



**A.I.S.F.**

**ASSOCIAZIONE ITALIANA PER LO STUDIO DEL FEGATO**

**TRATTAMENTO DELLA  
INFEZIONE DA HBV:**

**DOCUMENTO DI INDIRIZZO  
DELLA ASSOCIAZIONE ITALIANA  
PER LO STUDIO DEL FEGATO**

A cura della Commissione  
**“Trattamento della infezione da HBV”**  
dell’Associazione Italiana per lo Studio del Fegato (A.I.S.F.)

*Finito di stampare Febbraio 2004*

<b>INDICE</b>	<b>5</b>
<b>1. Premessa</b>	<b>7</b>
<b>2. HBV: il virus e i tests diagnostici</b>	<b>9</b>
<b>3. Obiettivi del trattamento, selezione dei pazienti</b>	<b>9</b>
3.1 Selezione del paziente candidato alla terapia:	9
3.2 Farmaci	10
3.3 Valutazione della efficacia della terapia:	11
<b>4. Ambiti di trattamento e scelte prescrittive</b>	<b>12</b>
4.a epatite cronica ( $\pm$ cirrosi), HBeAg positiva	13
4.a.1 <i>Terapia con IFN:</i>	13
4.a.2 <i>Eventi avversi da IFN:</i>	13
4.a.3 <i>Influenza del trattamento con IFN sulla storia naturale della malattia HBeAg positiva:</i>	14
4.a.4 <i>TERAPIA CON LAMIVUDINA:</i>	15
4.a.5 <i>Eventi avversi da lamivudina:</i>	17
4.a.6 <i>Gestione della terapia a lungo termine e influenza del trattamento con lamivudina sulla storia naturale della malattia HBeAg positiva:</i>	19
4.a.7 <i>Terapia con adefovir dipivoxil:</i>	20
4.b epatite cronica ( $\pm$ cirrosi), HBeAg negativa, HBV-DNA positiva ( $>10^5$ copie/ml)	22
4.b.1 <i>Terapia con IFN:</i>	22
4.b.2 <i>Eventi avversi da IFN:</i>	23
4.b.3 <i>Influenza del trattamento con IFN sulla storia naturale della malattia HBeAg negativa:</i>	23
4.b.4 <i>Terapia con lamivudina:</i>	23
4.b.5 <i>Eventi avversi da lamivudina:</i>	24
4.b.6 <i>Gestione della terapia a lungo termine e influenza del trattamento con lamivudina sulla storia naturale della malattia HBeAg negativa:</i>	24
4.b.7 <i>Terapia con adefovir dipivoxil:</i>	25
4.c cirrosi avanzata e/o scompensata, HBV-DNA positivo ( $>10^5$ copie/ml)	26
4.d trapianto epatico in soggetto con malattia da HBV (profilassi pre- e post-trapianto della reinfezione; terapia della reinfezione post-trapianto)	26
4.e paziente HBsAg positivo immunosoppresso (profilassi della riattivazione; terapia della riattivazione)	27
4.f epatopatia cronica da infezione HBV/HDV	28

4.g	epatopatia cronica da infezione HCV/HBV	28
4.h	epatopatia cronica HBV-DNA positiva in paziente con infezione da HIV	29
4.h.1	<i>Impatto della coinfezione da HBV sulla malattia da HIV</i>	29
4.h.2	<i>Impatto della infezione da HIV sull'epatite da HBV</i>	29
4.h.3	<i>Indicazioni al trattamento dell'epatite da HBV nel paziente HIV positivo</i>	29
4.h.4	<i>Terapia con interferone</i>	29
4.h.5	<i>Terapia con lamivudina</i>	30
4.h.6	<i>Comparsa di resistenza alla lamivudina dell'HBV in soggetti coinfezati da HBV e HIV</i>	30
4.h.7	<i>Comparsa di resistenza alla lamivudina dell'HIV in soggetti HBsAg positivi</i>	30
	<b>Bibliografia</b>	<b>31</b>

## 1. Premessa

La situazione epidemiologica e clinica della infezione da HBV in Italia si è profondamente modificata nel corso dell'ultimo decennio. L'incidenza dell'epatite acuta da HBV riportata dal SEIEVA (Sistema Epidemiologico Integrato per le Epatiti Virali Acute) si è costantemente ridotta, da 10.4 casi/100,000/anno nel 1990 a 2/100,000/anno nel 2000 (1 e Notiziario ISS 2001, Vol. 14, n° 10). L'incidenza stimata in uno studio multicentrico condotto su donatori periodici nel corso degli ultimi anni è stata di 2.7 per 100.000 anni/persona (95% CI 0.3-9.8) (2). Verosimilmente questo dato rappresenta una sottostima in considerazione del fatto che si tratta di un gruppo selezionato. Questa tendenza al declino della diffusione di HBV, già iniziato prima dell'avvio della vaccinazione universale anti-HBV, ha spostato il profilo di infezione da quello di una prevalente trasmissione intrafamiliare, con acquisizione del virus nelle età più precoci della vita, a quello di un'esposizione legata a fattori di rischio (trasmissione sessuale, tossicodipendenza, trasmissione iatrogena) cui si è massimamente esposti in età adulta, con conseguente riduzione della frequenza di cronicizzazione della infezione. A causa del grande *pool* di portatori cronici tutt'ora esistente, l'infezione da HBV rimane tuttavia in Italia causa principale o cofattore frequente nel determinare cirrosi. Una recente stima del PAR (Population Attributable Risk) in Italia pone infatti l'HBV al 7% come fattore di rischio per cirrosi e carcinoma epatico (HepatoCellular Carcinoma, HCC) (3). Una percentuale non trascurabile di soggetti con infezione cronica da HBV è immunodepresso, o per infezione da HIV o per immunosoppressione iatrogena. L'età media dei soggetti con infezione cronica da HBV è in generale più elevata che in passato, e più frequente la presenza di cirrosi (4). Ad oggi nel nostro Paese, come nel resto dell'Europa meridionale, oltre l'80% dei soggetti con infezione cronica da HBV e con malattia epatica sono portatori di mutazioni genomiche che bloccano la capacità di sintesi di HBeAg (mutanti HBe minus) (5). La cirrosi da HBV è ad oggi in Italia, dopo quella da HCV, la seconda più frequente indicazione al trapianto epatico (6). La infezione da HDV, presente nel 1987 nel 23% nelle epatopatie croniche da HBV, risulta essere presente nell'8.3% dei casi nel 2000 (7).

Rispetto alla precedente stesura (1996) delle linee guida AISF per il trattamento delle epatiti croniche virali, la disponibilità in alternativa all'alfa IFN di lamivudina ed adefovir dipivoxil, e verosimilmente in un prossimo futuro di altri analoghi nucleosidici/nucleotidici attivi contro l'HBV, ha determinato un rinnovato interesse alla possibilità di trattare anche soggetti con cirrosi avanzata o con riattivazione di una infezione da HBV in precedenza silente, nonché una generalizzazione di questi trattamenti, percepiti come maggiormente efficaci e tollerabili.

L'AISF ha quindi ritenuto opportuno aggiornare le proprie linee guida sul trattamento della infezione da HBV, in base a:

- nuove conoscenze sulla biologia della infezione
- miglioramento dei tests diagnostici
- disponibilità di nuovi farmaci e prove cliniche della loro efficacia a breve e a medio termine.

Queste linee guida, ottenute dalla analisi delle evidenze disponibili in letteratura e principalmente da quelle riassunte nella EASL Consensus Conference on Hepatitis B 2002 (disponibile su: <http://www.elsevier.com/gej-ng/10/26/38/98/51/show/toc.htm>), valutate per grado da A a C (Grado A: Evidenza derivante da numerosi studi clinici randomizzati e controllati (RCTs), appropriatamente dimensionati in termini di potenza statistica, o da meta-analisi di RCTs; Grado B: Evidenza derivante da almeno uno studio clinico di grandi dimensioni, randomizzato o non randomizzato, o da meta-analisi di studi non-RCTs, o da studi di coorte o caso-controllo; Grado C: Evidenza derivante da piccoli RCTs, da studi descrittivi o da panels di esperti) e supportate quando necessario da un con-

fronto fra le opinioni di esperti, non vanno intese come “standard of care” assoluto per l’HBV. Per alcuni problemi infatti i dati disponibili non hanno infatti qualità sufficiente per indicare una linea di condotta univoca. La rapida evoluzione delle conoscenze in materia di nuove molecole renderà inoltre necessario un aggiornamento delle linee guida al momento della loro eventuale disponibilità come farmaci.

In Italia al momento attuale la prescrizione dei trattamenti antivirali in pazienti con infezione da HBV è regolata dalla normativa stabilita dalla Commissione Unica del Farmaco (CUF). Nel corso degli ultimi anni, l’avanzamento delle conoscenze cliniche e scientifiche ha aggiunto ulteriori evidenze a quanto considerato dalla CUF. La Commissione AISF ritiene quindi opportuno proporre un percorso terapeutico che differisce in parte dalle note CUF, auspicando il recepimento di queste proposte da parte dell’Ente normativo, ma sottolinea che al momento attuale lo *standard of care* è quello delineato dalle Note CUF, mentre qualunque scostamento dalla normativa rappresenta una personale responsabilità del Medico prescrittore.

## 2. HBV: il virus e i tests diagnostici

Il ciclo replicativo di HBV (8-10), iniziato con l'attacco del virione all'epatocita, si continua nel nucleo della cellula, dove viene completata la sintesi del plus strand di HBV-DNA ed il genoma virale viene convertito in un DNA circolare chiuso con legame covalente (cccDNA). Il cccDNA funge da modello per l'RNA pregenomico, che viene a sua volta retroscritto in minus strand HBV-DNA. Il cccDNA presente negli epatociti può quindi derivare sia dall'ingresso di nuovi virioni nella cellula che dalla traslocazione di HBV-DNA di nuova sintesi dal citoplasma (8-11). Tutti gli analoghi nucleosidici, e più in generale tutti gli agenti antivirali valutati fino ad oggi, non hanno praticamente alcun effetto sul cccDNA. Ciò rende ragione della rapida ricomparsa dell'HBV-DNA, e conseguentemente della attività necroinfiammatoria della epatopatia, alla sospensione della terapia nella maggioranza dei soggetti trattati anche per lunghi periodi con questi farmaci.

L'epatite cronica HBeAg negativa, caratterizzata da elevati livelli serici di HBV-DNA in assenza di HBeAg rilevabile nel siero e da una continuativa attività necroinfiammatoria epatica, può essere causata da differenti mutazioni del genoma di HBV, quasi tutte situate nella regione del pre-core o del core promoter (8,12,13). La mutazione più frequente è quella nel pre-core (G † A al nucleotide 1896), che genera uno stop codon in grado di abolire la sintesi di HBeAg. Solo i genotipi di HBV con T al nucleotide 1858 (genotipi B, C, D ed E) sviluppano la mutazione G1896A (14). La variabilità della frequenza di infezione con mutanti HBe minus di HBV è legata al genotipo di HBV prevalente. Va sottolineato che in Italia, a differenza di altre parti del mondo, come gli USA dove prevale il genotipo A di HBV (15), il genotipo largamente prevalente è il D (oltre il 90% dei casi), mentre gli altri rappresentano in prevalenza una patologia da importazione (Gaeta; Santantonio; Raimondo; Craxi: dati non pubblicati). Ciò rende lo sviluppo di malattia da mutante HBe minus particolarmente frequente nella nostra popolazione. Le più comuni mutazioni del core promoter (A1762T e G1764A), che riducono ma non aboliscono interamente la capacità ad esprimere HBeAg (16) sono assai meno frequenti in Italia. Va comunque ricordato che HBV è presente nell'ospite infetto in forma di quasispecie (17,18), e che la soppressione spontanea o indotta da terapia del virus mutante può fare riemergere l'HBV wild-type, capace di sintetizzare l'HBeAg. Inoltre in pazienti con epatite cronica anti-HBe positiva l'infezione virale è spesso sostenuta da una popolazione mista di virus wild-type e virus pre-core mutante. La ricomparsa nel siero del virus wild-type è stata dimostrata nei pazienti con periodiche riattivazioni prima dei picchi di transaminasi (19).

L'evoluzione dei tests diagnostici ha progressivamente sostituito nella pratica clinica i tests di ibridazione molecolare (dot blot o ibridizzazione in fase liquida), dotati di sensibilità relativamente bassa, con metodiche quantitative a sensibilità intermedia (bDNA) o alta (PCR, TaqMan) (9, 20-30). E' stato recentemente stabilito uno standard internazionale per le unità di riferimento per la quantificazione dell'HBV-DNA (30). I livelli di sensibilità e le caratteristiche di performance di questi sistemi sono tuttavia abbastanza diversi (tab. 1): ciò va tenuto in considerazione quando si comparano risultati ottenuti con metodiche diverse.

Il dosaggio quantitativo delle IgM anti-HBc, effettuato analizzando anche i risultati forniti dal test nella "gray zone" (valori di OD compresi fra la media dei controlli negativi ed il valore di cut-off fornito dal fabbricante per la diagnosi di epatite acuta) fornisce informazioni di rilievo sia per individuare la presenza di danno HBV-indotto in soggetti con infezione cronica da HBV e minus, che spesso replicano il virus a livelli significativi solo intermittenemente (31), che per valutare il decorso spontaneo e sotto trattamento di questi soggetti (32).

Anche se la standardizzazione delle metodiche virologiche è incompleta, è possibile traccia-

re un profilo generale di identificazione degli stati della infezione da HBV utilizzando anche la quantificazione di HBV-DNA (fig.1) e l'anti-HBc IgM. In una recente Consensus Conference NIH (33) il valore di  $10^5$  copie di genoma di HBV/ml (grosso modo equivalente al limite di sensibilità delle tecniche di ibridazione molecolare), già in precedenza suggerito (34), è stato scelto come discriminante fra lo stato di bassa ed alta replicazione virale. Anche se biologicamente plausibile, esso è stato selezionato arbitrariamente, e non tiene conto della variabilità fra metodi. Va anche sottolineato che i livelli di replicazione dell'HBV possono essere ampiamente fluttuanti, specie nei soggetti con virus HBe minus (13). Da rilevare che il portatore "sano" di HBV, che presenta generalmente integrazione di HBV-DNA nel genoma cellulare epatico (35), ha una persistente replicazione di HBV a basso livello nel siero (HBV-DNA positivo in PCR, anche se negativo ai tests di ibridazione molecolare), e può occasionalmente riattivarsi. Va infine ricordato che nel lungo termine soggetti con infezione cronica da HBV possono perdere la capacità di esprimere nel sangue l'HBsAg, pur mantenendo genomi interi di HBV nelle cellule epatiche (infezione "occulta" da HBV) (21,36).

Va ribadita la necessità di distinguere, per una corretta gestione del portatore cronico di HBV, l'infezione dalla malattia: a questo proposito va sottolineato il valore diagnostico di IgM anti-HBc, come marcatore surrogato di danno virus indotto. Sempre nell'ambito di quella che è la definizione dei criteri di diagnosi del portatore di infezione e malattia da HBV, va rilevata la necessità del monitoraggio periodico dei parametri virologici e biochimici per una valutazione dinamica del portatore, allo scopo di evitare il rischio della sottostima dei soggetti con malattia.

Nel paziente con malattia da HBV/HDV la diagnosi di infezione da HDV viene posta mediante il rilevamento di anticorpi anti-HDV totali, e quella di infezione attiva mediante il rilevamento di IgM anti-HDV. La sensibilità di questo approccio rispetto al gold standard assoluto (presenza di HDAg nel tessuto epatico o di HDV-RNA nel siero) può essere insoddisfacente nei soggetti immunodepressi.



### 3. Obiettivi del trattamento, selezione dei pazienti

Obiettivi del trattamento della epatite cronica da HBV sono:

Abbattimento della replicazione virale e, di conseguenza:

Riduzione della attività necroinfiammatoria della malattia epatica

Riduzione della infettività del soggetto

Prevenzione della evoluzione in cirrosi

Prevenzione della insorgenza di epatocarcinoma.

Va riconosciuto che la storia naturale della malattia cronica da HBV è ampiamente variabile (4,37-39), e che la tendenza alla progressione in cirrosi non può essere accuratamente predetta dai test di laboratorio. Alcuni elementi clinici, virologici ed istologici aiutano tuttavia ad individuare i soggetti con una maggiore probabilità di decorso sfavorevole della malattia. In questi pazienti il controllo della evolutività della malattia, in qualunque stadio di epatopatia essi si trovino, rappresenta l'obiettivo prioritario del trattamento antivirale, la cui efficacia ultima è misurabile indirettamente tramite l'effetto sui parametri biochimici, virologici ed istologici.

Nei pazienti da sottoporre a trapianto epatico per cirrosi da HBV, obiettivo prioritario è invece la riduzione radicale della carica virale, per minimizzare il rischio di una recidiva della infezione nel post-trapianto.

In considerazione della impossibilità ad eradicare completamente la infezione da HBV nel portatore cronico, data la inefficacia dei farmaci sul cccDNA e sulle sequenze di HBV integrate nel genoma cellulare, non sussiste alcuna indicazione al trattamento di soggetti HBsAg positivi e ALT persistentemente normali (portatori "sani" di HBsAg), anche nei rari casi in cui vi siano livelli di HBV-DNA superiori a  $10^5$  copie/ml.

Momenti fondamentali del trattamento della malattia cronica da HBV sono:

- 1) Selezione del paziente candidato alla terapia
- 2) Scelta del farmaco e dello schema posologico
- 3) Monitoraggio del paziente in trattamento
- 4) Valutazione della efficacia ultima della terapia.

#### **3.1: Selezione del paziente candidato alla terapia:**

La valutazione iniziale del paziente con infezione cronica da HBV candidabile a trattamento antivirale deve includere:

- a) anamnesi (fattori di rischio per coinfezioni virali, uso di alcol, uso di droghe, uso di farmaci ed esposizione a sostanze epatotossiche, familiarità per epatopatie), esame fisico e valutazione per il riconoscimento o l'esclusione di eventuale comorbidità
- b) tests ematochimici (AST/ALT, gammaGT, fosfatasi alcalina, bilirubina, protidogramma elettroforetico, attività protrombinica, emocromo completo, FT4, TSH)
- c) tests sierologici (Autoanticorpi non-organospecifici, anti-TPO)
- d) tests virologici:
  1. HBsAg
  2. HBeAg/anti-HBe
  3. anti-HBc/IgM con metodica quantitativa (IMx index o unità PEI)

4. HBV-DNA con metodica quantitativa
  5. anti-HDV totale, se positivo anti-HDV/IgM
  6. altra patologia virale (anti-HCV; anti-HIV)
- e) ecografia epatosplenica  
f) biopsia epatica.

La biopsia epatica costituisce un preliminare di grande rilevanza nel paziente con malattia cronica da HBV in fase di valutazione per la indicazione terapeutica. Essa permette di definire *staging* (stadiazione della progressione verso la cirrosi) e *grading* (quantificazione della attività necroinfiammatoria). *Staging* e *grading* hanno notevole rilevanza prognostica, anche se va ricordato che la istologia è strettamente dipendente dal momento replicativo di HBV, il quale influenza direttamente e rende variabili nel tempo i caratteri relativi al *grading*. E' necessario che la biopsia venga refertata quantitativamente (40), utilizzando dei sistemi di scoring validati (41-43). Questi sistemi non sono stati sviluppati specificamente per le epatiti croniche da HBV, ed anzi il METAVIR (43) è stato validato esclusivamente in biopsie da pazienti con malattia da HCV. Non tengono quindi conto di alcune lesioni prototipo (*ground glass cells*; displasia) che possono avere rilevanza nella malattia da HBV. La biopsia epatica può contribuire ad una migliore caratterizzazione virologica consentendo la ricerca su tessuto degli antigeni di HBV (HBsAg, HBcAg) e di HDV (HDAg). La ricerca di HDAg su tessuto costituisce a tutt'oggi, data la scarsa riproducibilità delle metodiche (non commerciali) per l'HDV RNA sierico il *gold standard* per la diagnosi di infezione attiva e di malattia da HDV (32), anche se la sensibilità di rilevamento fornita dagli antisieri in commercio può essere subottimale. La biopsia epatica può infine consentire occasionalmente di escludere altre cause di patologia epatica in portatori cronici di HBV. I pazienti con alterazioni della emostasi e della coagulazione o con altre controindicazioni maggiori e i pazienti con cirrosi epatica avanzata e/o scompensata vanno indirizzati al trattamento, se ritenuto opportuno, senza preliminare biopsia epatica.

