KLINIČKO I EPIDEMIOLOŠKO ZNAČENJE OKULTNE HEPATITIS B VIRUSNE INFEKCIJE U DOBROVOLJNIH DAVATELJA KRVI

Samardžija, Marko

Doctoral thesis / Disertacija

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:762332

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Medicine Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Marko Samardžija

KLINIČKO I EPIDEMIOLOŠKO ZNAČENJE OKULTNE HEPATITIS B VIRUSNE INFEKCIJE U DOBROVOLJNIH DAVATELJA KRVI

Doktorska disertacija

Osijek, 2020.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Marko Samardžija

KLINIČKO I EPIDEMIOLOŠKO ZNAČENJE OKULTNE HEPATITIS B VIRUSNE INFEKCIJE U DOBROVOLJNIH DAVATELJA KRVI

Doktorska disertacija

Osijek, 2020.

Rad je ostvaren u Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu, Odjelu za molekularnu dijagnostiku, NAT laboratoriju.

Dobiveni su podatci iz savjetovališta za krvlju prenosive bolesti ovlaštenih zdravstvenih ustanova RH za prikupljanje, proizvodnju, testiranje, čuvanje i distribuciju krvnih pripravaka.

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Domagoj Drenjančević, dr. med., specijalist kliničke mikrobiologije.

Rad ima listova 88, tablica 30, slika 1.

PREDGOVOR

Zahvaljujem mentoru izv. prof. dr. sc. Domagoju Drenjančeviću na savjetima i podršci.

Zahvaljujem Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu kao ustanovi i osoblju na susretljivosti te stručnim savjetima.

Zahvaljujem svojoj obitelji na podršci i razumijevanju.

SADRŽAJ

1. UVOD 1

1.1. VIRUSNI HEPATITISI 3

1.2. VIRUSNI HEPATITIS B 8

1.2.1. Klasifikacija i struktura virusa hepatitisa B 8

1.2.2. Patogeneza HBV infekcije 10

1.2.3. Epidemiologija HBV infekcije 12

1.2.4. Prirodni tijek bolesti HBV infekcije 15

1.2.5. Okultna hepatitis B virusna infekcija 19

1.2.6. Dijagnostika HBV infekcije 21

1.2.7. Profilaksa HBV infekcije 25

1.2.8. Liječenje HBV infekcije 27

1.3. DOBROVOLJNI DAVATELJI KRVI 28

2. HIPOTEZA 29

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA 30

4. ISPITANICI I METODE 32

4.1. USTROJ STUDIJE 32

4.2. ISPITANICI 32

4.3. METODE 33

4.4. STATISTIČKE METODE 41

5. REZULTATI 42

6. RASPRAVA 64

7. ZAKLJUČCI 76

8. SAŽETAK 78

9. SUMMARY 80

10. LITERATURA 82

11. ŽIVOTOPIS 87

POPIS KRATICA KORIŠTENIH U RADU

AuAg - Australija antigen

„anti - HBc only“, engl. – osobe samo s pozitivnim testom anti - HBc

Anti - HBc - protutijelo na jezgrin *(*engl. *core, c)* antigen hepatitisa B

Anti - HBc IgM - protutijelo na jezgrin *(*engl. *core, c)* antigen hepatitisa B razreda IgM

Anti - HBc IgG - protutijelo na jezgrin *(*engl. *core, c)* antigen hepatitisa B razreda IgG

Anti - HBe - protutijelo na antigen ovojnice *(*engl. *envelope, e)* virusa hepatitisa B

Anti - HBs - protutijelo na površinski *(*engl. *surface, s)* antigen virusa hepatitisa B

ALT - alanin - transaminaza

AST - aspartat transaminaza

cccDNK - engl. *covalently closed circular deoxyribonucleic acid*, kovalentno zatvorena prstenasta deoksiribonukleinska kiselina

CTL - engl. *cytotoxic T lymphocyte,* citotoksični T limfociti

DDK - dobrovoljni davatelj krvi

EIA - engl. *enzyme immunoassay*, enzimski imunotest

HBcAg - engl. *hepatitis B core antigen*, jezgrin antigen virusa hepatitisa B

HBcrAg - engl. *hepatitis B core related antigen*, antigen povezan s jezgrinim antigenom virusa hepatitisa B

HBeAg - engl. *hepatitis B envelope antigen*, antigen ovojnice virusa hepatitisa B

HBsAg - engl. *hepatitis B surface antigen*, površinski antigen virusa hepatitisa B

HBV - virus hepatitisa B

HBV DNK - deoksiribonukleinska kiselina virusa hepatitisa B

HCC - engl. *hepatocellular carcinoma*, hepatocelularni karcinom

HCV RNK - ribonukleinska kiselina virusa hepatitisa C

HCV - virus hepatitisa C
HDV - virus hepatitisa D

HIV - engl. *human imunodefficiency virus*, virus humane imunonedostatnostiHIV1 RNK - ribonukleinska kiselina virusa humane imunonedostatnosti

HZTM - Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu ID - NAT - engl. *individual donor - nucleic acid testing,* pojedinačni test amplifikacije nukleinskih kiselina davatelja krvi

KZTM KBCO - Klinički zavod za transfuzijsku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek

mRNK - engl. *messenger ribonucleic acid*, glasnička ribonukleinska kiselina

NAT - engl. *nucleic acid testing,* testiranje za detekciju nukleinskih kiselina

OBI - engl. *occult hepatitis B infection,* okultna hepatitis B virusna infekcija

OBŽ - Osječko-baranjska županija

PCR - engl. *polymerase chain reaction*, lančana reakcije polimeraze

RH - Republika Hrvatska

RT - engl. *reverse transcriptase*, reverzna transkriptaza

SAD - Sjedinjene Američke Države

TMA - engl. *transcription mediated amplification,* umnažanje putem prijepisa.

POPIS TABLICA

Tablica 1. 1.	Rizične skupine za infekciju virusom hepatitisa B	…….	4
Tablica 1. 2.	Rizične skupine za infekciju virusom hepatitisa C	…….	5
Tablica 1. 3.	Tumačenje rezultata testova virusa hepatitisa B	…….	24
Tablica 4. 1.	Minimalni volumen uzorka krvi	…….	36
Tablica 4. 2.	Osjetljivost testa Procleix Ultrio Plus	…….	38
Tablica 5. 1.	Raspodjela rezultata pojedinačnog testa amplifikacije nukleinskih kiselina davatelja krvi po godinama	…….	42
Tablica 5. 2.	Raspodjela ponovljenih reaktivnih rezultata u svih dobrovoljnih davatelja krvi po godinama i serološkom testiranju	…….	43
Tablica 5. 3.	Raspodjela potvrdno pozitivnih rezultata kod svih dobrovoljnih davatelja krvi po godinama i serološkom testiranju	…….	44
Tablica 5. 4.	Raspodjela potvrdno pozitivnih rezultata kod novih dobrovoljnih davatelja krvi po godinama i serološkom testiranju	…….	44
Tablica 5. 5.	Raspodjela potvrdno pozitivnih rezultata u odnosu na to jesu li višestruki ili novi dobrovoljni davatelji krvi i prema serološkom testiranju u pojedinoj godini	…….	46
Tablica 5. 6.	Raspodjela okultne hepatitis B virusne infekcije prema ovlaštenim zdravstvenim ustanovama	…….	48
Tablica 5. 7.	Raspodjela okultne hepatitis B virusne infekcije prema spolu i ovlaštenoj zdravstvenoj ustanovi	…….	49
Tablica 5. 8.	Raspodjela slučajeva okultne hepatitis B virusne infekcije prema dobi dobrovoljnih	…….	49

	davatelja krvi		
Tablica 5. 9.	Razina deoksiribonukleinske kiseline virusa hepatitisa B u uzorcima krvi dobrovoljnih davatelja	…….	50
Tablica 5. 10.	Razina deoksiribonukleinske kiseline virusa hepatitisa B u uzorcima krvi dobrovoljnih davatelja	…….	50
Tablica 5. 11.	Razina deoksiribonukleinske kiseline virusa hepatitisa B u uzorcima krvi dobrovoljnih davatelja	…….	51
Tablica 5. 12.	Raspodjela „*window perioda*“ prema testiranju amplifikacije nukleinskih kiselina uzoraka krvi dobrovoljnih davatelja u Republici Hrvatskoj	…….	52
Tablica 5. 13.	Raspodjela okultne hepatitis B virusne infekcije prema godinama i molekularnom testiranju	…….	52
Tablica 5. 14.	Prikaz broja dobrovoljnih davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom u odnosu na obavljena savjetovanja po ovlaštenim zdravstvenim ustanovama	…….	53
Tablica 5. 15.	Prikaz ukupnog broja obavljenih savjetovanja davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama	…….	54
Tablica 5. 16.	Podatci iz osobne anamneze davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama	…….	54
Tablica 5. 17.	Podatci iz obiteljske anamneze davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama	…….	55
Tablica 5. 18.	Izloženost davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom operativnim zahvatima i drugim medicinskim intervencijama u svim	…….	56

	ovlaštenim zdravstvenim ustanovama		
Tablica 5. 19.	Vrste operativnih zahvata davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama	…….	57
Tablica 5. 20.	Broj operativnih zahvata po davatelju krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama	…….	58
Tablica 5. 21.	Broj davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom koji su imali kućne kontakte s virusom hepatitisa B pozitivnim osobama u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama	…….	58
Tablica 5. 22.	Podatci o spolnim kontaktima davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama	…….	59
Tablica 5. 23.	Ocjena zdravstvenog stanja davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom na savjetovanju u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama	…….	60
Tablica 5. 24.	Podatci o postupanjima transfuzijske službe Republike Hrvatske u slučajevima detektirane okultne hepatitis B virusne infekcije u dobrovoljnih davatelja krvi	…….	61
Tablica 5. 25.	Raspodjela trajno odgođenih dobrovoljnih davatelja krvi prema broju davanja krvi u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek i ostale 4 županije u razdoblju od 2013. do 2016. godine	…….	63

POPIS SLIKA

Slika 5. 1. Raspodjela okultne hepatitis B virusne infekcije prema godinama …… 47

1. UVOD

Transfuzijsko je liječenje lijekovima proizvedenim iz ljudske krvi najznačajniji dio transfuzijske medicine i sastavni dio brojnih medicinskih postupaka. Od transfuzijskog se liječenja očekuje da uvijek pomogne bolesniku i nikada ne izazove štetne posljedice. Ovo je liječenje najčešće uspješno, ali su moguće pogrješke, nuspojave i štetni događaji koji mogu nanijeti štetu bolesniku ili čak uzrokovati smrt bolesnika (1).

Upravo je zbog opasnosti od nuspojava transfuzijska djelatnost, više nego i jedna druga medicinska struka, regulirana zakonima, propisima i medicinskim standardima.

Zdravstvene ustanove koje proizvode krvne pripravke trebaju uz zakone i stručne standarde primjenjivati i zahtjeve dobre prerađivačke prakse.

U Hrvatskoj su krv, krvni pripravci i derivati plazme zakonski izjednačeni s lijekovima

Odgovornost za štetne nuspojave koje su nastale tijekom transfuzijskog liječenja zbog pogriješnog rukovanja ili transfundiranja (zbog neznanja ili nehaja) snosi zdravstvena ustanova u kojoj se bolesnik liječi (1).

Virusi, bakterije, paraziti, gljivice i prioni uzročnici su zaraznih i krvlju prenosivih bolesti. Gotovo nema krvi odrasle osobe u kojoj se ne nalaze aktivni ili latentni i replikativno sposobni mikroorganizmi.

Virusi su jedinstveni primjer infektivnih uzročnika čije se osobitosti temelje na jednostavnoj građi, načinu umnožavanja i nestaničnom ustrojstvu. Povijest suvremenog istraživanja virusnih hepatitisa, a ujedno i sustavna prevencija krvlju prenosivih zaraznih bolesti, započinje otkrićem Australija antigena (AuAg) 1963. godine dobitnika Nobelove nagrade Barucha S. Blumberga. AuAg je bio prvi specifični biljeg virusnog hepatitis, površinski antigen virusne ovojnice (HBsAg, „s“ kao engl. *surface*), a virusni hepatitis tipa B zamašnjak razvoja suvremene virusne dijagnostike i cijepljenja (2, 3).

Otkriće Almeide o razvoju anti - HBc tijekom akutne zaraze hepatitisom B ubrzo su potvrdili drugi istraživači, osobito Jay Hoofnagle. Prvi su komercijalni testovi anti - HBc (enzimunoesej) primjenjeni 1982. g. Anti - HBc se slijedećih godina prolazno smatrao i surogatnim testom u dobrovoljnih davatelja krvi za virusom hepatitisa C (HCV, od engl.

hepatitis C virus) koja se još nije mogla dijagnosticirati i HIV zbog djelomičnog preklapanja puteva prijenosa ovih virusa te biljegom okultne virusne infekcije hepatitisom B (OBI) (2).

P. Beeson je 1943. g. opazio da se hepatitis prenosi transfuzijama krvi. Testiranje krvi na uzročnike krvlju prenosivih bolesti danas je ograničeno samo na nekolicinu uzročnika. To su uzročnici kroničnih, najčešće asimptomatskih koje davatelji ne prepoznaju, a koji se lako prenose krvlju i mogu u primatelja izazvati kroničnu bolest ili smrt.

Zakonom su obvezni serološki testovi kojima se dokazuje prisutnost HBsAg, anti - HCV, HIV Ag / At i protutijela na uzročnika sifilisa (anti - TP, TP *Treponema Pallidum)*) pri svakoj donaciji krvi. U Republici Hrvatskoj (RH) se godišnje serološki testira više od 190.000 uzoraka krvi dobrovoljnih davatelja (4). Značajke su uzročnika bolesti koje se prenose transfuzijama krvi sljedeće: uzročnik se nalazi u krvi, dugo razdoblje inkubacije, asimptomatski tijek bolesti, nakon ozdravljenja zaražena osoba ostaje kliconoša, uzročnik se prenosi spolnim kontaktima, uzročnik bolesti ne ugiba u konzerviranoj krvi i u derivatima plazme te je broj zaraznih uzročnika u dozi krvi dostatan da nadvlada bolesnikovu obranu (1, 3).

U cilju je postizanja veće sigurnosti i podizanja razine kakvoće transfuzijskog liječenja Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu počeo testirati uzorke davatelja krvi iz cijele RH novim, molekulskim postupkom NAT (engl. *Nucleic Acid amplification Technique* - Tehnike umnažanja nukleinskih kiselina) u ožujku 2013. g. NAT je vrsta molekularnih metoda za dokazivanje virusnih DNK i RNK u krvi (plazmi). U RH se davatelji krvi obvezno ispituju pri svakom davanju krvi Multiplex ID - NAT testom (ID - NAT): NAT kojim se istovremeno u pojedinačnim uzorcima davatelja krvi dokazuju HIV1 / 2 - RNK, HCV - RNK, HBV - DNK i genomi drugih virusa, zavisno o proizvođaču i potrebama korisnika. U slučaju reaktivnosti u Multiplex ID - NAT testu radi se Diskriminacijski NAT test (d NAT) - NAT kojim se uz pomoć specifičnih klica (engl. *primera*) odredi koji je od virusnih genoma bio uzrokom reaktivnosti. Radi se o istoj metodici kao u ID - NAT - u samo su klice specifične za pojedini virusni genom.

Rezultati testiranja vežu se uz davatelja krvi i dozu krvi putem Nacionalnog informatičkog sustava transfuzijske službe RH e - Delphyn.

1.1. Virusni hepatitisi

Virusne su zaraze značajan uzrok bolesti jetre u cijelom svijetu. Utvrđeno je da postoji pet primarnih virusa hepatitisa: A, B, C, D i E. Drugi virusi, kao što su citomegalovirus, Ebstein - Barrov virus te lijekovi, toksini, autoimuni hepatitis i Wilsonova bolest mogu uzrokovati akutni ili kronični hepatitis. Svaki virus hepatitisa može uzrokovati akutni hepatitis, ali samo virusi hepatitisa B, C, D mogu uzrokovati kronični hepatitis (5).

Virusni se hepatitisi međusobno razlikuju po uzročniku, načinu prijenosa, trajanju bolesti i njezinim posljedicama, ali imaju i zajedničko obilježje, a to je veliki udio asimptomatskih slučajeva zaraze i niska svijest opće populacije i skupina s povećanim rizikom o stjecanju zaraze. Prema Svjetskoj je zdravstvenoj organizaciji (SZO) 1 od 12 osoba zaražena virusom hepatitisa B ili C, a da to ne zna. Zbog toga su Europsko središte za nadzor bolesti i SZO pokrenuli akciju podizanja svijesti o virusnom hepatitisu koja ide za tim da se što veći broj ljudi u kojih je prepoznat rizik od ovih infekcija identificira i liječi. Svi virusni hepatitisi izazivaju iste ili slične simptome bolesti kao i slične biokemijske promjene u krvi (žutica, bol u trbuhu, mučnina, povraćanje, promjena boje stolice i mokraće, porast određenih enzima, bilirubina i dr.) i na temelju toga ih se ne može razlikovati niti dijagnosticirati (6).

Točna je dijagnoza od presudne važnosti jer su ishod bolesti, prognoza i liječenje značajno drukčiji. Dok infekcija virusom hepatitisa A i E prolazi najčešće bez posljedica, infekcija virusom hepatitisa B, C, D ili E može odvesti u kronično jetreno oštećenje s opasnim posljedicama – cirozom i karcinomom jetre. Kod virusom hepatitisa B (HBV, od engl. *hepatitis B virus*) to se događa u oko 5 - 10 % inficiranih, a kod zaraze HCV - om u 80 - 90 % zaraženih (6).

Samo je mali broj bolesnika sa simptomima HBV - om ili HCV - om koji ih odvede liječniku. Stoga osobe koje su bile u rizičnoj situaciji za mogući prijenos ovih virusa (kontakt s krvlju, korištenje tuđe šprice kod intravenskih ovisnika o drogi, homoseksualni odnos, rizični heteroseksualni kontakti, boravak u područjima velike proširenosti ovih virusa, postojanje HBV - om ili HCV - om unutar članova obitelji, trudnice koje su preboljele virusni hepatitis) trebaju biti testirane (6). U tablicama 1. 1. i 1. 2. prikazane su rizične skupine za stjecanje HBV i HCV infekcije. U Hrvatskoj su, kao i u SAD – u te drugim

zemljama, najčešći put prijenosa ovih infekcija spolni put i intravensko uzimanje droga (2,7,8).

Tablica 1. 1. Rizične skupine za infekciju virusom hepatitisa B

Rizične skupine za HBV
Osobe s povišenom aktivnošću jetrenih enzima ili hepatitisom
Bolesnici s cirozom, fibrozom ili hepatocelularnim karcinomom
Ovisnici o IV drogama, sadašnji ili bivši
Osobe koje su dulje vrijeme boravile u zatvoru
Bolesnici na hemodijalizi
Promiskuitetne homo i heteroseksualne osobe
Spolni partneri i ukućani zaraženih HBV- om
Štićenici i djelatnici zavoda za mentalno oštećene
Osobe zaražene HIV - om ili HCV - om
Bolesnici prije, tijekom i nakon imunosupresivne terapije i kemoterapije
Useljenici iz područja visoke prevalencije HBV - a

HBV - hepatitis B virus, IV - intravenoznim, HIV - od engl. *Human Iimunodeficieny Virus*, virus humane nedostatnosti, HCV - hepatitis C virus

Tablica 1. 2. Rizične skupine za infekciju virusom hepatitisa C

Rizične skupine za HCV
Osobe s povišenim jetrenim enzimima ili hepatitisom
Bolesnici s cirozom, fibrozom i HCC
Ovisnici o IV drogama, sadašnji i bivši
Osobe koje su dulje vrijeme boravile u zatvoru
Bolesnici na hemodijalizi
Osobe koje su dugotrajno liječene perkutanim injekcijama
Osobe koje su bile izložene invazivnim medicinskim, dentalnim i paramedicinskim postupcima u zemljama velike HCV prevalencije i loše zdravstvene usluge
Osobe koje su primale transfuziju krvi prije 1993. u EU / RH ili koje su primale krv izvan EU / RH ikada
Hemofiličari liječeni fakorima zgrušavanja prije 1987.
HIV - om zaražene osobe
Osobe koje su uzimale intranazalno kokain
Osobe s *body piercingom* napravljenim u nehigijenskim uvjetima
Djeca HCV pozitivnih majki
Zdravstveni djelatnici koji provode postupke koji mogu dovesti do zaraze

HCC - hepatocelularni karcinom, IV - intravenoznim, EU - Europska unija, RH - Republika Hrvatska, HIV - od engl. *Human Imunodeficieny Virus*, virus humane nedostatnosti, HCV - hepatitis C virus

Infekcija hepatitis B i hepatitis C virusima je općenito uzrok značajnog pobola i smrtnosti. Globalna je prevalencija hepatitisa B oko 5 % (1,3 - 13%), a hepatitisa C 3 % (0,5 - 13 %). U SZO-u se u europskom području računa da 13,3 milijuna odraslih ljudi (1,8 %) ima HBsAg, a 15 milijuna (2,0 %) HCV RNK (7). U Hrvatskoj su procjene da je oko 2 % stanovništva zaraženo HBV-om, a oko 1,6 % HCV-om. U mnogim zemljama, pa tako i u Hrvatskoj, došlo je do opadanja akutnog hepatitisa B i C što se povezuje s uvedenim cijepljenjem protiv HBV - a i unapređenjem medicinske djelatnosti *per se* (8). Godišnje u svijetu oboli oko 1,4 milijuna ljudi od hepatitisa A i oko 20 milijuna od hepatitisa E, najčešće u područjima s nedostatnim sanitarnim uvjetima, zbog zagađenja vode za piće ili hrane. U Europi na virusni hepatitis E otpada oko 5 % svih slučajeva virusnog hepatitisa, a seroprevalencija među zdravim stanovništvom varira od 0 - 10 %. Preventivno se za hepatitis A i E virus provodi zaštita cijepljenjem. Bolesnici se s nejasnim akutnim ili kroničnim hepatitisom trebaju testirati na IgM anti - HEV protutijela. Hepatitis E se posljednjih godina javlja u Hrvatskoj kao posljedica uzimanja nedovoljno termički obrađenog mesa svinja zaraženih ovim virusom (9). Hepatitis D ili delta (HDV, od engl. *hepatitis D virus)* ima 5% bolesnika kronično zaraženih virusom hepatitisa B. Endemskim područjem za HDV smatra se Mediteran, središnja Afrika i područje rijeke Amazone, a nova žarišta su Japan, Kina i Zapadna Indija. U Hrvatskoj populaciji kroničnih HBV nositelja tek 1,6 % ima biljege ove. Mjere prevencije za HDV provode se HBV cjepivom i imunoprofilaksom hiperimunim HB imunoglobulinom (10).

