

Špela Štunf<sup>1</sup>, Katja Seme<sup>2</sup>, Mario Poljak<sup>3</sup>

# Virus hepatitis D

## *Hepatitis D Virus*

---

### IZVLEČEK

**KLJUČNE BESEDE:** hepatitis D, hepatitis delta virus

Virus hepatitis D je eden izmed petih primarnih povzročiteljev virusnega hepatitisa. Je majhen, nepopoln virus, ki so ga nedavno uvrstili v rod *Deltavirus*. Virus hepatitis D je satelitski virus, ki za razmnoževanje nujno potrebuje virus hepatitis B. Zato se z njim lahko okužijo le osebe, ki so okužene z virusom hepatitis B. Okužba z virusom hepatitis D poteka lahko kot sočasna okužba z virusom hepatitis B ali kot okužba kroničnega nosilca virusa hepatitis B. Genom virusa hepatitis D je krožna 1,7 kb velika negativno polarna enojnovijačna RNK. Virus hepatitis D je najmanjši živalski virus in je podoben viroidom, ki povzročajo okužbe rastlin. Nedavna raziskava na 400 HbsAg-pozitivnih posameznikih je pokazala, da je hepatitis D v Sloveniji zelo redka bolezen. Testiranje na označevalce okužbe z virusom hepatitis D v Sloveniji naj zato ne bi bil diagnostični postopek izbora ob nenadnem kliničnem poslabšanju kroničnega hepatitisa B.

---

### ABSTRACT

**KEY WORDS:** hepatitis D, hepatitis delta virus

Hepatitis D virus is one of five well-defined viruses identified as causing agents of viral hepatitis. Hepatitis D virus is a small, defective single-stranded RNA virus, which has been recently classified within the *Deltavirus* genus. Hepatitis D virus needs hepatitis B virus as a helper virus for its replication. It causes hepatitis only in patients who are concurrently infected with hepatitis B virus. Hepatitis D virus can cause coinfection when both viruses are transmitted simultaneously, or superinfection in those patients who are already infected with hepatitis B virus. The genome of hepatitis D virus consists of a single copy of circular 1.7-kb negative-sense single-stranded RNA. Hepatitis D virus RNA genome is the smallest known viral genome in the animal kingdom and resembles subviral plant pathogens, viroids. Our recent retrospective study in 400 HBsAg-positive individuals showed that hepatitis D is a rare disease in Slovenia. Therefore, hepatitis D virus infection should be considered a less likely cause of chronic hepatitis B exacerbations in Slovenia.

---

<sup>1</sup> Špela Štunf, dr. med., Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Zaloška 4, 1000 Ljubljana.

<sup>2</sup> Doc. dr. Katja Seme, dr. med., Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Zaloška 4, 1000 Ljubljana.

<sup>3</sup> Prof. dr. Mario Poljak, dr. med., Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Ljubljana, Zaloška 4, 1000 Ljubljana.

## UVOD

Virus hepatitisa D (HDV, angl. *hepatitis D virus*, *hepatitis delta virus*) je v nizu poskusov, opravljenih med letoma 1974 in 1977, odkril Mario Rizzetto (1). V biopsijskih vzorcih jeter italijanskih bolnikov s kroničnim hepatitisom B je odkril nov antigen, ki ga je poimenoval delta antigen, misleč, da gre za antigeno različico jedrnih antigenov virusa hepatitisa B (HBV, angl. *hepatitis B virus*). Čeprav zmotno, je to odkritje doprineslo k spoznavanju tesne povezanosti med HDV in HBV (2). Kasneje je Rizzetto s sodelavci preko poskusno povzročeni okužbi pri šimpanzih ugotovil, da ima odkriti antigen drugačna tarčna mesta kot HBV, da izzove nove izbruhe hepatitisa pri kroničnih nosilcih površinskega antigena hepatitisa B (HBsAg) in da so ti novi izbruhi boleznih povezani s hkratnim pojavom antigena HDV v jetrih bolnikov. Delec, ki je povzročal tak hepatitis, so preimenovali v HDV (2). Leta 1986 so s kloniranjem in določanjem nukleotidnega zaporedja uspeli popolnoma določiti RNK-genom HDV (2).

Virus hepatitisa D uvrščamo med RNK-viruse. Genomska RNK je enovijačna krožna molekula. Predstavlja najmanjši znan živalski virus, ki je po zgradbi in načinu razmnoževanja zelo podoben rastlinskemu virusu – viroidom in virusoidom. Kljub temu obstaja dovolj razlik, da ga lahko uvrščamo v ločeno virusno družino (3, 4).

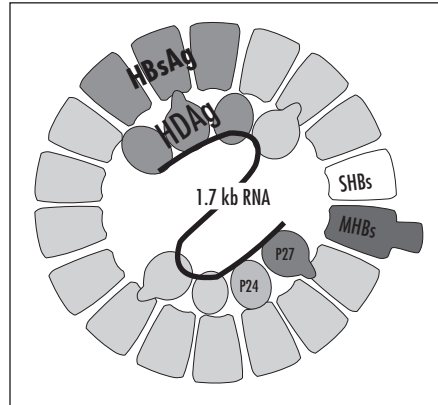
Virus hepatitisa D spada med satelitske viruse, saj za razmnoževanje nujno potrebuje prisotnost virusa pomočnika. Edini zaenkrat znani virus pomočnik je HBV. V genomu HDV je zapis za beljakovine virusne sredice, medtem ko ovojnico virusni delec dobi od virusa pomočnika, torej od HBV. Okužba s HDV vedno nastopa v povezavi z okužbo s HBV.