Gli studi clinici disponibili non forniscono indicazioni sulla efficacia del trattamento oltre i 70 anni di età. La elevata tollerabilità soggettiva degli analoghi nucleosidici/nucleotidici rende possibile trattare pazienti in età avanzata, a differenza dell'alfa IFN che è mal tollerato nell'anziano. Nel valutare il trattamento antivirale nei pazienti anziani deve essere tenuta nella massima considerazione il decorso generalmente lento della malattia da HBV. Singoli pazienti con evidenza clinico/istologica di epatopatia rapidamente evolutiva possono essere trattati se la loro attesa di vita supera i 5 anni.

### ***3.2 Farmaci***

I tre farmaci oggi disponibili per la terapia, anti-HBV sono assai diversi come meccanismi di azione e di tossicità, dato che l'alfa IFN ha multipli effetti antivirali, immunomodulatori ed antiproliferativi mentre la lamivudina e l'adefovir hanno esclusivamente una azione antivirale selettiva. Vanno quindi distinti due profili di criteri di esclusione *a priori* dal trattamento.

#### **A – CRITERI DI ESCLUSIONE DAL TRATTAMENTO CON alfa IFN**

- Cirrosi avanzata o scompensata (albumina < 3 g/dL, ipoprotrombinemia < 60%, bilirubina coniugata > 2 mg/dL; varici esofagogastriche ad elevato rischio emorragico [44]; presenza attuale o anamnesi pregressa di ascite, emorragie da ipertensione portale, encefalopatia epatica)
- Leucopenia (WBC < 3.000/mmc, PMN < 1.500/mmc) e/o trombocitopenia (< 80.000/mmc)
- Paziente con bassa *compliance* ai trattamenti ed al *follow-up*
- Tossicodipendenza o alcoolismo attivi

Depressione severa o anamnesi di malattie psichiatriche maggiori  
 Gravidanza in atto; incapacità ad una contraccezione efficace (donne)  
 Malattie autoimmuni attive, malattie tiroidee o grave patologia concomitante di altri organi ed apparati.

## B – CRITERI DI ESCLUSIONE DAL TRATTAMENTO CON ANALOGHI

Tossicodipendenza o alcoolismo attivi  
 Paziente con bassa *compliance* ai trattamenti ed al *follow-up*  
 Gravidanza in atto; incapacità ad una contraccezione efficace (donne).

### **3.3 Valutazione della efficacia della terapia:**

La risposta al trattamento va valutata applicando criteri predefiniti (33,34) ai parametri biochimici e virologici (tab.2). La valutazione virologica va fatta:

- dopo il primo periodo di terapia (4 settimane per gli analoghi, 12 settimane per l'IFN), per verificare la sensibilità al farmaco
- alla fine del ciclo di trattamento previsto, per validare la efficacia della terapia
- dopo un follow-up di almeno 6 mesi dalla sospensione del trattamento per verificare il mantenimento della risposta antivirale.

Non è necessaria, nella pratica clinica al di fuori di studi controllati, la validazione della normalizzazione istologica, che si ottiene comunque con ritardo anche di anni rispetto alla normalizzazione biochimica e virologica (45,46).

Sia i parametri biochimici e virologici che, in minor misura, quelli istologici rappresentano degli *end-points* surrogati, il cui rapporto con gli eventi clinicamente rilevanti (evoluzione in cirrosi; scompenso di malattia; comparsa di epatocarcinoma; morte), benché logico da un punto di vista inferenziale, è ancora incompletamente definito. Tale limitazione deriva, oltre che dalla necessità di studi a medio e lungo termine ancora non disponibili, dall'elevato grado di eterogeneità della infezione (mutanti virali, coinfezioni) e delle popolazioni di pazienti (differenze genetiche e di cofattori di malattia), nonché dalla mancata standardizzazione fino ad epoca recente dei criteri di risposta.

#### 4. Ambiti di trattamento e scelte prescrittive

I principali ambiti clinici in cui si può porre indicazione al trattamento anti-HBV sono:

epatite cronica ( $\pm$  cirrosi), HBeAg positiva, HBV-DNA positiva (se HBV-DNA  $<10^5$  copie/ml, è prognostico di clearance virale con sieroconversione anti-HBe) (48)

epatite cronica ( $\pm$  cirrosi), HBeAg negativa, HBV-DNA positiva ( $>10^5$  copie/ml)

cirrosi avanzata e/o scompensata, HBV-DNA positiva ( $>10^5$  copie/ml)

trapianto epatico in soggetto con malattia da HBV (profilassi pre- e post-trapianto della reinfezione; terapia della reinfezione post-trapianto)

paziente HBsAg positivo immunosoppresso (profilassi della riattivazione; terapia della riattivazione)

epatopatia cronica HBV-DNA positiva in paziente con infezione da HIV

epatopatia cronica da infezione HBV/HDV

epatopatia cronica da infezione HCV/HBV.

Va sottolineato che allo stato attuale delle conoscenze non esiste alcuna evidenza a favore del trattamento della epatite acuta da HBV nel soggetto adulto immunocompetente con i farmaci disponibili, considerata la frequenza elevata di guarigione spontanea (oltre il 95%). Vi sono evidenze su piccola scala a favore della efficacia della lamivudina nelle seguenti condizioni:

Epatite acuta B fulminante

Epatite acuta B a decorso severo/protratto

Epatite acuta B nel soggetto immunocompromesso

Epatite acuta B associata a manifestazioni extraepatiche (artriti, poliarterite nodosa, trombocitopenia, agranulocitosi) che richiedano impiego di cortisonici.

#### **4.a epatite cronica (± cirrosi), HBeAg positiva**

In questi pazienti la infezione è sostenuta in massima parte da HBV *wild type*. Anche la quantificazione di HBV-DNA pretrattamento è opportuna per indirizzare le scelte terapeutiche, si può assumere con elevata probabilità che un paziente HBsAg ed HBeAg positivo sia anche HBV-DNA positivo a livelli superiori a  $10^5$  copie/ml, ad esclusione della fase di sierconversione anti-HBe (48).

La evoluzione naturale della malattia da HBV HBeAg positiva, in soggetti adulti da popolazione generale, determina una possibilità di *clearance* spontanea di HBeAg dell'8-20% per anno (4,33,34,37,47-53) e di HBsAg dello 0.5% per anno (37,53). La sierconversione HBeAg  $\ddagger$  anti-HBe si associa ad un miglioramento della malattia epatica (33,34,37,54-59), sia nel caso di un evento spontaneo sia quando essa avvenga dopo terapia con IFN. Ancora più rilevante in termini di miglioramento della prognosi è la sierconversione HBsAg  $\ddagger$  anti-HBs, che avviene con maggior frequenza in soggetti di sesso femminile e di età non giovane (37).

##### **4.a.1 Terapia con IFN:**

Sono disponibili quattro meta-analisi (evidenza di grado A) degli studi di trattamento con alfa IFN in pazienti adulti HBeAg positivi, di cui 3 su dati cumulativi (60-62) e una su dati individuali da 10 RCTs (63). La meta-analisi di Wong (61) su 837 pazienti da 15 RCTs mostra una percentuale di *clearance* di HBeAg del 37% vs. il 17% nei controlli non trattati, con negativizzazione di HBV-DNA in 37% trattati vs. 17% non trattati e normalizzazione di ALT in tutti i pazienti che rimangono stabilmente a bassa replicazione virale. La *clearance* di HBsAg si verificava nel 7.8% di coloro che avevano ricevuto IFN e nell'1.8% dei controlli. La meta-analisi di Krogsgaard (63), confermando essenzialmente questi dati, consentiva anche di identificare due variabili pre-trattamento (elevati valori di ALT e bassi livelli di HBV-DNA sierico) come predittori importanti di responsività all'IFN. La meta-analisi cumulativa sui dati più recenti disponibili (62) dimostra un vantaggio dell'IFN rispetto al non trattamento del 26% in termini di normalizzazione di ALT, del 24% per la *clearance* definitiva di HBeAg e del 5.6 % per la *clearance* di HBsAg. Esprimendo questi dati come NNT (*number needed to treat*) si deduce che per ottenere una sierconversione HBeAg $\ddagger$ anti-HBe bisogna trattare 4 pazienti, e per ottenere una sierconversione HBsAg $\ddagger$ anti-HBs bisogna trattarne 18. Va rilevato che la efficacia dell'IFN nella epatite cronica HBeAg positiva è stata valutata negli studi clinici in pazienti con ALT anormali.

La schedula di trattamento ottimale individuata dalle meta-analisi è la somministrazione di 9-10 MU di alfa IFN tre volte la settimana per un periodo di 16-20 settimane. Un singolo RCT (64) mostra che il prolungamento della terapia fino alla trentaduesima settimana nei soggetti che non avevano eliminato l'HBeAg durante la fase iniziale del trattamento ottiene un ulteriore 16% di sierconversioni HBeAg  $\ddagger$  anti-HBe (evidenza di grado B).

Recentemente è stato riportato uno studio randomizzato di comparazione (evidenza di grado B) di tre dosi di IFN pegilato alfa2a 40 KdA (90, 180, 270 mg/settimana) contro 4.5 MU tiw di alfa IFN, per sei mesi (65). La percentuale di sierconversione HBeAg $\rightarrow$ anti-HBe ottenuta dal PEG-IFN alle dosi di 90 mg (37%) e di 180 mg (33%) erano significativamente superiori a quella registrata dall'alfa IFN (25%). Va tuttavia segnalato che la dose di alfa IFN utilizzata era più bassa di quanto usualmente raccomandato. Sono in corso in pazienti HBeAg positivi RCTs di trattamento con IFN pugilato alfa2b 12 KdA, e studi di trattamento di combinazione con lamivudina. Gli interferoni pegilati non sono attualmente registrati per l'uso clinico nelle epatiti da HBV.

La utilità di un approccio combinato mediante *priming* della risposta immune con un breve

ciclo di steroide seguito dal trattamento con alfa IFN è stata valutata in una meta-analisi di 7 RCTs (66). Non si è evidenziato alcun vantaggio per i pazienti con ALT elevate pre-trattamento, mentre i soggetti con valori di ALT bassi (ma tuttavia anormali) eliminavano l'HBeAg nel 48.8% dei casi se trattati con steroide + IFN e nel 18% se trattati con solo IFN (evidenza di grado B). Contro l'impiego nella pratica clinica di questo approccio sta tuttavia la possibilità non infrequente che sotto steroide si verifichi una riattivazione sintomatica di HBV, potenzialmente fatale in soggetti con ridotta riserva funzionale epatica.

La efficacia dell'alfa IFN nel bambino HBeAg positivo è pari a quella dell'adulto. Due meta-analisi (67,68) mostrano globalmente una frequenza di *clearance* di HBeAg del 30%, in confronto al 10% nei controlli (evidenza di grado A). Una delle meta-analisi (68), in 240 bambini HBeAg positivi, mostra che il trattamento con alfa IFN aumenta significativamente l'*odds ratio* per gli endpoints virologici e biochimici (HBV-DNA negativo OR 2.2, HBeAg negativo OR 2.2, ALT normali OR 2.3). Anche per i bambini il livello di ALT è un importante predittore di risposta: meno del 10% dei trattati con IFN eliminano l'HBeAg se hanno ALT normali.

La sieroconversione HBeAg → anti-HBe ottenuta dal trattamento con alfa IFN è un evento stabile nel tempo (56-63) (evidenza di grado B). Circa l'80% dei soggetti che hanno ottenuto la sieroconversione HBeAg → anti-HBe rimangono permanentemente HBeAg negativi, con ALT normali (57%), in comparazione a oltre il 95% dei soggetti che hanno una sieroconversione spontanea. La maggioranza dei pazienti, dopo la sieroconversione HBeAg → anti-HBe risulta HBV-DNA negativa ai tests a bassa sensibilità (ibridazione molecolare) ma HBV-DNA positiva a basso titolo in PCR. La *clearance* dell'HBsAg è un evento tardivo, che viene osservato nel 12-65% dei pazienti nei 5 anni successivi alla sieroconversione HBeAg → anti-HBe (33,34,37,56-63) (evidenza di grado B). La perdita di HBsAg è poco frequente nei pazienti Italiani (4) (evidenza di grado C).

Il ritrattamento con IFN dei soggetti che non abbiano risposto ad un primo ciclo ha una bassa efficacia. Uno studio recente (69), che tuttavia includeva soggetti il cui primo ciclo di IFN era stato praticato a dosi subottimali, ha mostrato una frequenza di *clearance* di HBeAg di 33% nei pazienti ritrattati e del 10% nei controlli non ritrattati (evidenza di grado C).

#### 4.a.2 Eventi avversi da IFN:

La terapia con IFN alle dosi impiegate per il trattamento della malattia da HBV HBeAg positiva (9-10 MU tre volte la settimana per 16-20 settimane) è scarsamente tollerata. L'analisi di 552 pazienti da 9 RCTs mostra che 35% dei soggetti trattati richiedono una riduzione di dose e 5% interrompono prematuramente la terapia (61,70) (evidenza di grado A).

Anche se la quasispecie di HBV si evolve sia spontaneamente che in corso di trattamento con alfa IFN (71,72), non è mai stata descritta la insorgenza di mutazioni specifiche che comportino una perdita di efficacia della terapia (*breakthrough*). In un piccolo numero (< 2%) di pazienti, dopo la sieroconversione HBeAg → anti-HBe, persiste o ricompare HBV-DNA positività ed attività necroinfiammatoria (73,74) (evidenza di grado C). Questo fenomeno è probabilmente legato alla emergenza di mutanti HBe minus dopo la scomparsa dell'HBV *wild type* (74).

#### 4.a.3 Influenza del trattamento con IFN sulla storia naturale della malattia HBeAg positiva:

Al conseguimento di una risposta virologica e biochimica stabile si associa una riduzione della attività necroinfiammatoria della malattia epatica. La completa normalizzazione istologica avviene in tempi più lunghi rispetto alla sieroconversione HBeAg → anti-HBe, ed è più spesso associabile in senso cronologico alla *clearance* dell'HBsAg (75). La guarigione virologica non è tuttavia completa, dato che permangono nel fegato sequenze genomiche di HBV in soggetti HBsAg negativi sia dopo risoluzione spontanea della infezione (21,76) che dopo trattamento con IFN (21,75,76) (evidenza di grado C).

Il principale beneficio clinico che la terapia con IFN ottiene nella malattia epatica HBeAg positiva è l'abbreviamento del periodo di attività replicativa ad alto livello dell'HBV, con la conseguente riduzione della durata della fase infiammatoria della malattia e della conseguente evoluzione in fibrosi. La eradicazione completa della infezione da HBV non è di fatto ottenibile nella maggioranza dei pazienti trattati. La lunga durata e la bassa frequenza annuale di eventi nella malattia cronica da HBV non trattata (37) rende problematica la valutazione degli end-points più rilevanti del trattamento, cioè la capacità a prevenire o ritardare comparsa di cirrosi, scompenso epatico, epatocarcinoma e morte per cause legate alla epatopatia. Gli studi di coorte disponibili (4,56,57,59), in cui i pazienti trattati possono differire significativamente dai non trattati per fattori sociodemografici, clinici e virologici mostrano che i soggetti che eliminano l'HBeAg hanno una sopravvivenza totale significativamente migliore ed un numero di eventi di malattia epatica minore rispetto a coloro che permangono HBeAg positivi (evidenza di grado C). Un solo studio (58) che segue fino a 8 anni 101 pazienti Orientali dopo il completamento di un RCT ha mostrato, nei pazienti trattati, una percentuale di mortalità più bassa ( 2% vs. 43%) e una più ridotta incidenza di HCC (1.5% vs. 12%) (evidenza di grado C). Tuttavia una recente meta-analisi (63) su dati da pazienti in prevalenza cirrotici ed HBeAg positivi non mostra un beneficio significativo del trattamento con IFN in termini di prevenzione dell'HCC nel paziente HBsAg positivo (evidenza di grado A).

Una revisione meta-analitica (62) di 12 studi di coorte che riportavano dati sulla evoluzione clinica della malattia cronica da HBV (scompenso, epatocarcinoma, morte) su 1952 pazienti HBeAg positivi (1189 non trattati e 763 trattati con IFN) mostra una frequenza di scompenso di malattia del 9.9% dei trattati e nel 13.3% dei controlli, di epatocarcinoma nell'1.9% dei trattati e nel 3.2% dei controlli, di morte epatica nel 4.9% dei trattati e nell'8.7% dei controlli (evidenza di grado A). Questi dati, pur suggestivi di una tendenza ad un esito più favorevole, non raggiungono una chiara significatività statistica, probabilmente anche in relazione alla eterogeneità delle popolazioni studiate. Un'altra meta-analisi specificamente volta a chiarire l'eventuale effetto preventivo dell'IFN sull'epatocarcinoma nella cirrosi da HBV (77) non ha rilevato alcuna efficacia.

#### 4.a.4 Terapia con lamivudina:

La lamivudina (beta-L-(-)-2',3'-dideoxy-3'-tiacitidina) ha un potente effetto inibitorio sull'HBV. Esso si esplica mediante il blocco della sintesi di DNA virale, causato dalla incorporazione del trifosfato attivo (3TC-TP) che causa la terminazione della sintesi della catena nucleotidica. Il trattamento con lamivudina nei pazienti HBeAg positivi è stato valutato in numerosi studi controllati e non controllati. Fra gli studi registrativi di fase III (3 RCTs, in un totale di 731 pazienti mai trattati, con Lamivudina 100 mg/die), due sono stati effettuati in pazienti Caucasi (78,79) ed una in pazienti Asiatici (80). Un ulteriore studio (81) è stato effettuato in pazienti con resistenza all'IFN. Vari studi (79,81) hanno contemporaneamente esplorato gli effetti di una somministrazione di lamivudina ed IFN.

I risultati ad un anno di terapia sono evidenziati in fig. 2. La probabilità di risposta virologica e biochimica (*clearance* di HBeAg con comparsa di anti-HBe associata a riduzione di HBV-DNA a livelli non rilevabili da tests non-PCR) a 12 mesi di terapia variava dal 16 al 18% dei pazienti trattati con lamivudina e dal 4 al 6% dei controlli non trattati (evidenza di grado A). La probabilità di clearance dell'HBsAg era < 1% nei trattati, e pari a zero nei controlli. La frequenza di miglioramento istologico (riduzione di HAI < 2 punti) alla fine della terapia era del 49-56% nei trattati e del 23-25% nei controlli. Va rilevata la non comparabilità dei dati ottenuti in questi studi con la lamivudina riguardo a quelli ottenuti con IFN, dato che in questi ultimi la efficacia è stata valutata a fine follow-up, almeno 6 mesi dopo la sospensione dell'IFN. L'unico studio (79) che consente una comparazione fra lamivudina ed IFN in monoterapia mostra (fig. 2) una equivalenza dei due regimi a fine terapia (evidenza di grado B).

Revisione non meta-analitiche (evidenza di grado A-B) dei risultati ottenuti con lamivudina nei pazienti HBeAg positivi di razza caucasica (82) e di razza asiatica (83) sono state recentemente presentate. Nei pazienti caucasici (82) la sierconversione HBeAg → anti-HBe dopo un anno di terapia è stata stimata avvenire globalmente negli adulti nel 17% con lamivudina e nel 6% con placebo, e nei bambini nel 22% vs. 13%.

