



## EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ACUTE HBV INFECTION

### EPIDEMIOLOŠKE KARAKTERISTIKE AKUTNE INFEKCIJE VIRUSOM HEPATITIS B

Valerija Perić<sup>1</sup>, Ksenija Bojović<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

<sup>2</sup> Klinika za infektivne i tropske bolesti "Prof. dr Kosta Todorović", Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija

**Correspondence:** snezanaaperic@gmail.com

#### Abstract

**Introduction:** Despite the existing vaccines and mandatory immunization, the number of patients with acute HBV infection is substantial. According to some authors, almost 30% of world population has a serological confirmation of acute HBV infection or has recovered from it.

**Aim:** The aim of this study was to show the most common clinical course of acute HBV infection. Our goal was also to evaluate risky forms of behaviour that would most likely lead to infection and which age groups are the most vulnerable.

**Material and methods:** The study has been conducted based on the medical charts and case records of 243 patients hospitalised at the Clinic for Infective and Tropical Diseases in Belgrade and diagnosed with acute hepatitis B infection. Selected demographic characteristics were analyzed: sex, age, occupation, vaccination status and risk factors. Transaminase activity (ALT, AST) was spectrophotometrically measured; PV was determined by using photo-optic coagulometry, while ELISA was used to get the serological parameters (HBsAg, anti-HBc IgM, anti-HBs antibodies).

**Results:** Results have shown that acute HBV occurs more often in the age group between 21 and 40. Infection occurs more often among men (72%). Only 24% of the participants in the study mentions sexual contact as risk. At the moment of their admission, the values of transaminases were mostly increased  $> 20$  x, compared to standard values. Most patients recovered (negative HBsAg among 72%), but anti-HBs antibodies were developed only among 18%. There was no statistically significant difference between patients who were on the casual therapy and those symptomatically treated.

**Conclusion:** Awareness of the HBV infection, the way it is transmitted and the importance of regular check-ups is not high enough among already infected people. The future of prevention of the HBV infection lies in the immunization and education of the population about this infection.

#### Keywords:

HBV,  
HBsAg,  
anti-HBs antibodies



## Sažetak

**Uvod:** I pored postojeće vakcine i obavezne imunizacije, broj pacijenata sa akutnom infekcijom virusom hepatitis B (HBV) nije mali.

**Cilj:** Ciljevi ovog rada su bili da se proceni klinički tok akutne HBV infekcije i uticaj primenjene terapije na ishod infekcije, kao i da se identifikuju rizični oblici ponašanja koji predominantno dovode do infekcije i u kojoj starosnoj grupi.

**Materijal i metode:** Studija je izvedena na osnovu uvida u zdravstvene kartone i istorije bolesti 243 pacijenta koji su bolnički lečeni na Klinici za infektivne i tropske bolesti Kliničkog centra Srbije u Beogradu sa dijagnozom akutnog virusnog hepatitisa B. Analizirane su demografske karakteristike: pol, uzrast, zanimanje, vakcinalni status i faktori rizika. Aktivnost transaminaza (ALT, AST) merena je spektrofotometrijski, protrombinsko vreme (PT) je određivano foto-optičkom koagulometrijom, a serološki parametri (HBsAg, anti-HBc IgM antitela, anti-HBs antitela) dobijeni su enzimskim imunoesejom (ELISA test).

**Rezultati:** Ukupno je bilo 69 pacijenata ženskog i 174 pacijenata muškog pola. Rezultati pokazuju da je akutna HBV infekcija najčešća u uzrasnoj grupi 21-40 godina i to skoro isključivo kod nevakcinisanih osoba (99%). Infekcija je češća kod osoba muškog pola (72%), a među ispitanicima su se našli i medicinski radnici (4%). Od faktora rizika, 24% ispitanika navodi seksualni kontakt, a od njih je 9% bilo homoseksualne orijentacije. Na prijemu su vrednosti transaminaza uglavnom bile povišene > 20 puta, dok je na otpustu njihova vrednost uglavnom bila < 5 puta povišena u odnosu na referentne vrednosti. Značajno snižene vrednosti PT, pokazatelja sintetske funkcije jetre, uočene su kod 12% bolesnika. Kod većine pacijenata došlo je do izlečenja (negativan HBsAg kod 72%), ali je anti-HBs antitela razvilo svega 18%. Nije postojala statistički značajna razlika u ishodu oporavka pacijenata tretiranih simptomatski i antivirusno.

