
Behandling av kronisk hepatit B-infektion hos vuxna och barn – uppdatering

Bakgrundsdokumentation

Behandling av kronisk hepatit B med interferon (IFN), nukleo(s/t)idanaloger och kombinationer av läkemedel – en uppdatering

Ola Weiland

Vid en workshop anordnad av Läkemedelsverket (LV) och RAV november 2000 genomgicks den vetenskapliga dokumentationen för antiviral behandling av kronisk hepatit B av en expertgrupp som enades om svenska behandlingsrekommendationer. Dessa publicerades i LV:s tidskrift samt som en workshop på webben (www.mpa.se; ”Behandling av kronisk hepatit B hos vuxna och barn”). Utvecklingen inom området har fortskridit och ett nytt preparat adefovir dipivoxil (ADV) utöver interferon alfa och lamivudin har registrerats på marknaden för behandling av kronisk hepatit B. Ett europeiskt konsensusmöte har nyligen publicerat uppgraderade rekommendationer (1) och en ny genomgång av de svenska rekommendationerna har ansetts påkallad.

Den bästa indikatorn på effektiviteten av behandlingssvaret under antiviral behandling av kronisk hepatit B är graden av minskning av HBV-DNA-nivån i blodet som uppnås och hur god dess varaktighet är under och efter behandlingen. Således fann man i en analys av 26 prospektiva studier en statistiskt signifikant och konsekvent korrelation mellan virusmängden eller dess förändring och histologisk inflammationsgrad, biokemiskt och serologiskt svar på behandlingen (2). Enligt denna studie kan behandlingsinducerad reduktion av HBV-DNA-nivåerna användas för att bedöma effektiviteten av behandlingen och målet med behandlingen bör vara att uppnå en bestående virusminskning (2). Särskilt väl utföll detta vid behandling med nukleosidanaloger och för HbeAg-positiv kronisk hepatit B.

Allmänt anses att en virusreplikationsnivå över 10^5 kopior per mL bör föreligga för att behandling skall anses indicerad (3). Detta förefaller vara en rimlig nivå vid HbeAg-positiv kronisk hepatit för att diskriminera mellan ”friska bärare” och patienter med kronisk hepatit, men är sannolikt en för hög nivå för HbeAg-negativ kronisk hepatit där 30 000 kopior per mL möjligen är mer adekvat (4, 5).

Risken att utveckla levercancer på grund av kronisk hepatit B spelar också in när det gäller att bedöma indikationen för antiviral behandling. En

stor studie från Taiwan med mer än 90 000 personårsuppföljning av män i åldern 30 - 65 år med kronisk hepatit B har visat att cancerrisken tycks vara relaterad till virusreplikationen (6). Således var incidensen hepatocellulär cancer (HCC) 1 169 fall per 100 000 personår bland män som var positiva för både HBsAg och HBeAg, 324 per 100 000 personår för de som var positiva för bara HBsAg, och 39 per 100 000 personår för HbsAg-negativa personer (6). Detta motsvarar en relativ risk för HCC på 9,6 (95 % CI, 6,0 - 15,2) bland män som enbart var positiva för HBsAg och 60,2 (95 % CI, 35,5 - 102,1) bland de som var positiva för både HBsAg och HBeAg, jämfört med de som var negativa för båda markörerna. Beräkningen är justerad med hänsyn till ålder, kön, förekomst eller inte av antikroppar mot hepatit C, rökning, och alkoholanvändning (6). Denna studie har medfört att man nu ser mer liberalt på behandling av HbeAg-positiv kronisk hepatit B i USA (Keefe och Schiff vid ett symposium “Increasing efficacy in chronic viral hepatitis B: Evidence-based strategies” i samband med AASDL 2003).

Interferon och kombinationsbehandling

HbeAg-positiv kronisk hepatit B

Vid hepatit C har behandling med pegylerat interferon (peg-IFN) helt ersatt äldre rekombinant IFN (7). Publicerade studier med peg-IFN för behandling av hepatit B har tidigare inte funnits tillgängliga. Nyligen har en första sådan studie publicerats (8) och flera liknande pågår där peg-IFN används som monoterapi eller i kombination med nukleo(s/t)idanaloger. I den första publicerade fas II-studien jämförs peg-IFN alfa 2a i dosen 90, 180 eller 270 µg en gång per vecka med standard IFN alfa-2a 4,5 MIU tre gånger per vecka (t.i.w.) givet under 24 veckor för behandling av HbeAg-positiv kronisk hepatit B hos 194 asiatiska patienter med genotyp B- eller C-infektion.

Vid uppföljning 24 veckor efter avslutad behandling hade respektive 37 %, 35 % och 29 % av patienterna som fått peg-IFN alfa-2a i dosen 90, 180 och 270 µg blivit HBeAg-negativa jämfört med 25 % av patienterna som behandlats med standard IFN alfa-2a. Det kombinerade svaret (HbeAg-förlust, HBV-DNA-suppression till <500 000 kopior/mL, och ALAT-normalisering) för alla peg-IFN alfa-2a dosgrupperna tillsammans var två gånger högre än det som uppnåddes med standard IFN alfa-2a (24 % vs. 12 %; $p = 0,036$). Alla behandlingsgrupper uppvisade samma frekvens och svårighet av biverkningar. Denna studie indikerar att peg-IFN alfa-2a har högre effektivitet än standard IFN alfa-2a vid behandling av HbeAg-positiv kronisk hepatit B. Ett problem med studien är dock att doseringen av standard IFN var låg jämfört med den i USA och Europa rekommenderade dosen 5 MIU dagligen alternativt 10 MIU t.i.w för vuxna varför jämförelsen haltar något. 4,5 - 5 MIU t.i.w. är dock den rekommenderade dosen i asiatiska länder och tillämpas i Europa på HBeAg-negativ hepatit B. Asiatiska patienter väger ofta mindre och i denna studie var medelvikten mellan 63 - 66 kg i behandlingsgrupperna vilket kan motivera den låga dosen standard IFN. Man kan notera att den lilla grupp som hade cirrhos svarade bättre på peg-IFN än standard IFN och att normalt svårbehandlade patienter med låga ALAT-nivåer och höga HBV-DNA-nivåer svarade signifikant bättre på peg-IFN än standard IFN. Således svarade respektive 20 % vs. 0 % av de som hade HBV-DNA-nivåer >11 log₁₀ kopior/mL. Den högsta peg-IFN dosen 270 µg medförde ingen ytterligare fördel jämfört med de lägre doserna.

För peg-IFN alfa-2b finns fullständiga resultat ännu inte publicerade. Biverkningsprofilen med peg-IFN alfa-2b givet i dosen 100 µg per vecka under de första 32 veckorna följt av 50 µg per vecka fram till vecka 52 (där denna behandling jämfördes med samma doser peg-IFN i kombination med lamivudin 100 mg per dag), rapporterades vid EASL-mötet i Geneve. En jämförelse med historiska kontroller behandlade med konventionellt IFN alfa-2b i dosen 10 MU tre gånger per vecka under 16 - 32 veckor visade på en jämförbar biverkningsprofil (9). Behandlingseffekten i denna studie redovisades vid AASLD-mötet i oktober 2003. Här noterades signifikant bättre effekt i kombinationsgruppen vid behandlingens avslutning vecka 52 (ETR; end of treatment response), men skillnaden försvann vid uppföljningen 24 veckor senare (10). Då noterades för peg-IFN alfa-2b som monoterapi jämfört med peg-IFN alfa-2b + lamivudin, HBeAg clearance hos 36 % vs. 35 %, HBV-DNA <200 000 kopior hos 27 % vs. 32 % och ALAT-normalisering hos 32 % vs. 35 % av patienterna. Ingen signifikant förbättring med kombinationsbehandling jämfört med peg-IFN monoterapi kunde således påvisas (10).

Flera studier med peg-IFN i kombination med lamivudin jämfört med lamivudin som monoterapi pågår, men är ännu ej slutligt publicerade. Vid EASL-mötet i Geneve i juni 2003 rapporterade Sung et al. preliminära resultat från en studie av peg-IFN alfa-2b 1,5 µg/kg kroppsvikt under åtta veckor följt av peg-IFN + lamivudin 100 mg per dag under 24 veckor följt av lamivudin monoterapi 28 veckor, jämfört med lamivudin monoterapi 100 mg dagligen under 52 veckor (11). Resultaten bland de första 40 patienterna som fullföljt studien redovisades. Kvarstående terapivar definierat som HBeAg clearance och omätbara HBV-DNA-nivåer 24 veckor efter avslutad behandling erhöles i den sekventiella kombinationsbehandlingsgruppen hos 50 % jämfört med 10 % i lamivudin monoterapigruppen, $p = 0,02$. ETR-resultaten var ännu mer skilda till fördel för kombinationsgruppen 75 % vs. 25 %, $p = 0,0005$. Sammantaget tycks kombinationsbehandling medföra högre ETR-svar, som dock verkar gå förlorat efter utsatt behandling så att vid uppföljningen efter 24 veckor ingen fördel kan ses med kombinationsbehandlingen möjligen med undantag av när denna ges sekventiellt.

HBeAg negativ kronisk hepatit B

Vid det tidigare konsensusmötet bedömdes IFN-baserad behandling ge osäkert och dåligt dokumenterat behandlingssvar och frekventa relapser hos patienter med e-negativ kronisk hepatit B. Grundat på studier där långtidsbehandling med IFN utnyttjats under 12 - 24 månader för denna patientkategori har uppfattningen modifierats. Vid det senaste konsensusmöte som arrangerades i EASLs regi ansåg juryn att IFN skulle rekommenderas som initial terapi i dosen 5 - 6 MIU tre gånger per vecka för HBeAg-negativ kronisk hepatit (1). Ställningstagandet grundade sig bl.a. på en italiensk långtidsbehandlingsstudie omfattande 101 konsekutiva patienter (12). Studien var en öppen kohortstudie där 6 MU IFN alfa-2b gavs tre gånger per vecka under 24 månader till patienter med kronisk anti-Hbe-positiv hepatit med fibrosstadium ≥ 3 enligt Ishaks scoresystem (13) och med minst en ALAT-flare på mer än 5 x ULN (200 IU/mL) inom 12 månader före behandlingsstart samt med detekterbara HBV-DNA-nivåer. Samtliga patienter var negativa för hepatit C, D och hiv. Av 132 patienter, som uppfyllde kriterierna för inklusion, accepterade 101 behandlingen. Totalt genotypades 96 patienter varav majoriteten (92 %) hade genotyp D. Cirka 30 % fullföljde inte behandlingen främst pga. biverkningar. Majoriteten av dessa hade inte svarat på behandlingen. Av de 71 som fullföljde behandlingen uppnådde 30 (42 %) bestående terapivar definierat som normala transaminaser och icke detekterbart HBV-DNA (Digene Hybrid capture System eller bDNA, känslighet 1 pg motsvarande ungefär 3×10^5 gE). Mer anmärkningsvärt var att

15 patienter (15 %) med kvarstående svar också blev HBsAg-negativa varav elva serokonverterade till anti-HBs under en uppföljningstid av i genomsnitt 53 månader efter behandlingsavbrott. Den beräknade åtta års kumulativa sannolikheten att göra sig av med HBsAg var 18 % för alla patienter och 45 % för de med bestående terapivar. Låg ålder och höga IgM anti-HBc-titrar var de enda oberoende variabler som förutsåg ett kvarstående svar. Beräknad åtta års komplikationsfri överlevnad var signifikant högre för de med kvarstående svar än för patienter med behandlingsmisslyckanden, 90 % vs. 60 %, $p = 0,002$. Ingen patient med kvarstående svar progredierade i sin sjukdom jämfört med 22 % av patienter med behandlingsmisslyckande, $p = 0,002$. Denna studie visar att cirka en tredjedel av de HbeAg-negativa patienterna uppnådde kvarstående förbättring av sin hepatit efter 24 månaders behandling med hög intermittent dosering av IFN. Detta är en högre siffra än den man uppnått med något kortare behandling under cirka sex till 12 månader i tidigare studier, där det kvarstående svaret var cirka 11 % efter sex månader och 24 % efter 12 månader vilket ej påverkades av given dos IFN (3 eller 5 MU) (14). Eftersom den italienska studien inte är en randomiserad kontrollerad studie kan man inte säkert säga att IFN-behandling modifierar det naturliga förloppet av HbeAg-negativ kronisk hepatit B. Två tidigare studier har dock visat att progressen av den kroniska hepatiten till cirrhos är långsammare och komplikationerna orsakade av cirrhos färre hos IFN-behandlade patienter med e-negativ kronisk hepatit B (15, 16).

Sammantaget indikerar dock studier med förlängd IFN-behandling i monoterapi att konventionellt IFN i dosen 3-6 MU given tre gånger per vecka tycks vara den mest lämpliga behandlingsregimen för HbeAg-negativ kronisk hepatit B (i avsaknad av data från slutförda studier med peg-IFN), vilket blev rekommendationen från EASLs jury vid det senaste europeiska konsensusmötet (1).

