatitisa B (N=109) v primerjavi z ne-D genotipom (večkratna logistična regresija).

Spremenljivka	RO (95 % IZ)	p - vrednost
Starost (let)	0,99 (0,95; 1,03)	0,543
HBeAg-pozitivni	0,23 (0,05; 0,98)	0,047
Dejavniki tveganja za okužbo		
Kri		
Spolno	0,11 (0,02; 0,87)	0,036
Kri in spolno	0,54 (0,05; 6,18)	0,623
Neznan	0,46 (0,13; 1,69)	0,244
ALT > 0,56 µkat/L	2,14 (0,57; 7,97)	0,258
Virusno breme (IU/ml)		
< 2.000		
2.00–20.000	1,4 (0,14; 13,87)	0,773
> 20.000	1,4 (0,33; 5,86)	0,649

ALT – alanin aminotransferaza, RO – razmerje obetov, IZ – interval zaupanja, HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B, IU – angl. international units – mednarodne enote

4.5.5 Genotipi virusa hepatitisa B in razlike med spoloma

Primerjava preiskovanih moških in preiskovanih žensk glede na genotip HBV ter demografske, epidemiološke, klinične in virološke dejavnike ter zdravljenje CHB je pokazala statistično značilne razlike med spoloma, kar je predstavljeno v Tabeli 20.

Tabela 20: Primerjava z virusom hepatitisa B kronično okuženih moških in žensk glede na genotip ter demografske, epidemiološke, klinične in virološke dejavnike ter zdravljenje (N = 185).

Spremenljivka	Genotip HBV					
	Ne-D n (%)	D n (%)	RO (95 % IZ)	p - vrednost*	A n (%)	p - vrednost†
MOŠKI (N = 120)	17 (14,1)	103 (85,8)			15 (12,5)	
Dejavnik tveganja						0,041^a
Kri	4 (26,7)	38 (45,2)	1		3 (15,4)	
Spolno	3 (20)	2 (2,3)	0,07 (0,01; 0,55)	0,012	3 (15,4)	
Kri in spolno	1 (6,6)	2 (2,3)	0,21 (0,02; 2,87)	0,242	1 (7,7)	
Neznan	7 (46,7)	42 (50)	0,63 (0,17; 2,33)	0,49	6 (46,2)	
MSM				0,05^a		0,043^a
Ne	14 (93,3)	84 (100)			12 (92,3)	
Da	1 (6,7)	0 (0)			1 (7,7)	

Biseksualni moški			0,05^a	0,043^a
Ne	14 (93,3)	84 (100)		12 (92,3)
Da	1 (6,7)	0 (0)		1 (7,7)
HBeAg (N = 94)	13 (13,8)	81 (86,2)		n = 12
Negativni	6 (46,2)	58 (71,6)	0,077 ^a	6 (50) 0,144 ^a
Pozitivni	7 (53,8)	23 (28,4)		6 (50)
Virusno breme (IU/ml) (N = 82)	15 (18,3)	67 (81,7)	0,980 ^a	n = 13 0,856 ^a
< 2,000	4 (26,7)	17 (25,4)		4 (30,8)
2,000–20,000	2 (13,3)	8 (11,9)		1 (7,7)
> 20,000	9 (60,0)	42 (62,7)		8 (61,5)
Zdravljenje (N = 48)	7 (14,6)	41 (85,4)		n = 5
IFN/PegIFN	4 (57,1)	27 (65,9)	0,660 ^a	4 (80) 0,508 ^a
NUC	3 (42,9)	14 (34,1)		1 (20)
ŽENSKE (N = 65)	11 (16,9)	54 (83,1)		8 (12,3)
Dejavnik tveganja				0,020^a
Kri	2 (22,2)	21 (45,7)	1	0 (0)
Spolno ali oboje	0 (0)	4 (8,6)	-	0 (0)
Neznan	7 (77,8)	21 (45,7)	0,29 (0,05; 1,54)	0,145 7 (100)
Neznan dejavnik tveganja			0,07 ^a	0,002^a
Ne	2 (22,2)	25 (54,3)		0 (0)
Da	7 (77,8)	21 (45,7)		7 (100)
Okužba s HBV v družini			0,913 ^a	0,06 ^a
Ne	7 (77,8)	35 (76,1)		7 (100)
Da	2 (22,2)	11 (23,9)		0 (0)
HBeAg (N = 49)	9 (18,4)	40 (81,6)		
Negativen	7 (77,8)	29 (72,5)	0,742 ^a	7 (100) 0,043^a
Pozitiven	2 (22,2)	11 (27,5)		0 (0)
Virusno breme (IU/ml) (N = 44)	8 (18,2)	36 (81,8)	0,492 ^a	0,237 ^a
< 2.000	5 (62,5)	18 (50)		5 (83,3)
2.000-20.000	0 (0)	3 (8,3)		0 (0)
>20.000	3 (37,5)	15 (41,7)		1 (16,7)
Zdravljenje (N = 23)	4 (17,4)	19 (82,6)		
IFN/PegIFN	0 (0)	11 (57,9)	0,014^a	0 (0) 0,031^a
NUC	4 (100)	8 (42,1)		3 (100)

a = test razmerja verjetji

* Primerjava med genotipi virusa hepatitisa B ne-D in D † Primerjava med genotipom virusa hepatitisa B D in A
MSM – moški, ki imajo spolne odnose z moškimi, IFN – standardni interferon alfa, PegIFN – pegiliran interferon alfa, HBV – virus hepatitisa B, NUC - nukleoz(t)idnimi analogi, HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B, RO - razmerje oboj, IZ - interval zaupanja, IU – *angl.* international units – mednarodne enote, RO – razmerje oboj, IZ – interval zaupanja

Za statistično značilno več žensk z genotipom HBV A kot genotipom D je bil dejavnik tveganja neznan ($p = 0,002$). Dodatno smo primerjali ženske okužene z genotipom A in D. Primerjava povprečne starosti ($\pm$ SD) med ženskami, okuženimi z genotipom A in neznanim

dejavnikom tveganja ($n = 7$), 43,6 ($\pm 16,6$) let, in ženskami, okuženimi z genotipom D in neznanim dejavnikom tveganja ($n = 21$), 41,1 ($\pm 11,7$) let, ni pokazala statistično značilnih razlik ($p = 0,832$). Tudi primerjava žensk z neznanim dejavnikom tveganja glede na prisotnost ali odsotnost HBeAg in virusno breme ni pokazala statistično značilnih razlik med tistimi, okuženimi z genotipom A ($p = 0,110$) in tistimi, okuženimi z genotipom D ($p = 0,637$).

Analiza žensk, okuženih z genotipom D, je pokazala statistično značilne razlike v starosti in virusnem bremenu glede na prisotnost ali odsotnost HBeAg. Rezultati so predstavljeni v Tabeli 21. HBeAg-negativne ženske, okužene z genotipom D HBV, so bile statistično značilno pogostejše starejše od 30 let ($p = 0,018$) in imele virusno breme nižje od 2.000 IU/ml ($p = 0,003$). Zaradi premajhnega števila žensk, okuženih z genotipom A ($n = 8$), podobna primerjava ni bila izvedena tudi za skupino žensk okuženih z genotipom A.

Tabela 21: Prisotnost ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B, starost in virusno breme pri ženskah, okuženih z genotipom D virusa hepatitisa B ($N = 40$) (razmerje verjetij).

Spremenljivka	HBeAg		p - vrednost
	Negativen	Pozitiven	
Starost (let) ($N = 40$)			0,018
< 30	3	5	
≥ 30	26	6	
Virusno breme (IU/ml) ($N = 30$)			0,003
< 2.000	16	1	
2.000–20.000	3	0	
> 20.000	4	6	

HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B, IU – *angl.* international units – mednarodne enote

4.5.6 Genotipi virusa hepatitisa B in zdravljenje

Od 186 preiskovanih oseb z določenim genotipom je bilo zdravljenih 71 preiskovanih oseb, 48 moških (67,6 %) in 23 žensk (32,4 %). Več žensk, okuženih z genotipom D (57,9 %), kot žensk, okuženih z genotipom A (0 %, $p = 0,014$) in genotipi ne-D ($p = 0,031$), je bilo zdravljenih z IFN/PegIFN. Statistično značilne povezave med genotipom HBV in prisotnostjo ali odsotnostjo HBeAg, starostjo, koncentracijo ALT in virusnim bremenom pri ženskah, ki so bile zdravljene, nismo našli. Prav tako nismo našli statistično značilne povezave med virusnim bremenom in genotipom D ter genotipi ne-D ($p = 0,951$) pri preiskovanih osebah.

Analiza žensk, okuženih z genotipom D, pa je pokazala statistično značilno povezavo z nizkim virusnim bremenom (pod 2.000 IU/ml) in zdravljenjem z NUC ($p = 0,049$), medtem ko statistično značilnih razlik med prisotnostjo ali odsotnostjo HBeAg, starostjo in

koncentracijo ALT nismo našli. Rezultati so predstavljeni Tabeli 22.

Tabela 22: Prisotnost ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B, starost, koncentracija alanin aminotransferaze in virusno breme v povezavi z zdravljenjem kroničnega hepatitisa B pri ženskah okuženih z genotipom D virusa hepatitisa B (N = 19) (razmerje verjetij).

Spremenljivka	Genotip HBV D ženske		p - vrednost
	NUC n (%)	IFN/PegIFN n (%)	
Starost (let) (N = 19)	8 (42,1)	11 (57,9)	
< 30 (n = 7)	2 (28,6)	5 (71,4)	0,356
≥ 30 (n = 12)	6 (50)	6 (50)	
ALT (μkat/L) (N = 16)	8 (50)	8 (50)	
≤ 0,56 (n = 6)	3 (50)	3 (50)	1
> 0,56 (n = 10)	5 (50)	5 (50)	
HBeAg (N = 13)	7 (53,8)	6 (46,2)	
Negativne (n = 8)	4 (50)	4 (50)	0,724
Pozitivne (n = 5)	3 (60)	2 (40)	
Virusno breme (IU/ml) (N = 15)	8 (53,3)	7 (46,7)	
< 2.000 (n = 6)	5 (83,3)	1 (16,7)	0,049
2.000–20.000 (n = 0)	0 (0)	0 (0)	
> 20.000 (n = 9)	3 (33,3)	6 (66,7)	

NUC – nukleoz(t)idnimi analogi, IFN – standardni interferon alfa, PegIFN – pegiliran interferon alfa, ALT – alanin aminotransferaza, HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B, HBV – virus hepatitisa B, *angl.* international units – mednarodne enote

4.6 Virusno breme pri preiskovanih osebah

Virusno breme DNK HBV je imelo določeno 735 preiskovanih oseb, od tega 437 moških (59,5 %) in 298 žensk (40,5 %). Tabela 23 prikazuje povezanost med demografskimi, epidemiološkimi, kliničnimi in virološkimi značilnostmi preiskovanih oseb in virusnim bremenom. Univariatna logistična regresija je pokazala, da je statistično značilno več moških imelo virusno breme 2.000 IU/ml ali več ($p = 0,012$). V primerjavi z mlajšimi od 30 let so imele preiskovane osebe v starostni skupini 46–50 let statistično značilno manj pogosto virusno breme 2.000 IU/ml ali več ($p = 0,038$). Preiskovane osebe s koncentracijo ALT višjo od 0,56 μkat/L so imele statistično značilno pogosteje virusno breme 2.000 IU/ml ali več ($p < 0,001$). Nezdravljene osebe so imele statistično značilno pogosteje virusno breme nižje od 2.000 IU/ml ($p < 0,001$) v primerjavi s tistimi zdravljenimi z IFN/PegIFN. V večkratno logistično regresijo je bilo vključenih 168 preiskovanih oseb (vse z znanimi vrednostmi vseh

neodvisnih spremenljivk). Ob kontroli na ostale spremenljivke v modelu so imele preiskovane osebe s koncentracijo ALT višjo od 0,56 μ kat/L statistično značilno pogostejše virusno breme 2.000 IU/ml ali več ($p < 0,001$). Nezdravljene osebe so imele statistično značilno pogostejše virusno breme nižje od 2.000 IU/ml ($p < 0,003$) v primerjavi s tistimi zdravljenimi z IFN/PegIFN.

Tabela 23: Demografske, epidemiološke, klinične in virološke značilnosti preiskovanih oseb v povezavi z virusnim bremenom ($N = 735$).

Spremenljivka	Virusno breme		Univariatna logistična regresija		Večkratna logistična regresija	
	< 2.000 IU/ml n (%)	$\geq$ 2.000 IU/ml n (%)	RO (95 % IZ)	p -vrednost	RO (95 % IZ)	p -vrednost
Spol (N = 735)	403 (54,8)	332 (45,2)				
Ženski	180 (44,7)	118 (35,5)	1		1	
Moški	223 (55,3)	214 (64,5)	1,46 (1,09 ;1,97)	0,012	1,36 (0,6 ;3,06)	0,462
Povprečna starost (SD) (let) (N = 735)	41,4 (12,9)	40,5 (14,1)	0,99 (0,98 ;1,01)	0,326		
< 30	80 (19,9)	80 (24,1)	1		1	
31-40	109 (27)	88 (26,5)	0,81 (0,53 ;1,23)	0,316	0,65 (0,21 ;1,95)	0,438
41-45	57 (14,1)	49 (14,8)	0,86 (0,53 ;1,41)	0,547	0,64 (0,15 ;2,7)	0,545
46-50	62 (15,4)	36 (10,8)	0,58 (0,35 ;0,97)	0,038	1,98 (0,56 ;6,99)	0,290
> 50	95 (23,6)	79 (23,8)	0,83 (0,54 ;1,28)	0,401	1,48 (0,48 ;4,51)	0,494
Dejavniki tveganja za okužbo (N = 735)						
Neznano	233 (57,8)	190 (57,2)	0,98 (0,73 ;1,31)	0,873	1,43 (0,33 ;6,18)	0,631
Okužba s HBV v družini/ sobivanje v istem gospodinjstvu	81 (20,1)	85 (25,6)	1,37 (0,97 ;1,93)	0,076	2,33 (0,54 ;10,02)	0,256
Transfuzija krvi/krvnih pripravkov	40 (9,9)	28 (8,4)	0,84 (0,5 ;1,39)	0,488	2,26 (0,46 ;11,13)	0,314
Tvegano spolno vedenje	16 (4)	16 (4,8)	1,22 (0,6 ;2,49)	0,575	0,67 (0,1 ;4,34)	0,670
Zdravstveni delavec	16 (4)	6 (1,8)	0,45 (0,17 ;1,15)	0,095		
IVUD	6 (1,5)	7 (2,1)	1,43 (0,47 ;4,28)	0,528	1,25 (0,12 ;13,25)	0,854
Hemodializa	7 (1,7)	9 (2,7)	1,58 (0,58 ;4,28)	0,372		
Operativni poseg v preteklosti	3 (0,7)	4 (1,2)	1,63 (0,36 ;7,32)	0,526		
Naključni vbod/ugriz	9 (2,2)	0 (0)		0,001^a		
Tetovaža/prebadanje	3 (0,7)	4 (1,2)	1,63 (0,36 ;7,32)	0,526		
MSM/biseksualni moški	4 (1)	3 (0,9)	0,91 (0,2 ;4,09)	0,902	0,98 (0,08 ;12,81)	0,991
Cepljenje v JLA	2 (0,5)	4 (1,2)	2,45 (0,45 ;13,43)	0,304		
Drugo	1 (0,2)	0 (0)		0,237 ^a		

ALT ($\mu\text{kat/L}$) (N = 689)

$\leq 0,56$	233 (61,6)	92 (29,6)	1		1	
$> 0,56$	145 (38,4)	219 (70,4)	3,83 (2,78 ;5,27)	< 0,001	4,82 (2,1 ;11,04)	< 0,001
$< 1,12$	325 (86)	188 (60,5)	1			
$\geq 1,12$	53 (14)	123 (39,5)	4,01 (2,77 ;5,8)	< 0,001		

Sočasna okužba

HCV (N = 267)

Ne	134 (96,4)	122 (95,3)	1		1	
Da	5 (3,6)	6 (4,7)	1,32 (0,39 ;4,43)	0,655	0,75 (0,09 ;6,15)	0,787

HIV (N = 242)

Ne	102 (97,1)	105 (95,5)	1			
Da	3 (2,9)	5 (4,5)	1,62 (0,38 ;6,95)	0,517		

Zdravljenje hepatitisa B (N = 331)

IFN/PegIFN	10 (6,5)	56 (31,6)				
NUC	15 (9,7)	46 (26)	0,55 (0,22 ;1,33)	0,185	0,36 (0,08 ;1,57)	0,176
Ne	129 (83,8)	75 (42,4)	0,1 (0,05 ;0,22)	< 0,001	0,15 (0,04 ;0,54)	0,003

IVUD – intravenski uporabnik drog, MSM – moški, ki imajo spolne odnose z moškimi, HBV – virus hepatitisa B, ALT – alanin aminotransferaza, HCV – virus hepatitisa C, HIV – humani virus imunske pomanjkljivosti, IFN – standardni interferon alfa, PegIFN – pegiliran interferon alfa, JLA – Jugoslovanska ljudska armada, NUC – nukleoz(t)idnimi analogi, *angl.* international units – mednarodne enote, SD – standardni odklon, RO – razmerje obetov, IZ – interval zaupanja

Ugotovili smo, da ima več moških kot žensk virusno breme nad 2.000 IU/ml, zato je bila opravljena dodatna analiza primerjave starosti in prisotnosti ali odsotnosti HBeAg. Povprečna starost ($\pm$ SD) moških (n = 214) z virusnim bremenom nad 2.000 IU/ml je bila 40,75 ($\pm$ 13,9) let, žensk (n = 118) pa 40 ($\pm$ 14,5) let (p = 0,637). V prisotnosti ali odsotnosti HBeAg med moškimi in ženskami ni bilo statistično značilnih razlik (p = 0,218).

Ugotovili smo, da je statistično značilno večji delež preiskovanih oseb mlajših od 30 let, ki so bile HBeAg-pozitivne, imele virusno breme > 20.000 IU/ml (81,1 %) v primerjavi s tistimi, ki so bile HBeAg-negativne (24,2 %; p < 0,001) (Tabela 24).

Tabela 24: Primerjava preiskovanih oseb, mlajših od 30 let, glede na virusno breme in prisotnost ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B (N=132) (razmerje verjetij).

Virusno breme (IU/ml)	HBeAg-negativni n (%)	HBeAg-pozitivni n (%)	p - vrednost
	95 (72)	37 (28)	
< 2.000	61 (64,2)	7 (18,9)	< 0,001
2.000–20.000	11 (11,6)	0 (0)	
> 20.000	23 (24,2)	30 (81,1)	

HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B, IU – *angl.* international units – mednarodne enote

Statistično značilne povezave med virusnim bremenom pod 2.000 IU/ml ter koncentracijo ALT ($p = 0,237$) in stopnjo fibroze ($p = 0,385$) nismo našli.

4.7 Sočasna okužba z virusom hepatitisa C in humanim virusom imunske pomanjkljivosti

4.7.1 Sočasna okužba z virusom hepatitisa C

Sočasno okužbo s HBV/HCV smo preučevali pri 389 preiskovanih osebah z dostopnimi tovrstnimi podatki v zdravstveni dokumentaciji. Sočasno je bilo s HBV/HCV okuženih 21 oseb (5,4 %), od tega 17 (81 %) moških, ostalih 368 preiskovanih oseb je bilo HCV-negativnih. Statistično značilno več moških kot žensk je imelo sočasno HBV/HCV okužbo ($p = 0,043$). Statistično značilno več oseb s sočasno okužbo s HBV/HCV (7/12) kot tistih brez nje (27,8 %) je imelo zdravljen CHB ($p = 0,032$). Preiskovanci s sočasno okužbo HBV/HCV so bili statistično mejno značilno mlajši (povprečje; mediana; $\pm$ SD: 34,1 let; $\pm$ 31 let; 11,6 let) od tistih brez sočasne okužbe (39,7 let; $\pm$ 38 let ; 13,6 let) ($p = 0,056$). Značilnosti oseb, ki so bile sočasno okužene s HBV/HCV, so predstavljene v Tabeli 25.

Tabela 25: Primerjava preiskovanih oseb s sočasno okužbo z virusom hepatitisa C in tistih brez nje ($N = 389$).

Spremenljivka	Sočasna HBV/HCV okužba		p - vrednost
	Ne n (%)	Da n (%)	
Spol ($N = 389$)	368 (94,6)	21 (5,4)	0,043^a
Ženski	152 (41,3)	4 (19)	
Moški	216 (58,7)	17 (81)	
Povprečna starost (SD) (let)	39,7 (13,6)	34,1 (11,6)	0,056 ^c
Virusno breme (IU/ml), ($N = 267$)			0,557 ^b
< 2.000	134 (52,3)	5 (45,5)	
2.000–20.000	20 (7,8)	2 (18,2)	
> 20.000	102 (39,8)	4 (36,4)	
Zdravljenje hepatitisa B ($N = 253$)			0,032^b
Ne	174 (72,2)	5 (41,7)	
Da	67 (27,8)	7 (58,3)	

a = χ^2 test; b = test razmerja verjetij; c = Mann-Whitneyev U test

SD – standardni odklon, HCV – virus hepatitisa C, HBV – virus hepatitisa B, IU – angl. international units – mednarodne enote

Statistično značilno več oseb s sočasno okužbo HBV/HCV (12; 57,1 %) kot tistih brez nje (8; 2,2 %) je navedlo kot dejavnik tveganja "IVUD" ($p < 0,001$) in "transfuzija krvi ali krvnih

pripravkov" (32; 8,7 % vs. 6; 28,6 %) ($p = 0,009$). Pri manjšem številu oseb s sočasno okužbo HBV/HCV (1; 4,8 %) kot brez nje (202; 54,9 %) je bil dejavnik tveganja za okužbo s HBV neznan. Rezultati so predstavljeni v Tabeli 26.

Tabela 26: Dejavniki tveganja za okužbo z virusom hepatitisa B pri preiskovancih sočasno okuženih z virusoma hepatitisa B in C in tistih brez sočasne okužbe ($N = 389$).

Dejavniki tveganja za okužbo	Sočasna HBV/HCV okužba		p - vrednost
	Ne ($N = 368$) n (%)	Da ($N = 21$) n (%)	
Neznano	202 (54,9)	1 (4,8)	< 0,001^a
Okužba s HBV v družini	76 (20,7)	2 (9,5)	0,179 ^b
Transfuzija krvi/krvnih pripravkov	32 (8,7)	6 (28,6)	0,009^b
Tvegano spolno vedenje	28 (7,6)	1 (4,8)	0,608 ^b
Zdravstveni delavec	18 (4,9)	0 (0)	0,153 ^b
IVUD	8 (2,2)	12 (57,1)	< 0,001^b
Hemodializa	11 (3)	1 (4,8)	0,670 ^b
Operativni poseg v preteklosti	2 (0,5)	0 (0)	0,637 ^b
Naključni vbod/ugriz	5 (1,4)	0 (0)	0,455 ^b
Tetovaža/prebadanje	6 (1,6)	0 (0)	0,413 ^b
MSM	9 (2,4)	0 (0)	0,238 ^{†b}
Sobivanje v istem gospodinjstvu	1 (0,3)	0 (0)	0,739 ^b
Cepljenje v JLA	3 (0,8)	0 (0)	0,499 ^{†b}
Biseksualni moški	1 (0,3)	0 (0)	0,697 ^{†b}

†P – vrednost izračunana le za moške bolnike; a = χ^2 test; b = test razmerja verjetij

HCV – virus hepatitisa C, IVUD – intravenski uporabnik drog, MSM – moški, ki imajo spolne odnose z moškimi, HBV – virus hepatitisa B, JLA – Jugoslovanska ljudska armada

Jetna biopsija je bila opravljena pri od 389 preiskovanih oseb, pri dveh s sočasno okužbo HBV/HCV in pri 44 brez nje. Obe osebi s sočasno okužbo s HBV/HCV sta imeli stadij fibroze ≥ 2 po lestvici METAVIR. Pri oseb, za katere je bilo ugotovljeno, da nimajo sočasne okužbe HBV/HCV, jih je 34/44 imelo stadij fibroze ≥ 2 po lestvici METAVIR. Osebe s sočasno okužbo HBV/HCV ali brez nje se v stadiju fibroze med seboj statistično značilno niso razlikovale.

4.7.2 Sočasna okužba s humanim virusom imunske pomanjkljivosti

Sočasno okužbo s HBV/HIV smo preučevali pri 296 preiskovanih oseb z dostopnimi tovrstnimi podatki v zdravstveni dokumentaciji. Preiskovanih oseb, sočasno okuženih s HBV/HIV, je bilo devet (3 %), med njimi osem moških. Ostalih 287 preiskovanih oseb je bilo

HIV-negativnih. Med osebami, ki so bile HIV-negativne, je bilo 172 moških (59,9 %) – razlika je bila mejno statistično značilna ($p = 0,056$). Prav tako je bila mejno statistično značilna razlika v zdravljenju, ki ga je prejelo nekoliko več sočasno HBV/HIV okuženih oseb (4/6) kot tistih brez sočasne okužbe (23,3 %; $p = 0,064$). Značilnosti oseb, ki so sočasno okužene s HBV/HIV, so predstavljene v Tabeli 27.

Tabela 27: Primerjava preiskovanih oseb s sočasno okužbo s humanim virusom imunske pomanjkljivosti in tistih brez nje ($N = 296$).

Spremenljivka	Sočasna HBV/HIV okužba		p - vrednost
	Ne n (%)	Da n (%)	
Spol ($N = 296$)	287 (97)	9 (3)	
Ženski	115 (40,1)	1	0,056 ^b
Moški	172 (59,9)	8	
Povprečna starost (SD) (let)	39,8 (13,7)	41,6 (7,6)	0,478 ^a
Virusno breme (IU/ml) ($N = 215$)			
< 2.000	102 (49,3)	3	0,093 ^b
2.000–20.000	18 (8,7)	3	
> 20.000	87 (42)	2	
Zdravljenje hepatitisa B ($N = 197$)			
Ne	135 (70,7)	2	0,064 ^b
Da	56 (29,3)	4	

a = Mann-Whitneyev U test; b = test razmerja verjetij

HIV – humani virus imunske pomanjkljivosti, IU – *angl.* international units – mednarodne enote, HBV – virus hepatitisa B, SD – standardni odklon

Med osebami sočasno okuženimi s HBV/HIV je bilo statistično značilno več takih z dejavnikom tveganja "MSM" ($p = 0,036$) ter dejavnikom tveganja "tvegano spolno vedenje" ($p = 0,004$) ter statistično značilno manj takih, pri katerih je bil dejavnik tveganja neznan ($p = 0,047$). V Tabeli 28 je predstavljena primerjava dejavnikov tveganja med sočasno okuženimi s HBV/HIV in tistimi brez sočasne okužbe.

Tabela 28: Primerjava dejavnikov tveganja pri z virusom hepatitisa B kronično okuženih osebah s sočasno okužbo s humanim virusom imunske pomanjkljivosti (HIV) in brez nje (N = 296) (rezultat testa razmerij verjetij).