Virus hepatitisa D je edini predstavnik rodu *Deltaviridae* (5). Taksonomska uvrstitev rodu še ni dokončana.

## ZGRADBA VIRUSA

Virusni delci HDV so ikozaedrične oblike, veliki v premeru 35–37 nm, s sedimentacijsko hitrostjo nekje med HBV in 22 nm velikimi praznimi delci HBsAg (3, 4).

Virus hepatitisa D sestavlja virusna sredica (nukleokapsida) in ovojnica (slika 1).



Slika 1. Zgradba HDV (povzeto po referenci 4).

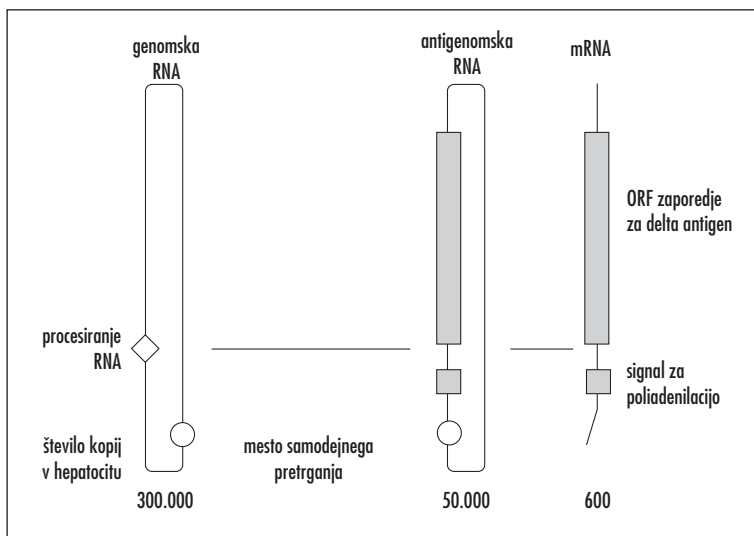
Virusna sredica ali nukleokapsida HDV je kroglaste oblike premera 19 nm, sestavljena iz ribonukleinske kisline HDV (RNK HDV) in antigenih beljakovin (HDAg) v molekularnem razmerju 1:70. Antigenske beljakovine HDAg so dveh vrst: mali delta antigen  $\delta$ Ag-S (24 kDa) in veliki delta antigen  $\delta$ Ag-L (27 kDa) (5).

Ovojnica virusnega delca vsebuje lipide in tri vrste površinskih beljakovin HBsAg, ki jih kodira genom virusa pomočnika. Beljakovine so koterminalne in se razlikujejo le v dolžini N-terminalnega konca (2, 4). Imenujemo jih S (angl. *small*, mali), M (angl. *medium*, srednji) in L (angl. *large*, velik) HBsAg. Razmerje med beljakovinami S:M:L je 95:5:1. Tako razmerje je značilno za prazne HBsAg-delce (ne pa za kužne HBV-delce) in verjetno prispeva k razliki v tropizmu med HDV in HBV. HDV namreč ni bil, za razliko od HBV, nikoli osamljen iz tkiv ali celic izven jeter (2).

## ZGRADBA GENOMA

Genom HDV sestavljajo tri različne molekule RNK: genomska, antigenomska in sporočilna RNK (slika 2) (2–4).

Genomska RNK je najmanjša znana RNK med živalskimi virusi. Je krožna enovijačna s približno 1700 nukleotidi. S tvorjenjem znotrajmolekularnih baznih parov (med 70% vseh nukleotidov) in uvijanjem vijačnice nastane nerazvejana, na videz dvovijačna S-struktura. V okuženi jetrni celici je približ-



Slika 2. Genomska, antigenomska in mRNA HDV (povzeto po referenci 4).

no 300.000 prepisov genomske RNK (2–4). Za razmnoževanje pomembna posebnost te molekule je njena ribocimska dejavnost.

Antigenomska RNK je komplementarna genomska. Je prav tako S-oblike in ima ribocimsko vlogo. V okuženi jetrni celici je približno 50.000 prepisov antigenomske DNK (4).

Sporočilna ali mRNK (angl. *messenger RNA*) je komplementarni prepis genomske RNK. Tvorba te molekule je prvi korak v sintezi delta antigena. Je majhna poliadenilirana molekula s samo 800 nukleotidi. V okuženi jetrni celici je približno 600 prepisov mRNK (4).

Zapis za delta antigen je na verigi, ki je komplementarna genomski RNK, zato imenujemo HDV delec z negativnim sukanjem (4).

Genomska in antigenomska RNK imata torej ribocimsko dejavnost, ki je nujno potrebna za podvojevanje HDV RNK (3).