Flera stora internationella studier pågår som utvärderar peg-IFN med eller utan kombination av lamivudin jämfört med lamivudin monoterapi hos patienter med HbeAg-negativ kronisk hepatit B. Resultat från den första randomiserade multinationella studien omfattande mer än 500 patienter rapporterades i samband med AASLD-mötet i oktober 2003 av Marcellin och medarbetare (17). Man fann att peg-IFN alfa-2a 180 µg per vecka var lika effektivt som samma dos i kombination med lamivudin 100 mg per dag givet under 48 veckor och signifikant bättre än lamivudin monoterapi givet under samma tid. Således uppnåddes normalisering av ALAT hos 60 %, 59 % respektive 44 % av de kombinationsbehandlade, peg-IFN alfa-2a behandlade respektive lamivudinbehandlade patienterna vid uppföljningen 24 veckor efter avslutad behandling. Motsvarande siffror för att

uppnå HBV-DNA-nivåer <20 000 kopior var 44 %, 43 % och 29 %. Precis som vid HbeAg-positiv kronisk hepatit tycks således peg-IFN ensamt vara lika effektivt som peg-IFN i kombination med lamivudin.

Adefovir dipivoxil (ADV)

ADV är en ny nukleotidanalogsom som under 2003 blivit godkänd under namnet Hepsera® för behandling av kronisk hepatit B. Allmänt kan sägas att den använts i klart mindre utsträckning än lamivudin (LAM) men att det till dags dato förefaller föreligga en avsevärt mindre risk för resistensutveckling vid monoterapi med ADV än med LAM. Biverkningarna är få och den befarade njurtoxiciteten obetydlig, när den registrerade dosen 10 mg per dag används.

HbeAg-positiv hepatit B

En stor randomiserad placebokontrollerad multicenterstudie omfattande 515 patienter publicerades i NEJM 2003 där resultaten efter de initiala 48 veckornas behandling redovisades (18). Studien fortsätter härefter och placebopatienter byter till ADV-behandling och de ADV-behandlade randomiseras till fortsatt behandling eller placebo-behandling. Under de första 48 veckorna jämfördes ADV i dosen 10 mg och 30 mg en gång per dag med placebo-behandling. Signifikant fler patienter i ADV-behandlingsgrupperna uppnådde histologisk förbättring (definierat som två punkters förbättring i Knodell score), minskning av HBV-DNA-nivåerna, och normalisering av ALAT-nivåerna än placebo-behandlade. Biverkningsprofilen i gruppen som erhållit ADV 10 mg per dag skiljde sig inte från placebo medan gruppen som fick ADV 30 mg uppvisade en högre frekvens av njurfunktionsstörningar. Dessa var laboriemässigt reversibla efter minskning av dosen eller utsättande av behandlingen. Bland de grupper som fått ADV 10 mg, 30 mg och placebo uppnåddes HbeAg-serokonversion i 12 %, 14 % respektive 6 %, en signifikant skillnad. Förlust av HBeAg uppnåddes av 24 %, 27 % respektive 11 % och normalisering av ALAT-nivåerna av 48 %, 55 % respektive 16 % i dessa grupper. Median nedgången av HBV-DNA var 3,55; 4,76 respektive 0,55 log kopior/mL och omätbara nivåer (<400 kopior/mL) uppnåddes av 21 %, 39 % respektive 0 % av ADV 10 mg, ADV 30 mg och placebo-grupperna. Behandlingseffekten för ADV tycks vara lika bra för olika genotyper av hepatit B (19). Den kanske viktigaste erfarenheten var att ingen resistensutveckling mot ADV uppträtt efter 48 veckors behandling (20). Utebliven resistensutveckling hos ADV-behandlade hepatit B och hiv co-infekterade patienter under tre år beskrevs också vid AASLD-mötet i november 2003 av Benhamou och medarbetare (21).

HBeAg-negativ kronisk hepatit B

I en multinationell placebokontrollerad studie randomiserades 185 patienter 2:1 till behandling med ADV 10 mg per dag eller placebo under 48 veckor (22). Precis som i ADV-studien bland HBeAg-positiva patienter uppnådde signifikant fler patienter med HBeAg-negativ kronisk hepatit B i ADV-behandlingsgruppen histologisk förbättring, minskning av HBV-DNA-nivåerna, och normalisering av ALAT-nivåerna än placebobehandlade. Median nedgången i HBV-DNA-nivå var 3,91 log bland ADV-behandlade vs. 1,35 log bland placebobehandlade, $p < 0,001$ efter 48 veckors behandling (22). ALAT-normalisering vecka 48 uppnåddes av 72 % ADV-behandlade jämfört med 29 % placebobehandlade, $p < 0,001$. Biverkningsprofilen bland ADV-behandlade skiljde sig inte från placebogruppens och någon ADV-resistens uppträdde inte. En fortsatt uppföljning av denna studie presenterades vid EASL-mötet i Geneve 2003 som visade att när patienterna avbryter behandling får de återfall men om behandlingen fortsätter kvarstår behandlingssvaret och förbättras något med fortsatt låg frekvens av resistensutveckling efter två års behandling (23). Den låga resistensutveckling mot ADV är en stor fördel för detta preparat jämfört med LAM där resistensutvecklingen ökar successivt med ökande behandlingstid och där den histologiska förbättringen i och med detta tycks gå förlorad (24).

ADV för LAM-resistent kronisk hepatit B

Resistens för LAM medför inte resistens för ADV, varför ADV med framgång kan användas för behandling av LAM-resistenta stammar, vilket visats för både hiv-patienter och patienter med cirrhos (25, 26). ADV har ibland karaktären av räddningsdrog för svårt sjuka patienter med LAM-resistens. Det förefaller som om virusnedgången är lika med tillägg av ADV till LAM eller byte till ADV-monoterapi i denna situation och att ADV-resistent virus tycks vara känsligt för LAM (27).

Lamivudin (LAM)

Dokumentationen för behandling med lamivudin genomgicks vid den workshop som Läkemiddelsverket anordnade år 2000 och finns publicerad på nätet www.mpa.se (Weiland, Behandling av hepatit B – resultat av interferon- och nukleosidanaloguebehandling) till vilken hänvisas för mer utförlig bakgrundsinformation. Sammantaget gäller att lamivudin tolereras väl och har få biverkningar och uppvisar goda resultat avseende histologisk förbättring, HBeAg-serokonversion och minskning av HBV-DNA-mängden i blod under behandling i varje fall initialt under det första året. Frekvensen serokonversion ökar med förlängd behandling vilket nyligen sammanställts i en översiktsartikel (24). Å andra sidan motverkas denna gynnsamma effekt av att frekvensen resistenta

mutanter med tiden ökar vilket dessvärre tycks leda till att den histologiska förbättringen tycks gå förlorad (24). För HBeAg-positiv kronisk hepatit B anses att man bör fortsätta behandlingen cirka fyra till sex månader efter HBeAg-serokonversion för att minska risken för relaps medan man för HBeAg-negativ kronisk hepatit B numera är tveksam om man överhuvudtaget kan avsluta behandling med LAM då frekvensen relaps för denna patientkategori är mycket hög (28, 29). Nukleosidanaloguebehandling för dessa patienter bör ges kontinuerligt och tills vidare, vilket sannolikt gäller även ADV (1). Detta medför krav på få biverkningar och låg risk för resistensutveckling, vilket LAM inte uppfyller vad gäller det senare kravet, men möjligen ADV. För HBeAg-positiv kronisk hepatit antyder vissa studier att HBeAg-serokonversion efter utsatt LAM-behandling är stabilare hos kaukasiska än asiatiska patienter (30, 31). En metaanalys som belyser detta baserad på individuella data från 130 patienter i flera studier visar dock ingen skillnad beroende på etnicitet men att IFN medför klart bättre stabilitet av e-serokonversionen än LAM och antyder att kombinationsbehandling med IFN och LAM är bäst i detta avseende (32). Att lamivudin kan vara en tillgång för svårt sjuka patienter visade dock en stor dubbel-blind placebo-kontrollerad asiatisk studie omfattande 650 patienter som randomiserats till lamivudinbehandling eller placebo 2:1. Alla hade kompenserad cirrhos utan tecken på HCC vid randomiseringen (33). Redan vid andra externa utvärderingen av en oberoende grupp uppvisade behandlade patienter bättre överlevnad och mindre cancerutveckling, varför studien avbröts efter två år. Då hade signifikant färre LAM-behandlade patienter utvecklat dekomensation och cancer än i placebogruppen.

Sammanfattning

Mot bakgrund av ovanstående bör peg-IFN:s, LAM:s och ADV:s plats i terapin för Sveriges del diskuteras i ljuset av de senaste europeiska rekommendationerna (1). Vid detta möte rekommenderades konventionellt IFN som förstahandsbehandling både av HBeAg-positiv och HBeAg-negativ/anti-HBe-positiv kronisk hepatit B, om IFN tolereras och accepteras av patienten. För HBeAg-positiv kronisk hepatit B rekommenderades IFN i dosen 5 MU dagligen eller 9 - 10 MU t.i.w. under fyra till sex månader och för HBeAg negativ kronisk hepatit B IFN i dosen 5 - 6 MU t.i.w. under 12 - 24 månader. Någon ställning till peg-IFNs plats i terapin togs inte vid detta möte och inte heller till om LAM eller ADV skall föredragas för behandling av HBeAg-positiv och HBeAg-negativ kronisk hepatit när kontraindikationer för användning av IFN finns. Senare tids data talar dock för att man bör välja peg-IFN som behandling för de patienter som tolererar och ska behandlas med IFN, då peg-IFN tycks leda till en bättre behandlingseffekt än standard IFN och dessutom för den enskilde pa-

tienten medför stora praktiska fördelar. Om behandling med nukleo(s/t)idanaloger väljs måste man noggrant följa och monitorera för uppkomst av resistens, särskilt avseende lamivudin och beredskap bör finnas för skifte till ADV om resistens uppstår. Uppkomst av resistensen indikeras av stigande HBV-DNA-mängder följt av stigande ALAT-nivåer.