Dejavniki tveganja za okužbo	Sočasna okužba s HBV/HIV		p - vrednost
	Ne (N = 287) n (%)	Da (N = 9) n (%)	
Neznano	158 (55,1)	2 (22,2)	0,047
Okužba s HBV v družini	61 (21,3)	1 (11,1)	0,429
Transfuzija krvi/krvnih pripravkov	19 (6,6)	0 (0)	0,915
Tvegano spolno vedenje	22 (7,7)	4 (44,4)	0,004
Zdravstveni delavec	11 (3,8)	0 (0)	0,405
IVUD	11 (3,8)	1 (11,1)	0,362
Hemodializa	11 (3,8)	0 (0)	0,405
Operativni poseg v preteklosti	2 (0,7)	0 (0)	0,725
Naključni vbod/ugriz	4 (1,4)	0 (0)	0,618
Tetovaža/prebadanje	5 (1,7)	0 (0)	0,577
MSM	6 (2,1)	2 (22,2)	0,036†
Sobivanje v istem gospodinjstvu	1 (0,3)	0 (0)	0,804
Cepljenje v JLA	2 (0,7)	0 (0)	0,669†
Biseksualni moški	1 (0,3)	1 (11,1)	0,056†

† p – vrednost izračunana le na moških bolnikih

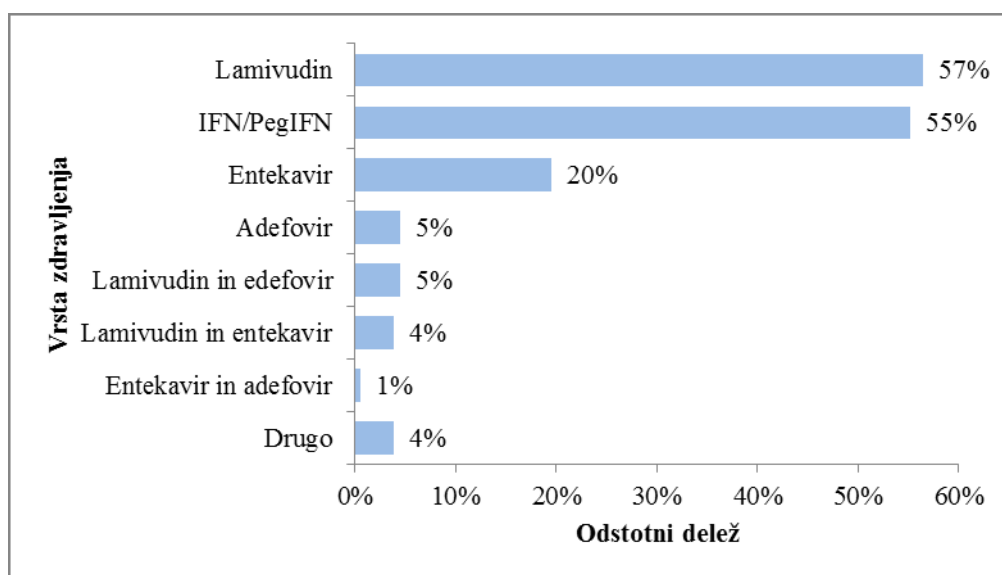
HIV – humani virus imunske pomanjkljivosti, IVUD – intravenski uporabnik drog, MSM – moški, ki imajo spolne odnose z moškimi, HBV – virus hepatitisa B, JLA – Jugoslovanska ljudska armada

Nobena oseba s sočasno okužbo s HBV/HIV ni imela opravljene biopsije jeter.

4.8 Zdravljenje bolnikov s kroničnim hepatitisom B

4.8.1 Značilnosti zdravljenih bolnikov s kroničnim hepatitisom B

Zdravljenje CHB je prejelo 161 (34,8 %) od 463 preiskovanih oseb, za katere smo imeli na voljo tovrstne klinične podatke iz zdravstvene dokumentacije. Za 154 oseb je bil na voljo podatek o zdravlilu, s katerim so bile zdravljenje (Slika 26). Ker so nekateri bolniki prejeli različno zdravljenje v različnih časovnih obdobjih, je seštevek odstotnih deležev višji od 100. Med zdravljenimi je bilo 46 žensk (29,9 %) in 108 moških (70,1 %), povprečna starost ($\pm$ SD) je bila 41,4 ($\pm$ 13,7) let.



IFN – standardni interferon alfa, PegIFN – pegiliran interferon alfa

Slika 26: Delež zdravljenih preiskovanih oseb s kroničnim hepatitisom B glede na vrsto zdravila ($N = 154$).

Univariatna logistična regresija je pokazala, da je bila izbira zdravljenja odvisna od starosti. Bolniki, starejši od 30 let, so bili statistično značilno manj pogosto zdravljeni s PegIFN ($p = 0,013$) kot z NUC. V večkratno logistično regresijo so bile vključene naslednje neodvisne spremenljivke: spol, starost, prisotnost ali odsotnost HBeAg, koncentracija ALT in virusno breme. V analizo je bilo vključenih 93 preiskovanih oseb (vse z znanimi vrednostmi vseh neodvisnih spremenljivk). Glede na razpoložljivost podatkov se je z vključitvijo stadija fibroze velikost vzorca zmanjšala na 45 bolnikov, z vključitvijo genotipa HBV pa na 40 bolnikov, zato sta bili ti dve spremenljivki iz večkratne logistične regresije izpuščeni. Večkratna logistična regresija je vključevala le koncentracije $ALT \geq 1,12 \mu\text{kat/L}$, saj zaradi multikolinearnosti obe mejni koncentraciji ($ALT 1,12 \mu\text{kat/L}$ in $0,56 \mu\text{kat/L}$) nista mogli biti testirani v istem modelu. Koncentracije $ALT \geq 1,12 \mu\text{kat/L}$ so bile v univariatnem regresijskem modelu mejno statistično značilno povezane z vrsto zdravljenja, v večkratnem regresijskem modelu pa statistično značilne povezave ni bilo. Ker statistično značilne povezave ni bilo pri višjih mejnih koncentracijah, smo sklepali, da je ni tudi pri nižjih. Rezultati, ki so predstavljeni v Tabeli 29, so pokazali, da so bili starejši bolniki ter tisti, ki so bili HBeAg-pozitivni, statistično manj pogosto zdravljeni z IFN/PegIFN ($p = 0,017$ in $p = 0,032$).

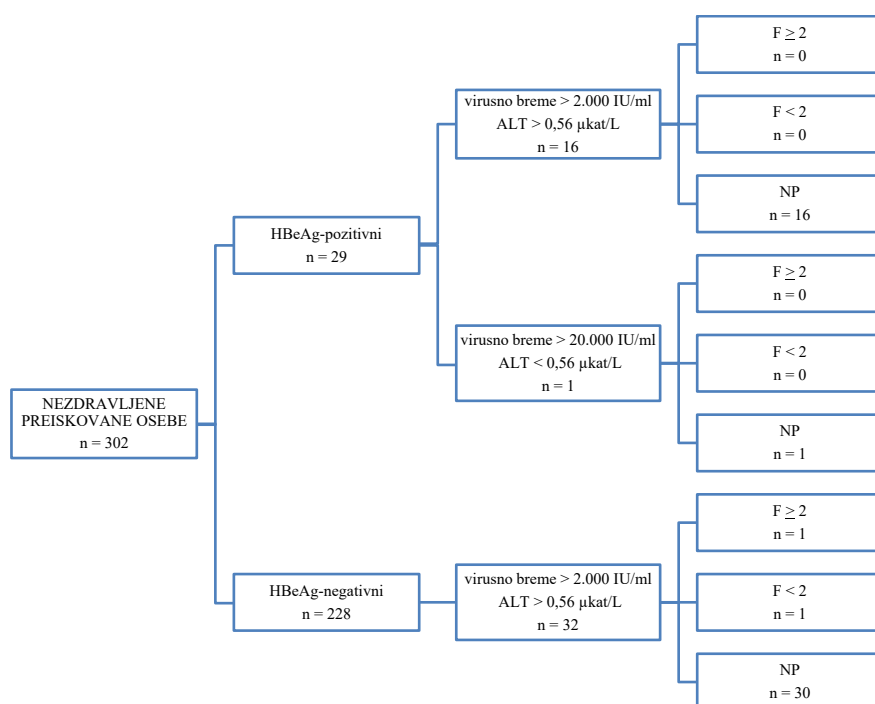
Tabela 29: Demografske, epidemiološke, klinične in virološke značilnosti preiskovanih oseb in povezava z vrsto zdravljenja ($N = 154$) (univariatna in večkratna logistična regresija).

Spremenljivka	Vrsta zdravljenja		Univariatna logistična regresija		Večkratna logistična regresija	
	NUC n (%)	IFN/PegIFN n (%)	RO (95 % IZ)	p - vrednost	RO (95 % IZ)	p - vrednost
Spol ($N = 154$)	69 (44,8)	85 (55,2)				
Ženski	26 (37,7)	20 (23,5)				
Moški	43 (62,3)	65 (76,5)	1,97 (0,98; 3,95)	0,058	2,04 (0,7; 5,93)	0,19
Povprečna starost (SD) (let) ($N = 154$)	44,2 (15,6)	38,5 (11,9)	0,97 (0,95; 0,99)	0,013	0,96 (0,92; 0,99)	0,017
≤ 30	17 (24,6)	23 (27,1)	1			
31 - 40	12 (17,4)	20 (23,5)	1,23 (0,48; 3,19)	0,667		
41 - 45	9 (13)	14 (16,5)	1,15 (0,4; 3,27)	0,794		
46 - 50	7 (10,1)	15 (17,6)	1,58 (0,53; 4,73)	0,41		
> 50	24 (34,8)	13 (15,3)	0,4 (0,16; 1,01)	0,051		
ALT ($\mu\text{kat/L}$) ($N = 138$)						
≤ 0,56	16 (24,2)	12 (16,7)				
> 0,56	50 (75,8)	60 (83,3)	1,6 (0,69; 3,7)	0,271		
< 1,12	40 (60,6)	33 (45,8)				
≥ 1,12	26 (39,4)	39 (54,2)	1,82 (0,92; 3,58)	0,084	1,46 (0,59; 3,62)	0,41
HBeAg ($N = 112$)						
Negativen	35 (62,5)	41 (73,2)	1			
Pozitiven	21 (37,5)	15 (26,8)	0,61 (0,27; 1,36)	0,226	0,3 (0,1; 0,9)	0,032
Virusno breme (IU/ml) ($N = 127$)						
< 2.000	15 (24,6)	10 (15,2)				
2.000–20.000	7 (11,5)	8 (12,1)	1,71 (0,47; 6,24)	0,414	1,49 (0,26; 8,63)	0,659
> 20.000	39 (63,9)	48 (72,7)	1,85 (0,75; 4,56)	0,184	2,63 (0,77; 9,05)	0,124

IZ – interval zaupanja, RO – razmerje obetov, SD – standardni odklon, HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B, ALT – alanin aminotransferaza, IFN – standardni interferon alfa, PegIFN – pegiliran interferon alfa, NUC - nukleoz(t)idnimi analogi, *angl.* international units – mednarodne enote

4.8.2 Značilnosti nezdravljenih preiskovanih oseb, kronično okuženih z virusom hepatitisa B

Slika 27 in Tabela 30 prikazujeta nezdravljene preiskovane osebe, okužene s HBV glede na prisotnost ali odsotnost HBeAg, virusno breme, koncentracijo ALT in stopnjo fibroze. V shematski prikaz so vključene le preiskovane osebe z dostopnimi podatki; zaradi pomanjkanja nekaterih podatkov niso vključeni trije bolniki s cirozo in 14 bolnikov s HCC, ki predstavljajo vse bolnike s HCC v podatkovni zbirki.



ALT – alanin aminotransferaza, F – stadij fibroze po lestvici METAVIR, NP – ni podatka, HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B, IU – *angl.* international units

Slika 27: Nezdravljene preiskovane osebe glede na prisotnost ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B, virusno breme, koncentracijo alanin aminotransferaze in stopnjo fibroze (N = 302).

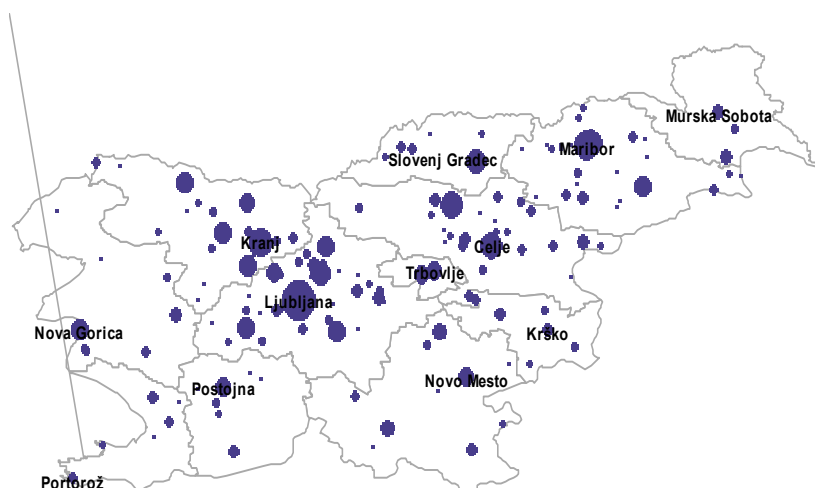
Tabela 30: Nezdravljene preiskovane osebe glede na virusno breme, koncentracijo alanin aminotransferaze in stadij fibroze (N = 302).

Spremenljivka	Nezdravljene preiskovane osebe (N = 302) n (%)
ALT (µkat/L) (N = 284)	
≤ 0,56	150 (52,8)
> 0,56	134 (47,2)
Virusno breme (IU/ml) (N = 204)	
< 2.000	129 (63,2)
2.000–20.000	20 (9,8)
> 20.000	55 (27)
Biopsija jeter (N = 207)	
Ne	195 (94,2)
Da	12 (5,8)
Stadij fibroze (METAVIR) (N = 5)	
0	2
1	2
≥ 2	1

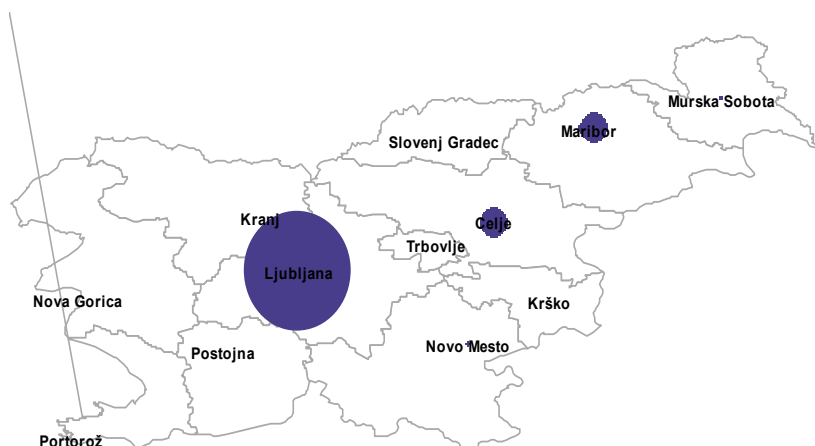
ALT – alanin aminotransferaza, IU - *angl.* international units – mednarodne enote

4.9 Preiskovane osebe glede na geografsko porazdelitev

Preiskovane osebe so bile po Sloveniji različno geografsko porazdeljene. Sliki 28 in 29 ponazarjata preiskovane osebe glede na kraj bivališča in regije zdravstvene ustanove, v katerih so bili obravnavani: KIBVS UKC Ljubljana, SB Celje, UKC Maribor, SB Novo mesto in SB Murska Sobota.



Slika 28: Preiskovane osebe glede na kraj bivališča (velikost točk ponazarja območja zgoščanja števila preiskovanih oseb).



Slika 29: Preiskovane osebe glede na kraj obravnave v regiji bolnišnice (velikost točk ponazarja območja zgoščanja števila preiskovanih oseb).

5 RAZPRAVA

5.1 Kronična okužba z virusom hepatitisa B v Sloveniji

Do sedaj še ni bila opravljena nacionalna epidemiološka raziskava o demografskih, viroloških in kliničnih značilnostih oseb, kronično okuženih s HBV, v Sloveniji. Podatke o pojavnosti in razširjenost okužbe s HBV v Sloveniji zbira in podaja NIJZ glede na prijave, ki jih prejme v okviru obveznega prijavljanja nalezljivih bolezni glede na Pravilnik o prijavi nalezljivih bolezni in posebnih ukrepih za njihovo preprečevanje in obvladovanje temelječ na 8., 14., 18., 20. in 40 člena Zakona o nalezljivih boleznih (93). Glede na rezultate naše raziskave ugotavljamo, da so podatki, prijavljeni NIJZ (94) in ECDC (95) v obdobju 1997–2010 najverjetneje precej podcenjeni, saj se število uradno prijavljenih primerov okužbe s HBV, ki jih podajata poročili NIJZ in ECDC ter število odkritih kronično okuženih s HBV v podatkovni zbirki IMI iz istega časovnega obdobja močno razlikujejo (Tabela 31). V naši podatkovni zbirki je zabeleženih 1.729 oseb, v zbirki NIJZ pa 1.128, kar je 1,5-krat oz. za 35,8 % več s HBV kronično okuženih oseb v istem časovnem obdobju.

Tabela 31: Število primerov kronične okužbe z virusom hepatitisa B v Sloveniji v obdobju 1997–2010 pri Evropskem centru za preprečevanje in nadzor bolezni, Nacionalnem inštitutu za javno zdravje ter Laboratoriju za molekularno mikrobiologijo in diagnostiko hepatitisov in aidsa (HIV) (94, 95).

Leto	ECDC	NIJZ CHB	NIJZ - neaktivni nosilci	NIJZ skupaj	IMI
1997	/	7	98	105	19
1998	/	7	68	75	154
1999	/	16	55	71	173
2000	/	31	55	86	137
2001	/	14	58	72	122
2002	/	23	58	81	109
2003	/	26	53	79	143
2004	/	31	60	91	134
2005	/	45	47	92	132
2006	31	31	55	86	154
2007	24	24	45	69	132
2008	37	37	52	89	124
2009	29	29	34	63	152
2010	35	35	34	69	44
Skupaj	156	356	772	1128	1729

NIJZ – Nacionalni inštitut za javno zdravje, ECDC – *angl.* European Center for Disease Prevention and Control – Evropski center za preprečevanje in nadzor bolezni, CHB – kronični hepatitis B, IMI – Laboratorij za molekularno mikrobiologijo in diagnostiko hepatitisov in aidsa (HIV)

Poročilo Evropskega centra za preprečevanje in nadzor bolezni navaja, da je bila v Sloveniji pojavnost akutne in kronične okužbe s HBV v letu 2007 nižja od 1 primera/100.000 prebivalcev (6). Glede na podatke Statističnega urada Republike Slovenije (SURS) o številu prebivalcev v Sloveniji na posamezno proučevano leto (96) in številu odkritih oseb na IMI v istem letu je znašala vsaj 6,6 primerov/100.000 prebivalcev (Tabela 32).

Tabela 32: Ocena letne pojavnosti (število primerov/100.000 prebivalcev) kronične okužbe z virusom hepatitisa B v Sloveniji v obdobju od 1998–2009 glede na podatke o številu odkritih primerov v Laboratoriju za molekularno mikrobiologijo in diagnostiko hepatitisov in aidsa (HIV) Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani (96).

Leto	Število primerov v podatkovni zbirki IMI	Število prebivalcev na 1. januar	Ocenjena letna pojavnost
1998	154	1.9849.23	7,8
1999	173	1.978.334	8,7
2000	137	1.987.755	6,9
2001	122	1.990.094	6,1
2002	109	1.994.026	5,5
2003	143	1.995.033	7,2
2004	134	1.996.433	6,7
2005	132	1.997.590	6,6
2006	154	2.003.358	7,7
2007	132	2.010.377	6,6
2008	124	2.025.866	6,1
2009	152	2.032.362	7,5

IMI - Laboratorij za molekularno mikrobiologijo in diagnostiko hepatitisov in aidsa (HIV)

Predvidevamo, da je razlog za neujemanje podatkov NIJZ in IMI nedosledno prijavljanje nalezljive bolezni slovenskih zdravnikov, kljub uradni dolžnosti in potencialni finančni kazni (93). Laboratorij IMI Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani je osrednji nacionalni laboratorij za celotno diagnostiko okužbe s HBV in edini, ki izvaja genotipizacijo HBV ter preiskavo plazemskega virusnega bremena DNK HBV. Testiranje na serološke označevalce okužbe s HBV pa se izvaja tudi v regijskih ZTM, kjer pa praviloma zaznavajo kronično okužbo, ki se večinoma bodisi klinično ni izrazila bodisi je bila že zdravljena (97). Zavod za transfuzijsko medicino že od leta 1970 prijavlja vse odkrite primere s pozitivnim izvidom HBsAg NIJZ, vendar pa nimamo podatka o tem, koliko tako odkritih HBsAg-pozitivnih oseb nato obišče specialista infektologa ali hepatologa kljub priporočilu, ki ga prejmejo na ZTM. Laboratorij IMI HBsAg-pozitivnih oseb ne prijavlja NIJZ. To pomeni, da je letno število kronično okuženih s HBV najverjetneje še večje od zaznanega v podatkovni zbirki IMI.

V podatkovni zbirki izrazito izstopata leti 1997 in 2010 z izredno nizkim številom HBsAg-pozitivnih oseb, ki je nižje od števila, prijavljenega NIJZ. Možno je, da se v letu 1997 še ni tako množično pošiljalo vzorcev krvi na testiranje na IMI (rutinsko določanje virusnega

bremena se je pričelo šele v letu 1997) in da so bile HBsAg-pozitivne osebe odkrite v regijskih ZTM, kar dokazuje tudi poročilo Levičnikove in sod. V obdobju 1991–1997 je bilo tam letno odkritih od 41 do 57 HBsAg-pozitivnih enot krvi, v obdobju 1998–2010 pa je število upadalo z 28 na 11 (97).

Leta 2010 je že intenzivno potekalo zbiranje epidemioloških in kliničnih podatkov s HBV kronično okuženih oseb po slovenskih bolnišnicah in možno je, da do konca decembra 2010 vse HBsAg-pozitivne osebe še niso bile vnesene v podatkovno zbirko IMI.

Naši rezultati v časovnem obdobju 1997–2010 ne kažejo statistično značilnega linearnega trenda v pojavnosti kronično okuženih s HBV. Poročilo ECDC za obdobje 2006–2012 pa kaže, da je pojavnost akutnih okužb s HBV v opazovanem obdobju v Evropi upadla, medtem ko je pojavnost kroničnih primerov okužbe s HBV porasla (11).

5.2 Značilnosti preiskovanih oseb

Med s HBV kronično okuženimi preiskovanimi osebami je bilo več moških (58,7 %) kot žensk, in sicer v razmerju 1,42 : 1. Podobno je glede na podatke ECDC tudi v drugih evropskih državah – v letu 2013 je bilo med okuženimi v Evropi 1,5-krat več moških kot žensk (95). Raziskave kažejo, da moški spol zaradi delovanja androgenov predstavlja večjo dovzetnost za kronični potek okužbe s HBV (60, 64). Razmerje med deležem moških in žensk v Sloveniji se tekom let v preučevanem obdobju ni spremenilo.

Največ preiskovanih kronično okuženih oseb je bilo v starostni skupini 30–40 let. V Evropi je bila v letu 2013 starostna skupina kronično okuženih nekoliko mlajša (25 do 34 let) (95). Ugotovili smo statistično značilen negativni linearni trend v gibanju števila primerov po posameznem letu v obdobju 1998–2009 pri moških, mlajših od 30 let, pozitivni linearni trend pri moških, starejših od 50 let ter negativni linearni trend v gibanju pojavnosti pri ženskah v starostni skupini med 30 in 40 let. V Evropi je bila v obdobju 2006–2012 porazdelitev okuženih glede na starost enaka, razen v starostni skupini pod 25 let, kjer se je z 22,3 % v letu 2006 znižala na 15,8 % v letu 2012, kar je najverjetneje pripisati učinkom v preteklosti uvedenega obveznega cepljenja otrok proti hepatitisu B (10).

Nekaj več kot polovica oseb iz naše podatkovne zbirke je imela virusno breme pod 2.000 IU/ml, kar jih glede na priporočila AASLD iz leta 2007 uvršča med neaktivne nosilce HBsAg

(66). Evropsko združenje za raziskave jeter je leta 2012 t. i. neaktivno nosilstvo HBsAg definiral nekoliko drugače (71), a smo se zaradi nezmožnosti časovnega sledenja zahtevanih kliničnih podatkov ob retrospektivni raziskavi odločili za prvi način opredelitve. Evropsko združenje za raziskave jeter neaktivno nosilstvo HBsAg definira šele po enoletnem laboratorijskem sledenju okuženih na 3 do 4 mesece, pri čemer mora biti ves čas virusno breme pod 2.000 IU/ml ter koncentracija ALT pod 40 U/L (71). V nam dostopni literaturi v zadnjih petih letih zasledimo nižje mejne koncentracije ALT (enotno 40 U/L za oba spola oz. za moške 30 U/L in za ženske 19 U/L) (71–75), vendar smo se odločili za mejno koncentracijo ALT 0,56 μ kat/L, kar ustreza vrednosti 33,6 U/L (98), ki je enotna v vključenih slovenskih bolnišnicah za oba spola zato, ker smo pri nekaterih bolnikih imeli na voljo le pisne podatke, da je koncentracija ALT v mejah normale, torej pod 0,56 μ kat/L, ne pa o konkretni vrednosti, in bi torej pri nižje postavljeni meji nekatere preiskovane osebe napačno uvrstili v skupino z normalnimi koncentracijami aminotransferaz. Upoštevanje nižjih mejnih koncentracij ALT pri kronično okuženih s HBV je priporočljivo, saj so raziskave pokazale, da je pri nekaterih osebah kljub normalnim koncentracijam ALT prišlo do napredovanja jetrne bolezni (99). Od 388 HBeAg-negativnih oseb vključenih v prospektivno japonsko raziskavo, v kateri je bila za nizka mejna koncentracija ALT (31U/L), niti ena v petih letih sledenja ni imela napredovanja v aktivno bolezen (100), kar pomeni, da so trenutne mednarodne smernice glede spremljanja neaktivnih nosilcev HBsAg ustrezne.

Med preiskovanimi osebami s HBeAg-pozitivno kronično okužbo je bilo statistično značilno več bolnikov z aktivno okužbo kot neaktivnih nosilcev HBsAg, ugotovitev pa je skladna z naravnim potekom okužbe s HBV (17, 60), kjer pa je izplen glede neaktivnih nosilcev še precej večji.

Med preiskovanimi osebami iz naše podatkovne zbirke je bilo 3,9 % tujcev. Po podatkih SURS je v Sloveniji delež tujcev ob popisu prebivalstva leta 2002 znašal 2 % (101), v letu 2016 pa je bilo v državi 5,4 % tujcev (102). Glede na podatke SURS predvidevamo, da število odraža realno razmerje med tujci in Slovenci. Zanimariti ne smemo dejstva, da je v podatkovni zbirki morda še bistveno več oseb neslovenske narodnosti, saj je bila pri večini preiskovancev glede na poreklo, narodnost enačena s slovenskim državljanstvom, v kolikor ni bilo specificirano drugače. Glede na podatke SURS je bilo med prebivalci Slovenije v letu 2011 skoraj 417.000 priseljencev (skoraj vsak peti). Več kot polovica priseljencev je sodila v prvo priseljsko generacijo, katere prvo prebivališče je bilo v tujini, večinoma v državah na

območju nekdanje Jugoslavije (103, 104). Tudi med tujci iz naše podatkovne zbirke sta dobri dve tretjini oseb iz republik bivše Jugoslavije.

