مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال 15، شماره 7 (شماره پیاپی 66)، آذر 1391، 36-30

بررسی جهش‌های گریز HBsAg در بیماران مبتلا به هپاتیت B مزمن تحت درمان با آنالوگ های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی

سپیده مهین روستا[1]، حیدر شرفی[2]، سید مؤید علویان[3]، بیتا بهنوا[4]، علی پوریاسین[5*]

1- کارشناس ارشد، گروه میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران
2- کارشناس ارشد، گروه هماتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
3- استاد، مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(ع)، تهران، ایران
4- استادیار، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(ع)، تهران، ایران
5- استادیار، گروه ژنتیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران

تاریخ دریافت: 91/10/17 تاریخ پذیرش: 91/2/16

چکیده

زمینه و هدف: آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/ نوکلئوتیدی از جمله لامیوودین و آدفویر داروهای موثر برای درمان بیماران هپاتیت B به شمار می‌روند ولی استفاده طولانی مدت این دسته از داروها منجر به پیدایش واریته‌های مقاوم به درمان می‌شود. از آنجائی که اثر آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/ نوکلئوتیدی بر پیدایش واریته‌های حاوی جهش‌های گریز HBsAg به خوبی مشخص نشده است، هدف از این مطالعه بررسی جهش‌های گریز HBsAg در بیماران هپاتیت B مزمن تحت درمان با آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی بوده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی، 50 بیمار مبتلا به هپاتیت B مزمن که تحت درمان با آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/ نوکلئوتیدی (لامیوودین و/یا آدفویر) بوده‌اند و 50 بیمار مبتلا به هپاتیت B مزمن که هیچ داروی ضد ویروسی دریافت نکرده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. DNA ویروس هپاتیت B از پلاسمای بیماران استخراج و قسمتی از ژن S ویروس هپاتیت B توسط روش Nested-PCR تکثیر گردید. محصول PCR توسط روش توالی یابی مستقیم از نظر وجود جهش‌های گریز HBsAg مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: در کل 100 بیمار مورد مطالعه، جهش‌های گریز HBsAg دیده شده عبارتند از : sQ101H، sG119R، sP120S، sP127S، sA128V، sG130N، sG130R، sT131I، sM133I و sY134N. در گروه بیماران تحت درمان با آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی 16 درصد بیماران واجد ویروس حاوی جهش‌های گریز HBsAg بودند در حالی که در بیمارانی که تحت درمان دارویی قرار نگرفته بودند 6 درصد بیماران واجد ویروس حاوی جهش‌های گریز HBsAg بودند (OR=2/98، p=0/2).

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به دست آمده در این مطالعه به نظر می‌رسد بین مصرف آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/ نوکلئوتیدی و پیدایش جهش‌های گریز HBsAg رابطه‌ای وجود ندارد.

واژگان کلیدی : آدفویر دیپی وکسیل، هپاتیت B مزمن، جهش گریز HBsAg، لامیوودین

[*]**نویسنده مسئول:** تهران، خیابان قائم مقام فراهانی، پلاک 155، ساختمان پزشکان 183

Email: Pouryasin@iaua.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

عفونت هپاتیت B مزمن به عنوان یک مشکل بزرگ پزشکی مطرح می‌باشد. آمارهای جهانی نشان داده که 360 میلیون نفر از عفونت مزمن ویروس هپاتیت B رنج می‌برند و بیش از 520/000 نفر هر ساله به خاطر درگیری با این ویروس جان خود را از دست می‌دهند (470/000 نفر به خاطر سرطان کبد و 50/000 نفر به خاطر هپاتیتB حاد) (1). با وجود این که واکسن موثر برای ویروس هپاتیت B وجود دارد، هنوز درمان قطعی برای بیماران مبتلا به این ویروس مطرح نگردیده است. ژنوم این ویروس از زنجیره مضاعف (ds DNA) حلقوی تشکیل شده که دارای 4 ژن C، S، X و P می‌باشد که هفت پلی‌پپتید را کد می‌کنند. ژن S ویروس هپاتیت B مسئول بیان آنتی‌ژن سطحی ویروس (HBsAg) بوده و دربرگیرنده ناحیه هیدروفولیک اصلی از اسیدآمینه 124 الی 147 به نام determinant "a" می‌باشد(2).