Referenser

1. Anonumous. EASL International Consensus Conference on Hepatitis B. 13-14 September, 2002: Geneva, Switzerland. Consensus statement (short version). *J Hepatol* 2003;38(4):533-40.
2. Mommeja-Marin H, Mondou E, Blum MR, Rousseau F. Serum HBV DNA as a marker of efficacy during therapy for chronic HBV infection: analysis and review of the literature. *Hepatology* 2003;37(6):1309-19.
3. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2001;34(6):1225-41.
4. Hadziyannis SJ, Vassilopoulos D. Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 2001;34(4 Pt 1):617-24.
5. Chu CJ, Hussain M, Lok AS. Quantitative serum HBV DNA levels during different stages of chronic hepatitis B infection. *Hepatology* 2002;36(6):1408-15.
6. Yang HI, Lu SN, Liaw YF, et al. Hepatitis B e antigen and the risk of hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2002;347(3):168-74.
7. Wejstal R, Alaeus A, Fischler B, et al. Chronic hepatitis C: updated Swedish consensus. *Scand J Infect Dis* 2003;35(8):445-51.
8. Cooksley WG, Piratvisuth T, Lee SD, et al. Peginterferon alpha-2a (40 kDa): an advance in the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2003;10(4):298-305.
9. van Zonneveld M, Flink HJ, van Nunen AB, et al. Chronic HBV treatment with one year of pegylated-interferon alpha-2B (PEG-IFN) has a comparable safety profile to short term conventional interferon alpha-2b. *J Hepatol* 2003;38 suppl 2:abstr 618 p 179.
10. Janssen HL, Senturk H, Zeuzem S, et al. Peginterferon alpha-2b and lamivudine combination therapy compared with peginterferon alpha-2b for chronic HBeAg positive hepatitis B: a randomized controlled trial in 307 patients. *Hepatology* 2003;38. Suppl. 1; abstract 246A.
11. Sung JY, Chan HLY, Hui AY, et al. Combination of pegylated interferon and lamivudine is superior to lamivudine monotherapy in the treatment of chronic hepatitis B - a randomized trial. *J Hepatol* 2003;38:Suppl. abstract 95 p. 33.
12. Lampertico P, Del Ninno E, Vigano M, et al. Long-term suppression of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B by 24-month interferon therapy. *Hepatology* 2003;37(4):756-63.
13. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995;22(6):696-9.
14. Manesis EK, Hadziyannis SJ. Interferon alpha treatment and retreatment of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2001;121(1):101-9.
15. Brunetto MR, Oliveri F, Coco B, et al. Outcome of anti-HBe positive chronic hepatitis B in alpha-interferon treated and untreated patients: a long term cohort study. *J Hepatol* 2002;36(2):263-70.
16. Papatheodoridis GV, Manesis E, Hadziyannis SJ. The long-term outcome of interferon-alpha treated and untreated patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2001;34(2):306-13.
17. Marcellin P, Lau GKK, Bonino F, et al. A phase III, partially double-blinded study evaluating the efficacy and safety of Peginterferon alpha-2a (40KD) (Pegasys®) alone or in combination with alvimudine vs lamivudine in 537 patients with HBeAg negative/ anti-HBe positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 2003;38:Suppl. 1; abstract 1181 p,724A.
18. Marcellin P, Chang TT, Lim SG, et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2003;348(9):808-16.
19. Westland C, Delaney Wt, Yang H, et al. Hepatitis B virus genotypes and virologic response in 694 patients in phase III studies of adefovir dipivoxil. *Gastroenterology* 2003;125(1):107-16.
20. Westland CE, Yang H, Delaney Wt, et al. Week 48 resistance surveillance in two phase 3 clinical studies of adefovir dipivoxil for chronic hepatitis B. *Hepatology* 2003;38(1):96-103.
21. Benhamou Y, Thibault V, Vig P, et al. Long term treatment with adefovir dipivoxil (ADV) for three years in patients with lamivudine-resistant (LAM-R) HBV and HIV-co-infection results in significant and sustained clinical improvement. *Hepatology* 2003;38:Suppl. 1; abstract 1158 p,714A.
22. Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2003;348(9):800-7.
23. Hadziyannis S, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, et al. Two year results from a double-blind placebo-controlled study of adefovir dipivoxil (ADV) for presumed precore mutant chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2003;38 (suppl 2):abstr. 492 p. 143.
24. Leung N. Clinical experience with lamivudine. *Semin Liver Dis* 2002;22 Suppl 1:15-21.
25. Perrillo R, Schiff E, Yoshida E, et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B mutants. *Hepatology* 2000;32(1):129-34.
26. Benhamou Y, Bochet M, Thibault V, et al. Safety and efficacy of adefovir dipivoxil in patients co-infected with HIV-1 and lamivudine-resistant hepatitis B virus: an open-label pilot study. *Lancet* 2001;358(9283):718-23.
27. Delaney Wt, Westland C, Gibbs C, et al. Loss of YMDD mutations in lamivudine-resistant patients switched to adefovir Dipivoxil therapy. Presented at the 11th International symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease, Sydney, Australia, 2003.
28. Hadziyannis SJ, Papatheodoridis GV, Dimou E, et al. Efficacy of long-term lamivudine monotherapy in patients with hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 2000;32(4 Pt 1):847-51.
29. Tassopoulos NC, Volpes R, Pastore G, et al. Efficacy of lamivudine in patients with hepatitis B e antigen-negative/hepatitis B virus DNA-positive (precore mutant) chronic hepatitis B. Lamivudine Precore Mutant Study Group. *Hepatology* 1999;29(3):889-96.
30. Dienstag JL, Cianciara J, Karayalcin S, et al. Durability of serologic response after lamivudine treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology* 2003;37(4):748-55.
31. Song BC, Suh DJ, Lee HC, et al. Hepatitis B e antigen seroconversion after lamivudine therapy is not durable in patients with chronic hepatitis B in Korea. *Hepatology* 2000;32(4 Pt 1):803-6.
32. van Nunen AB, Hansen BE, Suh DJ, et al. Durability of HBeAg seroconversion following antiviral therapy for chronic hepatitis B: relation to type of therapy and pretreatment serum hepatitis B virus DNA and alanine aminotransferase. *Gut* 2003;52(3):420-4.
33. Liaw YF, Sung JY, Chow WC, et al. Effects of lamivudine on disease progression and development of liver cancer in advance chronic hepatitis B: a prospective double-blind placebo-controlled clinical trial. *Hepatology* 2003;38(4):Suppl.1; abstract 220,p. 262A.

Klinisk betydelse av genotyper vid hepatit B

Magnus Lindb

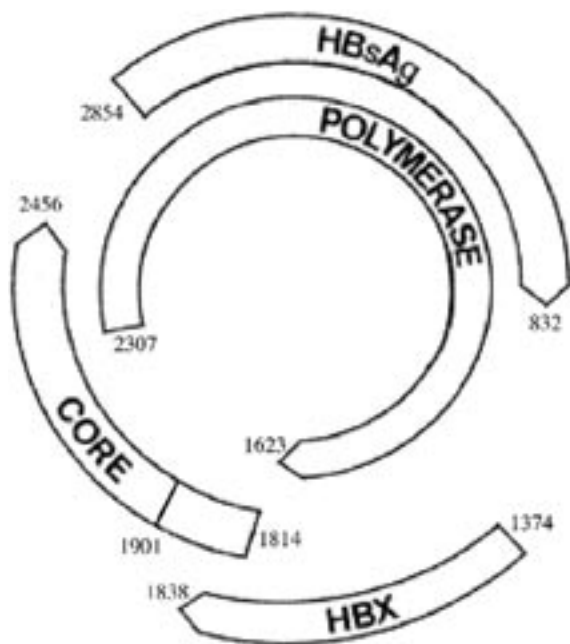
Hepatit B-virus (HBV) är ett litet DNA-virus som replikerar via RNA och revers transkription. Genomet är cirka 3 200 nt stort och kodar för fyra genområden som till stor del överlappar (Figur 1). Evolutionen har skapat genetisk divergens, och hittills har åtta genotyper av HBV, A-H, identifierats (4, 32, 34, 39). Indelningen baseras på fylogenetisk analys, men motsvaras av en nukleotidskillnad mellan genotyper på mer än 8 % av hela genomet.

Genotyperna har en delvis distinkt geografisk utbredning som dock har luckrats upp i och med migration. Således förekommer genotyp A huvudsakligen i Europa och (södra) Afrika, B i Östasien, C i Östasien och Oceanien, D i Medelhavsområdet, (norra) Afrika, och Centralasien, E i Västafrika och F och H i Amerika (Figur 2). Utbredningen av genotyp G som har påvisats i Frankrike och USA är ännu oklar.

På senare år har man identifierat HBV hos flera olika primater, och fylogenetisk analys har visat att de är distinkta från humant HBV (14). Tidpunkten när den humana grenen avskildes och när sedan genotyperna separerade, är inte känd. Man har uppskattat att humant HBV är cirka 5 000 år gammalt, och i så fall skulle genotyperna ha divergerat senare. Dessa skattningar baseras på observerade mutationsfrekvenser kring 1/100 000 nt/år hos individer med kronisk HBV-infektion. Emellertid kan den genetiska förändringen av HBV i populationen vara långsammare (15), vilket skulle betyda att genotyperna divergerade för mycket längre sedan.

Figur 1

Schematisk översikt över kodande regioner i HBV-genomet.



Figur 2

Geografisk utbredning av kronisk HBV-infektion. Genotypangivelsen avser huvudsaklig ursprunglig fördelning (idag förekommer genotyperna mer blandat och utbredd som en effekt av migration).



Rekombination och co-infektion

Rekombination innebär utbyte av gensegment. En intergenotypisk rekombinant virusstam bär gen-sekvenser från flera genotyper. Det är oklart hur rekombinationen sker, men en förutsättning är att en individ infekteras med två genotyper och att de replikerar i samma levercell. Man kan därför förvänta sig att rekombination sker mellan genotyper som förekommer parallellt i samma population. De vanligast observerade rekombinationerna är också blandningar mellan A och D som förekommer i Europa och Afrika respektive B och C som förekommer i Östasien (6, 7, 17, 43). De vanligaste rekombinationerna omfattar relativt små avsnitt att core-genen, men stora rekombinationer med nästan likstora segment av vardera genotypen har observerats i Vietnam (A/C) och Tibet (C/D). Nyligen har man funnit att genotyp B utanför Japan, dvs. i övriga Östasien endast förekommer som en rekombinant med ett core-segment från genotyp B (43).

Det finns få rapporter om blandinfektion med flera genotyper. Emellertid har man funnit relativt hög frekvens av genotypbyte från A till D i samband serokonversion från HBeAg till anti-HBe bland europeiska patienter. Den enda rimliga förklaringen till det fyndet är blandinfektion med två genotyper varav den ena minskar mer (eller försvinner) i samband med serokonversion. Med särskilt PCR-teknik har detta nyligen bekräftats i en studie av interferonbehandlade europeiska patienter, som också visade att blandinfektion är relativ vanlig, i varje fall i Europa (16). Blandinfektion har också nyligen rapporterats från Japan, även om den där verkar vara mindre vanlig (25).

Genotypning

Bästa metoden för genotypning är sekvensering och efterföljande fylogenetisk jämförelse. Denna metod är dock alltjämt relativt mödosam, och enklare metoder är att föredra i klinisk diagnostik. Sådana metoder kan baseras på PCR och efterföljande inkubation med restriktionsenzymer (27, 29) och gelelektrofores, multiplex PCR, eller hybridisering på strips efter PCR (LiPA, (18)).

Genotypers betydelse för naturläroloppet

Studier av patogenetiska skillnader mellan genotyper försvåras av att de samvarierar med andra, bland annat epidemiologiska faktorer som påverkar infektionsförloppet. Det är därför svårt att i jämföra lever-skadeutveckling hos (västeuroperiska) patienter med genotyp A eller D med den hos (östasiatiska) patienter med genotyp B eller C. Jämförelser av genotyp A och D, som båda förekommer i Västeuropa, försvåras av epidemiologiska skillnader, som att genotyp D oftare förekommer bland intravenösa missbrukare. Undersökning av skillnader mellan genotyper görs bäst i områden där två genotyper förekommer parallellt och med liknande epidemiologi, som t.ex. genotyp A och C i södra eller östra Afrika eller genotyp B och C i Östasien.

Nyligen beskrevs skillnader mellan genotyp B och C (28). Genotyp C befanns associerad med högre frekvens HBeAg-positivitet och mer uttalad leverinflammation. Liknande fynd hade beskrivits redan 1991 för serotypen *adr* som senare visades tillhöra genotyp C (37). De senaste åren har ett flertal studier undersökt patogenetiska skillnader mellan genotyp B

och C och merparten stöder bedömningen att genotyp C ger allvarligare förlopp med högre grad av fibros och högre risk för levercancer (9, 11, 19-22, 30, 35, 41, 42, 46). En del studier har dock inte funnit sådana skillnader (44, 48), eller beskrivit andra kopplingar, t.ex. att genotyp B skulle vara associerad med kraftigare skov (8). I en spansk studie fann man nyligen skillnader mellan genotyp A och D, tydande på såväl gynnsammare naturalförlopp som bättre svar på interferonbehandling (36).

Mekanismen bakom patogenetiska skillnader mellan genotyper är oklar. Merparten av östasiatiska patienter med kronisk HBV-infektion har troligen smittats vid födseln eller tidigt i barnåren, och uppvisar under lång tid inget eller mycket svagt immunsvaret (tolerans). Det tycks som att immunsvaret när det väl aktiveras är effektivare mot genotyp B, så att virusnivåerna snabbare reduceras till och hålls kvar på låga nivåer. En större andel patienter med genotyp B skulle därmed relativt snabbt serokonvertera till anti-HBe, kanske efter endast en kortare inflammationsepisod. Orsaken till att immunsvaret skulle vara ineffektivare mot genotyp C är dock okänd. Det är även oklart varför genotyp A skulle läka ut snabbare (högre frekvens serokonversion till anti-HBe och anti-HBs) än genotyp D – möjligen kan oförmågan att stänga av HBeAg-syntesen via precoremutation ha betydelse (26), men troligen finns även andra mekanismer och förklaringar.

Vad gäller utveckling av hepatocellulär cancer (HCC) är data delvis motstridiga. Flera (12, 13, 19, 22, 41, 46), men inte alla (44) studier har funnit ett samband mellan genotyp C och HCC. I en rapport från Taiwan sågs åldersbetingade skillnader: genotyp C var förknippat med mer cirrhosutveckling, och hos äldre patienter även med HCC, medan man hos yngre patienter såg HCC (utan samtidig cirrhos) nästan enbart hos dem med genotyp B (22). Det är således möjligt att HCC, vars orsak är multifaktoriell, är relaterad till genotyp på ett mer komplext vis än fibros/cirrhos.

Det finns endast några få longitudinella studier som jämför kliniska förlopp. Chu et al. fann att patienter med genotyp B serokonverterade till anti-HBe tidigare än de med genotyp C (11). Sumi et al. fann också att genotyp B var associerat med tidigare serokonversion men att skillnaden var övergående och att äldre patienter hade samma frekvens anti-HBe och lika uttalad leverskada (44). Även om denna studie står i kontrast med de flesta andra rapporter visar den att patogenetiska skillnader mellan genotyp B och C behöver undersökas ytterligare och särskilt i longitudinella studier.