Gli studi che hanno esplorato la combinazione lamivudina/IFN non mostrano per i pazienti HBeAg positivi un vantaggio significativo in termini di risposta della combinazione riguardo alla lamivudina o all'IFN in monoterapia (fig. 2). Tuttavia in uno di essi si dimostrava un vantaggio della terapia di combinazione per i pazienti con ALT fra 2 e 5 volte la norma. Si segnala che uno di questi studi utilizzava un protocollo di tipo sequenziale (pretrattamento con lamivudina, poi lamivudina/IFN), che potrebbe essere non ideale per valutare la efficacia combinata dei due farmaci (evidenza di grado B/C).

La durata del trattamento (84) e l'eventuale ritrattamento dei soggetti che recidivano ha rilevante importanza nel determinare la percentuale ultima di successo del trattamento.

Anche nel caso della lamivudina, un elevato valore delle ALT pre-trattamento è risultato predittivo di maggiore responsività (85,86). Nei 406 pazienti trattati per 12 mesi con lamivudina 100 mg/die di cui sono disponibili i dati analitici (86), la frequenza di sierconversione HBeAg → anti-HBe per classi di ALT è (evidenza di grado B):

- 2% vs 0% controlli, per ALT normali
- 9% vs 5% controlli, per ALT fra 1 e 2 volte la norma
- 21% vs 11% controlli, per ALT fra 2 e 5 volte la norma
- 47% vs 14% controlli, per ALT oltre 5 volte la norma.

Sono disponibili i dati del follow-up a lungo termine di una coorte (evidenza di grado C) derivata dallo studio multicentrico su pazienti Asiatici (66,87-89), in cui la lamivudina, a differenza che per l'IFN, determina risposte a 12 mesi simili a quelle osservate in pazienti Caucasici (82). I dati ottenuti mostrano l'aumentare progressivo delle percentuali di sierconversione nei pazienti che, non avendo risposto ai primi dodici mesi di lamivudina, continuano il trattamento. Le frequenze assolute di sierconversione in questo studio sono del 17% a 1 anno, 27% a 2 anni, 33% a 3 anni e 47% a 4 anni (83). Da considerare tuttavia il fatto che in questo studio non è stata rispettata la originaria allocazione al placebo dei pazienti che non avevano eliminato l'HBeAg durante i primi 24 mesi di terapia.

La farmacocinetica e farmacodinamica della lamivudina nel bambino sono simili a quelle dell'adulto, con un profilo di efficacia apparentemente analogo (90). Un RCT su 286 pazienti in età pediatrica (91), trattati con lamivudina 3 mg/kg/die, fino a 100 mg/die o con placebo (random 2:1) per 12 mesi, ha mostrato una sierconversione HBeAg → anti-HBe nel 23% dei trattati e nel 13% dei controlli (evidenza di grado B). Anche nei bambini la presenza di valori di ALT oltre 2 volte la norma è associata a maggiore probabilità di sierconversione (34% vs. 16%). A tutt'oggi non è registrata una indicazione per uso pediatrico della lamivudina. La infezione cronica HBV in età pediatrica è in generale una condizione relativamente lenta nel decorso, con elevata probabilità di sierconversione HBeAg → anti-HBe spontanea (92). Il beneficio ottenibile dal trattamento antivirale, che nel caso dell'IFN per i pazienti pediatrici Europei sembra essere a lungo termine misurabile prevalentemente in termini di una maggiore frequenza di clearance dell'HBsAg (93), va bilanciato per quanto riguarda la lamivudina con il rischio di selezionare mutanti resistenti al farmaco (v. oltre). Questo evento si è verificato nel 18% dei bambini trattati per 12 mesi nell'RCT di Jonas (91).

I dati più esaustivi sulla durata della sierconversione HBeAg → anti-HBe ottenuta dal trat-



tamento con lamivudina, in comparazione a quello con IFN e alla terapia di combinazione, derivano da uno studio multicentrico retrospettivo (94) (evidenza grado B), in cui 130 pazienti con sieroconversione HBeAg→anti-HBe a fine terapia antivirale (59 lamivudina, 49 interferon, 22 IFN + lamivudina) sono stati valutati per la ricomparsa di HBeAg. A tre anni dalla sieroconversione, 54% dei trattati con lamivudina, 32% con IFN e 23% con terapia di combinazione avevano avuto una recidiva di HBeAg positività ( $p=0.01$ ). Dati preliminari derivanti dal follow-up di pazienti da RCTs di fase II o III (95) mostrano che 34 su 42 pazienti (81%) con sieroconversione HBeAg→anti-HBe avevano un assetto virologico stabilizzato ad un follow-up medio di 21 mesi (*range* 0-30), con livelli normali di ALT nel 65% dei pazienti. Nove di questi soggetti (21%) avevano anche avuto una sieroconversione HBsAg→anti-HBs (evidenza di grado C). Due studi in pazienti Asiatici riportano frequenze più basse di sieroconversione HBeAg→anti-HBe duratura (38%, ref. # 89, 53% ref.# 96). In particolare, in uno di questi studi (96) 34 su 98 pazienti (34.7%) avevano una sieroconversione HBeAg → anti-HBe dopo  $9.3 \pm 3$  mesi di lamivudina 150 mg/die, con una frequenza di recidiva di HBeAg del 37.5% a 1 anno e del 49.2% a 2 anni. Su 16 pazienti in recidiva, 13 erano ritornati ad essere HBeAg positivi entro 12 mesi dalla fine della terapia (evidenza di grado C). La recidiva era più frequente nei soggetti con elevate concentrazioni di HBV-DNA pre-trattamento e in quelli che non avevano ricevuto ulteriore trattamento con lamivudina dopo la sieroconversione. Particolare cautela va tenuta nella sospensione della lamivudina in pazienti cirrotici che abbiano ottenuto sieroconversione HBeAg → anti-HBe, data la possibilità di un flare epatitico da sieroreversione.

Il ritrattamento con lamivudina dei soggetti che non abbiano risposto ad un precedente ciclo con IFN ha una elevata efficacia, in termini di induzione della risposta sotto trattamento (84) (evidenza di grado C). La risposta virologica e biochimica di questi soggetti è analoga a quella dei soggetti mai trattati in precedenza con IFN, e non vi sono con la schedula impiegata evidenze di vantaggio nel ritrattamento combinato con lamivudina ed IFN rispetto alla lamivudina in monoterapia.

#### 4.a.5 Eventi avversi da lamivudina:

La lamivudina ha una elevata tollerabilità soggettiva. La frequenza degli eventi avversi extraepatici riportata nei pazienti trattati negli RCTs è comparabile a quella dei controlli non trattati nei trials (evidenza di grado A). E' necessario ridurre il dosaggio di lamivudina, in funzione dei livelli di creatinina, in pazienti con insufficienza renale grave.

In corso di trattamento con lamivudina o alla sua sospensione sono osservabili recidive epatiche (*flares*) con importante elevazione degli indici di citolisi epatica e comparsa di iperbilirubinemia. Nei casi più gravi che avvengono pressoché esclusivamente in pazienti con pre-esistente cirrosi, queste riattivazioni possono assumere la forma clinica di una insufficienza epatica acuta ed essere mortali (82,97-99). La comparsa di un *flare* è legata a due eventi possibili:

- recidiva di replicazione virale da sospensione della lamivudina
- comparsa di mutanti di HBV resistenti alla lamivudina

Alla sospensione del trattamento con lamivudina, principalmente in pazienti che non abbiano ottenuto una sieroconversione, si possono avere *flares* (82,99). La frequenza di queste recidive varia dal 7 al 19% nei vari studi (tab. 3). Fino al 5% dei pazienti possono avere *flares* epatici sufficientemente gravi da dare ittero (evidenza di grado B). Un elemento che caratterizza questi *flares* è la presenza di un alto livello di HBV-DNA al momento del picco di ALT. In corso di *flare* l' HBV-DNA circolante appartiene in massima parte al virus *wild type*, anche se la recidiva avviene in un paziente che abbia sviluppato la mutazione da lamivudina (v.oltre). Da ricordare che un *flare* epatitico in corso di trattamento (*breakthrough*) può esser causato anche da bassa *compliance* del paziente alla terapia.

La possibilità che in corso di trattamento si selezionino forme virali mutanti resistenti alla lamivudina è attualmente il principale problema a lungo termine di questo trattamento in monoterapia. La più comune delle mutazioni associate alla resistenza alla lamivudina avviene all'interno di una sequenza altamente conservata (tirosina-metionina-aspartato-aspartato: YMDD) del dominio C della HBV-DNA polimerasi (transcrittasi inversa del virus), mediante la sostituzione della metionina in posizione 204 con isoleucina (YIDD) o con valina (YVDD) (100-104). A queste mutazioni si associa spesso una mutazione compensatoria leucina/metionina in posizione 180 nel dominio B della polimerasi. La modificazione della forma sterica del sito di legame nucleotidico della transcrittasi, dovuta alla presenza della isoleucina o della valina, impediscono alla lamivudina di configurarsi correttamente nel sito bloccando quasi totalmente l'effetto antivirale (103-105). La mutazione è un evento che può occorrere spontaneamente, in ragione della alta velocità di produzione di nuove particelle virali e della bassa fedeltà di trascrizione della HBV-DNA polimerasi (103-105). Quando si seleziona una mutazione YMDD in corso di terapia con lamivudina, i livelli di HBV-DNA sono usualmente più bassi che nel caso della infezione originaria da virus *wild type*, probabilmente in ragione della minore capacità replicativa del mutante (106). Il significato clinico di questa osservazione sperimentale è incerto (107). Va rilevato che in corso di trattamento prolungato con lamivudina si può avere in sequenza la emergenza di differenti mutanti resistenti (successione genotipica), oppure un singolo HBV mutante può persistere a lungo termine come specie dominante. Da segnalare infine che i *flares* epatitici (da mutante YMDD o da recidiva della replicazione) sono legati ad un meccanismo di riconoscimento immune delle proteine virali, con conseguente risposta necroinfiammatoria. E' quindi poco probabile che si verifichino in soggetti stabilmente immunosoppressi (102).

Benché la mutazione YMDD possa essere caratterizzata solo con tests biomolecolari va ricordato che, in pazienti che siano in risposta completa sotto lamivudina, una elevazione di ALT > 1.3 volte i valori normali assieme alla ricomparsa di HBV-DNA a valori >20 pg/ml ha un sensibilità dell' 85% ed una specificità del 77% per la presenza della mutazione (27,34). Tuttavia la comparsa della mutazione genotipica precede la riattivazione di 3-6 mesi.

In corso di trattamento a lungo termine con lamivudina 100 mg/die di pazienti Asiatici HBeAg positivi, compaiono mutanti YMDD con una frequenza crescente (16% dei pazienti ad un anno di trattamento, 40% a due anni, 57% a tre anni, 67% a 4 anni) (83). I livelli medi di HBV-DNA e di ALT sono più elevati nei pazienti in cui sia comparsa la mutazione, ma tuttavia quasi sempre più bassi rispetto ai livelli pre-trattamento. In questi soggetti è ancora possibile una sierconversione HBeAg→anti-HBe (a 1 anno: 50% in YMDD negativi vs. 10% YMDD positivi; a 2 anni: 56% vs 18%; a 3 anni 78 vs 28%; a 4 anni 78% vs 30%; a 5 anni 78% vs 38%) (evidenza di grado C). Globalmente, la frequenza di sierconversione HBeAg→anti-HBe riportata negli studi in cui il farmaco è dato per 12 mesi si attesta attorno al 25%, ma è nettamente minore se la lamivudina viene somministrata per soli 6 mesi (evidenza di grado B). Il decorso clinico dei pazienti in cui compare una mutazione YMDD è quindi variabile, e la rilevanza della mutazione a lungo termine, in relazione agli eventi di malattia, è da determinare. In alcuni casi la comparsa della mutazione si associa ad una grave riesacerbazione della malattia epatica ed a morte. Va comunque sottolineato che si tratta di segnalazioni su piccoli gruppi di pazienti. La più ampia casistica di pazienti seguiti a lungo termine, derivante dal *pooling* dei pazienti trattati negli RCTs di fase III e poi seguiti sotto terapia fino a 4 anni, riporta una incidenza globale di peggioramento della epatopatia del 4.1% (29 su 714, di cui 10 con scompenso della malattia). La comparsa di un mutante YMDD è stata accertata in 23 su 29 casi (79.3%); in quasi tutti è stata continuata la terapia. In 4 pazienti con la mutazione e in 2 senza si è

successivamente verificata sieroconversione HBeAg→anti-HBe (evidenza di grado C). Non sono disponibili dati analitici sulla mortalità in questo studio.

Una recente analisi (108) riporta i dati di una coorte di 998 pazienti con epatite cronica ( $\pm$  cirrosi) HBeAg positiva trattati con lamivudina per periodi fino a 6 anni (mediana 4 anni) raccolta retrospettivamente (evidenza grado B) ed analizzati in termini di frequenza di *flares* epatitici, scompenso epatico ed altri eventi fegato-correlati, comparando i casi trattati con quelli di 200 pazienti che avevano ricevuto placebo per 1 anno. *Flares* epatitici avvenivano a 1 anno nel 10% dei pazienti trattati e nel 18%-21% fra 2 e 5 anni di terapia, in associazione sempre più stretta con la comparsa di mutazione YMDD col passare del tempo (43% a 1 anno, >80% a 3 anni). In 8 pazienti (<1%) si sono manifestati eventi di scompenso epatico, 53 (5%) hanno avuto altri eventi di malattia, 4 pazienti sono morti (2 per cause epatiche). La frequenza di resistenza genotipica alla lamivudina era del 23% a 1 anno e del 65% a 5 anni, in stretta correlazione con l'insorgenza di *flares* patitici. La frequenza globale di scompenso epatico (0%-2%) e di eventi epatici (1%-10%) nei pazienti con resistenza alla lamivudina rimaneva stabile durante i primi 4 anni con la mutazione per poi aumentare al 6% (P = 0.03) e 20% (P = 0.009) rispettivamente. Questi dati suggeriscono un buon profilo di sicurezza della lamivudina nel trattamento a lungo termine, anche se la presenza di lunga durata della mutazione YMDD sembrerebbe condizionare un possibile peggiore decorso della epatopatia.

*4.a.6 Gestione della terapia a lungo termine e influenza del trattamento con lamivudina sulla storia naturale della malattia HBeAg positiva:*

Anche nel caso della lamivudina, la risposta virologica e biochimica si associa ad un miglioramento istologico (82,83). La riduzione della attività necroinfiammatoria (*grading*) è più spiccata nei soggetti che ottengono la sieroconversione HBeAg→anti-HBe. La terapia protratta potrebbe essere efficace anche nell'ottenere, in soggetti con un miglioramento del *grading*, anche una parziale regressione dello stadio della fibrosi (*staging*) (109) (evidenza di grado C). Va sottolineato che quasi tutti i pazienti valutati negli studi di fase III hanno effettuato la biopsia epatica di controllo sotto trattamento con lamivudina: il risultato ottenuto potrebbe quindi non essere rilevante dal punto di vista del decorso di malattia dopo la sospensione del farmaco.

Nel paziente HBeAg positivo l'*end point* sierologico principale è la sieroconversione HBeAg→anti-HBe. La terapia con lamivudina va quindi discontinuata a 12 mesi nei pazienti che abbiano ottenuto la sieroconversione. I risultati di un singolo RCT (96) suggeriscono che una interruzione precoce dopo la sieroconversione sia gravata da una elevata percentuale di recidive (evidenza di grado C). Non vi sono dati sui pazienti che abbiano eliminato l'HBeAg senza sviluppare anti-HBe. I pazienti HBeAg positivi che non abbiano eliminato l'HBeAg entro 12 mesi e che non abbiano avuto *breakthrough*, se continuano il trattamento hanno negli anni successivi una probabilità annuale di sieroconversione ad anti-HBe di circa il 10%. Ciò va bilanciato con una probabilità annuale di sviluppo di mutante YMDD superiore al 15%. Va inoltre ricordato che a tutt'oggi il farmaco non è registrato per l'uso per periodi estesi oltre i 12 mesi. Nei pazienti con malattia epatica avanzata, la comparsa del mutante YMDD può rendere problematica la eventuale indicazione al trapianto epatico (v.oltre).

I *flares* epatitici dovuti a ripresa della replicazione di HBV *wild type* avvengono fino a 1 anno dopo la discontinuazione del farmaco (mediana 4 mesi) (99) (evidenza di grado C). Per tale motivo i pazienti che sieroconvertono vanno seguiti con controlli clinici e virologici per almeno un anno dopo la sospensione della lamivudina. Se la terapia con lamivudina viene reiniziata in questi soggetti, la probabilità di remissione del *flare* è molto elevata, ma non vi sono informazioni sulla possibilità di sospendere successivamente il farmaco.

In caso di comparsa di mutante YMDD, nei pazienti in fase di peggioramento clinico, la sospensione della lamivudina potrebbe teoricamente portare alla ricomparsa del virus *wild type* (97,102), dotato di maggiore patogenicità e capacità replicativi, causando un ulteriore aggravamento di malattia. Dai trials clinici (82,83) vi sono evidenze ad indicare che il mantenimento del trattamento nei pazienti in cui vi sia evidenza di beneficio clinico e di laboratorio (livelli di ALT e HBV-DNA consistentemente più bassi dei valori medi pre-trattamento) può comunque ancora ottenere una bassa percentuale di sierconversioni HBeAg → anti-HBe.

Due recenti trials clinici (110,111) (evidenza di grado B) mostrano una elevata efficacia dell'adefovir dipivoxil (v.oltre) nel trattamento dei soggetti con mutanti YMDD e resistenza alla lamivudina. Il primo di questi studi (110) ha valutato in 59 pazienti con mutante YMDD e recidiva fenotipica sotto trattamento continuativo con lamivudina la efficacia di tre possibili approcci: continuare lamivudina 100 mg/die da sola, aggiungere adefovir dipivoxil 10 mg/die alla lamivudina o trattare con solo adefovir. A 4 settimane tutti i soggetti che ricevevano adefovir avevano avuto una marcata riduzione di HBV-DNA ( $\sim -2.4 \log_{10}$  copie/mL rispetto al basale), non osservabile nei soggetti che proseguivano con sola lamivudina. A 48 settimane la riduzione mediana dell'HBV-DNA rispetto ai valori iniziali era 0.0 (lamivudina), -3.59 (adefovir + lamivudina) e -4.04 (adefovir)  $\log_{10}$  copie/mL, con normalizzazione di ALT nel 5%, 53% e 47% rispettivamente. Fra i pazienti trattati con adefovir, 3 erano divenuto HBeAg negativi e 1 HBsAg negativo a 1 anno di terapia. Il secondo studio (111) ha valutato 90 pazienti analoghi, randomizzandone 45 all'aggiunta di adefovir alla lamivudina e 45 al proseguimento di monoterapia con lamivudina, per 52 settimane. Una riduzione di almeno 2  $\log_{10}$  copie/mL di HBV-DNA si è avuta nell'85% dei trattati con terapia di combinazione e nell'11% dei pazienti mantenuti con sola lamivudina (riduzione mediana -4.6 vs. +0.3  $\log_{10}$  copie/mL), con normalizzazione di ALT nel 31% vs. 6% dei pazienti. Nello stesso studio sono stati inoltre trattati con terapia di combinazione 40 pazienti con cirrosi scompensata o recidiva post-trapianto e mutante YMDD. Il 92% di questi ultimi pazienti ha avuto riduzione di almeno 2  $\log_{10}$  copie/mL di HBV-DNA ed un miglioramento di ALT.

Questi dati suggeriscono fortemente la opportunità, in caso di comparsa di mutazione YMDD e resistenza fenotipica alla lamivudina, di sospendere questo farmaco iniziando contestualmente la somministrazione di adefovir.

La disponibilità della lamivudina da un periodo di tempo relativamente breve non consente un giudizio basato su evidenze solide in merito alla efficacia di questo trattamento sugli *end points* maggiori (capacità a prevenire o ritardare comparsa di cirrosi, scompenso epatico, epatocarcinoma e morte per epatopatia).

