

EWA BROJER

## Ukryte zakażenie wirusem HBV w hematologii i transfuzjologii

### Occult B infection in haematology and blood transfusion

Zakład Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Ewa Brojer

---

#### STRESZCZENIE

Ukryte zakażenie HBV to wykrywanie HBV DNA u osób bez antygenu HBs. Może ono wystąpić u osób, które przebyły zakażenie tym wirusem i u których utrzymuje się jego replikacja na bardzo niskim poziomie, niewykrywalnym metodami serologicznymi lub które zakażone są mutantem wirusa, nierozpoznawanym przez testy diagnostyczne. Osoby z ukrytym zakażeniem produkują na ogół przeciwciała anti-HBc, a czasami też przeciwciała anti-HBs. U nosicieli HBsAg oraz osób z ukrytym zakażeniem może dojść do reaktywacji zakażenia w momencie obniżenia sprawności układu immunologicznego. Do reaktywacji dochodzi często u chorych hematologicznych i dlatego przed włączeniem chemioterapii powinni mieć oni wykonane badania HBsAg, anti-HBc, anti-HBs i ewentualnie HBV DNA, by określić ryzyko reaktywacji. W zależności od wyników badań powinni być poddani immunoprofilaktyce, leczeniu przeciwvirusowemu lub należy monitorować u nich zakażenie HBV w trakcie i po chemioterapii. Czynniki wysokiego ryzyka reaktywacji są: wysokie stężenie HBV DNA, brak przeciwciał anti-HBs, płeć męska i niski wiek. Reaktywacja ukrytego zakażenia obserwowana jest szczególnie często u chorych na chłoniaki z komórek B, a czynnikiem wysokiego ryzyka jest leczenie rituximabem. Przebieg kliniczny reaktywacji jest bardzo różny, od bezobjawowego podwyższenia stężenia HBV DNA i ewentualnego pojawienia się HBsAg, poprzez podwyższenie ALT, żółtaczkę do piorunującego zapalenia wątroby kończącego się śmiercią chorego. Zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu B w Polsce są ciągle częstsze niż w krajach wysoko rozwiniętych i dlatego zagadnienie reaktywacji u polskich chorych wymaga specjalnej uwagi.

**SŁOWA KLUCZOWE:** Ukryte zakażenia HBV – Reaktywacja – HBsAg – HBV DNA – Anti-HBc – Immunosupresja

#### SUMMARY

Occult HBV infection is defined as HBV DNA detection in HBsAg-negative individuals. There are two causes of occult HBV infection (OBI) – very low level of virus replication, undetectable by serological methods or infection with HBV mutant, not detectable by such methods. Anti-HBc antibodies are usually present in individuals with OBI, sometimes accompanied by anti-HBs. The reactivation of HBV infection is likely in HBsAg carriers and OBI individuals with immunosuppression. Reactivation is often observed in patients with haematological diseases due to chemotherapy or the disease itself therefore HBsAg, anti-HBc, anti-HBs and HBV DNA diagnostics should be performed in such patients. Depending on the results, immunoprophylaxis,

anti-viral therapy or HBV infection monitoring should be applied. High risk factors of reactivation are: high HBV DNA concentration, lack of anti-HBs, young age and male gender. The reactivation of occult B infection is most likely in patients with B cell lymphoma. The risk of reactivation is increased by Rytiximab therapy. The clinical symptoms of HBV reactivation vary from elevation of HBV DNA with HBsAg seroconversion, ALT elevation and jaundice to death of liver failure. HBV infection is still more frequent in Poland than in other developed European countries and the problem of its reactivation in HBsAg carriers and individuals with occult infection is important.

**KEY WORDS:** Occult B infection – Reactivation – HBsAg – HBV DNA – Anti-HBc – Immunosuppression

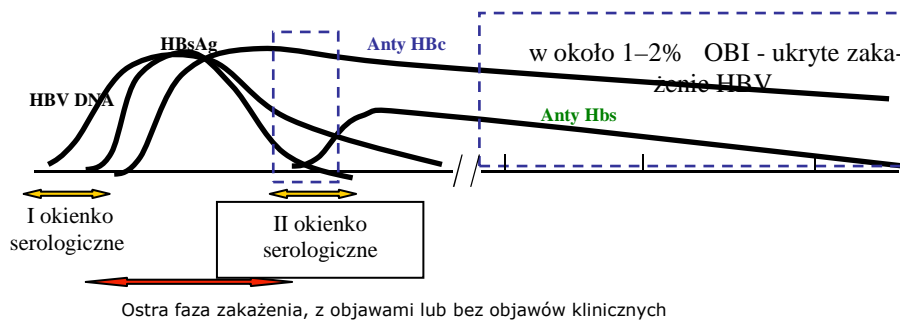
Do zakażenia wirusem HBV dochodzi u około dwóch bilionów ludzi w ciągu ich życia. Ocenia się, że u około 30% osób dorosłych zakażenie przebiega bezobjawowo, u dalszych 30% obserwuje się tylko objawy grypopodobne bez żółtaczki, a u pozostałych dochodzi do pełnoobjawowej choroby z żółtaczką w tym u około 3% choroba przebiega jako tzw. galopujące zapalenie wątroby, które w wysokim odsetku kończy się śmiercią chorego [1, 2].

Szacuje się, że ponad 350 milionów osób, które przeszły zakażenie, w tym około 10% z ostrym zapaleniem wątroby typu B pozostaje przewlekle zakażonych wirusem i wykrywa się w ich surowicy antygen HBs (nosicielstwo HBsAg). Przejście zakażenia w stan przewlekłego nosicielstwa obserwuje się szczególnie często (40–50%) przy zakażeniu wertykalnym. Programy szczepień przeciwko wirusowi HBV znacznie poprawiły sytuację epidemiologiczną w świecie, w tym w Polsce, w której dzięki takim programom oraz dzięki poprawieniu higieny i procesów sterylizacji częstość zakażeń HBV w ostatnich latach znacząco zmniejszyła się [3]. Nie należymy już do krajów, które określa się jako endemiczne regiony występowania HBV. Tym nie mniej w dalszym ciągu zakażenie tym wirusem występuje w Polsce znacznie częściej niż w krajach wysokorozwiniętych Europy Zachodniej i Ameryki Północnej. Częstość zakażeń jest u nas zbliżona do częstości obserwowanej w południowych regionach Europy – w Hiszpanii i w Grecji [1, 2]. Z tego względu zagadnienia związane z występowaniem nosicielstwa HBV w formie wykrywania antygeny HBs, a także w formie tzw. ukrytego zakażenia i z ich konsekwencjami dla chorych na choroby hematologiczne jest szczególnie istotne. W prezentowanym opracowaniu przypomniane będą podstawowe informacje o naturalnym przebiegu zakażenia HBV i o nosicielstwie HBsAg. Bardziej szczegółowo omówione będzie zjawisko ukrytego zakażenia HBV oraz ryzyko reaktywacji zakażenia u chorych hematologicznych.