## RAZMNOŽEVANJE HDV

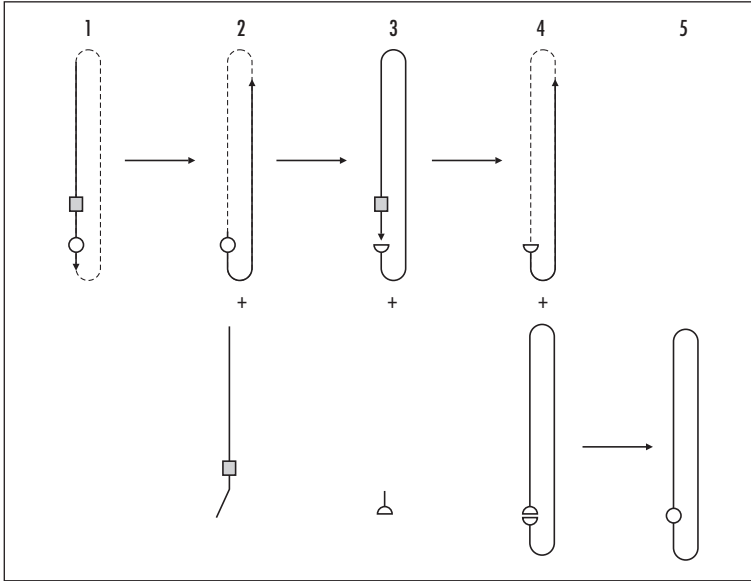
Novi HDV-delci nastajajo izključno v jetrnih celicah, okuženih z virusom pomočnikom – HBV. Genom HDV se teoretično lahko pomnoži tudi brez HBV; vendar pa ovojnico, ki omogoča širjenje (kužnost) delcev HDV, prispeva le HBV.

Razmnoževanje HDV poteka v šestih korakih (4). Prvi korak je pritrditev na celico, vstop vanjo ter razgradnja virusnega delca in

ob tem sproščanje virusne nukleinske kisline. Drugi korak predstavlja pomnoževanje virusne nukleinske kisline. V tretjem koraku nastanejo virusne beljakovine. Sledi procesiranje RNK. Peti korak je sestavljanje novih virusnih delcev. Zadnji – šesti korak je izstopanje novih sestavljenih virusnih delcev iz celice.

Pritrjevanje HDV na jetrno celico poteka kot vzajemno delovanje med pre-S1-domeno HDV-delca in posebnim, zaenkrat nedoločenim receptorjem na površini celice. Nato HDV-delec vstopi v notranjost celice. V jetrni celici virus izgubi svojo ovojnico in se sprostí virusna nukleinska kislina (4).

Virusna RNK se pomnoži v jedru jetrne celice. Od RNK odvisna sinteza RNK poteka s pomočjo gostiteljske RNK-polimeraze II. Virus hepatitisa D je poseben po svoji sposobnosti, da preusmeri delovanje gostiteljske RNK-polimeraze v prepisovanje lastnega genoma (6). Mali delta antigen ( $\delta$ Ag-S) omogoča vstop nukleinske kisline virusa v jedro in povezovanje RNK HDV z beljakovinami, kar zaščiti molekulo nukleinske kisline pred razgradnjo z encimi gostiteljske celice. Genom se podvaja po mehanizmu dvojnega krožnega obhoda (angl. *double-rolling-circle*) ob ribocimski dejavnosti genomske in antigenomske verige RNK (slika 3).



Slika 3. Podvojevanje genoma HDV v petih korakih (povzeto po referenci 4):

1 – Prepisovanje genomске RNA se začne na točno določenem mestu na koncu 5'; nadaljuje se preko poliadeniliranih območij in mesta samodejnega pretrganja. 2 – Nastajajoča RNA se poliadenilira; tako nastane mRNA za delta antigen. 3 – Sledi samodejno pretrganje prepisane in poliadenilirane vijajnice, kar prepreči razgradnjo novonastale RNA. 4 – Prepisovanje se nadaljuje po modelu krožne RNA. Prepiše se vsaj še 1700 nukleotidov. Tako pri enem začetku prepisovanja poleg mRNA nastane tudi antigenomska RNA. 5 – Nastajajoča antigenomska veriga se z uvijanjem in tvorbo znotrajmolekularnih baznih parov oblikuje v S-strukturo. Nanijo se nato veže  $\delta$ Ag-S. Novonastala antigenomska RNA se sprosti z reakcijo samodejnega pretrganja. Proces se nadaljuje s sintezo nove genomске RNA, ki poteka na osnovi modela krožne genomске RNA. Mesto začetka prepisovanja ni znano. Vemo, da je prepisovanje genomске RNA enostavnejše in ne vključuje poliadenilirane mesta, ki bi vplivalo na podaljševanje prepisovanja (4).

Tretji in četrti korak življenjskega kroga HDV omogočata nastanek dveh antigenjskih beljakovin virusa:  $\delta$ Ag-S in  $\delta$ Ag-L. Virusni genom vsebuje samo zapis za  $\delta$ Ag-S; s procesiranjem mRNK po prepisovanju se kodirajoča zmožnost genoma razširi. Vloga  $\delta$ Ag-S in  $\delta$ Ag-L je različna.  $\delta$ Ag-S sodeluje pri podvojevanju virusa in sestavljanju novih virusnih delcev.  $\delta$ Ag-L je dejavnik kužnosti virusnih delcev in sodeluje pri potovanju virusa iz celice v celico (4).

Za sestavljanje virusnih delcev je nujno potrebna prisotnost virusa pomočnika (HBV), ki prispeva ovojnične beljakovine (HBsAg). Proces nastajanja novih virusnih delcev obeh virusov se prekrivata (4).