**Zaključak:** Informisanost i svest o HBV infekciji, načinu transmisije i značaju redovnih kontrola kod inficiranih osoba je nedovoljna. Budućnost prevencije HBV infekcije je u kompletnoj imunizaciji stanovništva i sprovođenju edukacije o ovoj infekciji.

### Ključne reči:

HBV,  
HBsAg,  
anti-HBs antitela

## Uvod

Akutna virusna hepatitis B infekcija predstavlja akutnu upalu jetre izazvanu virusom hepatitisa B (HBV), koja se karakteriše zapaljenjem i nekrozom hepatocita sa karakterističnim promenama u serumu bolesnika. Virus hepatitis B (HBV) je DNK virus koji pripada familiji *Hepadnaviridae*, složene je strukture i veoma otporan u spoljašnjoj sredini (1). Sastoji se od spoljašnjeg lipoproteinskog omotača i unutrašnjeg jezgra (nukleokapsida). Učestalost HBV infekcije, procenjena na osnovu prisustva površinskog antigena hepatitis B (HBsAg) u serumu, razlikuje se u pojedinim delovima sveta: u SAD, Velikoj Britaniji i skandinavskim zemljama iznosi 0,1%, u Grčkoj, Južnoj Italiji i bivšim državama SFRJ > 3%, u Africi i na Dalekom istoku do 10-15% (1). Prema statističkim podacima, 5% svetske populacije je hronični HBV nosilac i taj deo populacije, zapravo, predstavlja glavni izvor širenja infekcije (1). Procene o prevalenciji ove infekcije u Srbiji ne postoje. Obavezna imunizacija sve novorođene dece je uvedena 2000. godine, ali su pacijenti sa akutnom HBV infekcijom i dalje prisutni. Prema dosadašnjim epidemiološkim saznanjima, u najvećem riziku za dobijanje infekcije su: intraveniski narkomani, bolesnici koji često primaju transfuzije krvi ili derivate krvi (oboleli od hemofilije), bolesnici na hemodijalizi, sa malignim oboljenjima, seksualno promiskuitetne osobe, zdravstveni radnici izloženi krvi bolesnika

(naročito hirurzi, laboranti, stomatolozi...), bračni partneri inficiranih osoba i novorođenčad, putem perinatalne transmisije sa majke. U fulminantnom hepatitisu HBsAg može da bude eliminisan veoma rano, nekada i pre nego što se bolesnik obrati lekaru. Za potvrdu dijagnoze akutnog virusnog hepatitisa B, pored prisustva HbsAg, neophodno je dokazati i prisustvo antitela imunoglobulina M protiv nukleokapsida hepatitisa B (anti-HBc IgM antitela) u serumu. Specifična terapija oralnim analogima nukleo(z)ida za akutni virusni hepatitis primenjuje se samo kod teških formi, praćenih koagulopatijama i encefalopatijama. U ostalim slučajevima akutne HBV infekcije terapijski pristup se svodi samo na simptomatsku terapiju i sprovođenje higijensko-dijetetskog režima. Posle akutne infekcije HBsAg ostaje pozitivan kod 5-10% bolesnika i nakon šest meseci, što označava prelazak u hronični B virusni hepatitis (1).

Uvođenjem obavezne vakcinacije očekivalo se da će doći do značajnog pada HBV infekcije. U kliničkoj praksi se, međutim, pokazalo da broj pacijenata sa HBV infekcijom ipak nije mali, te nas je zanimalo koje su uzrasne grupe najviše ugrožene, koji je dominantan način transmisije i kakav je klinički tok same bolesti.

Cilj ovog rada bio je da pokaže koja je uzrasna grupa u najvećem riziku od akutne HBV infekcije, da utvrdi najčešći put transmisije virusa i najčešći ishod akutne HBV infekcije, kao i da ustanovi da li postoji uticaj antivirusne terapije na ishod i brzinu oporavka pacijenta.