#### 4.a.7 Terapia con adefovir dipivoxil:

L'adefovir dipivoxil (ADF) è il pro-farmaco, attivo se somministrato per via orale, dell'adefovir, un analogo nucleotidico fosfonato dell'adenosina monofosfato, dotato di una spiccata attività *in vitro* e *in vivo* contro gli Hepadnavirus (112). Il farmaco intracellulare (ADF fosfato) agisce da inibitore competitivo e terminatore di catena della replicazione di HBV mediata dalla HBV-DNA polimerasi (113). Originariamente sviluppato come trattamento anti-HIV alla dose di 30 mg/die, il farmaco è stato recentemente registrato come trattamento per la infezione cronica da HBV alla dose di 10 mg/die.

Le evidenze disponibili sull'uso di ADF nei pazienti HBeAg positivi sono state recentemente riviste (114). Un recente studio di fase III (115) ha valutato l'efficacia di ADF nel trattamento del-

l'epatite cronica B in 515 pazienti HBeAg positivi, randomizzati a ricevere Adefovir Dipivoxil a diversi dosaggi (10 mg/die, n=172; 30 mg/die, n=173) oppure placebo (n=170), per 48 settimane (evidenza di grado B). L'end point primario dello studio era rappresentato dal miglioramento istologico a fine terapia. Dopo 48 settimane di trattamento un maggior numero di pazienti sottoposti a trattamento con ADF presentavano rispetto al placebo:

- un miglioramento istologico (53% per il dosaggio 10 mg; 59% per il dosaggio 30 mg, e 25% per il placebo)
- una riduzione dei livelli di DNA virale (livelli inferiori a 400 copie per ml: 21%, 39%, 0%, rispettivamente)
- una normalizzazione dei livelli di ALT (48%, 55%, 16%, rispettivamente);
- una sierconversione HBeAg --> anti-HBe (12%, 14%, 6% rispettivamente).

Nell'arco delle prime 48 settimane non è stata identificata nessuna mutazione nel gene della DNA Polimerasi virale, associata alla resistenza all'ADF, e il profilo di sicurezza Adefovir, somministrato al dosaggio di 10 mg, è risultato simile a quello del placebo, mentre tra i pazienti trattati con Adefovir 30 mg si è invece riscontrata una maggiore incidenza di eventi avversi (principalmente nefrotossicità reversibile). Dati preliminari (116) sulla estensione del trattamento con ADF alla dose di 10 mg/die oltre le 48 settimane non evidenziano un incremento degli effetti avversi legati al farmaco. Con il prolungamento del trattamento fra le 48 e le 96 settimane è stata segnalata (117,118) la comparsa di una mutazione sito-specifica nel gene dell'HBV-DNA polimerasi (rtV173L) in circa il 2% dei pazienti trattati. Questa mutazione conferisce al virus resistenza all'ADF, mantenendone tuttavia la sensibilità alla lamivudina.

Da segnalare che a differenza di quanto riportato per l'IFN, cui i genotipi A e C di HBV mostrano maggiore sensibilità che i genotipi C e D, sia l'ADF (119) che la lamivudina (120) hanno eguale efficacia in tutti i genotipi di HBV (evidenza di grado B/C).

La relativa brevità del follow-up dei pazienti HBeAg positivi trattati con ADF non consente una valutazione efficace sulla stabilità della sierconversione HBeAg→anti-Hbe, sulla probabilità ultima di perdita dell'HBsAg, sul miglioramento istologico a lungo termine e sull'effetto sulla sopravvivenza del trattamento.

#### **4.b epatite cronica ( $\pm$ cirrosi), HBeAg negativa, HBV-DNA positiva ( $>10^5$ copie/ml)**

In questi pazienti la infezione è sostenuta da una quasispecie virale eterogenea, contenente proporzioni variabili di HBV *wild type* e di uno o più mutanti HBe minus (13). In ragione della eterogeneità della infezione, anche la evoluzione naturale della malattia da HBV HBeAg negativa è abbastanza variabile (13,37). La probabilità di clearance spontanea di HBsAg in questi soggetti è dello 0.5% per anno, mentre in media il 10% per anno diventano HBV-DNA negativi con tests a bassa sensibilità (13,37,121-126) (evidenza di grado B). Va sottolineato comunque che una parte non trascurabile della popolazione dei soggetti HBeAg negativi, HBV-DNA positivi hanno livelli di viremia ampiamente fluttuanti, che per lunghi periodi li portano ad essere al di sotto della soglia di rilevabilità delle metodiche non PCR (13,34,126). La presenza di viremia apparentemente intermittente è correlata a decorso di malattia più lieve, con una progressione istologica della fibrosi di 0.08 unità METAVIR per anno, contro lo 0.20-0.38 delle forme a viremia continuativa (13,34,126) (evidenza di grado C). In questi pazienti la valutazione della indicazione terapeutica è particolarmente difficile, data la assenza per lunghi periodi di viremia a livelli significativi ( $>10^5$  copie/ml), che rende difficile valutare la risposta al trattamento.

##### *4.b.1 Terapia con IFN:*

Sono disponibili quattro RCTs (121-124) (evidenza di grado B), che hanno arruolato un totale di 84 pazienti trattati e 86 non trattati. La analisi dei dati *pooled* di questi studi mostra, a 12 mesi dalla fine della terapia, una percentuale di negativizzazione dell'HBV-DNA (in dot-blot) del 28% (vs 10% controlli), di normalizzazione di ALT del 29% (vs 6.4% controlli) e di *clearance* di HBsAg del 2.5% (vs 0% controlli). Una analisi più dettagliata degli RCTs (fig. 3) mostra tuttavia una marcata eterogeneità dei risultati, imputabile in parte anche alla piccola dimensione campionaria di ognuno degli studi. Una revisione di dati da altri studi (125-130,133) (evidenza di grado C) mostra tuttavia in 651 pazienti risultati sostanzialmente analoghi, e cioè una risposta sostenuta a 12 mesi per ALT del 25% e per HBV-DNA del 22%. Il problema maggiore del trattamento con IFN di questi pazienti rimane quindi la elevata percentuale di recidiva post-trattamento.

Uno studio recente (131) su 216 pazienti trattati per 5 o 12 mesi con IFN 3 MU tiw, mostrava a 7 anni di follow up una risposta sostenuta biochimica e virologica nel 18.1% dei pazienti trattati per la prima volta, ed inoltre una risposta sostenuta al ritrattamento del 18.4% in pazienti in recidiva dopo la fine del primo ciclo. La risposta al trattamento era più frequente nei soggetti trattati più a lungo ed in quelli che negativizzavano l'HBV-DNA entro i primi 4 mesi di terapia. Globalmente il 32% dei soggetti con risposta sostenuta diventava HBsAg negativo a lungo termine (evidenza di grado C). La maggiore efficacia di un ciclo più lungo di terapia è confermata anche da altri studi (121,125,126,130). Un RCT (121) che compara 21 pazienti trattati con IFN 6 MU tiw per 24 mesi a 21 soggetti non trattati mostra una risposta sostenuta biochimica e virologica, a un follow up medio di 22 mesi, nel 38 vs 10% dei casi, con perdita di HBsAg nel 10% dei trattati. Vi era anche un significativo miglioramento del *grading* istologico nei pazienti trattati (evidenza di grado C). Va rilevato che il 24% dei soggetti trattati hanno interrotto prematuramente per intolleranza. Non è identificabile dalla analisi dei singoli studi alcun altro fattore predittivo di risposta sostenuta all'IFN nei pazienti HBeAg negativi (133).

L'importanza di una lunga durata del trattamento con IFN è sottolineata da un recente studio di coorte (132) (evidenza di grado C), in cui 101 pazienti con epatite cronica HBeAg negativa sono stati trattati con alfa2b IFN 6 MU tiw per 24 mesi. Nell'arco di un follow-up medio di 68 mesi, 30 pazienti (30%) avevano una risposta sostenuta dopo la sospensione di IFN (ALT normali e HBV-

DNA negativo in test non-PCR), e 15 sono divenuti HBsAg negativi. All'analisi multivariata, un'età più bassa e valori elevati di IgM anti-HBc erano predittivi di risposta sostenuta. Nessun soggetto con risposta sostenuta e il 22% dei nonresponders aveva una progressione di malattia; globalmente la sopravvivenza senza progressione di malattia a 8 anni era del 90% nei responders e del 60% nei non-responders, ma la sopravvivenza era eguale nei due gruppi (100% e 90%).

Anche nei pazienti HBeAg negativi, HBV-DNA positivi sono in corso RCTs di trattamento con IFN pegilato (133). Questi farmaci non hanno al momento attuale una registrazione che ne consenta l'impiego nelle epatiti da HBV.

Globalmente, si può calcolare che fra il 15 e il 32% dei pazienti HBeAg negativi, HBV-DNA positivi trattati con IFN ottengano una risposta biochimica e virologica sostenuta, e che fino al 40% dei responders a lungo termine perdano l'HBsAg positività (evidenza di grado B-C).

#### 4.b.2 *Eventi avversi da IFN:*

La terapia con IFN per il trattamento della malattia da HBV HBeAg negativa, HBV-DNA positiva è stata impiegata a dosaggi variabili fra 6 e 10 MU tre volte la settimana per tempi variabili fra 12 e 24 mesi. La valutazione della tolleranza dipende strettamente dalla schedula impiegata, con una maggiore percentuale di sospensione della terapia negli studi con alti dosaggi e/o con somministrazione prolungata (evidenza di grado C) (133).

Non è mai stata descritta la insorgenza di mutazioni specifiche che comportino una perdita di efficacia della terapia.

#### 4.b.3 *Influenza del trattamento con IFN sulla storia naturale della malattia HBeAg negativa:*

Anche nel caso della malattia da HBV HBeAg negativa alla risposta virologica e biochimica protratta si associa un miglioramento istologico della malattia epatica (121,122,126-128,131,132). Tale miglioramento consiste in tutti gli studi in una riduzione della attività necroinfiammatoria (*grading*), mentre il livello di fibrosi sembra esser significativamente influenzato dalla risposta alla terapia soltanto in alcuni degli studi che impiegano trattamento a lungo termine o ritrattamento (evidenza di grado C).

Il principale beneficio clinico che la terapia con IFN ottiene nella malattia HBeAg negativa è il contenimento della attività replicativa dell'HBV, con riduzione della entità della necroinfiammazione epatica. La eradicazione completa della infezione da HBV non è ottenibile nella maggioranza dei pazienti trattati, anche se fino al 50% dei responders a lungo termine eliminano l'HBsAg (132). Valgono anche in questo caso, riguardo alla permanenza di infezione occulta da HBV, le considerazioni fatte per la malattia HBeAg positiva.

Uno studio di coorte (127), in cui vengono esaminati nell'arco di un follow-up medio di 6 (1-13,5) anni 209 pazienti HBeAg negativi trattati con IFN (di cui 57 ottenevano una remissione sostenuta) e 195 non trattati, mostra una sopravvivenza media più lunga ed una minore incidenza di complicanze di malattia nei responders sia rispetto ai non responders che ai soggetti non trattati. Va sottolineato che la tipologia dello studio, retrospettivo e non randomizzato, genera delle differenze *a priori* nei vari gruppi di pazienti, che potrebbero inficiare le conclusioni (evidenza di grado C). Risultati simili vengono raggiunti in un altro studio di coorte (4).

#### 4.b.4 *Terapia con lamivudina:*

L'efficacia del trattamento con lamivudina nei pazienti HBeAg negativi è stato rivisto recentemente (134). La terapia con lamivudina in questo contesto clinico è stata valutata in alcuni studi controllati e non controllati (135-141) (evidenza di grado B-C). Il numero degli studi e dei pazienti in essi arruolati è minore rispetto a quanto disponibile per la malattia HBeAg positiva. L'end-point considerato in questi studi è stato sempre la normalizzazione di ALT associata a scomparsa di HBV-

DNA dal siero con tests non-PCR. Nel più grande degli RCTs sono stati arruolati 125 pazienti, 60 trattati con lamivudina per 52 settimane e 65 seguiti senza trattamento attivo per 24 settimane. A 24 settimane, i pazienti trattati con lamivudina presentavano una maggiore frequenza di HBV-DNA negatività rispetto ai controlli (63 vs 6%). A 52 settimane di terapia il 60% dei pazienti trattati presentava un miglioramento istologico. Dei 54 pazienti che hanno completato un anno di lamivudina, il 65% era divenuto HBV-DNA negativo in test non-PCR ed il 39% era HBV-DNA negativo in PCR. Lo studio non presenta tuttavia direttamente dati di follow-up in termini di risposta sostenuta, e non sono chiare le modalità di prosecuzione del trattamento dopo la fine del trial (evidenza di grado C). La percentuale globale di risposta a fine terapia riportata negli altri studi (134, 136-141) per periodi di terapia fra 24 e 52 settimane è attorno al 70%. Tuttavia fino al 90% dei pazienti avevano una recidiva (134,140,141) alla sospensione della terapia. Va rilevato che la recidiva di ALT e viremia, anche se per solito associata alla comparsa di mutazione YMDD, non sempre è associata ad essa.

Una recente analisi (142) di pazienti HBeAg negativi, in parte provenienti da RCT (135) e in parte da altri studi, mantenuti in trattamento a lungo termine mostra (evidenza di grado C):

- al *baseline* (dopo 6 mesi di terapia con lamivudina) (74 pazienti): HBV-DNA negativo 22%, ALT normali 15%, presenza di mutanti YMDD 5%
- a 1 anno (73 pazienti): HBV-DNA negativo 66%, ALT normali 65%, presenza di mutanti YMDD 39%
- a 2 anni (68 pazienti): HBV-DNA negativo 47%, ALT normali 43%, presenza di mutanti YMDD 55%
- a 3 anni (14 pazienti): HBV-DNA negativo 64%, ALT normali 33%, presenza di mutanti YMDD 57%

#### 4.b.5 Eventi avversi da lamivudina:

Anche in questi pazienti la lamivudina ha una elevata tollerabilità soggettiva. La frequenza degli eventi avversi extraepatici riportata nei pazienti trattati in un RCT è comparabile a quella dei controlli non trattati (134,135) (evidenza di grado B).

Alla comparsa di mutanti da lamivudina si possono associare *flares* di malattia, come nei pazienti HBeAg positivi. E' stata inoltre sporadicamente descritta la ricomparsa di HBV *wild type* dopo soppressione del virus HBe minus (142).

Il trattamento con la combinazione di IFN e lamivudina non sembra avere effetti maggiori, in termini di mantenimento della risposta, rispetto alla sola lamivudina (143,144,145). Va però segnalata che, con i limiti di casistiche non ampie e di un trattamento non prolungato, non è stata mai osservata la comparsa di mutanti YMDD in corso di terapia di combinazione (144,145) (evidenza di grado C). Se confermato da studi più ampi e controllati, ciò può avere rilevanza clinica.

#### 4.b.6 Gestione della terapia a lungo termine e influenza del trattamento con lamivudina sulla storia naturale della malattia HBeAg negativa:

Non sono disponibili dati a lungo termine sulla efficacia del trattamento con lamivudina nel prevenire la evoluzione della malattia HBeAg negativa, anche se uno studio (142) evidenzia la presenza di un miglioramento istologico nei trattati a lungo termine.

Non vi sono elementi su cui basare una indicazione al trattamento a lungo termine. La utilità di una protratta soppressione della replicazione virale e per conseguenza della necroinfiammazione epatica va bilanciata con il rischio di comparsa di mutazioni YMDD, che i vari studi stimano significativa, anche se variabile (da 0% al 27% a 1 anno, dal 10% al 56% a 2 anni) (evidenza di grado C).



#### *4.b.7 Terapia con adefovir dipivoxil:*

Un recente studio multicentrico (146) ha valutato l'efficacia e la sicurezza di ADF 10 mg/die in 185 pazienti con epatite cronica da HBV HBeAg negativa, HBV-DNA positiva (farmaco vs. placebo 2:1), valutando come end-point primario il miglioramento istologico. A 48 settimane di terapia, il 64% dei pazienti trattati aveva un miglioramento istologico, contro il 33% dei non trattati. L'HBV-DNA si era ridotto a valori  $< 400$  copie/ml nel 51% dei trattati (riduzione mediana HBV-DNA  $3.91 \log_{10}$  copie/ml) ed in nessuno dei non trattati (riduzione mediana HBV-DNA  $1.35 \log_{10}$  copie/ml), mentre i valori di ALT erano divenuti normali nel 72% dei trattati e nel 29% dei controlli. Anche in questo caso nell'arco delle 48 settimane non sono state osservate mutazioni da resistenza ad ADF. Nella continuazione di questo studio (147) 80 pazienti già trattati per 48 settimane hanno proseguito il trattamento con ADF 10 mg/die fino a 96 settimane, e ripetuto una biopsia epatica a questo punto. A 96 settimane, il 71% dei pazienti era HBV-DNA negativo ( $< 1.000$  copie/ml), il 75% aveva ALT normali e il 79% aveva avuto un miglioramento istologico. Una mutazione da resistenza all'ADF (N236T) si era sviluppata nel 2.5% dei pazienti.

#### **4.c cirrosi avanzata e/o scompensata, HBV-DNA positivo (>10<sup>5</sup> copie/ml)**

Nei pazienti con cirrosi da HBV in classe A di Child l'IFN è efficace come nella epatite cronica non cirrotica ed è accettabilmente ben tollerato, con una frequenza di scompenso inferiore all'1% (48-50) (evidenza di grado A). Gli studi di trattamento con IFN dei pazienti con cirrosi da HBV in classe B o C di Child con replicazione virale (148,149,150) mostrano che, pur essendo possibile ottenere occasionalmente una sieroconversione HBeAg→anti-HBe ed una normalizzazione di ALT, la frequenza di effetti collaterali, in particolare infezioni gravi e peggioramenti della epatopatia, è assai elevate anche con bassi dosaggi di IFN (evidenza di grado C). Ciò rende l'IFN un trattamento inaccettabile per questi pazienti.

L'uso della lamivudina in pazienti con cirrosi epatica (150) avanzata e/o scompensata, molti dei quali in attesa di trapianto epatico, è stata valutata in alcuni studi di coorte (151-157) (evidenza di grado C). In questo contesto il trattamento è ben tollerato e risulta in un miglioramento clinico a breve termine in un numero significativo di pazienti. Una sintesi degli studi più significativi è riportata in tab. 6. In tutti gli studi, su un arco di follow-up non superiore a 20 mesi, viene riportata una elevata efficacia in termini di inibizione dell'HBV-DNA e, in alcuni casi di perdita dell'HBeAg. La mortalità globale rimane tuttavia elevata a fine follow up. In uno di questi studi (154), su 35 pazienti (25 Child B, 10 Child C), 22 pazienti ottenevano un significativo miglioramento clinico entro sei mesi di terapia, ma 7 progredivano verso la necessità di un trapianto e 5 morivano entro il primi sei mesi. L'unico studio dotato di un gruppo di controllo, tuttavia retrospettivo (155), mostra, oltre ad una riduzione dello score di Child-Pugh nel 61% dei trattati ed in nessuno dei controlli, una minore necessità di trapianto sotto trattamento (35% vs. 74%) e inoltre, con la esclusione dei soggetti trapiantati, nessuna morte fra i soggetti trattati e 6 morti fra i controlli (evidenza di grado C). La piccola dimensione di questo studio e il disegno retrospettivo rendono difficile generalizzarne le conclusioni. In quasi tutte le casistiche è stata riportata, dopo i primi sei mesi di terapia, la comparsa di mutanti YMDD. In alcuni casi alla comparsa del mutante si sono associate riesacerbazioni letali della epatopatia (158,159).

Il problema della comparsa di mutanti sotto lamivudina è di grande rilevanza pratica nei pazienti con cirrosi avanzata, sia per la elevata probabilità di scompenso in caso di *flare* epatitico, sia per la difficoltà al trapianto che consegue alla riattivazione virale.

Dati di follow-up a più lungo termine sono stati recentemente riportati in casistiche italiane (160,161).

