



Terapia della Epatite Cronica B: aggiornamento 2015 delle raccomandazioni Italiane

Estensori: Maurizia R. Brunetto, *Pisa* - Raffaele Bruno, *Pavia* - Vito Di Marco, *Palermo*

Gloria Taliani, *Roma* - Giovanni B. Gaeta (Coordinatore) *Napoli*

Revisori: Giuseppina Brancaccio, *Napoli* - Francesca Ceccherini-Silberstein, *Roma* - Massimo Fasano, *Foggia*

Pietro Lampertico, *Milano* - Alfredo Marzano, *Torino* - Teresa Santantonio, *Foggia*

Valentina Svicher, *Roma* - Mauro Viganò, *Milano*

Documento pubblicato on line in data 21 Aprile 2016

Introduzione

Le raccomandazioni italiane per la diagnosi e la terapia dell'infezione da virus dell'epatite B (HBV) sono state pubblicate nel 2008 e successivamente aggiornate nel 2011 (1,2). Negli anni successivi il profilo dei pazienti con infezione cronica da HBV è profondamente mutato per l'aumentata prevalenza di soggetti giovani immigrati (4-7); inoltre, sono divenuti di largo uso nella pratica clinica i metodi non invasivi per la definizione dello stadio della malattia epatica nonché il dosaggio quantitativo di HBsAg plasmatico, quest'ultimo proposto in modelli di interruzione precoce della terapia con interferone peghilato (Peg-IFN). Nello stesso periodo, il follow-up di ampie coorti di pazienti in trattamento con analoghi nucleos(t)idici (entecavir o tenofovir) ha raggiunto una durata tra i quattro e gli otto anni, consentendo un approfondimento dei dati sui possibili eventi avversi e l'outcome clinico della terapia.

Questo scenario ha indotto l'Associazione Italiana per lo Studio del Fegato (AISF) e la Società Italiana di Malattie Infettive e Parassitarie (SIMIT) ad aggiornare le raccomandazioni prodotte nel 2011. Un gruppo di esperti indicati dal Comitato Coordinatore AISF e dal Consiglio Direttivo della SIMIT hanno rivisto la letteratura e gli abstract dei principali convegni internazionali, aggiornati al 31 dicembre 2015. Il manoscritto è stato rivisto da un panel indipendente di esperti e nuovamente inviato al gruppo degli estensori per l'editing. Il manoscritto finale è stato rivisto ed approvato dal panel di esperti e dalle Società Scientifiche. I livelli di evidenza e la forza delle raccomandazioni sono stati graduati usando gli score già adoperati nelle raccomandazioni precedenti e riportati nella Tabella 1.

I punti oggetto di revisione nel presente documento sono stati:

1. Il quadro epidemiologico dell'infezione da HBV in Italia;
2. La caratterizzazione del paziente HBsAg positivo;
3. L'utilizzo della biopsia epatica e dei metodi non invasivi per la valutazione dell'epatopatia HBV-correlata;
4. Le *stopping rules* in corso di trattamento con Peg-IFN;
5. L'*outcome* clinico dei pazienti trattati a lungo termine con analoghi;
6. Gli eventi avversi in corso di trattamento a lungo termine con analoghi.

Si è convenuto di pubblicare l'aggiornamento sui siti di AISF e SIMIT, per fornire uno strumento facilmente consultabile ed aggiornabile periodicamente.

Tabella 1. Forza delle raccomandazioni e livello di evidenza. Per una più immediata comparabilità con la versione precedente delle raccomandazioni italiane si è preferito lasciare la tabella in lingua originale

Category, grade	Definition
<i>Strength of recommendation</i>	
A	Good evidence to support a recommendation
B	Moderate evidence to support a recommendation
C	Poor evidence to support a recommendation
<i>Quality of evidence</i>	
I	Evidence from >1 properly randomized, controlled trial
II	Evidence from >1 well-designed clinical trial, without randomization; from cohort or case-controlled analytical studies; from multiple time-series, or from dramatic results from uncontrolled experiments
III	Evidence from opinions of respected authorities, based on clinical experience, descriptive studies, or reports of expert committees

1.1 Il quadro epidemiologico in Italia

Negli ultimi cinque anni il profilo epidemiologico dell'infezione cronica da HBV in Italia ha subito un rapido e profondo mutamento. I pazienti italiani presentano un'età in incremento come conseguenza dell'invecchiamento della coorte storica dei pazienti e della copertura vaccinale attualmente estesa ai soggetti tra 0 ad oltre 30 anni di età, mentre è in continua crescita la proporzione di pazienti immigrati. La Caritas Migrantes stima in circa 5 milioni il numero di migranti in Italia: il flusso proviene in prevalenza da aree ad elevata endemia per HBV (Europa dell'Est; Asia; Africa sub-Sahariana). Studi in comunità di migranti hanno mostrato una prevalenza di portatori del 7-8% e di soggetti non immuni intorno al 50% (5,6). Lo studio MASTER-B promosso da AISF mostra che circa un quarto dei 3,000 pazienti HBsAg positivi osservati in centri specialistici sono stranieri, di età intorno ai 35 anni, con prevalenza di HBeAg positività di circa il 20% (4). Il genotipo D, che si osserva in oltre il 90% dei pazienti italiani è presente solo nel 40% dei migranti (3). È stata segnalata un'elevata prevalenza di infezione da HIV in soggetti HBsAg positivi, in relazione all'area di origine (5). Si stima in 2-300,000 il numero dei soggetti HBsAg

positivi arrivati in Italia, che si sommano ai circa 5-600,000 portatori tra gli italiani, stimati considerando una prevalenza di 0.8-1.0%. Il rischio di contagio per la popolazione residente è marginale, limitato occasionali infezioni acute trasmesse prevalentemente per via sessuale in soggetti di età >30 anni (7).

2. Caratterizzazione del paziente con infezione da HBV

2.1 Tipizzazione virologica (HBeAg, anti-HBe, HBV DNA, HBsAg quantitativo, genotipo)

La caratterizzazione del profilo virologico nel portatore cronico HBsAg positivo è fondamentale per definire la fase di infezione, stimare il rischio di evoluzione e valutare l'indicazione al trattamento antivirale.

A tale scopo vengono determinati alcuni antigeni e l'acido nucleico del virus e la risposta immunologica umorale (anticorpi) del soggetto infettato: il profilo di tali marcatori risulta dall'equilibrio virus/ospite, varia nel corso dell'infezione e nel tempo nello stesso individuo. L'unico marcatore virale che descrive una caratteristica costitutiva del virus infettante è il genotipo (8).

Antigeni/anticorpi. La valutazione dei sistemi antigene/anticorpo, HBeAg/anti-HBe e HBsAg/anti-HBs, è in genere qualitativa: la perdita nel siero dell'antigene seguita dalla comparsa dell'omologo anticorpo identifica, usualmente, un passaggio di stato caratterizzato dall'acquisizione di un più elevato grado di controllo dell'infezione. Infatti, in assenza di selezione di quasispecie virali in grado di sfuggire al controllo immunologico (evento che si verifica quando si sviluppa l'epatite HBeAg negativa, anti-HBe positiva), la sierconversione HBeAg/anti-HBe identifica la transizione da infezione attiva ad infezione inattiva; la sierconversione HBsAg/anti-HBs da infezione conclamata a infezione occulta.

Nella pratica clinica la determinazione di HBeAg/anti-HBe permette di:

- identificare le fasi dell'infezione caratterizzate rispettivamente da elevata (HBeAg positiva) e bassa (anti-HBe positiva) replicazione. Tipicamente, l'infezione HBeAg positiva comprende la fase di tolleranza [alanina aminotransferasi (ALT) nella norma, viremia elevata, assenza di malattia epatica], e la fase immuno-attiva o di epatite (ALT elevate, viremia più o meno elevata, presenza di malattia epatica). L'infezione anti-HBe positiva è propria della fase di controllo immune, clinicamente identificabile con lo stato di portatore inattivo (ALT stabilmente nella norma, viremia <2,000 IU/mL, fibrosi lieve o assente), o della fase di epatite cronica, caratterizzata da malattia epatica di varia entità. Ciascuna fase ha una durata estremamente variabile.