## Materijal i metode

Naš rad predstavlja retrospektivnu anamnestičku studiju u koju su bila uključena 243 pacijenta, bolnički lečena na Klinici za infektivne i tropske bolesti Kliničkog centra Srbije (KCS) u Beogradu, u desetogodišnjem periodu (2007-2017. godina) sa dijagnozom akutne HBV infekcije. Podaci su dobijeni iz istorija bolesti i ambulantnih kartona. Analizirane su demografske karakteristike: pol, uzrast, zanimanje, vakcinalni status i faktori rizika. Od laboratorijskih parametara analizirali smo vrednosti transaminaza - aspartat aminotransferaze (AST) i alanin aminotransferaze (ALT) i protrombinskog vremena (PT), a serološkim analizama prisutnost HBsAg i anti-HBc IgM antitela, čime smo potvrdili dijagnozu akutne virusne infekcije virusom hepatitisa B. Pratili smo i učinak antivirusne terapije na oporavak pacijenta, koji smo definisali gubitkom HBsAg u periodu do 6 meseci od hospitalizacije sa ili bez razvoja anti-HBs antitela.

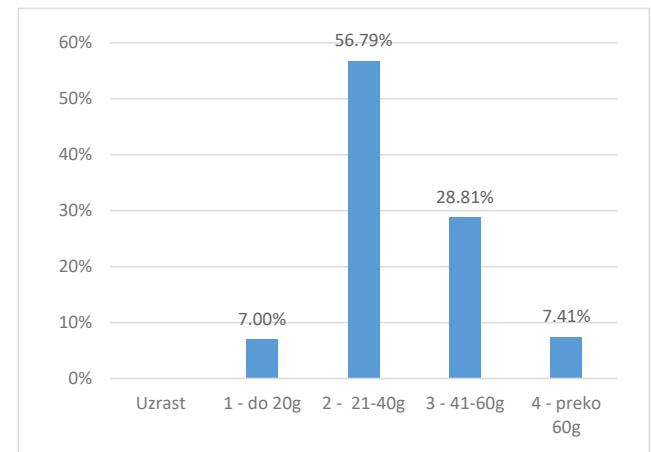
Biohemijske analize i mikrobiološka dijagnostika sprovedene su u laboratoriji Klinike za infektivne i tropske bolesti KCS u Beogradu. Aktivnost AST i ALT određivana je metodom spektrofotometrije, po principu merenja kinetike reakcije u ultraljubičastom (UV) delu spektra, uz upotrebu piridoksal-fosfata. Kao aparat je korišćen biohemijski analizator (*Dimension RxL Max, Siemens*). Preporučene vrednosti za AST su 0-37 IU/L, a za ALT 14-63 IU/L. Određivanje PT obavljeno je metodom foto-optičke koagulometrije na poluautomatskom koagulometru (*System CA-1500 System, Siemens*). Preporučene vrednosti protrombinskog vremena su 70-130%.

Za detekciju HBsAg primenjena je metoda enzimskog imunoesaja (ELISA test) *Enzygnost® HBsAg 6.0*, automatski system (*BEP® 2000* firme *Siemens*). Isti aparat i metoda su korišćeni za detekciju anti-HBc IgM antitela i anti-HBs antitela, dok je kao test za anti-HBc IgM antitela korišćen *Enzygnost® Anti-HBc monoclonal*, a za anti-HBs antitela *Enzygnost® Anti-HBs II*.

Za analizu podataka korišćene su metode deskriptivne statistike. Podaci su prikazani tabelarno i u vidu dijagrama. Deskriptivni podaci su izraženi kao prosečna vrednost  $\pm$  standardna devijacija. Za svaku posmatranu kategoriju radili smo grupisanje pacijenata. Pacijenti su grupisani u 4 uzrasne grupe i to: do 20 godina, 21-40, 41-60 i više od 60 godina. U pogledu vakcinalnog statusa pacijenti su podeljeni na nevakcinisane, delimično vakcinisane i vakcinisane. Svi ispitanici su, prema nivou bazalnih vrednosti serumskih transaminaza na prijemu, podeljeni u 3 grupe: povišene do 10 x, 10-20 x i > 20 x. Posebno smo analizirali uticaj antivirusne terapije na oporavak. Pacijenti su podeljeni na one lečene simptomatski i antivirusnom terapijom. Uradili smo i dijagrame koji prikazuju odnos prisutnosti HBsAg šest meseci nakon hospitalizacije u poređenju sa terapijom koja je korišćena (simptomatska ili antivirusna - lamivudin), tj. korelaciju pojave anti-HBs antitela i korišćene terapije. Od testova za dokazivanje statistički značajne razlike korišćen je  $\chi$ -kvadrat test.