Genotyper och mutationer

Den G→A-mutation i position 1896 i precoreregionen som är vanligaste orsaken till avstängd HBeAg-produktion befanns tidigt vara ovanlig hos patienter

av västeuropeiskt ursprung. Orsaken är en variation med cytosin i position 1858, vilket förhindrar utveckling av mutationen (26). Denna C-1858 variant är också vanlig i delar av Östasien i en subgrupp av genotyp C (2) och förekommer i en subgrupp av genotyp F (31). Mutationen (A-1896) har inte visat sig ha patogenetisk betydelse, men försvårar klinisk stadiebedömning med HBeAg, eftersom den medför att en del HBeAg-negativa bärare kan ha lika höga virusnivåer som HBeAg-positiva.

En dubbelmutationen i position 1762/1764 i core-promotorregionen har också studerats mycket (33). Den har i flera studier associerats med mer uttalad leverskada (5, 19, 28), och har befunnits vara vanligare i genotyp C än B. Dess betydelse för effekten av behandling är inte klarlagd. Inte heller är det känt om mutationen i sig har någon patogenetisk betydelse.

Genotypers betydelse för behandlingsvar

Ett fåtal studier har undersökt genotypens inverkan på behandlingssvaret. I studier av patienter från Taiwan och Hongkong var interferonsvaret bättre för genotyp B än C (24, 47). Det finns få studier av genotypers inverkan på lamivudinrespons, men en preliminär rapport tydde på sämre svar för genotyp C (23). Detta har nu bekräftats i en större studie från Taiwan som tyder på nära sex gånger högre chans till terapi för genotyp B (10). Detta överensstämmer med observationen att behandlingssvaret vid lamivudinbehandling i Korea, där de flesta är infekterade med genotyp C, har dålig varaktighet (38).

Mindre är känt för övriga genotyper. I en mindre, fransk studie av HBeAg-negativa patienter beskrevs bättre för interferonsvar för genotyp A än D (49) men det har inte bekräftats.

Resistensmutationer

De senaste åren har mutationer som medierar lamivudinresistens blivit ett tydligt problem (40, 45). För adefovir tycks den risken vara mindre; trots lång tids behandling (>2 år) har man inte noterat restens. Nyligen beskrev dock det första fallet, en man av grekiskt ursprung som efter 1,5 års behandling uppvisade ökande HBV-DNA-nivåer och en mutation i polymerasgenen som orsakade en aminosyraförändring, N236T (3). Mutationen visades in vitro reducera känsligheten för adefovir med en faktor på 7, medan lamivudinkänsligheten var oförändrad.

Det är oklart om genotypen påverkar resistensutveckling. Det finns en studie som beskriver att resistensmutation (lamivudin) är vanligare i serotyp adw (troligen genotyp A) än ayw (genotyp D) (50). I en japansk studie sågs ingen inverkan av genotyp, med däremot en högre frekvens resistens i den rekombinanta ("asiatiska") varianten av genotyp B än i den japanska rena genotyp B (1).

Sammanfattning

Studier från de senaste åren tyder på att det finns skillnader mellan genotyper avseende patogenes och behandlingsresultat. Därvid är det ganska väldokumenterat att genotyp C är associerad med en mer utdragen högaktiv inflammationsfas med fibrosutveckling, och även en lägre HBeAg-serokonversion vid behandling med interferon eller lamivudin. Det tycks också som att genotyp A svarar bättre på interferon och även har gynnsammare naturalförlopp än genotyp D, men det behöver bekräftas i ytterligare studier.

Det är svårt att överföra dessa fynd till praktiska riktlinjer. Det förefaller dock rimligt att rekommendera genotypning av östasiatiska patienter med hepatit B, för att få vägledning i bedömningen av progressionsrisk och terapival. Även för patienter med europeiskt ursprung kan genotypning vara av kliniskt värde, men där är dokumentationen svagare.

Referenser

1. Akuta N., Suzuki F, Kobayashi M, et al. The influence of hepatitis B virus genotype on the development of lamivudine resistance during long-term treatment. *J Hepatol* 2003;38:315-21.
2. Alestig E, Hannoun C, Horal P, et al. Phylogenetic origin of hepatitis B virus strains with precore C-1858 variant. *J Clin Microbiol* 2001;39:3200-3.
3. Angus P, Vaughan R, Xiong S, et al. Resistance to adefovir dipivoxil therapy associated with the selection of a novel mutation in the HBV polymerase. *Gastroenterology* 2003;125:292-7.
4. Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson B H, et al. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol* 2002;83:2059-73.
5. Baptista M, Kramvis A and Kew M C. High prevalence of 1762(T) 1764(A) mutations in the basic core promoter of hepatitis B virus isolated from black Africans with hepatocellular carcinoma compared with asymptomatic carriers. *Hepatology* 1999;29:946-53.
6. Bollyky P L, Rambaut A, Harvey P H, et al. Recombination between sequences of hepatitis B virus from different genotypes. *J Mol Evol* 1996;42:97-102.
7. Bowyer S M and Sim J G. Relationships within and between genotypes of hepatitis B virus at points across the genome: footprints of recombination in certain isolates. *J Gen Virol* 2000;81:379-92.
8. Chan H L, Tsang S W, Wong M L, et al. Genotype B hepatitis B virus is associated with severe icteric flare-up of chronic hepatitis B virus infection in Hong Kong. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2629-33.
9. Chan H L, Wong M L, Hui A Y, et al. Hepatitis B virus genotype C takes a more aggressive disease course than hepatitis B virus genotype B in hepatitis B e antigen-positive patients. *J Clin Microbiol* 2003;41:1277-9.
10. Chien R N, Yeh C T, Tsai S L, et al. Determinants for sustained HBeAg response to lamivudine therapy. *Hepatology* 2003;38:1267-73.
11. Chu C J, Hussain M and Lok A S. Hepatitis B virus genotype B is associated with earlier HBeAg seroconversion compared with hepatitis B virus genotype C. *Gastroenterology* 2002;122:1756-62.
12. Ding X, Mizokami M, Yao G, et al. Hepatitis B virus genotype distribution among chronic hepatitis B virus carriers in Shanghai, China. *Intervirology* 2001;44:43-7.
13. Fang Z L, Yang J, Ge X, Zhuang H, et al. Core promoter mutations (A(1762)T and G(1764)A) and viral genotype in chronic hepatitis B and hepatocellular carcinoma in Guangxi, China. *J Med Virol* 2002;68:33-40.
14. Fares M A and Holmes E C. A revised evolutionary history of hepatitis B virus (HBV). *J Mol Evol* 2002;54:807-14.
15. Hannoun C, Horal P, and Lindh M. Long-term mutation rates in the hepatitis B virus genome. *J Gen Virol* 2000;81:75-83.
16. Hannoun C, Krogsgaard K, Horal P, et al. Genotype mixtures of hepatitis B virus in patients treated with interferon. *J Infect Dis* 2002;186:752-9.
17. Hannoun C, Norder H and Lindh M. An aberrant genotype revealed in recombinant hepatitis B virus strains from Vietnam. *J Gen Virol* 2000;81:2267-72.
18. Hussain M, Chu C J, Sablon E and Lok A S. Rapid and sensitive assays for determination of hepatitis B virus (HBV) genotypes and detection of HBV precore and core promoter variants. *J Clin Microbiol* 2003;41:3699-705.
19. Kao J H, Chen P J, Lai M Y et al. Basal core promoter mutations of hepatitis B virus increase the risk of hepatocellular carcinoma in hepatitis B carriers. *Gastroenterology* 2003;124:327-34.
20. Kao J H, Chen P J, Lai M Y, et al. Clinical and virological aspects of blood donors infected with hepatitis B virus genotypes B and C. *J Clin Microbiol* 2002;40:22-5.
21. Kao J H, Chen P J, Lai M Y, et al. Genotypes and clinical phenotypes of hepatitis B virus in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Microbiol* 2002;40:1207-9.
22. Kao J H, Chen P J, Lai M Y, et al. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2000;118:554-9.
23. Kao J H, Liu C J and Chen D S. Hepatitis B viral genotypes and lamivudine resistance. *J Hepatol* 2002;36:303-4.
24. Kao J H, Wu N H, Chen P J, et al. Hepatitis B genotypes and the response to interferon therapy. *J Hepatol* 2000;33:998-1002.
25. Kato H, Orito E, Sugauchi F, et al. Frequent coinfection with hepatitis B virus strains of distinct genotypes detected by hybridization with type-specific probes immobilized on a solid-phase support. *J Virol Methods* 2003;110:29-35.
26. Li J S, Tong S P, Wen Y M, et al. Hepatitis B virus genotype A rarely circulates as an HBe-minus mutant: possible contribution of a single nucleotide in the precore region. *J Virol* 1993;67:5402-10.
27. Lindh M, Andersson A S, and Gusdal A. Genotypes, nt 1858 variants, and geographic origin of hepatitis B virus--large-scale analysis using a new genotyping method. *J Infect Dis* 1997;175:1285-93.
28. Lindh M, Hannoun C, Dhillon A P, et al. Core promoter mutations and genotypes in relation to viral replication and liver damage in East Asian hepatitis B virus carriers. *J Infect Dis* 1999;179:775-82.
29. Mizokami M, Nakano T, Orito E, et al. Hepatitis B virus genotype assignment using restriction fragment length polymorphism patterns. *FEBS Lett* 1999;450:66-71.
30. Nakayoshi T, Maeshiro T, Nakasone H, et al. Difference in prognosis between patients infected with hepatitis B virus with genotype B and those with genotype C in the Okinawa Islands: a prospective study. *J Med Virol* 2003;70:350-4.
31. Norder H, Arauz-Ruiz P, Blitz L, et al. The T(1858) variant predisposing to the precore stop mutation correlates with one of two major genotype F hepatitis B virus clades. *J Gen Virol* 2003;84:2083-7.
32. Norder H, Couroucé A M and Magnius L O. Complete genomes, phylogenetic relatedness, and structural proteins of six strains of the hepatitis B virus, four of which represent two new genotypes. *Virology* 1994;198:489-503.
33. Okamoto H, Tsuda F, Akahane Y, et al. Hepatitis B virus with mutations in the core promoter for an e antigen-negative phenotype in carriers with antibody to e antigen. *J Virol* 1994;68:8102-10.

34. Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, et al. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J Gen Virol* 1988;69:2575-2583.
35. Orito E, Mizokami M, Sakugawa H, et al. A case-control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B viruses of genotypes B and C. Japan HBV Genotype Research Group. *Hepatology* 2001;33:218-23.
36. Sanchez-Tapias J M, Costa J, Mas A, et al. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology* 2002;123:1848-56.
37. Shiina S, Fujino H, Uta Y, et al. Relationship of HBsAg subtypes with HBeAg/anti-HBe status and chronic liver disease. Part I: Analysis of 1744 HBsAg carriers. *Am J Gastroenterol* 1991;86:866-71.
38. Song B C, Suh D J, Lee H C, et al. Hepatitis B e antigen seroconversion after lamivudine therapy is not durable in patients with chronic hepatitis B in Korea. *Hepatology* 2000;32:803-6.
39. Stuyver L, De Gendt S, Van Geyt C, et al. A new genotype of hepatitis B virus: complete genome and phylogenetic relatedness. *J Gen Virol* 2000;81:67-74.
40. Stuyver L J, Locarnini S A, Lok A, et al. Nomenclature for antiviral-resistant human hepatitis B virus mutations in the polymerase region. *Hepatology* 2001;33:751-7.
41. Sugauchi F, Chutaputti A, Orito E, et al. Hepatitis B virus genotypes and clinical manifestation among hepatitis B carriers in Thailand. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17:671-6.
42. Sugauchi F, Ohno T, Orito E, et al. Influence of hepatitis B virus genotypes on the development of preS deletions and advanced liver disease. *J Med Virol* 2003;70:537-44.
43. Sugauchi F, Orito E, Ichida T, et al. Epidemiologic and virologic characteristics of hepatitis B virus genotype B having the recombination with genotype C. *Gastroenterology* 2003;124:925-32.
44. Sumi H, Yokosuka O, Seki N, et al. Influence of hepatitis B virus genotypes on the progression of chronic type B liver disease. *Hepatology* 2003;37:19-26.
45. Tipples G A, Ma M M, Fischer K P, et al. Mutation in HBV RNA-dependent DNA polymerase confers resistance to lamivudine in vivo. *Hepatology* 1996;24:714-7.
46. Tsubota A, Arase Y, Ren F, et al. Genotype may correlate with liver carcinogenesis and tumor characteristics in cirrhotic patients infected with hepatitis B virus subtype adw. *J Med Virol* 2001;65:257-65.
47. Wai C T, Chu C J, Hussain M, et al. HBV genotype B is associated with better response to interferon therapy in HBeAg(+) chronic hepatitis than genotype C. *Hepatology* 2002;36:1425-30.
48. Yuen M F, Sablon E, Yuan H J, et al. Significance of hepatitis B genotype in acute exacerbation, HBeAg seroconversion, cirrhosis-related complications, and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2003;37:562-7.
49. Zhang X, Zoulim F, Habersetzer F, et al. Analysis of hepatitis B virus genotypes and pre-core region variability during interferon treatment of HBe antigen negative chronic hepatitis B. *J Med Virol* 1996;48:8-16.
50. Zollner B, Petersen J, Schafer P, et al. Subtype-dependent response of hepatitis B virus during the early phase of lamivudine treatment. *Clin Infect Dis* 2002;34:1273-7.