- monitorare la risposta al trattamento antivirale, dal momento che la sieroconversione HBeAg/anti-HBe (assieme alla persistenza della viremia $<2,000$ IU/ml) è l'indicatore di risposta nel paziente con epatite HBeAg positiva. La sieroconversione HBsAg/anti-HBs resta l'obiettivo principale della terapia (8).

HBsAg quantitativo. La misura quantitativa dei livelli circolanti di HBsAg (possibile per la disponibilità di metodiche commerciali standardizzate) ha dimostrato come i livelli di HBsAg variano significativamente nelle diverse fasi dell'infezione, riducendosi progressivamente dalla fase di immunotolleranza alla fase di bassa replicazione virale; quanto più bassi sono i livelli di HBsAg, tanto maggiore è il controllo dell'infezione. Per un corretto utilizzo di questo marcatore occorre ricordare che i livelli di HBsAg, pur dipendendo prevalentemente dall'efficienza con cui il sistema immune controlla l'infezione, sono influenzati dal genotipo, dalla variabilità del gene preS/S e dalla possibile produzione da parte di HBV DNA integrato. Quindi, a livello del singolo paziente i dati devono essere sempre adeguatamente contestualizzati (9).

HBV-DNA. E' un marcatore diretto di infezione e replicazione virale, non di danno epatico HBV-indotto (l'HBV non è direttamente citopatico). Per tale ragione i livelli di HBV DNA non sono utili per distinguere, nel portatore HBeAg positivo, il soggetto immuno-tollerante dal paziente con epatite cronica. Al contrario, nel portatore anti-HBe positivo nel quale è sicuramente presente una risposta immune specifica, la persistenza di livelli significativi di replicazione (HBV DNA $>2,000$ IU/ml) è indicatore della persistenza di danno HBV-indotto e permette quindi di distinguere l'infezione in fase attiva (associata a epatite) da quella in fase inattiva (senza danno epatico attivo).

Nel corso del trattamento antivirale, in particolare con analoghi nucleos(t)idici, la caduta dei livelli di HBV DNA al di sotto della soglia di sensibilità delle metodiche di PCR non permette di distinguere i soggetti che hanno raggiunto un efficace controllo immune dell'infezione da coloro che mantengono bassi livelli viremici grazie alla soppressione farmacologica. Per tale ragione il monitoraggio della viremia non permette di definire quando sospendere la terapia con analoghi nucleos(t)idici.

Genotipo. Ad oggi sono stati identificati 10 genotipi di HBV (A-J) che presentano una specifica distribuzione geografica: nella popolazione di origine italiana il genotipo prevalente (oltre 85%) è il genotipo D, mentre il genotipo A rende conto dei restanti casi. Negli ultimi anni in Italia hanno iniziato a diffondersi altri genotipi (B,C, E, F) come conseguenza dei flussi migratori. Il genotipo influenza la storia naturale dell'infezione, il rischio oncologico e la probabilità di risposta alla terapia con IFN (più elevata nei genotipi A e B rispetto ai genotipi C e D) (10-14).

Attualmente esistono solide motivazioni per la determinazione del genotipo in alcune categorie di pazienti:

1. nei portatori non italiani o in quei soggetti nei quali si ipotizza un contagio che potrebbe aver determinato un'infezione non sostenuta da genotipo D (contagio sessuale);
2. nel caso si consideri il trattamento con Peg-IFN, in quanto il genotipo condiziona le probabilità di risposta al trattamento e le *stopping rules* variano in relazione al genotipo;
3. Il rischio di epatocarcinoma correla con il genotipo di HBV in casistiche asiatiche: la presenza di una condizione di rischio può contribuire alla scelta di una terapia antivirale precoce.

Raccomandazioni

La caratterizzazione virologica dei portatori cronici di HBsAg definisce la fase della infezione, e contribuisce a definire il rischio evolutivo e la necessità di terapia (A1).

I test indispensabili sono: HBeAg, anti-HBe, HBV DNA (A1); la determinazione quantitativa di HBsAg può coadiuvare alla caratterizzazione del paziente, in particolare all'individuazione del portatore inattivo (B2).

La determinazione del genotipo di HBV è raccomandata in particolare nei pazienti non italiani; in coloro che hanno acquisito di recente una infezione da HBV per via sessuale; nei pazienti eleggibili alla terapia con Peg-IFN (A II).

2.2 Ruolo della biopsia epatica

Nella gestione dei pazienti con epatite cronica B, la valutazione della fibrosi epatica e del grado di necro-infiammazione sono di fondamentale importanza nell'identificare i soggetti a maggior rischio evolutivo e per formulare l'indicazione terapeutica. La biopsia epatica non è necessaria nei pazienti con evidenza clinica di cirrosi (8)

Ad oggi, la biopsia epatica è il miglior standard per la valutazione della fibrosi e della necro-infiammazione; la possibilità di errore di campionamento è fortemente influenzata dalla inadeguatezza del campione (15). La biopsia è generalmente accettata come una procedura sicura, tuttavia è pur sempre una procedura invasiva che può causare disagio e non essere accettata dal paziente. Non è razionale l'uso della biopsia epatica nel monitoraggio dei pazienti sottoposti a terapia antivirale a causa dei suoi limiti e della natura invasiva della stessa.

Recentemente, sono stati introdotti metodi non invasivi per valutare la gravità della malattia epatica. Questi test non possono sostituire completamente la biopsia epatica e devono essere usati come strumento complementare nella gestione dei pazienti con epatite cronica B. Tra questi l'elastografia transiente è stato il metodo maggiormente studiato. Nella infezione cronica da HBV,

questa metodica raggiunge la maggiore accuratezza diagnostica nell'escludere la presenza di malattia epatica significativa in presenza di valori di stiffness < 6.5 kPa. Valori più elevati di tale soglia possono rispecchiare l'entità della fibrosi e della necro-infiammazione e correlano con i livelli di ALT (16-20). Pertanto, in un approccio integrato tra elastografia transiente e biopsia epatica è ragionevole valutare l'esecuzione della biopsia nei pazienti con valori di stiffness > 6.5 kPa e senza chiara evidenza di cirrosi. Per contro, valori di stiffness < 6.5 kPa concorrono insieme ai parametri virologici e clinici all'individuazione dei pazienti che non richiedono terapia (21,22).

Esistono, infine, altre metodiche che servono a misurare la "rigidità" del fegato, come la ARFI e la MR elastography, il cui ruolo nella pratica clinica rimane ancora da definire (21), nonché score biochimici predittori di fibrosi come l'APRI score o il FIB-4, che utilizzano parametri abitualmente determinati nella pratica clinica, e il Fibro-Test che richiede la determinazione di parametri di non abituale uso clinico.

I test non invasivi sono di potenziale interesse nel monitoraggio dei pazienti, sia in trattamento antivirale (23) che non trattati per assenza di malattia significativa. Tuttavia non è chiarito quali siano i test più appropriati a questo scopo e quali debbano essere gli intervalli temporali della loro esecuzione.

Raccomandazioni

L'esame istologico del fegato è la metodica di riferimento per la valutazione della fibrosi e della necro-infiammazione (A1). L'uso di metodiche non invasive, in particolare la misura della stiffness del fegato, concorre ad individuare i pazienti con malattia epatica lieve o assente (B2), o a individuare una fascia intermedia che richiede l'esecuzione della biopsia epatica.

La biopsia non è indicata in presenza di cirrosi clinicamente conclamata (A2).

La valutazione della stiffness o di altri test non invasivi può essere utile nel monitoraggio dei pazienti (B3).

3. La terapia antivirale nell'epatite da virus B (HBV)

3.1 Obiettivi della terapia

La finalità del trattamento è ridurre la mortalità e la morbilità associate all'infezione da HBV (8). Tale obiettivo viene raggiunto principalmente con la guarigione della malattia epatica raggiunta grazie al controllo della replicazione virale. Quest'ultimo può essere ottenuto mediante lo sviluppo di un attivo controllo immune a seguito del trattamento antivirale o per la continua soppressione farmacologica. Pertanto, gli indicatori di efficacia del trattamento sono:

- la soppressione della replicazione virale;

- la normalizzazione dei valori delle transaminasi;
- la riduzione della necro-infiammazione e la regressione della fibrosi epatica;
- la perdita dell'HBsAg con la sieroconversione anti-HBs che viene definita come cura dell'infezione.