Komorbiditet je HBV / HIV i HCV / HIV važan s gledišta liječenja virusnog hepatitisa. Oko 10 % bolesnika inficiranih HIV - om ima kroničnu HBV infekciju, a čak 25 % bolesnika s HIV - om ima kroničnu HCV, što globalno znači 1 odnosno 11 milijuna ljudi. HIV dovodi do bržeg napredovanja u kroničnu jetrenu bolest, brže pojave fibroze i jetrene dekompenzacije. Virusni je hepatitis kao kronična bolest veliko opterećenje za zdravstvo mnogih zemalja. U Hrvatskoj se godišnje izdvoji oko 3,4 milijuna $ za liječenje virusnog

hepatitisa, koje se provodi prema prihvaćenim smjernicama i u Hrvatskoj dostupnim lijekovima.

Virusni hepatitis podliježe prijavi i epidemiološkom nadzoru. Praćenjem je trendova u pobolu i nositeljstvu moguće ocijeniti učinkovitost preventivnih mjera poput cijepljenja opće populacije i skupina visokog rizika, testiranja davatelja krvi, organa i tkiva, nadzora nad bolničkim infekcijama, testiranja trudnica i imunoprofilakse novorođenčadi inficiranih majki za HBV ili programa prevencije HCV poput izmjena igala kod intravenskih narkomana, besplatnog i anonimnog testiranja i slično. Postoje razlike u praćenju i epidemiološkom nadzoru među zemljama Europske unije. Iako se bazični podatci kao npr. dob, spol, mjesto prebivanja, datum pojavljivanja, datum hospitalizacije, rizični čimbenici itd. prikupljaju u većini zemalja, postoji velika heterogenost u samom nadzoru između zemalja i stoga je nužno usklađivanje svih podataka radi planiranja strategije nadzora virusnih hepatitisa (11).

Poznavanje epidemiologije virusnih hepatitisa je preduvjet predlaganja prikladnih mjera sprječavanja i suzbijanja bolesti. Uvijek je vrlo važno uzeti u obzir osobitosti vlastite populacije. Incidencija je i prevalencija virusnih hepatitisa u Hrvatskoj u padu (12).

1.2. Virusni hepatitis B

1.2.1. Klasifikacija i struktura virusa hepatitisa B

Virus hepatitisa B (HBV) pripada porodici *Hepadnaviridae* (hepa + DNK + virus) koji inficiraju ljude i neke vrste životinja (istočnoamerički svizac, vjeverice, patke i čaplje). Promjer viriona, Dane-ove čestice, je 42 nm, lipidnog je vanjskog omotača i iznimno je otporan na visoke i niske temperature (15 godina na - 20^{o} C i 4 dana na 60^{o} C, na sobnoj temperaturi u sasušenoj krvi do tjedan dana), na alkohol i ultraljubičasto zračenje, a osjetljiv na glutaraldehid i formalin (13). Genom HBV - a je djelomično dvostruk kružni DNK s kovalentno vezanom virusnom polimerazom. Genom je ovijen bjelančevinama nukleokapside HBc Ag koji se sazrijevanjem otcjepljuje i kao topiv isplavljuje u krv. HBV genom se osim u virionu nalazi i u jezgri zaraženog hepatocita u obliku kovalentno zatvorene virusne DNK (cccDNA), koja predstavlja izvor za *de novo* replikaciju virusa nakon prekidanja antivirusnog liječenja ili reaktivaciju hepatitisa B u imunokompromitiranih bolesnika. Vanjski omotač virusa čini HBs antigen (HBsAg), osnovna je mala molekula sastavljena od 226 aminokiselina (AK), ali javlja se i kao srednja (281 AK) i velika molekula (334 - 345 AK). Iako je HBsAg glavni imunogen po kojem se prepoznaje HBV, još je jači HBcAg koji ima svojstvo izravne B stanične stimulacije. To je razlog zašto uvijek dokazujemo protutijela na HBcAg. Svi se hepadnavirusi razmnažaju pomoću DNK - polimeraze (13).

Genom virusa sadrži dugi negativni - DNK lanac i kraći pozitivni -DNK lanac varijabilne dužine. Negativni lanac kodira četiri otvorena okvira za čitanje (engl. *Open Reading Frames*, ORF) koji se razlikuju u dužini i kodiraju sve virusne proteine: S - ORF (ima tri startna kodona, preS1, preS2 i S, posttranslacijski daje tri proteina), C - ORF (gen sadrži dva startna kodona za translaciju dva različita proteina, HBeAg i HBcAg), POL - ORF (kodirajuća regija za virusnu polimerazu koja djeluje kao početni protein vezan za genom) i X - ORF (odgovoran za translaciju u X protein, važna uloga u karcinogenezi i replikaciji virusa) (13,14).

HBV ima deset puta veću razinu mutacija genoma od drugih DNK virusa što je vrlo važno u njegovoj detekciji. Visoka razina griješke HBV reverzne transkriptaze (RT) uzrokuje učestalu nukleotidnu supstituciju tijekom virusne replikacije, rezultirajući genskom raznolikošću u obliku genotipova, subgenotipova, kvazivrsta i velikog broja mutacija (14).

Mutacije mogu nastati spontano ili pod utjecajem različitih čimbenika kao npr. cjepiva, antivirusnih lijekova, monoklonskih protutijela, hepatitis B imunoglobulina (HBIG). Mutacije se nalaze kod akutnog hepatitisa, fulminantnog hepatitisa, kroničnog hepatitisa kao i kod reinfekcije nakon transplantacije jetre i u imunokompromitiranih osoba. Najčešća mutacija na lijekove je mutacija nakon dugotrajnog uzimanja analoga nukleozida (lamivudin) u YMDD - sekvenciji polimeraze. Postoje četiri klinički relevantna tipa virusa: divlji HBV, pre - core - mutacija, core - promotor - mutacija i YMDD mutacija (13).

DNK sekvencioniranje je otkrilo postojanje brojnih genotipova virusa, označenih od A do J, od kojih svaki ima karakterističnu zemljopisnu raspodjelu. U zapadnoj Europi je najzastupljeniji genotip A, a u području Mediterana genotip D. U Hrvatskoj dominira genotip D (80%) i A (20%) (13).

Iako 10 genotipova (A - J) međusobno dijele visoku homolognost slijeda nukleotida (93%), različitim genotipovima se razlikuju u kliničkoj slici i ishodu bolesti. Istraživanja u Europi su pokazala da je genotip A sa značajno većom učestalošću biokemijske remisije, HBV DNK i HBsAg čišćenja u bolesnika s kroničnom HBV u odnosu na genotip D (14).

1.2.2. Patogeneza HBV infekcije

Nakon ulaska u čovječji organizam i viremije, virus dolazi u jetru, ondje se veže za receptor na staničnoj membrani nakon čega slijedi penetracija u hepatocit te replikacija virusa pri čemu progenska RNK služi za sintezu genomske DNK i virusnih bjelančevina. U jezgri nastaje kovalentno zatvorena prstenasta DNK (od engl. ccc - DNA - *covalently closed circle DNA*) koja služi kao mini - kromosom prema kojemu se sintetizira potpuna molekula RNK, koju polimeraza zapakira u virusnu česticu unutar koje reverzna transkriptaza (RT) sintetizira novi DNK genom. Iz tog razloga ccc - DNK u jezgri hepatocita može u svakom trenutku potaknuti replikaciju virusa. Gotov virus pupanjem izlazi na površinu hepatocita i može inficirati drugu stanicu (13). O imunosnom odgovoru domaćina ovisi klinička slika i ishod infekcije koji se mogu javiti u dva oblika: replikativni, s gotovim potpunim virusnim česticama i nereplikativni gdje dolazi do stvaranja samo HbsAg - a (inaktivni nositelji) (13).

Patogenezu čine četiri faze:

1. tolerancija prema virusu - obilježena je visokom razinom HBV DNK s malo ili bez simptoma, normalnim jetrenim enzimom alanin aminotransferazom (ALT) i minimalnom histološkom aktivnosti u jetri, bez fibroze ili sa slabo izraženom fibrozom (kod akutne zaraze ovo razdoblje odgovara inkubaciji, kod neonatalne može trajati desetljećima), bolesnik je jako infektivan i lako prenosi HBV;
2. imunosna faza - obilježava ju nekroza hepatocita posredovana imunosnim odgovorom, razina HBV DNK u krvi pada, ALT raste, a fibroza napreduje, može trajati nekoliko mjeseci do nekoliko godina;
3. faza eliminacije - obilježena je smanjenjem replikacije virusa i njegovom eliminacijom, serokonverzija HBeAg / anti – HBe obično znači završetak replikacije, nestanaka HBV DNK iz seruma, HBeAg iz jetre te biokemijsku i histološku remisiju u većine bolesnika (stanje inaktivnog nositeljstva može trajati godinama ili doživotno);
4. serokonverzija HbsAg - a - HBV DNK se ne može dokazati, stvaranje specifičnog odgovora u obliku protutijela anti - HBs, anti - HBe, anti - HBc, „dobar imunosni odgovor“, neke osobe imaju u jezgri hepatocita, stanicama gušterače i leukocitima periferne krvi cccDNK koja se u uvjetima imunosupresije može reaktivirati i dovesti ponovno do replikativne faze bolesti u 20 - 50 % kroničnih nositelja (13, 15).

Patogeneza HBV hepatitisa posljedica je reakcije imunog sustava na epitope HBc i HBs antigena na površini zaraženih hepatocita. Aktivirani stanični i humoralni imuni odgovor dovode do nekroze hepatocita. Ishod je reakcije uspostavljanje nadzora nad virusom ili kronična infekcija (13).

U patogenezi HBV-a važne su mutirane varijante HBV-a koje nastaju supstitucijama i delecijama nukleotida u genomu. Najvažnije su mutacije S gena, koji kodira HbsAg i C gena, koji kodira HBeAg. U S virusnih varijanti ne dolazi do vezanja neutralizirajućih HBsAg protutijela (anti - HBs) i HBsAg jer je promijenjena konformacija HBsAg molekule. Posljedica je toga moguća HBV cijepljenih i imunih osoba. Kod mutacije C gena nama izražaja HBeAg, zbog čega izostaje imuni odgovor na HBeAg koji rezultira duljim tijekom kronične HBV i većim napredovanjem u cirozu. D genotip je sklon ovoj mutaciji (13).

1.2.3. Epidemiologija HBV infekcije

Približno trećina svjetske populacije dođe za vrijeme života u kontakt s HBV - om, 350 - 400 milijuna ljudi ima perzistentnu HBV i, a 250 000 do 1,5 milijuna ljudi na godinu umre od kroničnih jetrenih bolesti koje su u vezi s HBV infekcijom.

HBV se ubraja u najčešće perzistentne i najvažnija je infektivna bolest u svijetu te predstavlja globalni javnozdravstveni problem (16, 17, 18, 19). Smrt od HBV nastupa zbog jetrenog zatajenja (fulminantni hepatitis, dekompenzirana ciroza) ili hepatocelularnog karcinoma (HCC) (20). Važnu ulogu u karcinogenezi imaju virusni čimbenici, genski čimbenici domaćina i čimbenici okoline, npr. toksini gljiva i alga, deficit selena u prehrani, itd. (21).

Virus je nađen u krvi, spermi, slini, fecesu, urinu, žuči, likvoru, znoju, majčinu mlijeku, suzama, vaginalnom sekretu, sinovijskoj tekućini i u krvi pupčanika (16).

HBe Ag - pozitivne osobe (> 106 viriona / ml) lakše prenose (i preko malih površinskih ozljeda) nego HBeAg - negativne osobe (< 102 viriona / ml) od kojih se bolest može prenijeti samo transfuzijom krvi (20).

Najčešći put prijenosa je parenteralni ili inaparentni parenteralni (krv i krvni pripravci, spolni kontakt, tetovaža, ovisnost o intravenskim drogama, bušenje ušiju, zajedničko korištenje pribora za osobnu higijenu i dr.), iznimno neparenteralni (azili za mentalno retardirane osobe, uski kućni kontakti), što je prikazano u tablici 1. 1. Bolest se može prenijeti od HBsAg - pozitivne majke na dijete intrauterino, za vrijeme prolaza kroz porođajni put, nakon rađanja dojenjem ili horizontalno u uskom kontaktu između majke i djeteta. Zagađenim iglama prenese se 8 do 16 milijuna HBV na godinu. Rizik od prijenosa nakon uboda na iglu onečišćenu krvlju HBsAg - pozitivne osobe je 23 - 67% ovisno o izvoru te HBeAg statusu (16). Tek su nakon nekoliko fatalnih prijenosa i stotine prenešenih od HBV pozitivnih liječnika koje su javno obznanjene uvedene restriktivne mjere, npr. maske za lice i zaštitne naočale, itd. kao i obvezna testiranja zdravstvenih radnika na HBsAg i anti - HBs. Mnogi su liječnici postali žrtve svojih profesionalnih aktivnosti kao što su od 70. - ih godina prošlog stoljeća zabilježene i prijave HBV prijenosa od zdravstvenih djelatnika s visokom viremijom na pacijente, najčešće tijekom ginekoloških, torakalnih i oralnih kirurških zahvata. U Njemačkoj su nakon 2000. godine gotovo svi HBsAg pozitivni liječnici bez obzira na viremiju isključeni iz svih aktivnosti s pacijentima koje uključuju npr. intravenske injekcije ili

uzimanje biopsija (2). Podatci iz Danske, Njemačke, Turske i Albanije pokazuju da je HBsAg prevalencija među zdravstvenim djelatnicima jednake razine kao u općoj populaciji (11).

U svijetu se razlikuju zone visoke prevalencije kroničnih nositelja (8 - 15 %), kao što su Azija, subsaharska Afrika, Južna i Srednja Amerika (4% svjetske populacije), zone srednje prevalencije (2 - 7 %), kao što su Hrvatska, neki dijelovi Rusije, granična euroazijska i azijsko-afrička područja (43% svjetske populacije) i zone niske prevalencije (0,5 - 1,5 %) kao što su Poljska, Češka, Slovačka, Belgija, Italija, Njemačka te manje od 0,5 %, kao što su Nizozemska, Mađarska, Slovenija, Norveška itd. Estonija se smatra visoko endemičnom zemljom jer ima visoku incidenciju slučajeva (33 / 100 000) (11).

U zonama visoke endemičnosti glavni je put prijenosa perinatalni ili horizontalni, dok je u područjima niske endemičnosti glavni put prijenosa spolni ili putem injekcija droga. Perkutani put prijenosa ostaje dominantan put za rizične skupine (zdravstveni djelatnici, policajci, zatvorenici, brijači, pedikeri, osobe koje se podvrgavaju akupunkturi, tetovaži, bušenju kože (piercing), neki profesionalni sportaši, vojnici, intravenski ovisnici, bolesnici i osoblje na dijalizi, putnici u područja visoke endemičnosti HBV - zaraze, osoblje i bolesnici hematoonkoloških odjela, bolesnici kojima je transplantiran organ ili tkivo HBsAg pozitivnog davatelja, promiskuitetne homoseksualne i heteroseksualne osobe, novorođenčad HBsAg - pozitivnih majki i kućni kontakti HBsAg pozitivnih osoba te štićenici i osoblje ustanova koje skrbe o mentalno retardiranim osobama) (13). Na dijalizi se inficira do 50% bolesnika i 30 - 40 % osoblja. Bolest se može prenijeti i preko uređaja za vađenje krvi iz prsta, respiratora, endoskopa, aspiratora, uređaja za dijalizu, ali i preko britve, pribora za jelo, dječjih bočica, četkica za zube, igračaka. Bliski obiteljski kontakt uključuje zajedničke četkice za zube, uređaje za brijanje, kontakt s eksudatom rana i sl. Način nije moguće utvrditi u oko 30% inficiranih (13).

Broj primo infekcija u Hrvatskoj godišnje nije točno poznat, broj kroničnih nositelja procjenjuje se na oko 65 000, više u muškaraca. Važno je napomenuti da su na području Zagreba do 1990. godine 20 % svih hospitaliziranih zbog akutnog hepatitisa B bili zdravstveni djelatnici iz visokorizičnih skupina, najčešće medicinske sestre. Znatno ih je manje od uvođenja cijepljenja 1987. godine (13).

U svijetu 10 - 30 % HBV infekcija prelazi u perzistentnu infekciju, od čega je 40% zdravih nositelja HBsAg, a 60% su bolesnici s kroničnim hepatitisom. Do 50% kroničnih hepatitisa može prijeći u cirozu, a od njih 10% se razvije u HCC. HBV izaziva gotovo 5 - 10% kroničnih bolesti jetre u SAD i zapadnoj Europi. Istraživanja na eksperimentalnom modelu i na ljudima pokazala su da postoji genska sklonost za razvoj kroničnog hepatitisa B. Razvoju kronične bolesti pridonose i prirodna ili stečena imunonedostatnost, niska infektivna doza virusa, loš socioekonomski standard, izloženost u ranoj dječjoj dobi, prehrambeni čimbenici, hepatotoksične tvari, mutacije virusa, muški spol, koinfekcija drugim hepatotropnim virusima, i dr. Bolesnici koji su HBV DNK, HBeAg i DNK polimeraza - pozitivni, nakon akutne faze bolesti češće dobiju perzistentnu infekciju (13).

Egzogeni čimbenici koji utječu na perzistenciju HBV-a su primjena kortikosteroida i imunosupresiva radi potiskivanja staničnog imunosnog odgovora ili izravnog utjecaja na virusnu replikaciju. Ovi lijekovi mogu dovesti i do reaktivacije latentne HBV infekcije U 2/3 primatelja bubrežnog presatka se razvije unutar 6 mjeseci nakon transplantacije, a u 27% takvih bolesnika dokazan je kronični hepatitis te u 33% ciroza jetre (13).

Incidencija je postransfuzijskog hepatitisa B značajno smanjena isključivanjem plaćenih davatelja krvi, uvođenjem obveznog serološkog testiranja na HBsAg i NAT testiranja. U Europi je rezidualni rizik dobivanja HBV putem transfuzija krvi 1 : 10 000 000 transfuzija krvi (11, 22). Razdoblje „prozora“ (engl. *„window period*“, WP) ostaje od velike važnosti budući su prema podatcima u SAD 0,4 % davatelja od 35 000 donacija bili davatelji s rizičnim ponašanjem u posljednja tri mjeseca prije doniranja krvi (22).

Iako su unatrag dva desetljeća učinjeni veliki koraci u smanjivanju rizika prijenosa uzročnika putem transfuzija krvi, HBV još uvijek predstavlja globalni rizik u transfuzijskoj medicini. Rezidualni rizik HBV-a nije ograničen samo na prijekonverzijski WP već je povećan obuhvaćajući davatelje krvi s okultnom zarazom HBV. Više je od trideset godina poznato da HBsAg negativni i anti - HBc pozitivni davatelji krvi mogu prenijeti HBV (23).

Prijenos HBV - a od davatelja je prvi puta opisana 1978. g. U Europi je učestalost HBV - DNK pozitivnih, HBsAg negativnih donacija 1 : 102 459 testiranih. Odnos donacija uzetih od davatelja u WP i davatelja s OBI varira. U Poljskoj je odnos 16 % WP: 84 % OBI. U američkim je istraživanjima većina davatelja s HBV - DNK pozitivnim, HBsAg negativnim

rezultatima bila cijepljena protiv HBV, ali u subkliničkoj zbog HBV inficiranih spolnih partnera. Većina OBI davatelja krvi osim HBV DNK ima prisutna i anti - HBs protutijela, o čijem titru ovisi i sposobnost infekcije primatelja (24, 25).

U Hrvatskoj je rizik potencijalno infektivnih donacija krvi mnogo veći za HBV nego za HCV i HIV. Gotovo je 98 % hrvatskih OBI davatelja bilo anti - HBc pozitivno (26).

1.2.4. Prirodni tijek bolesti HBV infekcije

Primarna infekcija

Nakon inkubacije od prosječno 75 dana (28 - 180 dana), akutni virusni hepatitis B javlja se u 30 - 50% slučajeva u obliku simptomatske bolesti sa žuticom. Bolest je u djece blaža nego u odraslih, samoograničena i traje oko 3 mjeseca (95 - 99%). Izuzetak su djeca koja se inficiraju prije prve godine života, u kojih se u 80 - 90% slučajeva razvije kronična infekcija. Težina akutne kliničke slike ne korelira s kroničnom kliničkom slikom (27).

Najvažniji su simptomi umor, gubitak teka, mučnina, rjeđe povraćanje te osjećaj težine u epigastriju i / ili pod desnim rebrenim lukom. Vrućica se javlja rijetko i nikada ne prelazi 38 °C. Simptomi obično traju 2 - 7 dana. U 5 - 20% oboljelih s akutnim B hepatitisom izraženi su u početnom stadiju izvanjetreni znakovi bolesti, koji se mogu javiti i nekoliko tjedana prije pojave žutice (simptomi nalik serumskoj bolesti uz bol u malim zglobovima, svrbež kože i urtikariju). Klinički se može naći palpabilna umjereno bolna jetra, rijetko povećana slezena, lagano povećani limfni čvorovi na vratu i umjerena bolnost u epigastriju. U ikteričnim oblicima bolesti nalaze se tamnija, obično smeđecrvena mokraća i svjetlija stolica. Žutica može trajati do 12 tjedana, obično kraće u djece i mlađih odraslih osoba. Na samom početku bolesti nema porasta serumskih aminotransferaza što upućuje na činjenicu da virus primarno ne oštećuje jetru. Enzimi rastu s razvojem citotoksičnih T limfocita koji uzrokuju nekrozu hepatocita. Nekrozu prati pad titra virusa u krvi i u hepatocitima, no klirens virusa iz hepatocita može nastati i bez njihove nekroze. Nakon toga nestaju HBsAg i HBeAg, a pojavljuje se cirkulirajući anti - HBs (28, 29).

Fulminantni se hepatitis javlja u 0,1 - 1 % bolesnika i češći je u drugom i trećem desetljeću života. Nastaje zbog snažnog imunosnog odgovora koji dovodi do masivne nekroze

hepatocita, a u onih koji prežive nastaje brzi klirens virusa. Sliku obilježava akutno jetreno zatajenje s moždanim edemom, poremećajem svijesti do kome, difuznim krvarenjima, metaboličkim poremećajima, razvojem hepatorenalnog sindroma i kardiopulmonalnim komplikacijama. Gotovo 50% bolesnika umire unutar 10 dana, a 75% unutar 3 tjedna od početka bolesti. Na fulminantni hepatitis upućuju klinički visoka vrućica, napredujuća žutica, meteorizam, razvoj ascitesa, asteriksis i progresivni poremećaj mentalnih funkcija sve do kome (30). Početna istraživanja pokazuju da su precore i core promotorne varijante povezane s težim oblicima jetrene bolesti i hepatocelularnim karcinomom. Sugerira se da ove varijante rezultiraju fulminantnim oblikom zbog pojačane HBV replikacije ili značajno agresivnijeg imunog odgovora (31).