Raziskava razširjenosti kronične okužbe s HBV med tujci in priseljenci v Sloveniji zaenkrat še ni bila opravljena. Ocene razširjenosti okužbe s HBV (HBsAg-pozitivni) v Evropi se gibajo od 1 % med priseljenci na Nizozemskem, do 24,8 % med priseljenci v južni Italiji (105, 106). Mednarodna raziskava, ki je vključila 7629 priseljencev iz 153 držav, vodenih v 41 klinikah raziskave GeoSentinel (*angl.* The Global Surveillance Network of the International Society of travel Medicine in Partnership with the CDC – Globalna mreža za nadzor Mednarodnega združenja za potovalno medicino v partnerstvu s CDC), ki je potekala v 19 različnih državah, je pokazala 4,8 % razširjenost prisotnosti HBsAg pri tujih otrocih ter 12,8 % pri odraslih (107), meta-analiza objav Rossija in sod. iz leta 2012 pa ocenjuje globalno razširjenost prisotnosti HBsAg med tujci in priseljenci na 7,2 % (108).

Glede na dejavnike tveganja se tujci iz naše podatkovne zbirke statistično značilno niso razlikovali od oseb slovenskega porekla. Italijanska raziskava iz leta 2015, ki je zajela 3728 priseljencev, živečih v severni Italiji, je pokazala 6 % prisotnost HBsAg. Pri 55,7 % je bil dejavnik tveganja za okužbo neznan, sledili so dejavniki tveganja "občasni spolni stiki" in "tvegano spolno vedenje" (pri 37,2 % in 6,4 %) ter pri "IVUD" (pri 0,7 %). Podobne rezultate smo dobili tudi v naši preučevani skupini tujcev – dejavnik tveganja je bil neznan pri dobri polovici, nekoliko večkrat so navedli "IVUD" (3 %), medtem ko je bil dejavnik tveganja "tvegano spolno vedenje" prisoten pri 7 % (109). Raziskava, ki je zajela Nizozemsko, Nemčijo, Finsko, Dansko, Švedsko in Veliko Britanijo, je pokazala 4–4,6 % prisotnost HBsAg med priseljenci in pomembne razlike med dejavniki tveganja glede na avtohtone prebivalce. Med slednjimi so bili najpogostejši načini prenosa "IVUD", "heteroseksualni spolni stiki" ter "MSM", med priseljenci pa je bil najpogostejši dejavnik tveganja perinatalna okužba (110). Pomembno se je zavedati, da se zaradi množičnih selitev prebivalstva epidemiologija in razširjenost okužbe s HBV v Evropi in svetu spreminjata. Predvidevamo, da bodo te razlike zaradi trenutne geopolitične situacije v Evropi in množičnih pri(e)seljevanj v naslednjih letih še izrazitejše in bodo vplivale tudi na epidemiologijo okužbe s HBV v Sloveniji (14).

5.3 Dejavniki tveganja za okužbo z virusom hepatitisa B

Pri skoraj 60 % preiskovanih oseb je bil dejavnik tveganja za okužbo s HBV neznan, po pogostnosti pa so sledili "okužba s HBV v družini" (19,8 %), "transfuzija krvi ali krvnih pripravkov" (8 %), "tvegano spolno vedenje" (4,5 %), "zdravstveni delavec" (3,4 %) ter "IVUD" (2,3 %). Ostali dejavniki tveganja so bili prisotni pri manj kot 2 % okuženih.

Dejavniki tveganja so se statistično značilno razlikovali tako med spoloma, kot med starostnimi skupinami.

Tudi glede na poročilo ECDC iz leta 2013 je bil dejavnik tveganja za okužbo s HBV v Evropi neznan pri 78,7 % prijavljenih primerov akutnih in kroničnih okužb. Med akutnimi okužbami je bil v Evropi najpogostejši način prenosa heteroseksualni spolni odnos (30,5 %), sledil je "bolnišnični prenos" (18,9 %), prenos pri "IVUD" (13,2 %) ter prenos med "MSM" (9,4 %), pri kronično okuženih osebah pa je bil na prvem mestu prenos z matere na otroka (43,5 %) (95).

Pri kronično okuženih osebah v naši podatkovni zbirki smo pri dejavnikih tveganja "transfuzija krvi ali krvnih pripravkov" in "tvegano spolno vedenje" ugotovili statistično značilen časovni pozitivni linearni trend.

Trendi v načinu prenosa so prisotni in se spreminjajo tudi v Evropi. Med leti 2006–2012 je porasel delež akutnih okužb povezanih z bolnišničnim prenosom z 12,8 % v letu 2006 na 20,6 % v letu 2012, ter upadel delež okuženih IVUD s 13,1 % na 3,9 %, najverjetneje zaradi uvedenega obveznega cepljenja otrok proti hepatitisu B. Delež prenosov z matere na otroka je porasel z 41,2 % v letu 2006 na 67,0 % v letu 2012 (10), kar je najverjetneje posledica priseljevanja oseb iz endemičnih predelov.

5.3.1 *Neznan dejavnik tveganja*

Za 58,5 % preiskovanih oseb iz naše podatkovne zbirke je bil dejavnik tveganja za okužbo neznan, med osebami, starimi 30 let in več, pa je bil delež teh statistično značilno večji kot pri mlajših. Med spoloma nismo ugotavljali razlik. Glede na podatke iz nam dostopne literature je dejavnik tveganja za okužbo s HBV neznan pri približno 30 % okuženih (17, 55). Poročilo ECDC iz leta 2013 navaja, da je bil dejavnik tveganja za okužbo v Evropskih državah neznan

pri skoraj 80 % kronično okuženih s HBV (95). Razlogov za večji delež neznane etiologije za okužbo med preiskovanimi osebami iz naše podatkovne zbirke je več. Dokumentacija je bila pregledovana retrospektivno in podatek o načinu prenosa in dejavnikih tveganja velikokrat ni bil zabeležen oz. dostopen. Možno je, da zdravnik, ki je odkril okužbo s HBV, načina okužbe ni zabeležil ali o njem ni povprašal. Morda pa je vzrok v preiskovanih osebah. Predvsem starejše in slabše izobražene osebe mnogokrat niso seznanjene z možnimi načini prenosa okužbe s HBV, in so morda zato na vprašanje o načinu okužbe odgovorile z »ne vem« (111). Na to nakazuje ugotovitev, da je delež oseb z neznanim dejavnikom tveganja za okužbo statistično značilno večji pri starejših od 30 let v primerjavi z mlajšimi. Razlog, da je med mlajšimi osebami dejavnik tveganja pogostejše znan, so verjetno boljše ozaveščanje, poznavanje bolezni, boljša izobrazba, drugačni odnosi v modernih družinah ter vpliv organizacije primarnega zdravstva v Sloveniji z močno razvito mrežo družinskih zdravnikov, ki vodijo celotno družino in jo tudi dodobra poznajo (112).

5.3.2 Dejavnik tveganja "okužba z virusom hepatitisa B v družini"

Najpogostejši dejavnik tveganja, prisoten pri skoraj petini preiskovanih oseb iz naše podatkovne zbirke je bil "okužba s HBV v družini", njegova pogostnost pa se je statistično značilno zmanjševala z naraščajočo starostjo.

Virus hepatitisa B je zelo prenosljiv ne le z okuženo krvjo, ampak tudi nekaterimi telesnimi tekočinami (17). V družini oz. skupnem gospodinjstvu je pomemben dejavnik tveganja menjava osebne pribora (zobne ščetke, brivniki, manikirni pribor, itd.), ki lahko vsebuje majhne, prostemu očesu nevidne količine krvi s HBV (morda še nepoznano okuženega člana) (55).

Med otroki v naši podatkovni zbirki se je ta dejavnik tveganja pojavil še bistveno pogostejše (68,8 %). Najverjetneje je šlo pri večini teh otrok za perinatalen prenos z okuženih mater ali prenos v zelo zgodnjem otroštvu, še posebej glede na evropske podatke, kjer je po deležu med kroničnimi okužbami na prvem mestu ravno prenos z matere na otroka in da se njegov delež z leti še zvišuje (z 41,2 % v letu 2006 na 67 % v letu 2012) (10). Tveganje za prenos z matere na otroka je največje pri porodu, izjemoma pa do prenosa pride tudi z dojenjem oz. že znotrajmaternično (55). Po podatkih ECDC se razširjenost HBsAg med nosečnicami v evropskih državah giblje od 0,1 % (v Španiji) do 4,4 % (na Slovaškem) in je v več evropskih

državah (Nemčija, Grčija, Irska, Italija, Nizozemska, Slovaška) višja od tiste v splošni populaciji, razlog za to pa je najverjetneje v tem, da je med priseljenkami razširjenost HBsAg višja kot med avtohtonimi prebivalkami (105).

Glede na uvedbo obveznega testiranja nosečnic na prisotnost HBsAg od leta 1994 ter obveznega cepljenja proti hepatitisu B otrok rojenih po letu 1992 (80, 84, 85) bi pričakovali, da je v Sloveniji delež HBsAg-pozitivnih otrok izredno nizek oz. da takih otrok sploh ni. Ugotovili smo, da je v gibanju okuženih otrok v proučevanem obdobju prisoten statistično značilen negativen linearni trend ($p = 0,006$). V obdobju 1979–1994 je bilo HBsAg-pozitivnih 39 slovenskih otrok in dva tuja, v obdobju od 1995–2004 pa le še osem slovenskih otrok in trije tuji. Rojenih po letu 1994 je bilo 11/52 (21,1 %) preiskovanih otrok, pred letom 1994 pa 41/52 (78,8 %) preiskovanih otrok. Po podatkih SURS (101) je bilo v obdobju 1979–1994 živorojenih 401.034 otrok in v podatkovni zbirki HBsAg-pozitivnih 39 slovenskih otrok, v obdobju od 1995–2004, pa živorojenih 179.762 otrok ter HBsAg-pozitivnih osem slovenskih otrok. Razlika v deležu v raziskavi vključenih otrok slovenskega porekla rojenih pred letom 1994 in po njem je bila statistično značilna ($p = 0,039$). Primerjava števila s HBV okuženih otrok, rojenih do leta 1994, s tistimi, rojenimi po letu 1995, je torej pokazala statistično značilno manj otrok, kronično okuženih s HBV v drugem obdobju. Ti rezultati prvič v Sloveniji dokazujejo, da sta obvezno cepljenje otrok in testiranje nosečnic na HBsAg pomembno zmanjšala razširjenost kronične okužbe s HBV med otroki v Sloveniji. Po še neobjavljenih podatkih so bili v letu 2016 na KIBVS obravnavani trije otroci s CHB, vendar njihovi starši niso Slovenci (en otrok kitajskih staršev, en bosanskih, en makedonskih). Zadnji na KIBVS obravnavani otrok slovenskih staršev je bil rojen leta 1996 v porodnišnici v Postojni, njegov oče pa se je s HBV okužil med služenjem v JLA (prim. mag. Breda Zakotnik, dr. med., osebna komunikacija).

5.3.3 Dejavnik tveganja *"transfuzija krvi ali krvnih pripravkov"*

Osem odstotkov preiskovanih oseb iz naše podatkovne zbirke je kot dejavnik tveganja navedlo *"transfuzija krvi ali krvnih pripravkov"*, pogostnost omenjenega dejavnika tveganja pa se statistično značilno večala s starostjo. Osebe z dejavnikom tveganja *"transfuzija krvi ali krvnih pripravkov"* so bile statistično značilno starejše od ostalih HBsAg-pozitivnih oseb v naši podatkovni zbirki. Ugotovitev je v skladu z evropskimi in svetovnimi trendi, saj je povsod razširjenost na transfuzijo krvi in krvnih pripravkov vezane kronične okužbe s HBV

po uvedbi obveznega testiranja darovane krvi in krvnih pripravkov na okužbe, ki se prenašajo s krvjo, močno upadla. Razširjenosti kronične okužbe s HBV med krvodajalci v Evropi se po ocenah ECDC giba med 0,0 % in 5,2 % in je nekoliko nižja kot ocenjene razširjenosti v splošnih populacijah (105). Po podatkih ZTM je bil delež HBsAg-pozitivnih enot krvi v obdobju 1991–2010 v Sloveniji med 0,0113 in 0,0608 % (97, 113).

Nekoliko presenetljiva je ugotovitev, da je trend dejavnika tveganja "transfuzija krvi ali krvnih pripravkov" v preučevanem obdobju pozitiven. Predvidevamo, da v preučevanem obdobju ne gre za dejanski porast okužb, povezanih s prejemom transfuzije krvi ali krvnih pripravkov. Ker se s krvjo prenašajo različne okužbe, so namreč na ZTM že leta 1960 pričeli kri vseh krvodajalcev testirati na sifilis, leta 1970 na HBV, leta 1986 na HIV in leta 1993 na HCV, od leta 2006 pa izvajajo tudi molekularno testiranje na omenjene virusne povzročitelje in je posledično postala možnost njihovega prenosa s krvjo in krvnimi pripravki skoraj nična (97, 114). Kljub tovrstnemu testiranju krvi in krvnih pripravkov v izredno redkih primerih lahko pride do okužbe. V letu 2013 je v Splošni bolnišnici Celje prišlo do dokumentiranega prenosa HBV na dva bolnika s transfuzijo sveže zamrznjene plazme, kljub uporabi najbolj občutljivih metod za presejalno testiranje krvodajalcev (115). Najverjetneje opazovan pozitiven trend ni posledica večjega števila potransfuzijskih okužb v preučevanem obdobju, temveč večjega števila na novo odkritih oseb, ki so se okužile s HBV bodisi v preteklosti, pred uvedbo obveznega testiranja darovane krvi in krvnih pripravkov (še posebej z molekularnimi metodami), bodisi zunaj meja Slovenije, v državah, kjer kri in krvni pripravki niso rutinsko testirani na krvno prenosljive viruse (97). Ob tem velja izpostaviti, da so bile osebe z dejavnikom tveganja "transfuzija krvi ali krvnih pripravkov" statistično značilno starejše od ostalih, saj v primeru aktualnih novih okužb statistično značilne razlike v starosti ne bi pričakovali.

5.3.4 Dejavnik tveganja "tvegano spolno vedenje"

Štiri in pol odstotka preiskovanih oseb iz naše podatkovne zbirke je navajalo "tvegano spolno vedenje", kar je bistveno manj, kot navajajo nam dostopna poročila iz drugih razvitih držav, (55, 58). Tveganje za prenos pri spolnem odnosu z okuženo osebo ocenjujejo na 30–40 % (55). V razvitem svetu in v neendemičnih predelih je spolni prenos najpogostejši način prenosa HBV (55). Med preiskovanimi osebami iz naše podatkovne zbirke je bilo oseb z izključno spolnim dejavnikom tveganja 49 (4,4 %) – od tega 35 (71,4 %) heteroseksualnih

oseb, 10 MSM (20,4 %) in 4 v biseksualnem odnosu (8,2 %). V Evropi je najpogostejše navajanje načina prenosa HBV tvegan heteroseksualni spolni stik (30,5 %), prenos med MSM pa je prisoten pri 9,4 % (95). V ZDA ocenjujejo, da gre v 39 % za heteroseksualen prenos HBV ter v 24 % za prenos med MSM (116).

Dejavnik tveganja "MSM" je navedlo 0,9 % preiskovanih oseb iz naše podatkovne zbirke. V Evropi je bilo do sedaj opravljeno malo raziskav o razširjenosti HBV med MSM. Švedska raziskava je pokazala 4 % razširjenost, presečna škotska raziskava pa 0 % pri 80 MSM v Glasgowu v letih 1993, 1997 in 2001 (117, 118).

V nevladni organizaciji Legebitra v Ljubljani, se je po neobjavljenih podatkih v letu 2016 na okužbo s HBV testiralo 818 oseb. Pri 16 osebah (2,0 %) so zaznali bodisi prisotnost HBsAg bodisi protiteles anti-HBc. Tristo petnajst oseb (38,5 %) je imelo v krvi prisotna protitelesa anti-HBs, najverjetneje večinoma po cepljenju proti hepatitisu B, saj je šlo za mlajšo populacijo. Sto dve osebi (12,5 %), pri katerih niso zaznali nobenih protiteles oz. HBsAg, so napotili na cepljenje proti hepatitisu B (g. Peter Štangelj, osebna komunikacija).

Najverjetneje v Sloveniji spolni prenos HBV ni izrazito manj pogost dejavnik tveganja, temveč majhno število navajanja tega dejavnika tveganja odraža pomanjkljivosti pri pridobivanju oz. podajanju anamneze. Najverjetneje pa dobršen del okuženih oseb, ki so navajale neznan dejavnik tveganja, sodi v to skupino. Klavsova s sod. v raziskavi, ki je zajela 849 moških in 903 ženske, poroča, da je imelo 15 % moških in 7 % žensk prvi spolni odnos pred 15 letom starosti; le 71 % moških in 64 % žensk je pri prvem spolnem odnosu uporabila zaščito s kondomom; kar 28 % moških in 6 % žensk je imelo tekom življenja več kot 10 spolnih partnerjev, kar vse sodi med tvegano spolno vedenje za pridobitev spolno prenesene okužbe. Manj kot en odstotek moških je navedlo spolni odnos z moškim (119, 120).

Ugotavljali smo pozitiven trend v gibanju števila oseb z dejavnikom tveganja "tvegano spolno vedenje", kar je morda posledica vse večjega ozaveščanja prebivalstva o tveganju za prenos HBV pri nezaščiteneh odnosih in potrebi po čim prejšnjem testiranju na okužbo.

5.3.5 Dejavniki tveganja "zdravstveni delavec"

Med preiskovanimi osebami je bilo 3,4 % oseb, ki so kot dejavnik tveganja navedle možnost prenosa v zdravstvu. Delež tega dejavnika tveganja se je z višjo starostjo povečeval, vendar

razlike niso bile statistično značilne. Upad razširjenosti med mlajšimi osebami je posledica uvedbe obveznega cepljenja proti hepatitisu B za zdravstvene delavce v letu 1983 (85). Podobne ugotovitve kažejo tudi rezultati raziskav iz tujine. V 70. letih prejšnjega stoletja je bila razširjenost okužbe s HBV med zdravstvenimi delavci v ZDA 6–15 %, kar je bilo 10-krat več kot v splošni populaciji, v naslednjih 20 letih pa se je zaradi uvedbe obveznega cepljenja zdravstvenih delavcev to razmerje obrnilo. Glede na podatke Centra za nadzor in preprečevanje bolezni (*angl.* Center for Disease Control and Prevention – CDC) je bilo v ZDA leta 1983 okuženih 17.000 zdravstvenih delavcev, leta 1995 pa le še 800 (121).

Ocenjuje se, da je verjetnost prenosa HBV ob enem incidentu v zdravstvu (vbodu, vrezu, politju, obrizgu z okuženo krvjo) v povprečju 30 % (23–62 %). Nevarnost za prenos okužbe s HBeAg-pozitivnega vira okužbe je ocenjena na 22–40 %, s HBeAg-negativnega vira okužbe pa le na 1–6 % (122).

V zdravstvu je potrebno dosledno upoštevanje splošnih previdnostnih ukrepov (123, 124) pri ravnanju s krvjo in telesnimi tekočinami, kar vključuje uporabo materiala za enkratno uporabo splošna načela čiščenja, dezinfekcije in sterilizacije v zdravstvu ter zavarovanje kože in sluznic z uporabo rokavic, zaščitnih oblačil, maske, pokrival in očal, označevanje kužnega materiala in preprečevanje nezgod z ostrimi instrumenti. Pomembno je tudi izobraževanje zdravstvenih delavcev o preprečevanju prenosa okužb s krvjo, načinih prenosa ter posledicah izpostavljenosti in potrebnih preventivnih ukrepih (125).

Med zdravstvenimi delavci iz naše podatkovne zbirke je bilo statistično značilno več žensk kot moških. V naši državi je bilo v zdravstvu in socialnem varstvu v letu 2001 zaposlenih 56.581 ljudi, od tega so največji delež predstavljale medicinske sestre (med katerimi je še danes skoraj 90 % žensk), sledili pa so zdravniki, čistilci, strežniki in drugi (126, 127). Raziskave o incidentih na delovnem mestu v zdravstvu kažejo, da so okužbi s HBV najbolj izpostavljene medicinske sestre in kirurgi, zaradi narave svojega dela (128).

5.3.6 Dejavnik tveganja "intravenska uporaba drog"

Dejavnik tveganja "IVUD" je navedlo 2,3 % preiskovanih oseb iz naše podatkovne zbirke. Dejavnik tveganja se je statistično značilno pogosteje pojavljal pri moških ter pri osebah, starih 40 let ali manj. Rezultat je v skladu z rezultatom raziskave Baklana in sod., ki je preučevala IVUD na nadomestnem zdravljenju odvisnosti z metadonom v Mariboru. Med

testiranimi IVUD so prevladovali moški, ugotovili pa so, da je aktivna okužba s HBV prisotna pri 2,5 % (129). V obdobju 2010–2014 se je v nacionalni mreži CPZOPD 667 uporabnikov drog testiralo na okužbo s HBV, stopnja razširjenosti okužbe s HBV pa se je gibala med 2 in 8,1 % (130). Glede na poročilo Evropskega centra za nadzor nad drogami in odvisnostjo od drog (*angl.* European Monitoring Center for Drugs and Drug Addiction – EMCDDA) in ECDC je Slovenija uvrščena med države z nizko razširjenostjo okužbe s HBV pri IVUD (131, 132). Vzrok je najverjetneje tudi v uvedbi cepljenja proti hepatitisu B v mreži CPZOPD in rednega testiranja na okužbo s HBV ter ozaveščanja o nevarnostih okužbe pri vbrizgavanju drog. Ocenjene razširjenosti okužbe s HBV med IVUD se v Evropi med državami močno razlikujejo in so se v letu 2006 gibale od 0,0 % v Belgiji do 11,6 % v Bolgariji. Razširjenost kronične okužbe s HBV pri IVUD je višja v srednji in vzhodni Evropi kot v zahodni Evropi (132). Sistematični pregled Nelsona in sod. iz leta 2011, ki je zajel podatke raziskav iz 77 držav, je pokazal razširjenost HBsAg med IVUD od 3,5–30,9 % z globalno oceno 8,4 % (133).

V naši populaciji so statistično značilno pogostejše IVUD kot dejavnik tveganja navedli moški kot ženske. Odvisnost od prepovedanih drog v Sloveniji je pogostejša pri moških kot pri ženskah. Med dolgotrajnimi uporabniki programov mreže CPZOPD je bilo v letu 2014 79,9 % oseb moškega spola in 20,1 % ženskega spola (130). Intravenska uporaba drog je pogostejši dejavnik tveganja med moškimi kot med ženskami tudi v Turčiji, Italiji, v ZDA, Avstraliji in Luksemburgu, vendar razlike niso povsod statistično značilne (134–138).

Povprečna starost IVUD, ki so leta 2014 odgovorile na vprašalnik mreže CPZOPD je bila 35,5 let, največ pa jih je bilo v starostni skupini 31–35 let, podatek pa je skladen z izsledki naše raziskave (130).

5.3.7 Dejavnik tveganja "hemodializa"

Rezultati naše raziskave kažejo, da je bil med preiskovanimi osebami iz naše podatkovne zbirke dejavnik tveganja "hemodializa" prisoten pri 1,6 %, statistično značilno pa so bile te osebe starejše od 50 let. Sistematični pregled iz različnih predelov sveta, ki je leta 2013 zajel objavljene raziskave med leti 1997 in 2012, kaže razpon razširjenosti HBsAg med hemodializnimi bolniki od 0–58 % (139). Najnovejše raziskave iz različnih predelov sveta pa kažejo razširjenosti med 1,5 in 3,8 % (140–145).

Konec leta 2012 se je v Sloveniji zdravilo v programu nadomestnega dializnega zdravljenja 2063 bolnikov, 1416 bolnikov s hemodializo in peritonealno dializo, 647 pa je imelo ledvico presajeno (146). Po podatkih Registra Slovenskega nefrološkega društva je bilo med leti 1999–2008 v Sloveniji v program nadomestnega dializnega zdravljenja vključenih od 13 do 21 HBsAg-pozitivnih oseb. Razširjenost HBsAg med bolniki, vključenimi v program nadomestnega dializnega zdravljenja v letu 2005, je bila 2,2 % (147). V UKC Ljubljana je trenutno v programu nadomestnega dializnega zdravljenja vključenih 210 bolnikov, od tega je šest HBsAg-pozitivnih. Vse HBsAg-pozitivne osebe, ki v ljubljanski regiji potrebujejo nadomestno dializno zdravljenje, se dializirajo na Kliničnem oddelku za nefrologijo v UKC Ljubljana (mag. Miha Benedik, dr. med, osebna komunikacija).

Vse omenjene raziskave kažejo upad razširjenosti HBsAg med bolniki na hemodializi v zadnjih dvajsetih letih. Naša ugotovitev, da je delež s HBV kronično okuženih hemodializnih bolnikov manjši med mlajšimi osebami, je posledica uvedbe obveznega cepljenja hemodializnih bolnikov proti hepatitisu B (od leta 1990 dalje), uporaba ločenih hemodializnih aparatov in splošnih previdnostnih ukrepov za preprečevanje prenosa krvno prenosljivih okužb v hemodializnih centrih (148).

5.3.8 Dejavniki tveganja "tetovaža", "prebadanje kože/sluznic", "naključni vbodi zunaj zdravstva"

Dejavnik tveganja "tetovaža/prebadanje kože/sluznic" je navedlo 1,2 % preiskovanih oseb iz naše podatkovne zbirke. Meta-analiza objav o prebadanju kože in sluznic iz leta 2015, ki je vključila 40 raziskav, je pokazala, da so za tovrstno okužbo ogroženi mlajši odrasli, najbolj študenti (149). Med našimi preiskovanimi osebami, ki so navedle dejavnik tveganja "tetovaža/prebadanje" statistično značilnih razlik v starosti glede na ostale HBsAg-pozitivne osebe iz naše podatkovne zbirke nismo našli.

Tveganje za prenos okužbe pri tetoviranju/prebadanju je visoko, saj gre nemalokrat za lokale z nesterilnim priborom. Verjetnost, da se HBV prenese na tetovirano/prebodo osebo, je odvisna od vrste kužnine in narave poškodbe (123, 124), večje tveganje za prenos okužbe s HBV pa nosi prebadanje kot tetoviranje (150).

Naključni vbod zunaj zdravstva je kot dejavnik tveganja navedlo 1,3 % preiskovanih oseb iz

naše podatkovne zbirke, od tega statistično značilno več žensk in tistih v starostni skupini 40–50 let. Nam dostopnih raziskav, ki bi preučevale ta dejavnik tveganja in njegovo povezanost s starostjo in spolom, ni na voljo. V Sloveniji imamo od leta 2013 smernice za ravnanje ob poškodbi z ostrim predmetom, ki je onesnažen s krvjo ali drugim telesnim izločkom zunaj zdravstva (151).

5.3.9 Dejavnik tveganja *"cepljenje v Jugoslovanski ljudski armadi"*

Sedem (0,6 %) preiskovanih oseb iz naše podatkovne zbirke je kot dejavnik tveganja navedlo cepljenje v JLA (Slika 30), kar predstavlja statistično značilen dejavnik tveganja v starostni skupini moških starejših od 46 let. Pri cepljenju v JLA se glede na pričevanja moških, ki so služil vojaški rok, igle niso menjavale in je posledično prihajalo do prenosa okužb. Znanstvenih poročil o omenjenem dejavniku tveganja v nam dostopni literaturi ni. Na enem izmed slovenskih internetnih forumov je možno zaslediti naslednjo pripoved: *".../ Se pa spominjam, da nas je bilo v vođu 20, ko smo se šli cepit, smo se razdelili v dve koloni po deset in vsako kolono so cepili le z ENO injekcijo. To je bilo leta 1990, verjetno je takrat tudi JLA že poznala bolezni, kot so HIV ali hepatitis. Cepil nas je diplomant MF, ki je vsakemu od desetih pač vbrizgal del doze iz iste injekcije. Sosednjo kolono je cepil veterinarski tehnik /.../"* (152).