Referens	Antal och typ av patienter	Huvudsakligt fynd
Naturalförlopp		
Lindh, JID1999	43, östasiatiska, gt B&C	Fler HBeAg+ (p = 0,03) och mer inflammation (p = 0,008) i gt C vs B Gt B assoc. med precoremution nt 1896 CP-mutation (TGA) assoc. med mer inflammation och fibros, och vanligare i gt C
Kao, Gastroenterology 2000	170, Taiwan, 53 % gt B, 32 % gt C	C: 60 % av CIR vs 23 % av AC (p <0,001), och vanligare vid HCC >50 år (p = 0,005)
Orito, Hepatology 2001	100, Japan, 50 gt B, 50 gt C (matchade)	CP-mutation assoc. med gt C och allvarligare leverskada
Ding, Intervirology 2001	220, Shanghai 17 % gt B, 81 % gt C	Gt C assoc. med CIR, HCC och HBeAg+
Chan, Am J Gastroent 2002	132, Kina, 21 med ikeriska skov	Gt B assoc. med ikeriska skov (p = 0001) Gt C assoc. med kronisk leverskada
Chu, Gastroenterology 2002	332, Hongkong 273 PCR+, 122 gt B, 147 gt C	Gt C: fler HBeAg+HBe serokonversion hos färre och senare
Fang, J Med Virol 2002	Guangxi	CP-mutation (TGA) och gtC assoc. med HCC
Sugauchi, J Gastroenterol Hepatol 2002	107, Thailand 25 % gt B, 72 % gt C	Gt C assoc med allvarligare leverskada, p <0,05
Sugauchi, J Med Virol 2003	160, Japan 80 gt B, 80 gt C	PreS-deletion vanligare i gt C vs gt B (84 % vs 40 %) p <0,05 och assoc. med CIR/HCC (54 % vs 31 %) p <0,05
Nakayoshi, J Med Virol 2003	72, Japan, 27 HBeAg+	HBe serokonv inom två år vanligare i gt B (8/13, 61,5 %) än gt C (1/14, 7,1 %), p <0,05 CIR vanligare i gt C 32 % vs gt B 11 %
Yuan, Hepatology 2003	343, Hongkong, 28 % gt B, 60 % gt C	Tidigare HBe-serokonv i gt B, Ingen assoc. genotyp - leverskada (CIR, ALT > 1,5 x ULN) Gt B assoc. med precoremution nt 1896 (p <0,001) CP mutation (TGA) vanligare i gt C (p <0,001)
Sumi, Hepatology 2003	585, Japan	Gt B assoc. med HBeAg- (p <0,01) och HBe serokonversion (p = 0,022) Avancerad fibros vanligare i gt C () än B (), p = 0,034, särskilt hos yngre; HCC: gt B gt C
Kao, Gastroenterology 2003	250, Taiwan	CP-mutation (TGA) assoc. med CIR/HCC (OR = 5)
Sanchez-Tapias, Gastroenterology 2002	258, Spanien 52 % A, 35 % D, 7 % F Två till 15 års uppföljning	Fler HBeAg+ i gt A än D (65 % vs 37 %), p = 0,001 HBV DNA-/HBsAg- vid uppföljning vanligare i gt A. Ingen skillnad i frekvens HBeAg-serokonversion, men varaktigt vanligare i gt A än D (86 % vs 63 %)

Behandling

Zhang, J Med Virol 1996	35, Frankrike, HBcAg-, IFN	Respons: 70 % i gt A, 40 % i gt D
Kao, J Hepatol 2000	58, Taiwan, gt B&C, IFN	SR i B 41 %, i C 15 %, p = 0,045 CP mutation (TGA) vanligare i gt C, men ingen assoc. med respons
Wai, Hepatology 2002	109, Hongkong, HBcAg+, IFN 38 % gt B, 60 % gt C	SR i B 39 %, i C 17 %, p = 0,03
Chien, Hepatology 2003	82, Taiwan, lamivudin	Genotyp B svarade bättre p = 0,007, OR 5,9

Resultat av profylax/behandling av hepatit B vid levertransplantation

Styrbjörn Friman

Levertransplantation för hepatit B är ett utmärkt exempel på betydelsen av klinisk forskning och utvecklingsarbete. I början på 90-talet var hepatit B en relativ kontraindikation för levertransplantation vid många centra. Idag är hepatit B-cirrhos och akut fulminant hepatit B allmänt accepterade indikationer för levertransplantation. Resultaten är nu likvärdiga med resultaten för övriga patienter med kronisk leversjukdom.

Initiala rapporter på 80-talet beskrev att utan effektiv profylaktisk behandling var risken för reinfektion mycket stor (1). En del av dessa patienter utvecklade efter transplantation en aggressiv fibrotiserande cholestatisk hepatit som snabbt ledde till ny leversvikt och ofta graftförlust (25). En bidragande orsak till detta förlopp antogs vara den immunosuppressiva behandling dessa patienter måste få.

Patientöverlevnaden bland de som transplanterades under denna period utan profylaktisk behandling var sämre än för övriga patienter med kronisk leversjukdom. Från USA redovisades under perioden 1987 - 1991 en treårsöverlevnad på 55 % för denna grupp jämfört med 68 - 78 % för andra indikationer (2). I en rapport av Crippin och medarbetare 1994 visade man dessutom att retransplantation vanligen resulterade i snabb graftförlust och hög mortalitet (3).

Hepatit B-immunoglobulin

Polyklont HBV-immunoglobulin prövades för första gången på Kings College 1978 (4). På 80-talet evaluerades korttidsbehandling (upp till 6 månader) med immunoglobulin vid flera centra. 1991 rapporterade Samuel och medarbetare sina erfarenheter med ett protokoll där man fortsatte behandlingen kontinuerligt (5). Man noterade att efter två år hade endast 30 % reciderat i sin hepatit B och det ansågs nu, trots att någon kontrollerad studie inte gjorts, att detta var en framgångsrik väg. Upprepade rapporter har sedan konfirmerat dessa resultat och riktlinjerna har varit stora doser immunoglobulin peroperativt och omedelbart postoperativt och sedan att upprätthålla anti-HBs-koncentrationen på mer än 100 IU/L. Nyttan av immunoprolaktisk behandling baserar sig på en stor europeisk multicenterstudie, som dock är helt retrospektiv (6). Dessutom finns ett stort antal konfirmerande rapporter med en förbättrad graft- och patientöverlevnad. Det bör dock noteras att någon prospektiv randomiserad studie som visar nyttan av behandlingen saknas.

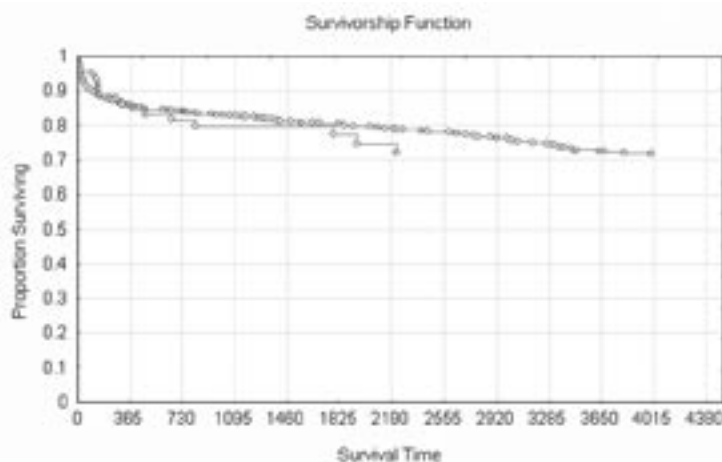
I de nordiska länderna har sedan 1990 sammanlagt 74 patienter transplanterats för hepatit B-cirrhos samt 24 patienter för akut fulminant hepatit B. Majoriteten av dessa patienter kommer från Sverige.

Femårsöverlevnaden för patienter efter levertransplantation med kronisk hepatit B är jämförbar med överlevnaden efter levertransplantation för annan icke virusorsakad kronisk leversjukdom (78 % vs. 80 %) (Data från Nordiska Levertransplantationsregistret 1990-2003, Figur 1).

Figur 1

Patientöverlevnad Nordiska Levertransplantationsregistret

Hepatit B-cirrhos vs. kronisk icke virusrelaterad leversjukdom 1985 - 2002.



Olika protokoll för behandling med HBV-immunglobulin

De flesta protokoll använder intravenös administration av immunglobulin, men det kommer rapporter där man övergår till intramuskulär administration, detta främst av ekonomiska skäl (7). En nyligen publicerad studie från UCLA konfirmerar att man på ett säkert sätt kan nå upp till anti-HBs-koncentrationer >100 IU/L till en lägre kostnad genom att använda regelbundna intramuskulära injektioner (8).

I de initiala rapporterna angavs en anti-HBs-koncentration >100 IU/L som tillräcklig. Det finns idag emellertid flera högdosprotokoll där man rekommenderar initiala anti-HBs-koncentrationer på >500 IU/L och underhållstitrar på 200 - 500 IU/L. Detta gäller framför allt på patienter som är HBV-DNA-positiva före transplantationen. Dessa högre titrar används i USA där man ofta ger en regelbunden högdosadministration av immunglobulin (9). Randomiserade studier för att utröna optimal dos saknas.

Antiviral behandling

Lamivudin

Huvudmålet för antiviral terapi av patienter som står på väntelistan för levertransplantation är att minimera risken för reinfektion av graftet. Erfarenheten med att använda alfa-interferon är mycket begränsad och problemet är att interferonbehandling tolereras dåligt hos patienter med avancerad cirrhos. Den största framgången har man nått med förbehandling med lamivudin. Lamivudin tolereras även vid dekompenserad cirrhos. Flera studier har visat att om man behandlar under minst fyra veckor före transplantation så sjunker HBV-DNA-nivån kraftigt hos 60 - 100 % av de behandlade patienterna (10-13).

Erfarenhet av monoterapi med lamivudin har visat en hög recidivfrekvens av hepatit B på 41 % efter tre års behandling (14), varför man idag är överens om att använda lamivudin i kombination med immunglobulin.

Nackdelen med lamivudin är uppkomsten av virusmutanter med nedsatt känslighet mot lamivudin. Diskussionen har löpt i vågor angående risken att förbehandla patienterna då man vid resistensutveckling efter transplantationen tidigare inte hade kvar något behandlingsalternativ. Denna diskussion har dock avtagit i och med tillkomsten av adefovir. Med

kombinationsbehandling med immunglobulin och lamivudin rapporteras idag frekvensen av hepatit B-recidiv efter transplantation ligga på mellan 0 - 10 % efter 14 - 24 månaders uppföljning (12,13,15,16).

Olika protokoll med sekventiella behandlingsstrategier testas nu, framför allt med syftet att reducera immunglobulinbehandlingen för att minska kostnaderna. Inom området finns tyvärr mycket få randomiserade studier, men nyligen publicerades en multicenterstudie från Spanien där patienterna efter en månads kombinationsbehandling randomiserades till fortsatt kombinationsbehandling eller monoterapi med enbart lamivudin. Man fann ej någon skillnad i behandlingsresultatet mellan behandlingsgrupperna (17). Observationstiden är dock ännu för kort.

Adefovir dipivoxil

Adefovir är ett nyutvecklat läkemedel mot HBV. Det är en HBV-DNA-polymerashämmare och har således en direkt antiviral effekt. Rekommenderad dos är en tablett om 10 mg en gång dagligen. Dosreduktion krävs vid nedsatt njurfunktion (CrCl <50 mL/min). Detta är ett viktigt observandum eftersom en levertransplantationspatient förlorar i genomsnitt 30 % av sin njurfunktion redan efter tre månader och det är relativt vanligt med kraftig njurfunktionsnedsättning i denna patientgrupp. Enstaka rapporter visar en god effekt av adefovir även mot lamivudinresistenta mutanter (21, 22). Hittills har adefovir använts som en form av "rescue"terapi när lamivudinresistens utvecklats och recidiv skall behandlas. Ännu saknas profylaxstudier med adefovir och i eventuell kombination med immunglobulinbehandling.

Interferon

Begränsande faktor för användande av alfa-interferon är dålig tolerans hos cirrhotiska patienter aktuella för levertransplantation. Interferonbehandling är heller inte längre med som förstahandsalternativ vid behandling av recidiv, dels på grund av dåliga resultat och dels för potentiellt ökad risk för rejektion. Behandlingen kan dock fortfarande ha en plats vid terapivikt med förstahandsvalen.