Strategie della terapia antivirale

Attualmente si possono utilizzare 2 strategie:

- il controllo immuno-mediato dell'infezione da HBV ottenuto mediante la terapia con Peg-IFN somministrato per 48-96 settimane;
- la soppressione della replicazione virale con i farmaci analoghi nucleotidici o nucleosidici somministrati per lungo termine.

3.2 Scelta del trattamento

Trattamento con Peg-IFN

Il trattamento con Peg-IFN è indicato nei pazienti HBeAg positivi o HBeAg negativi con fibrosi epatica moderata/grave o quadro istologico di cirrosi e ha l'obiettivo primario di ottenere una risposta virologica sostenuta definita negli studi registrativi come livelli sierici di HBV-DNA inferiori a 2,000 IU/mL e transaminasi nella norma, confermati almeno 12 mesi dopo la sospensione della terapia.

Epatite cronica HBeAg positiva

Nei pazienti con epatite cronica HBeAg positiva l'obiettivo principale della terapia con Peg-IFN è la sieroconversione anti-HBe associata al raggiungimento di livelli sierici di HBV DNA <2,000 IU/mL e alla normalizzazione dei valori delle transaminasi. Il trattamento con Peg-IFN-2a per 48 settimane induce la sieroconversione anti-HBe nel 30% circa dei pazienti, mentre nel 3-7% dei pazienti si ottiene la perdita dell'HBsAg (24-26).

I fattori associati a una più alta probabilità di ottenere la sieroconversione anti-HBe e la perdita dell'HBsAg (27) sono:

- i livelli sierici di HBV-DNA < 10⁸ IU/mL,
- i valori di ALT superiori a 2-5 volte la norma,
- una severa attività necro-infiammatoria all'esame istologico,
- l'infezione con i genotipi A e B.

Nei pazienti che rispondono al trattamento con Peg-IFN presentano una elevata probabilità di perdita di HBsAg nel corso del follow-up post-terapia (28-31).

La quantificazione di HBsAg al basale e la coesistenza di più fattori predittivi positivi potrebbe permettere di identificare un sottogruppo ad elevata probabilità di risposta alla terapia con Peg-IFN (32). Questi dati sono in attesa di validazione.

Epatite cronica HBeAg negativa

Il Peg-IFN alfa-2a somministrato per 48 settimane determina una risposta sostenuta (livelli sierici di HBV-DNA <2,000 IU/mL e ALT nella norma sei mesi dopo la sospensione della terapia) nel 20% circa dei pazienti con epatite cronica HBeAg negativa e la perdita di HBsAg nel 3% circa di questi (33). Uno studio randomizzato ha comparato l'efficacia di un trattamento per 48 settimane verso un trattamento per 96 settimane nei pazienti con epatite cronica HBeAg negativa infettati con genotipo D (34). Ottenevano una risposta virologica il 12% dei pazienti che ricevevano il trattamento per 48 settimane e il 28% dei pazienti che ricevevano il trattamento per 96 settimane, mentre la perdita dell'HBsAg era osservata nel 6% circa dei pazienti che ricevevano 96 settimane di terapia e in nessuno dei pazienti che ricevevano 48 settimane di terapia.

Nei pazienti con epatite cronica HBeAg negativa che ottengono una risposta virologica sostenuta la perdita di HBsAg si incrementa fino al 9% dopo 3 anni di follow-up e fino al 12% dopo 5 anni di follow-up (35,36).

I fattori al basale predittivi positivi di risposta non sono ben definiti per l'epatite cronica HBeAg-negativa. E' stato proposto uno score comprendente HBsAg quantitativo, genotipo di HBV, HBV DNA, ALT ed età. Questi dati sono in attesa di validazione.

Le *stopping rules* durante la terapia con Peg-IFN

Per massimizzare l'efficacia della terapia e per interrompere precocemente il trattamento nei pazienti che hanno una bassa probabilità di ottenere il controllo immuno-mediato dell'infezione, è possibile utilizzare il genotipo di HBV, il test quantitativo dell'HBsAg e i livelli sierici di HBV DNA, che combinati possono predire l'efficacia finale del trattamento. C'è da segnalare che le mutazioni del gene preS/S possono condizionare la correlazione tra la concentrazione nel siero di HBsAg e i livelli di HBV DNA. Infatti, non è stata trovata una diretta correlazione tra i livelli sierici di HBsAg e di HBV DNA nei pazienti infettati con virus che hanno mutazioni preS/S, mentre una significativa correlazione è stata documentata tra i livelli di HBsAg e HBV DNA nei pazienti infettati con virus wild-type (38).

Epatite cronica HBeAg positiva

Nei pazienti con epatite cronica HBeAg positiva inclusi nei trial registrativi di efficacia del Peg-IFN (24-26) è stata eseguita una analisi post-hoc che valutava il declino dei livelli di HBsAg sierico alla 12° e alla 24° settimana di terapia e il valore predittivo positivo e negativo di questo evento sulla risposta virologica finale (39). Nell'analisi erano inclusi 899 pazienti con genotipi A,B,C o D, che avevano una misurazione quantitativa dell'HBsAg all'inizio, dopo 12 e a 24 settimane di terapia e avevano un follow-up di almeno sei mesi dopo la sospensione del trattamento necessario per valutare la risposta virologica definita come perdita dell'HBeAg e valori sierici di HBV-DNA <2,000 IU/mL. Un modello decisionale che utilizza i livelli di HBsAg <1,500 IU/mL e >20,000 IU/mL può identificare i pazienti che hanno, rispettivamente, alta o bassa probabilità di ottenere una risposta virologica. I pazienti che alla 12° settimana di terapia avevano livelli sierici di HBsAg <1,500 IU/mL avevano una probabilità del 45% di ottenere una risposta virologica. Al contrario il 14% dei pazienti che non mostravano un declino dei livelli sierici di HBsAg solo il 6% dei pazienti che alla 12° settimana avevano valori di HBsAg >20,000 IU/mL ottenevano una risposta virologica. Questi risultati sono però condizionati dal genotipo virale, perché nei pazienti con genotipo A o D che non mostravano un declino dei livelli sierici di HBsAg il valore predittivo negativo (NPV) era del 97%-100% mentre era del 92%-98% nei pazienti con genotipo B o C. Se invece si usano i livelli sierici di HBsAg della 24° settimana di terapia per stabilire una *stopping rule*, il valore predittivo negativo per la risposta virologica era del 99%-100% in caso di valori di HBsAg >20,000 IU/mL.

Epatite cronica HBeAg negativa

Nei pazienti con epatite cronica HBeAg-negativa, specialmente se infettati con genotipo D, l'efficacia finale del trattamento può essere predetta dalla cinetica dei livelli dell' HBsAg e di HBV DNA durante le prime 12 settimane di trattamento.

Il declino dei livelli sierici di HBsAg e dell'HBV-DNA alla 12° settimana di trattamento possono essere utilizzati per definire una *stopping rule* e interrompere il trattamento nei pazienti che hanno una bassa probabilità di ottenere una risposta virologica sostenuta (40). Nei 2 studi analizzati la risposta virologica definita come la normalizzazione dei valori delle transaminasi e livelli sierici di HBV-DNA <2,000 IU/mL dopo 24 settimane dalla fine della terapia variava tra il 25% e il 36%. Qualsiasi declino dei livelli sierici di HBsAg e una riduzione dei livelli sierici di HBV-DNA >2 log alla 12° settimana venivano considerati per stratificare i pazienti e utilizzati per predire la risposta virologica sostenuta. Il valore predittivo negativo della *stopping rule* era superiore al 95% in tutti i genotipi e la miglior performance si otteneva nei pazienti con genotipo D dove raggiungeva il 100%. Anche nel gruppo di pazienti trattati per 96 settimane l'assenza del declino dei livelli sierici di HBsAg e dell'HBV-DNA ottiene un valore predittivo negativo del 100%.