Izstopanje novonastalih virusnih delcev HDV omogoča  $\delta$ Ag-L. Ker se  $\delta$ Ag-L značilno veže na S-strukturo virusne RNK, je tako oblikovana RNK predpogoj za izstopanje virusa (4).

Za uspešno razmnoževanje HDV so potrebne posebne strukturne lastnosti virusa – poseb-

na zgradba genoma HDV, S-oblika virusne RNK in ribocimska dejavnost RNK. Te si virus zagotavlja z ohranjanjem zaporedij v predelu samocepitvenih območij in v predelu kritične kodirajoče domene delta antigena – t. i. ORF (angl. *open reading frame*) zaporedja (4, 7).

## PATOLOGIJA IN PATOGENEZA

Jetra so edini znani tarčni organ HDV (5). Patohistološko se okužba s HDV kaže kot hepatitis z nekrozami in vnetjem, ki je morfološko podobno akutnemu in kroničnemu hepatitisu drugega izvora, vendar s težnjo težjega poteka.

Okužba s HDV poteka kot sočasna okužba s HDV in HBV ali kot naknadna okužba nosilca HBsAg s HDV. Patohistološki sliki obeh oblik okužbe s HDV sta različni. Sočasna okužba s HDV in HBV se največkrat histološko kaže kot akutni hepatitis z limfociti v parenhimu in portalnih poljih ter nabrekliimi jetrnimi celicami z eozinofilno nekrozo. Spremembe

so žariščne, v hujših primerih se zlivajo, so submasivne ali masivne. Naknadna okužba nosilca HBV s HDV se histološko kaže kot kombinacija elementov akutnega in kroničnega hepatitisa. Pri kronični okužbi s HDV in HBV najdemo histološko sliko kroničnega hepatitisa z limfociti v portalnih poljih ter nekrozo okoli njih (4, 5).

Patogeneza hepatitisa D je slabo raziskana. HDV sicer deluje citotoksično, vendar jetrno celico najverjetneje okvari predvsem imunski odziv na okužbo ter medsebojno delovanje med HDV in HBV (3). Neposredno citotoksično okvaro domnevno povzročata δAg-S in HDV RNK. Znano je, da ima HDV RNK homologna zaporedja z gostiteljsko 7S RNK (3). Imunski odgovor na HDV povzroči kopičenje vnetic, ki sproščajo citokine in kemokine in tako okvarijo jetrne celice. Virus hepatitisa D sproži tudi nastajanje različnih avtoprotiteles. Ker se poti razmnoževanja HBV in HDV prekrivata, prihaja med obema do medsebojnih delovanj. Vzpostavi se nevarni sinergizem, ki ponavadi pripelje do hujše oblike hepatitisa (3, 5).

## NAČINI OKUŽBE

HDV se najpogosteje prenaša parenteralno. V preteklosti se je okužba s HDV tako pogosto pojavljala v populaciji hemofilikov in pri osebah, ki so prejele več transfuzij krvi. Danes je tveganje prenoša HDV s transfuzijo izjemno nizko zaradi uvedbe obveznega presejalnega testiranja krvodajalcev na prisotnost označevalcev okužbe s HBV in cepljenja proti HBV. Skupine z večjim tveganjem za parenteralni prenos okužbe s HDV so še intravenski uživalci drog, zdravstveni delavci, varovanci ustanov za ljudi s posebnimi potrebami (domovi za ostarele, domovi za invalidne ipd.). Spolni prenos okužbe s HDV je vzrok za visoko prekuženost s HDV med prostitutkami in spolnimi partnerji nosilcev HDV (5). Virus hepatitisa D se prenaša tudi pri neprofesionalnem tetoviranju in prebadanju telesa z uhani (4, 8, 9).

## LABORATORIJSKA DIAGNOSTIKA OKUŽBE

Pri diagnostiki okužbe s HDV običajno določamo tri serološke označevalce: skupna protitelesa

proti HDV (anti-HDV-protitelesa razreda IgG in IgM skupaj), protitelesa proti HDV razreda IgM (anti-HDV IgM) ter antigen hepatitisa D (HDV-Ag) (10). Za dokazovanje seroloških označevalcev največkrat uporabljamo različne encimskoimunske metode (11–13). Dinamiko seroloških označevalcev okužbe s HDV in HBV pri sočasni okužbi in pri okužbi kroničnega nosilca HBV s HDV prikazuje slika 4.

Viremijo potrdimo z dokazom virusne RNK v serumu/plazmi z eno izmed molekularnih metod. Določanje HDV RNK uporabljamo kot dodatni diagnostični postopek; metodo ponujajo rutinsko le nekaj laboratorijev na svetu (10–12).

Akutno hkratno okužbo s HDV in HBV potrdimo s sočasnimi dokazom HBsAg in anti-HBc IgM ter enega ali več seroloških označevalcev okužbe s HDV. Pri naknadni okužbi kroničnega nosilca HBsAg s HDV je rezultat podoben, le da so anti-HBc IgM odsotna (10).