Profylax för att förhindra recidiv efter transplantation

Man kan idag identifiera hög- och lågriskgrupper vad gäller risk för recidiv efter levertransplantation.

HÖG RISK	LÅG RISK
Hög HBV-replikation före transplantation	Låg HBV-replikation före transplantation
Lamivudinresistens före transplantation	Fulminant hepatit B
	HDV co-infektion

Ett exempel på profylaxprotokoll mot recidiverande hepatit B-virus infektion efter levertransplantation (Göteborgsmodellen):

Alla HBsAg positiva får:

1. Aunativ 10 000 IE i.v. under anhepatisk fas
2. Aunativ 2 500 IE i.v. dag 1 - 6 postoperativt
3. Därefter följes anti-HBs-titern som skall vara >100 IU/L. Om titern sjunker under 100 IU/L ges Aunativ 5 000 IE i.v. Övergång till intramuskulär administration kan övervägas efter tre månader
4. Dessutom ges lamivudin 100 mg x 1. Patienten startar behandling innan transplantation och skall helst ha behandlats i fyra veckor innan patienten aktiveras på väntelistan. Under väntetiden inför transplantationen fortsätter behandlingen och HBV-DNA kontrolleras en gång/månad. Patienterna skall så snart som möjligt efter ingreppet återinsättas på lamivudin 100 mg x 1.

Det har uttryckts farhågor tidigare att långvarig preoperativ lamivudinbehandling skulle öka risken för utveckling av lamivudinresistens. Man anser dock idag att två till tre månaders preoperativ behandling är önskvärd och inte medför någon väsentligt ökad risk för resistensutveckling (26).

Vaccination mot HBV

Aktiv profylax med vaccinering är ett tilltalande och mer ekonomiskt alternativ som profylax. Patienter med kronisk leversjukdom och levercirrhos har dock visat sig svara mycket dåligt på konventionellt rekombinant hepatit B-vaccin (18). Immunisering efter levertransplantation utan samtidigt hyperimmunglobulin eller antiviral terapi har också visats ge mycket klena resultat. Immunisering utan antiviral terapi är därför inte en framkomlig väg vid levertransplantation. Vaccinering ingår dock i många protokoll även om nyttan ej har visats i någon prospektiv randomiserad studie. Nyligen rapporterade en grupp från Barcelona att 82 % av 17 patienter som vaccinerades >18 månader efter transplantationen svarade och fick anti-HBs-titrar >10 IE/L (19). Dessa patienter kunde sedan sluta med immunglobulinbehandling. Nyligen har denna serie uppdaterats och ett vaccinsvar kunde nu påvisas hos 14 av 22 patienter dvs. 64 %. Man bör dock notera att i den ursprungliga serien hade sex patienter fulminant hepatit och att alla med kronisk infektion var HBV-DNA-negativa före transplantationen. I en liknande studie av hepatit B-vaccinering från Rom svarade endast tre av 17 patienter (20). Således är det ännu för tidigt att rekommendera vaccination som ersättning för immunglobulin. Här behövs ytterligare studier.

Behandling av hepatit B-recidiv efter transplantation

Idag får de patienter som transplanteras för hepatit B-cirrhos alternativt fulminant hepatit B någon form av profylax som beskrivits ovan. Om recidiv av hepatit B trots det inträffar bör man först utröna orsaken då det har betydelse för eventuell terapi.

Vanlig orsak är bristande patient/doktorföljsamhet till behandling. Andra orsaker är genmutationer som gör att immunglobulinterapin fallerar alternativt att lamivudinresistens utvecklas.

Framgångsrik behandling är beskriven med lamivudin till patienter som trots behandling med immunglobulin recidiverat. Publicerade data från transplantationsgruppen i Berlin beskriver att 76 % av patienterna blev HBV-DNA-negativa och efter ett år var fortfarande 40 % negativa (23).

Lamivudin är i dag den dominerande behandlingen av recidiv, dock har farhågor uppstått angående den ökande användningen av lamivudin preoperativt och risken för resistens (14).

Famciklovir har också studerats och Manns och medarbetare rapporterade att 74 % av 70 patienter med de novo alternativt recidiv av hepatit B efter transplantation svarade på behandling med famciklovir. Definitionen av svar var HBV-DNA-negativitet alternativt en 70 % reduktion av HBV-DNA-nivåerna.

Adefovir är, som tidigare påpekats, ett nytt behandlingsalternativ när lamivudinresistens utvecklats (21, 22).

Hur länge skall man ge profylax/ behandling?

För närvarande är det rutin att ge livslång passiv immunisering med immunglobulin. Hur länge man skall fortsätta med lamivudin finns inget entydigt svar på. Många avslutar behandlingen efter ett år eftersom man är rädd för utveckling av resistens. Eftersom immunglobulinbehandlingen är kostsam pågår idag på många håll studier av olika kombinationer för att kunna reducera immunglobulinbehandlingen. Nyligen kom från Spanien den första randomiserade studien som tar upp denna fråga. Efter en månads kombinationsbehandling med immunglobulin och lamivudin randomiserades patienterna till monoterapi lamivudin alternativt fortsatt kombinationsterapi. Lika goda resultat uppnåddes i båda grupperna, det vill säga inga recidiv efter observationstiden 18 månader sågs (17). Det är dock nödvändigt med längre uppföljning och konfirmerande studier innan man kan rekommendera ändring av nuvarande policy.

Betydelsen av immunosuppression

Vid levertransplantation på grund av virushepatit försöker man minimera immunosuppressionen och då speciellt kortison. Detta gäller numera framför allt vid hepatit C. Vid hepatit B har vi idag en effektiv profylax i form av immunglobulin och lamivudin som medfört att betydelsen av immunosuppressionen för ett recidiv har minskat. Några entydiga randomiserade studier talande för någon speciell immunosuppressiv regim saknas och terapin fokuserar idag på att förhindra rejektion.

Transplantation med organ från anti-HBc-positiv donator

Detta är ett större problem i länder med en högre frekvens av hepatit B i populationen. Idag transplanteras ej lever från en HbsAg-positiv donator. Däremot kan övriga organ accepteras om mottagaren är HBsAg-positiv.

Efter några fall där hepatit B-infektion uppstått de novo hos mottagare av organ från HbsAg-negativa donatorer, där man senare konstaterat att donatorn var anti-HBc-positiv, testar man i de nordiska länderna nu alla donatorer för anti-HBc-antikroppar.

Risken för smitta vid transplantation av andra organ än levern när en donator är anti-HBc-positiv bedöms som liten. De flesta centra väljer att acceptera dessa organ och ger eventuellt recipienten en dos immunglobulin i samband med transplantationen speciellt om donatorn var anti-HBs-negativ. Det är en fördel om man före transplantationen har haft möjlighet att vaccinera recipienten.

En recipient som erhåller en lever från en anti-HBc-positiv donator löper stor risk att infekteras. I vissa situationer får man ta den risken, men då bör mottagaren behandlas enligt protokollet för kroniska hepatit B-patienter, det vill säga med en kombination av lamivudin och immunglobulin. Riktlinjer för handläggning finns på Scandiatriplants hemsida: www.scandiatriplant.org.

Referenser:

1. Statzl TE, Demetris AJ, Van Thiel D. Liver transplantation. *N, Engl J Med* 1989;312:1092-9.
2. Belle SH, Beringer KC, Murphy JB, et al. The Pitt-UNOS liver transplantation registry. In: Terasaki PI, Cecka JM (eds). *Clinical Transplants*. Los Angeles: UCLA Tissue Typing Laboratory, 1992:17-31.
3. Crippin J, Foster B, Carlen S, et al. Retransplantation in hepatitis B. A multicenter experience. *Transplantation* 1994;57:823-6.
4. Johnson PJ, Wansbrough-Jones MH, Portman, B, et al. Familial HbsAg-positive hepatoma: Treatment with orthotopic liver transplantation and specific immunoglobulin. *BMJ* 1978;1:278.
5. Samuel D, Bismuth A, Mathieu D, et al. Passive Immunoprophylaxis after liver transplantation in HbsAg-positive patients. *Lancet* 1991;337:813-5.
6. Samuel D Müller R, Alexander G, Fassati L Ducot B et al. Liver transplantation in European patients with the hepatitis B surfaces antigen. *N Engl J Med* 1993;329:1842-7.
7. Burbach GJ, Bienzle U, Neuhaus R, et al. Intravenous or intramuscular anti-HBs immunoglobulin for the prevention of hepatitis B reinfection after orthotopic liver transplantation. *Transplantation* 1997 15;63(3):478-80.
8. Han SH, Martin P, Edelstein M, Hu R, et al. Conversion from intravenous to intramuscular hepatitis B immune globulin in combination with lamivudine is safe and cost-effective in patients receiving long-term prophylaxis to prevent hepatitis B recurrence after liver transplantation. *Liver Transpl* 2003 Feb;9(2):182-7.
9. Terrault NA, Zhou S, Combs C, et al. Prophylaxis in liver transplant recipients using a fixed dosing schedule of hepatitis B immunoglobulin. *Hepatology* 1996 Dec;24(6):1327-33.
10. Grellier L, Mutimer D, Ahmed M, et al. Lamivudine prophylaxis against reinfection in liver transplantation for hepatitis B cirrhosis. *Lancet* 1996;348:1212-5.
11. Markowitz JS, Martin P, Conrad AJ, et al. Prophylaxis against hepatitis B recurrence following liver transplantation using combination lamivudine and hepatitis B immune globulin. *Hepatology* 1998;28:585-9.
12. Yao FY, Osorio RW, Roberts JP, et al. Intramuscular hepatitis B immune globulin combined with lamivudine for prophylaxis against hepatitis B recurrence after liver transplantation. *Liver Transpl Surg* 1999;5:491-6.
13. Yoshida EM, Erb SR, Partovi N, et al. Liver transplantation for chronic hepatitis B infection with the use of combination lamivudine and low-dose hepatitis B immune globulin. *Liver Transpl Surg* 1999;5:520-5.
14. Perrillo RP, Wright T, Rakela J, et al. A multicenter United States-Canadian trial to assess lamivudine monotherapy before and after liver transplantation for chronic hepatitis B. *Hepatology* 2001 Feb;33(2):424-32.
15. Han SH, Ofman J, Holt C, et al. An efficacy and cost-effectiveness analysis of combination hepatitis B immune globulin and lamivudine to prevent recurrent hepatitis B after orthotopic liver transplantation compared with hepatitis B immune globulin monotherapy. *Liver Transpl* 2000 6(6):741-8.
16. Seehofer D, Rayes N, Naumann U, et al. Preoperative antiviral treatment and postoperative prophylaxis in HBV-DNA positive patients undergoing liver transplantation. *Transplantation* 2001 Oct 27;72(8):1381.
17. Buti M, Mas A, Prieto M, et al. A randomized study comparing lamivudine monotherapy after a short course of hepatitis B immune globulin (HBIG) and lamivudine with long-term lamivudine plus HBIG in the prevention of hepatitis B virus recurrence after liver transplantation. *J Hepatol* 2003;38(6):811-7.
18. Dominguez M, Barcena R, Garcia M et al: Vaccination against hepatitis B virus in cirrhotic patients on liver transplant waiting list. *Liver Transpl* 2000;6(4):440-2.

19. Sanchez-Fueyo A, Martinez-Bauer E, Rimola A. Hepatitis B vaccination after liver transplantation. *Hepatology* 2002 Jul;36(1):257-8.
20. Angelico M, Di Paolo D, Trinito MO, et al. Failure of a reinforced triple course of hepatitis B vaccination in patients transplanted for HBV-related cirrhosis. *Hepatology* 2002;35:176-81.
21. Mutimer D, Feraz-Neto BH, Harrison R, et al. Acute liver graft failure due to emergence of lamivudine resistant hepatitis B virus: rapid resolution during treatment with adefovir. *Gut* 2001 Dec;49(6):860-3.
22. Perrillo R, Schiff E, Yoshida E, et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B mutants. *Hepatology* 2000 Jul;32(1):129-34.
23. Seehofer D, Rayes N, Berg T, Neuhaus R et al. Lamivudine as first and second-line treatment of hepatitis B infection after liver transplantation. *Transplant Int* 2000;13:290-6.
24. Manns MP, Neuhaus P, Atkinson GF, et al. Famciclovir treatment of hepatitis B infection following liver transplantation: a long term, multi-centre study. *Transplant Infect Dis* 2001;3:16-23.
25. Lau JY, Bain VG, Davies SE, et al. High-level expression of hepatitis B viral antigens in fibrosing cholestatic hepatitis. *Gastroenterology* 1992;102(3):956-62.
26. Villamil FG. Prophylaxis with anti-HB-s immune globulins and nucleoside analogues after liver transplantation for HBV infection. *Journal of Hepatology* 2003;39 466-74.