جهش در HBsAg به ویژه ناحیه کد کننده "a" determinant باعث تنوع ژنتیکی در ویروس هپاتیت B می‌شود و با توجه به این که این منطقه هدف اولیه و اصلی برای سیستم ایمنی به حساب می‌آید، پدیدارشدن این جهش‌ها موجب فرار ویروس از سیستم ایمنی میزبان می‌شود که تحت نام جهش‌های گریز HBsAg مطرح می‌باشد(3). جهش‌های گریز HBsAg قابل اهمیت و بررسی می‌باشند، زیرا حضور این جهش‌ها منجر به فرار ویروس از سیستم ایمنی (Immune-escape)، فرار ویروس از واکسن (Vaccine-escape) و HBsAg منفی کاذب (Detection-escape) می‌شوند(3). گزارش‌هایی مبنی بر وجود بعضی بیماران با HBsAg منفی ولی HBV-DNA) PCR مثبت ارائه شده که علت اصلی آن جهش و تنوعی است که منجر به تغییرات در سطح ژن S و متعاقب آن تنوع در HBsAg می‌شود و ردیابی ویروس را در نمونه سرم بیماران مختل می‌نماید(8-4) و برای پزشکان یک جواب منفی کاذب به همراه دارد(9، 10). درمان بیماران هپاتیت B مزمن در دو دسته قرار می‌گیرد، دسته اول ایمنو مودولاتورها شامل اینترفرون و پگ اینترفرون و دسته دوم آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی که شامل لامیوودین، آدفویر، تنفویر، انتکاویر و تلبیوودین می‌باشد(11). بعد از لامیوودین، آدفویر به عنوان داروی موثر برای درمان هپاتیت B رواج پیدا کرد. آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی با مهار فعالیت آنزیم پلی مراز ویروس، تکثیر ویروس را مهار می‌کنند. استفاده از آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی به دلیل وجود پاسخ مناسب ضد ویروسی گام بزرگی در درمان بیماران مبتلا به هپاتیت B مزمن محسوب می‌شود اما اعمال فشار و تنش داروهای نامبرده روی ژنوم ویروس منجر به تنوع ژنتیکی و در پی آن پدیدار شدن جهش‌های مقاومت دارویی می‌شود(12). از آنجائی که اثر آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی بر روی انتخاب سویه‌های حاوی جهش‌های گریز HBsAg به خوبی مشخص نشده است، هدف این مطالعه بررسی اثر آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی بر انتخاب سویه‌های حاوی جهش‌های گریز HBsAg می‌باشد.

مواد و روش ها

در این مطالعه مقطعی که از پاییز سال 1389 تا پاییز 1390 به طول انجامید،50 بیمار مبتلا به هپاتیت B مزمن که حداقل 6 ماه و حداکثر 7 سال تحت درمان با آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی بوده‌اند و هم‌چنین 50 بیمار هپاتیت B مزمن که هیچ درمانی برای هپاتیت B مزمن دریافت نکرده بوده‌اند، مورد بررسی قرار گرفتند. DNA ویروسی از 200 میکرولیتر نمونه پلاسمای بیماران با استفاده از کیت (Qiagen, Hilden, Germany) QIAamp®DNA Blood Mini Kit استخراج گردید. به منظور بررسی جهش‌های گریز HBsAg، ناحیه‌ای از ژن Sبه وسیله روش Nested-PCR تکثیر گردید. ابتدا پرایمرهای اختصاصی بیرونی از ژن مورد نظر و سپس پرایمرهای اختصاصی درونی طراحی شده و توسط شرکت سیناکلون ساخته شد. توالی پرایمرهای طراحی شده عبارت بودند از:

Archive of SID
www.SID.ir

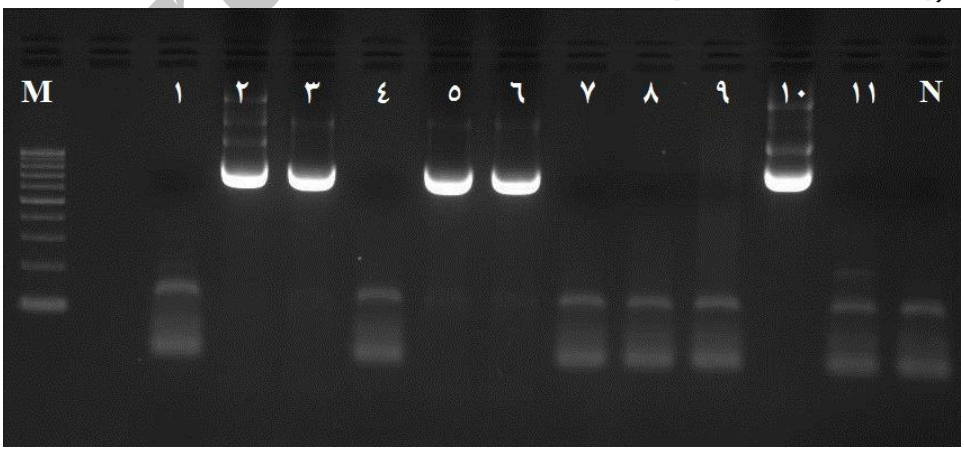
HBR-O-F:
5`GGATTGGGGACCTTGCGCTGA3`
HBR-O-R:
5`AGAAGGGTCGTCCGCGGGATT3`
HBR-I-F:
5`TGCTCGTGTTACAGGCGGGG3`
HBR-I-R:
5`GGGCAGCAAAACCCAAAAGACC3

برای انجام PCR از تیوب‌های لیوفیلیزه AccuPower®PCR (Bioneer, Korea) با حجم واکنش 50 میکرولیتری استفاده شد. برای انجام مرحله اول PCR 10 میکرولیتر از DNA ویروسی توسط 20 پیکومول از هرکدام از پرایمرهای HBR-O-F و HBR-O-R تکثیر گردید. برای انجام PCR مرحله دوم (Nested-PCR) 5 میکرولیتر از محصول PCR مرحله اول توسط 20 پیکومول از هر کدام از پرایمرهای HBR-I-F و HBR-I-R تکثیر گردید. برنامه حرارتی مورد استفاده برای انجام هر دو مرحله PCR در جدول 1 آمده است. در ادامه 10 میکرولیتر محصول مرحله دوم PCR بر روی ژل آگارز 2 درصد الکتروفورز شد (شکل 1).

جدول1. برنامه حرارتی مورد استفاده به منظور تکثیر قطعه ژن S ویروس هپاتیت B

مراحل	درجه حرارت (سانتی گراد)	زمان	تعداد چرخه
واسرشت اولیه	94	5 دقیقه	1
واسرشت	94	30 ثانیه	
اتصال	60	40 ثانیه	35
بازآرایی	72	1 دقیقه	
بازآرایی نهایی	72	5 دقیقه	1