Dokaz HDV-antigena in/ali virusne RNK v serumu kaže na dejavno pomnoževanje virusa. HDV antigen in virusna RNK sta prisotna od obdobja pozne inkubacije do začetka okrevanja. Teden do dva po pojavu označevalcev aktivnega pomnoževanja se pojavijo anti-HDV IgM, ki navadno izginejo v 4–8 tednih. Če skupaj z označevalci aktivnega pomnoževanja virusa protitelesa anti-HDV IgM vztrajajo več kot 10 tednov, lahko predvidimo razvoj kroničnega hepatitisa D (10).

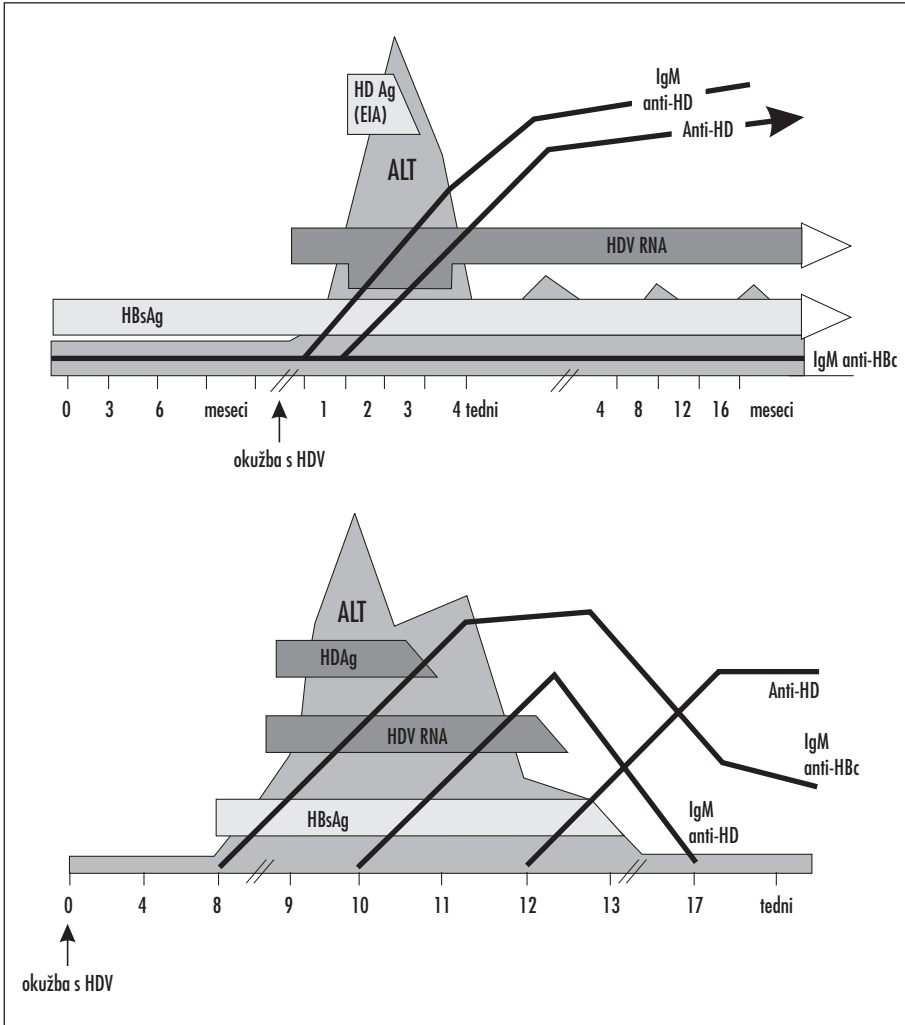
Prisotnost skupnih protiteles anti-HDV ob negativnih anti-HDV IgM in HDV-Ag oz. HDV RNK govori za pozdravljen hepatitis D.

Natančnega časa okužbe bolnika z določanjem serumskih označevalcev ne moremo ugotoviti.

## BOLEZNI, POVEZANE Z OKUŽBO S HDV

Virus hepatitisa D povzroča akutni in kronični hepatitis; v visokem deležu je bil odkrit tudi pri bolnikih s fulminantnim hepatitisom. Je visoko patogen in potencialno bolj nevaren v primerjavi z ostalimi hepatotropnimi virusi (4, 11).

Pri sočasni okužbi s HDV in HBV izbruhne akutni hepatitis hujše oblike v dveh stopnjah. Takšen akutni hepatitis D največkrat ne napreduje v kroničnega. Nasprotno se pri okužbi



Slika 4. Serumski označevalci pri okužbi kroničnega nosilca HBV s HDV (zgornja slika) ter sočasni okužbi s HDV in HBV (spodnja slika) (povzeto po referenci 4).

nosilca HBsAg s HDV kronični hepatitis D razvije v 95% primerov. V tem primeru ne glede na težavnost akutne okužbe bolezen hitro napreduje; pogosto do ciroze, jetrne odpovedi in smrti (4, 11).

Za kronični hepatitis D je značilno trajno zvišanje IgM anti-HDV in prisotnost HDV RNK v serumu bolnika. Preživetje bolnikov s kroničnim hepatitisom D je znatno nižje kot pri kroničnem nosilcu HBsAg brez nacepljene okužbe s HDV (4).

Pri bolnikih z imunsko pomanjkljivostjo HDV povzroča hudo okvaro jeter (4). Po

ortotopni presaditvi jeter preide HDV v latentno fazo, ki traja do ponovne aktivacije HBV. Gre za stanje najmanjšega možnega pomnoževanja HDV in mirovanja bolezn. Po ponovni aktivaciji HBV se hepatitis D ponovi (4).