Postexpositionsprofylax mot hepatit B-virusinfektion

Gunnar Norkrans

Postexpositionsprofylax mot hepatit B ges vid nålstick, skärskador, stänk i öppna sår, dvs. parenteral exposition för hepatit B-virusinnehållande blod och vid sexuell exposition. Post partumprofylax till nyfödda är troligen den vanligaste orsaken. Profylax ges då till ett nyfött barn, vars mor har hepatit B-virusinfektion (vanligen kronisk). Vid profylax ges hepatit B-immunglobulin (HBIG) och/eller hepatit B-vaccin.

Smittrisker vid exposition

Hepatit B-smitta överföres till nyfödda huvudsakligen i anslutning till förlossningen av HBsAg-positiva kvinnor med kronisk hepatit B. Intrauterint överförd smitta tycks vara ovanlig. Risken för infektion varierar med moderns smittsamhet, varvid e-/anti-HBe-status varit praktiskt värdefullt att använda som

smittsamhetsmarkör (1, Tabell I). Innan profylax fanns tillgänglig kunde man visa att 70 - 90 % av HBeAg-positiva kvinnors nyfödda barn utvecklade kronisk hepatit B. Hos cirka 10 % fann man inga serologiska tecken på genomgången hepatit B-infektion. Infektionsrisken var mycket lägre för HBeAg-negativa kvinnors barn. Bland dessa fann man att några procent blev kroniskt infekterade, något större andel hade en övergående infektion, och 80 - 90 % fick inga serologiska tecken på att de exponerats för smittan.

Tabell I

Förekomst av hepatit B-överföring från 773 HBsAg-positiva gravida kvinnor till deras barn, i relation till HBeAg/anti-HBe-status

Mödrarna	Andel % av barnen		
	Ej infekterade	Övergående infekterade	Kroniskt infekterade
HBsAg-positiva (416)	46 (11)	42 (12)	328 (79)
HBsAg-negativa			
anti-Hbe-negativa (88)	74 (84)	8 (9)	6 (7)
anti-Hbe-positiva (269)	240 (89)	25 (9)	4 (2)
Totalt (773)	360	75	338

(*JID* 1994;170:1418-23)

Vid akut hepatit B hos den blivande modern, speciellt under tredje trimestern, föreligger en betydande risk för att hepatit B överföres till barnet om profylax inte ges. Incidensen har i vissa studier uppgått till 30 - 40 % bland dessa. Incidensen är mycket lägre om akut hepatit B inträffar tidigare under graviditeten.

Vid parenteral exposition i sjukvården uppgick infektionsincidensen i äldre studier till minst 20 % utan profylax när smittkällan var HBeAg-positiv. Infektionsincidensen med HBeAg-negativ smittkälla, utan profylax, rör sig endast om någon procent (2,

Tabell II). I realiteten är det rimligt anta att risken också varierar med typen av accidentell parenteral exposition på det sätt som dokumenterats senare för hiv (3).

Incidensen för överföring av hepatit B vid sexuell exposition är betydande om indexfallet har påvisbart HBeAg. Det finns inga väldokumenterade studier om risken vid enstaka expositionstillfällen, men det förekommer både vid kronisk hepatit B och akut hepatit B. Detta varierar förstås bland annat med smittsamheten hos smittkällan.

Tabell II

Förekomst av hepatit B efter accidentell exposition för HBsAg-positivt blod

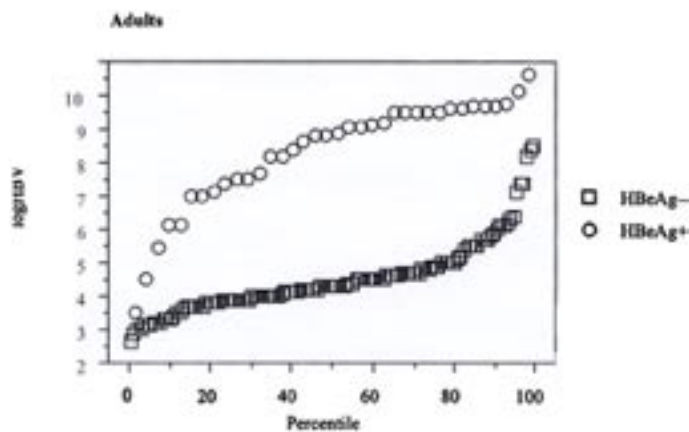
Smittkällan	Antal (% av exponerade)	
	Infekterade	Ej infekterade
HBeAg-positiv (234)	44 (19)	190 (81)
HBeAg-negativ		
anti-Hbe-positiv (121)	3 (2)	118 (98)
anti-Hbe-negativ (35)	0 (0)	35 (100)
Totalt (390)	47 (12)	343 (88)

(*Ann Intern Med 1982;97:367-69*)

Mängden HBV-DNA i blodet skiljer kraftigt mellan HBeAg-positiva respektive HBeAg-negativa HBsAg-bärare (cirka 10^4 kopior/mL), vilket tydligt beskrivits med användning av modern teknik för kvantifiering av HBV-DNA (4, Figur 1). Skillnaden mellan bärare i respektive grupp kan också vara av-sevärd.

Vid exposition för hepatit B-virus är alltså totalmängden virus som överförs av betydelse för infektionsrisken. Mängden hepatit B-virus i blod/volympenhet kan numera kvantifieras med hög grad av känslighet och säkerhet.

Figur 1



(*J Viral Hep* 2000;7:258-67)

Inkubationstiden till klinisk sjukdom och tiden för att HBsAg skall bli mätbart varierar inverst med mängden överfört virus vid parenteral tillförel. Detta visades i studier utförda i USA på 1950-talet, vilka reanalyserades på 1970-talet när diagnostik av hepatit B blev tillgänglig. Andelen kliniska fall sjönk med minskande smittdos (5).

Hepatit B-immunglobulin och hepatit B-vaccin

Hepatit B-immunglobulin, med hög halt av antikroppar (anti-HBs) mot hepatit B-antigenet (HBsAg), togs i bruk som postexpositionsprofylax på 1970-talet. Sedan 1982 finns även vaccin mot hepatit B. Vaccinet innehåller renat HBsAg och anti-HBs-antikroppar bildas mot antigenet. Dessa skyddande antikroppar är riktade mot den så kallade a-determinanten på HBsAg. a-determinanten är gemensam för de olika genotyper av hepatit B-virus som finns beskrivna (6).

För närvarande finns ett hepatit B-immunglobulinpreparat (Aunativ) inregistrerat i Sverige och två vaccin framställda från jästceller med rekombinantteknik.

Anti-HBs-nivå över 10 IU/L anges vara en skyddande nivå, fast man eftersträvar helst betydligt högre anti-HBs-titrar. Det immunologiska minnet efter adekvat genomförd vaccination är långvarigt. Skydd mot klinisk sjukdom och utveckling av hepatit B-bärarskap finns kvar om skyddande nivå primärt nåtts, trots att antikropps-nivån sedan kan falla under 10 IU/L (7-9). I vissa länder anses därför booster ej vara nödvändigt (10).

Vid tillförel av hepatit B-immunglobulin nås höga halter anti-HBs i blodet inom några dygn. Vid vaccintillförel blir anti-HBs-antikroppar mätbara tidigast efter några veckor. Trots det kommer, som

senare framgår, vaccination enbart utan immunglobulintillförel, att fungera som god postexpositionsprofylax i vissa situationer.

Personer, som efter fullföljd adekvat vaccination, ej bildar mätbara anti-HBs-antikroppar kallas för "non-responders". Personer som serokonverterar, men inte uppnår 10 IU/L kallas för "weak responders" och betraktas inte ha något egentligt skydd vid exposition. De som uppnår >10 IU/L efter fullföljd vaccination, anses ha nått en skyddande antikropps-nivå. Av olika skäl definieras dock i flera länder en "responder" såsom en person som når nivån >100 IU anti-HBs/L (11).

Antikropps-svaret vid vaccination (aktiv immunisering) är sämre vid högre ålder, hos rökare, vid övervikt, bland män och vid vissa kroniska sjukdomar (7). Dessutom finns så kallade äkta "non-responders" som inte bildar antikroppar efter tillförel av konventionellt vaccin. Orsaken till detta är sannolikt genetiskt immunologiskt betingad (12).

Med tredje generationens hepatit B-vaccin kan sannolikt en del "non-responders" fås att bilda anti-HBs (13, 14).

Mer än 95 % av immunologiskt normala barn, ungdomar och vuxna har nått seroprotektions-nivå >10 IU/mL av anti-HBs efter fullföljd vaccination med rekombinantvaccin mot hepatit B (7, 8).

Post partumprofylax till barn

Barn som föds av en HBsAg-positiv, HBeAg-positiv kvinna och ej får profylax i anslutning till förlossning, löper alltså ungefär 90 % risk att bli infekterad och utveckla kronisk hepatit B. På 80-talet visades att skyddseffekten av hepatit B-immunglobulin, post partum till barnet, ökade från cirka 40 % till 70 % om hepatit B-immunglobulin gavs vid två tillfällen i stället för enbart post partum (15).

När vaccin blev tillgängligt kombinerades hepatit B-vaccin med immunglobulin till samma målgrupp, barn födda av högsmittsamma mödrar. I början användes hepatit B-vaccin utvunnet ur plasma och senare med rekombinantvaccin fann man att kombinationsprofylax gav cirka 90 % skyddseffekt. Färre än 5 % av barnen blev kroniskt infekterade (16).

Eftersom tillgången till hepatit B-immunglobulin i vissa länder är dålig och kostnaden hög har tillförsel av enbart hepatit B-vaccin till HBsAg-positiva, HBeAg-positiva mödrars barn också studerats. I vissa studier har man funnit en mycket god skyddseffekt med enbart vaccin utan immunglobulin (17-19). Skyddseffekten understeg marginellt kombinationsprofylax med HBIG och vaccin. Vaccin enbart bedömes vara fullgod post partumprofylax i praktiken för att minska hepatit B-bärarskapet bland barn i högendemiska områden.

I vissa länder rekommenderas kombinationsprofylax till alla barn vars mödrar är HBsAg-positiva oavsett HBeAg-status hos modern. I ett antal studier som beskrivit vaccinationsprofylax till barn vars mödrar är HBsAg-positiva och HBeAg-negativa, fann man dock att endast ett av cirka 600 barn med enbart vaccinprofylax blev kronisk bärare (20-24).

Tabell III

Procent barn som uppnår viss anti-HBa-nivå efter tre injektioner

	<10	10-99	>100
Fullgångna (57)	2	26	72
Prematura (53)	23	36	41

(Vaccine 2002;20:1557-62)

Det sämre antikroppssvaret vid sedvanlig vaccination post partum hos vissa barngrupper kan föranleda speciella rutiner i dessa situationer.

Postexpositionsprofylax vid nålstick, skärskador etc.

På 70-talet studerades och jämfördes vanligt immunglobulin med hepatit B-immunglobulin vid accidentell exposition för HBsAg-positivt blod (30). Incidensen av hepatit var densamma i bägge grupperna (12 %), men andelen subklinisk hepatit i HBIG-gruppen var 10 %, jämfört med 4 % för konventionellt immunglobulin. Incidensen akut hepatit

Hepatit B-virusmängden är i regel betydligt lägre hos HBeAg-negativa kvinnor, jämfört med de som är HBeAg-positiva (24). Trots att högviremiska HBeAg-negativa mödrar finns, tycks inte kombination med hepatit B-immunglobulin ge någon egentlig protektionsvinst jämfört med enbart vaccin i denna grupp.

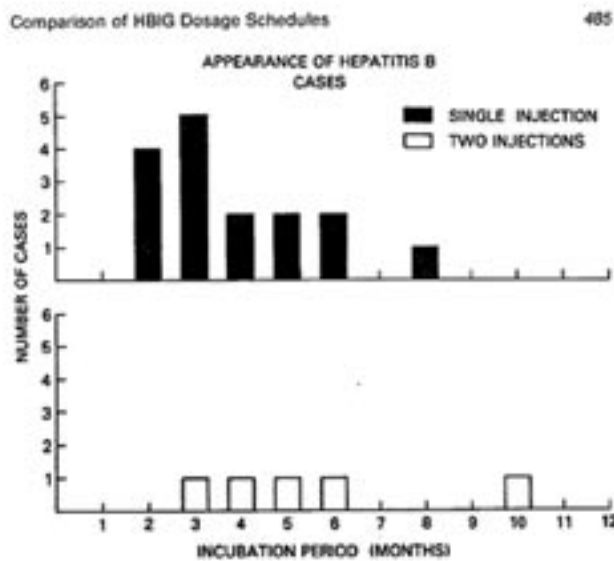
Profylax till nyfödda lyckas ej alltid, framför allt när det gäller HBeAg-positiva mödrars barn. Skälet till misslyckad profylax kan vara intrauterin smitta, massiv smitta hos extremt högviremiska mammor, förlossningstekniska orsaker, utvecklingen av så kallad "escape mutants" av HBV samt att barnet inte förmår att bilda antikroppar på grund av prematuritet (25-27). Gruppen nyfödda som väger mindre än 1 800 gram bildar anti-HBs sämre än de som väger mer vid vaccintillförsel enligt konventionellt schema (27, Tabell III). Vid viktgräns på 2 500 gram eller gestationsåldersgräns vid 35 veckor vid analys av grupperna sågs ej dessa skillnader (25, 26).