Anikterični inaparentni oblik nije praćen kliničkim simptomima, nego porastom serumskih aminotransferaza koji pak u malog broja HBV izostaje, pa je detekcija moguća samo serološkim testovima. Opisane su komplikacije od strane središnjega živčanog sustava (polineuropatija, serozni meningitis, mijelitis, Guillain - Barréov sindrom), hematopojetskog sustava (neutropenija, agranulocitoza, trombocitopenija, aplastična anemija, pancitopenija), pankreatitis, bubrežno zatajenje (glomerulonefritis, membranska nefropatija, nefrotički sindrom) i druge (29).

Perzistentna infekcija

Kronična infekcija virusom HB se definira prisutnošću HBV - DNK i HBsAg u krvi dulje od 6 mjeseci od pojave simptoma ili dijagnoze akutne HBV zaraze. Stanje kronične zaraze razvija se kroz 4 faze tijekom kojih se mijenja imuni odgovor i replikacijska sposobnost virusa i kroz koje se razvijaju kronični oblici hepatitisa B (27).

Prirodni je tijek kroničnog hepatitisa posljedica međudjelovanja između virusne replikacije i imunosnog odgovora domaćina. Rizik od razvoja kronične bolesti ovisi o dobi kada je nastala (u perinatalnom razdoblju 90 - 95 %, u dobi 1 - 5 godina 30 %, nakon 5. godine 1 - 10%, u odraslih imunokompetentnih do 5 %), načinu nastanka i HBeAg statusu inokuluma (13).

Kroničnu infekciju obilježava perzistencija HBsAg, visoka razina HBV DNK i perzistencija HBeAg u serumu. U bolesnika u kojih HBsAg perzistira doživotno, poglavito u onih u kojih se razvije anti - HBe, koncentracija virusa u krvi pada. Aminotransferaze mogu biti povišene (odrasli) ili normalne (perinatalna dob). Danas se smatra da je perzistirajuća replikativna aktivnost virusa, mjerena vrijednostima HBV DNK u serumu, ključna za procjenu rizika od razvoja ciroze i potrebu za liječenjem. Razina viremije je obično niža nego u primarnoj, a visoki je titar virusa u krvi obično povezan s prisutnošću HBeAg (10^7 - 10^9 po mililitru). Nestanku HBeAg obično prethode porast ALT - a i smanjenje viremije (na 10^3 - 10^5 molekula po mililitru) što upućuje na imunosno posredovano razaranje hepatocita. Kratak poluživot virusa (približno 1 dan) i stalna viremija upućuje na to da je za njezino održavanje potrebna stalna virusna replikacija (13).

U početnoj, fazi imunološke tolerancije, koja je najčešća u djece zaraženih majki, izostaje imuni odgovor zbog čega se virus nesmetano razmnožava bez znakova upale jetre.

Druga je faza imunosne eliminacije virusa. Ona započinje aktivacijom imunog odgovora koji koincidira sa smanjenjem viremije, izražajem HBcAg u citoplazmi hepatocita, a na molekulskoj razini javljaju se mutacije gena C (core, precore i core promotormutacije). Ova je faza početna faza kroničnog hepatitisa za sve bolesnike koji su stekli kasnije u životu horizontalnim prijenosom. U fazi imunosne eliminacije, aktivnost jetrenih enzima varira. Izmjenjuju se faze visokih aktivnosti i normalizacije što upućuje na pokušaje imunosne eliminacije virusom zaraženih hepatocita. Eliminacija se očituje redukcijom HBV DNK u krvi i serokonverzijom HBeAg / anti - HBe (27).

Pojava anti - HBe prekretnica je u kroničnoj bolesti, popraćena biokemijskom i histološkom regresijom bolesti. Dva su moguća ishoda bolesti u ovoj fazi:

- Inaktivno nositeljstvo koje razvije 90 % - 95 % bolesnika. Ti bolesnici u krvi nemaju HBV DNK, a klinički ulaze u dugotrajnu remisiju s minimalnom aktivnošću jetre. Relaps razvije 4 - 20 % inaktivnih nositelja dok je za 67 % - 80 % bolesnika ova faza konačni ishod kroničnog hepatitisa.
- Kronični HBeAg negativni hepatitis razvije 5 -10 % bolesnika kao posljedicu reaktivacije HBV varijanti s mutacijama C gena.

  Mali broj kronično zaraženih bolesnika izgubi HBsAg (1,2 % - 1,8 % godišnje), što kumulativno u osoba starijih od 50 godina, kroz 25 godina nosilaštva iznosi do 45 %. Napredovanje u cirozu i HCC je vezano uz nekoliko čimbenika, kao što su vremensko trajanje nosilaštva, spol, genotip virusa, ko s HCV ili HIV, aktivnost ALT, učestalost upalnih ataka, jačina fibroze, i najvažniji od svih količina virusa u krvi ili virusno opterećenje (*engl. viral load,* VL). Bolesnici s VL-om > 10^4 DNK/ml imaju povećani rizik od hepatocelularnog karcinoma. (27).

Oko 20 % bolesnika s perzistentnom infekcijom (češće HBeAg - negativni) može imati faze egzacerbacije s pojačanom nekrozom hepatocita uz porast jetrenih enzima i visoku viremiju, što može imati za posljedicu ubrzani razvoj fibroze, ciroze i razvoj hepatocelularnog karcinoma. Progresija u cirozu javlja se po stopi od 2 do 5 % na godinu u HBeAg - pozitivnih i u 8 10 % HBeAg - negativnih kroničnih hepatitisa.

Prosječno je vrijeme do razvoja ciroze oko 20 godina, no može biti i znatno kraće (5 - 10 godina). Kod razvijene je ciroze godišnji razvoj dekompenzirane bolesti i / ili hepatocelularnog karcinoma 1 - 5 % (13).

U inaktivnih se nositelja HBV - a nestanak HBsAg javlja po stopi od 1 % na godinu. U nekih od njih perzistira niska viremija pa kažemo da imaju okultnu HBV (13).

1.2.5. Okultna hepatitis B virusna infekcija

Prema europskim se smjernicama (engl. *European Association for the Study oft he Liver*, EASL) kronična HBV shematski dijeli u pet faza koje nisu strogo odijeljene i stabilne: asimptomatska, akutna, kronična, fulminantna i okultna (5, 32).

Među HBV kronično zaraženim osobama, 3 - 15 % ima okultnu hepatitis B virusnu (OBI) koju obilježava nizak sadržaj HBV - DNK i negativan nalaz HBsAg. OBI je najčešći uzrok poslijetransfuzijskog hepatitisa B u imunokompromitiranih bolesnika (32, 33, 34).

Okultna se hepatitis B virusna infekcija (OBI) definira prisustvom HBV DNK u serumu i / ili u jetri osoba koje su bez serološki dokazanog biljega HBsAg. Količina je HBV DNK u serumu, kada je detektabilna, obično vrlo niska i iznosi < 200 IU/mL. U svrhu detekcije prijašnjeg kontakta dobrovoljnih davatelja krvi s HBV, neodgovoreno je pitanja na potrebu za testiranjem uz HBsAg i anti - HBc biljega. Screening je na anti - HBc davatelja krvi preporuka u mnogim zemljama (Kanada, SAD, Francuska, Njemačka) u svrhu detekcije davatelja izloženih HBV (5).

Mogući su mehanizmi nastanka OBI - a slijedeći:

a) Smetnje u replikaciji HBV-a od strane drugih virusa (HCV, HDV, Schistosoma mansoni);

b) Integracija HBV DNK u kromosome stanica domaćina (onkogeneza);

c) Stvaranje kružnog imunog kompleksa koji sadrži HBV, koji nisu otkriveni u rutinskom testiranju na HBsAg ;

d) Promijenjen imunosni odgovor domaćina koji vodi ka održavanju HBV - zaraze u latentnom stanju, dok je prijenos na drugu osobu moguć (najčešće u slučajevima imunosupresivne terapije);

e) Različite mutacije u HBV DNK slijedu (mutacije u S, X i P regiji) (32, 33).

Podjela OBI-a:

1. a) Seropozitivan OBI (anti - HBc i / ili anti - HBs);

   b) Seronegativan OBI (anti - HBc i anti - HBs negativni).

Razina je HBV DNK niža od 200 IU / ml.

2. Lažni (engl. *"false"*) OBI (mutiranim S genom).

Razina je HBV DNK usporediva s očitom HBV i.

Moguća je prisutnost infektivnih virusnih klonova (35).

Nositelji OBI - a na više načina mogu prenijeti OBI. OBI se može reaktivirati u imunosuprimiranih bolesnika ili dovesti do težih oštećenja jetre ukoliko se udruži s nekom drugom bolesti jetre. Hoće li se javiti ili se neće javiti jasna HBV s pozitivnim HBsAg - om i HBV DNK - testom, ponajviše ovisi o stanju primatelja odnosno njegovoj imunoj kompetenciji kao i o vrsti te infektivnosti HBV - a (33). Krvni pripravci DDK - a s OBI - om nose visoki rizik prijenosa HBV - a transfuzijom. Rizik ovisi i o prisutnosti anti - HBs - a i količini virusa (35).

OBI se osim transfuzijama krvi može prenijeti transplantacijom organa. Stanje imunosupresije može dovesti do reaktivacije OBI - ja i progresije akutnog u fulminantni hepatitis. OBI je značajno povezan s pojavom težih stanja jetrene bolesti kao što su ciroza i HCC. U HCV zaraženih bolesnika, OBI može pogoršati tijek HCV (36, 37).

Okultna HBV infekcija ima značajne posljedice u bolesnika s HIV koinfekcijom. HBV i HIV dijele puteve prijenosa i rizične čimbenike što objašnjava visoku prevalenciju kroničnih HBV u HIV osoba (38, 39).

1.2.6. Dijagnostika HBV infekcije

Temelj dijagnoze sindroma akutnog virusnoga hepatitisa povišene su serumske aminotransferaze alanin - aminotransferaza i aspartat - aminotransferaza, AST (20 do 100 puta), obično ALT > AST. Aminotransferaze su dobar pokazatelj aktivnosti bolesti, a bilirubin i protrombinsko vrijeme težine bolesti.

Za etiološku dijagnozu hepatitisa dokazujemo antigene HBV - a (HBsAg i HBeAg), protutijela na te antigene (anti - HBs, anti - HBe, anti HBc IgM i anti HBc IgG) i genski materijal virusa (HBV DNK). Za dijagnozu HBV nije važno samo dokazivanje biljega nego i dinamike njihovoga pojavljivanja i nestajanja (13).

Različita konstelacija ovih antigena i antitijela znači i različite stadije bolesti, odnosno vjerojatnost ozdravljenja ili prelaska u kroničnu bolest.

Virusni je hepatitis B moguće dokazati serološkim i molekularnim testovima (6).

Serološki testovi još uvijek su nezaobilazni testovi za dokazivanje HBV virusne infekcije koji se nadopunjavaju dokazom nukleinske kiseline (HBV DNK). Serološki su biljezi HBV zaraze HBsAg, anti - HBs, HBeAg, anti - HBe, te anti - HBc IgM i IgG. Identifikacija ovih biljega omogućuje prepoznavanje bolesnika s HBV, razjašnjavanje prirodnog tijeka kronične, procjenjivanje kliničkih faza i praćenje antiviralne terapije (15).

HbsAg biljeg je najvažniji antigen i pokazatelj virusne koji obilježava ili akutnu ili kroničnu fazu virusne infekcije. Javlja se kao prvi biljeg HBV u serumu 1 - 12 tjedana nakon ekspozicije, odnosno 2 - 8 tjedana prije pojave prvih kliničkih znakova bolesti. U vrijeme je pojave HBsAg 75 -100 % hepatocita virusom. Titar je virusa u akutnoj i vrlo visok, često 10^9 - 10^{10} viriona na mililitar. HBsAg nestaje u 90 - 95 % odraslih osoba koje su oboljele od akutnog hepatitisa B u nekoliko tjedana do 6 mjeseci od početka bolesti, u ostalima je prisutan trajno, što označava perzistentnu. Nekoliko je studija koje su ukazale na povezanost transkripcijske aktivnosti cccDNK u jetri i razine HBsAg u serumu (13, 15).

Uz HBsAg biljeg ostali biljezi učinkovito upućuju na razvoj virusne infekcije i nakon otprilike 6 mjeseci dosegnu svoju ravnotežu. Anti - HBc IgG antitijelo je među svim biljezima najvažniji biljeg kontakta s HBV. Anti - HBc je dugotrajni serološki biljeg prijašnje HBV infekcije, detektabilan u akutnoj i kroničnoj infekciji, koji ukazuje na sadašnju

(nedavnu ili kroničnu) ili prošlu HBV infekciju. Anti - HBc total esej koristan je u prepoznavanju bilo kakvog kontakta s HBV, ali ovaj biljeg ne može razlikovati akutnu, perzistentnu ili prošlu , stoga je neophodno razlikovati IgG od IgM protutijela. Odsustvo HBsAg biljega veže se učinkovitom rezolucijom i ozdravljenjem bolesnika te njegovom nezaraznošću. Unatoč tome, u malom postotku bolesnika virus ostaje aktivan uz nedetektibilne količine HBsAg te se nalazi u fazi okultne infekcije (15).

Nakon uvođenja specifičnog testa za HCV (anti - HCV), anti - HBc test se koristi za provjeru ranijoj izloženosti HBV i za one OBI slučajeve kod kojih je HBV DNK samo povremeno detektabilna (23).

Anti - HBs poznat je kao neutralizirajuće protutijelo i govori o dugotrajnoj imunosti. U bolesnika sa stečenom imunosti nakon cijepljenja anti - HBs jedini je serološki biljeg koji se detektira u serumu. U prošloj HBV , postoji s anti - HBc IgG. Ponekad, HBsAg postoji istodobno s anti - HBs. U većini slučajeva, anti - HBs protutijelo nije u stanju neutralizirati cirkulirajući virus, stoga se takvi bolesnici smatraju nositeljima HBV.

U prošlosti su HBeAg i anti - HBe korišteni u svrhu procjene infektivnosti i virusne replikacije. Danas je njihovo tumačenje u ovu svrhu zamijenio HBV DNK esej (15).

Ponekad su osobe HBsAg negativne i pozitivne na anti - HBc IgG bez anti - HBs (izolirani anti - HBc). Ovakav je serološki HBV profil moguć u tri situacije: predominantno kao IgM klasa „*window perioda*“ akutne faze, nakon završetka akutne faze e kada anti - HBs pada ispod razine detekcije i nakon nekoliko godina kronične HBV. U slučaju izoliranog anti - HBc biljega, potrebno je provjeriti anti - HBc IgM da bi se utvrdila nedavna izloženost HBV i u kroničnih jetrenih bolesnika učiniti HBV DNK test (15).

HBV viremija karakterizira replikativnu fazu bolesti. Cirkulirajuća HBV DNK dokazuje se metodama amplifikacije karakterističnih sekvencija DNK. PCR - metoda omogućuje identifikaciju vrlo niske razine HBV DNK u serumu, leukocitima periferne krvi i u drugim stanicama. U akutnoj je infekciji određivanje HBV DNK ostavljeno samo za situacije kada ostali biljezi HBV infekcije ne mogu riješiti dijagnostički problem. Kod kronične je pozitivna HBV DNK dokaz replikativne faze bolesti u HBeAg - pozitivnim i HBeAg - negativnim bolesnicima, a posebno je važno praćenje viremije kod procjene odgovora na antivirusnu terapiju (13).

Serološko i molekularno testiranje se osim u dijagnostičke primjenjuju i u druge svrhe:

- Testiranje na HBV povezano s cijepljenjem protiv HB (anti - HBs) / anti - HBs test.
- Nadzor titra zaštitnih antitijela u bolesnika na kroničnoj hemodijalizi / anti - HBs test.
- Postekspozicijsko ispitivanje nakon ubodnih incidenata i nadzor / *HBsAg, anti - HBc i anti - HBs kod izloženog i kod potencijalnog izvora zaraze.*
- Dijagnostika virusnog hepatitisa B
  - *Primijeniti HBsAg, anti - HBc, anti - HBc IgM, HBeAg, anti - HBe i anti - HBs;*
  - *Svim HBsAg pozitivnim odrediti titar HBsAg, a u slučaja fulminantnog hepatitisa HDAg i anti HDV IgG i IgM.*
- Testiranje u svrhu odluke o liječenju
  - Odrediti količinu virusa u krvi, koncentraciju HBsAg i genotip / kvantitativni HBV DNK test, kvantititivni HBsAg test, genotipizacija HBV.
- Praćenje terapije i procjena ishoda
  - Odrediti početnu koncentraciju HBV DNK i HBsAg, potom pratiti tromjesečno do 48 tjedna.
- Dijagnostika HBV temelji se na dinamici HBV DNK i seroloških biljega HBV. Serološki profili tumače se kako je prikazano u tablici 1. 3. (27).

Tablica 1. 3. Tumačenje rezultata testova za dokazivanje virusa hepatitisa B

Status HBV	**HBsAg**	**Anti - HBs**	**Anti - HBc IgM**	**Anti - HBc IgG**	**HBeAg**	**Anti - HBe**	**HBV-DNK**
Bez	neg.	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Cijepljen	neg	poz	neg	neg	neg	neg	neg
Rana akutna	poz	neg	neg	neg	poz	neg	poz
Akutna HBV	poz	neg	poz	poz	poz	neg	jako poz
Oporavak / imunost	neg	poz	neg	poz	neg	neg / poz	neg
Kronični aktivni HB	poz	neg	neg	poz	poz	neg	jako poz
Kronični inaktivni HB	poz	neg	neg	poz	neg	poz	poz
Indikacija za liječenje	poz	neg	neg	poz	poz	neg	jako poz
Odgovor na terapiju	poz	neg	neg	poz	neg	poz	poz trend pada
Relaps	poz	neg	neg	poz	poz / neg	neg	poz trend rasta
Okultna HBV	neg	neg	neg	poz	neg	neg	poz

HBV - hepatitis B virus, anti - HBs - protutijelo na površinski antigen hepatitis B virusa, anti - HBc - protutijelo na jezgrin antigen hepatitis B virusa, anti - HBc - protutijelo na jezgrin antigen hepatitis B virusa razreda IgM, anti - HBc - protutijelo na jezgrin antigen hepatitis B virusa razreda IgG, HBeAg - antigen ovojnice hepatitis B virusa, anti - HBe - protutijelo na antigen ovojnice heptitis B virusa, HBV DNK - deoksiribonukleinska kiselina hepatitis B virusa, HB - hepatitis B

(izradio autor prema Burek V. Dijagnostika virusnih hepatisa. HČJZ. 2011; 28 (7): 1 – 10.)

1.2.7. Profilaksa HBV infekcije

U sprječavanju HBV infekcije važne su opće i specijalne mjere zaštite.

Opće mjere uključuju sprječavanje perkutanog kontakta s krvlju i drugim tjelesnim tekućinama u kojima je dokazan HBV, kontakt putem sluznica i prijenos kontaminiranog materijala putem vektora te onečišćenih predmeta (četkice za zube, bebine boce, igračke, šalice i sl.), uz nadzor nad oboljelima i prijavljivanje bolesti. Mjere zaštite u zdravstvenim ustanovama uključuju nošenje zaštitnih ogrtača, maski, rukavica i naočala, primjenu pribora za jednokratnu primjenu, vlastitog pribora za osobnu higijenu, mjere dezinfekcije, sterilizacije, testiranje krvi, krvnih pripravaka, dobrovoljnih davatelja organa i tkiva, trudnica, eliminaciju svih zaraženih proizvoda, razvoj najosjetljivijih tehnika za detekciju i eliminaciju sve zaražene krvi, organa i tkiva (primjena seroloških i molekularnih testova najnovijih generacija) (13).

Specijalne mjere zaštite obuhvaćaju prijeekspozicijsku i poslijeekspozicijsku imunoprofilaksu.

Primjena cjepiva protiv B hepatitisa ima tri cilja: prevenciju klinički očitovane bolesti, prevenciju razvoja kroničnog hepatitisa i prevenciju prijenosa virusa. Cijepljenje rizičnih populacija je u Hrvatskoj počelo 1994. godine (zdravstveni radnici, bolesnici na hemodijalizi, novorođenčad HBsAg - pozitivnih majki, spolni partneri HbsAg - pozitivnih osoba, osoblje i štićenici zavoda za duševno zaostale osobe, intravenski ovisnici, oboljeli od hemofilije). Recentna je preporuka da se bolesnici s kroničnim jetrenim bolestima koji nisu prethodno bili u kontaktu s virusima A i B hepatitisa, također cijepe protiv A i B hepatitisa. Preporuka je Svjetske zdravstvene organizacije iz 1992. godine da imunizacija protiv hepatitisa B bude integrirana u nacionalne programe cijepljenja u svim zemljama.

U Hrvatskoj se od 1999. godine cijepe djeca u VI. razredu osnovne škole, no preporuka je Hrvatske konsenzusne konferencije da se djeca cijepe u prvoj godini života (16, 29, 18). Cjepivo se daje u deltoidni mišić, a djeci u gluteus. Nije dokazana interferencija s drugim cjepivima. Jedina prava kontraindikacija za cijepljenje su alergijske reakcije na sastavnice cjepiva, dok je privremena kontraindikacija akutna febrilna bolest. Cijepi se po shemi 0, 1, 6 mjeseci, u novorođenčadi i imunonedostatnih osoba shemom 0, 1, 2, 6 ili 12 mjeseci. Nije dokazana veza između cijepljenja rekombinantnim cjepivom i neuroloških komplikacija

poput Guillain-Barréova sindroma i multiple skleroze. Neki čimbenici domaćina (pušenje, debljina, imunonedostatnost, dob) i neki genski čimbenici mogu utjecati na slabljenje imunosnog odgovora. Nereaktori (< 5 %) nemaju druge imunosne disfunkcije poremećaja. U slabih se reaktora (titrovi anti - HBs < 100 IU / l) može s dodatne 2 - 3 doze cjepiva u 50 % dobiti zadovoljavajuća serokonverzija. U tih je osoba preporučljivo rabiti veću dozu cjepiva (2 ml; 40 μg Hepatovaxa B ili 20 μg Recombivaxa B ili Engerix u preporučenoj profilaktičkoj dozi). Isto tako, bolesnicima na hemodijalizi i imunonedostatnim osobama daju se dvostruke doze cjepiva za odgovarajuću dob (6,13).

Kada djeca koja su cijepljena u novorođenačkoj dobi dođu u šesti razred osnovne škole, ukinut će se cijepljenje u školi (12).