Tabella 2.

Stopping rules della terapia con Peg-IFN basate sui livelli plasmatici di HBsAg e HBV DNA. Il valore predittivo negativo è 95-100%.

	Epatite HBeAg positiva	Epatite HBeAg negativa
Settimana 12	Nessuna riduzione di HBsAg (genotipi A,D) HBsAg > 20,000 IU/mL (genotipi A,B,C,D)	Nessuna riduzione di HBsAg + declino di HBV DNA < 2log
Settimana 24	HBsAg > 20,000 /mL	

Raccomandazioni

Nei pazienti trattati Peg-IFN è raccomandato il monitoraggio della risposta terapeutica basato sul declino di HBV DNA e HBsAg alle settimane 12 o 24 di trattamento (A2).

4. Trattamento con analoghi: solo entecavir e tenofovir indicati

Il trattamento con farmaci analoghi nucleosidici o nucleotidici è indicato:

- nei pazienti **HBeAg positivi** con una fibrosi moderata o severa, che hanno fallito la sierconversione dopo un ciclo di Peg-IFN o che alla diagnosi non presentano l'indicazione al trattamento con Peg-IFN;
- nei pazienti **HBeAg negativi** con una fibrosi moderata o severa che sono stati già trattati con Peg-IFN senza successo o che alla diagnosi non hanno indicazione al trattamento con Peg-IFN;
- nei pazienti **HBeAg positivi o HBeAg negativi** che per motivi familiari, lavorativi o sociali non sono in grado di praticare o non accettano la terapia con Peg-IFN;
- nei pazienti **HBeAg positivi o HBeAg negativi** con cirrosi compensata o scompensata a prescindere dalla probabilità di sierconversione, dei livelli sierici di HBV DNA e dei valori di ALT.

La scelta del farmaco si basa sulle evidenze scientifiche (trial controllati, studi di coorte) che documentano:

- la potenza dei farmaci, in grado di indurre una risposta virologica fino a livelli sierici di HBV DNA non rilevabili con un test real-time PCR;
- la barriera genetica che evita l'insorgenza di mutazioni virali durante un trattamento a lungo termine;

- la tollerabilità dei farmaci e la probabilità di indurre eventi avversi o danni d'organo;
- la capacità di un trattamento di lunga durata, con farmaci dalle caratteristiche elencate, di evitare la progressione della fibrosi epatica, di determinare una regressione della fibrosi o la reversione della cirrosi o di ridurre il rischio delle complicanze della cirrosi (scompenso, carcinoma epatocellulare, morte);
- il profilo costo/beneficio.

Oggi, non è più appropriata la terapia con lamivudina, telbivudina o adefovir, che pur avendo una buona potenza virologica e un buon profilo di tollerabilità nel caso di lamivudina e telbivudina, hanno tutti una bassa barriera genetica con una probabilità di indurre mutazioni virologiche che supera il 60% dopo 5 anni per la lamivudina (41), varia tra il 10% e il 25% dopo 2 anni per la telbivudina (42) e raggiunge il 29% dopo 5 anni per l'adefovir (43). Inoltre, il profilo costo/beneficio, almeno per telbivudina e adefovir, non è favorevole. Solo entecavir e tenofovir hanno un profilo terapeutico che risponde ai criteri di massima efficacia e tollerabilità.

4.1 Risposta virologica

Entecavir somministrato fino a 6 anni determina una soppressione virologica (livelli di HBV DNA inferiori a 15 UI/ml) nel 96% dei pazienti HBeAg positivi e del 100% nei pazienti HBeAg negativi, indipendentemente dalla cinetica iniziale di decremento di HBV DNA. Nei pazienti HBeAg positivi la probabilità di sieroconversione ad anti-HBe varia tra il 30% e il 40% (44-46).

Tenofovir, somministrato fino ad 8 anni, determina la soppressione dell'HBV DNA nel 98% dei pazienti con alti (> 9 log) livelli iniziali di HBV DNA e nel 100% dei pazienti con bassi livelli iniziali di HBV DNA, siano essi HBeAg positivi o HBeAg negativi. La sieroconversione ad anti-HBe è riportata a 5 anni nel 38% dei pazienti HBeAg positivi con alti livelli iniziali di HBV-DNA e nel 48% dei pazienti HBeAg positivi con bassi livelli iniziali di HBV DNA. Anche i pazienti con HBV DNA rilevabile alla 48° settimana ottengono una risposta virologica completa dopo 5 o 6 anni di monoterapia con tenofovir (47).

4.2 Resistenza virologica

Il rischio di *breakthrough* virologico con emergenza di resistenza è dell'1% dopo 5 anni di monoterapia con entecavir; l'emergenza delle mutazioni virologiche non è correlata ai livelli iniziali di HBV DNA o al tempo della risposta virologica (44). Non sono riportate resistenze dopo 8 anni di monoterapia con tenofovir (47).

4.3 Tollerabilità ed eventi avversi

La somministrazione a lungo termine di entecavir o di tenofovir non determina disturbi o effetti collaterali significativi. I disturbi più frequentemente riportati nei trial regolatori di entecavir sono stati la cefalea, l'astenia e la nausea. Nell' ETV-901 *roll-over study*, che riporta i dati di 1,051 pazienti arruolati in 10 studi di fase II/III trattati con entecavir per almeno 5 anni, solo il 19% degli eventi avversi registrati erano di grado 3-4 e i più comuni tra questi erano le mialgie, le ipo- o iperestemie. Tra le alterazioni degli esami biochimici con una frequenza inferiore all'1% sono stati segnalati l'incremento della lipasi, della creatinina, della creatinofosfochinasi, del lattato sierico e la ipofosfatemia. Meno dell'1% dei pazienti hanno sospeso la terapia con entecavir per eventi avversi (48,49). L'analisi di oltre 4,000 pazienti inclusi negli studi di coorte di *real life* conferma la bassa frequenza e la tipologia degli eventi avversi nei pazienti con malattia non avanzata o scompensata. (50). Nei pazienti con cirrosi epatica scompensata e funzione epatica molto compromessa [Model for End-stage Liver Disease (MELD) score >20] in trattamento con entecavir è stata descritta la possibilità di sviluppo di acidosi lattica (51), ma la buona tollerabilità di entecavir nei pazienti con cirrosi epatica scompensata è stata confermata in uno studio aperto di confronto con adefovir (52).

Negli studi di fase III di tenofovir gli eventi avversi lievi più frequentemente osservati sono stati la cefalea, la nausea e l'astenia. La nefrotossicità nei pazienti trattati a lungo termine con tenofovir è un potenziale evento avverso rilevato sui dati di osservazione post-marketing dei pazienti con infezione da HIV trattati con tenofovir nell'ambito della terapia antiretrovirale. Il problema sembra meno rilevante nei pazienti con mono-infezione da HBV trattati a lungo termine (53,54). I risultati di trattamento per 6 anni riportano che meno del 2% dei pazienti interrompeva il trattamento per eventi avversi e meno dell'1.5% dei pazienti mostrava un danno renale documentato da un incremento di creatinina ≥ 0.5 mg/dL rispetto all'inizio del trattamento, una riduzione della fosfatemia a livelli < 2 mg/dL o una clearance della creatinina < 50 mL/min (55). L'uso di tenofovir è stato anche associato ad una riduzione della densità minerale ossea nei pazienti HIV positivi trattati per lungo termine, ma nei pazienti HBV mono-infetti la densità minerale ossea del femore e delle vertebre lombari rimane stabile per i primi 4-6 anni di trattamento (54). I dati raccolti nella coorte Europea trattata con tenofovir confermano i dati di tollerabilità registrati negli studi di fase III (55). Alcuni dati suggeriscono che la riduzione della densità minerale ossea potrebbe essere dovuta ad un deficit di vitamina D, piuttosto che al trattamento con tenofovir (56).