Med zaplete okužbe s HDV štejemo cirozo jeter, jetrnocelični karcinom in različne avtoimunske bolezni (3). Virus hepatitisa D je najpomembnejši vzrok ciroze jeter v mladosti v sredozemskih državah. Jetrnocelični karcinom se razvije pri 40% vseh kronično okuženih s HDV (4).

## ZDRAVLJENJE OKUŽBE

Cilj zdravljenja hepatitisa D je v prvi vrsti prekinitev dejavnega pomnoževanja HDV ter posledična normalizacija ravni serumskih aminotransferaz, zlasti alanin aminotransferaze, in zmanjšanje nekrotizantnega vnetja jeter. Z zdravljenjem hepatitisa D želimo hkrati pozdraviti tudi hepatitis B oz. vsaj doseči izgubo HBeAg oz. HBsAg (15).

Zaenkrat je edino dokazano učinkovito zdravilo za kronični hepatitis D interferon alfa (IFN  $\alpha$ ). Uspešnost zdravljenja je nizka. Pozitiven odgovor na zdravljenje je verjetnejši, če je trajanje bolezni do uvedbe zdravljenja krajše; zato velja doktrina, da zdravimo bolnike s kroničnim hepatitisom D in aktivno jetrno boleznijo čimprej. Brezsptomskih nosilcev HDV ne zdravimo, ampak podrobno spremljamo (15). Priporočen postopek zdravljenja je: 9 milijonov enot IFN  $\alpha$  3-krat tedensko ali 5 milijonov enot IFN  $\alpha$  dnevno, vsaj 12 mesecev (14, 15). Pri polovici bolnikov se vrednosti jetrnih testov normalizirajo in izgine serumska virusna RNK; vendar pride tudi pri teh bolnikih po ukinitvi IFN  $\alpha$  pogosto do ponovitve bolezni. Dolgotrajen učinek zdravljenja tako dosežemo pri manj kot petini bolnikov (14). Učinek IFN  $\alpha$  je boljši, če je odmerek zdravila višji, trajanje zdravljenja daljše ter trajanje bolezni do uvedbe zdravljenja krajše (4, 11, 15).

Tabela 1. Razširjenost okužbe s HDV med nosilci HBsAg v državah južne Evrope in Sredozemlja. \*delež virusnega hepatitisa, \*\*populacija grških kaznjencev v zaporih

Država (referenca)	Leto raziskave	Pojavnost okužbe s HDV
Romunija (19)	1986	83,33%
Portugalska (20)	1987	17,3%
Turčija (21)	1991	18,6%
Italija (22)	1992	14%
Madžarska (23)	1992	13,6%
Jugoslavija (24)	1993	11,2%
Hrvaška (25)	1994	19,0%
Francija (26)	1994	3,1%*
Albanija (27)	1995	6,2%
Španija (28)	1995	9,6%
Grčija (29)	1998	35,2%**
Slovenija (33)	2002	0,25%

Številna druga zdravila so bila preizkušana kot dodatna možnost IFN  $\alpha$ , ampak na žalost zaenkrat brez zadovoljivih dokazov (15). Nedavne raziskave nakazujejo možen ugoden učinek pegiliranega IFN  $\alpha$ -2a (16).

Pri jetrni odpovedi zaradi posledic kroničnega hepatitisa D je edina terapevtska možnost, ki omogoči zadovoljivo preživetje bolnika, ortotopna presaditev jeter. V Evropi predstavljajo bolniki s hepatitisom D znaten delež vseh bolnikov s presaditvijo. Po operaciji se uporablja enaka pasivna imunoprofilaksa kot v primeru presaditve po odpovedi jeter zaradi hepatitisa B. Ponoven razvoj bolezni nastopi v približno 10% (4).

## EPIDEMIOLOGIJA

Okužba s HDV se pojavlja po vsem svetu. Skupaj naj bi bilo na svetu 10 milijonov okuženih. Razširjenost okužbe s HDV med nosilci HBsAg se giblje v razponu od 1% v mrzlem do 30% v tropskem in subtropskem podnebnju. Osnovni dejavnik, ki vpliva na razširjenost okužbe s HDV v določeni populaciji, je razširjenost okužbe s HBV (4, 8).

Sredozemske države in države južne/jugovzhodne Evrope imajo zelo različno pojavnost okužbe s HDV. Pregled vseh dosedanjih objavljenih raziskav pojavnosti hepatitisa D v teh državah je pregledno podan v tabeli 1.

Južna Evropa je bila endemsko področje za okužbo s HDV v 70-ih letih prejšnjega stoletja. Novejša poročila kažejo na splošni upad pojavnosti okužbe s HDV v zadnjem desetletju

Tabela 2. Spremembe razširjenosti okužbe s HDV v državah južne Evrope in Sredozemlja. \*delež virusnega hepatitisa, \*\*populacija moških, ki imajo spolne odnose z moškimi

Regija ali država (referenca)	Leto raziskave	Prevalenca okužbe s HDV
Južna Evropa (22, 30)	1987	23%
	1992	14%
	2001	8%
Francija (26, 31)	1989	14,3%**
	1994	3,1%
Portugalska (20, 32)	1987	17,3%
	1993	8%*
Španija (28)	1985	15%
	1992	7,1%



v državah južne Evrope in Sredozemlja (tabela 2). Tako se je npr. v Italiji pojavnost okužbe s HDV v 14 letih zmanjšala s 23 na 8 %.