Glede na našo ugotovitev, bi bilo smiselno vse moške, ki so bili cepljeni med služenjem vojaškega roka v JLA, povabiti na testiranje na okužbo s HBV. Služenje vojaškega roka v JLA se je za Slovence zaključilo leta 1991. Naša raziskava je prva, ki navaja služenje vojaškega roka v JLA kot statistično pomemben dejavnik tveganja za okužbo s HBV.



Slika 30: Cepljenje v Jugoslovanski ljudski armadi v Cerkljah 25. 3. 1972 (153).

5.4 Prisotnost ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B

5.4.1 Razširjenost in trendi kronične okužbe z virusom hepatitisa B brez e antigena v preučevanem obdobju

Rezultati raziskave so v skladu s predvidevanji pokazali, da v Sloveniji prevladuje HBeAg-negativna kronična okužba s HBV. V preučevanem obdobju je bila povprečna razširjenost HBeAg-negativne okužbe 85,5 %, kar nas uvršča ob bok drugim mediteranskim državam (154–157). Razširjenosti HBeAg-negativne okužbe v Evropi in Mediteranu so predstavljene v Tabeli 33. Pomembno je poudariti, da so vse omenjene raziskave zajele le določen delež populacije okuženih s HBV v posamezni državi, saj nobena ni v celoti obravnavala populacije enega geografskega področja oz. enega naroda, kar je bil namen naše raziskave (154–173).

Tabela 33: Najpomembnejše raziskave o razširjenosti kronične okužbe z virusom hepatitisa B brez e antigena v Evropi in Mediteranu (154–173).

DRŽAVA, AVTOR, LETO	ŠTEVILO PREISKOVANIH OSEB (N)	RAZŠIRJENOST HBeAg-negativne kronične okužbe
Belgija , Deltenre et al., 2012	1456	28,8 %
Danska , Fisker et al., 2004	309	63,5 %
Francija , Zarski et al., 2006	865	72 %
Francija , Cadranell et al., 2007	1166	57 %
Francija , Moussa et al., 2016	157	89 %
Grčija , Hadziyannis et al., 1983	33	76 %
Grčija , Laras et al., 1998	36	86 %
Grčija , Fylaktou et al., 2011	135	62,5 %
Italija , Realdi et al., 1980	116	54 %
Italija , Alberti et al., 1986	92	30 %
Italija , Giusti et al., 1991	1197	55,4 %
Italija , Saganelli et al., 2008	1336	86,4 %
Italija , Zuccaro et al., 2015	103	31,7 %
Maroko , Ezzikouri et al., 2008	91	86 %
Nemčija , Niederau et al., 2007	250	66,4 %
Srbija , Lazarević et al., 2007	85	74,1 %
Turčija , Bozdayi et al., 1999	81	42 %
Turčija , Sunbul et al., 2005	88	62,5 %
Turčija , Ciftci et al., 2012	63	74,6 %
Turčija , Celen et al., 2014	7871	81,1 %

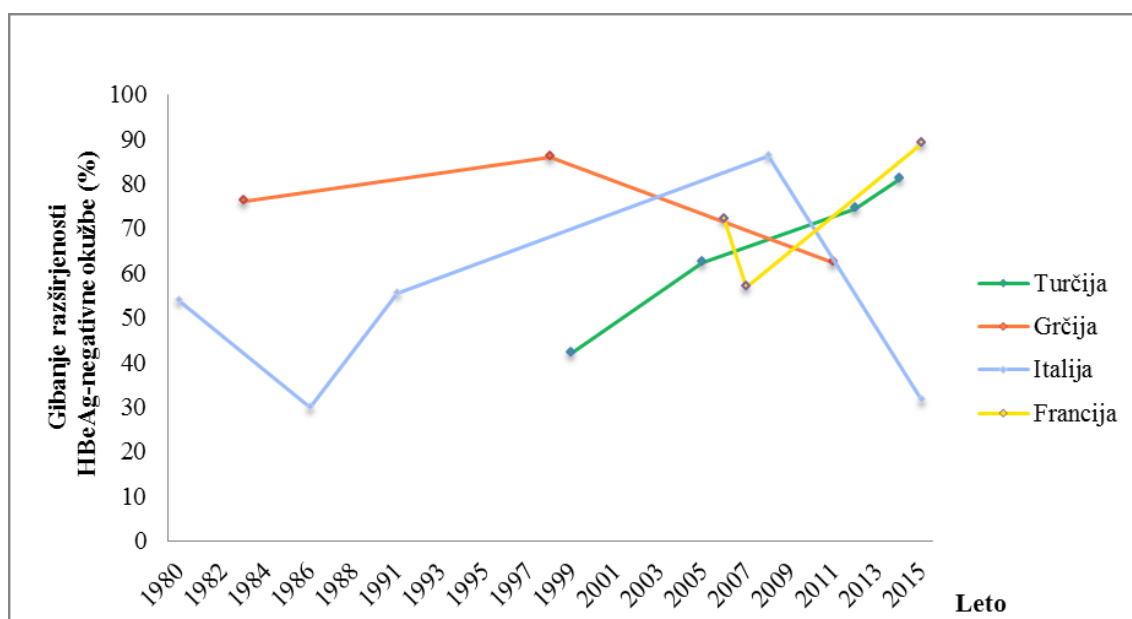
HBeAg - e antigen virusa hepatitisa B

V meta-analizi objav je Funk s sod. leta 2001 ocenil povprečno razširjenost HBeAg-negativne kronične okužbe s HBV v Mediteranu na 33 %, v Aziji in Pacifiku na 15 % ter na 14 % v ZDA in v Severni Evropi (56). Glede na nam dostopna poročila se razširjenost HBeAg-negativne kronične okužbe s HBV v srednji in severni Evropi giblje med 30 in 66,4 %, v državah Mediterana pa med 31,7 in 89 % (154–173).

V nasprotju z našo hipotezo v preučevanem obdobju po posameznem letu ne ugotavljamo porasta števila preiskovanih oseb s HBeAg-negativno kronično okužbo, temveč statistično značilen negativen trend, medtem ko je trend števila preiskovanih oseb s HBeAg-pozitivno kronično okužbo pozitiven, vendar ne statistično značilen. Na gibanje razširjenosti HBeAg-negativne kronične okužbe s HBV v Evropi lahko sklepamo na temelju raziskav iz Francije, Italije, Grčije in Turčije (Sliki 31). V Franciji in Turčiji je razširjenost HBeAg-negativne okužbe v porastu, v Italiji in Grčiji pa so beležili upad. V Franciji je na temelju rezultatov treh

raziskav, opravljenih med leti 2006 in 2015, prisoten porast razširjenosti HBeAg-negativne okužbe iz 57 na 89 % (156, 160, 161). V raziskavo Zarskega s sod. je bilo vključenih 865 oseb s CHB, vodenih v 26 univerzitetnih bolnišnicah v Franciji. Razširjenost HBeAg-negativnega CHB je bila v preučevani skupini 72 % oz. višja med bolniki, rojenimi v Afriki, na Bližnjem vzhodu in v Južni Evropi (160). V francoski raziskavi iz leta 2007, ki je zajela 1166 novoodkritih HBsAg-pozitivnih oseb v neuniverzitetnih francoskih bolnišnicah, je bilo 29 % neaktivnih nosilcev HBsAg ter 50 % bolnikov s CHB. V skupini bolnikov je imelo 43 % HBeAg-pozitivni CHB in 57 % HBeAg-negativnega (161). Raziskava Mousse in sod. iz leta 2015, ki je zajela 157 bolnikov iz francoskega obmorskega mesta Marseille, kaže na izredno visoko razširjenost HBeAg-negativnega CHB (89 %) (156). Podobno je v Turčiji med leti 1999–2014 prišlo do porasta razširjenosti le-tega z 42 % na 81,1 % (170–173).

Tudi v Italiji so od zgodnjih osemdesetih let pa vse do leta 2008 ugotavljali značilen porast razširjenosti HBeAg-negativnega CHB s 30–55 % na 86,4 % (154, 155, 164–166), presenetljivo pa najnovejša raziskava iz leta 2015 kaže drastičen upad razširjenosti na 31,7 % (167). Italijanska raziskava Giustija s sod., ki je zajela bolnike s CHB, odkrite med leti 1975–1985 v 16 centrih za hepatologijo, je pokazala, da je bila razširjenost HBeAg-negativnega CHB 55,4 % (166). Raziskava Saganella s sod. iz leta 2008, ki je zajela 1336 bolnikov, obravnavanih v 79 bolnišnicah različnih predelov države, pa je pokazala porast razširjenosti HBeAg-negativnega CHB na 86,4 % (155). Nedavna raziskava Zuccara, ki je zajela zgolj 103 bolnike, odkrite med leti 2005–2007 v 15 različnih zdravstvenih centrih severne, osrednje in južne Italije, je pokazala upad razširjenosti HBeAg-negativnega CHB na 31,7 %. Hkrati so ugotovili tudi značilen porast razširjenosti genotipov ne-D HBV, ki so v primerjavi z genotipom D manj pogosto prisotni pri HBeAg-negativnem CHB (167). Podobno so v Grčiji konec devetdesetih let prejšnjega tisočletja ugotavljali 76–85 % razširjenost HBeAg-negativnega CHB (154, 162), raziskava Fylaktoua in sod., opravljena več kot 10 let pozneje, pa kaže upad razširjenosti na 62,5 % (163).



HBeAg – e antigen virusa hepatitisa B

Slika 31: Grafični prikaz časovnega gibanja razširjenosti kronične okužbe z virusom hepatitisa B brez e antigena v Italiji, Franciji, Grčiji in Turčiji (154–156, 160–167, 170–173).

Po nam dostopnih podatkih raziskav, ki bi sistematično opisovale upad razširjenosti HBeAg-negativne kronične okužbe s HBV v Evropi zaenkrat ni na voljo. Razlogi za upad razširjenosti HBeAg-negativne kronične okužbe v Sloveniji in drugih državah je lahko posledica spremenjenih epidemioloških razmer okužbe s HBV (174). Iz Evrope namreč prihajajo poročila o vedno večji razširjenosti genotipov HBV ne-D v zadnjem desetletju (174), kar je verjetno posledica spremenjenih spolnih in potovalnih navad prebivalstva (175) ter masivnih migracij (174, 176), prisotnost genotipov ne-D pa manjša verjetnost za HBeAg-negativno kronično okužbo (32). O premikih genotipov podrobneje razpravljam v nadaljevanju.

5.4.2 Pristnosti ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B in starost

Dokazali smo, da se z višanjem starosti statistično značilno nižja verjetnost za HBeAg-pozitivno kronično okužbo s HBV. HBeAg-pozitivne osebe so imele tudi statistično značilno višje koncentracije aminotransferaz ter pogostejše virusno breme nad 20.000 IU/ml. Podobno poroča Zarski s sod., bolniki s HBeAg-negativnim CHB so bili starejši, večkrat so imeli nižje koncentracije aminotransferaz, nižje virusno breme ter bolj izraženo stopnjo fibroze v primerjavi z bolniki s HBeAg-pozitivnim CHB (160). Vse ugotovitve so v skladu z naravnim potekom kronične okužbe s HBV v Mediteranu (20), kjer je prisotnost okužbe s HBeAg

značilna za otroke in mlajše odrasle, s staranjem pa je letna stopnja serokonverzije HBeAg in posledične kronične okužbe s HBV brez e antigena vedno višja.

5.4.3 Prisotnosti ali odsotnosti e antigena virusa hepatitisa B in spol

V skupini HBeAg-pozitivnih oseb iz naše podatkovne zbirke je bilo statistično značilno več moških kot žensk. Razlogov je več. Med moškimi sta bila pogoste kot pri ženskah dejavnika tveganja "MSM" in "tvegano spolno vedenje", ki sta bila statistično značilno pogostejše prisotna pri HBeAg-pozitivnih kot HBeAg-negativnih osebah. Nadaljnja povezava z genotipi HBV je namreč pokazala, da so osebe z omenjenima dejavnikoma tveganja pogostejše okužene z HBV genotipom ne-D, predvsem z genotipom A, za katerega je, ob manjši pogostnosti pre-core mutacij, bolj značilna HBeAg-pozitivna okužba (19). HBeAg-pozitivni moški so bili tudi statistično značilno mlajši kot HBeAg-negativni moški, kar je v skladu z naravnim potekom kronične okužbe s HBV (20, 60).

5.4.4 Prisotnosti ali odsotnosti e antigena virusa hepatitisa B in dejavniki tveganja za okužbo

Ugotovili smo statistično značilno povezavo med odsotnostjo HBeAg in večjo pogostnostjo neznanega dejavnika tveganja za okužbo. Zaradi največkrat nezaznavnega poteka HBeAg-negativne akutne okužbe (17) se le-te okuženi ne zaveda, brezsimptomen nadaljnji potek kronične okužbe pa še bolj zabriše možnost zavedanja dejavnikov tveganja za okužbo. Drugi razlogi so enaki kot pri vseh naših preiskovanih osebah, pri katerih je bil dejavnik tveganja za okužbo neznan (neustrezno pridobivanje anamneze, starejši in/ali slabše izobražene/ozaveščene osebe), o čemer sem podrobneje predhodno že razpravljala.

Ugotovili smo, da so osebe, ki navajajo dejavnik tveganja "okužba s HBV v družini" oz. "sobivanje v istem gospodinjstvu" večkrat HBeAg-pozitivne kot HBeAg-negativne. Tveganje za prenos HBV s priotnim e antigenom je precej večje kot prenos virusa brez e antigena. Ob incidentu v zdravstvu je tveganje za prenos e antigen pozitivne okužbe ocenjeno na 22–40 %, e antigen negativne okužbe pa le 1–6 % (122). Kot je omenjeno in razpravljano že predhodno, je bil dejavnik tveganja "okužba s HBV v družini" med preiskovanimi osebami v naši podatkovni zbirki najpogostejši dejavnik tveganja tako pri odraslih kot tudi pri otrocih ter da se njegova pogostnost statistično značilno zmanjšuje z naraščajočo starostjo. Če sklepamo iz

evropskih podatkov (10), gre najverjetneje pri osebah, ki imajo za dejavnik tveganja "okužbo s HBV v družini", za perinatalen prenos z okuženih mater, HBeAg-pozitivnost pri otrocih in mlajših odraslih pa je odraz naravnega poteka bolezni (20, 60). Ker je vertikalni prenos v Mediteranu manj pogost, je verjetneje, da gre za horizontalne okužbe v zgodnjem otroštvu znotraj družine oz. skupnega gospodinjstva. Možno je tudi, da gre za vertikalni prenos na potomce priseljencev iz nemediterranskih držav (20).

Večkratni regresijski model pri odraslih je pokazal, da so bile HBeAg-pozitivne osebe statistično značilno pogostejše mlajše od 30 let, imele koncentracije ALT $> 0,56 \mu\text{kat/L}$, virusno breme $> 20.000 \text{ IU/ml}$ in, da so bile pogostejše zdravljene z NUC. Pri otrocih je analiza pokazala le povezavo med prisotnostjo HBeAg in virusnim bremenom višjim od 20.000 IU/ml . Obe ugotovitvi sta v skladu z naravnim potekom kronične okužbe ter slovenskimi in evropskimi smernicami za zdravljenje (71, 82). Za obdobje HBeAg-pozitivnosti je namreč značilno višje virusno breme in prisotnost patoloških jetrnih testov, oblika pa je značilna za mlajše osebe (20, 60).

Ugotovili smo tudi, da so imele HBsAg-pozitivne osebe statistično značilno pogostejše opravljeno biopsijo jeter, čeprav statistično značilnih razlik v stopnji fibroze med HBeAg-pozitivnimi in HBeAg-negativnimi osebami nismo dokazali. Indikacije za biopsijo jeter so pri HBeAg-pozitivnih osebah glede na smernice EASL iz leta 2012 (71) jasno določene: ob virusnem bremenu nad 20.000 IU/ml jo opravimo pri vseh starejših od 30 let, pri trajno zvišani koncentraciji ALT 1–2-krat nad ULN ali ob pozitivni družinski anamnezi HCC. Pri HBeAg-negativnih osebah so indikacije ohlapnejše in se biopsija jeter priporoča pri bolnikih z virusnim bremenom nad 2.000 IU/ml in koncentracijo ALT nad ULN, ne glede na starost. V omenjeno skupino sodi veliko kronično okuženih oseb, končna odločitev o biopsiji jeter pa je prepuščena presoji lečečega specialista (infektologa, hepatologa). Morda je ravno v ohlapnejših indikacijah pri HBeAg-negativnih razlog za statistično značilno manj opravljenih biopsij jeter pri tej skupini okuženih.

5.4.5 Prisotnost ali odsotnost e antigena virusa hepatitisa B in zdravljenje kroničnega hepatitisa B

Ugotovitev, da so nezdravljene osebe statistično značilno manj pogosto HBeAg-pozitivne, je skladna z laboratorijsko in virološko sliko HBeAg-pozitivne kronične okužbe, za katero so v

primerjavi s HBeAg-negativno okužbo pogosteje prisotni patološki jetrni testi, visoko virusno breme in/ali stadij fibroze ≥ 2 po lestvici METAVIR, kar so znane indikacije za uvedbo protivirusnega zdravljenja (71, 82).

5.5 Genotipi virusa hepatitisa B

5.5.1 Genotipi virusa hepatitisa B v Sloveniji in njihovi časovni trendi v proučevanem obdobju

Do sedaj v Sloveniji še ni bilo opravljene raziskave, ki bi preučevala genotipe HBV. Razširjenosti genotipov HBV v evropskih državah glede na rezultate objavljenih raziskav so predstavljene v Tabeli 34. V Sloveniji je po pričakovanjih najpogostejši genotip D, sledi mu genotip A, ostali genotipi pa se pojavljajo sporadično. Ta ugotovitev Slovenijo uvršča ob bok ostalim balkanskim državam: Srbiji, Črni Gori ter Hrvaški, republikam bivše Jugoslavije (169, 177–179).

Tabela 34: Raziskave o razširjenosti genotipov virusa hepatitisa B v evropskih državah (156, 157, 163, 167, 171, 172, 177–188).

Država, avtor, leto objave	Število preiskovanih oseb (N)	Genotip HBV (%)
Albanija , Zehender et al., 2012	73	D (100 %)
Bolgarija , Ciccozzi et al., 2013	15	A2 (28 %) D (1+2+3) (72 %)
Centralna Evropa , Deterding et al., 2008	1313	A (42 %) D (48 %) Drugo (10 %)
Romunija	245	A (6 %) D (67 %) Drugo (27 %)
Madžarska	255	A (47 %) D (43 %) Drugo (10 %)
Republika Češka	209	A (67 %) D (28 %) Drugo (5 %)
Nemčija	133	A (32 %) D (58 %) Drugo (10 %)
Poljska	248	A (77 %) D (19 %) Drugo (4 %)
Litva	63	A (41 %) D (54 %) Drugo (5 %)
Rusija	60	A (6,7 %) D (93 %) Drugo (0,3 %)
Hrvaška	100	A (8 %) D (80 %) Drugo (12 %)

Črna Gora , Vratnica et al., 2015	136	A2 (19,8 %) D (1+2+3) (80,2 %)
Francija , Thibault et al., 2013	147	A (59 %) D (22 %) Drugo (19 %)
Francija (jugovzhodna), Moussa et al., 2016	43	A (19 %) D (53 %) Drugo (28 %)
Grčija , Fylaktou et al., 2011	135	A (1 %) D (98 %) Drugo (1 %)
Iran , Mojiri et al., 2008	89	D (100 %)
Italija , Zuccaro et al., 2015	100	A (45 %) D (49 %) Drugo (6 %)
Maroko , Ezzikouri et al., 2008	91	D (100 %)
Nizozemska , Toy et al., 2008	464	A (20–35 %) D (37–40 %) Drugo (28–41 %)
Poljska , Bissinger et al., 2015	276	A (19,9 %) D (68,1 %) Drugo (12 %)
Portugalska , Mota et al., 2010	358	A (31 %) D (60 %) Drugo (9 %)
Srbija , Lazarević et al., 2007	89	A (18 %) D (82 %)
Srbija , Milosević et al., 2013	162	A (14,2 %) D (85,8 %)
Švica , Hirzel et al., 2015	465	A (15,9 %) D (58,3 %) Drugo (25,8 %)
Tunizija , Yacoubi et al., 2015	1615	D (1+7) (97,7 %) A2 (2,3 %)
Turčija , Sunbul et al., 2005	88	D (100 %)
Turčija , Ciftci et al., 2012	63	D (100 %)
Velika Britanija , Sloan et al., 2009	160	A (1+2) (63 %) D (1+2+3+4) (25 %) Drugo (15 %)

HBV – virus hepatitisa B

V preučevanem časovnem obdobju 1997–2010 smo ugotovili statistično značilen negativen linearni trend razširjenosti genotipa D HBV v Sloveniji ter rahlo pozitiven trend razširjenosti genotipov ne-D, ki pa ni bil statistično značilen. Ugotovljene spremembe v časovnem trendu so glede na nam dostopna poročila iz literature posledica različnih razlogov. V zadnjih letih smo v Evropi in svetu pričali novim in spremenjenim tokovom preseljevanja (14), drugačne so tudi spolne in potovalne navade prebivalstva (175). Ugotovljen trend je lahko tudi posledica načina vzorčenja in vključevanja preiskovanih oseb za izvedbo genotipizacije. Ne moremo izključiti niti, da večje število opravljenih genotipizacij v določenem časovnem obdobju ni bilo posledica večjega števila naročil s strani izbranih zdravnikov.

Statistično značilnih razlik v razširjenosti genotipov D in ne-D HBV med Slovenci in tujci v preučevanem vzorcu oseb nismo našli, a to ne izključuje začetnega vpliva novih tokov preseljevanja. Za dobršni delež oseb je bil podatek o državljanstvu enačen z narodnostjo.

Evropske in svetovne raziskave poročajo o premikih razširjenosti genotipov HBV, ki so posledica spremenjenih spolnih in potovalnih navad (175), načinov prenosa okužbe ter (družinskih) migracij tako v srednji Evropi in na Nizozemskem (174, 175), kakor tudi v severnih predelih ZDA in nekaterih predelih indijskega podkontinenta (189, 190).

5.5.2 Genotipi virusa hepatitisa B in dejavniki tveganja

Univariatna in večkratna logistična regresija sta pokazali medsebojni vpliv prisotnosti ali odsotnosti HBeAg in dejavnikov tveganja za okužbo. HBeAg-pozitivne preiskovane osebe z dejavniki tveganja, povezanimi s tveganim spolnim vedenjem, so bile manj pogosto okužene z genotipom D HBV kot z genotipi ne-D. Tvegano spolno vedenje je bilo statistično značilno povezano z okužbo z genotipom A. Znano je, da je genotip D zaradi vpliva na pre-core mutacije pogostejše povezan s HBeAg-negativno kronično okužbo, kar bi bil lahko tudi v našem vzorcu razlog za povezavo med genotipi ne-D in prisotnostjo HBeAg-pozitivne okužbe (54). Tveganje za prenos le-te je večje od tveganja za prenos HBeAg-negativne okužbe (150).

Eden izmed kronično okuženih, tujec bosanskega porekla, je imel mešan genotip AD, kar predstavlja 0,5 % celotnega testiranega vzorca. Poročila iz Srednje Evrope kažejo, da ima v tej regiji, še posebej v jugovzhodni Evropi, mešano okužbo do 8 % okuženih. V Romuniji je imelo kar 27 % kronično okuženih oseb mešan genotip HBV (v 82 % genotip AD), po pogostnosti pa sta sledili naši sosednji državi, Hrvaška z 12 % in Madžarska s 7,4 % (23, 179). V Belgiji je glede na raziskavo iz leta 2005 z mešanim genotipom AD okuženih 8 % kronično okuženih oseb (191). Sekveniranje je zlati standard za določanje genotipov HBV, vendar ima slabšo občutljivost od ostalih metod za odkrivanje mešanih genotipov, saj zazna večinoma le predominantni genotip v mešanem vzorcu (192, 193), zato je posledično možno, da je v centrih, kjer sekveniranje uporabljajo rutinsko, število mešanih genotipov podcenjeno.

5.5.2.1 Genotipi virusa hepatitisa B in dejavniki tveganja pri moških

Ugotovili smo, da so bili moški z dejavniki tveganja povezanimi s tveganim spolnim vedenjem, pogostejše okuženi z genotipi ne-D HBV. Moški, ki imajo spolne odnose z moškim, in biseksualni moški so bili statistično značilno pogostejše okuženi z genotipom A. Rezultat je skladen z raziskavami iz tujine. Nam dostopna poročila kažejo, da je genotip A najpogostejši genotip HBV tako v evropski kot v japonski populaciji MSM (188, 194, 195). Glede na naše

rezultate bi bilo treba spremeniti nacionalne smernice za obravnavo in zdravljenje CHB pri moških z anamnestičnim podatkom o tveganem spolnem vedenju, še posebej za podskupino MSM. Ker je odločitev o izbiri protivirusnega zdravljenja odvisna tudi od genotipa HBV, bi bilo smiselno pri vseh MSM pred uvedbo zdravljenja opraviti rutinsko genotipiziranje HBV (71, 196, 197).

5.5.2.2 Genotipi virusa hepatitisa B in dejavniki tveganja pri ženskah

Več žensk, pri katerih je bil dejavnik tveganja za okužbo neznan, je bilo okuženih z genotipom A HBV. V primerjavi z ženskami z znanimi dejavniki tveganja, ni bilo statistično značilnih razlik v starosti ali virusnem bremenu. Statistično značilno povezavo smo našli med prisotnostjo genotipa D pri ženskah in HBeAg-pozitivno okužbo ne glede na dejavnik tveganja. Ženske okužene z genotipom D so bile v primerjavi s tistimi, ki so bile okužene z genotipom ne-D statistično značilno mlajše in so imele višje virusno breme. Tudi Tran in sod. poročajo, da imajo ženske, stare 44 let ali mlajše, okužene z genotipom D HBV statistično pomembno višje virusno breme od tistih, okuženih z genotipi ne-D (198).

5.5.3 Genotipi virusa hepatitisa B in virusno breme

Raziskava Oommena in sod. je pokazala, da imajo otroci, okuženi z genotipom D višje virusno breme v primerjavi z otroki, okuženimi z genotipom A (199). Dodatna analiza osmih otrok, mlajših od 18 let, iz naše podatkovne zbirke je pokazala, da so imeli vsi otroci virusno breme višje od 20.000 IU/ml. Vseh šest otrok s testiranim HBeAg je bilo HBeAg-pozitivnih. Predvidevamo, da gre za posledico naravnega poteka okužbe s HBV, za katero je v začetnem obdobju značilna prisotnost e antigena z visokim virusnim bremenom (60). Zaradi premajhnega vzorca otrok statistična povezava med genotipom HBV in virusnim bremenom ni bila možna. Lindh in sod. poročajo, da so imele osebe, okužene z genotipom D, ki so bile HBeAg-pozitivne, višje virusno breme kot tiste HBeAg-pozitivne, ki so bile okužene z drugimi genotipi HBV, ne glede na starost (34). V naši raziskavi nismo ugotovili statistično značilnih razlik v virusnem bremenu med vsemi preiskovanimi osebami okuženimi z genotipoma D ali A. Enako ugotavljajo tudi v nacionalni raziskavi v ZDA (42), kakor tudi v nekaterih drugih raziskavah, ki so zajele tako otroško kot odraslo populacijo (35, 200).