Poslijeekspozicijska profilaksa potrebna je novorođenčadi HBsAg pozitivnih majki, poglavito ako su i HbeAg - pozitivne, te nakon slučajne ekspozicije materijalu (ubod na iglu, druge medicinske instrumente, kontaminacija kože ili sluznica HBsAg pozitivnim biološkim materijalom). Novorođenčad HBsAg pozitivnih majki treba cijepiti u prva 24 - 48 sati nakon rođenja uz HBIG, što smanjuje stopu zaraze za > 90 %. Istodobno ih treba testirati na HBsAg, anti - HBc i IgM anti - HBc. Djeci se, koja su HBsAg i IgM anti - HBc pozitivna, obustavlja daljnja zaštita, dok se onima koji su negativni nastavlja s cijepljenjem po shemi 1, 2, 6 ili 12 mjeseci.

Osobama koje su došle u slučajni kontakt s HBsAg pozitivnim biološkim materijalom daje se cjepivo po shemi 0, 1, 6 (unutar 24 sata do 7 dana nakon ekspozicije) uz prethodno testiranje i / ili HBIG (do 8 sati nakon ekspozicije). Cijepe se samo HBsAg, anti - HBc i anti - HBs negativne osobe. HBIG se daje u dozi od 0,07 ml / kg za odrasle. Učinkovitost HBIG nije sa sigurnošću dokazana u prevenciji spolnog prijenosa HBV - a.

1.2.8. Liječenje HBV infekcije

Prema suvremenim smjernicama Europske udruge za bolesti jetre (EASL) 2012 g., Američke udruge za bolesti jetre (AASLD) 2009. g. te Azijsko - pacifičke udruge za bolesti jetre (APASL) 2012. g., pegilirani interferon alfa - 2 a i / ili nukleoz(t)idni analozi (entekavir, tenofovir) pripadaju u terapiju prvog izbora u liječenju kroničnog B hepatitisa. Ostali nukleoz (t)idi (lamivudin, telbivudin, adefovir, emtricitabin) ostaju druga linija liječenja HBV zaraze (40).

Osnovni ciljevi i kriteriji za vrednovanje učinkovitosti antivirusne terapije hepatitisa B smanjenje HBV DNK u serumu na nemjerljivu razinu, normalizacija ALT - a, HBeAg serokonverzija, histološko poboljšanje nalaza jetre i prevencija. Idealni je cilj terapije HBsAg serokonverzija ili stvaranje anti - HBs, što zapravo znači izlječenje kroničnog hepatitisa B.

Povoljni su prognostički znaci:

- visoka aktivnost aminotransferaza;
- visoka upalna aktivnost u histopatološkom nalazu;
- nizak titar HBV DNK;
- akutni ikterični oblik hepatitisa na početku terapije;
- kraće trajanje (< 5 godina);
- ženski spol (40).

1.3. Dobrovoljni davatelji krvi

Temelj transfuzijskog liječenja su dobrovoljni davatelji krvi (DDK), odnosno njihove donacije krvi i krvni pripravci koji su iz njih proizvedeni.

DDK je osoba koja krv daje bez ikakve materijalne naknade na načelima dobrovoljnosti, besplatnosti, solidarnosti i anonimnosti. DDK mogu biti sve zdrave osobe u dobi od 18 do 65 godina za koje je liječnik pregledom i laboratorijskim ispitivanjem utvrdio da mogu dati krv bez opasnosti za svoje zdravlje ili zdravlje primatelja. Odabir davatelja krvi provodi se po strogim kriterijima propisanim zakonskim i stručnim regulativama (Direktive Vijeća Europe, Zakon, Pravilnici, Preporuke). Davatelj krvi ispunjava upitnik prije davanja krvi o svim značajnim segmentima po njegovo i primateljevo zdravlje, a o njegovim iskrenim odgovorima ovisi sigurnost transfuzijskog liječenja (41).

Krvni pripravci imaju posebno mjesto među lijekovima zbog ljudskog podrijetla, načina proizvodnje i liječenja te se značajno razlikuju od lijekova proizvedenih u farmaceutskoj industriji. Od transfuzijskog se liječenja očekuje da uvijek pomogne bolesniku i nikada ne izazove štetne posljedice (3).

Davatelji krvi temelj su sigurnog transfuzijskog liječenja. Motiviranje dovoljnog broja davatelja krvi koji nemaju interesa prešutjeti događaje iz svog života, jedini je način da se prikupe dovoljne količine kvalitetnih i sigurnih doza krvi. U Hrvatskoj se danas prikupi godišnje više od 190 000 doza krvi čime je zadovoljeno načelo samodostatnosti.

Racionalni pristup transfuzijskom liječenju i racionalna procjena rizika važniji su nego ikada do sada, a trijas - selekcija davatelja, uvođenje novih dijagnostičkih postupaka i njihova standardizacija, te inaktivacija patogena dobivaju sve veći značaj za postizanje ovog cilja (3).

2. HIPOTEZA

Hepatitis B virusna infekcija je u skupini dobrovoljnih davatelja najučestalija infekcija među obvezno testiranim uzročnicima krvlju prenosivih bolesti u Hrvatskoj.

Prevalencija okultne hepatitis B virusne infekcije među dobrovoljnim davateljima krvi u Hrvatskoj slična je prevalenciji okultne hepatitis B virusne infekcije dobrovoljnih davatelja krvi u Europi.

Pretpostavlja se pad broja dobrovoljnih davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom u cijeloj Hrvatskoj tijekom razdoblja od 1. 3. 2013. g. do 1. 3. 2017. g.

Najveći broj dobrovoljnih davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom imat će pozitivan serološki biljeg anti - HBc.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Istražiti rezultate serološkog testiranja dobrovoljnih davatelja krvi (potvrdno pozitivni rezultati obveznih testiranja na uzročnike HBV, HCV, H1 / 2 i sifilis) u kategoriji svih davatelja i novih davatelja;

2. Istražiti rezultate molekularnog testiranja (NAT) biljega krvlju prenosivih bolesti u DDK;

3. Istražiti pojavnost OBI - ja u cjelokupnoj populaciji DDK RH u navedenom razdoblju prema zemljopisnim područjima;

4. Istražiti pojavnost OBI s obzirom na broj davanja krvi (višestruki ili novi davatelji);

5. Istražiti pojavnost OBI s obzirom na dob i spol;

6. Istražiti HBV DNK u svim uzorcima;

7. Istražiti rezultate serološkog testiranja na anti - HBc, anti - HBs i anti - HBe biljege HBV u OBI pozitivnih DDK;

8. Istražiti jesu li pokrenuti postupci *look - back* (*Look-back* postupak je skup postupaka koji se provode nakon što se ustanovi da je davatelj krvi koji je već ranije darivao krv inficiran uzročnicima na koje se krv ispituje ili uzročnicima krvlju prenosivih bolesti za koje se ispitivanje ne provodi, a koji bi mogli naštetiti zdravlju primatelja krvi ili ako se naknadno ustanovi da postoji objektivna sumnja da test temeljem kojega je krvni pripravak pušten u uporabu nije mogao detektirati infekciju te je zbog toga moglo doći do infekcije primatelja. Svrha look-back postupka je zaštititi zdravlje primatelja prethodne ili prethodnih doza krvi i spriječiti daljnje širenje zaraze.);

9. Istražiti jesu li bili pokrenuti postupci *trace back* (*Trace-back* postupak je skup postupaka koji se provode kada se za laboratorijski potvrđenu zarazu postavi objektivna sumnja da je uzrokovana transfuzijom krvnog pripravka, a kako bi se ista isključila ili potvrdila. Svrha postupka je isključiti zaraženog davatelja iz davalaštva krvi i obavjestiti i ispitati sve primatelje ostalih krvnih pripravaka pripadajuće donacije ovog davatelja o mogućoj zarazi.);

10. Istražiti jesu li osobe bile na savjetovanju prije donacije zbog mogućih zdravstvenih teškoća;

11. Istražiti jesu li osobe bile na savjetovanju poslije otkrivenog OBI - ja.

12. Istražiti jesu li bili testirani članovi obitelji na biljege hepatitis B virusne serološkim i / ili molekulskim testovima;

13. Istražiti pojavnost OBI - ja u DDK kao pacijenata u zdravstvenom sustavu RH.

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ustroj studije

Istraživanje je ustrojeno kao opažajno istraživanje – presječno s povijesnim podatcima koje je provedeno u Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu u razdoblju 1. 3. 2013. g. - 1. 3. 2017. g.

4.2. Ispitanici

Tvorivo su bili uzorci krvi dobrovoljnih davatelja iz cijele RH, odnosno ovlaštenih zdravstvenih ustanova za prikupljanje, proizvodnju, čuvanje te distribuciju krvi i krvnih pripravaka. U RH je ovlasti prikupljanja i prerade krvi imalo u navedenom razdoblju osam zdravstvenih ustanova: Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu (HZTM), regionalni transfuzijski centri Osijek (RTCO), Split, Rijeka, te odjeli za transfuzijsku medicinu Varaždin, Pula, Dubrovnik i Zadar.

U navedenom je razdoblju bilo testirano 743 490 uzoraka krvi višestrukih i novih DDK. Svi su se prikupljeni uzorci svakog dana slali na ID - NAT testiranje u HZTM (nacionalni prijevoz putem kurirske službe.

Uzorci su se krvi uzimali od DDK prilikom punkcije pune krvi. Uzimala su se dva uzorka: uzorak za serološka testiranja (HBsAg, anti - HIV, anti - HCV, anti - TP) u Becton - Dickinson epruvetu od 10 ml, dimenzija 16 x 100 mm, nativni i uzorak za NAT testiranje u Becton - Dickinson epruvetu od 6 mL, dimenzija 13 x 100 mm s K2E (EDTA) antikoagulansom. Epruvete označene brojem donacije punjene su krvlju iz prijedonacijske vrećice i potom bile zaprimane na Centralnom prijemu.

Ovlaštene zdravstvene ustanove provode serološko testiranje uzoraka krvi DDK na HBsAg (probirni test) koji je zakonski obvezatan test. HZTM provodi ID - NAT testiranje te u slučajevima reaktivnosti radi dodatno testiranje diskriminacijskim NAT testom i seroloških biljega HBV (anti - HBc, anti - HBs i anti - HBe).

U cijelom su se postupku uzimanja uzoraka krvi poštovala načela dobre laboratorijske prakse koji osiguravaju identifikaciju uzorka i njegovu sljedivost. Ovlaštene zdravstvene ustanove koje rade serološka testiranja zadužene su za obavješćivanje DDK o pozitivnim rezultatima testova na krvlju prenosive bolesti, prijavu svih zaraženih nadležnoj higijensko -

epidemiološkoj službi i pokretanje i provođenje *look - back* postupka za svakog zaraženog davatelja koji ima prethodna davanja krvi u navedenoj transfuzijskoj ustanovi.

U ovlaštenim zdravstvenim ustanovama postoje savjetovališta za krvlju prenosive bolesti dobrovoljnih davatelja krvi. Dobrovoljni su davatelji krvi u kojih je otkrivena OBI u savjetovalištima ispunjavali upitnik koji je dizajniran za ovo istraživanje. Svrha je upitnika bila procjena kliničkih i epidemioloških značajki povezanih s dijagnosticiranom okultnom hepatitis B virusnom infekcijom u DDK. Otkriveni OBI DDK su upućivani svom liječniku opće medicine s preporukom pregleda liječnika specijaliste gastroenterologa.

4.3. Metode

Serološko je testiranje na HBsAg učinjeno Architect HBsAg Qualitative II testom koji se koristi kao test probira u svrhu sprječavanja prijenosa HBV na primatelje krvi na aparatu Architect (Abbott Laboratories, Delkenheim, Njemačka). Ovaj je test kemiluminiscentni imunokemijski test (CMIA, engl. *chemiluminiscent microparticle immunoasay*) za kvalitativno dokazivanje hepatitis B površinskog antigena (HBsAg) u serumu i plazmi. U Architect HBs Ag Qualitative II testu reakcijska se smjesa dobiva miješanjem uzorka, paramagnetskih mikročestica obloženih protutijelima na HBsAg (anti -HBs) i anti - HBs konjugata obloženog akridinom. HBsAg se iz uzorka veže na mikročestice obložene s anti - HBs i s anti - HBs konjugatom obilježenim akridinom. Nakon ispiranja se u reakcijsku smjesu dodaje pomoćna puferska otopina za ispiranje. Nakon još jednog ciklusa ispiranja, u reakcijsku se smjesu dodaje prijeaktivacijska i aktivacijska otopina. To aktivira kemiluminiscentnu reakciju koja se mjeri i izražava u relativnim svjetlosnim jedinicama (RLU, engl. *relative light unit*). Količina je HBsAg u uzorku razmjerna vrijednosti RLU izmjerenoj Architect i System optikom. Prisutnost ili odsutnost HBsAg u uzorku se utvrđuje usporedbom kemiluminiscentnog signala uzorka s graničnom vrijednošću (engl. *cutoff)* koja je određena kalibracijom. Ako je kemiluminiscentni signal uzorka veći ili jednak graničnoj vrijednosti, uzorak se smatra pozitivnim na HBsAg (6, 20).

Za detekciju anti - HBc, anti - HBs i anti - HBe korišteni su imunokemijsku luminiscentni testovi (Architect, Abbott Laboratories, Delkenheim, Njemačka).

Procleix Ultrio Plus test se koristi za obvezno NAT (engl. *Nucleic Acid Amplification Technique*) probirno testiranje dobrovoljnih davatelja (DDK) krvi u RH (Grifols, Španjolska,

aparat Tigris). Osim za DDK, test se primjenjuje i u testiranju darovatelja organa, tkiva i matičnih stanica.

NAT je vrsta molekulskog postupka za dokazivanje virusnih DNA i RNA u krvi (plazmi).

ID - NAT (engl. *Individual Donation*, ID, pojedinačna donacija) je testiranje na prisutnost nukleinske kiseline, koje se izvodi na pojedinačnoj donaciji, a ne u pool-u (engl. *pool*, bazen). Procleix Ultrio Plus test je kvalitativni *in vitro* pojačivački test za otkrivanje HIV - 1 RNK, HCV - RNK, te HBV - DNK u uzorcima plazme i seruma davatelja krvi, ispitanih pojedinačno ili u nizovima. Osim toga, namijenjen je za testiranje plazme i seruma radi probiranja darovatelja organa, tkiva i stanica, uključujući umrle darovatelje.

Procleix Ultrio Plus Test objedinjava izolaciju nukleinske kiseline, umnožavanje putem prijepisa (engl. *transcription mediated amplification* TMA) nukleinskih kiselina: HIV - 1 RNK, HCV - RNK i HBV- DNK, te detekciju umnoženih produkta (amplikona) hibridizacijskom reakcijom (engl. *hibridization protection assay,* HPA). Testom se istovremeno detektiraju sve tri nukleinske kiseline, a signal pozitivnog rezultata jedinstven je za sva tri virusa, te zahtijeva diskriminacijsko testiranje, kojim se utvrđuje prisutnost HIV -1 RNK, HCV - RNK ili HBV - DNK.

Tijekom izolacije, virusna RNK i DNK oslobađaju se iz virusa pomoću detergenta koji otapa virusnu ovojnicu, te denaturira bjelančevine. Oligonukleotidne probe vežu konzervirano područje HIV - 1, HCV i HBV genoma i nastaje hibridizacijska molekula, koja se iz uzorka izdvaja pomoću magnetskih čestica.

TMA je postupak umnožavanja nukleinske kiseline koja se temelji na prijepisu putem dva enzima; MMLV reverznu transkriptaze i T7 RNA polimeraze. MMLV reverzna transkriptaza proizvodi preslike DNK, iz kojih će T7 RNK polimeraza sintetizirati velik broj RNK amplikona. TMA metoda je izotermalna, s prinosom od milijardu umnoženih RNK amplikona u samo pola sata.

Detekcija umnoženih RNK amplikona provodi se HPA testom. Komplementarne, jednolančane probe za nukleinske kiseline, označene kemiluminiscentnim molekulama, vežu se specifično za umnožene RNA amplikone. Selekcijski reagens razlikuje vezane od nevezanih proba te uništava kemiluminiscentne molekule na nevezanim probama.

Kemiluminiscentni signal koji proizvodi hibridizirana proba mjeri se luminometrom i bilježi u relativnim svjetlosnim jedinicama (RLU).

Interna kontrola (engl. *internal control,* IC) dodaje se u svaki uzorak, kontrolu i kalibrator. Ona prolazi sve korake testiranja, te ih na taj način nadzire. Umnoženi RNK amplikon za IC razlikuje se uporabom proba s relativno bržom kinetikom emisije svjetla u dualnoj kinetičkoj reakciji, pa se kinetički signal razlikuje kao bljesak (za umnožene amplikone IC) i kao sjaj (za specifično umnožene amplikone za HIV - 1 RNK, HCV - RNK i HBV - DNK).

Diskriminacijski NAT test (dNAT) je NAT kojim se uz pomoć specifičnih klica (engl. *primer,* specifična klica) odredi koji je od virusnih genoma bio uzrokom reaktivnosti u multiplex ID - NAT testu. Važno je znati da se radi o istoj metod kao u ID-NAT testu samo su klice specifične za pojedini genom.

Diskriminacijsko testiranje koristi se za uzorke koji su ponovljeno reaktivni u Procleix Ultrio Plus testu. Pomoću specifičnih proba za HIV - 1 - RNK, HCV - RNK i HBV - DNK utvrđuje se prisutnost određenog virusa (25, 26, 27).

Master lot označava svaku kutiju reagensa, te se u testiranju mogu koristiti isključivo reagensi istog master lota.

Zahtjevi uzorka

1. Uzorci se moraju centrifugirati 10 min na 3500g (cca 3340 okretaja/min) unutar 72 h od njihovog uzimanja.
2. Uzorke skladištiti na 2 - 8°C do 13 dana od trenutka uzimanja.

Iznimno: Na temperaturi od 8°C do 25°C uzorci se mogu skladištiti 72h, a na temperaturi od 25 do 30°C 24h.

Kakvoća uzorka

1. Uzorak mora biti u dostatnom volumenu za testiranje, bez ugrušaka, pjene i mjehurića.
2. Uzorak se može razrijediti najviše 5x s fiziološkom otopinom.

Zahtjev volumena

Volumen uzorka koji se uzima za testiranje iznosi 500 µL.

Tablica 4. 1. Minimalni volumen uzorka krvi

Promjer epruvete	minimalni ukupni volumen uzorka plazme / seruma (bez ostatka staničnog sadržaja krvi, bez gel - barijere)
12 - 13 mm	1000 µL
16 mm	1500 µL
Promjer epruvete	minimalni ukupni volumen uzorka plazme / seruma (s ostatkom staničnog sadržaja krvi, s gel - barijerom)
12 - 13 mm	700 µL
16 mm	900 µL

Moguće su slijedeće interpretacije rezultata i objašnjenja testiranja:

Interpretacija rezultata	Opis
Reaktivan	s/co vrijednost za uzorak ≥1
Nereaktivan	s/co vrijednost za uzorak <1 rezultat za IC valjan
Sumnjiv	s/co vrijednost za uzorak <1 rezultat za IC valjan nevaljan rezultat za kontrole
Nevaljan	s/co vrijednost za uzorak <1 rezultat za IC nevaljan kalibratori ili kontrole ne zadovoljavaju zadane kriterije za specifičan analit ili IC griješka u radu uređaja
Valjan	rezultat za IC valjan kalibratori ili kontrole zadovoljavaju zadane kriterije za specifičan analit IC

Tablica 4. 2. Osjetljivost Procleix Ultrio Plus testa

Virus	Procleix Ultrio Plus test	Diskriminacijski test
HIV-1 HIV WHO 97/650	21,2 IU/mL (18,2-25,7)	18,9 IU/mL (16,3-22,9)
HCV HCV WHO 06/100	5,4 IU/mL (4,5-6,7)	4,4 IU/mL (3,7-5,6)
HBV HBV WHO 97/750	3,4 IU/mL (3,0-4,1)	4,1 IU/mL (3,5-4,9)

ANALITIČKA OSJETLJIVOST

95% LOD Procleix Ultrio Plus testa, prema DVP-OMD-054 Procleix Ultrio Plus Assay

KLINIČKA OSJETLJIVOST

- Osjetljivost Procleix Ultrio Plus Assay u rutinskoj primjeni pokazuje detekciju uzoraka s koncentracijom viralne HIV - 1 i HCV RNK koja je jednaka 100 IU/mL ili veća, dok za uzorke sa HBV DNK detektira koncentraciju koja je jednaka 5 IU/mL ili veća.
- Uzorci s koncentracijom virusne RNK ili DNK manjom od navedene mogu pokazati nereproducibilnost u rezultatima testiranja.

Za detekciju uzoraka s koncentracijom HBV DNK 2 IU / mL s vjerojatnošću većom od 95 %, Procleix Ultrio Plus testiranje treba se izvoditi u triplikatu, pri čemu reaktivan rezultat u jednom od tri replikata već ukazuje da je uzorak HBV DNK pozitivan.

Nadzor postupka ID - NAT triplex probirnog testiranja

1. Unutarnji nadzor postupka

- U svakom nizu testiranja sustav traži postavljanje odgovarajućih kalibratora i nadzora iz testnog kita na njihove odgovarajuće položaje. Ovisno o rezultatima testiranja za kalibratore i nadzor niza testiranja proglašava se valjanom ili nevaljanom.
- U Procleix Ultrio Plus testiranju moraju biti valjani rezultati najmanje sedam od devet replikata kalibratora. Najmanje dva od tri replikata negativnog kalibratora i pet od šest replikata pozitivnih kalibratora moraju imati valjane rezultate.

  U Procleix Ultrio Plus HIV - 1, HCV ili HBV diskriminacijskom testiranju najmanje dva od tri replikata negativnog kalibratora moraju imati valjane rezultate, i najmanje dva od tri rezultata replikata pozitivnog kalibratora moraju imati valjane rezultate.
- Kriteriji za prihvaćanje rezultata testiranja kalibratora su automatski validirani Procleix Tigris System Softwareom. Ukoliko je broj valjanih rezultata za kalibratore manji od minimalnog, Procleix Tigris System Software proglasit će seriju nevaljanom, a sve uzorke u tom nizu potrebno je retestirati.
- U Procleix Ultrio Plus testiranju set kontrola iz testnog kita za niz testiranja sastoji se od negativne kontrole i tri pozitivne (za svaki od tri virusa). Kontrole se testiraju jednostruko.
- U Procleix Ultrio Plus HIV - 1, HCV ili HBV diskriminacijskom testiranju set kontrola iz testnog kita za seriju testiranja sastoji se od negativne kontrole i odgovarajuće pozitivne kontrole ovisne o specifičnoj probi za virus koji se diskriminira. Kontrole se testiraju jednostruko.
- Ukoliko su rezultati za set kontrola iz testnog kita proglašeni nevaljanima zbog griješke uređaja ili griješke u procesuiranju rezultata, rezultati testiranja su proglašeni sumnjivim i testiranje treba ponoviti.

2. Vanjski nadzor postupka NAT testiranja

- Svakodnevno se provjerava rad uređaja koji će taj dan biti korišten za rad pomoću run kontrola (za HIV - 1 RNK, HCV - RNK i HBV - DNK) koje nisu dio testnog kita, te njihove rezultate Procleix Tigris System Software ne uzima kao kriterij za utvrđivanje valjanosti rezultata niza testiranja.