4.4 Progressione della malattia epatica

Diversi studi clinici indicano che una prolungata e adeguata soppressione dell'HBV DNA può prevenire la progressione della fibrosi e ridurre il rischio di scompenso della cirrosi. La regressione della fibrosi e anche la reversione della cirrosi sono stati documentati in coorti di pazienti trattati con entecavir o con tenofovir con una prolungata soppressione della replicazione virale (57,58). Nei pazienti con cirrosi la soppressione virologica ottenuta con entecavir o tenofovir riduce il rischio di progressione della malattia e dello scompenso (59), determina una regressione dell'ipertensione portale e delle varici esofagee (60), mentre persiste il rischio di sviluppare un carcinoma epatico, particolarmente nei pazienti con cirrosi (61,62).

4.5 Costo/beneficio della terapia

Diverse *review* sistematiche mostrano delle valide evidenze che suggeriscono che il trattamento con entecavir o con tenofovir dei pazienti con epatite cronica da HBV (sia HBeAg positivi che HBeAg negativi) ha un vantaggio in termini di costo/beneficio. Nei sistemi sanitari che hanno a disposizione entrambi i farmaci, il tenofovir appare essere dominante nella valutazione costo/beneficio (63-66).

Raccomandazione

Entecavir o tenofovir sono gli unici antivirali raccomandati per la terapia della epatite cronica B (A1).

5. Switch dei pazienti ancora in trattamento con adefovir

L'adefovir dipivoxil, pro-farmaco di adefovir, analogo nucleotidico dell' adenosina monofosfato è efficace nella soppressione virologica dei pazienti con epatite cronica da HBV naïve o con resistenza alla lamivudina. Gli studi di fase III avevano documentato la sierconversione nel 48% dei pazienti HBeAg positivi dopo 5 anni di terapia, mentre solo il 53% dei pazienti con epatite cronica HBeAg negativa otteneva una adeguata soppressione virologica dopo 5 anni di terapia (67,68). La probabilità cumulativa di sviluppare una resistenza incrementava dal 3% al 2° anno di terapia fino al 29% al 5° anno di trattamento nei pazienti HBeAg negativi, e arrivava al 20% dopo 5 anni di trattamento nei pazienti HBeAg positivi.

Adefovir è stato utilizzato in passato, con successo, per il trattamento di *rescue* dei pazienti che avevano sviluppato resistenza alla lamivudina, per lo più mediante una strategia di *add-on*, e alcuni pazienti seguono tuttora tale terapia di combinazione. Adefovir utilizzato alla dose standard di 10 mg/die ha mostrato un basso profilo di tollerabilità renale, essendo in grado di indurre danno tubulare o glomerulare. Lo *switch* a monoterapia con tenofovir ha mostrato efficacia elevata sia nei

pazienti in soppressione virologica sia nei pazienti con soppressione assente o incompleta; in questi ultimi la risposta al tenofovir era più lenta se confrontata con quella dei pazienti naïve, tuttavia non è segnalato il rischio di insorgenza di resistenze (69-72). La tossicità renale di tenofovir è nel complesso inferiore a quella segnalata per adefovir; tuttavia in una serie di 320 pazienti in terapia con vari analoghi nucleos(t)idici (86% con lamivudina+adefovir) passati a monoterapia con tenofovir, a 5 anni il 33% dei pazienti doveva ridurre la dose di tenofovir o sospendere il trattamento per tossicità renale, sulla base dei valori di eGFR o di fosforemia/fosfaturia. La risposta virologica era del 100% (73). Sulla scorta di questi dati è stato suggerito un adeguamento precoce del dosaggio di tenofovir nei pazienti con progressivo deterioramento della funzione renale, senza attendere il raggiungimento della soglia di eGFR 50 mL/min (74).

Raccomandazioni

Il trattamento con adefovir dei pazienti con infezione cronica da HBV non è indicato (A2).

Nei pazienti ancora in terapia con adefovir (in mono-terapia o in combinazione) è raccomandato lo switch a tenofovir in mono-terapia (A3); i pazienti vanno sottoposti ad un attento monitoraggio della funzione renale e, in caso di deterioramento, ad un pronto adeguamento del dosaggio di tenofovir (A2).

6. Sospensione del trattamento con analoghi

6.1 Pazienti HBeAg positivi

La sospensione del trattamento è stata proposta dopo la sierconversione ad anti-HBe ed un ulteriore periodo di “terapia di consolidamento” di almeno 12 mesi; alcune raccomandazioni aggiungono quale criterio per la sospensione anche il raggiungimento e la persistenza di HBV DNA plasmatico non rilevabile (75,76). L’età più giovane alla sierconversione è associata al mantenimento della risposta. Nonostante l’applicazione di criteri stringenti, una recidiva (definita come retroversione ad HBeAg) si verifica nel 20-50% dei casi (77-79). La sospensione del trattamento nei pazienti con cirrosi è consigliata solo nei casi che presentino clearance di HBsAg e comparsa di anti-HBs; non vi sono indicazioni se occorra raggiungere una soglia di titolo di anti-HBs; tuttavia la perdita di HBsAg viene mantenuta nel tempo (80).

Raccomandazioni

La sospensione della terapia dopo sierconversione ad anti-HBe e non rilevabilità di HBV DNA comporta il rischio di recidiva; pertanto è sconsigliata nei pazienti con cirrosi, per il rischio di flare e scompenso della malattia (A II). Solo la clearance di HBsAg e la comparsa di anti-HBs consentono la sospensione del NUC in presenza di cirrosi (A II).

6.2 Pazienti anti-HBe positivi

Alcuni lavori dimostrano che in una proporzione di pazienti con soppressione virologica stabile è possibile sospendere il trattamento con analoghi nucleos(t)idici ed ottenere il controllo dell'infezione, fino alla perdita dell'HBsAg. Il trattamento è stato sospeso in una coorte di 33 pazienti con stabile risposta virologica in corso di trattamento con adefovirda 4 o 5 anni. Durante il successivo *follow-up* di sei anni, 18 pazienti hanno mantenuto la risposta virologica e 11 sono diventati HBsAg negativi (81). Alcuni studi e una *review* sistematica (82-85), hanno confermato la possibilità di mantenimento della risposta virologica post-sospensione in un sottogruppo di pazienti. Tuttavia nessuno studio ha identificato fattori predittivi stringenti. Solo dopo sierconversione ad anti-HBs la sospensione è da considerarsi sicura (80).

Raccomandazioni

Allo stato attuale, la sospensione del trattamento con analoghi nucleos(t)idici nei pazienti anti-HBe positivi è sconsigliata nella pratica clinica (A II). Il trattamento può essere sospeso con sicurezza solo dopo clearance di HBsAg e comparsa di anti-HBs.

1. Combinazione di analoghi nucleos(t)idici e Peg-IFN

La combinazione di analoghi nucleos(t)idici e Peg-IFN presenta un razionale stringente, trattandosi di farmaci con differente meccanismo di azione e finalità terapeutica. Sono stati tentati diversi approcci. Nello studio ARES (86), 175 pazienti HBeAg positivi, inizialmente trattati con entecavir per 24 settimane, venivano randomizzati a ricevere un *add-on* di Peg-IFN o a continuare entecavir. Lo studio mostra un vantaggio del braccio *add-on* in termini di scomparsa di HBeAg e riduzione dei livelli di HBsAg, tuttavia non raggiunge l'end-point primario della perdita di HBeAg e HBV DNA <200 UI/mL. Lo studio HERMES (87), tuttora in corso, ha arruolato 70 pazienti HBeAg negativi, genotipo D, in stabile soppressione con trattamento con analoghi e con HBsAg >100 IU/mL. *Add-on* di Peg-IFN veniva effettuato in tutti i pazienti, avendo come *end-point* primario il declino di HBsAg; le analisi prodotte alla settimana 48 mostrano un significativo declino di HBsAg, indipendentemente dalla concentrazione al basale. Lo studio di Marcellin *et al.* (88) ha valutato l'associazione *ab initio* di tenofovir e Peg-IFN verso le rispettive mono-terapie in una popolazione di 740 pazienti HBeAg positivi o negativi e differente genotipo; end-point primario era la scomparsa di HBsAg. Il trattamento combinato per 48 settimane mostra un vantaggio in termini di scomparsa di HBsAg, tuttavia la risposta non è mantenuta in tutti i pazienti ed è dipendente dal genotipo virale.