5.5.4 Genotipi virusa hepatitisa B in protivirusno zdravljenje

Statistično značilnih razlik v zdravljenju CHB med moškimi okuženimi z genotipom D in ne-D nismo našli. Več žensk, okuženih z genotipom D, je prejemale zdravljenje z IFN/PegIFN v primerjavi s tistimi okuženimi z genotipom A (nobena); z ostalimi genotipi ne-D ni bila okužena nobena preiskovanka. Med ženskami, ki so prejemale zdravljenje z IFN/PegIFN, in ženskami, ki so prejemale NUC ni bilo statistično značilnih razlik v koncentraciji ALT, prisotnost ali odsotnost HBeAg, in starosti. Pri ženskah, zdravljenih z NUC smo našli statistično značilno bolj pogosto virusno breme pod 2.000 IU/ml kot pri tistih zdravljenih z IFN/PegIFN, vendar je bila analiza narejena na zelo majhnem številu preiskovank ($n = 6$). V splošnem lahko zaključimo, da so bile ženske okužene z genotipom D zdravljene ustrezno glede na nacionalne in evropske smernice, saj je zdravilo prve izbire za zdravljenje NUC (71, 82).

5.6 Virusno breme

5.6.1 Virusno breme in spol

Ugotovili smo, da ima statistično značilno več moških kot žensk virusno breme nad 2.000 IU/ml, kar pomeni, da je statistično značilno manj moških kot žensk neaktivnih nosilcev HBsAg. Statistično značilnih razlik v starosti in prisotnosti ali odsotnosti HBeAg med moškimi in ženskami ni bilo zaznati. V nam dostopni literaturi so le posamezna poročila o razlikah v virusnem bremenu med moškimi in ženskami. Afriška raziskava je pokazala značilno višje virusno breme med HBeAg-negativnimi moškimi v primerjavi s HBeAg-negativnimi ženskami, ne glede na to, ali je šlo za neaktivne nosilce HBsAg, bolnike s cirozo ali bolnike s HCC, medtem ko so imeli v primerjavi s HBeAg-pozitivnimi ženskami, HBeAg-pozitivni moški nižje virusno breme (201). Morda je vzrok v večji dovzetnosti moških za okužbo in hujšem poteku okužbe zaradi vpliva androgenov, kar podpirajo tudi rezultati raziskave na transgenih laboratorijskih miših (202).

5.6.2 Virusno breme in starost

Skladno z naravnim potekom kronične okužbe s HBV smo ugotovili, da imajo osebe mlajše od 30 let statistično značilno pogostejše virusno breme nad 20.000 IU/ml in so HBeAg-pozitivne (60).

5.6.3 Koncentracija alanin aminotransferaze ter stadij fibroze in virusno breme

Preiskovane osebe z virusnim bremenom nad 2.000 IU/ml so imele statistično značilno pogostejše zvišane koncentracije ALT, kar je skladno z naravnim potekom kronične okužbe s HBV, vendar stadij fibroze pri teh bolnikih ni bil statistično značilno višji v primerjavi s tistimi z normalnim koncentracijami ALT. Glede na nam dostopna poročila, višje virusno breme velikokrat pomeni višjo stopnjo fibroze in patološke koncentracije ALT (203). Meta-analiza objav Chaoa in sod. je pokazala, da ima kar petina s HBV kronično okuženih oseb ob normalnih koncentracijah ALT, stadij fibroze ≥ 2 po lestvici METAVIR. Pri 17,4 % tistih z normalnimi koncentracijami ALT so dokazali povišano virusno breme (višje od 10.000 kopij/ml, kar ustreza 56.000 IU/ml), vendar je imela večina bolnikov z virusnim bremenom pod 2.000 IU/ml neaktivno obliko bolezni (204).

5.6.4 Virusno breme in zdravljenje kroničnega hepatitisa B

Ugotovitev, da so v naši raziskavi nezdravljene osebe s CHB v primerjavi s tistimi, ki so bile zdravljene z IFN/PegIFN, imele statistično značilno manj pogosto virusno breme višje od 2.000 IU/ml je v skladu s smernicami zdravljenja CHB, saj je glavna indikacija za uvedbo zdravljenja, ne glede na prisotnost ali odsotnost HBeAg, virusno breme višje od 2.000 IU/ml (71, 82).

5.7 Sočasna okužba z virusom hepatitisa C in sočasna okužba s humanim virusom imunske pomanjkljivosti

5.7.1 Sočasna okužba z virusom hepatitisa C

Sočasno je bilo s HCV okuženih 5,4 % preiskovanih oseb iz naše podatkovne zbirke. Podatki o razširjenosti sočasne okužbe s HBV/HCV v Sloveniji tako za splošno populacijo kot za

posamezne skupine z velikim tveganjem so skopi. Med leti 2007 do 2011 je v Sloveniji ob svetovnih dnevih hepatitisa potekala opazovalna multicentrična raziskava prostovoljnega anonimnega testiranja, ki je zajela 3743 oseb. Pokazala je, da je med HCV-pozitivnimi osebami 18,3 % sočasno okuženih še s HBV ali s HIV (205). V raziskavi Semetove s sod. sta bili leta 2008 med 356 HIV-pozitivnimi osebami dve sočasno okuženi tudi s HBV/HCV (206). Razširjenost sočasne okužbe s HBV/HCV v Evropi je ocenjena na 5–20 % med HBsAg-pozitivnimi osebami ter 2–10 % med anti-HCV pozitivnimi osebami (207).

Statistično značilno pogostejše so preiskovane osebe s sočasno okužbo s HBV/HCV navedle dejavnika tveganja "IVUD" in "transfuzija krvi ali krvnih pripravkov", statistično značilno manj pogosto pa je bil dejavnik tveganja za okužbo neznan. V ZDA je raziskava Tysona in sod. med okuženimi s HCV pokazala 1,4 % razširjenost sočasne okužbe s HBV/HCV, ki je bila pogostejša pri moških, mlajših od 50 let, sočasno okuženih tudi s HIV, ali pa so navajali prisotnost hematološke bolezni, IVUD ali prejem transfuzije krvi ali krvnih pripravkov (208). Hrvaška raziskava je kot pomemben dejavnik tveganja za sočasno okužbo s HBV/HCV navajala tvegano spolno vedenje (209). Statistično značilno manj pogosto je bil pri s HBV/HCV sočasno okuženih preiskovanih osebah iz naše podatkovne zbirke dejavnik tveganja neznan. Razlogi za slednje so enaki kot vseh preiskovanih osebah, pri katerih je bil dejavnik tveganja za okužbo neznan (neustrezno pridobivanje ali podajanje anamneze, starejši in/ali slabše izobražene/ozaveščene osebe), o čemer sem podrobneje predhodno že razpravljala.

Med sočasno okuženimi s HBV/HCV je bilo zaznati statistično značilno več moških kot žensk. Razlog je najverjetneje ta, da je najpogostejši dejavnik tveganja pri sočasno okuženih IVUD, med katerimi v Sloveniji prevladujejo moški (130), o čemer sem podrobneje razpravljala že predhodno.

Stadij fibroze pri sočasno okuženih s HBV/HCV ni bil statistično značilno višji, kot pri osebah brez sočasne okužbe. Raziskave o stopnji fibroze pri sočasno okuženih s HBV/HCV dajejo nasprotujoče si rezultate – medtem ko ene ne kažejo razlik v stopnji fibroze v primerjavi z monoinfekcijo (210), druge kažejo večjo stopnjo nekroinflamatornih sprememb in stadija fibroze pri sočasni okužbi (211), sočasna okužba pa je najverjetneje povezana tudi z bolj napredovalo cirozo, jetrno dekompenzacijo in pojavom HCC (207).

Najnovejše raziskave pri sočasno okuženih s HBV/HCV kažejo na možnost pogostejše

reaktivacije CHB pri osebah, ki so uspešno pozdravile kronični hepatitis C z na virus neposredno delujočimi zdravili (212). Le-ta namreč ne delujejo na razvojni krog HBV, zato je zelo pomembno redno klinično sledenje okužbe s HBV (tudi že prebolele) po uspešno pozdravljenem hepatitisu C z novimi zdravili (213).

5.7.2 Sočasna okužba s humanim virusom imunske pomanjkljivosti

Med kronično okuženimi preiskovanimi osebami iz naše podatkovne zbirke so bili trije odstotki sočasno okuženi s HIV. Do sedaj sta bili v Sloveniji opravljeni dve raziskavi med HIV-pozitivnimi osebami, ki sta preučevali tudi pogostost sočasne okužbe s HBV/HIV (leta 2009 in 2014). Rezultati so pokazali, da je aktivna okužba s HBV prisotna pri 3,5 % oz. 3,9 % HIV-pozitivnih oseb, znake prebolele okužbe pa so dokazali pri 20,8 % oz. 21,6 %. Medtem ko prva raziskava ni pokazala razlik med osebami, ki so se okužile ob tveganem spolnem stiku in tistimi, ki so se okužile s transfuzijo krvi ali krvnih pripravkov, je druga pokazala večji delež anti-HBc pozitivnih med slednjimi (206, 214). V primerjavi z evropskimi podatki, dostopnimi pri EuroSIDA je razširjenost sočasne okužbe s HBV/HIV v Sloveniji nižja, kot v drugih evropskih državah, kjer v povprečju znaša 8,7 % (215). Globalno je sočasno okuženih s HBV/HIV približno 10–25 % HIV-pozitivnih oseb, število okuženih pa je različno porazdeljeno glede na stopnjo endemičnosti obeh okužb v posameznem geografskem področju (216).

Že Semetova in sod. so poročali, da med HIV-pozitivnimi osebami v Sloveniji prevladujejo moški, od katerih je skoraj 70 % MSM (206, 214). Naši rezultati so ta poročila potrdili – med sočasno okuženimi s HBV/HIV je bilo več moških kot žensk, in kot je omenjeno že predhodno, sta bila statistično značilno najpogostejše navajana dejavnika tveganja "MSM" in "tvegano spolno vedenje", kar je v skladu s podatki iz nam dostopne literature (217, 218). Zadnji dostopni podatki NIJZ za Slovenijo kažejo, da je v vseh letih v obdobju 2006–2014 bil največji delež novih diagnoz okužbe s HIV med MSM, v letu 2014 pa je bil zabeležen le en primer med IVUD (120, 219). Statistično značilno manj pogosto je bil dejavnik tveganja med sočasno okuženimi s HBV/HIV neznan, razlogi pa so enaki kot pri tistih, sočasno okuženih s HBV/HCV in vseh preiskovanih osebah, pri katerih je bil dejavnik tveganja za okužbo neznan (neustrezno pridobivanje ali podajanje anamneze, starejši in/ali slabše izobražene/ozaveščene osebe), o čemer sem podrobneje predhodno že razpravljala.

Sočasna okužba s HBV/HIV poveča tako obolevnost kot smrtnost zaradi hepatitisa v primerjavi z monoinfekcijo. Osebe s sočasno okužbo s HBV/HIV imajo navadno višje virusno breme, napredovanje okužbe je hitrejše, tveganje za razvoj ciroze in HCC pa večje (220). Pri naših preiskovanih osebah statistično vrednotenje vpliva sočasne okužbe HBV/HIV na stadij fibroze ni bilo možno, saj nobena od sočasno okuženih oseb ni imela opravljene biopsije jeter. Virusno breme pri sočasno okuženih s HBV/HIV v primerjavi z osebami brez sočasne okužbe ni bilo statistično značilno višje. Pri sočasno okuženih s HBV/HIV je nižje virusno breme lahko posledica prejemanja protiretrovirusnega zdravljenja, ki lahko deluje tudi na razvojni krog HBV, saj so namreč mejno statistično značilno pogostejše sočasno okuženi s HBV/HIV v naši raziskavi prejeli zdravljenje CHB.

5.8 Z okužbo z virusom hepatitisa B povezana ciroza in jetrnocelični rak

5.8.1 Ciroza

Okužba s HBV je v svetu glavni razlog kronične bolezni jeter in z njo povezane smrtnosti (3). Poročilo ECDC navaja, da je v Evropi je v letu 2011 za posledicami okužbe s HBV umrlo 58 oseb (11). V naši podatkovni zbirki je imelo cirozo 25 preiskovanih oseb (1,4 %). Letna stopnja umrljivosti, povezana s cirozo zaradi okužbe s HBV, se v Evropi giba od 1,02 primerov/100.000 prebivalcev pri ženskah na Malti, do 20,91 primerov/100.000 prebivalcev na Madžarskem, ter pri moških od 4,4 primerov/100.000 prebivalcev na Nizozemskem do 68,27 primerov/100.000 prebivalcev na Madžarskem (105). Po objavi iz leta 2007 je v Sloveniji za posledicami ciroze vseh etiologij med leti 2000–2002 umrlo 35,3 moških/100.000 prebivalcev ter 13,26 žensk/100.000 prebivalcev (221). Podatkov o smrtnosti zaradi ciroze povezane izključno z okužbo s HBV v Sloveniji nimamo na voljo.

5.8.2 Jetrnocelični rak

Med preiskovanimi osebami iz naše podatkovne zbirke je imelo HCC 14 (0,81 %) oseb, za posledicami HCC pa sta v preučevanem obdobju umrli dve preiskovani osebi (0,11 %). V Sloveniji nimamo registra podatkov o pojavnosti HCC povezanega z okužbo s HBV. Rak jeter je v Sloveniji peti najpogostejši rak pri moških in osmi pri ženskah, najpogostejši pa je prav HCC, ki predstavlja manj kot 1 % na novo odkritih rakov. Najpogostejše nastane v šestem desetletju življenja. V več kot 80 % HCC nastane v cirotično spremenjenih jetrih,

najpogostejši nevarnostni dejavniki za razvoj pa so virusne okužbe, alkohol, izpostavljenost rakotvornim snovem iz okolja ter razne presnovne bolezni (222). Incidenčna stopnja vseh jetrnih rakov pri moških je v Sloveniji med leti 2003–2007 znašala 10,7 primerov/100.000 prebivalcev in je porasla na 12,0 primerov/100.000 prebivalcev med leti 2008–2012, pri ženskah pa 4,6 primerov/100.000 prebivalcev med leti 2003–2007 ter 4,3 primeri/100.000 prebivalcev med leti 2008–2012 (223). Številke so višje kot v drugih evropskih državah, saj so v izračun incidenčne stopnje všeti vsi primeri jetrnega raka in rakov intrahepatalnih žolčnih vodov, in ne le HCC, povezan z okužbo s HBV. Smrtnost zaradi HCC, povezanega z okužbo s HBV, se razlikuje tako po spolu kot med državami. Relativno tveganje za pojav HCC in smrti je pri moških 1,5–7,6-krat večje kot pri ženskah (224). Najnižja smrtnost je na Švedskem tako pri ženskah (0,27 primerov/100.000) kot pri moških (0,68 primerov/100.000), najvišja pa v Bolgariji (5,35 primerov/100.000 pri ženskah in 8,03 primeri/100.000 pri moških). Smrtnost pri obeh spolih je v državah severozahodne Evrope nižja kot v državah jugovzhodne Evrope (105).

5.9 Zdravljenje kroničnega hepatitisa B

5.9.1 Zdravljenja kroničnega hepatitisa B in starost

Univariatna in večkratna logistična regresija sta pokazali, da so starejši bolniki statistično značilno manj pogosto od mlajših zdravljeni z IFN/PegIFN. Statistično značilnih razlik v koncentraciji ALT in virusnem bremenu med zdravljenimi in nezdravljenimi z IFN/PegIFN ni bilo. Glede na smernice EASL so, ne glede na prisotnost ali odsotnost HBeAg, prva izbira zdravljenja PegIFN, tenofovir ali entekavir (71). V Sloveniji sta zdravili prvega izbora v večini primerov entekavir ali tenofovir, pri mlajših od 30 let z nizkim virusnim bremenom in visokimi koncentracijami ALT pa je zdravljenje izbora PegIFN (82). Vzrok je predvsem v prevladujoči okužbi z genotipom D HBV, pri katerem je zdravljenje s PegIFN manj učinkovito od NUC (71).

5.9.2 Povezanost odsotnosti/prisotnosti e antigena virusa hepatitisa B in zdravljenja

Večkratna logistična regresija je pokazala, da so HBeAg-pozitivni bolniki statistično značilno manjkrat zdravljeni z IFN/PegIFN, kar je v skladu s smernicami zdravljenja (71, 82) in naravnim potekom kronične okužbe s HBV (60). Odziv na zdravljenje s PegIFN je v

primerjavi z odzivom na zdravljenje z NUC pri HBeAg-pozitivnem CHB slabši glede zniževanja virusnega bremena (7–14 % vs. 13–76 %) in doseganja normalne ravni ALT (32–41 % vs. 41–77 %), medtem ko pride do serokonverzije HBeAg (29–32 % vs. 18–22 %) in izgube HBsAg (3–7 % vs. 0–3 %) pogosteje pri zdravljenju s PegIFN (71).

5.9.3 Nezdravljeni bolniki s kriteriji za zdravljenje hepatitisa B

Glede na trenutno veljavne slovenske in evropske smernice zdravimo vse bolnike, ki imajo virusno breme višje od 2.000 IU/ml, in/ali trajno zvišane koncentracije jetrnih aminotransferaz ter patohistološke spremembe v jetrih, ki ustrezajo stopnji fibroze ≥ 2 po lestvici METAVIR (71, 82). Glede na slovenske smernice in smernice EASL smo pri 18 (5 %) preiskovanih osebah ugotovili, da so izpolnjevale kriterije za uvedbo zdravljenja CHB, a ga niso prejemale, 47 (15,5 %) preiskovanih oseb pa bi pred uvedbo zdravljenja po uveljavljenih kliničnih kriterijih potrebovalo biopsijo jeter. Nobena preiskovana oseba s HCC ni prejemale zdravljenja CHB, čeprav je glede na priporočene smernice imela izpolnjene kriterije zanj. Tudi delež tistih, ki bi pred uvedbo zdravljenja potrebovali biopsijo jeter, je bil med preiskovanimi osebami relativno visok. Ob tem je treba poudariti, da gre za presečno raziskavo in so preiskovane osebe najverjetneje k specialistu prvič prišle z že razvitim HCC, ki glede na stadij morda tudi ni dopuščal uvedbe zdravljenja CHB. Mnogi bolniki tudi zavračajo biopsijo jeter. Leta 2016 je bila v Sloveniji vpeljana metoda prehodne elastografije jeter kot neinvazivno nadomestilo biopsiji jeter za oceno stadija fibroze. Enotni kriteriji za vrednotenje ugotovljenih sprememb v gostoti jeter, ki bi bili vključeni v smernice za zdravljenje in obravnavo hepatitisa B, so v pripravi.

5.10 Kronična okužba z virusom hepatitisa B po regijah

Največ preiskovanih oseb je bilo obravnavanih na KIBVS UKC Ljubljana ter na Oddelku za nalezljive bolezni SB Celje. Med leti 1998–2009 smo ugotavljali največji porast števila preiskovanih oseb na Oddelku za nalezljive bolezni UKC Maribor. V SB Murska Sobota je bilo glede na naše podatke obravnavanih izredno malo preiskovanih oseb, vendar številka ni realna. Med vnašanjem podatkov na terenu je bilo namreč ugotovljeno, da virološka diagnostika za večino oseb iz SB Murska Sobota poteka na regijskem ZTM, in ne na IMI, kar

pomeni, smo najverjetneje imeli na voljo precej manj preiskovanih oseb iz SB Murska Sobota, kot jih je v resnici v obravnavi.

Zahodni (Primorska) in severni (Gorenjska) del države zaenkrat nimata ustreznega regijskega centra za obravnavo in zdravljenje oseb, kronično okuženih s HBV, zato se te osebe večinoma obravnavajo na KIBVS UKC Ljubljana. Med 1681 preiskovanimi osebami, ki so navedle prebivališče v Sloveniji, je bilo 312 prebivalcev Primorske in Gorenjske (18,5 %), vendar gre za grobo oceno, saj vsi kraji bivališča v podatkovni zbirki niso bili pravilno navedeni oz. so bili navedeni pomanjkljivo. Glede na novo organizacijo infektološke službe v Sloveniji bi bilo smiselno vzpostaviti še dva dodatna centra za obravnavo in zdravljenje s HBV kronično okuženih oseb, enega na Primorskem in enega na Gorenjskem.

5.11 Omejitve raziskave

Naša raziskava nosi določene omejitve. Ker je bila raziskava retrospektivna, za vse preiskovane osebe niso bili dostopni vsi epidemiološki, klinični in virološki podatki, zato so bile občasno posamezne statistične podanalize opravljene na manjših vzorcih preiskovanih oseb. Zaradi časovnih in finančnih omejitev je bil le del vzorca preiskovanih oseb, pri katerih smo preučevali genotipe HBV, randomiziran. Pri ostalih je bila odločitev o genotipizaciji prepuščena presoji specialista za hepatitise, saj v Sloveniji zaenkrat še nimamo smernic za rutinsko izvajanje genotipizacije.

Moč naše raziskave predstavlja prva celostna epidemiološka analiza značilnosti oseb kronično okuženih s HBV na nacionalni ravni, kar do sedaj v Sloveniji in drugod po svetu še ni bilo opravljeno.

6 SKLEPI

- Uradni podatki NIJZ o pojavnosti in razširjenosti kronične okužbe s HBV v Sloveniji v preučevanem obdobju 1997–2010 so najverjetneje podcenjeni, saj smo v enakem časovnem obdobju v podatkovni zbirki IMI zabeležili kar 35,8 % več okuženih preiskovanih oseb.
- Med preiskovanimi osebami je bilo 52,4 % neaktivnih nosilcev HBsAg.
- HBeAg-negativna kronična okužba je bila prisotna pri 85,5 % preiskovanih oseb, v preučevanem obdobju pa smo v nasprotju s pričakovanji ugotovili statistično značilen negativen trend gibanja števila primerov po posameznem letu ($p < 0,001$).
- Pri skoraj 60 % preiskovanih oseb je bil dejavnik tveganja za okužbo neznan, kar je precej več od podatkov iz nam dostopne literature. Po pogostnosti so sledili "okužba s HBV v družini" (19,8 %), "transfuzija krvi ali krvnih pripravkov" (8 %), "tvegano spolno vedenje" (4,5 %), "zdravstveni delavec" (3,4 %) ter "IVUD" (2,3 %). Ostali dejavniki tveganja so bili prisotni pri manj kot 2 % preiskovanih oseb.
- Odkrili smo za naše geografsko področje poseben in v nam dostopni literaturi še nikoli opisan dejavnik tveganja, ki je bil statistično značilen za moške preiskovance starejše od 46 let, in sicer "cepljenje v JLA" ($p = 0,006$).
- V preučevanem obdobju smo ugotovili statistično značilen pozitiven trend gibanja navajanja dejavnikov tveganja "transfuzija krvi ali krvnih pripravkov" ($p = 0,0034$) in "tvegano spolno vedenje" ($p = 0,007$).
- Med preiskovanimi osebami slovenskega in tujega porekla nismo ugotovili statistično značilnih razlik v demografskih, epidemioloških, kliničnih in viroloških značilnostih, kakor tudi ne v porazdelitvi genotipov HBV.
- V obdobju po uvedbi obveznega testiranja nosečnic na HBsAg in obveznega cepljenja otrok proti hepatitisu B je bilo med preiskovanimi otroki v naši podatkovni zbirki, rojenimi po letu 1994, statistično značilno manj slovenskih otrok, okuženih s HBV, kot med rojenimi pred letom 1994 ($p = 0,006$).
- Pet odstotkov preiskovanih oseb iz naše podatkovne zbirke je imelo izpolnjene kriterije za zdravljenje hepatitisa B, vendar ga ni prejelo, med njimi pa so prevladovali osebe s HCC.
- Ugotovili smo, da je bilo z genotipom D HBV okuženih 84,4 % preiskovanih oseb, kar je manj od pričakovanega, vendar nas rezultat umešča v geografsko področje z drugimi državami na Balkanu. V preučevanem obdobju smo ugotovili statistično značilen negativen

linearen trend gibanja števila primerov genotipa D HBV ($p = 0,01$) po posameznih letih ter porast števila primerov ne-D genotipov, ki pa ni bil statistično značilen.

- Z genotipi ne-D HBV, predvsem genotipom A ($p = 0,043$), so bili statistično značilno pogostejše okuženi MSM in biseksualni moški.

7 VIRI

1. Locarnini S, Hatzakis A, Chen DS, Lok A. Strategies to control hepatitis B: public policy, epidemiology, vaccine and drugs. *J Hepatol.* 2015;62:S76–86.
2. World Health Organization. Prevention and Control of Viral Hepatitis Infection: Framework for Global Action. 2012. (Internet) Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/130012/1/WHO_HSE_PED_HIP_GHP_2012.1_eng.pdf?ua=1. Dostopano 27. marec 2017
3. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet.* 2012;380:2095–128.
4. Sharma SK, Saini N, Chwal Y. Hepatitis B virus: inactive carriers. *Virol J.* 2005;2:82–97.
5. Schweitzer A, Horn J, Mikolajczyk RT, Krause G, Ott JJ. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet.* 2015;386:1546–55.
6. ECDC Surveillance and prevention of hepatitis B and C in Europe. 2010. (Internet) Available from: http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/101012_TER_HepBandC_survey.pdf Dostopano 27. marec 2017
7. Hahne JMS, Veldhuijzen IK, Wiessing L, Lim TA, Salminen M, Van de Laar M. Infection with hepatitis B and C virus in Europe: a systematic review of prevalence and cost-effectiveness of screening. *BMC Infect Dis.* 2013;13:181–226.
8. ECDC: Infectious diseases related to travel. (Internet) Available from: <http://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2016/infectious-diseases-related-to-travel/hepatitis-b>. Dostopano 27. marec 2017
9. ECDC – Hepatitis B. (Internet) Available from: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/hepatitis_B/Pages/index.aspx Dostopano 27. marec 2017
10. ECDC. Hepatitis B and C surveillance in Europe 2012. (Internet) Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/hepatitis-b-c-surveillance-europe-2012-july-2014.pdf> Dostopano 27. marec 2017

11. ECDC Hepatitis B and C surveillance 2006–2011. (Internet) Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Hepatitis-B-C-surveillance-report-2006-2011.pdf>. Dostopano 27. marec 2017
12. Hatzakis A, Van Damme P, Alcorn K, Gore C, Benazzouz M, Berkane S, et al. The state of hepatitis B and C in the Mediterranean and Balkan countries: report from summit conference. *J Viral Hepat.* 2013; 20 (Suppl2):S1–20.
13. Kraigher A, Sočan M, Klavs I, Frelih T, Grilc E, Grgič Vitek M, et al. Epidemiological surveillance of communicable diseases in Slovenia in 2013. 2014 (Internet) Available from: http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/publikacije-datoteke/epidemilosko_spremljanje_nalezljivih_bolezni_2013.pdf. Dostopano 27. marec 2017
14. Nannini P, Sokal EM. Hepatitis B: changing epidemiology and interventions. *Arch Dis Child.* 2016. doi: 10.1136/archdischild-2016-312043. [Epub ahead of print]
15. Seme K, Kovanda A, Poljak M. Virus hepatitisa B. In: Petrovec M, Poljak M, ur. *Medicinska virologija*. 1. izdaja. Ljubljana: Medicinski razgledi; 2011. p.84–96.
16. Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S. A new antigen in leukemia sera. *JAMA.* 1965; 191:541–6.
17. Dienstag JL, Delemos AS. Viral Hepatitis. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and practice of infectious diseases*. 8th edition. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone; 2015. p. 1439–68.
18. Kramvis A. Genotypes and genetic variability of hepatitis B virus. *Interviol.* 2014;57:141–50.
19. Sunbul M. Hepatitis B virus genotypes: Global distribution and clinical importance. *World J Gastroenterol.* 2014;20:5427–34.
20. Hadziyannis SJ. Natural history of chronic hepatitis B in Euro-Mediterranean and African countries. *J Hepatol.* 2011; 55:183–91.
21. Ozaras R, Balkan II, Yemisen M, Tabak F. Epidemiology of HBV subgenotypes D. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2015;39:28–37.
22. Tanaka Y, Hasegawa I, Kato T, Orito E, Hirashima N, Acharya SK, et al. A case-control study for differences among hepatitis B virus infections of genotypes A (subtypes Aa and Ae) and D. *Hepatology.* 2004;40:747–55.
23. Schaefer S. Hepatitis B virus genotypes in Europe. *Hepatol Res.* 2007;37:S20–6.