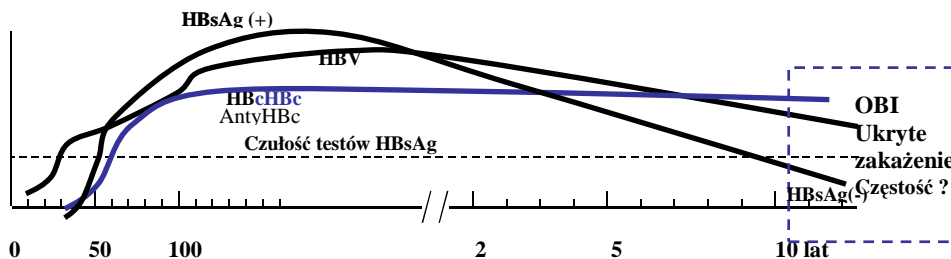
### **Naturalny przebieg zakażenia HBV i jego markery**

Pierwszym markerem zakażenia HBV jest DNA wirusa, następnie wykrywane są antygen HBs i przeciwciała do rdzenia wirusa (anty-HBc), które są trwałym markerem przebiegu zakażenia. HBV DNA jest markerem toczącej się replikacji wirusa, a jego stężenie jest markerem aktywności replikacji. Zwalczenie ostrego zakażenia HBV prowadzi do zaniku wykrywania antygeny HBs w surowicy, pojawieniu się przeciw-

ciał anti-HBe i anti-HBs i normalizacji aktywności enzymów wątrobowych. Przeciwciała anti-HBs, które mają charakter neutralizujący wirusa powstają też u osób szczepionych w kierunku HBV. U osób takich nie wykrywa się natomiast przeciwciał do rdzenia wirusa (anti-HBc). Zwalczenie zakażenia HBV prowadzi też do zaniku wykrywania HBV DNA w surowicy, choć u ozdowieńców replikacja wirusa może utrzymywać się przez różny okres czasu na tak niskim poziomie, że nie jest wykrywalna metodami serologicznymi, a wykryć ją można metodami molekularnymi [4–6]. U osób z niedojrzałym układem immunologicznym lub z upośledzoną jego funkcją nie dochodzi do zwalczenia zakażenia i przechodzi ono w stan przewlekły. Dotyczy to przede wszystkim dzieci urodzonych przez zakażone matki. Typowy przebieg zakażenia o przebiegu ostrym i przewlekłym przedstawia Rycina 1.



Ryc. 1a. Przebieg ostrego zakażenia HBV zakończonygo wyleczeniem – występowanie ukrytego zakażenia HBV zaznaczono linią przerywaną  
**Fig. 1a.** Resolved HBV infection – occult B infection



Ryc. 1b. Przewlekające się zakażenie HBV – okres możliwego występowania ukrytego zakażenia oznaczono linią przerywaną  
**Fig. 1b.** Chronic HBV infection

Wprowadzenie czułych metod molekularnych wykrywających pojedyncze cząstki wirusa w próbce badanej wykazały, że u niektórych osób bez antygenu HBs, a nawet u takich u których nie ma żadnych markerów przebytego zakażenia HBV wykryć można DNA wirusa przez dziesiątki lat po zakażeniu [4–6]. Stan taki nazywamy ukrytym

zakażeniem HBV (ang. occult B infection – OBI). Jego przyczyny i metody wykrywania będą ze szczególnym naciskiem omówione w tym opracowaniu bo jest to zjawisko mniej znane niż nosicielstwo HBsAg. Markery zakażenia i ich znaczenie dla różnicowania fazy zakażenia są przedstawione na rycinie oraz w Tabeli 1.

**Tabela 1.** Markery zakażenia HBV  
**Table 1.** Markers of HBV infection

<ul style="list-style-type: none"> <li>• HBV DNA – pierwszy marker zakażenia wykrywalny po kilku dniach po ekspozycji; i marker aktywnej replikacji wirusa</li> <li>• HBs Ag: na ogół pierwszy marker serologiczny (2–4 tyg. przed wzrostem ALT; wykrywalny po około 30 do 60 dniach po ekspozycji, może zaniknąć przed objawami)</li> <li>• HBeAg: serologiczny marker aktywnej replikacji wirusa pojawia się na ogół zaraz po HBsAg, a zanika przed zanikiem HBsAg gdy pojawia się anti-HBe (dobra prognoza)</li> <li>• anti-HBc IgM: wysokie miano w ostrym zakażeniu</li> <li>• anti-HBc IgG: trwały marker przebytego zakażenia</li> <li>• anti-HBs: 3–4 miesiące po chorobie i zniknięciu HBsAg (też po szczepieniu)</li> </ul>
---

Częstość nosicielstwa HBsAg w krajach gdzie zakażenie ma charakter endemiczny np. w Japonii przekracza 20% populacji. W Polsce szacuje się, że około 1%–2% populacji to nosiciele HBsAg [2]. Taka jest częstość wykrywania antygeny u dawców pierwszorazowych, którzy są reprezentantem tej części polskiej populacji, która nie należy do żadnej z grup ryzyka zwiększonej częstości zakażeń. Rejestrowana przez służby epidemiologiczne zapadalność na wirusowe zapalenie wątroby typu B w Polsce wynosi 4.5/100,000 osób [3]. Częstość osób, które przeszły zakażenie HBV można szacować, jak już powiedziano na podstawie wyników badań przeciwciał anti-HBc będących markerem przebycia zakażenia bez względu na jego charakter (objawowe, bezobjawowe, ostre, przewlekłe). W Polsce przeciwciała te wykrywalne są u około 7% krwiodawców [7]. Dane epidemiologiczne wskazują, że w całej populacji częstość osób, które przeszły zakażenie jest znacznie wyższa. Obserwuje się na przykład wysoką częstość markerów przebytego zakażenia wśród rodzin osób, które chorowały na żółtaczkę typu B. W Japonii i Hong Kongu, gdzie jak powiedziano zakażenie ma charakter endemiczny przeciwciała anti-HBc wykrywa się u ponad 50% badanych [2, 5].

Według zasad klasycznej diagnostyki zakażenia wirusem HBV za stan nosicielstwa uważa się utrzymywanie się wykrywalności antygeny HBs u osób bez objawów klinicznych zapalenia wątroby przez okres dłuższy niż 6 miesięcy. Zanik wykrywalności antygeny HBs i pojawienie się przeciwciał anti-HBs oraz normalizacja aktywności enzymów wątrobowych jest powszechnie uważana za dowód ograniczenia zakażenia.