حضور قطعه 836 جفت بازی نشان دهنده صحت انجام PCR بوده است(شکل 1). سپس قطعه تکثیر شده از ژن S ویروس توسط پرایمر HBR-I-R مستقیماً توالی یابی گردید. توالی یابی محصول PCR توسط کیت و دستگاه توالی یاب ABI (Foster City, CA, USA) صورت گرفت. نتایج توالی نوکلئوتیدی توسط نرم‌افزار تحت شبکه geno2pheno (13) و هم‌چنین به صورت دستی توسط نرم‌افزار CLC Sequence viewer مورد بررسی قرار گرفت. در روش دستی بعد از ترجمه توالی نوکلئوتیدی ژنوم HBV هر بیمار به توالی آمینو اسیدی، حضور جهش‌های گریز HBsAg (جهش‌های HBsAg از اسید آمینه 100 تا 147 که توسط نرم افزار geno2pheno از نظر بالینی ارزشمند تلقی می‌شوند) مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از اتمام پژوهش کلیه اطلاعات توسط نرم‌افزار SPSS نسخه 15 بررسی گردید. به منظور یافتن ارتباط بین گروه‌ها از آزمون کای اسکوئر استفاده شد.



شکل1. الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز 2 درصد. نمونه های 2، 3، 5، 6 و 10 از نظر HBV-DNA مثبت و قابل تعیین توالی می باشند. M: مارکر 100 جفت بازی، N: کنترل بدون الگو

www.SID.ir

یافته ها

از 100 بیمار شرکت کننده در مطالعه 36 نفر زن (36 درصد) و 64 نفر (64 درصد) مرد بوده‌اند. بررسی اطلاعات بیماران در دو گروه صورت گرفت. گروه اول شامل 50 نفر از بیماران هپاتیت B مزمن که هیچ داروی ضد ویروسی استفاده نکرده بوده‌اند و گروه دوم شامل 50 بیمار هپاتیت B مزمن که حداقل 6 ماه تحت درمان با آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی بوده‌اند. اطلاعات کلی بیماران در جدول 2 آورده شده است.

جدول 2. توزیع فراوانی اطلاعات کلی بیماران هپاتیت B

اطلاعات بیماران	بیماران درمان نشده	بیماران تحت درمان
مرد (درصد)	33 (66)	31 (62)
میانگین سن	41/72±12/87	42/76±14/93
تعداد بیماران تحت درمان با آدفویر	-	24
تعداد بیماران تحت درمان با ترکیب آدفویر و لامیوودین	-	26

در بین کل بیماران مورد مطالعه 10 جهش گریز HBsAg دیده شده که عبارت بودند از جهش‌های sQ101H، sG119R، sP120S، sP127S، sA128V، sG130N، sG130R، sT131I، sM133I و sY134N. در گروه بیماران تحت درمان با آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی 16 درصد بیماران واجد ویروس حاوی جهش‌های گریز HBsAg بودند در حالی که در بیمارانی که تحت درمان دارویی قرار نگرفته بودند 6 درصد بیماران واجد ویروس حاوی جهش‌های گریز HBsAg بودند. اختلاف مشاهده شده بین فراوانی جهش‌های گریز HBsAg در دو گروه بیماران از نظر آماری معنی‌دار نبود (p=0/2 ،OR=2/98، 95%CI=0/74-11/99). اطلاعات بیماران واجد ویروس حاوی جهش‌های گریز HBsAg در جدول 3 آورده شده است.

جدول 3. مشخصات بیماران واجد ویروس حاوی جهش های گریز HBsAg

بیماران	جنس/ سن (سال)	نوع و مدت مصرف دارو (ماه)	جهش گریز HBsAg
1	مرد/54	آدفویر، 60	sG119R
2	مرد/63	آدفویر، 18	sP120S
3	مرد/71	آدفویر، 24 و لامیوودین، 24	sY134N
4	زن/65	آدفویر، 24 و لامیوودین، 24	sG130R
5	مرد/21	آدفویر،30 و لامیوودین، 42	sT131I
6	مرد/29	آدفویر، 18 و لامیوودین، 18	sT131I و sG130N
7	مرد/37	آدفویر، 24 و لامیوودین، 24	sQ101H
8	زن/33	آدفویر، 36 و لامیوودین، 36	sP127S و sA128V
9	زن/47	تحت درمان نبوده	sM133I
10	مرد/30	تحت درمان نبوده	sM133I
11	زن/44	تحت درمان نبوده	sM133I