- Ukoliko su rezultati testiranja za *run* kontrole negativni ili nevaljani, cijeli se niz smatra sumnjivim i testiranje se mora ponoviti.
- Svake je godine obvezno sudjelovanje u najmanje jednoj vanjskoj kontroli međunarodne organizacije za sva tri virusa.

U opisanim slučajevima nevaljanih serija testiranja, uzorke koje je Procleix Tigris System Software proglasio reaktivnima, tj. pozitivnima, ne trebaju se retestirati već se moraju prihvatiti kao uzorci s valjanim pozitivnim rezultatom testiranja, prema uputama proizvođača.

4.4. Statističke metode

Kategorički podatci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama.

Razlike među kategorijskim varijablama testirane su χ^2 testom, a po potrebi Fisher-ovim egzaktnim testom.

Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro - Wilkovim testom. Numerički su podatci opisani medijanom i granicama interkvartilnog raspona (engl. *interquartile range*, IQR).

Sve su P vrijednosti dvostrane. Odabrana je razina značajnosti 0,05.

Za analizu podataka korišten je statistički program MedCalc Statistical Software version 18.11.3 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; https://www.medcalc.org; 2019) i SPSS (IBM Corp. Released 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.).

5. REZULTATI

U razdoblju su od 1. ožujka 2013. do 1. ožujka 2017. godine HZTM i ovlaštene zdravstvene ustanove izvršile su 743.490 seroloških testiranja uzoraka DDK na HBV, HCV, HIV 1/2 i sifilis i isto toliko molekulskih ID - NAT testiranja (HBV, HCV, HIV). Rezultati serološkog i molekularnog testiranja vežu se uz davatelja krvi i doniranu dozu putem e - Delphyn nacionalnog informatičkog sustava transfuzijske službe RH. Ukupan je broj testiranih uzoraka krvi DDK na biljege krvlju prenosivih bolesti u RH u razdoblju 2013. - 2017. u rasponu 183.072 do 197.294 uzoraka krvi.Ukupan je broj testiranih uzoraka krvi novih DDK na biljege krvlju prenosivih bolesti u RH u rasponu od 14.072 do 16.369 uzoraka. U 2013. godini broj novih DDK iznosio je 10,5 %, u 2014. g. 7,7 %., u 2015. g. 8,4 %, a u 2016. g. 8,1 %.

U tablici 5. 1. je prikazana raspodjela ID –NAT testiranja uzoraka krvi DDK u razdoblju 1. 3. 2013. - 1. 1. 2017.g.

Tablica 5. 1. Raspodjela rezultata pojedinačnog testa amplifikacije nukleinskih kiselina davatelja krvi po godinama

Razdoblje testiranja (početni – završni datum)	**Broj (%) testiranja**	**Broj (%) novih DDK**
1. 3. 2013. – 31. 12. 2013.	134.201 (18,1)	14.092 (10,5)
1. 1. 2014. – 31. 12. 2014.	182.807 (24,6)	14.072 (7,7)
1. 1. 2015. – 31. 12. 2015.	195.251 (26,3)	16.369 (8,4)
1. 1. 2016. – 31. 12. 2016.	197.088 (26,5)	16.016 (8,1)
1. 1. 2017. – 1. 3. 2017.	34.143 (4,6)	-
Ukupno	**743.490 (100)**	**9 (100)**

ID - NAT - engl. *individual donor - nucleic acid testing,* pojedinačni test amplifikacije nukleinskih kiselina davatelja

DDK - dobrovoljni davatelji krvi

Tijekom 2013. godine, od ukupno 183.072 testiranja ponovljeno je 583 (0,32 %) reaktivnih rezultata svih dobrovoljnih davatelja krvi, od kojih je u 80 (14 %) prisutan HBV, kod 80 (14 %) HIV 1/2, kod 180 (30,9 %) HCV, a sifilis kod 243 (41,7 %) ispitanika. Rezultati serološkog testiranja za 2014. godinu nisu dostupni, a za 2017. godinu nisu prikazani budući se radi o prekratkom razdoblju promatranja (2 mjeseca). Značajna je razlika u broju ponovljenih reaktivnih rezultata u svih DDK prema godinama (χ^2 test, $P < 0,001$) (Tablica 5. 2.).

Tablica 5. 2. Raspodjela ponovljenih reaktivnih rezultata u svih dobrovoljnih davatelja krvi prema godinama i serološkom testiranju

	Broj (%) ponovljenih reaktivnih rezultata u svih DDK				*P**
	2013.	2015.	2016.	Ukupno	
HBV	80 (13,7)	100 (18,5)	83 (19,5)	263 (17)	**<0,001**
HCV	180 (30,9)	190 (35,2)	143 (33,6)	513 (33,1)	
HIV1/2	80 (13,7)	103 (19,1)	76 (17,9)	259 (16,7)	
Sifilis	243(41,7)	147 (27,2)	123 (28,9)	513 (33,1)	
Ukupno	583 (100)	540 (100)	425 (100)	1548 (100)	

* χ^2 test, DDK - dobrovoljni davatelji krvi, HBV -hepatitis B virus, HCV - hepatitis C virus, HIV 1/2 - virus humane deficijencije tip 1/2

U promatranom razdoblju (od 2013. do 2016. g.) bilo je pozitivno 55 (41,7 %) DDK na HBV, na HCV 35 (26,5 %), pozitivnih je na HIV1/2 su 12 (9,1 %) DDK, a na sifilis je bilo pozitivno 30 (22,7 %) DDK (Tablica 5. 3.).

Tablica 5. 3. Raspodjela potvrdno pozitivnih rezultata u svih dobrovoljnih davatelja krvi prema godinama i serološkom testiranju

	Broj (%) potvrdno pozitivnih rezultata u svih DDK				P*
	2013.	2014.	2015.	2016.	
HBV	15 (36,6)	15 (50)	12 (36,4)	13 (46,4)	0,82
HCV	14 (34,1)	7 (23,3)	7 (21,2)	7 (25)	
HIV1/2	4 (9,8)	1 (3,3)	4 (12,1)	3 (10,7)	
Sifilis	8 (19,5)	7 (23,3)	10 (30,3)	5 (17,9)	
Ukupno	41 (100)	30 (100)	33 (100)	28 (100)	

*Fisherov egzaktni test

DDK - dobrovoljni davatelj krvi, HBV - hepatitis B virus, HCV - hepatitis C virus, HIV 1/2 - virus humane deficijencije tip 1/2

Kod novih DDK pozitivno je 46 (52,9 %) na HBV, na HCV 28 (32,2 %), pozitivna na HIV1/2 su 3 (3,4 %) novih DDK, a na sifilis je pozitivno 10 (11,5 %) novih DDK (Tablica 5. 4.).

Tablica 5. 4. Raspodjela potvrdno pozitivnih rezultata kod novih dobrovoljnih davatelja krvi po godinama i serološkom testiranju

	Broj (%) potvrdno pozitivnih rezultata kod novih DDK				P*
	2013.	2014.	2015.	2016.	
HBV	12 (50)	9 (52,9)	12 (44,4)	13 (68,4)	0,62
HCV	9 (37,5)	5 (29,4)	9 (33,3)	5 (26,3)	
HIV1/2	2 (8,3)	0 (0)	1 (3,7)	0	
Sifilis	1 (4,2)	3 (17,6)	5 (18,5)	1 (5,3)	
Ukupno	24 (100)	17 (100)	27 (100)	19 (100)	

*Fisherov egzaktni test

DDK - dobrovoljni davatelj krvi, HBV - hepatitis B virus, HCV- hepatitis C virus, HIV 1/2 - virus humane deficijencije tip 1/2

Tijekom 2013. godine značajno je više pozitivnih na HIV 1/2 i sifilis u skupini višestrukih DDK, dok su HBV i HCV značajnije češći u skupini novih DDK (Fisherov egzaktni test, P = 0,01). Nema značajne razlike tijekom 2014. godine u potvrdno pozitivnim nalazima između višestrukih ili novih davatelja krvi. U 2015. godini (Fisherov egzaktni test, P = 0,001) i 2016. godini (Fisherov egzaktni test, P < 0,001), također su HIV 1/2 i sifilis značajnije češći kod višestrukih, a HBV i HCV kod novih davatelja krvi (Tablica 5. 5.).

Od 1. ožujka 2013. godine provodi se NAT testiranje svih uzoraka krvi DDK u Republici Hrvatskoj u HZTM. Uzorci su se putem profesionalne prijevozničke tvrtke prevozili iz 7 ovlaštenih ustanova u HZTM.

Najveći je broj OBI slučajeva otkriven u HZTM što je i očekivano obzirom da HZTM godišnje prikupi oko 100 000 donacija krvi godišnje. Regionalni transfuzijski centar Osijek (RTCO) je 1. veljače 2014. završio proces reorganizacije transfuzijske službe u području poslova prikupljanja, prerade, testiranja, čuvanja i distribucije krvi i krvnih pripravaka. Stoga je RTCO postao druga po veličina banka krvi u RH s prikupljenih oko 30.000 donacija krvi godišnje.

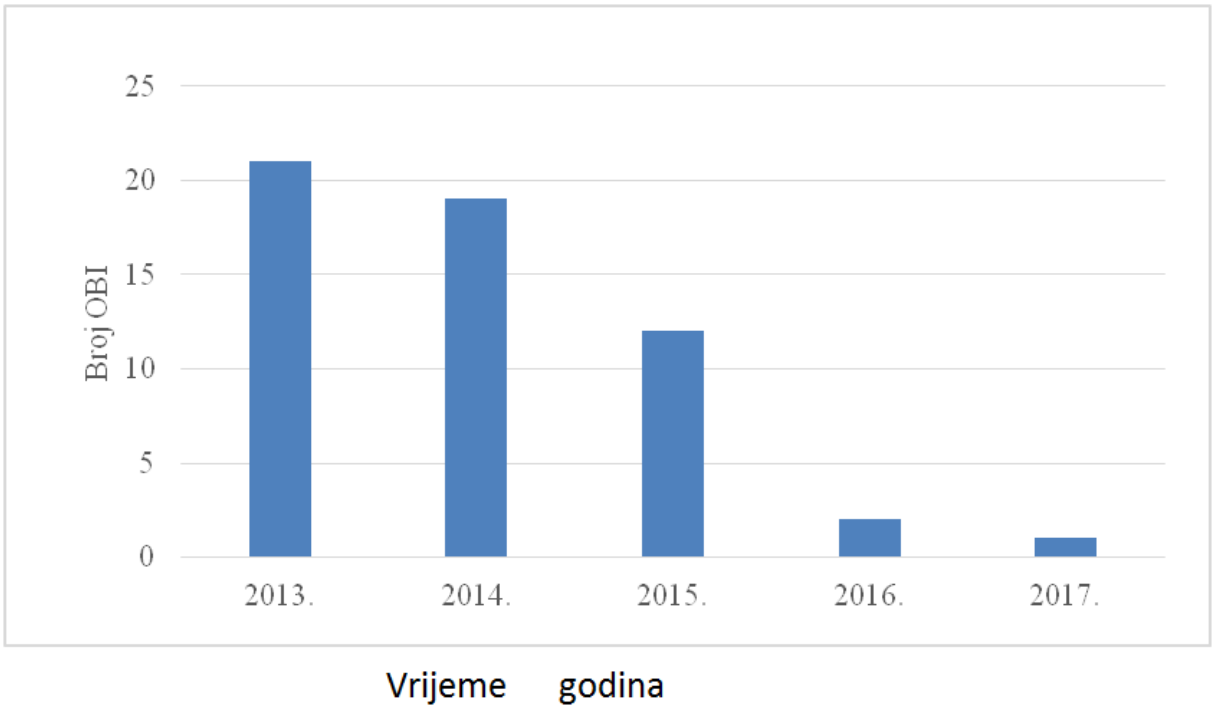
U razdoblju od 1. ožujka 2013. g. do 1. ožujka 2017.godine u Republici Hrvatskoj detektirana su 56 OBI u dobrovoljnih davatelja krvi (Slika 5.1.).

Tablica 5. 5. Raspodjela potvrdno pozitivnih u odnosu na to jesu li višestruki ili novi dobrovoljni davatelji krvi i prema serološkom testiranju u pojedinoj godini.

	Broj/ ukupno potvrdno pozitivnih			P*
	Višestruki DDK	Novi DDK	Ukupno (%)	
2013.				
HBV	3/17	12/24	15 (37)	
HCV	5/17	9/24	14 (34)	**0,01**
HIV1/2	2/17	2/24	4 (10)	
Sifilis	7/17	1/24	8 (20)	
Ukupno	17/17	24/24	41 (100)	
2014.				
HBV	6/13	9/17	15 (50)	
HCV	2/13	5/17	7 (23)	**0,54**
HIV1/2	1/13	0/17	1 (4)	
Sifilis	4/13	3/17	7 (23)	
Ukupno	13/13	17/17	30 (100)	
2015.				
HBV	0	12/25	12 (36)	
HCV	0	7/25	7 (21)	**0,001**
HIV1/2	3/8	1/25	4 (12)	
Sifilis	5/8	5/25	10 (30)	
Ukupno	8/8	25/25	33 (100)	
2016.				
HBV	0	13/19	13 (46)	
HCV	2/9	5/19	7 (25)	**<0,001**
HIV1/2	3/9	0	3 (11)	
Sifilis	4/9	1/19	5 (18)	
Ukupno	9/9	19/19	28 (100)	

*Fisherov egzaktni test

DDK - dobrovoljni davatelj krvi, HBV - hepatitis B virus, HCV - hepatitis C virus, HIV 1/2 - virus humane deficijencije tip 1/2



OBI - engl. *occult B infection,* okultna hepatitis B virusna infekcija.

Slika 5. 1. Raspodjela okultne hepatitis B virusne infekcije prema godinama

(izradio autor)

Obzirom na ovlaštene zdravstvene ustanove, najviše je OBI u HZTM, 33 (59 %), po 8 (14 %) u Osijeku i Rijeci, 4 u Splitu i 3 u Varaždinu, dok OBI nije otkriven u zdravstvenoj ustanovi Pule, Dubrovnika i Zadra. Najveći su broj OBI DDK bili višestruki davatelji krvi, njih 52 (93 %) u svim ovlaštenim ustanovama. Nema značajnih razlika u broju OBI prema tome radi li se o višestrukim ili novim DDK (Tablica 5. 6.).

Tablica 5. 6. Raspodjela okultne hepatitis B virusne infekcije prema ovlaštenim zdravstvenim ustanovama

Ovlaštena zdravstvena ustanova	Broj (%) OBI prema broju darivanja krvi			**P***
	Višestruki DDK	Novi DDK	Ukupno OBI	
HZTM	32 (57)	1/4	33 (59)	
Osijek	6 (11)	2/4	8 (14)	
Rijeka	7 (13)	1/4	8 (14)	0,19
Split	4 (7)	0	4 (8)	
Varaždin	3 (5)	0	3 (5)	
UKUPNO	52 (100)	4/4	56 (100)	

*Fisherov egzaktni test

HZTM - Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, OBI - engl. *occult B infection*, okultna hepatitis B virusna infekcija, DDK - dobrovoljni davatelji krvi

Muškarci DDK imaju više OBI u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama. Od ukupno 9 (16 %) žena s OBI, najveći je broj u HZTM (4/9) te u Regionalnom transfuzijskom centru Rijeka. Nema značajnih razlika u broju OBI prema spolu i zdravstvenoj ustanovi (Tablica 5. 7.).

Tablica 5. 7. Raspodjela okultne hepatitis B virusne infekcije prema spolu i ovlaštenoj zdravstvenoj ustanovi

Ovlaštena zdravstvena ustanova	Broj (%) OBI prema spolu			P*
	Muškarci	Žene	Ukupno	
HZTM	29 (62)	4/9	33 (59)	
Osijek	7 (15)	1/9	8 (14)	
Rijeka	5 (11)	3/9	8 (14)	0,36
Split	3 (6)	1/9	4 (8)	
Varaždin	3 (6)	0	3 (5)	
UKUPNO	48 (100)	9/9	56 (100)	

*Fisherov egzaktni test

HZTM - Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, OBI - engl. *occult B infection*, okultna hepatitis B virusna infekcija.

Od ukupnog je broja OBI dobrovoljnih davatelja krvi, 48 (85 %) slučajeva u dobi starijoj od 50 godina života (Tablica 5. 8.).

Tablica 5. 8. Raspodjela slučajeva okultne hepatitis B virusne infekcije prema dobi dobrovoljnih davatelja krvi

Dob DDK	Broj OBI %
18 - 30	1(2)
31 - 40	2 (3)
41 - 50	5 (9)
51 - 60	31 (55)
61 - 70	17 (30)
UKUPNO	**56 (100)**

DDK - dobrovoljni davatelji krvi, OBI - engl. *occult B infection*, okultna hepatitis B virusna infekcija.

U 51 (92 %) slučajeva razina HBV DNK bila je ispod granica detektabilnosti ili vrlo niska (< 20 IU/mL), dok je u samo 4 (7 %) slučaja razina veća od 100 IU/mL u uzorcima (Tablica 5. 9.).

Tablica 5. 9. Razina deoksiribonukleinske kiseline virusa hepatitisa B u uzorcima krvi dobrovoljnih davatelja

Razina HBV DNK (IU/mL)	**Broj (%) OBI**
Nije detektirana	30 (54)
< 20	21 (38)
20 - 100	1 (2)
>100	4 (7)
UKUPNO	**56 (100)**

HBV DNK - hepatitis B virus deoksiribonukleinska kiselina, OBI - engl. *occult hepatitis B infection*, okultna hepatitis B virusna infekcija.

Pozitivan anti - HBc biljeg javlja u 54 (96.4 %) OBI slučajeva dok se u 23 (41 %) slučajeva javljaju anti - HBS i anti - HBe (Tablica 5. 10.).

Tablica 5. 10. Pojavnost biljega hepatitis B virusne infekcije slučajevima okultne hepatitis B virusne infekcije

Pozitivan biljeg	**Broj OBI (%)**
Anti - HBc	54 (96)
Anti - HBs	23 (41)
Anti - HBe	23 (41)

HBV - hepatitis B virus, OBI - engl. *occult B infection*, okultna heptitis B virusna infekcija,

Anti - HBc - protutijelo na jezgrin antigen hepatitis B virusa, Anti - HBs - protutijelo na površinski antigen hepatitis B virusa, Anti - Hbe - protutijelo na antigen ovojnice hepatitis B virusa.

Ponovljeno reaktivni prema NAT testiranju uzoraka krvi DDK je podjednak broj u promatranom razdoblju. Najviše ih je HBV DNK, a najmanje HIV - 1 RNK, bez značajnih razlika prema promatranom razdoblju (Tablica 5.11.).

Tablica 5. 11. Raspodjela ponovljeno reaktivnih rezultata prema testiranju amplifikacije nukleinskih kiselina uzoraka krvi dobrovoljnih davatelja u Republici Hrvatskoj

	Broj (%) ponovljeno reaktivnih				P*
	2013.	2014.	2015.	2016.	
HBV DNK	30 (75)	29 (83)	22 (69)	13 (65)	
HCV RNK	7 (18)	4 (11)	6 (19)	4 (20)	0,77
HIV - 1RNK	3 (7)	2 (6)	4 (13)	3 (15)	
Ukupno	40 (100)	35 (100)	32 (100)	20 (100)	

ponovljeno reaktivni*Fisherov egzatni test

HBV DNK - hepatitis B virus deoksiribonukleinska kiselina, HVC RNK - hepatitis C virus ribonukleinska kiselina, HIV - 1 RNK - virus humane imunodeficijencije 1 ribonukleinska kiselina.

Od 2014. do 2016. godine otkrivena su dva slučaja HIV - 1 RNA i jedan slučaj HBV DNA pozitiviteta u „prozoru“ (engl. *window period*, vrijeme prozora se odnosi na vrijeme nakon zaraze, a prije serokonverzije, tijekom kojeg su biljezi infekcije još uvijek odsutni ili preoskudni da bi ih bilo moguće otkriti konvencionalnim testovima) (Tablica 5. 12.).

Tablica 5. 12. Raspodjela *„window perioda*“ prema testiranju amplifikacije nukleinskih kiselina uzoraka krvi dobrovoljnih davatelja u Republici Hrvatskoj.

	Broj (%) prema *„window periodu“*			
	2013.	2014.	2015.	2016.
HBV DNK	0	0	0	1
HCV RNK	0	0	0	0
HIV – 1 RNK	0	1	1	0
Ukupno	0	1/1	1/1	1/1

HBV DNK - hepatitis B virus deoksiribonukleinska kiselina, HCV RNK - hepatitis C virus ribonukleinska kiselina, HIV - 1 RNK - virus humane imunodeficijencije 1 ribonukleinska kiselina.

U rezultatima molekularnog testiranja (ID - NAT) u razdoblju od 2013. do 2016. godine uočava se smanjivanje OBI slučajeva (Tablica 5. 13.).

Tablica 5. 13. Raspodjela okultne hepatitis B virusne infekcije prema godinama i molekularnom testiranju

	Broj (%) prema okultnoj HBV infekciji (OBI)			
	2013.	2014.	2015.	2016.
HBV DNK	21	19	12	2

OBI - engl. *occult B infection*, okultna hepatitis B virusna infekcija, HBV DNK - hepatitis B virus deoksiribonukleinska kiselina.

Savjetovališta za krvlju prenosive bolesti dobrovoljnih davatelja krvi postoje u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama i provodi ga liječnik specijalist transfuziolog. U KBC Osijek je voditelj Savjetovališta bio liječnik specijalist mikrobiolog i ono postoji od 1987. g., nakon uvođenja anti - HIV testa DDK.

Dobrovoljni su davatelji krvi kod kojih je otkrivena OBI u savjetovalištima ispunjavali upitnik koji je dizajniran za ovo istraživanje. Svrha je upitnika bila procjena kliničkih i

epidemioloških značajki povezanih s dijagnosticiranom okultnom hepatitis B virusnom infekcijom i u DDK.

U ovlaštenim su zdravstvenim ustanovama OBI DDK obavili savjetovanje. U Regionalnim su transfuzijskim centrima Osijek, Split i Rijeka svi OBI DDK obavili savjetovanje. U HZTM je samo 22 (52 %) OBI DDK obavilo savjetovanje, dok u Varaždinu niti jedan OBI DDK nije bio na savjetovanju (Fisherov egzaktni test, P = 0,003) (Tablica 5. 14.).