24. Morozov V, Pisareva M, Groudinin M. Homologous recombination between different genotypes of hepatitis B virus. *Gene*. 2000;260:55–65.
25. Hannoun C, Krogsgaard K, Horal P, Lindh M. Interpret trial group. Genotype mixtures of hepatitis B virus in patients treated with interferon. *J Infect Dis*. 2002;186:752–9.
26. Huang ZM, Huang QW, Qin YQ, Huang CH, Qin HJ, Zhou YN, et al. Clinical characteristics and distribution of hepatitis B virus genotypes in Guangxi Zhuang population. *World J Gastroenterol*. 2005;11:6525–9.
27. Jutavijittum P, Jiviriyawat Y, Yousukh A, Kunachiwa W, Toriyama K. Genotypes of hepatitis B virus among voluntary blood donors in northern Thailand. *Hepatol Res*. 2006;35:263–6.
28. Livingston SE, Simonetti JP, Bulkow LR, Homan CE, Snowball MM, Cagle HH, et al. Clearance of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B and genotypes A, B, C, D, and F. *Gastroenterology*. 2007;133:1452–7.
29. Chu CJ, Hussain M, Lok AS. Hepatitis B virus genotype B is associated with earlier HBeAg seroconversion compared with hepatitis B virus genotype C. *Gastroenterology*. 2002;122:1756–62.
30. Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Hepatitis B virus genotypes and spontaneous hepatitis B e antigen seroconversion in Taiwanese hepatitis B carriers. *J Med Virol*. 2004; 72:363–9.
31. Sánchez-Tapias JM, Costa J, Mas A, Bruguera M, Rodés J. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology*. 2002;123:1848–56.
32. Hadziyannis JS, Vassilopoulos D. Hepatitis B e antigen negative chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2001;4:617–20.
33. Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Tsubota A, Suzuki Y, Saitoh S, et al. Clinical characteristics of patients infected with hepatitis B virus genotypes A, B, and C. *J Gastroenterol*. 2002; 37:35–9.
34. Lindh M, Horal P, Dhillon AP, Norkrans G. Hepatitis B virus DNA levels, precore mutations, genotypes and histological activity in chronic hepatitis B. *J Viral Hepat*. 2000;7:258–67.
35. Krarup H, P Madsen, A Bentzen-Petersen. Higher Levels of HBV-DNA in Genotypes B and C Compared to Genotypes A and D. 59th Annual Meeting of the American

- Association for the Study of Liver Diseases. San Francisco. October 31-November 4, 2008. Abstract 870.
36. Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterol.* 2000;118:554–9.
 37. Sumi H, Yokosuka O, Seki N, Arai M, Imazeki F, Kurihara T, et al. Influence of hepatitis B virus genotypes on the progression of chronic type B liver disease. *Hepatology.* 2003;37:19–26.
 38. Thakur V, Guptan RC, Kazim SN, Malhotra V, Sarin SK. Profile, spectrum and significance of HBV genotypes in chronic liver disease patients in the Indian subcontinent. *J Gastroenterol Hepatol.* 2002;17:165–70.
 39. Wong GL, Chan HL, Yiu KK, Lai JW, Chan VK, Cheung KK, Wong EW, Wong VW. Meta-analysis: The association of hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013; 37: 517–26.
 40. Kew MC, Kramvis A, Yu MC, Arakawa K, Hodgkinson J. Increased hepatocarcinogenic potential of hepatitis B virus genotype A in Bantu-speaking sub-Saharan Africans. *J Med Virol.* 2005;75:513–21.
 41. Wai CT, Fontana RJ, Polson J, Hussain M, Shakil AO, et al. Clinical outcome and virological characteristics of hepatitis B-related acute liver failure in the United States. *J Viral Hepat.* 2005;12:192–8.
 42. Chu CJ, Keeffe EB, Han SH, Perrillo RP, Min AD, Soldevila-Pico C, et al. Hepatitis B virus genotypes in the United States: results of a nationwide study. *Gastroenterol.* 2003; 125:444–51.
 43. Yang HI, Yeh SH, Chen PJ, Iloeje UH, Jen CL, Su J, et al. Associations between hepatitis B virus genotype and mutants and the risk of hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 2008;100:1134–43.
 44. Lin CL, Liu CH, Chen W, Huang WL, Chen PJ, Lai MY, et al. Association of pre-S deletion mutant of hepatitis B virus with risk of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007;22:1098–103.
 45. Wiegand J, Hasenclever D, Tillmann HL. Should treatment of hepatitis B depend on hepatitis B virus genotypes? A hypothesis generated from an explorative analysis of published evidence. *Antivir Ther.* 2008;13:211–20.

46. Zöllner B, Petersen J, Puchhammer-Stöckl E, Kletzmayer J, Sterneck M, Fischer L, et al. Viral features of lamivudine resistant hepatitis B genotypes A and D. *Hepatology*. 2004;39:42–50.
47. Janssen HL, van Zonneveld M, Senturk H, Zeuzem S, Akarca US, Cakaloglu Y, et al. Pegylated interferon alfa- 2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B: a randomised trial. *Lancet*. 2005; 365:123–9.
48. Buster EH, Hansen BE, Lau GK, Piratvisuth T, Zeuzem S, Steyerberg EW, et al. Factors that predict response of patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B to peginterferon-alfa. *Gastroenterology*. 2009;137:2002–9.
49. Erhardt A, Göbel T, Ludwig A, Lau GK, Marcellin P, van Bömmel F, et al. Response to antiviral treatment in patients infected with hepatitis B virus genotypes E-H. *J Med Virol*. 2009;81:1716–20.
50. Bonino F, Marcellin P, Lau GK, Hadziyannis S, Jin R, Piratvisuth T, et al. Predicting response to peginterferon alpha-2a, lamivudine and the two combined for HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Gut*. 2007;56:699–705.
51. Kao JH, Wu NH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Hepatitis B genotypes and the response to interferon therapy. *J Hepatol*. 2000;33:998–1002.
52. Erhardt A, Blondin D, Hauck K, Sagir A, Kohnle T, Heintges T, et al. Response to interferon alfa is hepatitis B virus genotype dependent: genotype A is more sensitive to interferon than genotype D. *Gut*. 2005;54:1009–13.
53. Buster EH, Flink HJ, Cakaloglu Y, Simon K, Trojan J, Tabak F, et al. Sustained HBeAg and HBsAg loss after long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with peginterferon alpha-2b. *Gastroenterology*. 2008;135:459–67.
54. Carman WF, Jacyna MR, Hadziyannis S, Karayiannis P, McGarvey MJ, Makris A, Thomas HC. Mutation preventing formation of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet*. 1989;2:588–91.
55. Matičič M. Hepatitis B. In: Tomažič J, Strle F, ur. Infekcijske bolezni. 1. izdaja. Ljubljana: Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo; 2014. p.357-65.
56. Funk ML, Rosenberg DM, Lok ASF. World-wide epidemiology of HBeAg-negative chronic hepatitis B and associated precore and core promoter variants. *J Viral hepat*. 2002;9:52–61.
57. Chan HL, Leung NW, Hussain M, Wong ML, Lok AS. Hepatitis B e antigen negative chronic hepatitis B in Hong Kong. *Hepatology*. 2000;31:763–8.

58. Trepo C, Chan HLY, Lok A. Hepatitis B virus infection. *Lancet*. 2014;384:2053–63.
59. Lin CL, Kao JH, Chen BF, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Application of hepatitis B virus genotyping and phylogenetic analysis in intrafamilial transmission of hepatitis B virus. *Clin Infect Dis*. 2005;41:1576–81.
60. Wu JF, Chang MH. Natural history of chronic hepatitis B virus infection from infancy to adult life – the mechanism of inflammation triggering and long-term impacts. *J Biomed Sci*. 2015;22:92–116.
61. Busch K, Thimme R. Natural history of chronic hepatitis b virus infection. *Med microbiol immunol*. 2015; 204:5–10.
62. Fattovich G, Zagni I, Scattolini C. Natural history of hepatitis B and prognostic factors of disease progression. 2004. (Internet) Available from: http://www.aphc.info/wp-content/uploads/2014/10/07PHC_Book_Chapter15.pdf. Dostopano 27. marec 2017
63. Croagh CMN, Desmond PV, Bell SJ. Genotypes and viral variants: a review of epidemiology and clinical relevance. *World J of Hepatol*. 2015;7:289–303.
64. Wu JF, Tsai WY, Tung YC, Chen HL, Ni YH, Hsu HY, et al. Role of serum dehydroepiandrosterone sulfate level on the clearance of chronic hepatitis B virus infection. *J Gastroenterol*. 2014;49:900–6.
65. Bertoletti A, Ferrari C. Innate and adaptive immune responses in chronic hepatitis B virus infections: towards restoration of immune control of viral infection. *Gut*. 2012;61:1754–64.
66. Lok ASF, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2007;45:507–39.
67. Theise ND. Liver biopsy assessment in chronic viral hepatitis: a personal, practical approach. *Modern Pathology*. 2007;20:S3–14.
68. Mohamadnejad M, Tavangar SM, Sotoudeh M, Kosar F, Khosravi M, Geramizadeh B, et al. Histopathological study of chronic hepatitis B: A comparative study of Ishak and METAVIR scoring systems. *Int J Org Transplant Med*. 2010;1:171–6.
69. Kaplan MM, Bonis PA. Histologic Scoring Systems for Chronic Liver Disease. (Internet) Available from: <http://cursoenarm.net/UPTODATE/contents/mobipreview.htm?5/32/5647> Dostopano 22. marec 2017
70. Eddowes P, Sasso M, Fournier C, Vuppalanchi R, Newsome PN. Steatosis and liver stiffness measurements using transient elastography. *Hepatology*. 2016; 64:700.

71. European association for the study of the liver - EASL clinical practise guidelines: management of chronic hepatitis B infection. *J Hepatol* 2012; 57:1–19.
72. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology*. 2009;50:661–2.
73. Terrault NA, Bzowej NH, Chang KM, Hwang JP, Jonas MM, Murad HM. AASLD Guidelines for treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2015;63:261–83.
74. Sarin SK, Kumar M, Lau GK, Abbas Z, Chan HLY, Chen CJ, et al. Asian – Pacific clinical practise guidelines on the management of hepatitis B: a 2015 update. *Hepatol Int*. 2016;10:1–98.
75. WHO Guidelines for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection. (Internet) Available from:
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/154590/1/9789241549059_eng.pdf
Dostopano 27. marec 2017
76. Ghany MG, Doo CE. Antiviral resistance and Hepatitis B therapy. *Hepatology*. 2009;49(5Suppl):S174-84.
77. Chen GF, Wang C, Lau G. Treatment of chronic hepatitis B infection – 2017. *Liver International*. 2017;37 (Suppl1):S59–66.
78. Testoni B, Durantel D, Zoulim F. Novel targets for hepatitis B virus therapy. *Liver International* 2017. 37;(Suppl1):S33–9.
79. Xia Y, Protzer U. Control of hepatitis B virus by cytokines. *Viruses*. 2017;9(1):1–12.
80. NIJZ - Hepatitis B, Cepljenje osnovne informacije. (Internet) Available from:
<http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/2081-8091.pdf>. Dostopano 27. marec 2017
81. World Health Organization. Status of new vaccine introduction – worldwide, September 2016. (Internet) Available from:
<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/252768/1/WER9201.pdf?ua=1>. Dostopano 22. marec 2017
82. Matičič M, Poljak M. Slovenske nacionalne usmeritve za preprečevanje reaktivacije hepatitisa B pri bolnikih, ki potrebujejo imunosupresivno zdravljenje. *Zdrav Vestn*. 2010;79: 599–608.
83. Matičič M. A national multidisciplinary healthcare network for treatment of hepatitis C in people who inject drugs in Slovenia. *BMC Infect Dis*. 2014;14(Suppl6):S6.

84. Seme K, Komloš Fujs K, Poljak M. Presejalno testiranje na okužbo z virusom hepatitis B v nosečnosti. *Med Razgledi*. 2006;45(Suppl3):S21–3.
85. Uradni list Republike Slovenije. Pravilnik o cepljenju, zaščiti z zdravili in varstvu pred vnosom in razširjenjem nalezljivih bolezni. <https://www.uradni-list.si/1/content?id=18410> Dostopano 27. marec 2017
86. Lešničar G, Blatnik J, Šibanc B, Milotić I, Selič Kurinčič T, Matičič M, et al. Naše izkušnje pri zdravljenju bolnikov s kroničnim hepatitisom B v Splošni bolnišnici Celje. In: Lešničar G, editor. Zbornik predavanj. Celje: Splošna bolnišnica, 2012, p. 93–118.
87. Malmström S, Berglin-Enquist I, Lindh M. Novel method for genotyping hepatitis B virus on the basis of TaqMan real-time PCR. *J Clin Microbiol*. 2010;48:1105–11.
88. Osiowy C, Villeneuve JP, Heathcote EJ, Giles E, Borlang J. Detection of rtN236T and rtA181V/T mutations associated with resistance to adefovirdipivoxil in samples from patients with chronic hepatitis B virus infection by the INNO-LiPA HBV DR line probe assay (version 2). *J Clin Microbiol*. 2006;44:1994–7.
89. NCBI Genotyping. (Internet) Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genotyping/formpage.cgi>. Dostopano 22. marec 2017
90. Beggel B, Neumann-Fraune M, Doring M, Lawyer G, Kaiser R, Verheyen J, et al. Genotyping hepatitis B virus dual infections using population-based sequence data. *J Gen Virol*. 2012;93:1899–907.
91. Shiha G, Zalata K. Ishak versus METAVIR: terminology, convertibility and correlation with laboratory changes in chronic hepatitis C. (Internet) Available from: http://cdn.intechopen.com/pdfs/18773/InTech-Ishak_versus_metavir_terminology_convertibility_and_correlation_with_laboratory_changes_in_chronic_hepatitis_c.pdf Dostopano 22. marec 2017
92. Agresti A. Building and applying logistic regression models. In: Agresti A, ed. An introduction to categorical data analysis. 2. izdaja. Hoboken: Wiley; 2007. p.137–162.
93. Zakon o nalezljivih boleznih (Internet) Available from: <http://www.pisrs.si/Pis.web/pregledPredpisa?id=PRAV765> Dostopano 27. marec 2017
94. NIJZ. Letna poročila. Epidemiološko spremljanje nalezljivih bolezni. (Internet) Available from:

- http://www.nijz.si/sl/publikacije?field_ciljna_skupina_publikacije_tid=All&field_podrocje_publikacije_tid=402&field_tip_publikacije_tid=416&field_oblika_publikacije_tid=All&field_leto_objave_tid=All Dostopano 27. marec 2017
95. ECDC. Hepatitis B surveillance in Europe 2013. (Internet) Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/hepatitis-b-surveillance-in-europe-2013.pdf> Dostopano 27. marec 2017
96. Statistični urad Republike Slovenije. Število prebivalcev in naravno gibanje prebivalstva, letno. (Internet) Available from: http://pxweb.stat.si/pxweb/Database/Dem_soc/05_prebivalstvo/05_osnovni_podatki_preb/10_05A20_prebivalstvo_letno/10_05A20_prebivalstvo_letno.asp Dostopano 15. marec 2017
97. Levičnik-Stezinar S, Rahne Potokar U. Presejanje krvodajalcev na označevalce okužb v Sloveniji v obdobju 1991-2010. Zdra Vest. 2012; 81(Supl 2):II-265–73.
98. ENDMEMO Alanine aminotransferase (ALT microkatal) Unit Conversion. (Internet) Available from: http://www.endmemo.com/medical/unitconvert/Alanine_aminotransferase.php Dostopano 23.marec 2017
99. Assy N, Beniashvili Z, Djibre A, Nasser G, Grosovski M, Nseir W. Lower baseline ALT cut-off values and HBV DNA levels better differentiate HBeAg(-) chronic hepatitis B patients from inactive chronic carriers. World J Gastroenterol. 2009;15:3025–31.
100. Taidi T, Arai M, Kanda T, Hige S, Ueno Y, Imazeki F, et al. The prognosis of hepatitis B inactive carriers in Japan: a multicenter prospective study. J Gastroenterol. 2017;52:113–22.
101. Statistični urad Republike Slovenije. Prebivalstvo po državljanstvu, spolu in starosti, Slovenija, Popis 2002. (Internet) Available from: http://www.stat.si/popis2002/si/rezultati/rezultati_red.asp?ter=SLO&st=14 Dostopano 23. marec 2017
102. Statistični urad Republike Slovenije. Število in sestava prebivalstva. (Internet) Available from: <http://www.stat.si/StatWeb/Field/Index/17/104> Dostopano 23. marec 2017
103. Statistični urad Republike Slovenije. Mednarodni dan migrantov. (Internet) Available from:

- <http://www.stat.si/StatWebArhiv/glavnanavigacija/podatki/prikazistaronovico?IdNovice=5210> Dostopano 24. marec 2017
104. Statistični urad Republike Slovenije. Selitve. (Internet) Available from: <http://www.stat.si/StatWebArhiv/glavnanavigacija/podatki/prikazistaronovico?IdNovice=4430> Dostopano 22. marec 2017
105. ECDC – Hepatitis B and C in the EU neighbourhood: prevalence, burden of disease and screening policies. 2010.
http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/TER_100914_Hep_B_C%20_EU_neighbourhood.pdf Dostopano 27. marec 2017
106. Fasano M, Saracino A, Carosi G, Mazzotta F, Marino N, Sagnelli E, et al. Hepatitis B in immigrants: a SIMIT multicenter cross-sectional study. *Infection*. 2013;41:53–9.
107. McCarthy AE, Weld LH, Bamett ED, So H, Coyle C, Greenaway C, et al. Spectrum of illness in international Migrants seen at Geosentinel clinics in 1997 - 2009, part 2: migrants resettled internationally and evaluated for specific health concerns. *Clin Inf Dis*. 2013;56:925–33.
108. Rossi C, Shrier I, Marshall L, Cnossen S, Schwartzman K, Klein MB, et al. Seroprevalence of chronic hepatitis B virus infection and prior immunity in immigrants and refugees: a systematic review and meta-analysis. *PLOS One*. (Internet). 2012;7(9):e44611. Available from: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0044611> Dostopano 22. marec 2017
109. El Hamad I, Pezzoli CM, Chiari E, Scarcella C, Vassallo F, Pouti M, et al. Point-of-care screening, prevalence and risk factors for hepatitis B infection among 3728 mainly undocumented migrants from non-EU countries in Northern Italy. *Journal of Travel Medicine*. 2015;22:78–86.
110. Chu JunQing J, Wormann T, Popp J, Patzelt G, Akmatov MK, Kramer A, et al. Changing epidemiology of hepatitis B and migration – a comparison of six Northern and North-Western European countries. *Eur J Public Health*. 2012;23:642–7.
111. Hajarizadeh B, Wallace J, Jacqui R, Ngo N, Enright C. Hepatitis B knowledge and associated factors among people with chronic hepatitis B. *Aust N Z J Public Health*. 2015;39(6):563–8.

112. Združenje zdravnikov družinske medicine Slovenije. Kaj je družinski zdravnik? (Internet) Available from: <http://www.drmed.org/kaj-je-dm/> Dostopano 22. marec 2017
113. Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino. Letna poročila. (Internet) Available from: <http://www.ztm.si/knjiznica/letna-porocila/> Dostopano 22. marec 2017
114. Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino. Zgodovina. (Internet) Available from: <http://www.ztm.si/ztm/zgodovina/> Dostopano 22. marec 2017
115. Levičnik Stezinar S, Pajk J. Raziskava prenosa okužbe z virusom hepatitisa B. In: Levičnik Stezinar S, editor. Zbornik predavanj strokovnih srečanj Združenja za transfuzijsko medicino Slovenije. Ljubljana: Združenje za transfuzijsko medicino Slovenije: Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, 2014, p.18–22.
116. Wasley A, Grytdal S, Gallagher K, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for acute viral hepatitis - United States, 2006. MMWR Surveill Summ. 2008;57:1–24.
117. Christiansen MA, Lowhagen GB. Sexually transmitted diseases and sexual behavior in men attending an outpatients' clinic for gay men in Gothenburg, Sweden. Acta Derm Venereol. 2000;80:136–9.
118. Roy KM, Goldberg DJ, Wilson K, Cameron SO. Vaccination induced immunity to the hepatitis B virus among high-risk groups in Glasgow 1993-2001: Evaluating the effectiveness of the United Kingdoms selective immunization policy. Scot Med J. 2008;53:13–7.
119. Klavs I, Rodrigues LC, Wellings K, Weiss HA, Hayes R. Sexual behaviour and HIV/sexually transmitted infection risk behaviours in the general population of Slovenia, a low HIV prevalence country in central Europe. Sex Transm Infect. 2009;85:132–8.
120. Spolno prenesene okužbe v Sloveniji – letno poročilo 2015. (Internet) Available from: <http://www.nijz.si/sl/publikacije/spolno-prenesene-okuzbe-v-sloveniji-letno-porocilo-2015> Dostopano 23. marec 2017
121. McQuillain GM, Coleman PJ, Kruszon-Moran D, Lambert SB, Margolis HS. Prevalence of hepatitis B virus infection in United States: the national health and nutrition examination surveys, 1976 through 1994. Am J Public Health. 1999;89:14–8.

- 122.CDC. Guidelines on management of exposures to HBV, HCV, and HIV and recommendations for post-exposure prophylaxis. MMWR. 2001;50(RR-11):1–67.
- 123.CDC. Update: universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B and other blood-borne pathogens in the health care settings. MMWR. 1988;37:377–88.
- 124.CDC. Guidelines for prevention of transmission of human immunodeficiency virus and hepatitis B virus to health care and public safety workers. MMWR. 1989;38:Suppl 6:S1–37.
- 125.Matičič M, Kmet Lunaček N. Hepatitis in zdravstveni delavci. In: Beovič B, Strle F, Čizman M, ur. Infektološki simpozij 2009; 2009 Mar; Ljubljana, Slovenija. Ljubljana: Sekcija za kemoterapijo SZD: Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, Klinični center: Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo, Medicinska fakulteta; 2009. p 123–32.
- 126.Statistični urad Republike Slovenije. Spremljanje povezanosti med poklici, dejavnostjo in izobrazbo na slovenskem trgu dela. <https://www.stat.si/doc/pub/07-RV-127-0401.pdf> Dostopano 22. marec 2017
- 127.Mednarodni dan medicinskih sester 2011.
<http://www.stat.si/StatWebArhiv/glavnanavigacija/podatki/prikazistaronovico?IdNovice=3892> Dostopano 22. marec 2017
- 128.Puro V, Scognamiglio P, Ippolito G. HIV, HBV or HCV transmission from infected health care workers to patients. Med Lav. 2003;94:56–68.
- 129.Baklan Z, Gorišek JR, Poljak M, Pisec A. Prevalence of HIV, hepatitis B, C and G virus infections among injecting drug users on methadone maintenance treatment in Maribor. Wien KlinWochenschr. 2004;116(Suppl2):S5–7.
- 130.Nacionalno poročilo o drogah 2015. (Internet) Available from:http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/publikacije-datoteke/nacionalno_porocilo_o_drogah_2015_0.pdf Dostopano 27. marec 2017
- 131.European Monitoring Center for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA). Prevalence of current hepatitis B infection (percentage with HBsAg) among injecting drug users (%), 1991 to 2007. (Internet) Available from:<http://www.emcdda.europa.eu/stats09/inftab114> Dostopano 27. marec 2017
- 132.EDCD technical report 2010 - Surveillance and prevention of hepatitis B and C in Europe. (Internet) Available from:

- http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/101012_TER_HepBandC_survey.pdf Dostopano 27. marec 2017
133. Nelson P, Mathers B, Cowie B, Hagan H, Jarlais DD, Horyniak D, et al. The epidemiology of viral hepatitis among people who inject drugs: results of global systematic reviews. *Lancet*. 2011;378:571–83.
134. Karabulut N, Bulut Y, Telo S. Frequency of hepatitis B and viruses, and HIV among drug addicts in the Eastern Anatolia, Turkey. *Jundishapur J Microbiol.* (Internet). 2015;8(8):e19698. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4600201/> Dostopano 27. marec 2017
135. Lugoboni F, Pavarin RM, Resentra C, Gambini D. Let it B? The role of hepatitis B universal vaccination among Italian problematic drug users. *Int J Environ Res Public Health*. 2015;12:3979–92.
136. Blackard JT, Martin MC, Sengupta S, Forrester J. Limited infection with occult hepatitis B virus in drug users in the United States. *Hepatol Res*. 2013;43:413–7.
137. Deacon RM, Topp L, Wand H, Day C, Rodgers C, Haber PS, et al. Correlates of susceptibility to hepatitis B among People who inject drugs in Sydney, Australia. *Journal of urban health: bulletin of the New York Academy of Medicine*. 2012;89:769–78.
138. Removille N, Origer A, Couffignal S, Vaillant M, Schmit JC, Lair ML. A hepatitis A, B, C and HIV prevalence and risk factor study in ever injecting and non-injecting drug users in Luxembourg associated with HAV and HBV immunisations. *BMC Public Health*. 2011;11:351. (Internet) Available from: <https://bmcpublichealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2458-11-351>. Dostopano 27. marec 2017
139. Fontenele AMM, Salgado Filho N, Ferreira ASP. Occult hepatitis B in patients on hemodialysis: a review. *Annals of Hepatology*. 2013;12:359–63.
140. Sowle L, Labbett W, Patel M, ORioden A, Cross J, Davenport A, Haque T. The prevalence of occult hepatitis B virus (hbv) infection in a large multi-ethnic haemodialysis cohort. *BMC Nephrology*. 2015;16:12–25.
141. Malhotra R, Soin D, Grover P, Galhotra S, Khutan H, Kaur N. Hepatitis B and hepatitis C virus co-infection in hemodialysis patients: a retrospective study from tertiary care hospital of North India. *J Nat Sci Biol Med*. 2016;7:72–4.