### **Ukryte zakażenie HBV – historia wykrycia, definicja i występowanie**

Zagadnienie istnienia i roli klinicznej ukrytego zakażenia HBV (OBI) jest dyskutowane od ponad 30 lat. W wielu badaniach u ludzi i na modelu zwierzęcym u świstaków wykazano obecność DNA HBV w osoczu, mononuklearach lub tkance wątroby przy braku wykrywalności antygeny powierzchniowego wirusa (HBsAg) w surowicy [4–6, 8, 9, 10].

Istnieją dwie przyczyny dla których u osoby zakażonej HBV nie wykrywa się antygeny HBs, a wykrywa HBV DNA: 1) niski poziom wirerii, nawet rzędu kilku kopii wirusa w mililitrze osocza lub w tkance wątroby, niemożliwy do wykrycia przy pomocy testów serologicznych, a wykrywalny testami molekularnymi, 2) zakażenie mutantem wirusa HBV, którego nie rozpoznaje test serologiczny (tzw. fałszywe OBI).

Według definicji opublikowanej w 2008 roku jako stanowisko ekspertów [8] ukryte zakażenie HBV to „obecność DNA HBV w wątrobie przy wykrywalnym lub nie wykrywalnym DNA HBV w osoczu u osób, u których w osoczu nie wykrywa się obecnie dostępnymi metodami antygeny HBs (HBsAg)”. Według tej definicji nie jest więc konieczne wykrywanie DNA w osoczu by ustalić, że ktoś ma ukryte zakażenie – wirus może być bowiem obecny jedynie w tkance wątroby, a wykryć go można jedynie prowadząc badania bioptatu.

Stężenie DNA HBV u osób z ukrytym zakażeniem jest na ogół bardzo niskie –  $<200\text{IU/ml}$  [5, 8, 9, 10]. Na podstawie obecności markerów serologicznych zakażenia HBV osoby z ukrytym zakażeniem dzielimy na 1) seropozytywne – z przeciwciałami do antygeny rdzeniowego HBV anty-HBc lub/i z przeciwciałami anty-HBs oraz 2) seronegatywne – bez tych przeciwciał. Stan ukrytego zakażenia może być wynikiem obniżania się stężenia HBsAg do poziomu, w którym jest on niewykrywalny po przebyciu ostrej infekcji (po kilku miesiącach wykrywania HBsAg) albo po wielu latach przewlekłego zakażenia (przewlekłego nosicielstwa HBsAg) (Rycina 1). U osób, u których taka jest geneza powstania OBI obecne są serologiczne markery zakażenia HBV – przeciwciała anty-HBc, a także często również przeciwciała anty-HBs. U osób z OBI bez markerów serologicznych anty-HBc- i anty-HBs- prawdopodobnie produkcja tych przeciwciał ustala lub jest na bardzo niskim poziomie. W przypadkach, w których wykrywa się HBV DNA bez obecności oraz pojawiania się jakichkolwiek markerów serologicznych zakażenia nie można całkowicie wykluczyć, że wynik HBV DNA jest fałszywie dodatni. W ostatnio opublikowanych pracach naukowców japońskich i włoskich opisywane są też przypadki tzw. ostrego ukrytego zakażenia HBV [11] u dawców, u których wykryto DNA HBV w badaniach przeglądowych. Badano kolejne próbki tych dawców, pobrane co 2–7 dni i w żadnej nie wykryto HBsAg lecz cały czas wykrywano niski poziom HBV DNA (5–46 IU/ml). W 33 dniu obserwacji wykryto przeciwciała anty-HBc klasy IgM, potem IgG, a w 24 dni po wykryciu tych przeciwciał stwierdzono obecność anty-HBs. Obserwacje te wskazują, że ostre zakażenie HBV może przebiegać z bardzo małą aktywnością replikacji wirusa. Jedynym klinicznym objawem zakażenia u obserwowanego dawcy była nieznacznie podwyższona aktywność ALT (40 IU/ml), a pojawienie się przeciwciał potwierdza przebycie zakażenia.

W niektórych przypadkach ukrytego zakażenia stężenie HBV DNA jest wysokie, analogiczne do poziomu wykrywanego u osób z HBsAg. Przytaczana wyżej grupa ekspertów nazywa takie przypadki „fałszywym ukrytym zakażeniem” HBV [8]. Antygeny HBsAg nie wykrywa się bowiem ze względu na mutacje występujące w genie kodującym białko powierzchniowe (gen S) [12]. Nie jest ono rozpoznawane przez przeciwciała diagnostyczne. Osoba zakażona takim mutantem powinna być traktowana tak samo jak nosiciel HBsAg. Opisano istnienie wielu takich mutantów. Są to tzw.

mutanty ucieczki (ang. escape mutants). Ich pojawienie się jest wynikiem presji immunologicznej organizmu, który zwalcza szczepy dzikie, a pozwala na namnażanie się szczepów zmutowanych. Producenci testów diagnostycznych śledzą pojawianie się takich mutantów i odpowiednio modyfikują testy by nie dawały wyników fałszywie ujemnych. W badaniach polskich krwiodawców wśród 21 osób z ukrytym zakażeniem w dwóch przypadkach wykryto mutacje w regionie S, z których wynikało nie rozpoznawanie HBsAg przez testy serologiczne [9]. Obaj dawcy byli szczepieni w kierunku HBV. U jednego z dawców była to mutacja G145A, a u drugiego szereg mutacji, w tym trzy C124I, C139S i D144G w regionie kodującym istotną diagnostycznie pętlę białka S.

Analiza polimorfizmu wirusa, w tym identyfikacja mutacji istotnych dla przebiegu zakażenia, poziomu replikacji, podatności na leczenie czy mutacji związanych z ryzykiem reaktywacji są bardzo ważnymi kierunkami badań nad ukrytym zakażeniem. Badania porównujące stopień polimorfizmu szczepów HBV od osób z HBsAg i osób z ukrytym zakażeniem wykazują, że w tej ostatniej grupie stopień polimorfizmu jest statystycznie istotnie większy. Częstość mutacji, w porównaniu do szczepów dzikich jest szczególnie wysoka w tzw. immunoreaktywnych regionach genomu HBV (MHR i CTL), które kodują białka, do których skierowana jest odpowiedź komórkowa i humoralna osoby zakażonej. Obserwowane zjawisko wysokiego polimorfizmu tych regionów HBV u dawców z OBI wskazuje na rolę presji immunologicznej w powstawaniu ukrytego zakażenia [10].