Raccomandazione

Allo stato attuale, non vi è indicazione per l'uso della combinazione Peg-IFN + NUCs nella pratica clinica.

2. Monitoraggio del danno renale/osseo

I maggiori fattori di rischio noti per patologia renale sono: ipertensione arteriosa, diabete, patologia cardiovascolare, familiarità, utilizzo di farmaci nefrotossici, etnia africana, età avanzata. La funzione glomerulare viene valutata mediante formule che includono i seguenti parametri: il livello di creatinina sierica, l'età, il sesso, l'etnia e misure antropometriche. Le principali sono: Cockcroft e Gault, la Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) e la Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKDEPI) che è da ritenersi la più attendibile quando la misurazione della creatininemia è effettuata con metodo enzimatico o con standardizzazione verso calibratore tracciabile IDMS in quanto le prime due formule sovrastimano o sottostimano il filtrato glomerulare, rispettivamente (89,90). La presenza di proteinuria all'esame delle urine *spot*, in cui l'albumina non sia la principale proteina urinaria, è evidenziata da alterazioni del rapporto proteine/creatinina che è indice di danno tubulare. La presenza di albumina nelle urine è un indice di danno glomerulare, e il rapporto albumina/creatinina permette di evidenziare una patologia del glomerulo.

I fattori di rischio classici per osteoporosi comprendono: ipogonadismo, ipertiroidismo, familiarità per fratture di femore, Body Mass Index <19 kg/m², ipovitaminosi D, fumo, sedentarietà/immobilizzazione protratta, pregresse fratture da trauma minimo, età avanzata, razza caucasica, sesso femminile, menopausa e/o amenorrea, assunzione abitudinaria di alcol, utilizzo di steroidi (5 mg/die prednisone o equivalenti) per via sistemica per >3 mesi (91-92). In tutti i pazienti si devono valutare livelli plasmatici della 25-OH vitamina D, preferenzialmente in inverno e in primavera. In tutti i pazienti di età >65 anni è indicato stimare il rischio di frattura a 10 anni utilizzando l'algoritmo FRAX® (www.shef.ac.uk/FRAX). La DXA è il golden-standard per lo studio della densità minerale ossea. Si utilizza lo Z-score per le donne in premenopausa e gli uomini <50 anni d'età. Risulta indispensabile correggere l'eventuale ipovitaminosi D se il valore riscontrato è inferiore a 75 nmol/l o a 30 ng/ml (93,94). La supplementazione dell'ipovitaminosi D si effettua con colecalciferolo *per os* con 300,000 UI ciascuno, preferenzialmente in inverno o in primavera, seguiti da una dose di mantenimento di colecalciferolo *per os* pari a 7,000 UI ogni sette giorni. Durante il *follow-up*, controllare i livelli di 25-OH vitamina D dopo 6 mesi dalla supplementazione per verificare il raggiungimento dei livelli ottimali (94).

Nel caso di concentrazioni di fosfato sierico <1.5 mg/dl (0.48 mmol/l) o *clearance* della creatinina diminuita a <50 ml/min in ciascun paziente che assume tenofovir, la funzione renale deve essere riesaminata entro una settimana, includendo la misurazione delle concentrazioni di

glucosio e potassio ematico e di glucosio nelle urine. Va considerata anche la possibilità di interrompere la terapia con tenofovir nei pazienti che presentano *clearance* della creatinina diminuita a <50 ml/min o una diminuzione del fosfato sierico a < 1.0 mg/dl (0.32 mmol/l) (95).

Bibliografia

1. Carosi G, Rizzetto M. Treatment of chronic hepatitis B: recommendation from an Italian workshop. *Dig Liver Dis* 2008; 40:603-17.
2. Carosi G, Rizzetto M, Alberti A, et al. Treatment of chronic hepatitis B: update of the recommendation from the 2007 Italian workshop. *Dig Live Dis* 2011;43:259-265.
3. Fasano M, Saracino A, Carosi G, et al. Hepatitis B and immigrants: a SIMIT multicenter cross-sectional study. *Infection*. 2013; 41:53-9.
4. Brancaccio G. on Behalf of the MASTER-B study group. The evolving clinical profile of chronic HBV infection. *Hepatology* 2013; 58:abs 903.
5. Stornaiuolo G, Cuniato V, Cuomo G, et al. Active recruitment strategy in disadvantaged immigrant populations improves the identification of human immunodeficiency but not of hepatitis B or C virus infections. *Dig Liver Dis*. 2014; 46:62-6.
6. El-Hamad I, Pezzoli MC, Chiari E, et al. Point-of-Care Screening, Prevalence, and Risk Factors for Hepatitis B Infection Among 3,728 Mainly Undocumented Migrants From Non-EU Countries in Northern Italy. *J Travel Med*. 2015;22:78-86
7. Mele A, Tosti ME, Mariano A, et al. Acute hepatitis B 14 years after the implementation of universal vaccination in Italy: areas of improvement and emerging challenges. *Clin Infect Dis*. 2008 15; 46:868-75
8. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2012; 57 : 167–185
9. Brouwer WP, Chan HL, Brunetto MR et al. Repeated Measurements of Hepatitis B Surface Antigen Identify Carriers of Inactive HBV During Long-Term Follow-up. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2016; [Epub ahead of print]
10. Liu CJ, Kao JH. Global perspective on the natural history of chronic hepatitis B: role of hepatitis B virus genotypes A to J. *Semin Liver Dis*. 2013; 33:97-102.
11. Lin CL, Kao JH. The clinical implications of hepatitis B virus genotype:Recent advances. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011; 26 Suppl 1:123-30.
12. Liaw YF, Brunetto MR, Hadziyannis S. The natural history of chronic HBV infection and geographical differences. *Antivir Ther*. 2010;15 Suppl 3:25-33.
13. Zuccaro O, Romanò L, Mele A, et al. Clinical, epidemiological and virological features of acute hepatitis B in Italy. *Infection* 2015; 43:431-41
14. Kim GA, Lee HC, Kim MJ, et al. Incidence of hepatocellular carcinoma after HBsAg seroclearance in chronic hepatitis B patients: A need for surveillance. *J Hepatol* 2015;62:1092-99.

15. Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, Leandro G. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. *J Hepatol.* 2003; 39:239-44
16. Oliveri F, Coco B, Ciccorossi P, et al. Liver stiffness in the hepatitis B virus carrier: a non-invasive marker of liver disease influenced by the pattern of transaminases. *World J Gastroenterol* 2008 14:6154-62
17. Bonino F, Arena U, Brunetto MR, et al. Liver stiffness, a non-invasive marker of liver disease: a core study group report. *AntivirTher.* 2010;15 Suppl 3:69-78.
18. Viganò M, Paggi S, Lampertico P, et al. Dual cut-off transient elastography to assess liver fibrosis in chronic hepatitis B: a cohort study with internal validation. *Aliment PharmacolTher* 2011;34:353-62.
19. Papatheodoridis GV, Manolakopoulos S, Margariti A, et al. The usefulness of transient elastography in the assessment of patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B virus infection. *J Viral Hepat.* 2014; 21:517-524.
20. Chon YE, Choi EH, Song KJ, et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B: a meta-analysis. *PLoSOne* 2012; 7:e44930.
21. Castera L. Hepatitis B: are non-invasive markers of liver fibrosis reliable? *Liver Int.* 2014;34 Suppl 1:91- 96
22. WHO. Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis B Infection. Geneva Switzerland: World Health Organization; 2015.
23. Shin SK, Kim JH, Park H, et al. Improvement of liver function and non-invasive fibrosis markers in hepatitis B virus-associated cirrhosis: 2 years of entecavir treatment. *J Gastroenterol Hepatol.* 2015;30:1775-81
24. Lau GK, Piratvisuth T, Luo KX, et al. Peginterferon Alfa-2a, lamivudine, and the combination for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2005;352:2682–2695.
25. Janssen HL, van ZM, Senturk H, Zeuzem S, et al. Pegylated interferon alfa-2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B: a randomised trial. *Lancet* 2005;365:123–129.
26. Liaw YF, Jia JD, Chan HL, et al. Shorter durations and lower doses of peginterferon alfa-2a are associated with inferior hepatitis B e antigen seroconversion rates in hepatitis B virus genotypes B or C. *Hepatology* 2011;54:1591–1599.
27. Buster EH, Hansen BE, Lau GK, et al. Factors that predict response of patients with hepatitis B e antigen positive chronic hepatitis B to peg interferon-alfa. *Gastroenterology* 2009;137:2002–2009.