## POJAVNOST OKUŽBE S HDV V SLOVENIJI

Slovenija je geografsko del južne Evrope in Sredozemlja. Glede na razmeroma nizko pojavnost kroničnih nosilcev HBsAg v Sloveniji bi pričakovali tudi geografsko primerljivo nizko pojavnost okužbe s HDV.

Da bi ugotovili dejansko stanje razširjenosti okužbe s HDV v Sloveniji, smo nedavno na prisotnost skupnih anti-HDV-protiteles testirali 400 HBsAg-pozitivnih serumskih vzorcev iz zbirke Laboratorija za molekularno mikrobiologijo, diagnostiko hepatitisov in aida na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani (33). Vzorci so bili odvzeti 400 bolnikom in so bili zbrani tako, da smo od vsakega bolnika s pozitivnim HBsAg vzeli kronološko zadnji vzorec seruma. Bolnike smo izbrali zaporedno retrogradno od začetka raziskave 15. januarja 2002 do 11. februarja 1998. Vsi bolniki, vključeni v raziskavo, so bili v času testiranja na prisotnost serumskih označevalcev okužbe s HDV že vsaj 6 mesecev HBsAg-pozitivni.

Skupna protitelesa proti HDV (anti-HDV-protitelesa razreda IgG in IgM skupaj) smo v serumu dokazovali z encimskoimunskim testom. Uporabljali smo komercialni diagnostični komplet ETI-AB-DELTA-2, proizvajalca DiaSorin (DiaSorin, Saluggia, Italija). Test ima po podatkih proizvajalca 99,6 % specifičnost (verjetnost negativnega rezultata pri odsotnosti okužbe) in 100 % občutljivost (verjetnost pozitivnega rezultata ob prisotnosti okužbe).

Za izračun pojavnosti okužbe s HDV v celotni populaciji nosilcev HBsAg smo uporabili statistično metodo ocenjevanja deleža populacije in izračunali 95 % interval zaupanja za

oceno prave pojavnosti okužbe s HDV v celotni populaciji nosilcev HBsAg.

Med vsemi 400 testiranimi vzorci smo v enem samem serumskem vzorcu dokazali anti-HDV-protitelesa, kar predstavlja 0,25 %. Če predpostavimo predstavljalivost vzorca za celotno populacijo kroničnih nosilcev HBsAg v Sloveniji, lahko glede na dobljene rezultate s 95 % gotovostjo zaključimo, da je v naši državi z virusom hepatitisa D okuženih med 0,24 in 0,74 % HBsAg-pozitivnih bolnikov.

Serum, v katerem smo dokazali anti-HDV-protitelesa, je bil odvzet 54-letnemu bolniku moškega spola iz okolice Ljubljane, ki so mu prvič dokazali hepatitis B leta 1996. Dodatna testiranja so pokazala, da sta, poleg vzorca vključenega v raziskavo, tudi dva dodatna bolnikova serumska vzorca anti-HDV-pozitivna. Nasprotno v nobenem od testiranih vzorcev nismo našli označevalcev akutne okužbe s HDV (anti-HDV IgM ali HDVAg). S temi dodatnimi testiranjmi smo potrdili, da gre pri omenjenem bolniku za stanje po preboleli okužbi s HDV.

Glede na izsledke naše raziskave ima torej Slovenija najnižjo do sedaj znano pojavnost okužbe kroničnih nosilcev HBsAg s HDV med državami južne Evrope in Sredozemlja (tabela 1).

Glede na ugotovljeno presenetljivo nizko pojavnost okužbe s HDV med slovenskimi kroničnimi nosilci HBsAg je naknadna okužba s HDV malo verjeten vzrok kliničnega poslabšanja kroničnega hepatitisa B. Diferencialno diagnostično je zato v primeru kliničnega poslabšanja hepatitisa pri slovenskih bolnikih s kroničnim hepatitisom B, za razliko od npr. italijanskih, primerneje prej pomisliti na številne druge možne vzroke poslabšanja jetrnega obolenja. Po našem mnenju testiranje na označevalce okužbe s HDV v Sloveniji ni diagnostični postopek izbora ob akutnem kliničnem poslabšanju kroničnega hepatitisa B.

## LITERATURA

1. Rizzetto M, Canese MG, Arico S, et al. Immunofluorescence detection of new antigen-antibody system (delta/anti-delta) associated to hepatitis B virus in liver and in serum of HBsAg carriers. *Gut* 1977; 18 (12): 997-1003.
2. Taylor JM. Hepatitis delta virus. *Intervirology* 1992; 42 (2-3): 173-8.
3. Lai MC. The molecular biology of hepatitis delta virus. *Annu Rev Biochem* 1995; 64: 259-86.
4. Taylor JM. Hepatitis delta virus and its replication. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott - Raven Publishers; 1996. p. 2809-18.
5. Rizzetto M. Hepatitis D: virology, clinical and epidemiological aspects. *Acta Gastroenterol Belg* 2000; 63 (2): 221-4.