Badania nad polimorfizmem HBV w OBI dotyczą też analiz wykrywania mutacji, które wiąże się z wysokim ryzykiem reaktywacji zakażenia i piorunującym zapaleniem wątroby [13, 14] np. mutacją odpowiedzialną za powstanie kodonu stop w regionie pre-core (A189G), czy T1762/A1764 w regionie promotora białka rdzenia (BCP). W badaniach Alexopoulou i wsp. [13] obie te mutacje wykryto u wszystkich chorych z antygenem HBs, u których obserwowano reaktywację zakażenia po leczeniu fludarabiną. Była ona też obecna u jednego z dwóch chorych HBsAg(-)/anty-HBc(+)/anty-HBs(+), u których obserwowano reaktywację zakażenia HBV.

### **Diagnostyka ukrytego zakażenia HBV**

Jedynym pewnym markerem diagnostycznym OBI jest obecność DNA HBV [8]. Badanie diagnostyczne musi być wykonane przy pomocy wystarczająco czułych metod molekularnych z zachowaniem specjalnych procedur ograniczających ryzyko kontaminacji. Materiałem do badań może być osocze (ze względu na niski poziom wirerii należy badać możliwie dużą jego objętość, np. ok. 2 ml), mononukleary krwi obwodowej, a w przypadku gdy zakażenie ukryte dotyczy tylko wątroby to bioptaty tego narządu.

Badanie obecności przeciwciał anty-HBc może być wstępnym badaniem dla identyfikacji osób, u których potencjalnie występować może OBI [8, 15, 16]. Prawdopodobieństwo, że OBI występuje u osoby, która ma ten marker przebytego zakażenia jest bowiem większe od prawdopodobieństwa, że OBI dotyczy osoby bez anty-HBc. Pa-

miętać należy jednak, że przede wszystkim – nie wszystkie osoby, u których wykrywa się anty-HBc muszą mieć ukryte zakażenie, a dodatkowo, wiarygodność testów w kierunku anty-HBc jest ograniczona [17]. Dają one wysoki odsetek wyników fałszywie dodatnich, a nie ma dla tych testów sposobów weryfikacji.

### **Ukryte zakażenie HBV u chorych i u dawców krwi**

Szczegółowe podsumowanie doniesień o wykrywaniu HBV DNA w osoczu, mononuklearach i tkance wątroby u chorych, u których nie wykrywa się HBsAg przedstawił Brechot i wsp. [5]. Częstość wykrywania HBV DNA zależy od grupy badanej i od czułości stosowanych metod. Wyniki badań DNA u osób bez antygeny HBs rozpatrywano w kontekście wykrywania innych serologicznych markerów zakażenia HBV. Wykazano, że jest ona najwyższa wśród chorych z anty-HBc, w tym szczególnie takich, u których nie wykrywa się przeciwciał anty-HBs. Wśród chorych z objawami przewlekłego zapalenia wątroby z przeciwciałami anty-HBc częstość wahała się od 5–55%. Analiza Brechota i wsp. wykazała też, że istnieją istotne różnice geograficzne w występowaniu zjawiska ukrytego zakażenia HBV. Jest ono szczególnie częste w regionach gdzie HBV występuje endemicznie, choć występuje też w krajach o małej częstości zakażeń. Ukryte zakażenie HBV występuje też jako konfekcja z zakażeniem HCV. Obserwuje się je u chorych hematologicznych [15, 16, 18–25]. Na Tajwanie w 6% HBsAg ujemnych chorych na chłoniaki typu B wykrywa się HBV DNA [19]. W badaniach przeprowadzonych w Japonii u chorych na hemofilię, którzy jak wiadomo z racji leczenia preparatami produkowanymi z osocza narażeni byli w przeszłości na ekspozycję na HBV stwierdzono, że u ponad 50% chorych bez antygeny HBs wykrywa się HBV DNA [26]. W badaniach polskich nie stwierdzono natomiast ukrytego zakażenia HBV u żadnego z badanych chorych na hemofilię, choć wszyscy dorośli chorzy mieli przeciwciała anty-HBc [27].

Istotnym problemem jest też występowanie ukrytego zakażenia u dawców krwi i szpiku, a także dawców narządów, szczególnie wątroby, ze względu na możliwość przeniesienia tego zakażenia na biorcę. Wiele doniesień wskazuje na bardzo duże ryzyko przeniesienia zakażenia przez przeszczepienia (szczególnie wątroby) od dawców bez antygeny HBs, a z wykrywalnymi przeciwciałami anty-HBc [5, 28]. Wśród 124 dawców komórek krwiotwórczych badanych w Hong Kongu, gdzie HBV występuje endemicznie HBV DNA wykryto u 15.3% [29]. Badania w kierunku ukrytego zakażenia HBV oraz szczepienie kandydatów na dawców są obecnie rutynowo przeprowadzane przed przeszczepieniem komórek krwiotwórczych [15, 16].

W przeciwieństwie do ryzyka jakie niesie przeszczepianie narządów i komórek krwiotwórczych ryzyko przeniesienia zakażenia przez przetoczenie krwi od dawcy z ukrytym zakażeniem jest niewielkie, tym nie mniej istnieje [30]. W Polsce, w ramach procedury czuwania nad bezpieczeństwem przetoczeń prowadzi się obserwacje i badania chorych, którzy otrzymali krew lub jej składnik od dawców wielokrotnych, gdy wykryje się u nich ukryte zakażenie HBV. Jak dotąd w Polsce nie wykazano, by zakażenie HBV zostało przeniesione przez przetoczenie krwi od takiego dawcy. W ramach

proowanej procedury analizowano przypadki, w których chory otrzymał krew zawierającą HBV DNA o koncentracji 200 IU/ml (przetoczenie oczywiście miało miejsce przed wprowadzeniem badań HBV DNA u dawców, a badania HBV DNA wykonano w próbce archiwalnej dawcy przechowywanej w centrum krwiodawstwa). Fakt, że chory nie uległ zakażeniu potwierdzono przez badania HBV DNA i anty-HBc [31]. Kazuistyczne przypadki zakażeń przez przetoczenie krwi od dawców z OBI opisano jednak ostatnio w literaturze [32]. Potwierdza to zasadność prowadzenia badań przeglądowych technikami biologii molekularnej u dawców krwi [32–34]. Dzięki wprowadzenia przeglądowych badań HBV DNA u dawców wiadomo obecnie, jaka jest częstość ukrytego zakażenia wśród osób zdrowych, nie należących do żadnej z grup ryzyka zakażeń wirusami. Badania takie wprowadzono w wielu krajach: w Japonii, Niemczech, Włoszech, Hiszpanii, Grecji. W Polsce wykonuje się je obowiązkowo przed każdym oddaniem krwi od roku 2005 u wszystkich dawców bez markerów serologicznych HBsAg, anty-HCV i anty-HIV [33, 34]. Głównym celem badań krwiodawców jest wykrywanie HBV DNA w okresie, w którym ich krew jest zakaźna, czyli przede wszystkim we wczesnym okresie zakażenia, gdy nie wykrywa się HBsAg, a dawca nie produkuje jeszcze neutralizujących przeciwciał anty-HBs. Badania molekularne identyfikują też osoby z ukrytym zakażeniem HBV. Różnicowanie poszczególnych okresów zakażenia u dawcy odbywa się na podstawie dodatkowych badań serologicznych, przede wszystkim anty-HBc w momencie wykrycia HBV DNA, a także na podstawie badań kolejnych próbek pobranych od dawcy [33]. U dawców w bardzo wczesnym okresie zakażenia HBV DNA jest jedynym markerem świadczącym o obecności wirusa. Jeszcze przed pojawieniem się HBsAg można wykryć dodatkowo przeciwciała anty-HBc klasy IgM. U dawców z OBI wykrywa się przeciwciała anty-HBc klasy IgG (trwały marker przebytego zakażenia). Czasami u dawców z OBI wykrywa się też przeciwciała anty-HBs, a także anty-HBe. Ze względu na niski poziom wirerii w OBI dla jego wykrycia konieczne jest stosowanie testów molekularnych o bardzo wysokiej czułości i takie są stosowane do badań dawców krwi. Testy oparte na technice real time PCR (Cobas 201 firmy Roche Diag) lub na metodzie amplifikacji przez transkrypcję TMA (Ultrio Procleix firmy Chiron) mają czułość około 2–5 IU HBV DNA/ml.