28. Buster EH, Flink HJ, Simsek H, et al. Early HBeAg loss during peginterferon alpha-2b therapy predicts HBsAg loss: results of a long-term follow-up study in chronic hepatitis B patients. *Am J Gastroenterol* 2009;104:2449–2457.
29. Moucari R, Korevaar A, Lada O, et al. High rates of HBsAg seroconversion in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients responding to interferon: a long-term follow-up study. *J Hepatol* 2009;50:1084–1092.
30. Piratvisuth T, Lau G, Chao YC, Jin R, Chutaputti A, Zhang QB, et al. Sustained response to peginterferon alfa-2a (40 kD) with or without lamivudine in Asian patients with HBeAg-positive and HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Hepatol Int* 2008;2:102–110.
31. Flink HJ, van ZM, Hansen BE, de Man RA, Schalm SW, Janssen HL. Treatment with peginterferon alpha-2b for HBeAg-positive chronic hepatitis B: HBsAg loss is associated with HBV genotype. *Am J Gastroenterol* 2006;101:297–303.
32. Chan H L-Y, Papatheodoridis GV, Messinger D et al. A predictive tool for selecting HBeAg-positive chronic hepatitis B patients who have a high probability of HBV DNA suppression and HBeAg seroconversion with peginterferon alfa-2a. *Hepatology* 2014; 60 S1: 1108A
33. Marcellin P, Lau GK, Bonino F, Farci P, Hadziyannis S, Jin R, et al. Peginterferon alfa-2a alone, lamivudine alone, and the two in combination in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2004;351:1206–1217.
34. Lampertico P, Viganò M, Di Costanzo GG et al. Randomised study comparing 48 and 96 weeks peginterferon α -2a therapy in genotype D HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Gut* 2013;62:290-8.
35. Marcellin P, Bonino F, Lau GK, Farci P, Yurdaydin C, Piratvisuth T, et al. Sustained response of hepatitis B e antigen-negative patients 3 years after treatment with peginterferon alpha-2a. *Gastroenterology* 2009;136:2169–2179.
36. Marcellin P, Piratvisuth T, Brunetto M, Bonino F, Lau GKK, Farci P, et al. Increasing rates of HBsAg clearance and seroconversion in patients with HBeAg-negative disease treated with peginterferon alfa-2a \pm lamivudine: results of 5-year post-treatment follow up. *J Hepatol* 2009;50:S336
37. Lampertico P, Rothe V, Caputo A et al. A baseline predictive tool for selecting HBeAg-negative chronic hepatitis B patients who have a high probability of achieving sustained immune control with peginterferon alfa-2a. *Hepatology* 2014; 60 S1: 1107A.
38. Pollicino T, Amaddeo G, Restuccia A et al. Impact of hepatitis B virus (HBV) preS/S genomic variability on HBV surface antigen and HBV DNA serum levels. *Hepatology* 2012;56: 434-43
39. Sonneveld MJ, Hansen BE, Piratvisuth T et al. Response-guided peg interferon therapy in hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B using serum hepatitis B surface antigen levels. *Hepatology*. 2013;58:872-80.

40. Rijckborst V, Hansen BE, Ferenci P et al. Validation of a stopping rule at week 12 using HBsAg and HBV DNA for HBeAg-negative patients treated with peginterferon alfa-2a. *J Hepatol.* 2012;56:1006-11.
41. Lok AS, Lai CL, Leung N, et al. Long-term safety of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2003;125: 1714-1722.
42. Liaw YF, Gane E, Leung N, et al. 2-Year GLOBE trial results: telbivudine is superior to lamivudine in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2009;136:486-495.
43. Hadziyannis S, Tassopoulos N, Heathcote E, et al. Long-term Therapy With AdefovirDipivoxil for HBeAg-Negative Chronic Hepatitis B for up to 5 Years. *Gastroenterology* 2006;131:1743-1751.
44. Yang YJ, Shim JH, Kim KM, Lim YS, Lee HC. Assessment of current criteria for primary nonresponse in chronic hepatitis B patients receiving entecavir therapy. *Hepatology.* 2014;59:1303-10.
45. Ono A, Suzuki F, Kawamura Y et al. Long-term continuous entecavir therapy in nucleos(t)ide-naïve chronic hepatitis B patients. *Hepatology* 2012; 57:508-14.
46. Zoutendijk R, Reijnders JG, Brown A et al. Entecavir treatment for chronic hepatitis B: adaptation is not needed for the majority of naïve patients with a partial virological response. *Hepatology.* 2011;54:443-51.
47. Kitrinis KM, Corsa A, Liu Y et al. No Detectable Resistance to Tenofovir Disoproxil Fumarate After 6 Years of Therapy in Patients With Chronic Hepatitis B. *Hepatology.* 2014;59:434-42.
48. Buti M, Tsai N, Petersen J, Flisiak R, Gurel S, Krastev Z, Aguilar Schall R, Flaherty JF, Martins EB, Charuorn P, Kitrinis KM, Mani Subramanian G, Gane E, Marcellin P. Seven-Year Efficacy and Safety of Treatment with TenofovirDisoproxil Fumarate for Chronic Hepatitis B Virus Infection. *Dig Dis Sci.* 2015; 60(5):1457-64.
49. Manns MP, Akarca US, Chang TT, et al Long-term safety and tolerability of entecavir in patients with chronic hepatitis B in the rollover study ETV-901. *Expert Opin Drug Saf* 2012; 11: 361-368.
50. Ridruejo E. Treatment of chronic hepatitis B in clinical practice with entecavir or Tenofovir. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 7169-7180.
51. Lange CM, Bojunga J, Hofmann WP, et al. Severe lactic acidosis during treatment of chronic hepatitis B with entecavir in patients with impaired liver function. *Hepatology* 2009; 50: 2001-2006.
52. Liaw YF, Raptopoulou-Gigi M, Cheinquer H, et al. Efficacy and safety of entecavir versus adefovir in chronic hepatitis B patients with hepatic decompensation: a randomized, openlabel study. *Hepatology* 2011; 54: 91-100.