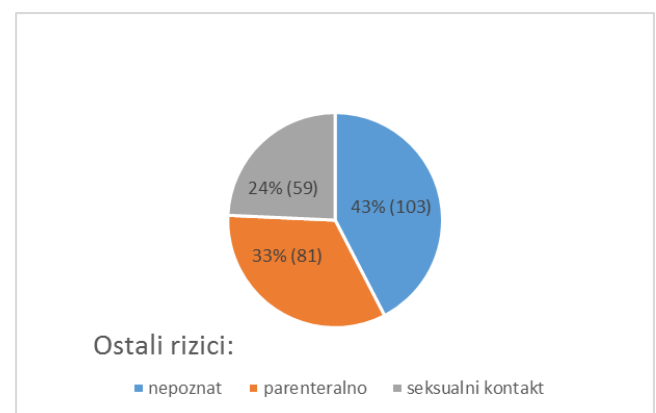
## Rezultati

U studiju su bile uključene 174 osobe muškog pola (72%) i 69 osoba ženskog pola (28%). Najmanji broj pacijenata beležimo u grupi ispitanika do 20 godina starosti, njih 17 (7%), a najveći u posmatranoj grupi dobi od 21 do 40 godina, čak 138 (56,79%). U uzrasnoj grupi od 41 do 60 godina bilo je 70 (28,81%) pacijenata, a u četvrtoj grupi, koju su činili pacijenti stariji od 60 godina, bilo je 18 (7,41%) pacijenata (**grafikon 1**).



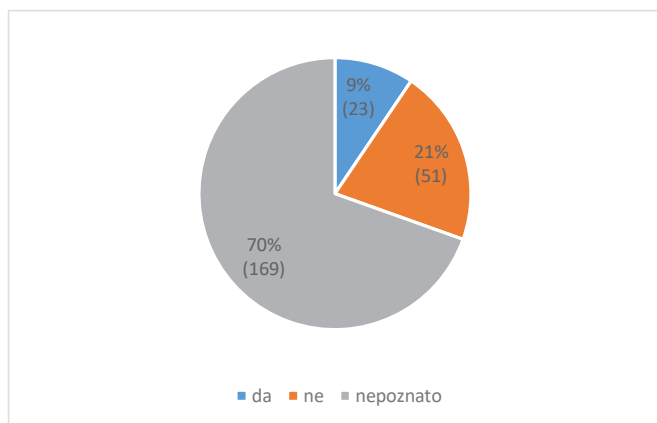
**Grafikon 1.** Uzrasne grupe ispitanika

Posebno smo analizirali ispitanike u smislu imunizacije protiv HBV infekcije. Očekivano, većina od 241 ispitanika (99,18%) nije bila vakcinisana. Jedna osoba (0,41%) je sigurno primila vakcinu, dok je 1 osoba (0,41%) delimično vakcinisana. U pogledu profesionalnog rizika za infekciju posebno smo analizirali grupu profesionalno ugroženih osoba i registrovali smo 4% medicinskih radnika u ispitivanoj populaciji. Analizom drugih faktora rizika za akutnu HBV infekciju izdvaja se rizično seksualno ponašanje (24%), od kojih je 9% bilo homoseksualne orijentacije. Nije zanemarljiv broj ispitanika (43%) koji negira bilo kakav poznat faktor rizika za prenošenje infekcije (**grafikon 2 i 3**).



**Grafikon 2.** Faktori rizika anamnestički navedeni od strane pacijenata

Analizirajući vrednosti ALT dobijeni su podaci da je 13 pacijenata (5%) imalo povišene transaminaze do 10 puta, 22 pacijenata (9%) imalo je povišene transaminaze



**Grafikon 3.** Učestalost pacijenata homoseksualne orijentacije među obolelim od akutne HBV infekcije

10-20 puta, dok je većina pacijenata, njih 208 (86%), imalo vrednost transaminaza povišenu preko 20 puta. Analizirali smo i vrednosti ovih parametara na otpustu i ustanovili da je većina njih imala povišene vrednosti transaminaza do 5 puta (**tabela 1**).