Częstość wykrywania ukrytego zakażenia HBV u krwiodawców jest różna w różnych krajach [9, 30, 33, 34]: najwyższe wartości obserwowano w Japonii (20/milion), we Włoszech (55/milion), Polsce (18/milion). W krajach północnej Europy i Ameryki na ogół takich badań się nie prowadzi, ze względu na bardzo niską zapadalność na wirusowe zapalenie wątroby typu B.

### **Reaktywacja zapalenia wątroby u osób z upośledzeniem układu immunologicznego**

Reaktywacja zakażenia HBV na skutek obniżenia sprawności układu immunologicznego jest bardzo istotnym problemem klinicznym dotyczącym w dużej mierze chorych z chorobami hematologicznymi [15, 16, 18–25]. Ryzyko to dotyczy chorych z nowotworami układu krwiotwórczego poddawanych chemioterapii, w tym szczegól-



nie chorych leczonych przeszczepianiem komórek krwiotwórczych, a także chorych z chorobami o podłożu autoimmunologicznym (ITP i NAIH) ze względu na stosowanie leczenia kortykosterydami.

Doniesienia o reaktywacji zakażenia HBV u nosicieli HBsAg dotyczyły większości chorób układu krwiotwórczego, obserwowano je po stasowaniu bardzo różnych chemioterapeutyków: antybiotyków przeciwnowotworowych, kortykostteroidów, przeciwciał monoklonalnych, roślinnych alkaloidów i innych [15]. Zapalenie wątroby wynikające z reaktywacji obserwowano przede wszystkim w przerwach pomiędzy cyklami chemioterapii i po jej odstawieniu gdy na skutek podjęcia funkcji przez układ immunologiczny dochodzi do gwałtownego niszczenia przez ten układ komórek wątroby zaatakowanych przez HBV [15, 16, 18].

Prawdopodobieństwo reaktywacji zakażenia HBV zależy od szeregu czynników zarówno po stronie wirusa jak i gospodarza. Przede wszystkim jest uzależnione od stężenia HBV DNA u nosiciela HBV, co do pewnego stopnia obrazują markery serologiczne u chorego. Najwyższe jest u nosiciela HBsAg, a najniższe u osoby bez wykrywanego antygeny, która ma wysoki poziom neutralizujących przeciwciał anti-HBs [15, 16, 35, 36]. Choć jak powiedziano wyżej wszyscy chorzy z upośledzeniem układu immunologicznego są narażeni na reaktywację wydaje się, że największe ryzyko dotyczy chorych na chłoniaki – z jednej strony ze względu na leczenie o silnym działaniu immunosupresyjnym, z drugiej na sam efekt immunosupresyjny procesu chorobowego [15, 16, 18, 24, 25]. Na terenach gdzie zakażenie HBV występuje endemicznie zauważa się silne powiązanie występowania chłoniaków z komórek B z wykrywaniem HBsAg [19]. Analizy czynników ryzyka reaktywacji zakażenia HBV wskazują też, że zachodzi ona częściej u mężczyzn niż u kobiet; czynnikiem ryzyka jest też niski wiek chorego [15, 16, 18].

Reaktywacja zakażenia może mieć bardzo różny przebieg. Może przebiegać bez jakichkolwiek objawów klinicznych (tylko podwyższenie poziomu HBV DNA lub/ i pojawiania się HBsAg), manifestować się tylko podwyższeniem aktywności transaminaz wątrobowych, żółtaczką aż do kończącego się śmiercią chorych piorunującego zapalenia wątroby. Według doniesień literatury zapalenie wątroby spowodowane przez HBV u chorych poddanych chemioterapii występuje u około 14–53% chorych, którzy są nosicielami antygeny HBs [15, 16, 18]. U znacznej części chorych przebieg zapalenia wątroby u chorych jest ciężki, a śmiertelność ocenia się na 4% to 41% [15, 16, 18]. Do podwyższenia aktywności enzymów wątrobowych dochodzi u około 50% nosicieli HBsAg w czasie lub po chemioterapii, u około 10% obserwuje się żółtaczkę [18]. Największe ryzyko dotyczy chorych z zaawansowanym procesem włóknienia wątroby. Najcięższe postaci zapalenia wątroby obserwuje się u chorych zakażonych mutantami regionu precore [13, 14].

Choć u nosicieli HBsAg oraz osób, które przeszły zakażenie tym wirusem i potencjalnie mogą mieć ukryte zakażenie HBV większość objawów zapalenia wątroby ma etiologię wirusową, należy też rozważyć inne przyczyny wystąpienia objawów między innymi toksyczny wpływ leków. Podwyższenie aktywności ALT może też być spowodowane zakażeniami bakteryjnymi, grzybiczymi i zakażeniami przez inne niż HBV

wirusy (CMV, EBV, HIV). Należy też rozważyć infekcję z HDV i HCV. W około 12% przypadków przyczyna podwyższenia ALT pozostaje nieznana [16].

Ostatnio prowadzone badania wskazują, że stan ukrytego zakażenia HBV, czyli szczególnie stan nosicielstwa HBV jest też obarczony ryzykiem reaktywacji zakażenia. Badania Hui i wsp. [37] u chorych na chłoniaki wykazały, że ukryte zakażenie HBV było przyczyną wzw B u 3.3% (8/244) chorych, u których nie wykrywano antygenu HBs. Trzech chorych z tej grupy rozwinęło piorunujące zapalenie wątroby. Podobnie, Umemura i wsp. [35] wykazali reaktywację zakażenia HBV u 23 (4%) spośród 552 chorych poddanych chemioterapii, którzy uprzednio zostali wyleczeni z zapalenia wątroby typu B i nie wykrywano u nich HBsAg. Jedna czwarta z nich rozwinęła piorunujące zapalenie wątroby.