Tablica 5. 14. Prikaz broja dobrovoljnih davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom u odnosu na obavljena savjetovanja po ovlaštenim zdravstvenim ustanovama

Ovlaštena zdravstvena ustanova	Broj (%) DDK s OBI u odnosu na savjetovanje			P*
	Dolazak savjetovalište	Nedolazak savjetovalište	Ukupno	
HZTM	22 (52)	11/14	33 (59)	
Osijek	8 (19)	0	8 (14)	
Rijeka	8 (19)	0	8 (14)	**0,003**
Split	4 (10)	0	4 (7)	
Varaždin	0	3/14	3 (5)	
UKUPNO	42 (100)	14/14	56 (100)	

*Fisherov egzaktni test, DDK - dobrovoljni davatelji krvi, OBI - engl. *occult B infection*, okultna hepatitis B virusna infekcija.

Najveći je broj OBI DDK, njih 24 (57 %) obavilo dva savjetovanja, dok ih je 5 (12 %) obavilo tri i više (Tablica 5. 15.).

Tablica 5. 15. Prikaz ukupnog broja obavljenih savjetovanja davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama

Broj savjetovanja	**Broj (%) OBI DDK**
Jedno savjetovanje	13 (31)
Dva savjetovanja	24 (57)
Tri savjetovanja i više	5 (12)
UKUPNO	42 (100)

OBI - engl. *occult B infection,* okultna hepatitis B virusna infekcija, DDK – dobrovoljni davatelji krvi.

Osobno je prisustvovalo savjetovanju 25 (60 %) OBI DDK, dok ih je 17 (40 %) savjetovanje obavilo telefonskim putem.

Najveći je broj OBI DDK odgovorio da nisu imali nikakvih simptoma prije otkrivanja same infekcije u transfuzijskoj službi. Simptome kao žutica i hepatitis navodi jednaki broj OBI DDK, njih 7/26. Ostali simptomi su: urološki problemi, šećerna bolest, problemi s kralješnicom, žučni kamenci i tremor ruku (Tablica 5. 16.).

Tablica 5. 16. Podatci iz osobne anamneze davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama

Osobna anamneza	Broj (%) OBI DDK prema osobnoj anamnezi		Ukupno
	da	ne	
Žutica	7/26	19/26	26/26
Hepatitis	7/26	19/26	26/26
Malaksalost	0	26/26	26/26
Ostalo	8/26	18/26	26/26

OBI - engl. *occult B infection,* okultna hepatitis B virusna infekcija, DDK – dobrovoljni davatelji krvi.

Najveći je broj OBI DDK odgovorio da u obitelji nije bilo bolesti ili kontakata s oboljelim osobama. Svega 4/26 ili 2/26 OBI DDK navodi žuticu ili hepatitis u obiteljskoj anamnezi.

Niti jedan OBI DDK nije primao krv ili krvne pripravke (Tablica 5. 17.).

Tablica 5. 17. Podatci iz obiteljske anamneze davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama (n = 26).

Osobna anamneza	Broj (%) OBI DDK prema osobnoj anamnezi		Ukupno
	da	ne	
Žutica	4/26	22/26	26/26
Hepatitis	2/26	24/26	26/26
Malaksalost	2/26	24/26	26/26
Ostalo	0	26/26	26/26

OBI - engl. *occult B infection*, okultna hepatitis B virusna infekcija, DDK – dobrovoljni davatelji krvi.

Medicinskim intervencijama je bilo podvrgnuto 4/26 OBI DDK, dok je nešto drugo (piercing, tetovaža, akupunktura) prisutno u 2 od 26 OBI DDK (Tablica 5. 18.).

Tablica 5. 18. Izloženost davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom operativnim zahvatima i drugim medicinskim intervencijama u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama

Vrsta zahvata	Broj (%) OBI DDK prema osobnoj anamnezi		Ukupno
	da	ne	
Operativni zahvat	19/26	7/26	26/26
Medicinske intervencije	4/26	22/26	26/26
Gastroskopija	2		
Kolonoskopija	1		
Dijagnostička laparoskopija	1		
Drugo	2/26	24/26	26/26
Gastroskopija	0		
Kolonoskopija	1		
Dijagnostička laparoskopija	1		

OBI - engl. *occult B infection*, okultna hepatitis B virusna infekcija, DDK – dobrovoljni davatelji krvi.

Operativnim je zahvatima bilo podvrgnuto 19/26 OBI DDK. Od operativnih zahvata najučestalije su bile operacije koljena (5/29), ruke (4/29) i hernije (3/29), dok su ostali zahvati u manjem broju (Tablica 5. 19.).

Tablica 5. 19. Vrste operativnih zahvata davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama

Vrsta operativnog zahvata	Broj/ ukupno OBI DDK
Crvuljak	2/29
Žučni kamenci	1/29
Ginekološki polipi	1/29
Cista bubrega	1/29
Krajnici	2/29
Koljeno	5/29
Polipi kolona	1/29
Ruka	4/29
Hernije	3/29
Madeži	2/29
Cirkumcizija	1/29
Kralješnica	2/29
Testis	1/29
Carski rez	1/29
Stomatološki zahvati	2/29
UKUPNO	29/29

Jedan je OBI DDK imao pet operativnih zahvata (ruka, usnica, kralješnica, šaka i peta), dok su dva OBI DDK imala operativne zahvate i medicinske intervencije: polipi kolona - kolonoskopija. DDK s pet operativnih zahvata je imao gastroskopiju i kolonoskopiju. Navedeni je DDK s pet operativnih zahvata imao i akupunkturu te obiteljski kontakt s HBV (Tablica 5. 20.).

Tablica 5. 20. Broj operativnih zahvata po davatelju krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama

Operativni zahvat	Broj / ukupno OBI DDK
Jedan	8/19
Dva	2/19
Tri i više	9/19
UKUPNO	19/19

OBI - engl. *occult B infection,* okultna hepatitis B virusna infekcija, DDK - dobrovoljni davatelji krvi.

Od 4 OBI DDK koji su imali kućne kontakte s HBV pozitivnim osobama, 3 / 4 osoba je imalo kontakte sa supružnicima. Zajednički higijenski pribor (britvice, četkice za zube) koristila su 2 OBI DDK (Tablica 5. 21.).

Tablica 5. 21. Broj davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom koji su imali kućne kontakte s virusom hepatitis B pozitivnim osobama u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama

Kućni kontakt	Broj/ ukupno OBI DDK
supružnik	3/4
rođak	1/4
UKUPNO	4/4

OBI - engl. *occult B infection,* okultna hepatitis B virusna infekcija, DDK – dobrovoljni davatelji krvi.

Najveći je broj OBI DDK u bračnoj zajednici (24 / 26), a niti jedan OBI DDK nema saznanja o zdravstvenom stanju ranijih spolnih partnera (Tablica 5. 22.).

Tablica 5. 22. Podatci o spolnim kontaktima davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama (n =26)

Spolni kontakti	Broj / ukupno OBI DDK
Brak	24 / 26
Izvan braka	2 / 26
Jedan partner u braku	23 / 26
Više partnera u braku	3 / 26
Više partnera prije braka	3 / 26
Poznato zdravstveno stanje kontakata	0
Nepoznato zdravstveno stanje kontakata	26 / 26

OBI - engl. *occult B infection*, okultna hepatitis B virusna infekcija, DDK – dobrovoljni davatelji krvi.

Osim jednog OBI DDK, zdravstveno je stanje 25 / 26 OBI DDK na temelju anamneze i kliničkog statusa smatrano zadovoljavajućim od strane liječnika u savjetovalištima. Svi su OBI DDK upućeni liječnicima obiteljske medicine uz prijedloge daljnje obrade prema specijalistu gastroenterologu. Samo su dva davatelja navela u anamnezi da su imali povišene jetrene enzime na sistematskim pregledima prije više od pet godina (nisu imali medicinsku dokumentaciju), a jedan je OBI DDK priložio na drugom savjetovanju uredan nalaz ultrazvuka trbuha (Tablica 5. 23.).

Tablica 5. 23. Ocjena zdravstvenog stanja davatelja krvi s okultnom hepatitis B virusnom infekcijom na savjetovanju u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama.

Savjetovanje	Broj / ukupno OBI DDK prema zdravstvenom stanju	
	Zdrav	Bolestan
Prvo	25	1
Drugo	26	26
Upućen obiteljskom liječniku	26	-

OBI - engl. *occult B infection,* okultna hepatitis B virusna infekcija, DDK – dobrovoljni davatelji krvi.

Svi su OBI DDK, njih 56, prijavljeni nadležnim epidemiološkim službama u skladu sa zakonskim propisima. Niti jedan OBI DDK nije registriran u bolničkom informatičkom sustavu KBC Osijek kao pacijent. Za OBI DDK iz drugih ovlaštenih ustanova podatci nisu poznati.

Look - back postupci nisu pokrenuti u slučajevima kada nije bilo arhivskih uzoraka (1 slučaj kada je razmak između davanja krvi bio 42 mjeseca) ili u slučajevima kada su arhivski uzorci bili negativni (Tablica 5. 24.).

Tablica 5. 24. Podatci o postupanjima transfuzijske službe Republike Hrvatske u slučajevima detektirane okultne hepatitis B virusne infekcije u dobrovoljnih davatelja krvi

Podatak	Broj
Pokrenut *look - back* postupak	25
Pokrenut *trace - back* postupak	0
Arhivski uzorci	182
Proizvedeno krvnih pripravaka	128
Primijenjeno krvnih pripravaka	93
Primatelj	74
Testiranih primatelja	*44*
Negativni (serološka + molekularna testiranja)	*26*
Pozitivni anti -HBc, anti -HBs, anti - HBe	*16*
Pozitivni HBV DNK	*1*
Serološki pozitivni prije transfundiranja	*1*
Odbilo testiranje	1
Umrlo primatelja	29

anti - HBc - protutijelo na jezgrin antigen hepatitis B virusa, anti - HBs - protutijelo na površinski antigen hepatitis B virusa, anti - HBe - protutijelo na antigen ovojnice hepatitis B virusa, HBV DNK - deoksiribonukleinska kiselina hepatitis B virusa,

look back postupak - način postupanja kada se ustanovi da se višestruki davatelj krvi zarazio uzročnikom koji se prenosi krvlju, zbog čega je mogao zarazu prenijeti na primatelje pripravaka priređenih iz zadnje doze krvi za koju je testiranjem dobiven negativan rezultat,

trace back postupak - način postupanja kada transfuzijska ustanova zaprimi obavijest o postojanju objektivne sumnje da se bolesnik zarazio putem transfuzije krvi i krvnih pripravaka.

U razdoblju od 1. 5. do 31. 12. 2013. godine do kraja 2016. godine zabilježeno je 8 slučajeva OBI i to jedan u Osječko - baranjskoj županiji i 7 u ostale četiri županije (Vukovarsko-srijemska, Požeško - slavonska, Brodsko - posavska i Virovitičko - podravska županija). Samo je tijekom zadnjih šest mjeseci 2013. godine značajno više OBI u ostale četiri županije, negoli u Osječko - baranjskoj županiji, dok tijekom 2014. do 2016. godine nema značajnih razlika u broju OBI (Tablica 5. 25.).

Tablica 5. 25. Raspodjela trajno odgođenih dobrovoljnih davatelja krvi prema broju davanja krvi u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu KBC Osijek i ostale 4 županije u razdoblju od 2013. do 2016. godine.

	Broj (%) DDK testiranih u			P*
	Osječko-baranjska županija	Ostale županije	Ukupno	
2013. godina (od 1.5 do 31.12)				
OBI pozitivan	0	4 (0,1)	4 (0,04)	**0,02**
OBI negativan	5922 (100)	3173 (99,9)	9095 (99,96)	
Ukupno DDK testiranih	5922 (100)	3177 (100)	9099 (100)	
2014. godina				
OBI pozitivan	1 (0,01)	1 (0,02)	2 (0,01)	> 0,99
OBI negativan	7462 (99,99)	6183 (99,98)	13645 (99,99)	
Ukupno DDK testiranih	7463 (100)	6184 (100)	13647 (100)	
2015. godina				
OBI pozitivan	0	2 (0,03)	2 (0,01)	0,17
OBI negativan	8728 (100)	6118 (99,97)	14846 (99,99)	
Ukupno DDK testiranih	8728 (100)	6120 (100)	14848 (100)	
2016. godina				
OBI pozitivan	0	0	0	-
OBI negativan	8137 (100)	6182 (100)	14319 (100)	
Ukupno DDK testiranih	8137 (100)	6182 (100)	14319 (100)	

*Fisherov egzaktni test; DDK - dobrovoljni davatelja krvi; OBI - okultna hepatitis B virusna infekcija, Vukovarsko - srijemska, Požeško - slavonska, Brodsko - posavska i Virovitičko - podravska županija

6. RASPRAVA

U našem je istraživanju utvrđeno da su u razdoblju od 1. 3. 2013. g. - 1. 3. 2017. g. HZTM i ovlaštene zdravstvene ustanove u RH izvršile 743 490 seroloških testiranja uzoraka krvi dobrovoljnih davatelja na HBV, HCV, HIV ½ i sifilis.

U razdoblju od 1. 3. 2013. g. - 1. 3. 2017. g. HZTM izvršio je 743 490 ID - NAT (HBV, HCV, HIV) testiranja uzoraka krvi DDK.

Rezultati su se serološkog i molekularnog testiranja povezivali uz davatelja krvi i doniranu dozu putem e – Delphyn nacionalnog informatičkog sustava transfuzijske službe RH.

Ukupan je broj testiranih uzoraka krvi DDK na biljege krvlju prenosivih bolesti u RH u razdoblju 2013. – 2017. stabilan i kreće se u rasponu 183 072 do 197 294 uzoraka krvi. Postoji blaga tendencija rasta broja prikupljenih donacija u promatranom razdoblju kojom RH osigurava samodostatnost u opskrbi zdravstva krvi i krvnim pripravcima.

Prikupljena krv dobrovoljnih davatelja predstavlja nacionalno blago RH. Broj DDK u promatranom razdoblju iznosio je u 2013. godini 84 051, u 2014. g. 90 978, u 2015. g. 95 958 i u 2016. g. 96 836. Broj DDK u RH mogao je biti sa sigurnošću utvrđen tek uvođenjem nacionalnog informatičkog sustava e - Delphyn.

Ukupan broj testiranih uzoraka krvi novih DDK na biljege krvlju prenosivih bolesti u RH također je stabilan i kreće se u rasponu od 14 072 do 16 369 uzoraka. U 2013. g. je broj je novih DDK iznosio 7,69%, u 2014. g. 7,65%., u 2015. g. 8,37%, a u 2016. g. 8,11%.

Broj je novih davatelja dostatan za obnavljanje poola davatelja i pokazuje tendenciju blagog rasta.

Značajna se razlika u broju ponovljenih reaktivnih rezultata kod svih DDK prema godinama može protumačiti primjenom EIA testova nove generacije s manjim brojem lažno pozitivnih rezultata zbog boljih osobina testova (osjetljivost i specifičnost).

Učestalost potvrđeno pozitivnih biljega krvlju prenosivih bolesti u populaciju DDK RH podjednaka je u promatranom razdoblju i općenito niska u odnosu na druge zemlje. Hrvatska je zemlja s 4,3 milijuna stanovnika i prikupljenih oko 190 000 donacija krvi godišnje. Pripada zemljama s niskom prevalencijom HBV, HCV i HIV - 1 u općoj populaciji kao i populaciji

DDK. Prevalencija HBV potvrđeno pozitivnih DDK kreće se za 2013. g. 0,008%, 2014. g. 0,008%, 2015. g 0,006% i 2017. g. 0,007% (42).

U svijetu se razlikuju zone visoke prevalencije kroničnih nositelja (8 - 15%) kao što su Azija, subsaharska Afrika, Južna i Srednja Amerika (45% svjetske populacije), zone srednje prevalencije (2 - 7%) kao što su Hrvatska, neki dijelovi Rusije, granična euroazijska i azijsko-afrička područja (43% svjetske populacije) i zone niske prevalencije (0,5 – 1,5 %) kao što su Poljska, Češka, Slovačka, Belgija, Italija, Njemačka te ispod 0.5 % kao što su Nizozemska, Mađarska, Slovenija, Norveška, itd. Estonija se smatra visoko endemičnom zemljom jer ima visoku incidenciju slučajeva (33 / 100 000) (11).

Rezervoar virusa hepatitisa B su ljudi. Incidencija je akutnog hepatitisa B u Hrvatskoj, prema obveznim prijavama zaraznih bolesti, od 1980. - 2004. godine iznosila 200 - 250 novootkrivenih slučajeva godišnje. Bilježi se tendencija pada, tako je unazad nekoliko godina oko 100 novootkrivenih slučajeva godišnje. Najveći je pad incidencije uočen u adolescenata i mladih odraslih osoba. Sličan trend pokazuje kretanje incidencije novootkrivenih HBsAg pozitivnih osoba - asimptomatskih vironoša i kronično oboljelih (43).

Na 26. simpoziju u organizaciji *International plasma and fractination association* (IPFA) koji je održan u Krakowu u svibnju 2019. g., revidirana je definicija okultnog hepatitisa B (OBI): prisutnost HBV DNK sa sposobnošću replikacije u jetri i / ili HBV DNK u krvi bez HBsAg utvrđenog postojećim testovima uz ili bez anti - HBc i anti - HBs protutijela.

Najnovije referencije iz 2019. g. (Spreaficol, Testoni i Inoue) ističu značenje HBcr Ag (*engl. hepatitis B core - related antigen)* u okultnom hepatitisu B u populaciji davatelja krvi (44, 45). Virusna je kovalentno zatvorena kružna DNK (cccDNK) odgovorna za infekciju u hepatocitima. HBV se ne može lako eliminirati iz jetre budući se ispružena kružna DNK neprestano konvertira u zatvorenu kružnu DNK (cccDNK) u staničnoj jezgri (44, 45). Budući da u našem istraživanju niti jedan OBI DDK nije registriran u bolničkim informatičkim sustavima, nameće se vjerojatno potreba intenzivnije hepatološke obrade ovakvih davatelja.

HBcrAg se sastoji od tri proteina kodirana precore / core regijom, uključujući HBeAg, HBCcAg i 22 - kDa precore protein (p22cr). Serološka testiranja HBeAg, p22cr i HBcAg, sva tri ova biljega možemo smatrati kao HBcrAg. HBcrAg može potaknuti domaćinov stanični imuni odgovor budući su HBcAg i HBeAg cilj djelovanja citotoksičnih T stanica.

Kvantifikacija HBcrAg u serumu korelira s količinom i aktivnosti cccDNK te može biti upotrijebljena za praćenje progresije bolesti (44). Budući se uzorci naših ispitanika čuvaju prema zakonskim odredbama bit će moguće podvrgnuti ih testiranju ovom metodom što otvara mogućnost nadgradnje samog istraživanja.

Biopsija jetre najbolja je tehnika za kvantifikaciju intrahepatalne cccDNK i HBV DNK. Najveće je ograničenje ove tehnike, koja se dugo smatrala zlatnim standardom u određivanju stupnja fibroze jetre, invazivnost same metode. Iako su svi naši ispitanici bili upućeni spacijalisti gastroenterologu vjerojatno je upravo invazivnost same metode jedan od glavnih razloga zašto OBI DDK nisu bili podvrgnuti intenzivnijoj hepatološkoj obradi.

Odnedavno je u primjeni jednostavna, neinvazivna tehnika tranzitorne elastografije (Fibro Scan®) za procjenu stupnja jetrenog oštećenja *(engl. scarring*) (46, 47, 48, 49). U SAD je odobren 2013. g., desetljeće nakon što se počeo primjenjivati u Europi.

Tvrdoće jetre evaluira se mjerenjem brzine vibracijskih valova generiranih na koži niske frekvencije (50 Hz) koji se prenose kroz jetreno tkivo. Mjerenje jetrene tvrdoće izražava se u kPa koji koreliraju sa stupnjem jetrene fibroze. Indikacije su: kronični hepatitis (B i C), kronična alkoholna bolest jetre i masna jetra. Potrebno je uzeti u obzir u interpretaciji rezultata postoji li inflamacija jetre (aktivni hepatitis), kolestaza (bilijarna obstrukcija), tumor ili kongestija jetre. Pacijenti s dijagnozom debljine (BMI > 30 - 35 kg / m^2), starije životne dobi, ascitesom i metaboličkim sindromom (dijabetes tipa 2, hipertenzija, itd.) nisu pogodni za primjenu ove metode (46, 49). Niti jedan OBI DDK u našem istraživanju nije bio podvrgnut ovoj metodi pregleda prema uvidu u bolničke informatičke sustave, vjerojatno zbog ranije navedenih isključnih kriterija.

Temelj dijagnoze sindroma akutnog virusnog hepatitisa su povišene serumske amino-transferaze (20 do 100 puta), obično ALT > AST. Aminotransferaze su dobar pokazatelj aktivnosti bolesti, a bilirubin i protrombinsko vrijeme težine bolesti.

Uvidom u bolničke informatičke sustave ovlaštenih zdravstvenih ustanova za prikupljanje krvi, niti za jednog davatelja sa OBI-om nije u sustavu pronađen podatak da mu je rađena biokemijska analiza krvi. To se može protumačiti činjenicom kako su se svi OBI DDK koji su prošli savjetovališta subjektivno dobro osjećali kao i da je procjena liječnika koji je radio savjetovanje u svim slučajevima bila da su osobe zdrave. Najveći je broj OBI DDK obavio

dva savjetovanja (57,14%). Naši se podatci podudaraju s novim spoznajama o tome da OBI ne izaziva kliničke manifestacije u imunokompetentnih osoba (42).

Za etiološku dijagnozu hepatitisa dokazujemo antigene HBV (HBsAg i HBeAg), protutijela (anti - HBs, anti - HBc IgM, anti - HBc IgG i anti HBe) te genski materijal virusa (HBV DNK). Za dijagnozu HBV zaraze nije važno samo dokazivanje biljega zaraze nego i dinamika njihovog pojavljivanja i nestajanja (13).

U transfuzijskoj su se službi RH unazad jednog desetljeća dogodili izuzetno važni događaji koji su znatno pridonijeli kvaliteti i sigurnosti transfuzijskog liječenja: reorganizacija transfuzijske službe, implementacija nacionalnog informatičkog sustava e - Delphyn i uvođenje NAT testiranja.

Uzimajući u obzir sve HBV DNK pozitivne DDK u Hrvatskoj, rizik je potencijalno infektivne donacije znatno viši za HBV nego za HIV i HCV (17). U usporedbi sa zemljama u okruženju, Hrvatska ima viši NAT „*yield*“ (engl. *yield*, količina za HBV (91,7 na milijun donacija), 1,8 na milijun donacija za HIV i značajno niži HCV NAT „*yield*“ (0,00 na milijun donacija). Italija je prijavila učestalost NAT pojavnosti za HBV (57.8 na milijun donacija), HCV (2,5 na milijun donacija) i HIV - 1 (1,8 na milijun donacija). Slovenija je prijavila slične rezultate za HBV (63,3 na milijun donacija), HCV (4.27 na milijun donacija) i HIV -1 (0,0 na milijun donacija) (50). Zemlje su s niskom HBV prevalencijom kao Njemačka, Švicarska, Novi Zeland, SAD, Kanada prijavile HBV NAT *yield* do 1 : 730 000, dok su zemlje srednje prevalencije (Poljska i mediteranske zemlje) prijavile do 1 : 51 987. HBV NAT incidencija je od 1 na 10 900 donacija u Hrvatskoj usporediva s rezultatima iz Slovenije (1 : 15 600 donacija). Ostale zemlje u okruženju (Bosna i Hercegovina, Srbija, Crna Gora, Sjeverna Makedonija) nisu uvele NAT testiranje donacija krvi (17).