**Tabela 1.** Vrednosti aminotransferaza ispitanika po otpustu

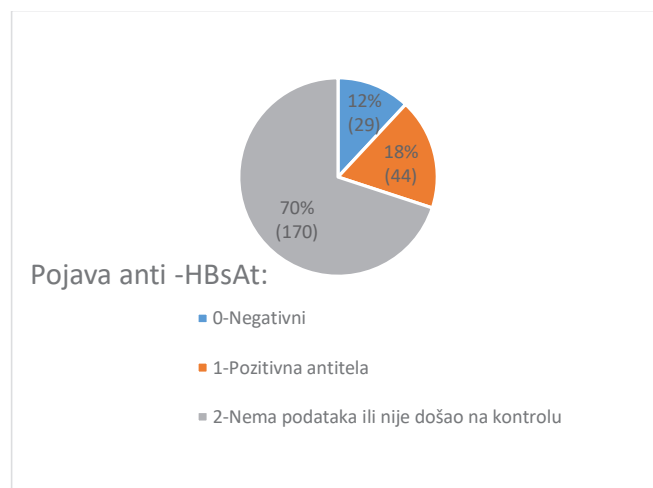
Uvećanje na otpustu	AST (N / %)	ALT (N / %)
< 5 x	181 (74)	119 (49)
5-10 x	41 (41,17)	82 (34)
> 10 x	21 (21,9)	42 (17)
<b>Ukupno</b>	<b>243</b>	<b>243</b>

Glavni serološki marker za akutnu HBV infekciju (HBsAg) bio je pozitivan kod 99% ispitanika, ali je kod 3 ispitanika registrovan negativan HBsAg. Kod većine pacijenata istovremeno je rađen i anti-HBc IgM, koji je kod svih bio pozitivan. Analizom sintetske funkcije jetre izražene preko PT, kod 12% ispitanika smo registrovali značajno sniženje vrednosti (< 50%).

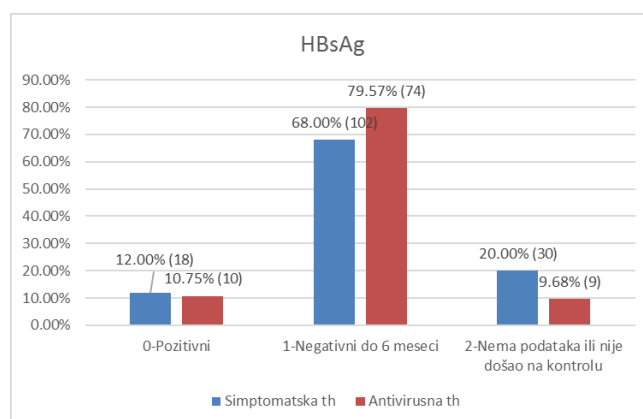
Većina pacijenata, njih 150 (62%), lečeno je simptomatskom terapijom, ali je 38% pacijenata lečeno specifičnom antivirusnom terapijom. Kontrolom HBsAg u periodu praćenja do 6 meseci nakon hospitalizacije većina ispitanika je imala negativan HBsAg (72%), 16% je izgubljeno u praćenju, a 12% je ostalo pozitivno nakon perioda praćenja. Svega 18% je napravilo i serokonverziju u anti-HBs antitela (**grafikon 4**).

U grupi simptomatski lečenih pacijenata 68% je postalo HBsAg negativno, a u grupi pacijenata koja je tretirana antivirusnom terapijom oporavak se registruje kod 79% pacijenata (**grafikon 5**).

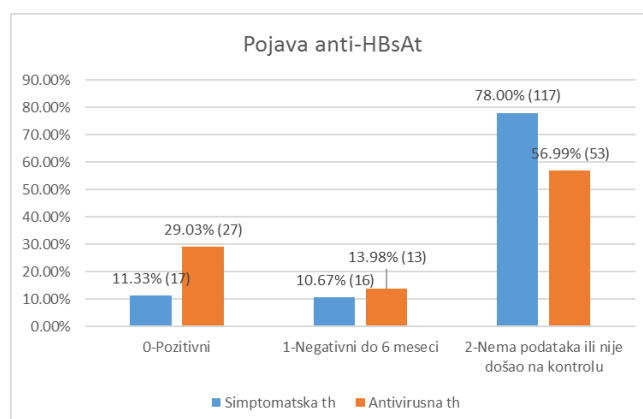
U grupi simptomatski lečenih pacijenata 11% je razvilo anti-HBs antitela, dok je u grupi onih tretiranih antivirusnom terapijom antitela razvilo 29% pacijenata (**grafikon 6**).