142. Al Zabadi H, Rahal H, Fugaha R. Hepatitis B and C prevalence among hemodialysis patients in the West Bank hospitals, Palestine. *BMC Infect Dis.* 2016;16:41–53.
143. Abou Rached A, El Khoury L, El Imad T, Geara AS, Jreijiry J, Ammar W. Incidence and prevalence of hepatitis B and hepatitis C viruses in hemodialysis patients in Lebanon. *World J Nephrol.* 2016; 5:101–7.
144. Katayama K, Sato T, Do SH, Yamada H, Tabuchi A, Komiya Y, et al. Hepatitis B virus infection in hemodialysis patients in Japan: Prevalence, incidence and occult hepatitis B virus infection. *Hepatology Res.* 2015;45:1211–9.
145. Daglar D, Ergani A, Demirbakan H, Ozhak Baysan B, Ongut G, Kocak H, et al. Investigation of hepatitis B and C virus infections by serological and molecular methods in hemodialysis patients. *Mikrobiyol Bul.* 2014;48:143–50.
146. Buturović-Ponikvar J, Gubenšek J, Arnol M, Admalje T, Ceglar Z, Damevska G, et al. Dializa v Sloveniji. In: Knap B, Pajek J, ur. 30-letnica kontinuirane ambulantne peritonealne dialize v Sloveniji: zbornik vabljenih predavanj in izvlečkov, 20. in 21. November 2014, Hotel Mons, Ljubljana, Slovenija: Slovensko zdravniško društvo – Slovensko nefrološko društvo, 2014. p. 41–4.
147. Slovenian Society of Nephrology. Slovenian Renal Replacement Therapy Registry 2005. (Internet) Available from: <http://www.nephro-slovenia.si/images/PDF/register2005.pdf> Dostopano 27. marec 2017
148. Recommendations for preventing transmission of infections among chronic hemodialysis patients. *MMWR.* 2001;50(RR05):1–43.
149. Yang S, Wang D, Zhang Y, Yu C, Ren J, Xu K, et al. Transmission of hepatitis B and C virus infection through body piercing: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* (Internet). 2015;94(47):e1893. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5058954/> Dostopano 27. marec 2017
150. Jafari S, Buxton JA, Afshar K, Copes R, Baharlou S. Tattooing and risk of hepatitis B: a systematic review and meta-analysis. *Can J Public Health.* 2012;103:207–12.
151. Sočan M, Matičič M, Tomažič J, Šubelj M, Fafangel M, Trop Skaza A. Ukrepi. *Zdrav Vest.* 2013;82:535–44.
152. Cepljenje moških v času JLA. (Internet) Available from: <http://med.over.net/forum5/read.php?151,5833191> Dostopano 27. marec 2017

153. Dolenjski list št. 13 (1148), Leto XXIII, Novo Mesto. (Internet) Available from: http://www.dolenjskilist.si/media/arhiv-pdf/dl/1972/DL_1972_03_30_13_1148.pdf
Dostopano 27. marec 2017
154. Laras A, Koskinas J, Avgidis K, Hadziyannis SJ. Incidence and clinical significance of hepatitis B virus precore gene translation initiation mutations in e antigen-negative patients. *J Viral Hepat.* 1998;5:241–8.
155. Sagnelli E, Stroffolini T, Mele A, Imperato M, Almasio P, and the Italian hospitals Collaborating Group. Chronic hepatitis B in Italy: new features of an old disease – approaching the universal prevalence of hepatitis B e antigen-negative cases and eradication of hepatitis D infection. *Clin Infect Dis.* 2008;46:110–13.
156. Moussa S, Brah S, Parola P, Gerolami R, Gannerre M, Boubli L, et al. Epidemiological, clinical, virological features of hepatitis B newly diagnosed in 2011 in Marseille University Hospitals, Southeastern France. *J Med Virol.* 2016;88:828:36.
157. Ezzikouri S, Chemin I, Chafik A, Wakrim L, Nouril J, Malki AE, et al. Genotype determination in Moroccan hepatitis B chronic carriers. *Infect Genet Evol.* 2008;8:306–12.
158. Deltenre P, Laleman W, Van Gossum M, Lenaerts A, Colle I, Michielsens P, et al. HBV infection in Belgium: Results of the BASL observatory of 1456 HBsAg carriers. *Acta Gastroenterologica Belgica.* 2012;75:35–41.
159. Fisker N, Pedersen C, Lange M, Thien Tich Nguyen N, Thien Tich Nguyen K, Georgsen J, et al. Molecular epidemiology of hepatitis B virus infections in Denmark. *J Clin Virol.* 2004;31:46–52.
160. Zarski JP, Marcellin P, Leroy V, Treppo C, Samuel D, Carrie-Ganne N, et al. Characteristics of patients with chronic hepatitis B in France: Predominant frequency of HBe antigen negative cases. *Journal of Hepatology.* 2006;45:355–60.
161. Cadranell JR, Lahmek P, Causse X, Bellaiches G, Bettan L, Fontanges T, et al. Epidemiology of chronic hepatitis B infection in France: risk factors for significant fibrosis - results of nationwide survey. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007;26:565–76.
162. Hadziyannis S, Lieberman H, Karvountzis G, Shafritz D. Analysis of liver disease, nuclear HBcAg, viral replication, and hepatitis B virus DNA in liver and serum of HBeAg vs. anti-HBe positive carriers of hepatitis B virus. *Hepatology.* 1983;3:656–62.

163. Fylaktou A, Papaventsis D, Daoudaki M, Moskophidis M, Reiberger T, Malisiovas N. Molecular epidemiology of chronic hepatitis B virus infection in Greece. *J Med Virol.* 2011;83:245–52.
164. Realdi G, Alberti A, Rugge M, Bortolotti F, Rigoli AM, Tremolada F, et al. Seroconversion from hepatitis B e antigen to anti-HBe in chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology.* 1980;79:195–9.
165. Alberti A, Pontisso P, Fattovich G, Schiavon E, Chemello L, Bortolotti F, et al. Changes in serum hepatitis B virus (HBV) DNA positivity in chronic HBV infection: Results of a long-term follow-up study of 138 patients. *J Infect Dis.* 1986;154:562–9.
166. Giusti G, Galanti B, Gaeta GB, Sagnelli E, Piccinino F, Ruggiero G. Clinical presentation and natural history of chronic persistent hepatitis. A multicenter retrospective study on 1197 cases. *Ital J Gastroenterol.* 1991;23:111–8.
167. Zuccaro O, Romano L, Mele A, Mariano A, Clementi M, Tosti ME, et al. Clinical, epidemiological and virological features of acute hepatitis B in Italy. *Infection.* 2015;43:431–41.
168. Niederau C. Epidemiology of hepatitis B in Germany. *Med Klin (Munich).* 2007;102:351–7.
169. Lazarević I, Čupić M, Delić D, Svrtlih SN, Simonović J, Jovanović T. Distribution of HBV genotypes, subgenotypes and HBsAg subtypes among chronically infected patients in Serbia. *Arch Virol.* 2007; 152:2017–25.
170. Bozdayi A, Bozkaya H, Turkyilmaz A, Aslan N, Verdi H, Kence A, et al. Polymorphism of precore region of hepatitis B virus DNA among patients with chronic HBV infection in Turkey. *Infection.* 1999;27:357–60.
171. Sunbul M, Leblebicioglu H. Distribution of hepatitis B virus genotypes in patients with chronic hepatitis B in Turkey. *World J Gastroentero.* 2005;11:1976–80.
172. Ciftci S, Keskin F, Badur S. Clinical features of hepatitis B virus genotypes in Turkish patients. *Journal of the Pakistan medical association.* 2012;62:759–63.
173. Celen MK, Koruk ST, Aygen B, Dal T, Karabay O, Tosun S, et al. The characteristics of patients with chronic hepatitis B in Turkey. *Med Glas (Zenica).* 2014;11:94–8.
174. Bissinger A, Fehrle C, Werner CR, Lauer UM, Malek NP, Berg CP. Epidemiology and genotyping of patients with HE: genotype shifting observed in patients from central Europe. *Pol J Microbiol.* 2015; 64:15–21.

175. Rogstad KE. Sex, sun, sea, and STI: sexually transmitted infections acquired on holiday. *BMJ*. 2004;329:214–7.
176. Marschall T, Kretzschmar M, Mangen MJ, Schalm S. High impact of migration on the prevalence of chronic hepatitis B in the Netherlands. *Eur J Gastroen Hepat*. 2008;20:1214–25.
177. Milosevic I, Delic D, Lazarevic I, Pavlović Pesic I, Korac M, Bojovic K, et al. The significance of hepatitis B virus (HBV) genotypes for the disease and treatment outcome among patients with chronic hepatitis B in Serbia. *J Clin Virol*. 2013;58:54–8.
178. Vratnica Z, Zehender G, Ebranati E, Sorrentino C, Lai A, Vujošević D, et al. Hepatitis B virus genotype and subgenotype prevalence and distribution in Montenegro. *J Med Virol*. 2015;87:807–13.
179. Deterding K, Constantinescu I, Nedelcu FD, Gervain J, Nemeček, Srtunecky O, Vince A, et al. Prevalence of hepatitis B genotypes in Central and Eastern Europe. *J Med Virol*. 2008;80:1707–11.
180. Zehender G, Shkjezi R, Ebranati E, Gabanelli E, Abazaj Z, Tanzi E, et al. Reconstruction of the epidemic history of hepatitis B virus genotype D in Albania. *Infect Genet Evol*. 2012;12:291–8.
181. Ciccozzi M, Babakir-Mina M, Lo Presti A, Salpini R, Cella E, Gabanelli E, et al. Molecular Analysis of Hepatitis B Virus in Bulgaria. *J Med Virol*. 2013;85:49–54.
182. Thibault V, Laperche S, Thiers V, Sayon S, Letort MJ, Delarocque-Astagneau E, et al. Epidemiology and Clinical Characteristics of Hepatitis B Identified through the French Mandatory Notification System. *PLOS one*. (Internet). 2013;8:e75267. Available from:
<http://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0075267&type=printable> Dostopano 27. marec 2017
183. Mojiri A, Behzad-Behbahani A, Saberifirozi M, Ardabili M, Beheshti M, Rahsaz M, et al. Hepatitis B virus genotypes in southwest Iran: molecular, serological and clinical outcomes. *World J Gastroenterol*. 2008;14:1510–3.
184. Toy M, Veldhuijzen IK, Mostert MC, de Man RA, Richardus JH. Transmission routes of hepatitis B virus infection in chronic hepatitis B patients in the Netherlands. *J Med Virol*. 2008;80:399–404.

- 185.Mota A, Guedes F, Areias J, Pinholi L, Fonseca Cardoso M. Epidemiological and genotypic profile of Hepatitis B virus infection in Northern Portugal. *Rev Saude Publ.* 2010;44:1–6.
- 186.Hirzel C, Wandeler G, Owczarek M, Gorgievski-Hrisoho M, Dufour JF, Semmo N, et al. Molecular epidemiology of hepatitis B virus infection in Switzerland: a retrospective cohort study. *BMC Infect Dis.* 2015;15:483–504.
- 187.Yacoubi L, Brichet S, Mansour W, Le Gal F, Hammami W, Sadaoui A, et al. Molecular epidemiology of hepatitis B and delta virus strains that spread in the Mediterranean North East Coast of Tunisia. *J Clin Virol.* 2015;72:126–32.
- 188.Sloan RD, Stranga AL, Ramsay ME, Teo CG. Genotyping of acute HBV isolates from England, 1997–2001. *J Clin Virol.* 2009;44:157–60.
- 189.Congly SE, Wong P, Al-Busafi, Doucette SAK, Fung SK, Ghali P, et al. Characterization of hepatitis B virus genotypes and quantitative hepatitis B surface antigen titres in North American tertiary referral liver centres. *Liver Int.* 2013;33:1363–9.
- 190.Biswas A, Panigrahi R, Pal M, Chakraborty S, Bhattacharya P, Chakrabarti S, et al. Shift in the hepatitis B virus genotype distribution in the last decade among the HBV carriers from eastern India: possible effects on the disease status and HBV epidemiology. *J Med Virol.* 2013;85:1340–7.
- 191.Micalessi MI, De Cock L, Vranckx. Hepatitis B virus (HBV) genotyping in Belgian patients with chronic HBV infection. *Clin Microbiol Inf.* 2005; 11:493–512.
- 192.Valsamakis A. Molecular testing in the diagnosis and management of chronic hepatitis B. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20:426–39.
- 193.Guirgis BSS, Abbas RO, Azzay HME. Hepatitis B virus genotyping: current methods and clinical implications. *Int J Infect Dis.* 2010;14:e941–53.
- 194.vanHoudt R, Bruisten SM, Geskus RB, Bakker M, Wolthers KC, Prins M, et al. Ongoing transmission of a single hepatitis B virus strain among men having sex with men in Amsterdam. *J Viral Hepat.* 2010;17:108–14.
- 195.Koibuchi T, Hitani A, Nakamura T, Nojiri N, Nakajima K, Jyuji T, et al. Predominance of genotype A HBV in an HBV-HIV-1 dually positive population compared with an HIV-1-negative counterpart in Japan. *J Med Virol.* 2001;64:435–40.

- 196.Liu CJ, Kao JH, Chen DS. Therapeutic implications of hepatitis B virus genotypes. *Liver Int.* 2005;25:1097–107.
- 197.Cornberg M, Protzer U, Dollinger MM, Petersen J, Wedemeyer H, Berg T, et al. Prophylaxis, diagnosis and therapy of hepatitis B virus (HBV) infection: Upgrade of the guideline, AWMF-Register 021/ 011. *Z Gastroenterol.* 2007;45:525–74.
- 198.Tran T, Gordon S, Fung S, Dinh P, Yee L, Martins EB, et al. Hepatitis B e antigen status and hepatitis B DNA levels in women of childbearing age with chronic hepatitis B infection screening for clinical trials. *Plos one.* (Internet) 2015;10(3):e0121632. Available from: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0121632> Dostopano 27. marec 2017
- 199.Oommen PT, Wirth S, Wintermeyer P, Gerner P. Relationship between viral load and genotypes of hepatitis B virus in children with chronic hepatitis B. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2006;43:342–7.
- 200.Ni YH, Chang MH, Wang KJ, Hsu HY, Chen HL, Kao JH, et al. Clinical relevance of hepatitis B virus genotype in children with chronic infection and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2004;127:1733–8.
- 201.Mendy ME, Welzel T, Lesi OA, Hainaut P, Hall AJ, Kunihlrom MH, et al. Hepatitis B viral load and risk for liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma in the Gambia, West Africa. *J Viral Hep.* 2010;17:115–22.
- 202.Tian Y, Kuo C, Chen W, Ou JJ. Enhancement of hepatitis B virus replication by androgen and its receptor in mice. *J Virol.* 2011;86:1904–10.
- 203.Madan K, Batra Y, Jha JK, Kumar S, Kalra N, Paul SB, et al. Clinical relavance of HBV DNA load in patients with chronic hepatitis B infection. (Internet) Available from:<http://www.tropicalgastro.com/printerfriendly.aspx?id=225> Dostopano 27. marec 2017
- 204.Chao DT, Lim JK, Ayoub WS, Nguyen LH, Nguyen MH. Systemic review with meta-analysis: the proportion of chronic hepatitis B patients with normal alanine transaminase ≤ 40 IU/ml and significant hepatic fibrosis. *Alimen Pharm Therap.* 2014; 39:349–58.
- 205.Matičič M, Maver M. Kmet Lunaček N, Vidmar Vovko D, Meglič-Volkar J, Rajter M, et al. Prevalence of anti - HCV antibodies in the general population of Slovenia:

- the results of five world hepatitis day screening campaigns. 5th Southeast European Conference on Chemotherapy and Infection; 2014 Oct 16. –19; Bled. p.145.
- 206.Seme K, Lunar M, Tomažič J, Vidmar L, Karner P, Matičič M, et al. Low prevalence of hepatitis B and C infections among HIV-infected individuals in Slovenia: a nation-wide study, 1986–2008. *Acta Dermatovenereol Alp Panonica Adriat.* 2009;18:153–6.
- 207.Caccamo G, Saffioti F, Raimondo G. Hepatitis B virus and hepatitis C virus dual infection. *W J Gastroenterol.* 2014;20:14559–67.
- 208.Tyson GL, Kramer JR, Duan Z, Davila JA, Richardson PA, El-Serag HB. Prevalence and predictors of hepatitis B virus coinfection in a United States cohort of hepatitis C virus-infected patients. *Hepatology.* 2013;58(2):538–45.
- 209.Vilibic Cavlek T, Gjenero Margan I, Zidovec Lepej S, Kolaric B, Vince A. Seroprevalence, risk factors and hepatitis C virus genotypes in groups with high-risk sexual behavior in Croatia. *J Med Virol.* 2009;81:1348–53.
- 210.Villari D, Pernice M, Spinella S, Squadrito G, Rodinò G, Brancatelli S, et al. Chronic hepatitis in patients with active hepatitis B virus and hepatitis C virus combined infections: a histological study. *Am J Gastroenterol.* 1995;90:955–8.
- 211.Lee LP, Dai CY, Chuang WL, Chang WY, Hou NJ, Hsieh MY, et al. Comparison of liver histopathology between chronic hepatitis C patients and chronic hepatitis B and C-coinfected patients. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007;22:515–7.
- 212.Collins JM, Raphael KL, Terry C, Cartwright EJ, Pillai A, Anania FA, et al. Hepatitis B Virus reactivation during successful treatment of Hepatitis C Virus with Sofosbuvir and Simeprevir. *Clin Infect Dis.* 2015;61:1304–6.
- 213.De Monte A, Courjon J, Anty R, Cua E, Naqvi A, Mondain V, et al. Direct-acting antiviral treatment in adults infected with hepatitis C virus: reactivation of hepatitis B virus coinfection as further challenge. *J Clin Virol.* 2016;78:27–30.
- 214.Škamperle M, Seme K, Fujs Komloš K, Tomažič J, Matičič M, Lunar M, et al. Hepatitis Virus Infections Among Patients with HIV Infection in Slovenia. In: Petrovec M, Golle A, editors. 6. Baničevi dnevi: Okužbe spolovil in spolno prenosljive bolezni: Medicinski razgledi; 2014; 53:227–33.
- 215.Konopnicki D, Mocroft A, de Wit S, Antunes F, Ledergerber B, Katlama C, et al. Hepatitis B and HIV: prevalence, AIDS progression, response to highly active antiretroviral therapy and increased mortality in the EuroSIDA cohort. *Aids.* 2005;19:593–601.

216. Basnayake SK, Easterbrook PJ. Wide variation in estimates of global prevalence and burden and death estimates from chronic HBV, HCV and coinfection with HIV in literature. *J Viral Hepat.* 2016;23:545–59.
217. Friedman MR, Wei C, Klem ML, Silvestre AJ, Markovic N, Stall R. HIV infection and sexual risk among men who have sex with men and women (MSMW): a systematic review and meta-analysis. *PLOS One.* (Internet). 2014;9:e87139. Available from: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0087139> Dostopano 27. marec 2017
218. De Buck E, Dietjens T, Compernelle V, Vanderkerckhove P. Is having sex with other men a risk factor for transfusion-transmissible infections in male blood donors in western countries? A systematic review. *PLOS One.* (Internet). 2015;10:e0122523. Available from: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0122523> Dostopano: 22. marec 2017
219. Epidemiološko spremljanje nalezljivih bolezni v Sloveniji v letu 2014. (Internet) Available from: http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/publikacije-datoteke/epidemiolosko_spremljanje_nalezljivih_bolezni_2014_2.pdf. Dostopano 27. marec 2017
220. Phung BC, Sogni P, Launay O. Hepatitis B and human immunodeficiency virus co-infection. *World J Gastroenterol.* 2014;20(46):17360–7.
221. Bosetti C, Levi F, Lucchini F, Zatonski WA, Negri E, La Vecchia C. Worldwide mortality from cirrhosis: an update to 2002. *J Hepatol.* 2007;46:827–39.
222. Onkološki inštitut Ljubljana. Tumorji jeter in žolčnega sistema. (Internet) Available from: http://www.onko-i.si/za_javnost_in_bolnike/vrste_raka/tumorji_jeter_in_zolcnega_sistema/ Dostopano 27. marec 2017
223. Rak v Sloveniji 2012. (Internet) Available from: http://www.onko-i.si/fileadmin/onko/datoteke/dokumenti/RRS/LP_2012.pdf Dostopano 27. marec 2017
224. Lee CM, Lu SN, Changchien CS, Yeh CT, Hsu TT, Tang JH, et al. Age, gender, and local geographic variations of viral etiology of hepatocellular carcinoma in a hyperendemic area for hepatitis B virus infection. *Cancer.* 1999;86:1143–50.

8 ZAHVALE

Za vso strokovno, tehnično in organizacijsko podporo, nasvete, pomoč pri reševanju znanstvenih problemov in nenazadnje potrpežljivost v vseh letih raziskovalnega dela se iskreno zahvaljujem mentorici, prof. dr. Mojci Matičič, dr. med., in somentorju prof. dr. Mariu Poljaku, dr. med. Brez njune pomoči dolgotrajen projekt ne bi uspel.

Za opravljeno mikrobiološko diagnostiko gre zahvala vsem zaposlenim v Laboratoriju za molekularno mikrobiologijo in diagnostiko hepatitisov in aidsa (HIV) Inštituta za imunologijo in mikrobiologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani, še posebej vodji, prof. dr. Mariu Poljaku, dr. med., Petri Markočič, univ. dipl. mikrobiol., in Maji Lunar, univ. dipl. mikrobiol.

Za pomoč pri statistični obdelavi podatkov se zahvaljujem mag. Vanji Erčulj.

Velika zahvala gre vsem vodjem infekcijskih oddelkov po regijskih bolnišnicah, da so bili pripravljeni v raziskavi sodelovati in, da so omogočili pregled dokumentacije bolnikov: prof. dr. Gorazdu Lešničarju, dr. med. iz SB Celje, mag. Zvonku Baklanu, dr. med. iz UKC Maribor, Tatjani Remec, dr. med. iz SB Novo mesto, mag. Emilu Palu, dr. med. iz SB Murska Sobota ter sodelavcem in osebju na Kliniki za infekcijske bolezni in vročinska stanja. Posebna zahvala gre tudi vsem administratorkam in tajnicam iz vseh bolnišnic, ki so si ob prepolnem urniku vzele čas za iskanje in pripravo dokumentacije in me povsod vedno toplo sprejele.

Nenazadnje se zahvaljujem moji družini. Žal že nekaterim pokojnim za zgled in vzgajanje v znanstveno-raziskovalnem duhu, Vidu, Ronji in Natanu pa za neizmerno potrpežljivost, razumevanje, vzpodbudo in tehnično podporo, ki je marsikdaj trajala tudi pozno v noč in brez katere mi ne bi uspelo.

9 PRILOGE

9.1 Priloga 1: Sklep Komisije Republike Slovenije za medicinsko etiko



KOMISIJA REPUBLIKE SLOVENIJE ZA MEDICINSKO ETIKO

Asist. Nina Kmet Lunaček, dr. med.
Klinika za infektivne bolezni in vročinska stanja
Univerzitetni klinični center Ljubljana
Japljeva 2
1525 Ljubljana

Štev.: 66/04/15
Datum: 4. 5. 2015

Spoštovana gospa dr. Kmet Lunaček,

z datumom 9. 4. 2015 ste Komisiji za medicinsko etiko (KME) poslali dopis v zvezi z raziskavo z naslovom:

"Epidemiološke, klinične in virološke značilnosti bolnikov, okuženih z virusom hepatitisa B v Sloveniji." Doktorska naloga, mentorica doc. dr. Mojca Matičič, dr. med., Klinika za infektivne bolezni in vročinska stanja, somentor prof. dr. Mario Poljak, dr. med., Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, MF v Ljubljani. KME 159/01/08.

V njem prosite za ponovno etično mnenje zaradi domnevnega zastaranja.

KME je na seji 14. aprila 2015 ugotovila, da se protokol v ničemer ni spremenil in s tem potrjuje prvotno pozitivno oceno.

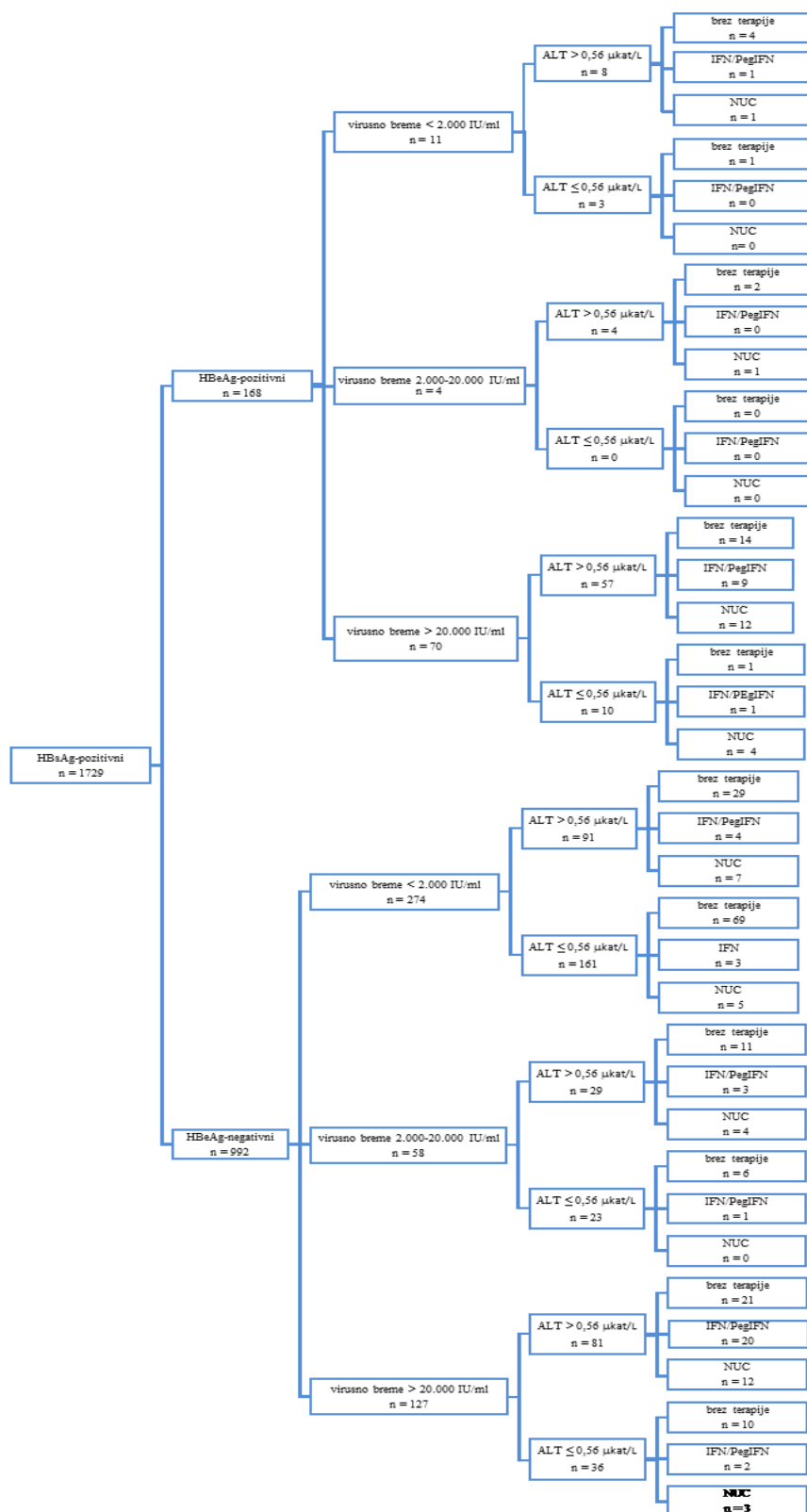
Lep pozdrav,

dr. Božidar Voljč, dr. med.,
predsednik Komisije RS za medicinsko etiko

Naslov:

Komisija RS za medicinsko etiko, Ministrstvo za zdravje, Štefanova 5, 1000 Ljubljana
Telefon: 01/ 478 69 13, e-naslov: kme.mz@gov.si, URL: <http://www.kme-rnec.si>

9.2 Priloga 2: Shematska prikaz bolnikov v podatkovni zbirki glede na HBeAg, virusno breme, koncentracijo ALT in zdravljenje (N = 1729)



IFN - standardni interferon alfa, PegIFN - pegiliran interferon alfa, NUC - nukleoz(t)idnimi analogi, HBeAg - e antigen virusa hepatitisa B, HBsAg - plaščni antigen virusa hepatitisa B, ALT - alanin aminotransferaza, IU – *angl.* international units – mednarodne enote

9.3 Priloga 3: Objavljen članek v reviji Hepatitis Monthly.

Kmet Lunaček N, Poljak M, Meglič-Volkar J, Rajter M, Prah J, et al. Epidemiological, virological and clinical characteristics of hepatitis B virus genotypes in chronically infected persons in Slovenia. *Hepat Mon.* 2017; 17:1–6.