Glavna je dobrobit uvođenja NAT testiranja donacija krvi zaustavljanje prijenosa u „*window periodu“* i identifikacija OBI statusa DDK što je od velikog značaja za banke krvi u smislu značajno veće osjetljivosti u detekciji krvlju prenosivih bolesti. Jedna je od dobrobiti uvođenja NAT testiranja donacija krvi smanjivanje broja lažno pozitivnih seroloških rezultata što je od velikog značenja u savjetovanju davatelja krvi. Hrvatska se odlučila za individualno testiranje donacija krvi u odnosu na mini pulove (engl. *minipool NAT,* MP NAT) koji mogu varirati u broju uzoraka (od 96 do 16, 8 ili 6 uzoraka). ID - HBV NAT je otkrio značajno više

DNK pozitivnih, HBsAg negativnih donacija nego MP NAT (51). Primjenom ID –HBV NAT " *window period"* skraćen je s 38 dana u serološkim testiranjima na 15 dana.

Objavljena su izvješća o najmanje šest istraživanja do 2016. g. koje su uspoređivale osjetljivost dva komercijalna tripleks NAT testa (ID i minipul od šest donacija) za detekciju HBV, *head to head studije* (52). Heim je 2016. g. u retrospektivnoj studiji u Njemačkoj na uzorcima 21 181 davatelja krvi, 984 uzorka donora tkiva, 293 donora hematopoetskih matičnih stanica i 4 donora organa zaključio da je ID - NAT test za detekciju HBV, HCV i HIV - 1, HIV - 2 brz, specifičan i robustan test (53). Primjena MP - NAT za HBV ograničava detekciju OBI DDK (54).

U promatranom se razdoblju broj OBI slučajeva u DDK otkrivenih u transfuzijskoj službi RH neprestano smanjivao što je i bilo za očekivati: 2013. g. je otkriven 21 DDK, 2014. g. je otkriveno 19 DDK, 2015. g. je otkriveno 15 slučajeva DDK, a prijelomna je 2016. g. kada je otkriveno 2 slučaja u cijeloj godini dok je za prva dva mjeseca 2017. g. otkriven jedan slučaj. Ovakvi su rezultati bili očekivani budući su OBI DDK trajno odbijeni te će se vjerojatno trend smanjivanja OBI nastaviti.

HBV NAT testiranje do 2012. g. implementirano je u 30 zemalja, a prevalencija je OBI DDK iznosila 8.55 na milijun donacija. Treba napomenuti da se HBV replicira sporije nego HIV i HCV i to je jedan od razloga zašto su mini pulovi slabije učinkoviti u detekciji HBV u odnosu na HIV i HCV (14). U SAD je izračunati rezidualni rizik prijenosa virusa hepatitisa B putem transfuzija krvi veći nego za HIV i HCV. Općenito se to prije svega može pripisati dužini HBsAg negativnog *window perioda* za HBV budući se incidencija značajno ne razlikuje za sva tri virusa (54). Očekuje se daljnje smanjivanje incidencije HBV - a u SAD zbog provođenja cijepljenja i HBV - DNK testiranja kojim će se smanjiti *window period* i rezidualni rizik (54). U Hrvatskoj je, zahvaljujući centraliziranom NAT testiranju od 2013. g. te standardiziranom testiranju i kvaliteti u proizvodnji krvnih pripravaka, rizik transfundiranja doze s HBV 91.67 na milijun donacija. Za HIV - 1 je taj podatak 2 na milijun donacija (17).

U našem istraživanju nije bilo razlika u broju otkrivenih OBI prema spolu, broju davanja krvi i zdravstvenoj ustanovi. Najveći je broj OBI DDK (85 %) bio u dobi starijoj od 50 godina života što se podudara s istraživanjem HZTM (Safić, 2017. g.).

U našem je istraživanju u 92 % slučajeva OBI DDK razina HBV - DNK bila ispod granica detektabilnosti ili vrlo niska (< 20 IU / mL) što se podudara s podatcima iz literature (17, 55, 56). Zlatni je standard za dijagnozu OBI test HBV - DNK u uzorku svježeg jetrenog tkiva u kojem je od izuzetne važnosti vrijeme kao kritični čimbenik od trenutka biopsije do zamrzavanja (manje od tri minute) (32). Osobitost je OBI prisutnost vrlo niskih razina virusnog genoma, u NAT esejima 32 - 62 kopije / mL ili 5,10 IU / mL. Većina komercijalno dostupnih testova može detektirati razinu 10^3 kopija po mL iz čega se može zaključiti da veliki broj slučajeva OBI ostaje nedijagnosticiran. Željena je donja granica detekcije (engl. *lower limit of detection,* LLOD) za HBV - DNK standardizirana od Svjetske zdravstvene organizacije $\geq$ 5 IU / mL ili približno 30 kopija /mL. U pravom je OBI razina DNK ispod 200 IU / Ml i važno je ukazati na moguću intermitentnu detekciju HBV - DNK zbog niske razine viremije (32, 57).

U našem je istraživanju 96 % OBI DDK imalo pozitivan anti - HBc biljeg, 41 % anti - HBs i 41 % anti - HBe. Naši se podatci podudaraju s podatcima iz literature za hrvatsku populaciju (17).

U našem je istraživanju prikazana uloga anti - HBc testiranja kao dodatnog biljega na HBV i njegov utjecaj na pojavnost OBI u populaciji u kojoj je korišten. Na osnovu navedenih podataka, nema statističke razlike u populaciji davatelja u kojima je testiran anti - HBc u odnosu na ostalu populaciju DDK u RH (prema podatcima Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu).

U 2006. godini odbijeno je 155 višestrukih dobrovoljnih davatelja krvi u KBC Osijek (3 % davatelja krvi iz poola dobrovoljnih davatelja krvi) što čini znatno veći broj mogućih prijenosa HBV-a iz razloga višestrukih davanja krvi tijekom godine dana (3 - 4 po davatelju krvi) i proizvodnje većeg broja krvnih pripravaka (koncentrati eritrocita, koncentrati trombocita, svježa smrznuta plazma, krioprecipitat).

Broj je trajno odgođenih dobrovoljnih davatelja krvi 2006. godine povećan (161) u odnosu na 2005. i 2007. godinu. Gubitak broja dobrovoljnih davatelja krvi nakon probira na anti-HBc u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu KBC Osijek bio je velik iako nije značajnije utjecao na ukupnu opskrbu krvnim pripravcima. Važno je napomenuti da su dobrovoljni davatelji krvi s područja Osječko - baranjske županije 2006. godine probrani na anti-HBc, dok

dobrovoljni davatelji krvi s područja ostalih četiriju županija čije je probirno serološko testiranje preuzeo Klinički zavod za transfuzijsku medicinu KBC Osijek 2011. - 2014. godine, nisu bili testirani na anti - HBc. Iz rezultata testiranja ID – NAT - om vidljivo je kako je svih 7 višestrukih dobrovoljnih davatelja krvi kod kojih je otkrivena okultna hepatitis B virusna infekcije pripadalo tim županijama osim jednog novog dobrovoljnog davatelja krvi s područja Osječko - baranjske županije koji je prvi puta dao krv.

Primjena je anti - HBc testa, otkako je uveden kasnih 80 - ih godina prošlog stoljeća kao surogatni biljeg za non - A non - B hepatitis, u screeningu davatelja krvi još uvijek kontroverzna. Anti - HBc može biti jedini serološki biljeg kraja HBV zaraze kada pada anti - HBs na nedetektabilnu razinu ili u okultnoj hepatitis B virusnoj infekciji (OBI) kada je HBsAg nedetektabilan i HBV DNK jedino intermitentno detektabilna. Bilježi se porast broja HBV transmisija od anti - HBc reaktivnih davatelja krvi koji su HBsAg i HBV - ID NAT negativni najosjetljivijim testovima (58).

Okultna je hepatitis B virusna infekcija uključena u mnoga klinička stanja:

1. Infekcija može biti prenešena (putem transfuzija krvi i transplantacije organa, uglavnom jetre) uzrokujući tipični hepatitis B u novoinficiranih osoba;
2. Imunosupresivni status (npr. imunosupresivna terapija) može potaknuti reaktivaciju OBI - ja i razvoj akutnog, a ponekad i fulminantnog hepatitisa;
3. Postoji veliki broj dokaza da OBI može doprinijeti progresiji kronične bolesti jetre u cirozu, osobito u HCV zaraženih bolesnika;
   Postoje dokazi da je OBI uključen u pojavu hepatocelularnog karcinoma.

Okultna hepatitis B virusna infekcija se prezentira kao složen scenarij s različitim virološkim i imunološkim profilima. Razlikuje se seropozitivan OBI (anti - HBc i / ili anti - HBs pozitivan) i seronegativan OBI (anti - HBc i anti - HBs negativan OBI) (12).

OBI može biti uključen u prijenos HBV putem transfuzija krvi na dva načina:

Davatelj je krvi zaražen divljim tipom HBV koji je suprimiran u svojoj replikativnoj aktivnosti (tipični OBI nositelj). Kronična okultna infekcija često pokazuje faze niske razine viremije s izmjenjujućim razdobljima odsustva ili nedetektabilnosti HBV DNK u serumu.

Značajno je napomenuti da je nepoznato koje su količine HBV DNK u krvi davatelja dovoljno da izazovu tipični akutni hepatitis B u primatelja. Davatelj je zaražen S - escape mutiranim HBV koji je sposoban replicirati se, ali sintetizira mutirani HBs Ag koji se ne detektira rutinskim dijagnostičkim testovima. Ovo je najučestalije stanje povezano s rezidualnim slučajevima hepatitis B uslijed transfuzija krvi (33). Prema istraživanju Miletić, 2019.g. rezultati pokazuju da je najveći izračunati ostatni rizik za prijenos HBV infekcije zaostalim zaraženim donacijama krvi DDK - a u Hrvatskoj, unatoč svim negativnim rezultatima obveznog testiranja (prema matematičkom modelu iz preporuka Europske medicinske agencije iz 2016. g.) bio 2013. g kada je iznosio 88 donacija na milijun donacija, 2017. g. je iznosio 12, a 2018. g. 3 donacije na milijun donacija. Upravo ovo razdoblje pokriva i naše istraživanje.
U Italiji 2013. g. nije dana preporuka anti - HBc testiranja u rutinskoj praksi zbog relativno visoke prevalencije u odsutnosti drugih seroloških biljega zaraze (HBsAg i / ili HBV DNK). Broj je odbijenih davatelja iz ovog razloga bio prevelik i neprihvatljiv gubitak (59).

Anti - HBc test uveden je u rutinski screening davatelja krvi sredinom 1980. - tih godina u HBV neendemičnim zemljama kao što je SAD. Japan je 1989. g uveo anti - HBc test davatelja krvi s modificiranim algoritmom u kojem su anti - HBc reaktivni s titrom < 1:32 ili $\geq$ 32 s anti - HBs $\geq$ 200 mIU/ mL bili prihvaćeni za transfuzijsku primjenu. Prevalencija je anti - HBc povezana s regionalnom HB prevalencijom (SAD 0.23%, Velika Britanija 0,56%, Njemačka 1,88 %, Italija 4,85 %, Indija 10,82 %, Grčka 14,9 %, itd.) (58,60).

Prema podatcima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo krajem devedesetih godina prošlog stoljeća prevalencija HBs Ag nosilaštva kod novih davatelja iznosila je 0.4 %, a u zadnjih nekoliko godina 0.1 %. Na temelju podataka o seroprevalenciji HBsAg u različitim podskupinama stanovništva, procjenjuje se da je u Hrvatskoj oko 20 000 - 30 000 stanovnika kronično zaraženo virusom hepatitisa B (12).

Infekcija hepatitis B virusom jedna je od najkompliciranijih infektivnih bolesti u svijetu i ubraja se u najčešće perzistirajuće infekcije. Procjenjuje se da trećina svjetske populacije tijekom života dođe u kontakt s ovim virusom, a 350 - 400 milijuna ljudi ima perzistirajuću zarazu HBV-om. Ispitivanja su pokazala da postoji genska sklonost za razvoj kroničnog hepatitisa (33). Sigurnost transfuzijskog liječenja značajno je povećana anamnestičkim isključujućim kriterijima u populaciji davatelja krvi, poboljšanom osjetljivošću screening

testova, poboljšanjima u proizvodnji i kontroli krvnih pripravaka i uvođenju NAT testiranja u rutinski screening program. Iako je incidencija HBV zaraze transfuzijama krvi značajno smanjena unazad četiri desetljeća, postoje dokazi da je moguća transmisija putem krvnih pripravaka koji su u serološkom testiranju HBsAg negativni. HBV ostaje najčešća virusna infekcija koja se prenosi transfuzijama krvi (13). Dok je perinatalna transmisija HBV - a najčešća u endemičnim područjima kao što su Daleki Istok i Kina, HBV infekcija je načešće prijavljena virusna infekcija koja se prenosi putem krvi danas u Ujedinjenom Kraljevstvu. Prema godišnjem je SHOT izvještaju iz 2012. g. (engl. *Serious Hazards of Transfusion*, Važne Opasnosti od Transfuzije) prijavljeno u razdoblju 1996. - 2012. g 11 HBV incidenata s 13 primatelja u odnosu 2 / 2 HCV incidenta te 2 / 4 HIV incidenta (61).

Krvni su pripravci s niskom razinom HBV DNK manje infekciozni ako postoji anti - HBs iako je zaštitna razina anti - HBs i dalje predmet rasprava (58).

Iz rezultata našeg istraživanja vidljivo je da je nakon uvođenja rutinskog testiranja ID NAT - om, tijekom 2013., 2014., 2015. i 2016. godine pojava okultnih hepatitis B virusnih infekcija imala tendenciju pada.

DDK koji imaju pozitivan samo anti - HBc od svih markera HBV - a (engl. „*anti-HBc only*“) mogu imati lažno pozitivan rezultat anti - HBc-a (nespecifična reakcija), riješenu HBV, kroničnu s niskom ili nedetektabilnom količinom HBsAg - a (OBI) ili mutiranim oblicima HBV - a. Anti - HBc važan je jer može ukazivati na prisutnost HBsAg - a (odnosno HBV - a) u količini koja je ispod granice detekcije. Tom se činjenicom mogu objasniti neki slučajevi posttransfuzijskog hepatitisa B. Rezultati su „*anti - HBc only*“ česti (155/379, 40,9 %), ali tek mali broj uzoraka ima detektabilnu HBV DNK, 4 % (62). Prisutnost HBsAg mutanata s negativnim rezultatom HBsAg - testa izaziva vrlo veliku zabrinutost. Anti - HBc – test se može koristiti za praćenje pojave mutanata jer je pozitivan bez obzira na mutacije virusa. Određeni broj mutacija HbsAg - a direktno utječe na njegovo otkrivanje „*in vitro*“, prepoznavanje imunosti „*in vivo*“, HBV - a, staničnog tropizma i morfologiju viriona (62). Prijenos HBV - a putem transfuzije kod DDK koji imaju OBI odnosno koji su „*anti - HBc only*“ iznosi oko 3 %, dok je prijenos HBV - a za vrijeme „dijagnostičkog prozora“ moguć u 50 % slučajeva. Prema jednoj studiji od 16 zabilježenih posttransfuzijskih hepatitisa, 10 je bilo pozitivno na anti - HBc, 3 na HBsAg, 3 na anti - HBs (uz anti - HBc). Ti podatci su kompatibilni s hipotezom da anti - HBc test može biti osjetljiv pokazatelj stalne replikacije

virusa i kada cirkuliraju subdetektabilne količine HBsAg. Prevalencija HBV DNK - pozitivnih u populaciji anti - HBc - pozitivnih DDK iznosi od 0 do 15 % (62).

Prevalencija anti - HBc - pozitivnih DDK u Danskoj, u potvrdi iznosi 0,7 % uz naglasak da su prema analizama godine, ženski spol, tetovaže i komercijalni spolni odnosi nezavisni predskazujući čimbenici prisutnosti anti - HBc-a. Prema objavljenim izvješćima istraživanja prevalencija anti-HBc - pozitivnih, HBsAg - negativnih i HBV DNK - negativnih DDK u Pakistanu iznosi 17,28 % (167/966). Jedan od 200 DDK koji su anti - HBc - pozitivni, HBsAg - negativni i HBV DNK - negativni ima OBI. Ukupno je u studiji pronađeno 5 slučajeva (62). Postoji nedvojbena korist uvođenja ID – NAT - a jer je poboljšana sigurnost transfuzijskog liječenja, no također se nameće potencijalna korist probira DDK dodatnim testiranjem anti-HBc biljega te probirom HBsAg negativnih davatelja jer bi bio onemogućen potencijalni prijenos na primatelja u slučaju okultnih HBV davatelja. Ovakva je praksa moguća alternativa u testiranju DDK ukoliko ne postoji mogućnost NAT testiranja ili moze biti suplementarno testiranje u populaciji davatelja s niskom viremijom. Svakako je za promisliti i procijeniti potrebu dodatnog testiranja anti - HBc svakog davatelja u skladu s praksom prihvaćanja donacija samo od virus „naivnih“ davatelja.

Savjetovališta za krvlju prenosive zarazne bolesti postoje u svim ovlaštenim zdravstvenim ustanovama za prikupljanje krvi. Voditelji su tih savjetovališta liječnici specijalisti transfuziolozi, izuzetak je bio KZTM KBC Osijek kada je savjetovalište u vrijeme našeg istraživanja vodio liječnik specijalist kliničke mikrobiologije koji je svojim znanjem zasigurno dao i jednu novu dimenziju u ostvarivanju cilja savjetovanja - pružanje informacija DDK o krvlju prenosivim bolestima te zaštita zdravlja davatelja i primatelja krvnih pripravaka. Epidemiološki gledano, osobe će s povišenim rizikom za stjecanje HBV vjerojatno lakše razviti i OBI. U našem je istraživanju 42 OBI DDK (75%) obavilo savjetovanje. Prema nekim autorima (Morales - Romero) postoji nedostatan broj epidemioloških podataka u zdravstvenim ustanovama. Gotovo su svi OBI DDK (25 / 26) prema procjeni liječnika u savjetovalištu prema anamnezi i inspekciji, bili dobrog općeg zdravstvenog stanja. Naši se podatci podudaraju sa stavovima s 26. IPFA simpozija gdje je iznesen stav da OBI ne izaziva kliničke manifestacije u imunokompetentnih osoba. Transfuziološka služba RH ima jasno definirane postupke evaluacije doza i davatelja krvi prema rezultatima NAT i seroloških testova kao i definirane kriterije za pokretanje *look - back*

i *trace - back postupaka* (25). Samo je kod jednog primatelja krvnih pripravaka detektirana HBV DNK što možemo smatrati potencijalnom transmisijom HBV. Svrha je ovih preporuka standardizirati i unaprijediti provedbu *look - back* i *trace - backa* postupaka u transfuzijskoj djelatnosti RH. Ove preporuke opisuju:

- način postupanja kada se ustanovi da se višestruki davatelj krvi zarazio uzročnikom koji se prenosi krvlju, zbog čega je mogao zarazu prenijeti na primatelje pripravaka priređenih iz zadnje doze krvi za koju je testiranjem dobiven negativan rezultat (*look - back* postupak).

- način postupanja kada transfuzijska ustanova zaprimi obavijest o postojanju objektivne sumnje da se bolesnik zarazio putem transfuzije krvi i krvnih pripravaka (*trace - back* postupak) (63).

Rad Candottija i suradnika iz 2018. g. opisuje HBV transmisiju na devet primatelja krvnih pripravaka (svježa smrznuta plazma i koncentrati eritrocita) od tri slovenska davatelja krvi s OBI (64). Bilo je zaraženo devet od trideset i jednog primatelja krvnih pripravaka. Pet nezaraženih primatelja je imalo anti - HBs, a šest je nezaraženih primatelja dobilo koncentrate trombocita u kojima je rađena inaktivacija patogena amotosalenom. Virus nije detektiran serološkim metodama i NAT testiranjem. Autori su zaključili da se sigurnost transfuzijskog liječenja obzirom na HBV u budućnosti može povećati bilo anti - HBc testiranjem, HBV NAT testom LOD 0.8 kopija / ml (0.15 IU) ili inaktivacijom patogena krvnih pripravaka.

Transfuzijska medicina specifična je medicinska struka u kojoj je cjelokupna populacija potencijalni primatelj krvnih pripravaka, a samo su dio populacije davatelji krvi. Davatelji krvi su izloženi mnogim čimbenicima iz okoline kao i infektivnim uzročnicima koji se mogu prenijeti darovanom krvlju. Zahtjevi su za sigurnim transfuzijskim liječenjem sve veći i neprestano se dodaju novi anamnestički isključni kriteriji za davatelje krvi. Istovremeno, stalno rastu i potrebe za krvnim pripravcima jer je produžen životni vijek, medicinske su procedure sve kompliciranije, a ne postoji primjerena sintetička zamjena za sve funkcije koje krv obnaša. Transfuzijska medicina u središtu znanstvenog i stručnog interesa ima zdravlje davatelja jednako kao i zdravlje primatelja, *primum non nocere* kao etički princip se primjenjuje na davatelja krvi, ali je zahtjevnost za transfuzijsko liječenje svih bolesnika. Sa sadašnjom strategijom nećemo u cjelini biti sposobni, već u bliskoj budućnosti, zadovoljiti potrebe za krvi i krvnim pripravcima.

Trenutak kada davatelj krvi postaje bolesnik je poveznica između više medicinskuh struka.

Transfuzijsko je liječenje najčešće uspješno, ali su moguće pogrješke, nuspojave i štetni događaji koji mogu nanijeti štetu bolesniku ili čak uzrokovati smrt bolesnika.

Danas je transfuzijsko liječenje obzirom na nisku prevalenciju uzročnika zaraznih bolesti prenosivih krvlju u Hrvatskoj, primjenu visoko osjetljivih i specifičnih seroloških te molekularnih testova kao metoda u postupku proizvodnje krvnih pripravaka (inaktivacija patogena) primjene sustava praćenja nuspojava, siguran postupak liječenja u odnosu na brojne druge medicinske postupke.

7. ZAKLJUČCI

Temeljem provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti slijedeći zaključci:

1. U Hrvatskoj je u razdoblju našeg istraživanja, od 1. 3. 2013. g. do 1. 3. 2017. g., bilo testirano serološkim i molekularnim metodama 743 490 uzoraka krvi višestrukih i novih DDK.