**Grafikon 4.** Pojava anti-HBs antitela u serumu bolesnika tokom 6 meseci praćenja nakon hospitalizacije



**Grafikon 5.** Uporedni prikaz uticaja simptomatske i antivirusne terapije na gubitak HBsAg tokom 6 meseci praćenja



**Grafikon 4.** Pojava anti-HBs antitela u serumu bolesnika tokom 6 meseci praćenja nakon hospitalizacije

Nije postojala statistički značajna razlika između pacijenata tretiranih simptomatski i antivirusno u pogledu gubitka HBsAg i razvoja anti-HBs antitela tokom 6 meseci praćenja ( $p > 0,05$ ).

## Diskusija

Kada je reč o najzastupljenijoj uzrasnoj dobi u grupi obolelih od akutne HBV infekcije, rezultati dobijeni u ovom radu koreliraju sa podacima iz drugih studija koji govore u prilog tome da su mladi ljudi (21-40



godina) najrizičnija grupa za dobijanje akutne HBV infekcije (2). Ova grupa nije obuhvaćena vakcinacijom i predstavlja radno sposobnu, seksualno aktivnu kategoriju, što može biti objašnjenje postojećih rezultata. Čak 72% ispitanika je muškog pola, što se objašnjava time da je ovaj pol skloniji rizičnijem ponašanju i narkomaniji što, između ostalog, predstavlja faktore rizika za inokulaciju. Na našim prostorima prisutan je HBV D3 genotip, koji je povezan sa obolevanjem usled zloupotrebe psihoaktivnih supstanci (3). Studija sprovedena u Kini u periodu od septembra 2014. do januara 2015. godine pokazuje da je HBV infekcija češća kod zloupotrebe psihoaktivnih supstanci i u grupi homoseksualaca (4). Ne samo da muškarci homoseksualne orijentacije imaju veći rizik od akutne HBV infekcije već su i u povećanom riziku za prelazak infekcije u hronicitet (5). Kada je reč o seksualnoj orijentaciji, za čak 169 (70%) ispitanika uključenih u našu studiju nije poznata seksualna orijentacija, što govori da, uprkos naporima, još uvek postoje predrasude i posledično neadekvatno davanje informacija prilikom anamneze o relevantnim faktorima rizika. Uvođenjem vakcinacije protiv HBV došlo je do pada stope inficiranih u zemljama Evropske Unije, naročito na mestima gde je vakcinacija uvedena pre 1995. godine (6). S obzirom na to da je i u Srbiji 2000. godine uvedena obavezna imunizacija, očekuje se da se u godinama koje dolaze uz efikasan program vakcinacije i edukaciju stanovništva smanji stopa obolelih kojih trenutno ima najviše u grupi nevakcinisanih (99,18%). Univerzalan program vakcinacije neonatusa u Finskoj može prevenirati 3 od 7 novootkrivenih slučajeva hronične HBV infekcije godišnje (7). U ovome se ogleda značaj vakcine ne samo u sprečavanju akutnih infekcija već i u prevenciji hroniciteta.