Szereg obserwacji wykazuje, że leczenie przy pomocy przeciwciał monoklonalnych (rituximab lub alemtuzumab) istotnie zwiększa ryzyko reaktywacji u chorych bez HBsAg. Yeo i wsp. (20) obserwowali 104 chorych z chłoniakiem z komórek B, wśród których było 46 osób HBsAg-/anty-HBc+. 25 było leczono klasycznym schematem CHOP (cyclofosfamid, doxorubicina vincristina, prednison) i u żadnego nie obserwowano reaktywacji HBV. 21 chorych otrzymywało dodatkowo rituximab. U 5 chorych otrzymujących ten lek doszło do reaktywacji zakażenia, a jeden chory zmarł w wyniku piorunującego zapalenia wątroby. Wydaje się, że głęboka deplecja komórek B powodowana przez rituximab jest odpowiedzialna za wysokie ryzyko reaktywacji zakażenia, mimo, że uważa się, że za bezpośrednie niszczenie komórek zakażonych wirusem są odpowiedzialne głównie cytotoksyczne limfocyty T CD8.

Yeo i wsp. [20] przeprowadzili też analizę dotychczas opublikowanych doniesień o reaktywacji zakażenia HBV u chorych HBsAg-/anty-HBc+ leczonych rituximabem. Stwierdzili, że do reaktywacji dochodzi u 25% chorych, a 20% spośród nich umiera z powodu zapalenia wątroby. Dodatkowymi czynnikami ryzyka są płeć męska i brak przeciwciał anty-HBs. Autorzy podkreślają, że u chorych leczonych rituximabem reaktywacja może być bardzo opóźniona i nastąpić po kilku miesiącach od zaprzestaniu leczenia. Obserwacja ta jest wskazówką do okresu stosowania leczenia przeciwwirusowego u tych chorych.

Zagadnienia reaktywacji zakażenia HBV są, jak widać szczególnie wnikliwe poruszone przez Japończyków ponieważ zakażenie HBV występuje w Japonii endemicznie. Autorzy stwierdzają że konieczne jest stałe monitorowanie reaktywacji HBV u chorych, którzy przeszli zakażenie HBV. Należy też rozważyć możliwość zastosowania leczenia wyprzedzającego lamiwudyną u tej grupy chorych. Nie jest to jak dotąd procedura standardowa, ale we wszystkich ostatnio publikowanych pracach wskazuje się na zasadność jej stosowania [15, 16].

### **Badania diagnostyczne konieczne dla oceny ryzyka reaktywacji zakażenia HBV**

Dla oceny ryzyka reaktywacji i ewentualnego włączenia leczenia wyprzedzającego konieczne jest dokładna diagnostyka. Jej zasady i schemat omówiony jest szczegółowo w pracy Lalazara i wsp. [15], a także w raporcie ekspertów [8] i pracy Lianga

[16]. Każdy chory, z chorobą hematologiczną, u którego planowane jest leczenie immunosupresyjne lub, która sama w sobie powoduje osłabienie układu immunologicznego konieczne jest wykonanie badań serologicznych markerów HBV: przeciwciał anti-HBc i anti-HBs oraz antygenu HBs. Mają one odpowiedzieć na pytania 1) czy chory jest nosicielem HBsAg i powinien otrzymać leczenie wyprzedzające; 2) czy ma przeciwciała anti-HBs w dawce ochronnej w wyniku kiedyś wykonanego szczepienia (obecność przeciwciał anti-HBs bez przeciwciał anti-HBc); 3) czy jest prawdopodobne, że ma ukryte zakażenie HBV, bo był kiedyś zakażony tym wirusem (i ma przeciwciała anti-HBc). W proces diagnostyczny należy też włączyć, o ile jest taka potrzeba, badania HBV DNA.

Zalecany przez autorów sposób postępowania u chorych hematologicznych z różnymi wynikami badań w kierunku HBV jest przedstawiony w Tabeli 2. I tak:

**Tabela 2.** Przeciwdziałanie reaktywacji zakażenia HBV u chorych z chorobami hematologicznymi  
**Table 2.** Prevention of hepatitis B reactivation in haematological patients

<p>Chorzy HBsAg(+)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Określić poziom HBV DNA</li> <li>• Rozpocząć leczenie antywirusowe* bez względu na stężenie HBV DNA, monitorować aktywność ALT i stężenie HBV DNA             <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Rozważyć zakończenie leczenia 6–12 miesięcy po zakończeniu chemioterapii przeciwnowotworowej</li> </ul> </li> </ul> <p>Chorzy HBsAg(-)/ anti-HBc(+)/anti-HBs(-)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Podać szczepionkę HBV</li> <li>• Zbadać stężenie anti-HBs po 2–4 tygodniach             <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Jeśli anti- HBs (+)                 <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Leczenie przeciwwirusowe HBV nie jest konieczne</li> </ul> </li> <li>○ Jeśli anti-HBs(-)                 <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Zbadać HBV DNA                     <ul style="list-style-type: none"> <li>• Jeśli HBV DNA(+)</li> </ul> </li> </ul> </li> <li>○ Rozpocząć leczenie przeciwwirusowe*</li> <li>○ Jeśli anti-HBs (-) zaszczepić dwoma dodatkowymi dawkami szczepionki HBV</li> </ul> </li> </ul> <p>Chorzy HBsAg(-)/ anti-HBc (+)/ anti-HBs(+)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Monitorować aktywność ALT             <ul style="list-style-type: none"> <li>○ ALT w normie – leczenie przeciwwirusowe HBV nie jest konieczne</li> <li>○ ALT podwyższone                 <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Zbadać HBV DNA                     <ul style="list-style-type: none"> <li>• HBV DNA (+) włączyć leczenie przeciwwirusowe</li> <li>• HBV DNA(-) – prowadzić dalszą diagnostykę w celu ustalenia przyczyny zaburzeń wątroby</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul> </li> </ul> <p>Chory HBsAg(-)/anti-HBc(-)/ anti-HBs(-) – podać trzykrotnie szczepionkę HBV</p> <p>*pierwsza linia leczenia – lamivudyna; gdy pojawią się zmutowane szczepy odporne na leczenie zmienić lek na adenovir lub entecavir</p>
--

1. Osoby z wykrytym HBsAg muszą być traktowane jako osoby z bardzo wysokim ryzykiem reaktywacji i muszą otrzymać leczenie anty-wirusowe.