   Ukupan je broj testiranih uzoraka krvi DDK na biljege krvlju prenosivih bolesti u RH u razdoblju 2013. - 2017. u rasponu od 183.072 do 197.294 uzoraka krvi. Ukupan je broj testiranih uzoraka krvi novih DDK na biljege krvlju prenosivih bolesti u RH u rasponu od 14.072 do 16.369 uzoraka. U promatranom razdoblju (od 2013. do 2016. g.) bilo je potvrdno pozitivno 55 (41,7 %) DDK na HBV, na HCV 35 (26,5 %), pozitivna na HIV1/2 su 12 (9,1 %) DDK, a na sifilis je bilo pozitivno 30 (22,7 %) DDK. Najučestalija infekcija među DDK u Hrvatskoj je HBV (raspon 36.4% - 50% potvrdno pozitivnih HBV u odnosu na HCV koji je detektiran u rasponu 21.2% - 34.1% i HIV ½ u rasponu 17,% - 30,3%).

2. U razdoblju od 1. ožujka 2013. g. do 1. ožujka 2017. godine u Hrvatskoj su detektirana 56 OBI u dobrovoljnih davatelja krvi. Prevalencija okultne hepatitis B virusne infekcije (OBI) među davateljima krvi u našem je istraživanju slična prevalenciji OBI infekcije u ovoj skupini u Europi, iako Hrvatska ima viši NAT „*yield"* za HBV u odnosu na susjedne zemlje (91,7 na milijun donacija krvi u odnosu npr. Sloveniju 63,6 na milijun donacija);
3. Obzirom na ovlaštene zdravstvene ustanove, najviše je OBI u HZTM, 33 (59 %), po 8 (14 %) u Osijeku i Rijeci, 4 (7 %) u Splitu i 3 (5 %) u Varaždinu, dok OBI nije otkriven u zdravstvenoj ustanovi Pule, Dubrovnika i Zadra.
4. Najveći broj OBI DDK bili su višestruki davatelji krvi, njih 52 (93 %) u svim ovlaštenim ustanovama.
5. Od ukupnog je broja OBI dobrovoljnih davatelja krvi, 48 (85 %) slučajeva u dobi starijoj od 50 godina života.

   Prema spolu ima 48 / 56 muškaraca, ali nema značajnih razlika u broju OBI prema spolu i zdravstvenoj ustanovi.

6. U 52 (92 %) slučajeva razina HBV DNK bila je ispod granica detektabilnosti ili vrlo niska (< 20 IU/mL), dok je u samo 4 (7 %) slučaja razina veća od 100 IU/mL u uzorcima.

7. U našem je istraživanju 96 % OBI DDK imalo pozitivan anti - HBc biljeg, 41 % anti - HBs i 41 % anti - HBe.
8. Pokrenuto je 25 *look back* postupaka i niti jedan *trace back* postupak.
9. U našem je istraživanju 42 OBI DDK (75%) obavilo zdravstveno savjetovanje u ovlaštenim zdravstvenim ustanovama za prikupljanje krvi.
10. Najveći je broj OBI DDK negirao kontakte s HBV oboljelim osobama, niti jedan OBI DDK nije primao krvne pripravke, a operativnim je zahvatima bilo podvrgnuto 19 / 26 OBI DDK.
11. Gotovo su svi OBI DDK (25 / 26) prema procjeni liječnika u savjetovalištu bili dobrog općeg zdravstvenog stanja.
12. Uočen je smjer pada broja davatelja s OBI infekcijom u cijeloj Republici Hrvatskoj od 1. 3. 2013. g. do 1. 3. 2017. g. (ukupan broj: 56 OBI - 21 OBI, 19 OBI, 12 OBI, 2 OBI, 2 OBI slučaja do 1. 3. 2017.)
13. Samo je kod jednog primatelja krvnih pripravaka detektirana HBV DNK što možemo smatrati potencijalnom transmisijom HBV.

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja

U Republici Hrvatskoj zakonom su obvezni zakonom serološki testovi kojima se dokazuje prisutnost HBsAg, anti - HCV, HIV Ag/At i antitijela na uzročnika sifilisa (anti - TP) pri svakoj donaciji krvi, a od 1. 3. 2013. g. Multiplex ID - NAT test (HBV - DNK, HCV - RNK, HIV - 1 - RNK).

Nacrt studije

Studija je dizajnirana kao opažajna studija – presječna s povijesnim podatcima u razdoblju 1. 3. 2013. godine do 1. 3. 2017. godine.

Ispitanici i metode

U razdoblju od 1. 3. 2013. g. do 1. 3. 2017. g. bilo je testirano serološkim i molekularnim metodama 743 490 uzoraka krvi višestrukih i novih DDK u osam ovlaštenih zdravstvenih ustanova za prikupljanje krvi. Rezultati testiranja vezali su se uz davatelja krvi i dozu krvi putem Nacionalnog informatičkog sustava transfuzijske službe RH e - Delphyn.

Rezultati

U navedenom je razdoblju u transfuzijskoj službi RH detektirano 56 OBI DDK i 1 potencijalna transmisija HBV DNK u primatelja krvnih pripravaka. Pokrenuto je 25 *look - back* i niti jedan *trace - back* postupak. OBI DDK većinom su bili muškarci u dobi starijoj od 50 godina života, a nije nađena značajna razlika između višestrukih i novih DDK u pojavnosti OBI. Anti - HBc biljeg je bio pozitivan u 96% OBI DDK. Razina detektabilnosti HBV DNK u 92% slučajeva bila je ispod granica detektabilnosti ili vrlo niska (< 20 IU /mL). Savjetovanju je pristupilo 75% OBI DDK gdje je njihovo zdravstveno stanje procijenjeno zadovoljavajućim (zdravi) i svi su OBI DDK prijavljeni nadležnim epidemiološkim službama.

Zaključak

Transfuzijsko liječenje je najčešće sigurno i uspješno, ali su još uvijek moguće nuspojave i štetni događaji.

Ključne riječi: okultna hepatitis B virusna infekcija, dobrovoljni davatelji krvi, prevencija krvlju prenosivih zaraznih bolesti

9. SUMMARY

Clinical and epidemiological significance of occult hepatitis B virus infection in voluntary blood donors

Objectives

In the Republic of Croatia it is required by law to carry out serological tests proving the presence of HBV surface antigen (HBsAg), hepatitis C virus antibody (anti - HCV), antigen / antibody Human Immunodeficiency Virus (HIV Ag / At) and antibodies to the syphilis (anti-treponema pallidum) agent at each blood donation, and from March 1st 2013, Multiplex individual donor nucleic acid testing (ID - NAT) HBV - DNA, HCV - RNA, HIV - 1 - RNA as well.

Study Design

The study was designed as an observational study – intersected with historical data in the period from March 1st 2013 to March 1st 2017.

Participants and methods

From March 1st 2013 to March 1st 2017, 743 490 blood samples of multiple and new volontary blood donors (VBD) in eight authorized health institutions for blood collection were tested by serological and molecular methods. The results of the testing are linked to the blood donor and blood supply through the e-Delphyn National Information System of the Blood Transfusion Service of the Republic of Croatia.

Results

In this period, 56 cases of occult HBV infection (OBI) VBDs and 1 potential transmission of HBV DNA to the recipient of blood products were detected in the Croatian blood transfusion service. There was 25 look-back and no trace - back procedures. OBI VBDs were mostly men over 50 years of age, and there was no significant difference between multiple and new VBDs in the incidence of OBI. Anti - HBc marker was positive in 96% OBI VBDs. The level of detection of HBV DNA in 92% of cases was below the limits of detection or very low (< 20 IU / mL). The consultation was attended by 75% of OBI VBDs where their health status was

assessed as satisfactory (healthy) and all OBI VBDs were reported to the appropriate epidemiological services.

Conclusion

Blood transfusion is mostly safe and successful procedure but side effects still happen.

Key words: occult hepatitis B virus infection, voluntary blood donors, prevention of transfusion transmitted diseases

10. **LITERATURA**

1. Grgičević D. Transfuzijska medicina u kliničkoj praksi. Zagreb: Medicinska naklada; 2006. 7 - 17 str.
2. Gerlich WH. Medical Virologyof Hepatitis B: how it began and were we are now. Virology Journal. 2013; 10: 239.
3. Samardžija M. Krvlju prenosive bolesti. Osijek: Medicinski fakultet Osijek; 2011.
4. Jukić I, Hećimović A (urednici). Transfuziološki vjesnik. Zagreb: Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu; 2018.
5. Hauser SC (Editor in Chief). Mayo Clinic Gastroenterology and Hepatology Bord Review (fifth edition). Oxford: Mayo Clinic Scientific Press; 2014.
6. Burek V. Infektivne bolesti. U: Topić E, Primorac D, Janković S, ur. Medicinska biokemija i laboratorijska medicina u kliničkoj praksi. Zagreb: Medicinska naklada, 2016; str.818 – 821.
7. Hope VD, Eramova I, Capurro D, Donoghoe MC. Prevalence and estimation of hepatitis B and C infections in the WHO European Region:
   a review of data focusing on the countries outside the European Union and the European Free Trade Association. Epidemiology and Infection. 2014; 142 (2): 270 - 86.
8. Civljak R, Kljaković Gašpić M, Kaic B, Bradarić N. Viral Hepatitis in Croatia. Viral Hepatitis Journal. 2014; 20: 49-56.
9. Hoofnagle JH, Nelson KE, Purcell RH. Hepatitis E. N Engl J Med. 2012; 367: 1237 – 44.
10. Hughes SA, Wedemeye H, Harrison PM. Hepatitis delta virus. The Lancet. 2011; 378: 73 – 85.
11. Rantala M, van de Laar M J. Surveillance and epidemiology of hepatitis B and C in Europe – a review. Euro Surveill. 2008; 13 (21): pii =18880. https: // doi. org / 10.2807 / ese. 13.21. 188880 _ en.
12. Kaić B, Vilibić – Čavlek T, Kurečić Filipović S, Nemeth – Blažić T, Pem – Novosel I, Višekruna Vučina V, et al. Epidemiologija virusnih hepatitisa. Acta Med Croatica. 2013; 67: 273 – 79.
13. Bradarić N, Vucelić B. Hepatitis B. Medicus. 2006; 15: 121 – 30.
14. Zhang Z - H, Wu C – C, Chen X - W, Li X, Li J, Lu M – J. Genetic variation of hepatitis B virus and its significance for pathogenesis. World J Gastroenterology. 2016; 22 (1): 126 – 44.

15. Song J E, Kim D J. Diagnosis of Hepatitis B. Ann Transl Med. 2016; 4 (18): 338.
16. Lesnikar V. Epidemiologija hepatitisa B i C u Hrvatskoj. Acta Med Croatica. 2005; 59: 377 – 83.
17. Pavić I. Koga liječiti? Acta Med Croatica. 2005; 59: 419 – 421.
18. Bradarić N. Profilaksa i liječenje hepatitisa B nakon transplantacije jetre. Acta Med Croatica. 2005; 59: 433 - 41.
19. Lok A S F. Overview oft he management of hepatitis B and case examples. 2015; Up toDate Custamer Service.
20. Burek V. Dijagnostika virusnih hepatitisa. HČJZ. 2011; 28 (7): 1 – 10.
21. Morović M. Terapija kroničnog hepatitisa B. Acta Med Croatica. 2005; 59: 429 32.
22. Teo E K, Lok A S F. Epidemiology, transmission, and prevention of hepatitis B virus infection. 2015; UPtoDate. www. uptodate. com / store.
23. Esposito A, Sabia C, Iannone C, Nicoletti G F, Sommese L, Napoli C. Occult Hepatitis Infection in Transfusion Medicine: Screening Policy and Assessment of Curent Use of Anti – HBc testing. Transfus Med Hemother. 2017; 44: 263 – 72.
24. Pollicino T, Saitta C. Occult hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol. 2014; 20 (20): 5951 - 61.
25. Mihaljević I. Postupak evaluacije doza i davatelja krvi prema rezultatima NAT i seroloških testova u transfuzijskoj djelatnosti RH. Zagreb: Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu; 2015.
26. Safic Stanic H, Babic I, Maslovic M, Dogic V, Bingulac – Popovic J, Miletic M, i sur. Three – Year Experience in NAT Screening of Blood Donors for Transfusion Transmitted Viruses in Croatia. Transfus Med Hemother. 2017; 44: 415 - 20.
27. Dienstag J L. Hepatitis B virus infection. N Engl J Med. 2008; 359: 1486 – 1500.
28. Vucelić B, Hrstić I, Begovac J. i sur. Virusni hepatitis: hrvatska konsenzuisna konferencija. Acta Med Croatica. 2005; 59: 359 - 75.
29. Lesnikar V. Prevencija hepatitisa B i C. Acta Med Croatica. 2005; 59:383 - 8.
30. Bell S J, Lau A, Tompson A. i sur. Chronic hepatitis B: reccomendations for therapy based on the natural history of disease in Australia patients. J Clin Virology. 2005; 32: 122 - 7.
31. Lok A S F. Clinical significance and molecular characteristics of common hepatitis B virus variants. UpToDate. 2015. www. Uptodate. com / store.

32. Morales-Romero J, Vargas G, Garcia-Roman R. Occult HBV Infection: A Facelesss Enemy in Liver Cancer Development. Viruses. 2014; 6: 1590-1611.
33. Squadrito G, Spinella R, Raimondo G. The clinical significanceof occult HBV infection. Annals of Gastroenterology. 2014; 27: 15-19.
34. Raimondo G, Caccamo G, Filomia R, Pollicino T. Occult HBV infection. Semin Immunopathol. 2013; 35: 39-52.
35. Allain J P, Mihaljevic I, Gonzalez -Fraile M I, Gubbe K, Holm - Harritshøj L, Garcia J M, i sur. Infectivity of blood products from donors with occult hepatitis B virus infection. Transfusion. 2013; 53(7):1405 - 15.
36. Kim H, Kim B – J. Association of preS / S Mutations with Occult Hepatitis B Virus (HBV) Infection in South Korea: Transmission Potential of Distinct Occult HBV Variants. Int. J. Mol.SCI. 2015; 16: 13595 – 13609.
37. Chen J, Liu Y, Zhao J, Xu Z, Chen R, Si L, i sur. Characterization of Novel Hepatitis B Virus PreS/S – Gene Mutations in a Patient with Occult Hepatitis B Virus Infection. PLOS One. 2016; DOI:10.1371/ journal.pone.0155654.
38. Tramuto F, Maida C M, Colomba G M. E., Di Carlo P, Vitale F. Prevalence of Occult Hepatitis B Virus Infection in a Cohort of HIV – Positive Patients Resident in Sicily, Italy. BioMed Research International. 203; 2013: http://dx.doi.org/10.1155/2013/859583.
39. B-C, Sogni P, Launay O. Hepatitis B and human immunideficiency virus co – infection. World J Gastroenterology. 2014; 20 (46): 17360 – 17367.
40. Čalkić L, Bajramović – Omeragić L, Husić – Selimović A, Aličković I. HBsAg – serokonverzija u liječenju kroničnog hepatitisa B pegiliranim interferonom. Liječ Vjesn. 2017; 139: 29 – 32.
41. Balen S. Osnove transfuzijske medicine, Osijek: Medicinski fakultet Osijek; 2010. str. 17-19.
42. Jukić I, Hećimović A (urednici). Transfuziološki vjesnik. Zagreb: Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu; 2019.
43. Kaic B. Impact of vaccination on vaccine – preventable disease burden in Croatia. Periodicum biologorum. 2012; 114: 141 – 7.
44. Inoue T, Tanaka Y. The Role of Hepatitis B Core – Related Antigen. Genes; 10: 357 – 370.
45. Testoni B, Lebosse F, Scholtes C, Lampertico P, Levrero M, Zoulim F. Serum hepatitis B core – related antigen (HBcr Ag) correlates with covalently closed circular DNA transcriptional activity in chronic hepatitis B patients. J. Hepatol. 2019; 70: 60 – 625.

46. Kemp W, Roberts S. Fibroscan and transient elastography. RACGP. 2013; 42: 468 – 471.
47. Afdhal N H. Fibroscan (Transient Elastography) for the Measurement of Liver Fibrosis. Gastroenterol Hepatol. 2012; 8 (9): 605 – 607.
48. Zeng X, Xu C, He D, Li M, Zhang H, Wu Q, i sur. Performance of several simple, noninvasive models for assesing significant liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B. Croat Med J. 2015; 56: 272 – 9.
49. Patel K, Wilder J. Fibroscan. Clinical Liver Disease. 2014; 4: 97 – 101.
50. Levicnik Stezinar S, Nograsek P. Yield of NAT Screening in Slovenia. Zdrav. Vestn. 2012; 81: 257 – 264.
51. Hans R, Marwaha N. Nucleic acid testing – benefits and constraints. Asian Journal of Transfusion Science. 2014; 8: 2 – 3.
52. Vermeulen M, Coleman C, Mitchel J, Reddy R, van Drimmelen H, Ficket T, Lelie N. Sensitivity of individual – donation and mini pool nucleic acid amplification test options in detecting window period and occult hepatitis B virus infections. Transfusion. 2013; 53: 2459 – 2466.
53. Heim A. Evaluation of the Procleix Ultrio Elite Assay and the Panthere - System for Individual NAT Screening of Blood, Hematopoietic Stem Cell, Tissue and Organ Donors. Transfus Med and Hemother. 2016;43: 177 – 182.
54. Stramer S L, Notari E P, Krysztof D E, Dodd R Y. Hepatitis B virus testing by minipool nucleic acid testing: does it improve blood safety? Transfusion. 2013; 53: 2449 – 2458.
55. Vaezjalali M, Rashidpour S, Rezaee H, Hajibeigi B, Zeidi M, Gackhar L, i sur. Hepatitis B Viral DNA Among Negative Healthy Blood Donors. Hepat Mon. 2013; 13 (3): e6590.
56. Said N Z, Sayed M H E, Salama I I, Aboel – Magd E K, Mahmoud M H, Setouhy M E, i sur.. Occult hepatitis B virus infection among Egyptian blood donors. World J Hepatol. 2013;5 (2): 64 73.
57. Dong J, Wu Y, Zhu H, Li G, Lv M, Wu D, Li X, Zhu F, Lv H. A pilot study on screening blood donors with individual - donation nucleic acid testing in China.Blood Transfus. 2014; 12: 172 – 9.
58. Candotti D, Laperche S. Hepatitis B Virus Blood Screening: Need for Reappraisal of Blood Safety Measures?. Frontiers in Medicine. 2018; 29 (5): 1 – 10.
59. Romano L, Velati C, Cambie G, Fomiatti L, Galli C, Zanetti A R and SIMTI study group for HBV infection among first – time blood donors. Blood Transfus. 2013; 11: 281 - 8.

60. Seo D H, Whang D H, Song E Y, Han K S. Occult hepatitis B virus infection and blood transfusion. World J Hepatol. 2015; 7 (3): 600 – 606.
61. Norfolk D (editor). Handbook of Transfusion Medicine. United Kingdom: United Kingdom Blood Services (5 th edition); 2013.
62. Slavulj B. Važnost trajne odgode dobrovoljnih davatelja krvi na temelju pozitivnih protutijela na sržni antigen hepatitis B virusa prije uvođenja testa amplifikacije nukleinskih kiselina (diplomski rad). Osijek: Medicinski fakultet Osijek, Diplomski studij medicinsko laboratorijske dijagnostike; 2018.
63. Mihaljević I. Preporuke za provođenje look – back i trace – back postupka u transfuzijskoj djelatnosti RH. Zagreb: Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu; 2015.
64. Candotti D, Assennato S M, Laperche S, Allain J –P, Levicnik – Stezinar S. Multiple HBV transfusion transmissions from undetected occult infections: revising the minimal infectious dose. Gut. 2018; 0: 1 – 9. doi: 10.1136 / gut jnl – 2018 – 316490
65. Bonig H, Schmidt M, Hourfar K, Schuttrumpf J, Seifried E. Sufficient blood, safe blood: can we have both? BMC Med. 2012; 10: 29.

11. ŽIVOTOPIS

Marko Samardžija rođen je 4. siječnja 1986. godine u Osijeku, Hrvatska. Diplomirao je na Medicinskom fakultetu Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku 2010. godine. Od 2010. do 2011. godine obavljao je liječnički pripravnički staž. Specijalizaciju iz gastroenterologije započinje 2012. godine koju uspješno završava položenim specijalističkim ispitom 2018. godine. Trenutačno je zaposlen kao specijalist gastroenterolog u Klinici za unutarnje bolesti Nord-Trøndelag Sykehuset Namsos u Norveškoj.

Usavršavao se na brojnim tečajevima u RH i inozemstvu: Ilford Medical Centre, UK, 2009., Clinical attachment in general practice; Mildmay Mission hospital, UK, 2008., Clinical attachment in HIV rehabilitation; ALS provider course, European Resuscitation Council, Slavonski Brod, RH 2013.; specijalistički poslijediplomski tečaj: Ultrazvuk u kliničkoj medicini, smjer gastroenterologija i hepatologija KBC Sestre Milosrdnice, 2016. godine.

Autor je i koautor stručnih i znanstvenih radova objavljenih u domaćim i inozemnim indeksiranim časopisima i/ili prezentiranih na simpozijima i kongresima:

1. Mandić D, Mandić S, Horvat V, Samardžija M, Samardžija M. Vitamin K Epoxide Reductase Complex 1 (VKORC1) Gene Polymorphisms in Population of Eastern Croatia. Coll. Antropol. 2013; 37 (4): 1321–1326.
2. Lenz B, Samardžija M, Drenjančević D, Zibar D, Samardžija M, Milostić-Srb A. The investigation of hereditary and acquired thrombophilia risk factors int he development of complications in pregnancy in Croatian women. J Matern Fetal Neonatal Med 2016; 29: 264-9.
3. Samardžija M, Drenjančević D, Samardžija M, Šišljagić D, Marijanović M, Perković D. Customer satisfaction models of stem cells donor as service users of a Regional transfusion center Osijek. // 24 th Congress of the European Association of Tissue Banks. Split: 2015.
4. Miletić M, Bingulac-Popović J, Stojić Vidović M, Hećimović A, Berendika M, Babić I, Đogić V, Samardžija M, Barišić K, Jukić I, Mihaljević I. Anti-HBc prevalence among Croatian blood donors in a 14-year period (2004-2017): Assessment of trends, risks and need for implementing routine testing. Transfus Clin Biol. 2019; 10.1016/j.tracli.2019.05.001
5. Samardžija M, Drenjančević D, Miletić M, Slavulj B, Jukić I, Zibar L, i sur.. The influence of positive anti – HBc marker on permanent deferral of voluntary blood donors in eastern

Croatia and estimation of occult hepatitis B virus infection rate. Acta Clinica Croatica, 2020. (in press).

Poslijediplomski doktorski studij „Biomedicina i zdravstvo“ na Medicinskom fakultetu Osijek upisao je akademske godine 2012. / 2013. godine.