6. Gudima S, Wu SY, Chiang CM, et al. Origin of hepatitis delta virus RNA. *J Virol* 2000; 74 (16): 7204–10.
7. Monjardino JP, Saldanha JA. Delta hepatitis. The disease and the virus. *Br Med Bull* 1990; 46 (2): 399–407.
8. Rizzetto M. The delta agent. *Hepatology* 1983; 3 (5): 729–37.
9. Ottobrelli A, Marzano A, Smedile A, et al. Patterns of hepatitis delta virus reinfection and disease in liver transplantation. *Gastroenterology* 1991; 101 (6): 1649–55.
10. Poljak M, Seme K, Meško KM, et al. Mikrobiological diagnosis of viral hepatitis. XXXV Memorial meeting to professor Janez Plečnik – Viral hepatitis; Ljubljana 2004. p. 72–85.
11. Karayiannis P. Hepatitis D virus. *Rev Med Virol* 1998; 8 (1): 13–24.
12. Huang YH, Wu JC, Sheng WY, et al. Diagnostic value of anti-hepatitis D virus (HDV) antibodies revisited: a study of total and IgM anti-HDV compared with detection of HDV-RNA by polymerase chain reaction. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13 (1): 57–61.
13. Hollinger FG, Dienstag JL. Hepatitis B and D viruses. In: Murray PR, ed. *Manual of clinical microbiology*. 7th ed. Washington: ASM Press; 1999. p. 1025–42.
14. Saracco G, Rizzetto M. A practical guide to the use of interferons in the management of hepatitis virus infections. *Drugs* 1997; 53 (1): 74–85.
15. Farci P. Delta hepatitis: an update. *J Hepatol* 2003; 39 Supl 1: S212–9.
16. Ferenci P, Formann E, Romeo R. Successful treatment of chronic hepatitis D with a short course of peginterferon alfa-2a. *Am J Gastroenterol* 2005; 100 (7): 1626–7.
17. Bordier BB, Ohkanda J, Liu P, et al. In vivo antiviral efficacy of phenilation inhibitors against hepatitis delta virus. *J Clin Invest* 2003; 112 (3): 407–14.
18. Bordier BB, Marion PL, Ohashi K, et al. A phenylation inhibitor prevents production of infectious hepatitis delta particles. *J Virol* 2002; 76 (20): 10465–72.
19. Tapalaga D, Forzani B, Hele C, et al. Prevalence of the hepatitis delta virus in Rumania. *Hepatogastroenterology* 1986; 33 (6): 238–9.
20. Ramalho F, Carvalho G, Bonino F, et al. Clinical and epidemiological significance of hepatitis delta virus (HDV) infection in chronic HBV carriers in Portugal. *Prog Clin Biol Res* 1987; 234: 409–17.
21. Balik I, Onul M, Tekeli E, et al. Epidemiology and clinical outcome of hepatitis D virus infection in Turkey. *Eur J Epidemiol* 1991; 7 (1): 48–54.
22. Gaeta GB, Stroffolini T, Chiramonte M, et al. Chronic hepatitis D: a vanishing disease? An Italian multicenter study. *Hepatology* 2000; 32 (4 Pt 1): 824–7.
23. Horvath G, Tolvaj G, Stotz G, et al. The incidence of hepatitis delta virus infection in chronic liver diseases in Hungary. *Acta Med Hung* 1992; 49 (1–2): 109–17.
24. Delić D, Gotić M, Ostrić V, et al. Epidemiology of hepatitis D virus (delta) infection in Yugoslavia. *Liver* 1993; 13 (6): 302–4.
25. Jelić D, Jelić O. Epidemiological characteristics of HBV and HDV chronic liver diseases. *Acta Med Croatica* 1994; 48 (1): 7–13.
26. Hammel P, Marcellin P, Martinot-Peignoux M, et al. Etiology of chronic hepatitis in France: predominant role of hepatitis C virus. *J Hepatol* 1994; 21 (4): 618–23.
27. Da Villa G, Nuri B, Ghisetti V, et al. Epidemiology of hepatitis B and delta virus infection in Albania: an approach to universal vaccination. *Res Virol* 1995; 146 (4): 245–8.
28. Navascues CA, Rodriguez M, Sotorrio NG, et al. Epidemiology of hepatitis D virus infection: changes in the last 14 years. *Am J Gastroenterol* 1995; 90 (11): 1981–4.
29. Malliori M, Sypsa V, Psychogiou M, et al. A survey of bloodborne viruses and associated risk behaviours in Greek prisons. *Addiction* 1998; 93 (2): 243–51.
30. Gaeta GB, Stormaiuolo G, Precone DF. Type B and D viral hepatitis: epidemiological changes in Southern Europe. *Forum (Genova)* 2001; 11 (2): 126–33. Rew.
31. Pol S, Dubois F, Roingeard P, et al. Hepatitis delta virus infection in French male HBsAg-positive homosexuals. *Hepatology* 1989; 10 (3): 342–5.
32. Ramalho F, Carvalho G, Bonino F, et al. Clinical and epidemiological significance of hepatitis delta virus (HDV) infection in chronic HBV carriers in Portugal. *Prog Clin Biol Res* 1987; 234: 409–17.
33. Štunf Š. Razširjenost okužbe z virusom hepatitisa D v Sloveniji (Fakultetno Prešernovo priznanje). Ljubljana: Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani; 2002.