Vid co-infektion med hiv föreligger också en försämrad antikropsproduktion vid post partumprofylax (28, 29).

var 2 % i HBIG-gruppen, jämfört med 8 % bland de som fick konventionellt immunglobulin med lägre anti-HBs-halt. Någon obehandlad kontrollgrupp förekom ej.

Effekten av HBIG-profylax, påbörjad inom sju dygn efter exposition, givet som en- eller tvådos visar en trend till fördel för tvådosförfarande. 6,5 % respektive 17 % diagnostiserades med hepatit B inom 12 månader efter expositionen, men skillnaden var inte statistiskt signifikant. En tendens till inkubationstidsförlängning noterades i tvådosgruppen jämfört med endosgruppen (31, Figur 2).

Figur 2



Kombinationen hepatit B-immunglobulin och vaccin givet inom 48 timmar efter exposition vid accidentell exposition på en dialysavdelning var signifikant bättre än enbart immunglobulin (vid jämförelse med historiska kontroller) (32). Fyra procent jämfört med 33 % fick hepatit inom 12 månader efter den accidentella infektionen.

I en annan studien där HBIG respektive HBIG och vaccin, startade inom tre dygn efter exposition, fann man inga fall av klinisk hepatit B jämfört med 8 % i en kontrollgrupp utan profylax. Klinisk hepatit B förekom i bägge profylaxgrupperna i 7 % jämfört med 2 % kontrollgruppen, dvs. totalinfektionsincidens visade inga signifikanta skillnader.

Merparten av de exponerade arbetade på dialysenhet, liksom i senare studier när man undersökte effekten av hepatit B-immunglobulin och vaccin jämfört med enbart hepatit B-vaccin, också givet inom tre dygn efter exposition. I cirka 5 % förekom subklinisk/serologisk infektion i bägge profylaxgrupperna, men ingen akut hepatit B. I kontrollgruppen, utan profylax, var incidensen klinisk hepatit B 6 % och hos 3 % förekom serokonversion (33, 34). Studiegrupperna var relativt små och graden av smittsamhet hos indextienterna anges ej.

Två experimentella studier på schimpans har, trots begränsad storlek, givit intressant information om vaccinetts betydelse vid postexpositionsprofylax (35, 36). Schimpanserna inokulerades intravenöst med hepatit B-virus. Fem schimpanser fick hepatit B-immunglobulin som profylax, varav två fick fullt skydd. Hos dessa två erhöles skyddet när hepatit B-immunglobulin och virus tillfördes intravenöst samtidigt och när hepatit B-immunglobulin givet fyra timmar efter

inokulationen av virus kombinerades med en vaccinserie. Tre schimpanser som påbörjade hepatit B-immunglobulinprofylaxen intravenöst fyra timmar efter virusinokulation (med upprepad dos HBIG) fick alla övergående hepatit B.

Ytterligare fem schimpanser inokulerades med hepatit B-virus, varav fyra fick ett snabbvaccinations-schema med hepatit B-vaccin. De schimpanser som påbörjade snabbvaccinationen fyra, åtta respektive 48 timmar efter virusinokulationen blev helt skyddade, men den fjärde schimpansen, som påbörjade vaccination 72 timmar efter virusinokulation, serokonverterade mot anti-HBc, utan övriga tecken på hepatit. En ovaccinerad schimpans utvecklade hepatit B. Experimenten tolkades ge stöd för vaccin som den viktiga komponenten i postexpositionsprofylax vid parenteral exposition.

Postexpositionsprofylax vid sexuell exposition

I profylaxstudier på 70-talet angavs hepatit B-immunglobulin reducera klinisk sjukdom och serologiska tecken på infektion hos sexualpartners till patienter med akut hepatit B (37). I en jämförande studie påvisades inte någon fördel med HBIG jämfört med konventionellt immunglobulin (38).

I en studie med heterosexuella partners till patienter med akut hepatit B studerades infektionsincidensen i fyra grupper, som fick placebo, hepatit B-vaccin, hepatit B-immunglobulin respektive en kombinationen av vaccin och hepatit B-immunglobulin. Man fann ingen statistisk skillnad i infektionsförekomsten mellan de fyra grupperna, vilka inkluderade cirka

70 patienter vardera (39). Infektionsincidensen var 18 % i placebogruppen och 11 % i kombinationsgruppen. Uppkomna infektioner var signifikant oftare subkliniska efter immunprofylax jämfört med placebo.

Sammanfattande reflektioner

Karaktäristiken av patientmaterialen i de äldre studierna är bl.a. ur smittsynvinkel inte optimala. Användning av e-antigen som smittsamhetsmarkör är praktiskt bra, men saknas i flera studier. HBV-DNA-nivåer, i den mån de använts, är mätta med tekniker som inte används idag. Speciellt studier av profylaxregimer vid accidentell parenteral exposition och sexuell exposition vid hepatit B har därför påtagliga brister.

Det är klarlagt från studier rörande mor-barnsmitta att överföringen av infektion och effekten av profylax är klart korrelerad till mängden virus mätt med olika tekniker. De genombrott som sker trots profylax och antas bero på mycket höga virusmängder, tycks ske vid HBV-DNA-nivåer över 10^9 kopior/mL. Man har utifrån vissa studier föreslagit additiv profylax i form av lamivudin till modern före förlossning (40). Genombrott i profylaxen kan ju också ske på grund av mutationer i genen som kodar för HBsAg, och då är det konventionella vaccinet ej verksamt (41, 42).

Referenser

- Burk RD, et al. Outcome of perinatal hepatitis B virus exposure is dependent maternal virus load. *JID* 1994;170:1418-23.
- Werner BG, et al. Accidental hepatitis-B-surface-antigen-positive inoculations. Use of e antigen to estimate infectivity. *Ann Intern Med* 1982;97:367-9.
- Bartlett JG et al. 2003 Medical Management of HIV infection. 2003:106.
- Lindh M, et al. Hepatitis B virus DNA levels, precore mutations, genotypes and histological activity in chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2000;7:258-67.
- Barker LF, et al. Relationship of virus dose to incubation time of clinical hepatitis and time of appearance of hepatitis-associated antigen. *Am J Med Sci* 1972;263:27-33.
- Shouval D. Hepatitis B vaccines. EASL International Consensus Conference on Hepatitis B. *J Hepatol* 2003;39:S70-6.
- Assad S, et al. Over a decade of experience with a yeast recombinant hepatitis B vaccine. *Vaccine* 2000;18:57-67.
- Coates T, et al. Hepatitis B vaccines: Assessment of the seroprotective efficacy of two recombinant DNA vaccines. *Clin Ther* 2001;23:392-403.
- Banatvala J, et al. Lifelong protection against hepatitis B: the role of vaccine immunogenicity in immune memory. *Vaccine* 2001;19:877-85.
- European Consensus Group on Hepatitis B Immunity. Are booster immunisations needed for lifelong hepatitis B immunity? *Lancet* 2000;355:561-5.
- Heijntink RA, et al. Anti-HBs levels after hepatitis B immunisation depend on test reagents: routinely determined 10 and 100 IU/l seroprotection levels unreliable. *Vaccine* 2002;20:2899-905.
- Höhler T, et al. Differential genetic determination of immune responsiveness to hepatitis B surface antigen and to hepatitis A virus. A vaccination study in twins. *Lancet* 2002;360:991-5.
- Young MD, et al. Adult hepatitis B vaccination using a novel triple antigen recombinant vaccine. *Hepatology* 2001;34:372-6.
- Zuckerman JN, et al. Evaluation of a new hepatitis B triple-antigen vaccine in inadequate responders to current vaccines. *Hepatology* 2001;34:798s-802.
- Beasley RP, et al. Efficacy of hepatitis B immune globulin for prevention of perinatal transmission of the hepatitis B virus carrier state: final report of a randomised double-blind, placebo-controlled trial. *Hepatology* 1983;3:135-41.
- Stevens CE, et al. yeast-recombinant hepatitis B vaccine. Efficacy with hepatitis B immune globulin in prevention of perinatal hepatitis B virus transmission. *JAMA* 1987;257:2612-6.
- Poovorawan Y, et al. Protective efficacy of a recombinant DNA hepatitis B vaccine in neonates of HBe antigen-positive mothers. *JAMA* 1989;261:3278-81.
- Poovorawan Y, et al. Long-term hepatitis B vaccine in infants born to hepatitis B e antigen positive mothers. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1997;77:F47-51.
- Lolekha S, et al. Protective efficacy of hepatitis B vaccine without HBIG in infants of HBeAg-positive carrier mothers in Thailand. *Vaccine* 2002;20:3739-43.
- Sangfelt P, et al. Prevention of hepatitis B by immunization of the newborn infant – a long-term follow-up study in Stockholm, Sweden. *Scand J Infect Dis* 1995;27:3-7.
- Vranckx R, et al. Hepatitis B virus vaccination and antenatal transmission of HBV markers to neonates. *J Viral Hepat* 1999;6:135-9.
- Milne A, et al. Field evaluation of the efficacy and immunogenicity of recombinant hepatitis B vaccine without HBIG in newborn Vietnamese infants. *J Med Virol* 2002;67:327-33.
- Yang YJ, et al. Role of hepatitis B immunoglobulin in infants born to hepatitis B e antigen-negative carrier mothers in Taiwan. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:584-8.
- Söderström A, et al. Hepatitis B virus DNA during pregnancy and post partum – aspects on vertical transmission. Accepted *Scand J Infect Dis* 2003.
- Blondheim O, et al. Immunogenicity of hepatitis B vaccine in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1998;79:F206-8.
- Belloni C, et al. Immunogenicity of hepatitis B vaccine in term and preterm infants. *Acta Paediatr* 1998;87:336-8.
- Freitas da Motta MS, et al. Immunogenicity of hepatitis B vaccine in preterm and full term infants vaccinated within the first week of life. *Vaccine* 2002;20:1557-62.
- Rutstein RM, et al. Response to hepatitis B immunization by infants exposed to HIV. *AIDS* 1994;8:1281-4.
- Thaithumyanon P, et al. Antibody response to hepatitis B immunization in infants born to HIV-infected. *J Med Assoc Thai* 2002;85:277-82.
- Hoofnagle JH, et al. Passive-active immunity from hepatitis B immune globulin. Reanalysis of a Veterans Administration Cooperative study of needle-stick hepatitis. The Veterans Administration Cooperative Study Group. *Ann Intern Med* 1979;91:813-8.
- Klein HG, et al. Postexposure immunoglobulin prophylaxis of hepatitis B: A comparison of two dosages schedules. In: Vyas GN, Cohen SN, Schmid R, eds. *Viral hepatitis*. Philadelphia. Franklin Institute Press 1978:483-6.
- Mitsui T, et al. Combined hepatitis B immune globulin and vaccine for post exposure prophylaxis of accidental hepatitis B virus infection in haemodialysis staff members: comparison with immune globulin without vaccine in historical controls. *Hepatology* 1989;10:324-7.
- Palmovic D. Prevention of hepatitis B infection in health care workers after accidental exposure. *J Infect* 1987;15:221-4.
- Palmovic C, et al. Prevention of hepatitis B virus (HBV) infection in health-care workers after accidental exposure: a comparison of two prophylactic schedules. *Infection* 1993;21:42-5.

35. Iwarson S, et al. Successful post exposure vaccination against hepatitis B in chimpanzees. *J Med Virol* 1988;25:433-9.
36. Wahl M, et al. Failure of hepatitis B immune globulin to protect against exp infection in chimpanzees. *J Hepatol* 1989;9:198-203.
37. Redeker AG, et al. Hepatitis B immune globulin as a prophylactic measure for spouses exposed to acute type B hepatitis. *N Engl J Med* 1975;293:1055-9.
38. Perrillo RP, et al. Immune globulin and hepatitis B immune globulin. Prophylactic measures for intimate contacts exposed to acute type B hepatitis. *Arch Inter Med* 1984;144:81-5.
39. Roumeliotou A, et al. Chronic liver disease rarely follows acute hepatitis B in non-immunocompromised adults. *Infection* 1992;20:221-3.
40. van Zonneveld M, et al. Lamivudine treatment during pregnancy to prevent perinatal transmission of hepatitis B virus infection. *J Viral Hepat* 2003;10:294-7.
41. Hunt C, et al. Clinical relevance of hepatitis B viral mutations. *Hepatology* 2000;31:1037-44.
42. Cooreman MP, et al. Vaccine- and hepatitis B immune globulin-induced escape mutations of hepatitis B virus surface antigen. *J Biomed Sci* 2001;8:237-47.