2. Osoby bez anty-HBs powinny być szczepione w kierunku HBV. Jeśli nie wykrywa się u nich przeciwciał anty-HBc (co oznacza, że nie przeszli zakażenia HBV) zalecane jest szczepienie trzema dawkami szczepionki. W przypadku osób z przeciwciałami anty-HBc nie jest jasny ich status co do zakażenia HBV. Są bowiem trzy możliwości. Mogą to być osoby, które wyzdrowiały po przebyciu zakażenia HBV lecz poziom anty-HBs uległ u nich obniżeniu tak, że przeciwciała te nie są wykrywalne. Mogą to być osoby z ukrytym przewlekłym zakażeniem HBV. Jest też możliwe, że wynik testu anty-HBc jest fałszywie dodatni i nie oznacza przebytego zakażenia. Do różnicowania tych trzech stanów konieczne jest wykonanie badań HBV DNA, a także wykonanie badań przeciwciał anty-HBs w 2–4 tygodni po szczepieniu w kierunku HBV. Wykrycie przeciwciał o koncentracji  $>10\text{IU/l}$  po tak krótkim okresie od szczepienia wskazuje na anamnesticzną odpowiedź – czyli przebycie zakażenia w przeszłości. Powstałe przeciwciała mają działanie ochronne i zmniejszają ryzyko reaktywacji. Gdy przeciwciała nie pojawiają się należy wykonać badanie HBV DNA. Jeśli daje ono wynik dodatni należy rozważyć włączenie leczenia wyprzedzającego reaktywację (szczególnie gdy planowana jest bardzo silna immunosupresja np. przy allotransplantacji czy przy zastosowaniu rituxinabu). Jeśli po pierwszej dawce szczepionki przeciwciała nie pojawią się należy dokończyć serię szczepień podając kolejne dwie dawki.

3. Osoby z przeciwciałami anty-HBc i anty-HBs mogą mieć też ukryte zakażenie HBV lecz ryzyko reaktywacji jest małe. Należy u tych chorych monitorować aktywność ALT. Przy podwyższeniu aktywności należy zbadać HBV DNA – jeśli wykluczy się jego obecność poszukiwać innych przyczyn zaburzeń.

### **Postępowanie z chorymi z ryzykiem reaktywacji zakażenia HBV**

Osoby z HBsAg powinny być uznane za osoby z wysokim ryzykiem reaktywacji i poddane leczeniu lekami anti-wirusowymi przed rozpoczęciem chemioterapii. Przed rozpoczęciem leczenia należy zbadać u nich stężenie HBV DNA, lecz leczenie rozpocząć bez względu na wynik badania [16]. Najczęściej jest to leczenie lamiwudyną, które jest mało toksyczne. Poziom DNA HBV w wyniku tego leczenia na ogół spada bardzo szybko, także w zasadzie nie jest konieczne opóźnianie rozpoczęcia chemioterapii. Optymalny czas trwania leczenia lamiwudyną nie jest do końca ustalony ale uważa się że powinno ono trwać przez minimum 3 miesiące (na ogół 3–12 miesięcy) po odstawieniu leków immunosupresyjnych. Dłuższe stosowanie leczenia lamiwudyną – ponad 12 miesięcy jest zalecane u chorych otrzymujących rituximad lub alemtuzumab oraz u chorych po allogenicznym przeszczepieniach komórek krwiotwórczych. Taka strategia chroni przed reaktywacją ponad 90% chorych. Należy jednak pamiętać o możliwości pojawienia się w trakcie leczenia szczepów wirusa opornych na lamiwudynę [38, 39]. Dlatego w trakcie leczenia należy monitorować poziom HBV DNA i aktywność enzymów wątrobowych. W przypadku stwierdzenia nieskuteczności leczenia należy zidentyfikować szczepy odporne na lamiwudynę poprzez badania genetyczne i zmienić stosowany lek na inny na przykład adenowir, entacavir

Sposób postępowania z chorymi na choroby hematologiczne, u których zdiagnozowano ukryte zakażenie jest mniej jasny, choć eksperci którzy obradowani na ten temat, a także autorzy ostatnio opublikowanych prac podkreślają, że u każdego chorego z ukrytym zakażeniem ryzyko reaktywacji istnieje, a jeśli do reaktywacji dojdzie istnieje wysokie ryzyko śmiertelności [15, 16]. Szczególnie duże ryzyko, jak już powiedziano, dotyczy chorych, którzy otrzymują leczenie przeciwciałami monoklonalnymi, a także chorzy po przeszczepieniu allogenicznym komórek krwiotwórczych. Ryzyko reaktywacji musi być rozważone indywidualnie dla każdego chorego. Jeśli poziom HBV DNA jest wysoki, i jeśli planowana immunosupresja jest silna, ryzyko jest wysokie i należy rozważyć leczenie wyprzedzające analogicznie jak u chorych z HBsAg. Jeśli takie leczenie nie jest włączone konieczne jest regularne monitorowanie aktywności transaminaz, a także HBV DNA. Dalsze badania i obserwacje chorych z ukrytym zakażeniem HBV są konieczne dla opracowania ostatecznych wytycznych co do sposobu postępowania.

## PIŚMIENNICTWO

1. Juszczak J: Wirusowe zapalenia wątroby. PZWL, Warszawa, 1999
2. www.who.int
3. Blackberg J, Kidd-Ljunggren K. Occult hepatitis B virus after acute self-limited infection persisting for 30 years without sequence variation. *J Hepatol* 2000;**33**:992-7.
4. Brechot Ch, Thiers V, Kremsdorf D, Nalpas B, Pol S, Paterlini-Brechot P. Persistent Hepatitis B Virus Infection in Subjects Without Hepatitis B Surface Antigen: Clinically Significant or Purely "Occult"? *Hepatology* 2001;**34**:194-201.
5. Michalak TI, Pasquinelli C, Guilhot S, Chisari FV. Hepatitis B virus persistence after recovery from acute viral hepatitis. *J Clin Invest* 1994;**93**:230-9.
6. Czarkowski MP, Rosińska M, Hepatitis B in Poland in 2005. *Przegl Epidemiol* 2007;**61**:273-9
7. Kuśmierczyk J, Zatorska J, Raś J i wsp. Prevalence of anti-HBc antibodies in blood donors in the South region of Poland. *Vox Sang* 2006, 9: suppl 3: 56.
8. Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR i wsp. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2008;**49**:652-757
9. Brojer E, Grabarczyk P, Liszewski G i wsp. Characterization of HBV DNA+/HBsAg- blood donors in Poland identified by triplex NAT. *Hepatology*. 2006;**44**:1666-74.
10. Candotti D, Grabarczyk P, Ghiazza P i wsp. Characterization of occult hepatitis B virus from blood donors carrying genotype A2 or genotype D strains. *Journal of Hepatology* 2008; **49**: 537-547.
11. Manzini P, Abate ML, Valpreda C i wsp. Evidence of acute primary occult hepatitis B virus infection in an Italian repeat blood donor. *Transfusion*. 2009 Jan 2
12. Gerlich WH. Diagnostic problems caused by HBsAg mutant-a consensus report of an expert meeting. *Intervirology* 2004; 47:310-3.
13. Alexopoulou A, Theodorou M, Dourakis S.P. i wsp. Hepatitis B Virus Reactivation in Patients Receiving Chemotherapy for Malignancies: Role of Precore Stop-codon and Basic Core Promoter Mutations. *J Viral Hepat*. 2006;**13**: 591-596.
14. Dai MS, Lu JJ, Chen YC, Perng CL, Chao TY. Reactivation of precore mutant hepatitis B virus in chemotherapy-treated patients. *Cancer* 2001; **92**: 2927-2932.
15. Lalazar G, Rund D, Shouval D. Screening, prevention and treatment of viral hepatitis B reactivation in patients with haematological malignancies. 2007; **136**: 699-712.