53. Petersen J, Heyne R, Mauss S et al. Effectiveness of tenofovir for chronic hepatitis B in field practice—2 year interim results from the prospective German multicenter non-interventional study (GEMINIS). *J Hepatol* 2013; 58 S1: Abstract 768
54. Marcellin P, Buti M, Gane E et al. Six Years of Treatment With Tenofovir Disoproxil Fumarate for Chronic Hepatitis B Virus Infection Is Safe and Well Tolerated and Associated With Sustained Virological, Biochemical, and Serological Responses With No Detectable Resistance. *Hepatology* 2012; 56 Suppl 1: Abstract 374
55. Lampertico P, Soffredini R, Facchetti F et al. Tenofovir monotherapy in patients with chronic hepatitis B followed for 3 years in a multicenter European study. *Hepatology* 2012; 56 S1: Abstract 401
56. Gill U, Al-Shamma S, Burke KB et al. Bone mineral density loss in tenofovir treated chronic hepatitis B virus (HBV) patients is a consequence of vitamin D deficiency and not Tenofovir therapy. *Hepatology* 2011; 54 S1: Abstract 1376
57. Chang TT, Liaw YF, Wu SS, et al. Long-term entecavir therapy results in the reversal of fibrosis/cirrhosis and continued histological improvement in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010;52:886–893.
58. Marcellin P, Gane E, Buti M et al. Regression of cirrhosis during treatment with tenofovir disoproxil fumarate for chronic hepatitis B: a 5-year open-label follow-up study. *Lancet*. 2013;381:468-75.
59. Lampertico P, Invernizzi F, Viganò M, et al. The long-term benefits of nucleos(t)ide analogs in compensated HBV cirrhotic patients with no or small esophageal varices: A 12-year prospective cohort study. *J Hepatol* 2015; 63:1118-25.
60. Zoutendijk R, Reijnders JG, Zoulim F et al. Virological response to entecavir is associated with a better clinical outcome in chronic hepatitis B patients with cirrhosis. *Gut*. 2013;62:760-5.
61. Papatheodoridis GV, Lampertico P, Manolakopoulos S, Lok A. Incidence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B patients receiving nucleos(t)ide therapy: a systematic review. *J Hepatol* 2010;53:348–356.
62. Papatheodoridis GV, Manolakopoulos S et al. Virological suppression does not prevent the development of hepatocellular carcinoma in HBeAg-negative chronic hepatitis B patients with cirrhosis receiving oral antiviral(s) starting with lamivudine monotherapy: results of the nationwide HEPNET Greece cohort study. *Gut* 2011;60:1109–1116.
63. Buti M, Brosa M, Casado MA, Rueda M, Esteban R. Modeling the cost-effectiveness of different oral antiviral therapies in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol*. 2009;51:640-6.
64. Colombo GL, Gaeta GB, Viganò M, Di Matteo S. A cost-effectiveness analysis of different therapies in patients with chronic hepatitis B in Italy. *Clinicoecon Outcomes Res*. 2011;3:37-46.

65. Buti M, Oyagüez I, Lozano V, Casado MA. Cost effectiveness of first-line oral antiviral therapies for chronic hepatitis B : a systematic review. *Pharmacoeconomics*. 2013;31:63-75.
66. Toy M, Onder FO, Idilman R, et al. The cost-effectiveness of treating chronic hepatitis B patients in a median endemic and middle income country. *Eur J Health Econ*. 2012;13:663-76.
67. Marcellin P, Chang TT, Lim SG, et al. Long-term efficacy and safety of adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 2008;48:750-758
68. Hadziyannis S, Tassopoulos N, Heathcote E, et al. Long-term Therapy With AdefovirDipivoxil for HBeAg-Negative Chronic Hepatitis B for up to 5 Years. *Gastroenterology* 2006;131:1743-1751.
69. Berg T, Marcellin P, Zoulim F et al. Tenofovir is effective alone or with emtricitabine in adefovir-treated patients with chronic-hepatitis B virus infection. *Gastroenterology*. 2010;139:1207-70. Patterson SJ, George J, Strasser SI et al. Tenofovir disoproxil fumarate rescue therapy following failure of both lamivudine and adefovir dipivoxil in chronic hepatitis B. *Gut*. 2011 ;60:247-54.
71. Keskin O, Ormeci AC, Baran B et al. Efficacy of tenofovir in adefovir-experienced patients compared to treatment-naive patients with chronic hepatitis B. *AntivirTher*. 2014 Feb 12. (Epub ahead of print).
72. Corsa AC, Liu Y, Flaherty JF et al. No Resistance to TenofovirDisoproxil Fumarate Through 96 Weeks of Treatment in Patients With Lamivudine-resistant Chronic Hepatitis B. *ClinGastroenterolHepatol*. 2014 Jun 11 [Epub ahead of print]
73. Viganò M, Lampertico P, Iavarone M, et al. High risk of renal impairment and arterial hypertension during long-term adefovir and lamivudine combination therapy in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B. *Hepatology* 2008; 48:708A
74. Lampertico P, Soffredini R, Borghi M et al. Proactive dose adjustments are necessary in many ADV experienced patients treated with TDF monotherapy for 5 years: a prospective cohort study in 320 patients. *EASL 2015; J Hepatol 2015; abs. P0647*
75. Terrault NA, Bzowej NH, Chang KM, et al. AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology* 2016; 63:261-83.
76. Sarin SK, Kumar M, Lau GK, et al. Asian-Pacific clinical practice guidelines on the management of chronic hepatitis B: a 2015 update. *Hepatol Int* 2016; 10:1-98.
77. Fung J, Lai CL, Tanaka Y, Mizokami M, et al. The duration of lamivudine therapy for chronic hepatitis B: cessation versus continuation of treatment after HBeAg seroconversion. *Am J Gastroenterol* 2009;104:1940-47.
78. Chung KT, Ha NB, Trinh HN, et al. High frequency of recurrent viremia after hepatitis B e antigen seroconversion and consolidation therapy. *J ClinGastroenterol* 2012;46:865-870.

79. Lee HW, Lee HJ, Hwang JS et al. Lamivudine maintenance beyond one year after HBeAg seroconversion is a major factor for sustained virologic response in HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010; 51:415-21.
80. Fasano M, Lampertico P, Marzano A, et al. HBV DNA suppression and HBsAg clearance in HBeAg negative chronic hepatitis B patients on lamivudine therapy for over 5 years. *J Hepatol* 2012; 56:1254-8.
81. Hadziyannis SJ, Sevastianos V, Rapti I, Vassilopoulos D, Hadziyannis E. Sustained responses and loss of HBsAg in HBeAg-negative patients with chronic hepatitis B who stop long-term treatment with adefovir. *Gastroenterology*. 2012;143:629-36
82. Jung KS, Park JY, Chon YE et al. Clinical outcomes and predictors for relapse after cessation of oral antiviral treatment in chronic hepatitis B patients *J Gastroenterol* 2015. Epub ahead of print
83. Chen YC, Peng CY, Jeng WJ, Chien RN, Liaw YF. Clinical outcomes after interruption of entecavir therapy in HBeAg-negative chronic hepatitis B patients with compensated cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015;42:1182-91
84. Chen CH, Hung CH, Hu TH, Wang JH, Lu SN, Su PF, Lee CM. Association Between Level of Hepatitis B Surface Antigen and Relapse After Entecavir Therapy for Chronic Hepatitis B Virus Infection. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015;13:1984-1992
85. Chang ML, Liaw YF, Hadziyannis SJ. Systematic review: cessation of long-term nucleos(t)ide analogue therapy in patients with hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015;42:243-57.
86. Brouwer WP, Xie Q, Sonneveld MJ, et al. Adding peginterferon to entecavir for HBeAg-positive chronic hepatitis B: A multicentre randomized trial (ARES study). *Hepatology*. 2015 ;61:1512-22
87. Lampertico P., Brunetto MR, Craxì A, et al. Add-on Peginterferon Alfa-2a significantly reduces HBsAg levels in HBeAg-negative, genotype D chronic hepatitis B patients fully suppressed on nucleot(s)ide analogue treatment: the HERMES Study AISF 2015
88. Marcellin P, Ahn SH, Ma X, et al. HBsAg Loss With Tenofovir Disoproxil Fumarate Plus Peginterferon Alfa-2a in Chronic Hepatitis B: Results of a Global Randomized Controlled Trial. *Gastroenterology* 2016; 150:134-144.
89. Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl* 2013;3:S6-308.
90. Stevens LA, Schmid CH, Greene T, Zhang YL, Beck GJ, Froissart M, et al. Comparative performance of the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) study equations for estimating GFR levels above 60 mL/min/1.73 m². *Am J Kidney Dis* 2010;56:486-95.

91. Dawson-Hughes B, et al., (2008) Clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. National Osteoporosis Foundation. www.nof.org.
92. Rothman MS, Miller PD, Lewiecki EM, Bilezikian JP. Bone Density Testing: Science, the Media, and Patient Care. Curr Osteoporos Rep. 2014 Mar 23. [Epub ahead of print]
93. Bischoff-Ferrari, H.A., et al., Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. Am J Clin Nutr, 2006; 84: 18-28.
94. van Groningen L, Opdenoort S, van Sorge A, et al. Cholecalciferol loading dose guideline for vitamin D-deficient adults Eur J Endocrinol 2010; 162 :805–811.
95. Allegato I RCP Viread– Informazioni e raccomandazioni sulla sicurezza renale.