Dal cumulo delle due casistiche, su un totale di 80 pazienti (64 anti-HBe ed HBV-DNA positivi) seguiti sotto lamivudina per una media di oltre 20 mesi (range 5-42 mesi) 21 (26%) sviluppavano una mutazione YMDD. Il miglioramento clinico ottenuto dalla lamivudina scompariva in questi soggetti alla comparsa del mutante. Nell'arco del periodo di osservazione riportato 11 pazienti hanno sviluppato un epatocarcinoma, 5 sono stati trapiantati e 7 sono morti (evidenza di grado C). Il trattamento non sembra quindi influenzare significativamente la prognosi a lungo termine di molti fra questi pazienti. I dati di una inchiesta cooperativa AISF, tuttora in corso, confermano queste tendenze.

#### **4.d trapianto epatico in soggetto con malattia da HBV (profilassi pre- e post-trapianto della reinfezione; terapia della reinfezione post-trapianto)**

Per la gestione di queste problematiche si rimanda al documento AISF: Linee guida sul trapianto epatico, ed alla Consensus Conference EASL (162,163).

#### **4.e paziente HBsAg positivo immunosoppresso (profilassi della riattivazione; terapia della riattivazione)**

La riattivazione di HBV da immunosoppressione → immunoricostituzione (164) in corso di chemioterapia (165-167) o, in genere di immunosoppressione iatrogena o indotta da infezione da HIV (168), è un evento frequente e clinicamente importante, data la elevata incidenza di *flares* epatitici, spesso letali, al momento della immunoricostituzione. Non va trascurata anche la possibilità che modificatori di risposta biologica ad uso terapeutico (rituximab, infliximab) possano dare riattivazione epatitica (169-172). La riattivazione di una infezione da HBV è anche possibile in pazienti HBsAg sieronegativi (più frequentemente nei soggetti anti-HBc ± anti-HBs positivi) con infezione HBV “occulta” (173).

Il trattamento con lamivudina 100 mg/die è in grado sia di prevenire la riattivazione di HBV (174-177) (evidenza di grado B) che di ridurre rapidamente la replicazione virale ed il conseguente danno necroinfiammatorio in pazienti in riattivazione (178-180) (evidenza di grado B). Nei soggetti immunosoppressi con riattivazione da HBV il trattamento con IFN è controindicato sia per la patologia di base che per l’elevato rischio di indurre un ulteriore aggravamento del *flare* epatitico. Lo status sierologico di ogni paziente che debba iniziare chemioterapia o immunosoppressione terapeutica per periodi non brevi andrebbe quindi controllata preliminarmente.

Nei pazienti HBsAg positivi, sia con ALT normali che con ALT anormali, qualunque sia il livello di HBV-DNA, il trattamento con lamivudina (100 mg/die) va iniziato contestualmente alla chemioterapia o al trattamento immunosoppressivo, mantenuto per tutta la durata degli stessi e sospeso almeno tre mesi dopo la fine del trattamento concomitante (evidenza di grado C).

Nei pazienti HBsAg positivi, HBV-DNA positivi sotto chemioterapia o immunosoppressione il trattamento con lamivudina (100 mg/die) va iniziato immediatamente, qualunque sia il livello delle transaminasi, mantenuto per tutta la durata della stessa e sospeso almeno tre mesi dopo la fine del trattamento concomitante (evidenza di grado C) o dopo 1 mese in caso di inefficacia (181).

#### **4.f epatopatia cronica da infezione HBV/HDV**

La prevalenza della coinfezione da HBV/HDV è attualmente in netto declino in Italia (7,182). I casi attualmente presenti nella popolazione sono nella quasi totalità soggetti con coinfezione di vecchia data, a decorso poco evolutivo, o pazienti con cirrosi avanzata. Ambedue queste situazioni cliniche non costituiscono indicazione al trattamento. I casi ad infezione recente ed i nuovi casi incidenti sono quasi esclusivamente rappresentati da soggetti tossicodipendenti, in molti casi con coinfezione da HCV e da HIV. Anche in questo caso la indicazione al trattamento è marginale.

Non vi sono ad oggi chiare evidenze di beneficio del trattamento con IFN (182,183). Il trattamento può essere considerato (evidenza grado C) in pazienti con malattia attiva e preferibilmente con infezione recente, in presenza di positività per anti-HDV/IgM e/o HDAg su tessuto e/o HDV RNA nel siero; gli ultimi due sono tests non commerciali. Il dosaggio da impiegare è di 6-9 MU a giorni alterni. La efficacia del trattamento va rivalutata a 6 mesi, sospendendo la terapia se i valori di ALT non si sono ridotti significativamente. Non vi sono dati per indicare la durata della terapia a lungo termine nei pazienti con risposta biochimica. Va comunque considerata la scarsa tollerabilità di trattamento protratti con alte dosi di IFN.

La lamivudina, sia in monoterapia (184) che in combinazione all'IFN ad alte dosi (185) è del tutto inefficace nella coinfezione HBV/HDV (evidenza di grado C). Anche il famciclovir (186) non sembra avere alcune effetto sull'HDV.

La persistente presenza di replicazione di HBV (HBV-DNA  $>10^5$  copie) costituisce per se eventuale indicazione al trattamento antivirale, indipendentemente dalla presenza di infezione HDV.

#### **4.g epatopatia cronica da infezione HCV/HBV**

In Italia, in media il 7% dei pazienti con infezione cronica da HBV presentano una coinfezione HCV (187), con frequenza del 14% per età superiori ai 50 anni. In presenza di una doppia infezione la malattia epatica è usualmente attiva, ed il rischio di epatocarcinoma elevato. In questi soggetti la replicazione di HBV è usualmente soppressa (188), e la malattia sembra essere sostenuta principalmente dalla replicazione di HCV. Gli studi di trattamento in questi pazienti non sono numerosi (189-194), sono condotti su casistiche non ampie di pazienti con infezione da HBV inattiva e prendono in esame solo la monoterapia con IFN (evidenza di grado C), tranne in un caso (194) in cui però la terapia di combinazione è utilizzata per soli sei mesi in pazienti con HCV genotipo 1. In tutti la efficacia riportata, in termini di risposta biochimica e virologica (per l'HCV) sembra minore che nei soggetti con infezione da HCV isolata. Uno studio (193) in 30 pazienti, che compara 6 vs 9 MU di IFN tre volte la settimana per sei mesi, mostra che 5/15 pazienti trattati con 9 MU, ma nessuno dei 15 trattati con 6 MU, hanno negativizzato l'HCV RNA e, quando rilevabile in PCR, l'HBV-DNA con normalizzazione sostenuta delle ALT. Nei soggetti responders vi era anche un miglioramento della istologia post-trattamento e la assenza di sviluppo di cirrosi (evidenza di grado C).

Non vi sono evidenze sufficienti ad indicare la schedula ottimale di trattamento in questi pazienti, anche se è comunque necessaria la associazione dell'IFN con la ribavirina per ottenere una adeguata percentuale di risposta della malattia da HCV.

#### ***4.h epatopatia cronica HBV-DNA positiva in paziente con infezione da HIV***

La lunga sopravvivenza dei pazienti con malattia da HIV trattati con terapia antiretrovirale di combinazione ad alta efficacia (HAART) rende clinicamente rilevante il problema della infezione da HBV. Attualmente la cirrosi scompensata è responsabile di più di un terzo dei decessi osservati in pazienti HIV positivi ed in questi pazienti costituisce la seconda causa di morte dopo l'AIDS (195) (evidenza di grado A). Circa l'8-10% dei sieropositivi in Italia è HBsAg positivo e la coinfezione da HBV, dopo la coinfezione da HCV ed insieme all'abuso di alcool ed alla tossicità da farmaci, è alla base di questa elevata mortalità per epatopatia (196) (evidenza di grado A).

##### *4.h.1 Impatto della coinfezione da HBV sulla malattia da HIV*

La infezione da HBV è stata associata in 3 studi su 8 a un rischio significativo di citolisi epatica grave in corso di terapia antiretrovirale indipendentemente da altri fattori (197-199) (evidenza di grado A). Inoltre la ricostituzione del sistema immunitario in corso di HAART è stata associata a riattivazione dell'epatite B in soggetti con immunodeficit indotto da HIV (200) (evidenza di grado B).

##### *4.h.2 Impatto della infezione da HIV sull'epatite da HBV*

La infezione da HIV, in relazione alla deplezione di CD4, modifica alcune caratteristiche della storia naturale della infezione da HBV, aumentandone il tasso di cronicizzazione, riducendo l'incidenza annua di sieroconversione HBe→anti-HBe ed HBsAg→anti-HBs, e infine determinando livelli di HBV-DNA più elevati anche in presenza di infezioni da HCV e HDV (201) (evidenza di grado A). Nel paziente HIV positivo con epatite da HBV possono essere presenti diversi fattori che concorrono al determinismo del danno epatico: coinfezioni da HDV e HCV, abuso alcolico, tossicità da farmaci ed in particolare da antiretrovirali, coinvolgimento del fegato da parte di tumori ed infezioni HIV correlate (196). Per questo motivo non è stato mai possibile valutare in maniera conclusiva se la infezione da HIV abbia un impatto peggiorativo sulla storia naturale dell'epatite da HBV indipendentemente da questi cofattori.

##### *4.h.3 Indicazioni al trattamento dell'epatite da HBV nel paziente HIV positivo*

Non esistono studi prospettici che dimostrino che la terapia dell'infezione da HBV modifichi la sopravvivenza totale o la sopravvivenza libera da cirrosi scompensata o HCC in pazienti HIV positivi con epatite B. Comunque una infezione da HBV che determini danno epatico rilevante in un paziente HIV positivo è ragionevolmente meritevole di trattamento così come le altre eventuali cause concomitanti di danno epatico (evidenza di grado C). La biopsia epatica insieme ad una valutazione clinica, virologica e biochimica complessiva è utile per definire in maniera attendibile il ruolo giocato dall'infezione da HBV nel determinismo del danno epatico di un paziente HIV positivo (evidenza di grado B). Data la mancanza di una evidenza clinica derivante da studi controllati sull'efficacia dei vari schemi di terapia, sarebbe opportuno trattare i pazienti con epatite B HIV positivi nell'ambito di studi controllati. Comunque i pazienti con danno epatico da HBV e con attività necroinfiammatoria moderata-severa e fibrosi importante F3-F4 secondo METAVIR o Knodell possono essere sottoposti a terapia anti-HBV anche al di fuori di studi clinici controllati (evidenza di grado C).

##### *4.h.4 Terapia con interferone*

I dati sull'efficacia della terapia con interferone nei pazienti anti-HIV positivi derivano per lo più da studi compiuti in era precedente l'impiego della terapia antiretrovirale di combinazione, nella maggior parte dei quali i pazienti HIV positivi erano stati inclusi perché il test anticorpale non era ancora disponibile (202-204). Tuttavia l'analisi di questi dati consente di affermare che la per-

centuale di sieroconversioni HBeAg→anti-HBe in questi pazienti è risultata superiore a quella osservata nei pazienti non trattati o trattati con placebo (pooled rate difference +0.08 95% CI 0.067-0.23) anche se nettamente inferiore a quella osservata nei pazienti HIV negativi (OR 0.38 95% CI 0.06-0.7) (evidenza di grado B). Molti dei pazienti anti-HIV positivi inclusi in questi protocolli presentavano transaminasi nella norma e quindi non è possibile definire se tale riduzione di efficacia sia correlabile esclusivamente all'infezione da HIV indipendentemente dallo stato del sistema immunitario e dall'attività necroinfiammatoria. Pertanto si può concludere che, in un paziente con CD4 superiori a 500 e con transaminasi elevate, le indicazioni alla terapia con interferone rimangono le stesse poste in precedenza per i pazienti HIV negativi (evidenza di grado B), fatta salva una valutazione delle possibili tossicità derivanti dall'eventuale combinazione dell'interferone con una terapia antiretrovirale. Naturalmente il monitoraggio di alcuni parametri (conta dei neutrofili e piastrine, trigliceridi, funzione epatica) deve essere più attento nei pazienti che assumono HAART ed interferone (evidenza di grado B). Il trattamento con interferone è controindicato nei soggetti con riattivazione di epatite B secondaria ad immunoricostruzione (evidenza di grado C).

#### 4.h.5 Terapia con lamivudina

Per quanto riguarda la lamivudina occorre tenere presente il suo ruolo come antiretrovirale e la possibile insorgenza di ceppi virali mutati resistenti non solo per HBV ma anche per HIV (205) (evidenza di grado A). Per questo motivo la lamivudina va somministrata alla dose di 150 mg due volte al giorno e non in monoterapia, ma nel contesto di una terapia antiretrovirale di combinazione seguendo le stesse indicazioni riportate in precedenza per i pazienti anti HIV negativi (evidenza di grado A).

Presto sarà disponibile anche in Italia il tenofovir che inibisce la replicazione di HIV ed HBV, sia wild type che con mutazioni correlate a resistenza a lamivudina (206). Per queste caratteristiche nel prossimo futuro potrebbe essere valutata anche l'indicazione a una terapia di combinazione tra lamivudina e tenofovir nei pazienti HIV positivi con epatite cronica da HBV clinicamente significativa (evidenza di grado C).

#### 4.h.6 Comparsa di resistenza alla lamivudina dell'HBV in soggetti coinfezati da HBV e HIV

In corso di terapia con lamivudina, in caso di insorgenza di ceppi di HBV con mutazioni correlate a resistenza accompagnata da incremento dei livelli di HBV-DNA, il farmaco può essere continuato se persiste beneficio sulla citolisi e sulla funzione epatica (207). L'aggiunta di un secondo antivirale come l'adefovir (208) (evidenza di grado B) o il tenofovir o ancora l'interferone (evidenza di grado C) deve essere valutata come opzione nei singoli casi, tenendo ben presente la necessità di monitorare accuratamente l'eventuale tossicità del nuovo farmaco, le sue interazioni con altri farmaci e l'efficacia della concomitante terapia antiretrovirale.

#### 4.h.7 Comparsa di resistenza alla lamivudina dell'HIV in soggetti HBsAg positivi

In un paziente HBsAg positivo HIV positivo che assume un regime di terapia antiretrovirale comprendente la lamivudina e che abbia un buon controllo della malattia epatica può esservi la necessità di sospendere la lamivudina in ragione della sua perdita di efficacia come farmaco anti-HIV. Prima di sospendere la lamivudina occorre valutare lo stadio dell'epatopatia precedente l'inizio del trattamento antiretrovirale ed eventualmente mantenere la lamivudina in aggiunta al nuovo regime di terapia antiretrovirale nei casi di malattia da HBV avanzata (evidenza di grado C). Comunque dopo la sospensione della lamivudina in tutti i pazienti HBsAg positivi occorre monitorare per almeno 6 mesi l'andamento degli enzimi e della funzione epatica, per identificare e trattare precocemente eventuali riattivazioni che potrebbero essere gravi (208) (evidenza di grado B). Il trattamento con interferone di queste riattivazioni è controindicato.

## Bibliografia

1. Stroffolini T, Mele A, Tosti ME, Gallo G, Balocchini E, Ragni P, Santonastasi F, Marzolini A, Ciccozzi M, Moiraghi A. The impact of the hepatitis B mass immunisation campaign on the incidence and risk factors of acute hepatitis B in Italy. *J Hepatol* 2000, 33:1009-11.
2. Tosti ME, Solinas S, Prati D, Salvaneschi L, Manca M, Francesconi M, Ciuffreda M, Girelli G, Mele A. An estimate of the current risk of transmitting blood-borne infections through blood transfusion in Italy. *Br J Haematol*. 2002;117:215-9.
3. Bellentani S, Tiribelli C. The spectrum of liver disease in the general population: lesson from the Dionysos study. *J Hepatol* 2001, 35: 531-537.
4. Di Marco V, Lo Iacono O, Cammà C, Vaccaro A, Giunta M, Martorana G, Fuschi O, Almasio PL, Craxì A. The long term course of chronic hepatitis B. *Hepatology* 1999; 30: 257-64.
5. Epidemiology of hepatitis B in Europe and worldwide. Alter MJ. *J Hepatol* 2003; 39:S64-S69.
6. Burra P, Smedile A, Angelico M, Ascione A, Rizzetto M. Liver transplantation in Italy: current status. Study Group on Liver Transplantation of the Italian Association for the Study of the Liver (A.I.S.F.). *Dig Liver Dis* 2000, 32:249-56.
7. Gaeta GB, Stroffolini T, Chiaramonte M, Ascione T, Stornaiuolo G, Lobello S, Sagnelli E, Brunetto MR, Rizzetto M. Chronic hepatitis D: a vanishing Disease? An Italian multicenter study. *Hepatology* 2000, 32:824-7.
8. Locarnini S, McMillan J, Bartholomeusz A. The hepatitis B virus and common mutants. *Semin Liver Dis*. 2003 Feb; 23(1): 5-20.
9. Pawlotsky JM. Hepatitis B virus (HBV) DNA assays (methods and practical use) and viral kinetics. *J Hepatol* 2003; 39:S31-S35.
10. Zoulim F, Trepo C. Drug therapy for chronic hepatitis B: antiviral efficacy and influence of hepatitis B virus polymerase mutations on the outcome of therapy. *J Hepatol* 1998, 29:151-68.
11. Zoulim F. Hepatitis B virus resistance to antivirals: clinical implications and management. *J Hepatol* 2003; 39: S133-S138
12. Okamoto H, Tsuda F, Akahane Y, Sugai Y, Yoshida M, Moriyama K, Tanaka T, 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, 68:8102-8110.
13. Hadziyannis S, Vassilopoulos D. Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis. *Hepatology* 2001, 34: 617-624.
14. Lindh M, Andersson AS, 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;175:1285-1293.
15. Chu CJ, Keeffe EB, Han SH, Perrillo RP, Min AD, Soldevila-Pico C, Carey W, Brown RS Jr, Luketic VA, Terrault N, Lok AS. Hepatitis B virus genotypes in the United States: results of a nationwide study. *Gastroenterology*. 2003; 125: 444-51
16. Buckwold VE, Xu Z, Chen M, Yen TS, Ou JH. Effects of a naturally occurring mutation in the hepatitis B virus basal core promoter on precore gene expression and viral replication. *J Virol* 1996;70:5845-5851.
17. Carman WF, Thomas HC, Domingo E. Viral genetic variation: hepatitis B virus a a clinical example. *Lancet* 1993, 341:349-353.
18. Deng H, Dong J, Cheng J, Huangfu KJ, Shi SS, Hong Y, Ren XM, Li L. Quasispecies groups in the core promoter region of hepatitis B virus. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2002; 1: 392-6.
19. Brunetto MR, Giarin M, Oliveri F, et al "e" antigen defective hepatitis B virus and course of chronic infection. *J Hepatol* 1991; 13 (Suppl 4):S82-S86.
20. Gerken G, Gomes J, Lampertico P, Colombo M, Rothaar T, Trippler M, Colucci G. Clinical evaluation and applications of the Amplicor HBV Monitor test, a quantitative HBV DNA PCR assay. *J Virol Methods* 1998, 74:155-65.
21. Raimondo G, Pollicino T, Squadrito G. Clinical virology of hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2003; 39:S26-S31.
22. Kessler HH, Preininger S, Stelzl E, Daghofer E, Santner BI, Marth E, Lackner H, Stauber RE. Identification of different states of hepatitis B virus infection with a quantitative PCR assay. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000, 7:298-300.
23. Jardi R, Rodriguez F, Buti M, Costa X, Cotrina M, Valdes A, Galimany R, Esteban R, Guardia J. Quantitative detection of hepatitis B virus DNA in serum by a new rapid real-time fluorescence PCR assay. *J Viral Hepat* 2001, 8:465-71.