16. Liang R. How I treat and Monitor Viral Hepatitis B Infection in Patients Receiving Intensive Immunosuppressive Therapies or Undergoing Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Blood First Edition Paper online January 14 2009;
17. Kleinman SH, Kuhns MC, Todd DS i wsp. Frequency of HBV-DNA detection in US blood donors testing positive for the presence of anti-HBc: implications for transfusion transmission and donor screening. *Transfusion* 2003;**43**:696-704.
18. Firpi R.J., Nelson D.R. Management of viral hepatitis in hematologic malignancies. *Blood Reviews* 2008; **22**; 117-126.
19. Chen MH, Hsiao LT, Chipu TJ i wsp. High prevalence of occult hepatitis B virus infection in patients with B cell non-Hodgkin,s lymphoma. *Ann Hematol* 2008; **87**; 475-480.
20. Yeo W, Chan T.C, Leung N.W.Y. i wsp. Hepatitis B Virus Reactivation in Lymphoma Patients With Prior Resolved Hepatitis B Undergoing Anticancer Therapy With or Without Rituximab. *American Society of Clinical Oncology* 2009; **4**; 605-611.
21. Wu , Huang YH, Lee PC I wsp. Fatal Reactivation of Hepatitis B Virus in a Patient Who Was Hepatitis B Surface Antigen Negative and Core Antibody Positive Before Receiving Chemotherapy for Non-Hodgkin Lymphoma. *J Clin Gastroenterol* 2009,
22. Sarrecchia C, Cappelli A, Aiello P HBV reactivation with fatal fulminating hepatitis during rituximab treatment in a subject negative for HBsAg and positive for HBsAb and HBcAb. *J Infect Chemother.* 2005; **11**:189-91
23. Onozawa M, Hashino S, Izumiyama K i wsp. Progressive disappearance of anti-hepatitis B surface antigen antibody and reverse seroconversion after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with previous hepatitis B virus infection. *Transplantation* 2005; **79**: 616–619.
24. Persico, E, De Renzo, A, La Mura i wsp. Occult hepatitis B virus infection in patients with non-Hodgkin lymphoma: the need for early diagnosis in anti-Hbc positive patients. *Gut* 2007; **56**: 1470-147
25. Picardi M, Pane F, Quintarelli C I wsp. Hepatitis B virus reactivation after fludarabine-based regimens for indolent non-Hodgkin's lymphomas: high prevalence of acquired viral genomic mutations. *Haematologica* 2003; **88**: 1296–1303.
26. Toyoda H, Hayashi K, Murakami Y i wsp. Prevalence and clinical implications of occult hepatitis B viral infection in hemophilia patients in Japan *Journal of Medical Virology* Volume 73, 2, 195 – 199
27. Windyga J, Brojer E, Gronowska A i wsp: Preliminary results of HBV DNA testing of Polish haemophilia patients – lack of occult HBV infection. *Haemophilia* 2006,**12**,380-383.
28. Comjeevaram HS, Lok AS; Occult Hepatitis B virus infection:a hidden menace. *Hepatology*, 2001; **34**: 204-5
29. Hui CK, Sun J, Au WY i wsp.: Occult hepatitis B virus infection in haematopoietic stem cell donors in a hepatitis B virus endemic area. *J Hepatol* 2005; **42**: 813-19
30. Allain JP. Occult hepatitis B infection: implications in transfusion. *Vox Sang* 2004; **86**: 83-91
31. Brojer E, Dobrowolna M, Górska P, i wsp.: Analiza wyników procedury czuwania nad bezpieczeństwem krwi w odniesieniu do dawców z ukrytym zakażeniem HBV. *Acta Haemat Pol.* 2007; **064**; 103-104
32. Levicnik-Stezinar S, Rahne-Potokar U, Candotti D, Lelie N, Allain JP Anti-HBs positive occult hepatitis B virus carrier blood infectious in two transfusion recipients. *J Hepatol.* 2008; **48**: 1022-5.
33. Grabarczyk P, Liszewski G, Mikulska M, Kopacz A, Łętowska M, Brojer E. Praktyczne konsekwencje wprowadzenia badań DNA HBV u dawców krwi. *Acta Haematol Pol* 2009; **40**: 45-54.
34. Reesink HW, Engelfriet CP, Henn G i wsp. Occult hepatitis B infection in blood donors. *Vox Sang.* 2008;**94**:153-66.
35. Umemura T, Tanaka E, Kijyosawa K i wsp. Mortality Secondary to Fulminant Hepatic Failure in Patients with Prior Resolution of Hepatitis B Virus Infection in Japan. *Clinical Infectious Diseases* 2008; **47**; e52-56.
36. Lau GK, Leung YH, Fong DY, i wsp. High hepatitis B virus (HBV) DNA viral load as the most important risk factor for HBV reactivation in patients positive for HBV surface antigen undergoing autologous hematopoietic cell transplantation. *Blood.* 2002; **99**:2324-30.

37. Hui CK, Cheung WW, Zhang HY i wsp: Kinetics and risk of de novo hepatitis B infection in HBsAg-negative patients undergoing cytotoxic chemotherapy. *Gastroenterology* 2006; **131**: 59-68
38. Leaw SJ, Yen CJ, Huang WT, Chen TY, Su WC, Tsao CJ. Preemptive use of interferon or lamivudine for hepatitis B reactivation in patients with aggressive lymphoma receiving chemotherapy. *Ann Hematol* 2004; **83**: 270-275.
39. 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.

Praca wpłynęła do Redakcji 20.04.2009 r. i została zakwalifikowana do druku 30.04.2009 r.

**Adres do korespondencji:**

Zakład Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej  
Instytut Hematologii i Transfuzjologii  
Chocimska 5  
00-957 Warszawa  
email ebrojer@ihit.waw.pl