Imunizacija protiv HBV infekcije, sprovedena na Tajvanu, pokazuje pad stope hronične infekcije 30 godina nakon početka imunizacije (8). Jedan od problema su i nevakcinisani medicinski radnici koji su u povećanom riziku za infekciju usled profesionalne izloženosti. U ovoj studiji smo pokušali da analiziramo različita zanimanja i ustanovili da je akutna HBV infekcija prisutna u svim profesijama. Posebno smo izdvojili medicinske radnike, njih 9 (4%), koji su po zakonu bili obavezni da se podvrgnu imunizaciji. Visok procenat ispitanika koji negira poznate faktore rizika (43%) mogao bi se objasniti nedovoljnom i neadekvatnom zdravstvenom informisanošću. U literaturi i brojnim studijama se kao glavni i najčešći faktor rizika za prenos HBV infekcije navodi rizičan seksualni kontakt (9). U našoj studiji, od ukupnog broja ispitanika njih 59 (24%) kao faktor rizika navodi rizičan seksualni kontakt u poslednjih 6 meseci, dok 81 (33%) ispitanik navodi parenteralni način transmisije (i.v. narkomanija, tetovaže, pirsinzi, korekcija obrva, profesionalni rizik, transfuzije krvi, stomatološke intervencije). Anamnestički, pacijenti posebno često navode transfuzije kao faktor rizika iako određene studije pokazuju da je seroprevalencija HBsAg kod zdravih davaoca krvi 1,30% (10), dok slična studija u Iraku pokazuje da je među dobrovoljnim davaocima krvi čak 41 od 438 ispitanika bilo izloženo HBV (11). U našoj zemlji se od 1995. godine dobrovoljni davaoci krvi testiraju na HBV infekciju, te je ovaj

način transmisije virusa malo verovatan.

Kod većine pacijenata bolest je imala tipičan klinički tok. Vrednosti ALT su kod 208 (86%) pacijenata bile uvećane preko 20 puta. Kliničkim oporavkom, uz primenu terapije, došlo je do očekivanog pada vrednosti transaminaza, te su pacijenti otpušteni sa značajno nižim, ali još uvek povišenim vrednostima ALT. Površinski antigen hepatitisa B je na prijemu bio pozitivan kod 240 (99%) pacijenata, a negativan kod 3 (1%) pacijenta. Ovo su bili pacijenti kojima je zbog težeg kliničkog toka bolesti HBsAg postao negativan pre dolaska u bolnicu. Pacijenti negativni na HBsAg bili su anti-HBc IgM pozitivni. Dijagnoza akutne HBV infekcije je i postavljena na osnovu pozitivnog anti-HBc IgM, što još jednom potvrđuje opravdanost i ovog testa u inicijalnoj serologiji pacijenata sa akutnim bolestima jetre (12). Kod 28 (12%) pacijenata je PT < 50%, što je ukazivalo na teži stepen oštećenja jetre. Kod ovih pacijenata, kao i kod pacijenata koji su razvili subakutnu formu bolesti, uključivana je antivirusna terapija jer se radilo o težem kliničkom toku HBV infekcije. Terapija je uvođena u cilju sprečavanja daljih oštećenja jetre i prelaska u hronicitet (13). Na kontroli je uočeno da su se anti-HBs antitela tokom 6 meseci od akutne bolesti pojavila kod 44 (18%) ispitanika, kod 29 (12%) se nisu razvila, dok za 170 (70%) pacijenata nema podataka. Ovi podaci su slični podacima italijanske studije iz 2016. godine, u kojoj je do razvoja anti-HBs antitela došlo kod 54,1% ispitanika. Razlog nekompletnog razvoja antitela kod svih bolesnika koji su preležali akutnu HBV infekciju su mutacije u različitim regionima HbsAg (naročito u genotipu G) i izbegavanja prepoznavanja od strane imunog sistema domaćina na taj način, onemogućavajući razvoj anti-HBs antitela (14). O uticaju određenog genotipa (genotip A, naročito kod homoseksualaca) na klinički tok infekcije, perzistenciju HBsAg u akutnoj HBV infekciji, kao i prelasku u hronicitet govori još jedna studija (15).

Naš utisak da antivirusna terapija jeste uticala na brzinu oporavka i stvaranje antitela u statističkoj obradi podataka nije pokazala značajnost. Pored napora, pokušaj pronalaska optimalne terapije analizom nekoliko različitih studija ostaje kontroverzan. U jednoj takvoj studiji, objavljenoj 2017. godine, autori nisu mogli da utvrde relevantne razlike između ishoda simptomatske i antivirusne terapije, ali ni sa sigurnošću da tvrde da one ne postoje, usled pristrasnih i podataka slabijeg kvaliteta u studijama koje su analizirali (16).