24. Gilbert N, Corden S, Ijaz S, Grant PR, Tedder RS, Boxall EH. Comparison of commercial assays for the quantification of HBV DNA load in health care workers: calibration differences. *J Virol Methods* 2002, 100:37-47.
25. Chan HL, Leung NW, Lau TC, Wong ML, Sung JJ. Comparison of three different sensitive assays for hepatitis B virus DNA in monitoring of responses to antiviral therapy. *J Clin Microbiol* 2000, 38:3205-8.
26. Loeb KR, Jerome KR, Goddard J, Huang M, Cent A, Corey L. High-throughput quantitative analysis of hepatitis B virus DNA in serum using the TaqMan fluorogenic detection system. *Hepatology* 2000, 32:626-9.
27. Pawlotsky JM, Bastie A, Hezode C, Lonjon I, Darthuy F, Remire J, Dhumeaux D. Routine detection and quantification of hepatitis B virus DNA in clinical laboratories: performance of three commercial assays. *J Virol Methods* 2000, 85:11-21.
28. Hwang SJ, Lu RH, Wood ML, Wang YJ, Chang FY, Lee SD. Comparison of the nucleic acid-based crosslinking hybridization assay and the branched DNA signal amplification assay in the quantitative measurement of serum hepatitis B virus DNA. *J Clin Lab Anal* 1999, 13:296-300.
29. Ho SK, Chan TM, Cheng IK, Lai KN. Comparison of the second-generation digene hybrid capture assay with the branched-DNA assay for measurement of hepatitis B virus DNA in serum. *J Clin Microbiol* 1999, 37:2461-5.
30. Saldanha J, Gerlich W, Lelie N, Dawson P, Heermann K, Heath A; The WHO Collaborative Study Group. An international collaborative study to establish a World Health Organization international standard for hepatitis B virus DNA nucleic acid amplification techniques. *Vox Sang* 2001, 80:63-71.
31. Colloredo G, Bellati G, Leandro G, Colombatto P, Rho A, Bissoli F, Brunetto MR, Angeli G, Ideo G, Bonino F. Quantitative analysis of IgM anti-HBc in chronic hepatitis B patients using a new "gray-zone" for the evaluation of "borderline" values. *J Hepatol.* 1996; 25: 644-8.
32. Brunetto MR, Oliveri F, Coco B, Leandro G, Colombatto P, Gorin JM, Bonino F. Outcome of anti-HBe positive chronic hepatitis B in alpha-interferon treated and untreated patients: a long term cohort study. *J Hepatol.* 2002 Feb; 36(2): 263-70.
33. Lok ASF, Heathcote EJ, Hoofnagle JH. Management of Hepatitis B: 2000. Summary of a Workshop. *Gastroenterology* 2001, 120:1828-1853.
34. Lok ASF, McMahon B. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2001, 34:1225-1241.
35. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, Villari D, de Franchis R, Santantonio T, Brancatelli S, Colucci G, Raimondo G. Quantification of intrahepatic hepatitis B virus (HBV) DNA in patients with chronic HBV infection. *Hepatology*, 2000; 31: 507-512.
36. Torbenson M, Thomas DL. Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis.* 2002; 2: 479-86.
37. Natural history of hepatitis B. Fattovich G. *J Hepatol* 2003; 39:S50-S58.
38. Fattovich G, Giustina G, Schalm SW, Hadziyannis S, Sanchez-Tapias J, Almasio P, Christensen E, Krogsgaard K, Degos F, Carneiro de Moura M, et al. Occurrence of hepatocellular carcinoma and decompensation in western European patients with cirrhosis type B. The EUROHEP Study Group on Hepatitis B Virus and Cirrhosis. *Hepatology* 1995, 21:77-82.
39. Weissberg JJ, Andres LL, Smith CI, Weick S, Nichols JE, Garcia G, Robinson WS, et al. Survival in chronic hepatitis B. An analysis of 379 patients. *Ann Intern Med* 1984, 101:613-616.
40. Guido M, Faa G. Morphological diagnosis of chronic hepatitis. Minimal requirements for histopathological referral. *Pathologica* 1998, 90:176-82.
41. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981, 1:431-435.
42. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, Denk H, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995, 22:696-699.
43. The French Metavir Cooperative Study Group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1994;20:15-20.
44. Grace ND, Groszmann RJ, Garcia-Tsao G, Burroughs AK, Pagliaro L, Makuch RW, Bosch J, Stiegmann GV, Henderson JM, de Franchis R, Wagner JL, Conn HO, Rodes J. Portal hypertension and variceal bleeding: an AASLD single topic symposium. *Hepatology* 1998, 28:868-80.
45. Krogsgaard K. The long-term effect of treatment with interferon-alpha 2a in chronic hepatitis B. The Long-Term Follow-up Investigator Group. The European Study Group on Viral Hepatitis (EUROHEP). Executive Team on Anti-Viral Treatment. *J Viral Hepat* 1998, 5:389-97.





46. Mazzella G, Saracco G, Festi D, Rosina F, Marchetto S, Jaboli F, Sostegni R, Pezzoli A, Azzaroli F, Cancellieri C, Montagnani M, Roda E, Rizzetto M. Long-term results with interferon therapy in chronic type B hepatitis: a prospective randomized trial. *Am J Gastroenterol* 1999, 94:2246-50.
47. Hoofnagle JH, Dusheiko GM, Seeff LB, Jones EA, Waggoner JG, Bales ZB. Seroconversion from hepatitis B e antigen to antibody in chronic type B hepatitis. *Ann Intern Med* 1981;94:744-748.
48. Alberti A, Pontisso P, Fattovich G, Schiavon E, Chemello L, Bortolotti F, Tremolada F, Realdi G. Changes in serum hepatitis B virus (HBV) DNA positivity in chronic HBV infection: results of a long-term follow-up study of 138 patients. *J Inf Dis* 1986;154:562-69.
49. Viola LA, Harrison IG, Coleman JC, Paradinal FJ, Fluker JL, Evans BA, Murray-Lyon IM. Natural history of liver disease in chronic hepatitis B surface antigen carriers: survey of 100 patients from Great Britain. *Lancet* 1981;2:1156-1159.
50. Liaw YF, Chu CM, Su IJ, Huang MJ, Lin, DY, Chang-Chien CS. Clinical and histological events preceding hepatitis B e antigen seroconversion in chronic type B hepatitis. *Gastroenterology* 1983;84:216-219.
51. Fattovich G, Rugge M, Brollo L, Pontisso P, Noventa F, Guido M, Alberti A, et al. Clinical, virologic and histologic outcome following seroconversion from HBeAg to anti-HBe in chronic hepatitis type B. *Hepatology* 1986;6:167-172.
52. Lok ASF, Lai CL, Wu PC, Leung EKY, Lam TS. Spontaneous hepatitis e antigen to antibody seroconversion and reversion in Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1987;92:1839-1843.
53. McMahon BJ, Holck P, Bulkow L, Snowball MM. Serologic and clinical outcomes of 1536 Alaska Natives chronically infected with hepatitis B virus. *Ann Int Med* 2001;135:759-768.
54. Yu MW, Hsu FC, Sheen IS, Chu CM, Lin DY, Chen CJ, Liaw YF. Prospective study of hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis in asymptomatic chronic hepatitis B virus carriers. *Am J Epidemiol* 1997;145:1039-1047.
55. Fattovich G, Brollo L, Giustina G, Noventa F, Pontisso P, Alberti A, Realdi G, et al. Natural history and prognostic factors for chronic hepatitis type B. *Gut* 1991;32:294-298. De Jongh FE, Janssen HLA, De Man FA, Hop WCJ, Schalm SW, Van Blankenstein. Survival and prognostic indicators in hepatitis B surface antigen-positive cirrhosis of the liver. *Gastroenterology* 1992;103:1630-1635.
56. Niederau C, Heintges T, Lange S, Goldman G, Niederau CM, Mohr L, Haussinger D. Long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with interferon alfa for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1996;334:1422-1427.
57. Fattovich G, Giustina G, Realdi G, Corrocher R, Schalm SW, and the European Concerted Action of Viral Hepatitis (EUROHEP). Long-term outcome of hepatitis B e antigen-positive patients with compensated cirrhosis treated with interferon alfa. *Hepatology* 1997;26:1338-1342.
58. Lin SM, Sheen IS, Chien RN, Chu CM, Liaw YF. Long-term beneficial effect of interferon therapy in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 1999;29:971-975.
59. Lau DT, Everhart J, Kleiner DE, Park Y, Vergalla J, Schmid P, Hoofnagle JH. Long-term follow-up of patients with chronic hepatitis B treated with interferon alfa. *Gastroenterology* 1997;113:1660-1667.
60. Tinè F, Liberati A, Craxì A, Almasio P, Pagliaro L. Interferon treatment in patients with chronic hepatitis B: a meta-analysis of the published literature. *J Hepatol* 1993, 18:154-62.
61. Wong DK, Cheung AM, O'Rourke K, Naylor CD, Detsky AS, Heathcote J. Effect of alpha-interferon treatment in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. A meta-analysis. *Ann Intern Med* 1993, 119:312-23.
62. Craxì A, Di Bona D, Cammà C. Interferon-a for HBeAg positive chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2003; 39:S99-S106.
63. Krogsgaard K, Bindslev N, Christensen E, Craxì A, Schlichting P, Schalm S, Carreno V, Trepo C, Gerken G, Thomas HC, et al. The treatment effect of alpha interferon in chronic hepatitis B is independent of pre-treatment variables. Results based on individual patient data from 10 clinical controlled trials. European Concerted Action on Viral Hepatitis (Eurohep). *J Hepatol* 1994, 21:646-55.
64. Janssen HL, Gerken G, Carreno V, Marcellin P, Naoumov NV, Craxì A, Ring-Larsen H, Kitis G, van Hattum J, de Vries RA, Michielsen PP, ten Kate FJ, Hop WC, Heijtkink RA, Honkoop P, Schalm SW. Interferon alfa for chronic hepatitis B infection: increased efficacy of prolonged treatment. The European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). *Hepatology* 1999, 30:238-43.
65. Cooksley WG, Piratvisuth T, Lee SD, Mahachai V, Chao YC, Tanwandee T, Chutaputti A, Chang WY, Zahm FE, Pluck N. Peginterferon alpha-2a (40 kDa): an advance in the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *J Viral Hepat.* 2003; 10: 298-305.

66. Cohard M, Poynard T, Mathurin P, Zarski JP. Prednisone-interferon combination in the treatment of chronic hepatitis B: direct and indirect metanalysis. *Hepatology* 1994, 20:1390-8.
67. Vajro P, Migliaro F, Fontanella A, Orso G. Interferon: a meta-analysis of published studies in pediatric chronic hepatitis B. *Acta Gastroenterol Belg* 1998, 61:219-23.
68. Torre D, Tambini R. Interferon-alpha therapy for chronic hepatitis B in children: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 1996, 23:131-7.
69. Carreno V, Marcellin P, Hadziyannis S, Salmeron J, Diago M, Kitis GE, Vafiadis I, et al. Retreatment of chronic hepatitis B e antigen-positive patients with recombinant interferon alfa-2a. The European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). *Hepatology* 1999, 30:277-282.
70. Wong JB, Koff RS, Tine F, Pauker SG. Cost-effectiveness of interferon-alpha 2b treatment for hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Ann Intern Med* 1995, 122:664-675.
71. Ngu SL, Hallet R, Teo CG. Natural and iatrogenic variation in hepatitis B virus. *Rev Med Virol* 1999, 9:183-209.
72. Li W, Ikematsu H, Yamaji TK, Chong Y, Hayashi J, Kashiwagi S. Hepatitis B virus genomes of chronic hepatitis patients do not contain specific mutations related to acute exacerbation. *Dig Dis Sci* 2001, 46:2104-12.
73. Yuen MF, Hui CK, Cheng CC, Wu CH, Lai YP, Lai CL. Long-term follow-up of interferon alfa treatment in Chinese patients with chronic hepatitis B infection: The effect on hepatitis B e antigen seroconversion and the development of cirrhosis-related complications. *Hepatology* 2001, 34:139-45.
74. Talbodec N, Lorient MA, Gigou M, Guignon V, Boyer N, Bezeaud A, Erlinger S, Benhamou JP, Marcellin P. Hepatitis B virus precore mutations and HBeAg negative reactivation of chronic hepatitis B after interferon therapy. *Liver* 1995, 15:93-8.
75. Fong TL, Di Bisceglie AM, Gerber MA, Waggoner JG, Hoofnagle JH. Persistence of hepatitis B virus DNA in the liver after loss of HBsAg in chronic hepatitis B. *Hepatology* 1993, 18:1313-1318.
76. Raimondo G. Occult hepatitis B virus infection and liver disease: fact or fiction? *J Hepatol* 2001, 34:471-3.
77. Cammà C, Giunta M, Andreone P, Craxi A. Interferon and prevention of hepatocellular carcinoma in viral cirrhosis: an evidence-based approach. *J Hepatol* 2001, 34:593-602.
78. Dienstag JL, Schiff ER, Wright TL, Perrillo RP, Hann HW, Goodman Z, Crowther L, et al. Lamivudine as Initial Treatment for Chronic Hepatitis B in the United States. *N Engl J Med* 1999, 341:1256-1263.
79. Schalm SW, Heathcote J, Cianciara J, Farrell G, Sherman M, Willems B, Dhillon A, et al. Lamivudine and alpha interferon combination treatment of patients with chronic hepatitis B infection: a randomised trial. *Gut* 2000, 46:562-568.
80. Lai CL, Chien RN, Leung NW, Chang TT, Guan R, Tai DI, Ng KY, et al. A one-year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. *N Engl J Med* 1998, 339:61-68.
81. Schiff ER, Dienstag JL, Karayalcin S, Grimm IS, Perrillo RP, Husa P, de Man RA, Goodman Z, Condreay LD, Crowther LM, Woessner MA, McPhillips PJ, Brown NA; International Lamivudine Investigator Group. Lamivudine and 24 weeks of lamivudine/interferon combination therapy for hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B in interferon nonresponders. *J Hepatol* 2003; 38: 818-26.
82. Heathcote J. Results of lamivudine therapy for HBeAg positive hepatitis (in the West). *J Hepatol* 2003; 39:S106-S110.
83. Liaw Y-F. Results of lamivudine trials in Asia. *J Hepatol* 2003; 39:S111-115.
84. Dienstag JL, Schiff ER, Mitchell M, Casey DE Jr, Gitlin N, Lissos T, Gelb LD, Condreay L, Crowther L, Rubin M, Brown N. Extended lamivudine retreatment for chronic hepatitis B: maintenance of viral suppression after discontinuation of therapy. *Hepatology* 1999, 30:1082-7.
85. Chien RN, Liaw YF, Atkins M. Pretherapy alanine transaminase level as a determinant for hepatitis B e antigen seroconversion during lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B. Asian Hepatitis Lamivudine Trial Group. *Hepatology* 1999, 30:770-774.
86. Perrillo RP, Schalm SW, Schiff ER, Brown NA, Woessner MA, Sullivan M. Predictors of HBsAg seroconversion in chronic hepatitis B patients treated with lamivudine (abstract). *Hepatology* 1999, 30:317A.
87. Liaw YF, Leung Nwy, Chang TT, Guan R, Tai DI, Ng KY, Chien RN, et al. Effects of extended lamivudine therapy in Asian patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2000, 119:172-180.
88. Leung Nwy, Lai CL, Chang TT, Guan R, Lee CM, Ng KY, Wu PC, et al. Extended lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B enhances hepatitis B e antigen seroconversion rates: results after 3 years of therapy. *Hepatology* 2001, 33:1527-1532.
89. Chang TT, Lai CL, Liaw YF, Guan R, Lim SG, Lee CM, Ng KY, et al. Incremental increases in HBeAg seroconversion and continued ALT normalization in Asian chronic HBV (CHB) patients treated with lamivudine for four years (abstract). *Antiviral Therapy* 2000;5(Suppl 1):44.

90. Sokal EM, Roberts EA, Mieli-Vergani G, McPhillips P, Johnson M, Barber J, Dallow N, Boxall E, Kelly D. A dose ranging study of the pharmacokinetics, safety, and preliminary efficacy of lamivudine in children and adolescents with chronic hepatitis B. *Antimicrob Agents Chemother* 2000, 44:590-7.
91. Jonas MM, Kelley DA, Mizerski J, Badia IB, Areias JA, Schwarz KB, Little NR, Greensmith MJ, Gardner SD, Bell MS, Sokal EM; International Pediatric Lamivudine Investigator Group. Clinical trial of lamivudine in children with chronic hepatitis B. *N Engl J Med*. 2002; 346: 1706-13.
92. Bortolotti F, Jara P, Crivellaro C, Hierro L, Cadrobbi P, Frauca E, Camarena C, De La Vega A, Diaz C, De Moliner L, Noventa F. Outcome of chronic hepatitis B in Caucasian children during a 20-year observation period. *J Hepatol* 1998, 29:184-90.
93. Bortolotti F, Jara P, Barbera C, Gregorio GV, Vegnente A, Zancan L, Hierro L, Crivellaro C, Vergani GM, Iorio R, Pace M, Con P, Gatta A. Long term effect of alpha interferon in children with chronic hepatitis B. *Gut* 2000, 46:715-8.200.
94. van Nunen AB, Hansen BE, Suh DJ, Lohr HF, Chemello L, Fontaine H, Heathcote J, Song BC, Janssen HL, de Man RA, Schalm SW. 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: 420-4.
95. Schiff ER, Cianciara J, Willems B, Karayalcin S, Brown NA, Woessner M, Marr CL, Gray F, Dienstag JL. Durability of HBeAg responses to lamivudine and interferon in the early post-treatment period in adults with chronic hepatitis B. *Hepatology* 32, 872, Part 2, 2000.
96. Song BC, Suh DJ, Lee HC, Chung YH, Lee YS. Hepatitis B e antigen seroconversion after lamivudine therapy is not durable in patients with chronic hepatitis B in Korea. *Hepatology* 2000, 32:803-806.
97. Kim JW, Lee HS, Woo GH, Yoon JH, Jang JJ, Chi JG, Kim CY. Fatal submassive hepatic necrosis associated with tyrosine-methionine-aspartate-aspartate-motif mutation of hepatitis B virus after long-term lamivudine therapy. *Clin Infect Dis* 2001, 33:403-5.
98. Liaw YF, Chien RN, Yeh CT, Tsai SL, Chu CM. Acute exacerbation and hepatitis B virus clearance after emergence of YMDD motif mutation during lamivudine therapy. *Hepatology* 1999, 30:567-572.
99. Honkoop P, de Man RA, Niesters HG, Zondervan PE, Schalm SW. Acute exacerbation of chronic hepatitis B virus infection after withdrawal of lamivudine therapy. *Hepatology* 2000, 32:635-9.
100. Tipples GA, Ma MM, Fischer KP, Bain VG, Kneteman NM, Trelle DL. Mutation in HBV RNA-dependent DNA polymerase confers resistance to lamivudine in vivo. *Hepatology* 1996, 24:714-717.
101. Stuyver LJ, Locarnini SA, Lok A, Richman DD, Carman WF, Dienstag JL, et al. Nomenclature for antiviral-resistant human hepatitis B virus mutations in the polymerase region. *Hepatology* 2001; 33:751-757.
102. Doo E, Liang TJ. Molecular anatomy and pathophysiologic implications of drug resistance in hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 2001, 120:1000-8.
103. Locarnini S. Hepatitis B viral resistance: mechanisms and diagnosis. *J Hepatol* 2003; 39: S124-S132
104. Zoulim F. Hepatitis B virus resistance to antivirals: clinical implications and management. *J Hepatol* 2003; 39: S133-S136.
105. Kobayashi S, Ide T, Sata M. Detection of YMDD motif mutations in some lamivudine-untreated asymptomatic hepatitis B virus carriers. *J Hepatol* 2001, 34:584-6.
106. Melegari M, Scaglioni PP, Wands JR. Hepatitis B virus mutants associated with 3TC and famciclovir administration are replication defective. *Hepatology* 1998, 27:628-33.
107. Bartholomeusz A, Locarnini S. Hepatitis B virus mutants and fulminant hepatitis B: fitness plus phenotype. *Hepatology* 2001, 34:432-5.
108. Lok AS, Lai CL, Leung N, Yao GB, Cui ZY, Schiff ER, Dienstag JL, Heathcote EJ, Little NR, Griffiths DA, Gardner SD, Castiglia M. Long-term safety of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology*. 2003; 125: 1714-22.
109. Schiff ER, Heathcote J, Dienstag JL, Hann HWL, Woessner M, Brown N, Dent JC, Gray F, Goldin RD. Improvements in liver histology and cirrhosis with extended lamivudine therapy. *Hepatology* 2000, 32: 546, Part 2.
110. Peters MG, Hann HW, Martin P, Heathcote EJ, Buggisch P, Rubin R, Bourliere M, Kowdley K, Treppe C, Gray DF, Sullivan M, Kleber K, Ebrahimi R, Xiong S, Brosgart CL. Adefovir dipivoxil alone or in combination with lamivudine in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B. *Gastroenterology*. 2004; 126: 91-101.