Hepat Mon. 2017 March; 17(3):e43838.

doi: 10.5812/hepatmon.43838.

Published online 2017 March 4.

Rapid Communication

Epidemiological, Virological and Clinical Characteristics of Hepatitis B Virus Genotypes in Chronically Infected Persons in Slovenia

Nina Kmet Lunacek,^{1*} Mario Poljak,² Jelka Meglic-Volkar,¹ Mojca Rajter,¹ Janja Prah,¹ Gorazd Lesnicar,³ Tanja Selic Kurincic,³ Zvonko Baklan,⁴ Tataljana Remec,⁵ Emil Pal,⁶ Petra Markocic,² Maja Lunar,² and Mojca Maticic¹

¹Clinic for Infectious Diseases and Febrile Illnesses, University Medical Centre Ljubljana, Slovenia

²Institute of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Slovenia

³Department of Infectious Diseases and Febrile Conditions, General Hospital Celje, Slovenia

⁴Department of Infectious Diseases and Febrile Illnesses, University Clinical Centre Maribor, Slovenia

⁵General Hospital Novo mesto, Slovenia

⁶General Hospital Murska Sobota, Slovenia

*Corresponding author: Nina Kmet Lunacek, Clinic for Infectious Diseases and Febrile Illnesses, University Medical Centre Ljubljana, Japljeva 2, 1000 Ljubljana, Slovenia. Tel: +386-40817921, Fax: +386-1 5222456, E-mail: dr.ninika@gmail.com

Received 2016 December 12; Revised 2017 February 12; Accepted 2017 February 14.

Abstract

Background: Hepatitis B virus (HBV) genotypes have been shown to have virological, clinical, and therapeutic implications. Knowledge about HBV genotype distribution in Slovenia is scarce. This study was the first to determine various characteristics of patients with chronic HBV infection with regard to HBV genotypes at the national level.

Methods: HBV genotype determination was performed on randomly selected patients out of 1,729 patients from all Slovenian regions who tested positive for HBV surface antigen (HBsAg) at the national reference laboratory for viral hepatitis between January 1997 and December 2010. Demographic, epidemiological, virological, and clinical data were extracted from the medical records and statistically analyzed with regard to HBV genotypes.

Results: A total of 186 HBsAg positive patients with the mean age of 40.1 years were identified from whom, 65.1% were male. 157 (84.4%) cases presented with genotype D, 23 (12.4%) with genotype A, and 6 (3.2%) with other HBV genotypes. Sexual transmission was more significantly associated with lower odds for HBV genotype D infection compared to blood-related risk factors ($P = 0.023$). Genotype A was significantly more common in men who had sex with men ($P = 0.043$). Compared to females with genotype D, genotype A positive women presented unknown risk factors more significantly ($P = 0.002$).

Conclusions: HBV genotype D is the most prevalent genotype in Slovenia. However, future changes might be expected due to recent massive immigrations to Europe. Routine HBV genotyping is recommended in patients with certain risk factors prior to initiation of hepatitis B treatment.

Keywords: Hepatitis B Virus, Genotypes, Risk Factors, Clinical Characteristics

1. Background

With an estimated 250 million of infected persons worldwide, hepatitis B virus (HBV) infection presents a global public health problem. Despite the existence of effective vaccine and treatment, chronic hepatitis B (CHB) remains the leading cause of chronic liver disease and associated mortality (1, 2). HBV prevalence varies with region, between 0.01% in Northern Europe and 22.4% in some African areas (3). In some European countries, the HBV prevalence is higher, with up to 10.4% reported from Kyrgyzstan (3).

HBV genotypes are effective on clinical outcome, seroconversion rates of HBV e antigen (HBeAg), mutations in the (pre)core promoter regions, and response to therapy (4). The prevalence of the HBV genotypes varies geographi-

cally: genotype A prevails in Northern Europe, North America, India, and Africa, while genotypes B and C are more frequent in Southeast Asia, and genotype D in Southern Europe, the Middle East, and India (4).

In Slovenia, a central European country with 2 million people, the HBV prevalence has been estimated at below 1% (5). However, it is believed that the prevalence is underestimated due to under-reporting (6).

2. Objectives

The aim of this national study was to determine epidemiological, virological, and clinical characteristics of individuals with chronic HBV infection in Slovenia with regard to HBV genotypes in order to optimize the national

diagnostic and treatment guidelines following European association for the study of the liver (EASL) recommendations (7).

3. Methods

3.1. Patients

The database of 1,729 HBsAg-positive patients from all regions of Slovenia who tested positive for HBsAg at the reference laboratory for molecular microbiology and diagnostics of hepatitis and HIV/AIDS, Institute of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana between January 1997 and December 2010 was reviewed. HBV genotyping had already been performed on 127 cases. From the remaining, 450 presented with available medical data. From these, every fifth patient was selected for further genotyping following a systematic random sampling approach, yielding another 90 patients. Genotyping was successfully performed on 59 cases; in the remaining 31 cases, genotyping failed: in 24 due to undetectable HBV DNA or viral load < 100 IU/mL and in 7 due to inadequate quantity of sample.

Available epidemiological and clinical characteristics were reviewed from the medical documentation.

3.2. Serological and Molecular Methods

In all samples, HBsAg and HBeAg were determined using the ARCHITECT immunoassay analyzer (Abbott, Wiesbaden, Germany) and HBV DNA viral load using the real-time PCR based test Abbott RealTime HBV Test (Abbott). Viral load was categorized according to the clinical implications into three ranges: $\leq 2,000$ IU/mL, 2,000 - 20,000 IU/mL, and $\geq 20,000$ IU/mL (7).

For determination of HBV genotypes, a two-stage procedure was followed. In the first step, real-time PCR was employed (8). The assay differentiates reliably between genotypes A and D in a single reaction, since probes are labeled with different fluorescein dyes (FAM for genotype A and YAK for genotype D). To determine HBV genotype in non-A-non-D positive samples, a portion of the HBV polymerase gene was sequenced using primers reported previously (9), and HBV genotypes determined using NCBI genotyping tool. The dual infection sequences were determined using real-time PCR method and confirmed by sequencing. The obtained sequences were analyzed using an online tool geno2pheno (10). The sequences determined in this study were deposited in the GenBank (accession numbers KY613598-KY613603).

3.3. Statistical Methods

Association between patients' characteristics and HBV genotype was tested using univariate and multiple logistic regressions, likelihood ratio, or the Mann-Whitney U test. No correction for multiple comparisons was made. Significance tests were two-sided. P values ≤ 0.05 were considered statistically significant. Statistical analysis was performed using R program 3.1.1 and SPSS 23.0.

The study was approved by the national medical ethics committee of the Republic of Slovenia on May 4th 2015 (consent number: 6/04/15).

4. Results

186 patients met the inclusion criteria. The baseline characteristics of the enrolled patients are presented in Table 1.

Half of the studied patients reported no known risk factors for acquiring infection. Among the remaining, blood-related factors were the most common causes (41.9%). Patients with unknown risk factors were significantly older than patients with blood-related and sexual behavior-related risk factors ($P = 0.001$ and $P = 0.009$, respectively).

The majority (70.1%) of patients were HBeAg-negative (Table 1).

Genotype D was present in 157/186 (84.4%) and non-D in 28/186 (15.1%); one patient (0.5%) had mixed AD genotype (Table 1). 146/173 (84.4 %) Slovenians presented with genotype D, of the remaining (7 Bosnians, 2 Romanians, 2 Albanians, 1 Bulgarian, and 1 Chinese), 11 presented with genotype D, one (Chinese) with genotype B, and one (Bosnian) with mixed genotype AD.

The association between HBV genotypes and epidemiological, virological, and clinical characteristics of the included patients is presented in Table 2. Compared to the patients with blood-related risk factors, patients with risky sexual behavior had lower odds for HBV genotype D (OR = 0.14 [95 % CI, 0.02; 0.75]; $P = 0.023$). Genotype A had a statistically significant association with men who had sex with men (MSM) and bisexual men ($P = 0.043$).

Statistical analysis performed separately for males and females showed a significant association between HBV genotypes and risk factors; but no association between genotypes and age, alanine aminotransferase (ALT) levels, and viral load was observed. The risk factor was unknown for more genotype A infected females compared to genotype D infection cases ($P = 0.002$).

Multiple logistic regression with age, HBeAg status, viral load, risk factors for HBV infection, and ALT level as predictors and HBV genotype as the dependent variable showed that HBeAg-positive patients and those with sexual

Table 1. Baseline Demographic, Epidemiological, Virological, and Clinical Characteristics of the Included Patients (N = 186)

	Patients (N = 186)
Gender	
Male	121 (65.1)
Age, y	40.1 ± 14.4
Risk factors-general (n = 155)	
Unknown	78 (50.3)
Blood-related	65 (41.9)
Blood- and sexual-behavior related	5 (3.2)
Sexual-behavior related	7 (4.5)
Risk factors-specified (n = 155)	
Unknown	78 (50.3)
HBV in family	50 (32.5)
Blood transfusion	10 (6.4)
Sexual behavior	10 (6.4)
Healthcare worker	5 (3.2)
Hemodialysis	4 (2.6)
Tattooing	3 (1.9)
Incident	2 (1.3)
Intravenous drug use	1 (0.6)
Man having sex with man	1 (0.6)
Bisexual male	1 (0.6)
HBV-positive cohabitant	1 (0.6)
Surgical procedure in the past	1 (0.6)
HBeAg (n = 144) Negative	101 (70.1)
Genotype (n = 186) D	157 (84.4)
Other	28 (15.1)
A	23 (12.4)
B	2 (1.1)
C	2 (1.1)
F	1 (0.5)
AD	1 (0.5)
Viral load, IU/ml (n = 126)	
< 2,000	44 (34.6)
2,000 - 20,000	13 (10.2)
> 20,000	70 (55.1)
AST, IU/l (n = 137)	
> 0.52, UNL	79 (57.7)
ALT, IU/l (n = 137)	
> 0.56, UNL	94 (68.6)

Abbreviations: ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; SD, standard deviation; UNL, upper normal limit.

^aValues are expressed as mean ± SD or No. (%).

behavior-related risk factors have lower odds for HBV genotype D infection than for HBV non-D genotype (Table 3). The regression analysis was performed although Agresti's rule of thumb concerning ten events for independent variable had been violated (11).

5. Discussion

Only scarce data are available on the characteristics of HBV infected patients in Slovenia. A 2.5% prevalence for HBsAg positive persons injecting drugs on substitution treatment was reported (12), which ranks Slovenia as a country with the lowest rate among European countries (13). In HIV-positive Slovenian patients, HBsAg was determined in 3.5% and 3.9% (14, 15), which are lower compared to other European countries (16).

So far, no study on HBV genotype distribution has been performed in Slovenia. According to our results, genotype D is the most prevalent one, followed by genotype A. The genotype D prevalence of 84.4% positions Slovenia alongside other countries of the Balkan region, such as Serbia (82%; 85%), Montenegro (80.2%), and Croatia (80%) (17-20).

The results highlighted out the association of HBV genotypes with the risk factors for acquiring the infection; patients with risky sexual behavior, especially MSM and bisexual men, were significantly more often infected with genotype A. VanHoudt et al. also reported genotype A as the most prevalent genotype in MSM population in Europe (21). Similar reports came from Japan (22).

In a patient originating from Bosnia-Herzegovina, a dual infection with genotypes A and D was determined. The prevalence of co-infections with two HBV genotypes in Europe has been poorly documented. Sporadic reports showed up to 27% prevalence of mixed genotype infections, predominantly AD (20, 23). Sequencing is less sensitive than other methods detecting mixed genotypes, as it detects mainly the predominant genotype in mixtures, leading to potential underestimation (24). In highly prevalent genotype D regions, a single-step PCR method can be used to distinguish HBV genotypes D from non-D (25).

HBeAg-positive patients were less likely to be infected with genotype D, and genotype D was more frequently present in patients with HBeAg-negative status. Our finding reflects the natural course of HBV infection characteristic in the Mediterranean region, where genotype D and pre-core mutations prevail and consequently, HBeAg-negative prevalence is higher (26). A 70.1% prevalence of HBeAg-negative infection in Slovenia is in accordance with other reports from Europe, where it varies from 70% - 100% (27).

Females infected with genotype D were significantly younger and had a higher viral load regardless the risk factor for infection compared to other genotypes. Similarly, Tran et al. reported very high viral loads in HBV genotype D infected women with ≤ 44 years compared to those infected with HBV of the non-D genotype (28).

Interestingly, no significant differences regarding the viral load between genotypes D and A were seen when the whole population was examined. Lindh et al. reported

Table 2. Association Between Hepatitis B Virus Genotypes and Demographic, Epidemiological, Virological, and Clinical Characteristics of the Included Patients (N = 185)^a

	Genotype Non-D (N = 28)	Genotype D (N = 157)	OR (95 % CI)	P Value	Genotype A (N = 23)	P Value ^b
Female gender	11 (39.3)	54 (34.4)	0.81 (0.33; 1.85)	0.617	8 (34.8)	0.97 ^c
< 30 years of age	20 (71.4)	118 (75.2)	1.12 (0.49; 2.97)	0.676	18 (78.3)	0.744 ^c
Risk factors						0.022 ^c
BR	6 (25)	59 (45.4)	1		3 (15)	
SR	3 (12.5)	4 (3.1)	0.14 (0.02; 0.75)	0.023	3 (15)	
BR & SR	1 (4.2)	4 (3.1)	0.41 (0.04; 4.25)	0.453	1 (5)	
Unknown	14 (58.3)	63 (48.5)	0.46 (0.16; 1.27)	0.133	13 (65)	
HBeAg-positive	9 (40.9)	34 (28.1)	0.56 (0.22; 1.44)	0.228	6 (31.6)	0.757 ^c
Males (N = 120)						
	N = 17 (14.1%)	N = 103 (85.8%)			N = 15 (12.5%)	
Risk factors	n = 15	n = 84			n = 13	0.041 ^c
BR	4 (26.7)	38 (45.2)	1		3 (15.4)	
SR	3 (20)	2 (2.3)	0.07 (0.01; 0.55)	0.012	3 (15.4)	
BR & SR	1 (6.6)	2 (2.3)	0.21 (0.02; 2.87)	0.242	1 (7.7)	
Unknown	7 (46.7)	42 (50)	0.63 (0.27; 2.33)	0.49	6 (46.2)	
MSM	1 (6.7)	0	0.05 ^c		1 (7.7)	0.043 ^c
Bisexual men	1 (6.7)	0	0.05 ^c		1 (7.7)	0.043 ^c
HBeAg-positive	7 (41.2)	23 (28.4)	0.077 ^c		6 (40)	0.144 ^c
Viral load, IU/mL	n = 15	n = 67	0.980 ^c		n = 13	0.856 ^c
< 2,000	4 (26.7)	17 (25.4)			4 (30.8)	
2,000 - 20,000	2 (13.3)	8 (11.9)			1 (7.7)	
> 20,000	9 (60.0)	42 (62.7)			8 (61.5)	
Females (N = 65)						
	N = 11 (16.9%)	N = 54 (83.1%)			N = 8 (12.3%)	
Risk factors	n = 9	n = 46			n = 7	0.020 ^c
BR	2 (22.2)	21 (45.7)	1		0	
SR or BR & SR	0	4 (8.6)	-	-	0	
Unknown	7 (77.8)	21 (45.7)	0.29 (0.05; 1.54)	0.145	7 (100)	
Unknown risk f.	7 (77.8)	21 (45.7)	0.07 ^c		7 (100)	0.002 ^c
HBV in family	2 (22.2)	11 (23.9)	0.913 ^c		0	0.06 ^c
HBeAg-positive	2 (9 (22.2)	11 (40 (27.5)			0 (0)	0.043 ^c
Viral load, IU/mL	n = 8	n = 36	0.492 ^c		n = 6	0.237 ^c
< 2,000	5 (62.5)	18 (50)			5 (83.3)	
2,000 - 20,000	0	3 (8.3)			0	
> 20,000	3 (37.5)	15 (41.7)			1 (16.7)	

Abbreviations: BR, blood-related risk factors; CI, confidence interval; HBV, hepatitis B virus; MSM, men having sex with men; OR, odds ratio; SR, sexual behavior related risk factors.
^aValues are expressed as No. (%).
^bComparison between HBV genotypes D and A.
^cLikelihood ratio test.

that HBeAg-positive patients with genotype D had higher viral load than those infected with other genotypes (29). Oommen et al. indicated viral load was higher in children infected with genotype D in comparison with genotype A (30).

Our study has several limitations. First, selection bias cannot be excluded. Due to financial limitations, only 90 additional randomly chosen patients could be genotyped. Besides, some statistical analyses were performed in smaller subpopulations due to lack of data. The strength of the study lies in its nationwide analysis of HBV genotypes

in Slovenian patients.

In conclusion, the results suggest that genotype D is the most prevalent genotype in Slovenia that indicates the need to change the national guidelines for the management of CHB in males with history of high risk sexual behavior, especially in MSM. As CHB treatment response differs per HBV genotype (7), this risk group should be routinely genotyped before the treatment initiation.

Table 3. Association Between Hepatitis B Virus Genotype D and Epidemiological, Virological, and Clinical Characteristics of the Included Patients (Results of Multiple Logistic Regression; Reference Category: Non-D Genotypes) (N = 109)

	OR (95 % CI)	P Value
Age, y	0.99 (0.95; 1.03)	0.543
Risk factors		
BR		
SR	0.11 (0.02; 0.87)	0.036
BR & SR	0.54 (0.05; 6.18)	0.623
Unknown	0.46 (0.13; 1.69)	0.244
HBsAg-positive	0.23 (0.05; 0.98)	0.047
Viral load, IU/mL		
< 2,000		
2,000 - 20,000	1.4 (0.14; 13.87)	0.773
> 20,000	1.4 (0.33; 5.86)	0.649
ALT > 0.56 IU/L	2.14 (0.57; 7.97)	0.258

Abbreviations: ALT, alanine aminotransferase; BR, blood-related risk factors; SR, sexual-related risk factors.

References

- Locarnini S, Hatzakis A, Chen DS, Lok A. Strategies to control hepatitis B: Public policy, epidemiology, vaccine and drugs. *J Hepatol*. 2015;**62**(1 Suppl):S76-86. doi: [10.1016/j.jhep.2015.01.018](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.01.018). [PubMed: 25920093].
- Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;**380**(9859):2095-128. doi: [10.1016/S0140-6736\(12\)61728-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61728-0). [PubMed: 23245604].
- Schweitzer A, Horn J, Mikolajczyk RT, Krause G, Ott JJ. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet*. 2015;**386**(10003):1546-55. doi: [10.1016/S0140-6736\(15\)61412-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)61412-X). [PubMed: 26231459].
- Sunbul M. Hepatitis B virus genotypes: global distribution and clinical importance. *World J Gastroenterol*. 2014;**20**(18):5427-34. doi: [10.3748/wjg.v20.i18.5427](https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i18.5427). [PubMed: 24833873].
- Hatzakis A, Van Damme P, Alcorn K, Gore C, Benazzouz M, Berkane S, et al. The state of hepatitis B and C in the Mediterranean and Balkan countries: report from a summit conference. *J Viral Hepat*. 2013;**20** Suppl 2:1-20. doi: [10.1111/jvh.12120](https://doi.org/10.1111/jvh.12120). [PubMed: 23827008].
- Kraigher A, Socan M, Klavs I, Frelj T, Grlic E, Grgic Vitek M. Epidemiological surveillance of communicable diseases in Slovenia in 2013-2014. Available from: http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/publikacije-datoteke/epidemiolosko_spremljanje_nalezljivih_bolezni_2013.pdf.
- Friedman SL. Focus. Metchnikoff, macrophages and the metabolic syndrome. *J Hepatol*. 2012;**57**(1):1-2. doi: [10.1016/j.jhep.2012.04.006](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.04.006). [PubMed: 22522383].
- Malmstrom S, Berglin-Enquist I, Lindh M. Novel method for genotyping hepatitis B virus on the basis of TaqMan real-time PCR. *J Clin Microbiol*. 2010;**48**(4):1105-11. doi: [10.1128/JCM.01442-09](https://doi.org/10.1128/JCM.01442-09). [PubMed: 20107090].
- Osiowy C, Villeneuve JP, Heathcote EJ, Giles E, Borlang J. Detection of rtN236T and rtA181V/T mutations associated with resistance to adefovir dipivoxil in samples from patients with chronic hepatitis B virus infection by the INNO-LiPA HBV DR line probe assay (version 2). *J Clin Microbiol*. 2006;**44**(6):1994-7. doi: [10.1128/JCM.02477-05](https://doi.org/10.1128/JCM.02477-05). [PubMed: 16757589].
- Beggel B, Neumann-Fraune M, Doring M, Lawyer G, Kaiser R, Verheyen J, et al. Genotyping hepatitis B virus dual infections using population-based sequence data. *J Gen Virol*. 2012;**93**(Pt 9):1899-907. doi: [10.1099/vir.0.043042-0](https://doi.org/10.1099/vir.0.043042-0). [PubMed: 22694900].
- Agresti A. Building and applying logistic regression models. In: Agresti A, editor. An introduction to categorical data analysis. Hoboken: Wiley; 2007. pp. 137-62.
- Baklan Z, Gorisek JR, Poljak M, Pisek A. Prevalence of HIV, hepatitis B, C and G virus infections among injecting drug users on methadone maintenance treatment in Maribor. *Wien Klin Wochenschr*. 2004;**116** Suppl 2:5-7. [PubMed: 15506302].
- European Monitoring Center for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA). Prevalence of current hepatitis B infection (percentage with HBsAg) among injecting drug users (%), 1991 to 2007-2009. Available from: <http://www.emcdda.europa.eu/stats09/inf114>.
- Seme K, Lunar MM, Tomazic J, Vidmar L, Karner P, Matic M, et al. Low prevalence of hepatitis B and C infections among HIV-infected individuals in Slovenia: a nation-wide study, 1986-2008. *Acta Dermatovenol Alp Pannonica Adriat*. 2009;**18**(4):153-6. [PubMed: 20043052].
- Skamperle M, Seme K, Lunar MM, Maver PJ, Tomazic J, Vovko TD, et al. Prevalence, genotype distribution, and risk factors for hepatitis C infection among HIV-infected individuals in Slovenia: a 1986-2013 update. *Acta Dermatovenol Alp Pannonica Adriat*. 2014;**23**(2):25-6. [PubMed: 24964945].
- McCrory A, Ledergerber B, Katlama C, Kirk O, Reiss P, d'Arminio Monforte A, et al. Decline in the AIDS and death rates in the EuroSIDA study: an observational study. *Lancet*. 2003;**362**(9377):22-9. [PubMed: 12853195].
- Lazarevic I, Cupic M, Delic D, Svrtlih NS, Simonovic J, Jovanovic T. Distribution of HBV genotypes, subgenotypes and HBsAg subtypes among chronically infected patients in Serbia. *Arch Virol*. 2007;**152**(11):2017-25. doi: [10.1007/s00705-007-0431-0](https://doi.org/10.1007/s00705-007-0431-0). [PubMed: 17680327].
- Milosevic I, Delic D, Lazarevic I, Pavlovic IP, Korac M, Bojovic K, et al. The significance of hepatitis B virus (HBV) genotypes for the disease and treatment outcome among patients with chronic hepatitis B in Serbia. *J Clin Virol*. 2013;**58**(1):54-8. doi: [10.1016/j.jcv.2013.06.017](https://doi.org/10.1016/j.jcv.2013.06.017). [PubMed: 23838671].
- Vratnica Z, Zehender G, Ebranati E, Sorrentino C, Lai A, Vujosevic D, et al. Hepatitis B virus genotype and subgenotype prevalence and distribution in Montenegro. *J Med Virol*. 2015;**87**(5):807-13. doi: [10.1002/jmv.24083](https://doi.org/10.1002/jmv.24083). [PubMed: 25712706].
- Deterding K, Constantinescu I, Nedelcu FD, Gervain J, Nemecek V, Sr-tunecy O, et al. Prevalence of HBV genotypes in Central and Eastern Europe. *J Med Virol*. 2008;**80**(10):1707-11. doi: [10.1002/jmv.21294](https://doi.org/10.1002/jmv.21294). [PubMed: 18712830].
- van Houdt R, Bruisten SM, Gesskus RB, Bakker M, Wolthers KC, Prins M, et al. Ongoing transmission of a single hepatitis B virus strain among men having sex with men in Amsterdam. *J Viral Hepat*. 2010;**17**(2):108-14. doi: [10.1111/j.1365-2893.2009.01158.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2009.01158.x). [PubMed: 19811610].
- Koibuchi T, Hitani A, Nakamura T, Nojiri N, Nakajima K, Jyuji T, et al. Predominance of genotype A HBV in an HBV-HIV-1 dually positive population compared with an HIV-1-negative counterpart in Japan. *J Med Virol*. 2001;**64**(4):435-40. [PubMed: 11468727].
- Schaefer S. Hepatitis B virus genotypes in Europe. *Hepatol Res*. 2007;**37**(S1):S20-6. doi: [10.1111/j.1872-034X.2007.00099.x](https://doi.org/10.1111/j.1872-034X.2007.00099.x). [PubMed: 17627630].
- Pourkarim MR, Van Ranst M. Guidelines for the detection of a common source of hepatitis B virus infections. *Hepat Mon*. 2011;**11**(10):783-5. doi: [10.5812/kowsar.1735143X.773](https://doi.org/10.5812/kowsar.1735143X.773). [PubMed: 22224075].
- Amini-Bavil-Olyae S, Pourkarim MR, Schaefer S, Mahboudi F, Van Ranst M, Adeli A, et al. Single-step real-time PCR to quantify hepatitis B virus and distinguish genotype D from non-D genotypes. *J Viral*

- Hepat.* 2011;**18**(4):300–4. doi: [10.1111/j.1365-2893.2010.01308.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2010.01308.x). [PubMed: 20367802].
26. Wu JF, Chang MH. Natural history of chronic hepatitis B virus infection from infancy to adult life - the mechanism of inflammation triggering and long-term impacts. *J Biomed Sci.* 2015;**22**:92. doi: [10.1186/s12929-015-0199-y](https://doi.org/10.1186/s12929-015-0199-y). [PubMed: 26487087].
27. Hadziyannis SJ, Vassilopoulos D. Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology.* 2001;**34**(4 Pt 1):617–24. doi: [10.1053/jhep.2001.27834](https://doi.org/10.1053/jhep.2001.27834). [PubMed: 11584355].
28. Tran TT, Gordon SC, Fung S, Dinh P, Yee L, Martins EB, et al. Hepatitis B e antigen status and hepatitis B DNA levels in women of child-bearing age with chronic hepatitis B infection screening for clinical trials. *PLoS One.* 2015;**10**(3):e0121632. doi: [10.1371/journal.pone.0121632](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121632). [PubMed: 25789483].
29. Lindh M, Horal P, Dhillon AP, Norkrans G. Hepatitis B virus DNA levels, precore mutations, genotypes and histological activity in chronic hepatitis B. *J Viral Hepat.* 2000;**7**(4):258–67. [PubMed: 10886534].
30. Oommen PT, Wirth S, Wintermeyer P, Gerner P. Relationship between viral load and genotypes of hepatitis B virus in children with chronic hepatitis B. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2006;**43**(3):342–7. doi: [10.1097/01.mpg.0000233191.95447.1e](https://doi.org/10.1097/01.mpg.0000233191.95447.1e). [PubMed: 16954957].