## Zaključak

Na osnovu naših rezultata primećujemo da jedan od najvećih izazova predstavlja edukacija stanovništva o benefitima vakcinacije i oblicima rizičnog ponašanja, odnosno prevencija. Uočavamo da još uvek postoji diskriminacija određenih grupa, što otežava komunikaciju sa pacijentom i sprovođenje mera prevencije. U pogledu kliničkog toka najveći broj pacijenata ima tipičnu kliničku formu infekcije. Naš utisak da antivirusna terapija jeste uticala na brzinu oporavka i stvaranje antitela u statističkoj obradi podataka nije pokazala značajnost.

## Literatura

1. Božić M. Infekcije jetre i žučnih puteva. In: Božić M, Dokić Lj, Nikolić S. editors. *Infektivne bolesti*, Beograd. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu-CIBID-Centar za izdavačku i bibliotečku i informacionu delatnost; 2013.p.191-211.
2. Kolou M, Katawa G, Salou M, Gozo-Akakpo KS, Dossim S, Kwarteng A, et al. High Prevalence of Hepatitis B Virus Infection in the Age Range of 20-39 Years Old Individuals in Lome. *Open Virol J* 2017;11:1-7.
3. Ozaras R, Inanc Balkan I, Yemisen M, Tabak F. Epidemiology of HBV subgenotypes D. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2015;39(1):28-37.
4. Zhang X, Jia M, Chen M, Luo H, Chen H, Luo W, et al. Prevalence and the associated risk factors of HIV, STIs and HBV among men who have sex with men in Kunming, China. *Int J STD AIDS*. 2017; 28(11):1115-1123.
5. van Houdt R, Bruisten SM, Speksnijder AG, Prins M. Unexpectedly high proportion of drug users and men having sex with men who develop chronic hepatitis B infection. *J Hepatol* 2012;57(3):529-33.
6. Miglietta A, Quinten C, Lopalco PL, Duffell E. Impact of hepatitis B vaccination on acute hepatitis B epidemiology in Europe Union/European Economic Area countries, 2006 to 2014. *Euro Surveill*. 2018; 23(6).
7. Karvonen T, Auranen K, Kuusi M, Leino T. Epidemiology of hepatitis B infection in Finland: Implications for immunization policy. *Vaccine* 2017; 35(3):412-418.
8. Hu YC, Yeh CC, Chen RY, Su CT, Wang WC, Bai CH, et al. Seroprevalence of hepatitis B virus in Taiwan 30 years after the commencement of the national vaccination program. *PeerJ*. 2018; 6:e4297.
9. Sharif O, Krishnan PV, Thekdi AD, Gordon SC. Acute hepatitis B in an urban tertiary care hospital in the United States: a cohort evaluation. *J Clin Gastroenterol*. 2013; 47(9):e87-90.
10. Chandekar SA, Amonkar GP, Desai HM, Valvi N, Puranik GV. Seroprevalence of transfusion transmitted infections in healthy blood donors: A 5-year Tertiary Care Hospital experience. *J Lab Physicians*. 2017; 9(4):283-287.
11. R Hussein N. Risk actors of hepatitis B infection among blood donors in Duhok city, Kurdistan Region, Iraq. *Caspian J Intern Med*. 2018; 9(1):22-26.
12. Anastasiou OE, Widera M, Verheyen J, Korth J, Gerken G, Helfritz FA et al. Clinical course and core variability in HBV infected patients without detectable anti-HBc antibodies. *J Clin Virol*. 2017; 93:46-52.
13. Du X, Liu Y, Ma L. Virological and serological features of acute hepatitis B in adults. *Medicine (Baltimore)*. 2017; 96(7).
14. Aragri M, Alteri C, Battisti A, Di Carlo D, Minichini C, Sagnelli C et al. Multiple Hepatitis B Virus (HBV) Quasispecies and Immune-Escape Mutations Are Present in HBV Surface Antigen and Reverse Transcriptase of Patients With Acute Hepatitis B. *J Infect Dis*. 2016; 213(12):1897-905.
15. Ito K, Yoneda M, Sakamoto K, Mizokami M. Virological and Clinical Characteristics of Hepatitis Virus Genotype A. *J Gastroenterol*. 2018; 53(1):18-26.
16. Mantzoukis K, Rodríguez-Perálvarez M, Buzzetti E, Thorburn D, Davidson BR, Tsochatzis E et al. Pharmacological interventions for acute hepatitis B infection: an attempted network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017; 3:CD011645.