111. Perrillo R, Hann HW, Mutimer D, Willems B, Leung N, Lee WM, Moorat A, Gardner S, Woessner M, Bourne E, Brosgart CL, Schiff E. Adefovir dipivoxil added to ongoing lamivudine in chronic hepatitis B with YMDD mutant hepatitis B virus. *Gastroenterology*. 2004; 126: 81-90.
112. De Clercq E. Therapeutic potential of phosphonylmethoxyalkylpurines and pyrimidines as antiviral agents. *Drugs Exp Clin Res* 1990; 16:319-326.
113. Heijntink RA, De Wilde GA, Kruining J, Berk L, Balzarini J, De Clercq E, et al. Inhibitory effect of 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)-adenine (PMEA) on human and duck hepatitis B virus infection. *Antiviral Res* 1993;21:141-153.
114. Dusheiko G. Adefovir dipivoxyl for the treatment of HBeAg positive chronic hepatitis B: a review of the major clinical studies. *J Hepatol* 2003; 39:S116-S123.
115. Marcellin P, Chang TT, Lim SG, Tong MJ, Sievert W, Shiffman ML, Jeffers L, Goodman Z, Wulfsohn MS, Xiong S, Fry J, Brosgart CL; Adefovir Dipivoxil 437 Study Group. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med*. 2003; 348: 808-16.
116. Tong M, Shiffman M, Heathcote J, et al. Long term safety beyond 48 weeks of adefovir (ADV) 10 mg once daily for chronic hepatitis B: an integrated analysis of two phase III studies. *Gastroenterology*. 2003;124:A-709. [Abstract #340]
117. Angus P, Vaughan R, Xiong S, Yang H, Delaney W, Gibbs C, Brosgart C, Colledge D, Edwards R, Ayres A, Bartholomeusz A, Locarnini S. Resistance to adefovir dipivoxil therapy associated with the selection of a novel mutation in the HBV polymerase. *Gastroenterology*. 2003; 125: 292-7.
118. Delaney WE 4th, Yang H, Westland CE, Das K, Arnold E, Gibbs CS, Miller MD, Xiong S. The hepatitis B virus polymerase mutation rtV173L is selected during lamivudine therapy and enhances viral replication in vitro. *J Virol*. 2003; 77: 11833-41.
119. Westland C, Delaney W 4th, Yang H, Chen SS, Marcellin P, Hadziyannis S, Gish R, Fry J, Brosgart C, Gibbs C, Miller M, Xiong S. Hepatitis B virus genotypes and virologic response in 694 patients in phase III studies of adefovir dipivoxyl. *Gastroenterology*. 2003; 125: 107-16.
120. Yuen MF, Tanaka Y, Lai CL. Hepatitis B genotypes in chronic hepatitis B and lamivudine therapy. *Intervirology*. 2003; 46: 373-6.
121. Lampertico P, Del Ninno E, Manzin A, Donato MF, Rumi MG, Lunghi G, Morabito A, Clementi M, Colombo M.A randomized, controlled trial of a 24-month course of interferon alfa 2b in patients with chronic hepatitis B who had hepatitis B virus DNA without hepatitis B e antigen in serum. *Hepatology* 1997, 26:1621-5.
122. Fattovich G, Farci P, Rugge M, Brollo L, Mandas A, Pontisso P, Giustina G, et al. A randomized controlled trial of lymphoblastoid interferon-alpha in patients with chronic hepatitis B lacking HBeAg. *Hepatology* 1992, 15:584-589.
123. Hadziyannis S, Bramou T, Makris A, Moussoulis G, Zignego L, Papaioannou C. Interferon alfa-2b treatment of HBeAg negative/serum HBV DNA positive chronic active hepatitis type B. *J Hepatol* 1990, 11(Suppl 1):S133-S136.
124. Pastore G, Santantonio T, Milella M, Monno L, Mariano N, Moschetta R, Pollice L. Anti-HBe-positive chronic hepatitis B with HBV DNA in the serum response to a 6-month course of lymphoblastoid interferon. *J Hepatol* 1992, 14:221-225.
125. Oliveri F, Santantonio T, Bellati G, Colombatto P, Mels GC, Carriero L, Dastoli G, et al. Long term response to therapy of chronic anti-HBe-positive hepatitis B is poor independent of type and schedule of interferon. *Am J Gastroenterol* 1999, 94:1366-1372.
126. Brunetto MR, Oliveri F, Coco B, Leandro G, Colombatto P, Gorin JM, Bonino F. Outcome of anti-HBe positive chronic hepatitis B in alpha-interferon treated and untreated patients: a long term cohort study. *Hepatol*. 2002 Feb;36(2):263-70.
127. Papatheodoridis GV, Hadziyannis SJ. Diagnosis and management of pre-core mutant chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2001, 8:311-21.
128. Manesis EK, Hadziyannis SJ. Interferon alpha treatment and retreatment of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2001, 121:101-9.
129. Lobello S, Lorenzoni U, Vian A, Floreani A, Brunetto MR, Chiamonte M. Interferon treatment in hepatitis B surface antigen-positive hepatitis B e antibody-positive chronic hepatitis B: role of hepatitis B core antibody IgM titre in patient selection and treatment monitoring. *J Viral Hepat* 1998, 5:61-6.
130. Lopez-Alcorocho JM, Bartolome J, Cotonat T, Carreno V. Efficacy of prolonged interferon-alpha treatment in chronic hepatitis B patients with HBeAb: comparison between 6 and 12 months of therapy. *J Viral Hepat* 1997, 4 Suppl 1:27-32.

131. Papatheodoridis GV, Manesis E, Hadziyannis SJ. The long-term outcome of interferon-alfa treated and untreated patients with HBeAg negative chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2000, 34:306-313.
132. Lampertico P, Del Ninno E, Viganò M, Romeo R, Donato MF, Sablon E, Morabito A, Colombo M. Long-term suppression of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B by 24-month interferon therapy. *Hepatology*. 2003 Apr; 37(4): 756-63.
133. Brunetto MR, Oliveri F, Colombatto P, Coco B, Ciccorossi P, Bonino F. Treatment of HBeAg negative chronic hepatitis B with interferon or pegylated interferon. *J Hepatol* 2003; 39:S164-S167.
134. Rizzetto M, Marzano A, Lagget M. Treatment of HBeAg negative chronic hepatitis B with lamivudine. *J Hepatol* 2003; 39:S168-S171.
135. Tassopoulos NC, Volpes R, Pastore G, Heathcote J, Buti M, Goldin RD, Hawley S, 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, 29:889-896.
136. Santantonio T, Mazzola M, Iacovazzi T, Miglietta A, Guastadisegni A, Pastore G. Long-term follow-up of patients with anti-HBe/HBV DNA-positive chronic hepatitis B treated for 12 months with lamivudine. *J Hepatol* 2000, 32:300-306.
137. Lok ASF, Hussain M, Cursano C, Margotti M, Gramenzi A, Grazi GL, Jovine E, et al. Evolution of hepatitis B virus polymerase gene mutations in hepatitis B e antigen-negative patients receiving lamivudine therapy. *Hepatology* 2000, 32:1145-1153.
138. Hadziyannis SJ, Papatheodoridis GV, Dimou E, Laras A, Papaioannou C. Efficacy of long-term lamivudine monotherapy in patients with hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 2000, 32:847-851.
139. Lau DT, Khokhar MF, Doo E, Ghany MG, Herion D, Park Y, Kleiner DE, et al. Long-term therapy of chronic hepatitis B with lamivudine. *Hepatology* 2000, 32:828-834.
140. Rizzetto M, Volpes R, Smedile A. Response of pre-core mutant chronic hepatitis B infection to lamivudine. *J Med Virol* 2000;61:398-400.
141. Gaia S, Volpes R, Smedile A, Paganin S, Actis GC, Rizzetto M. Lamivudine in anti-HBeAg positive chronic hepatitis B: Response after one year of treatment. *J Hepatol* 2000, 32: 112, Suppl. 2.
142. Esteban R, Goldin RD, Tassopoulos NC, Rizzetto M, Santantonio T, Woessner M, Taak. Clinical & histological outcome of extended lamivudine in patients with HBeAg negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 2001, 34: S1097.
143. Cho SW, Hahn KB, Kim JH. Reversion from precore/core promoter mutants to wild-type hepatitis B virus during the course of lamivudine therapy. *Hepatology* 2000, 32:1163-9.
144. Santantonio T, Niro G, Sinisi E, Insalata M, Facciorusso D, Gravinese E, Andriulli A, Pastore G. Lamivudine/interferon combination therapy for 12 months prevents the appearance of YMDD mutants in anti-HBe positive chronic hepatitis B patients: A controlled pilot study. *J Hepatol* 2001, 34: 134-134, Suppl. 1.
145. Tatulli I, Francavilla R, Rizzo GL, Vinciguerra V, Ierardi E, Amoroso A, Panella C, Francavilla A. Lamivudine and alpha-interferon in combination long term for precore mutant chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2001, 35:805-810.
146. Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, Chang TT, Kitis G, Rizzetto M, Marcellin P, Lim SG, Goodman Z, Wulfsohn MS, Xiong S, Fry J, Brosgart CL; Adefovir Dipivoxil 438 Study Group. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med*. 2003 Feb 27; 348(9): 800-7
147. Hadziyannis H, Tassopoulos N, Heathcote EJ, Chang TT, Kitis G, Rizzetto M, Marcellin P, Lim SG, Chen SS, Wulfsohn M, Xiong S, James C, Currie G, Brosgart C. Long-term (96 weeks) adefovir dipivoxil in HBeAg negative chronic hepatitis results in significant virological, biochemical and histological improvement. *Hepatology* 2003, abs AASLD.
148. Perrillo R, Tamburro C, Regenstein F, Balart L, Bodenheimer H, Silva M, Schiff E, et al. Low-dose, titratable interferon alfa in decompensated liver disease caused by chronic infection with hepatitis B virus. *Gastroenterology* 1995, 109:908-916.
149. Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM, Waggoner JG, Park Y. Interferon alfa for patients with clinically apparent cirrhosis due to chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1993, 104:1116-1121.
150. Perrillo RP. Management of the patient with HBV-related cirrhosis. *J Hepatol* 2003; 39:S177-S180.
151. Ben-Ari Z, Zemel R, Kazetsker A, Fraser G, Tur-Kaspa R. Efficacy of lamivudine in patients with hepatitis B virus precore mutant infection before and after liver transplantation. *Am J Gastroenterol* 1999, 94:663-7.
152. Sponseller CA, Bacon BR, Di Bisceglie AM. Clinical improvement in patients with decompensated liver disease caused by hepatitis B after treatment with lamivudine. *Liver Transpl* 2000, 6:715-20.
153. Kapoor D, Guptan RC, Wakil SM, Kazim SN, Kaul R, Agarwal SR, Raisuddin S, Hasnain SE, Sarin SK. Beneficial effects of lamivudine in hepatitis B virus-related decompensated cirrhosis. *J Hepatol* 2000, 33:308-12.

154. Yao FY, Bass NM. Lamivudine treatment in patients with severely decompensated cirrhosis due to replicating hepatitis B infection. *J Hepatol* 2000, 33:301-7.
155. Villeneuve JP, Condreay LD, Willems B, Pomier-Layrargues G, Fenyves D, Bilodeau M, Leduc R, Peltekian K, Wong F, Margulies M, Heathcote EJ. Lamivudine treatment for decompensated cirrhosis resulting from chronic hepatitis B. *Hepatology* 2000, 31:207-10.
156. Yao FY, Terrault NA, Freise C, Maslow L, Bass NM. Lamivudine treatment is beneficial in patients with severely decompensated cirrhosis and actively replicating hepatitis B infection awaiting liver transplantation: a comparative study using a matched, untreated cohort. *Hepatology* 2000, 34:411-6.
157. Kitay-Cohen Y, Ben-Ari Z, Tur-Kaspa R, Fainguelernt H, Lishner M. Extension of transplantation free time by lamivudine in patients with hepatitis B-induced decompensated cirrhosis. *Transplantation* 2000, 69:2382-3.
158. Ormseth EJ, Holtzmuller KC, Goodman ZD, Colonna JO, Batty DS, Sjogren MH. Hepatic decompensation associated with lamivudine: a case report and review of lamivudine-induced hepatotoxicity. *Am J Gastroenterol* 2001, 96:1619-22.
159. Bruno R, Sacchi P, Filice C, Filice G. Acute liver failure during lamivudine treatment in a hepatitis B cirrhotic patient. *Am J Gastroenterol* 2001, 96:265.
160. Lampertico P, Viganò M, Romeo R, Iavarone M, Del Ninno E, Colombo M. YMDD mutants, hepatocellular carcinoma and hepatic decompensation in patients with HBV-related cirrhosis treated long-term with lamivudine monotherapy. *Dig Liv Dis* 2001, 33:104.
161. Di Marco V, Ferraro D, Bonura C, Parisi P, Sandonato L, Cappello M, Almasio PL, Craxì A, Di Stefano R. Long term treatment with lamivudine and incidence of hepatocellular carcinoma (HCC) in HBV-related cirrhosis. *Dig Liv Dis* 2001, 33:104.
162. Roche B, Samuel D. Liver transplantation for HBV-related liver disease: indications, prevention of recurrence and results. *J Hepatol* 2003; 39:S181-S189.
163. Berenguer M, Wright TL. Treatment of recurrence of hepatitis B in transplant patients. *J Hepatol* 2003; 39:S190-S193.
164. Perrillo RP. Acute flares in chronic hepatitis B: the natural and unnatural history of an immunologically mediated liver disease. *Gastroenterology* 2001, 120:1009-22.
165. Yeo W, Chan PK, Zhong S, Ho WM, Steinberg JL, Tam JS, Hui P, Leung NW, Zee B, Johnson PJ. Frequency of hepatitis B virus reactivation in cancer patients undergoing cytotoxic chemotherapy: a prospective study of 626 patients with identification of risk factors. *J Med Virol* 2000, 62:299-307.
166. Kawatani T, Suou T, Tajima F, Ishiga K, Omura H, Endo A, Ohmura H, Ikuta Y, Idobe Y, Kawasaki H. Incidence of hepatitis virus infection and severe liver dysfunction in patients receiving chemotherapy for hematologic malignancies. *Eur J Haematol* 2001, 67:45-50.
167. Dai MS, Lu JJ, Chen YC, Perng CL, Chao TY. Reactivation of precore mutant hepatitis B virus in chemotherapy-treated patients. *Cancer* 2001, 92:2927-32. Yeo W, Chan PK, Chan HL, Mo FK, Johnson PJ. Hepatitis B virus reactivation during cytotoxic chemotherapy-enhanced viral replication precedes overt hepatitis. *J Med Virol* 2001, 65:473-7.
168. Mai AL, Yim C, O'Rourke K, Heathcote EJ. The interaction of human immunodeficiency virus infection and hepatitis B virus infection in infected homosexual men. *J Clin Gastroenterol* 1996, 22:299-304.
169. Hamaki T, Kami M, Kusumi E, Ueyama J, Miyakoshi S, Morinaga S, Mutou Y. Prophylaxis of hepatitis B reactivation using lamivudine in a patient receiving rituximab. *Am J Hematol* 2001, 68:292-4.
170. Ng HJ, Lim LC. Fulminant hepatitis B virus reactivation with concomitant listeriosis after fludarabine and rituximab therapy: case report. *Ann Hematol* 2001, 80:549-52.
171. Dervite I, Hober D, Morel P. Acute hepatitis B in a patient with antibodies to hepatitis B surface antigen who was receiving rituximab. *N Engl J Med* 2001, 344:68-9.
172. Campbell S, Ghosh S. Infliximab therapy for Crohn's disease in the presence of chronic hepatitis C infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001, 13:191-2.
173. Marrero JA, Lok ASF. Occult hepatitis B virus infection in patients with hepatocellular carcinoma: Innocent bystander, cofactor, or culprit? *Gastroenterology* 2003, 126:347-351.
174. Rossi G, Pelizzari A, Motta M, Puoti M. Primary prophylaxis with lamivudine of hepatitis B virus reactivation in chronic HBsAg carriers with lymphoid malignancies treated with chemotherapy. *Br J Haematol* 2001, 115:58-62.
175. Yeo W, Chan PK, Chan HL, Mo FK, Johnson PJ. Hepatitis B virus reactivation during cytotoxic chemotherapy-enhanced viral replication precedes overt hepatitis. *J Med Virol* 2001, 65:473-7.

176. Endo T, Sakai T, Fujimoto K, Yamamoto S, Takashima H, Haseyama Y, Nishio M, Koizumi K, Koike T, Sawada K. A possible role for lamivudine as prophylaxis against hepatitis B reactivation in carriers of hepatitis B who undergo chemotherapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 2001, 27:433-6.
177. Al-Taie OH, Mork H, Gassel AM, Wilhelm M, Weissbrich B, Scheurlen M. Prevention of hepatitis B flare-up during chemotherapy using lamivudine: case report and review of the literature. *Ann Hematol* 1999, 78:247-9.
178. Yeo W, Chan PK, Chan HL, Mo FK, Johnson PJ. Hepatitis B virus reactivation during cytotoxic chemotherapy-enhanced viral replication precedes overt hepatitis. *J Med Virol* 2001, 65:473-7.
179. Saif MW, Little RF, Hamilton JM, Allegra CJ, Wilson WH. Reactivation of chronic hepatitis B infection following intensive chemotherapy and successful treatment with lamivudine: a case report and review of the literature. *Ann Oncol* 2001, 12:123-9.
180. Yeo W, Steinberg JL, Tam JS, Chan PK, Leung NW, Lam KC, Mok TS, Johnson PJ. Lamivudine in the treatment of hepatitis B virus reactivation during cytotoxic chemotherapy. *J Med Virol* 1999, 59:263-9.
181. Cainelli F, Longhi MS, Concia E, Vento S. Failure of lamivudine therapy for chemotherapy-induced reactivation of hepatitis B. *Am J Gastroenterol* 2001, 96:1651-2.
182. Farci P. Delta hepatitis: an update. *J Hepatol* 2003; 39:S212-S219.
183. Craxì A, Di Marco V. Treatment of hepatitis D. In: "Management of chronic viral hepatitis", SC Gordon ed, Marcel Dekker publ, New York, 2002, pp 319-346.
184. Lau DT, Doo E, Park Y, Kleiner DE, Schmid P, Kuhns MC, Hoofnagle JH. Lamivudine for chronic delta hepatitis. *Hepatology* 1999, 30:546-9.
185. Wolters LM, van Nunen AB, Honkoop P, Vossen AC, Niesters HG, Zondervan PE, de Man RA. Lamivudine-high dose interferon combination therapy for chronic hepatitis B patients co-infected with the hepatitis D virus. *J Viral Hepat* 2000, 7:428-34.
186. Yurdaydin C, Bozkaya H, Gurel S, Tillmann HL, Aslan N, Okcu-Heper A, Erden E, Yalcin K, Ilman N, Uzunalimoglu O, Manns MP, Bozdayi AM. Famciclovir treatment of chronic delta hepatitis. *J Hepatol*. 2002; 37: 266-71.
187. Gaeta GB, Stornaiuolo G, Precone DF, Lobello S, Chiamonte M, Stroffolini T, Colucci G, Rizzetto M. Epidemiological and clinical burden of chronic hepatitis B virus/hepatitis C virus infection. A multicenter Italian study. *J Hepatol*. 2003; 39: 1036-41.
188. Sagnelli E, Coppola N, Scolastico C, Filippini P, Santantonio T, Stroffolini T, Piccinino F. Virologic and clinical expressions of reciprocal inhibitory effect of hepatitis B, C, and delta viruses in patients with chronic hepatitis. *Hepatology* 2000, 32:1106-10.
189. Weltman MD, Brotodihardjo A, Crewe EB, Farrell GC, Bilous M, Grierson JM, Liddle C. Coinfection with hepatitis B and C or B, C and delta viruses results in severe chronic liver disease and responds poorly to interferon-alpha treatment. *J Viral Hepat* 1995, 2:39-45.
190. Liaw YF, Chien RN, Lin SM, Yeh CT, Tsai SL, Sheen IS, Chu CM. Response of patients with dual hepatitis B virus and C virus infection to interferon therapy. *J Interferon Cytokine Res* 1997, 17:449-52.
191. Utili R, Zampino R, Bellopede P, Marracino M, Ragone E, Adinolfi LE, Ruggiero G, Capasso M, Indolfi P, Casale F, Martini A, Di Tullio MT. Dual or single hepatitis B and C virus infections in childhood cancer survivors: long-term follow-up and effect of interferon treatment. *Blood* 1999, 94:4046-52.
192. Guptan RC, Thakur V, Raina V, Sarin SK. Alpha-interferon therapy in chronic hepatitis due to active dual infection with hepatitis B and C viruses. *J Gastroenterol Hepatol* 1999, 14:893-8.
193. Villa E, Grottole A, Buttafoco P, Colantoni A, Bagni A, Ferretti I, Cremonini C, Bertani H, Manenti F. High doses of alpha-interferon are required in chronic hepatitis due to coinfection with hepatitis B virus and hepatitis C virus: long term results of a prospective randomized trial. *Am J Gastroenterol* 2001, 96:2973-7.
194. Liu CJ, Chen PJ, Lai MY, Kao JH, Jeng YM, Chen DS. Ribavirin and interferon is effective for hepatitis C virus clearance in hepatitis B and C dually infected patients. *Hepatology*. 2003; 37: 568-76.
195. Soriano V, Martin-Carbonero J, Garcia-Samaniego J and Puoti M. Mortality due to chronic viral liver disease among patients with Human Immunodeficiency Virus. *Clin Inf Dis*. 2001; 33: 1793-94.
196. Puoti M, Spinetti A, Ghezzi A et al.. Mortality for liver disease in patients with HIV infection: a cohort study. *J AIDS* 2000;24:211-17
197. Den Brinker M, Wit FWNM, Wertheim-van Dillen PME et al. Hepatitis B and C co-infection and the risk for hepatotoxicity of highly active antiretroviral therapy in HIV-1 infection. *AIDS* 2000;14:2895-2902

198. Saves M, Vandertoren S, Daucourt V et al. Severe hepatic cytolysis: incidence and risk factors in patients treated by antiretroviral combinations Aquitaine cohort, France 1996-1998. *AIDS* 1999; 13:F115-F121
199. Saves M, Raffi F, Clevenbergh P et al. Hepatitis B or hepatitis C virus infection is a risk factor for severe hepatic cytolysis after initiation of a protease inhibitor-containing antiretroviral regimen in HIV immunodeficiency virus infected patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44(12):3451-3455
200. Carr A, Cooper DA. Restoration of immunity to chronic hepatitis B infection in an HIV-infected patients on protease inhibitor. *Lancet* 1997;349:995-96
201. Puoti M, Airoidi M, Bruno R, et al. Hepatitis B Virus coinfection in HIV seropositives *AIDS Reviews* 2002 In press
202. Wong DK, Cheung AM, O'Rourke K, Naylor CD, Detsky AS, Heathcote J. Effect of alpha-interferon treatment in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. A meta-analysis. *Ann Intern Med* 1993, 119:312-23.
203. Wong DKH, Colina Y, Naylor DC et al. Interferon alfa treatment for chronic hepatitis B: randomised trial in a predominantly homosexual male population. *Gastroenterology* 1995;108:165-71
204. Pol S, Jiang JJ, Driss F et al. Efficacy of alpha interferon in chronic active hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 1992;16:S20 (Abs)
205. Thibault V, Benhamou Y, Seguret C et al. Hepatitis B virus mutations associated with resistance to lamivudine in patients coinfecting with HBV and human immunodeficiency virus. *J Clin Microbiol* 1999;37(9):3013-16
206. Ying C, De Clercq E, Nicholson W, Furman P and Neyts J. Inhibition of the replication of the DNA polymerase M550V mutation variant of human hepatitis B virus by adefovir, tenofovir, L-FMAU, DAPD, penciclovir and lobucavir. *J Vir Hep* 2000; 7: 161-165.
207. 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;358:718-23.
208. Bruno R, Sacchi P, Malfitano A and Filice G. YMDD-mutant HBV strain as a cause of liver failure in an HIV-infected patient. *Gastroenterology*. 2001 Oct;121(4):1027-8.





Fig. 1: Classificazione degli stadi di infezione da HBV. \* HAI: Hepatic Activity Index, indice composito di attività necroinfiammatoria su biopsia epatica. La biopsia non è consigliata in presenza di dati clinici e virologici che orientino verso uno stato di portatore "sano" o in presenza di evidenze cliniche di cirrosi.

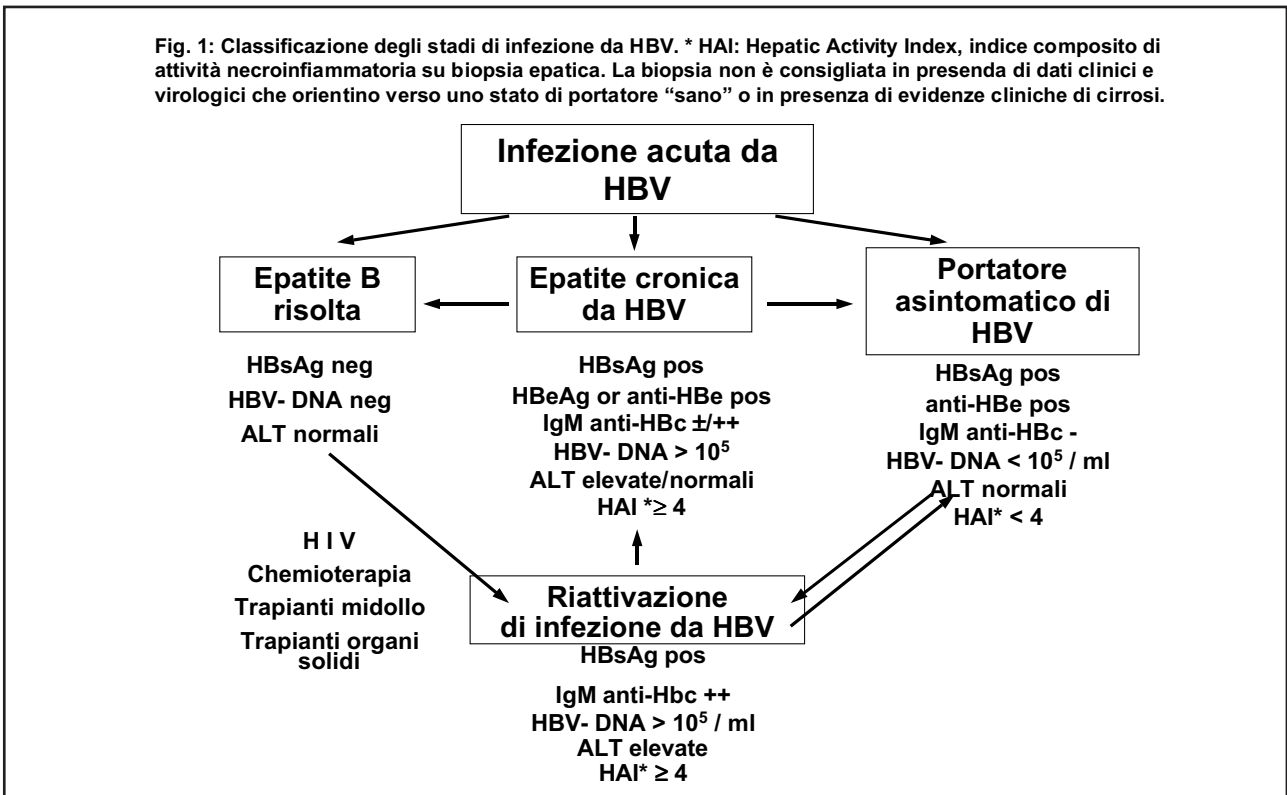
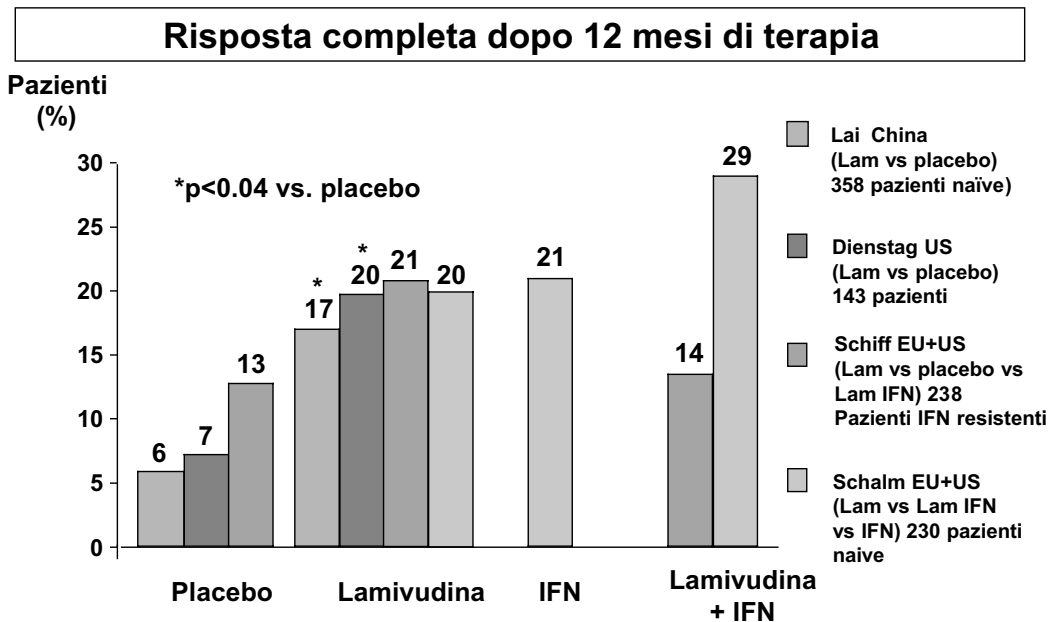
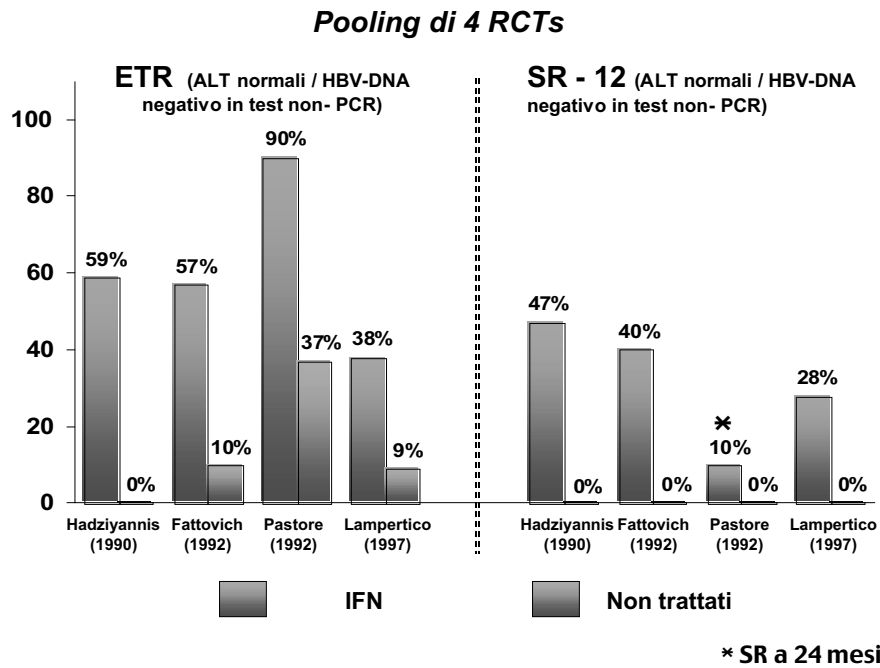


Fig. 2: Lamivudina nella epatite cronica HBeAg positiva



**Fig. 3: IFN per l'epatite cronica HBeAg -va, HBV-DNA +va**

**Tab. 1: Caratteristiche dei test di quantificazione dell' HBV-DNA (da Lok [34], modificato secondo le caratteristiche di performance dei tests correnti)**

Test (Fabbricante)	Volume del campione	Sensibilit� (pg/ml)	Sensibilit� (copie/ml)	Linearit� (copie/ml)	Coefficiente di variazione
bDNA (Bayer)	10 $\mu$ l	2.1	$7 \times 10^5$	$7 \times 10^5 - 5 \times 10^6$	6-15%
Dot Blot (Digene)	30 $\mu$ l 1 ML	0.5 0.02	$1.4 \times 10^5$ $5 \times 10^3$	$2 \times 10^5 - 1 \times 10^9$ $5 \times 10^3 - 3 \times 10^6$	10-15% †
Ibridazione liquida (Abbott)	100 $\mu$ l	1.6	$4.5 \times 10^5$	$5 \times 10^5 - 1 \times 10^{10}$	12-22%
PCR Amplicor (Roche)	50 $\mu$ l	0.002	$4 \times 10^2$	$4 \times 10^2 - 1 \times 10^7$	14-35%
Cobas Amplicor (Roche)	50 $\mu$ l	0.001	$2 \times 10^2$	$2 \times 10^2 - 2 \times 10^5$ (*)	14-30 %
Cobas Taqman (Roche)	50 $\mu$ l	0.0001	10	$10 - 1 \times 10^8$	10-20 %

 1 pg HBV-DNA = 283,000 copie ( $\sim 3 \times 10^5$  copie di genomi di HBV)

 (\*)  $2 \times 10^2 - 2 \times 10^9$  applicando un algoritmo validato con una singola pre-diluizione del siero



Tab. 2 Criteri di risposta alla terapia anti-HBV

RISPOSTA BIOCHIMICA :	{	ALT normali
		Precoce (4-12 settimane) A fine terapia
		Sostenuta (> 6 mesi dopo fine terapia)
RISPOSTA VIROLOGICA:	{	HBV-DNA < 100.00 copie/ml e sieroconversione HBeAg anti-HBe (nei soggetti HBeAg positivi)
		Precoce (4-12 settimane) A fine terapia
		Sostenuta (> 6 mesi dopo fine terapia)
RISPOSTA COMPLETA :	{	HBsAg negativo († anti-HBs), con HBV- DNA < 1.000 copie/ml

Tab. 3: Recidive epatiche da sospensione di Lamivudina in pazienti HBeAg positivi

Studio		Durata terapia	ricidiva ALT* n (%)	Elevazione† bilirubina(%)
Dienstag <i>et al</i>	(n = 32)‡	12 sett. monoterapia	5 (16)	3
Nevens <i>et al</i> ^	(n = 51)	24 sett. monoterapia	8 (16)	4
Schalm <i>et al</i>	(n = 78)‡	52 sett. monoterapia	10 (13)	3
		(n = 74) 24 sett. Lamivudina/IFN	5 (7)	0
Dienstag <i>et al</i>	(n = 70)‡	52 sett. monoterapia	12 (18)	2
Honkoop <i>et al</i>	(n = 4)	52 sett. monoterapia	7 (17)	5
SKG phase III	(n = 215)	52 sett. monoterapia	41 (19)	1
		(n = 133) 24 sett. Lamivudina/IFN	22 (17)	0
		(n = 66) Placebo	5 (8)	1

\* Elevazione ALT oltre 10 volte la norma o 3 volte oltre i valori basali

† Elevazione di bilirubina oltre 2 volte la norma

‡ Follow-up 3-4 months (6 mesi per gli altri studi)

^ in stampa

### Tab 4: Raccomandazioni per l'epatite cronica HBeAg positiva

- Considerare il trattamento solo in pazienti con:
  - Malattia istologicamente attiva e/o con fibrosi
  - HBV-DNA positivo in test non-PCR o oltre  $10^5$  copie in PCR
  - ALT > 2 volte la norma
  - Età > 14 anni (eccetto che in caso di malattia istologicamente severa)
  - Attesa di vita superiore a 5 anni
- Utilizzare alfa IFN 9-10 MUI t.i.w. per 4-6 mesi come prima scelta
- Utilizzare lamivudina 100 mg/die in pazienti con controindicazioni all'IFN (inclusa l'intolleranza soggettiva) che abbiano una malattia rapidamente progressiva. Sospendere 2-3 mesi dopo la clearance di HBeAg.
- In pazienti con mutante YMDD o in cui la lamivudina è inefficace, sospendere la lamivudina e passare ad adefovir 10 mg/die.

### Tab. 5: Raccomandazioni per l'epatite cronica HBeAg negativa, HBV-DNA positiva

- Considerare il trattamento solo in pazienti con:
  - Malattia istologicamente attiva e/o con fibrosi
  - ALT > 2 volte la norma
  - Età > 18 anni (eccetto che in caso di malattia istologicamente severa)
  - Attesa di vita superiore a 5 anni
- Utilizzare alfa IFN 6-9 MUI t.i.w. per 12-24 mesi come prima scelta
- Interrompere dopo 6 mesi se non vi è una riduzione di ALT > 50% e/o di HBV-DNA >  $1 \log_{10}$ . Il farmaco va sospeso in caso di sieroconversione HBsAg → anti-HBs.
- Utilizzare lamivudina 100 mg/die in pazienti con controindicazioni all'IFN (inclusa l'intolleranza soggettiva) che abbiano una malattia rapidamente progressiva.
- In pazienti con mutante YMDD o in cui la lamivudina è inefficace, sospendere la lamivudina e passare ad adefovir 10 mg/die.



## TRATTAMENTO DELLA INFEZIONE DA HBV

*Documento di indirizzo della Associazione Italiana per lo Studio del Fegato*

*Gruppo responsabile della stesura:*

Alfredo Alberti, Padova  
Massimo Colombo, Milano  
Antonio Craxì, Palermo  
Mario Rizzetto, Torino

*Comitato di esperti:*

Pietro Andreone, Bologna  
Antonio Ascione, Napoli  
Piero Luigi Almasio, Palermo  
Flavia Bortolotti, Padova  
Maurizia Brunetto, Pisa  
Calogero Cammà, Palermo  
Giuseppe Colucci, Milano/Basel  
Vito Di Marco, Palermo  
Giovanna Fattovich, Verona  
Giovanni Battista Gaeta, Napoli  
Pietro Lampertico, Milano  
Massimo Levrero, Roma  
Anna Locasciulli, Roma  
Alfonso Mele, Roma  
Luigi Pagliaro, Palermo  
Giuseppe Pastore, Bari  
Felice Piccinino, Napoli  
Patrizia Pontisso, Padova  
Massimo Puoti, Brescia  
Giovanni Raimondo, Messina  
Mariagrazia Rumi, Milano  
Teresa Santantonio, Bari  
Antonina Smedile, Torino  
Tommaso Stroffolini, Roma  
Erica Villa, Modena

*Comitato Coordinatore A.I.S.F.*

Antonio Benedetti (Ancona), Vito Di Marco (Palermo), Alessandra Mangia (S. Giovanni Rotondo), Fabio Marra (Firenze), Alfredo Marzano (Torino), Mario Strazzabosco (Segretario A.I.S.F. - Bergamo)

*Il documento è stato realizzato con il contributo del "Gruppo di Cooperazione A.I.S.F.-Industrie"*

Bayer Diagnostics S.r.l. - Divisione Diagnostici, GiEnne Pharma S.p.A.,  
Gilead Sciences S.r.l., GlaxoSmithKline S.p.A., Industria Farmaceutica Serono S.p.A.,  
Ortho-Clinical Diagnostics S.p.A., Roche S.p.A., Schering-Plough S.p.A.