بحث

طی مطالعه‌ای که در این تحقیق روی 100 بیمار هپاتیت B مزمن صورت گرفت از بین 50 بیماری که هیچ داروی ضد ویروسی استفاده نکرده‌اند در 6 درصد این بیماران جهش‌های گریز HBsAg دیده شد و در 50 بیماری که تحت درمان با آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی قرار گرفته‌اند، 16 درصد بیماران دارای جهش‌های گریز HBsAg بوده‌اند. بر این اساس به نظر می‌رسد که مصرف آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی توسط بیماران مبتلا به هپاتیت B منجر به پیدایش واریته‌های حاوی جهش‌های گریز HBsAg نمی‌شود. الگوی پاسخ به آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی نسبت به داروهای تزریقی (اینترفرون) بسیار سریع‌تر است و سطح HBV-DNA را سریع کاهش می‌دهند. اهمیت جهش‌های گریز HBsAg و ناحیه ژنی "a" determinant در تست‌های آزمایشگاهی که بر اساس اتصال آنتی ژن به آنتی بادی طراحی شده‌اند مطرح می‌باشد. وجود این جهش‌ها مانع اتصال آنتی ژن به

Archive of SID

www.SID.ir

آنتی بادی و یک جواب منفی کاذب را به همراه دارد. در سازمان انتقال خون، با این که خون‌های $HBsAg^+$ کنار گذاشته می‌شود اما به نظر می‌رسد در کشور ما و بقیه کشورهای با آلودگی متوسط تا شدید کنار گذاشتن خون‌های $HBsAg^+$ برای جلوگیری از انتقال هپاتیت B کافی نیست و غربال‌گری از نظر هپاتیت B مخفی (Occult hepatitis B) لازم است. هم‌چنین باید توجه کرد که این جهش‌ها می‌توانند با منفی کردن تست HBsAg، برای بیمارانی که دریافت خون به طور مستمر انجام می‌دهند هم‌چون بیماران تالاسمی یک خطر جدی به شمار روند(14). گزارشاتی مبنی بر انتقال هپاتیت B از اهداکنندگان خون $HBsAg^-$ وجود دارد(3). به این واسطه یکی از پیشنهادات مطرح، انجام anti-HBc antibody در سیستم‌های انتقال خون (به خصوص در سیستم‌های انتقال خونی که بررسی مولکولی انجام نمی‌شود) می‌باشد(3). هم‌چنین اهمیت دیگر این جهش‌ها فرار ویروس از واکسن می‌باشد. گزارشی مبنی بر انتقال هپاتیت B به یک دریافت کننده پیوند کلیه واکسینه شده علیه هپاتیت B وجود دارد که ویروس جدا شده از این بیمار حاوی جهش‌های HBsAg در موقعیت های 101، 117، 118، 120 و 143 بوده است(15).

سایان و همکاران در مطالعه خود فراوانی جهش‌های HBsAg را در بیماران هپاتیت B مزمن تحت درمان با آ نالوگ نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی، 8/3 درصد و در بیمارانی که تحت درمان با داروهای ضدویروسی قرار نگرفته بودند، 8/5 درصد به دست آوردند. نتایج بررسی آماری داده‌ها در این مطالعه به عنوان سطح غیرمعنی‌دار اختلاف تلقی گردید و ثابت کردند که مصرف آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی با جهش HBsAg ارتباط ندارد(16) که با نتایج مطالعه ما هم‌خوانی داشت. بررسی شیوع جهش‌های HBsAg در کشورهای مختلف در بین بیماران هپاتیت B مزمن صورت گرفته است. در مطالعه دیگری که آولون و همکاران در اسپانیا انجام داده‌اند(17)، شیوع جهش‌های HBsAg ، 39 درصد گزارش شده است.

فراوانی جهش‌های HBsAg در مطالعه حاضر کمتر از فراوانی جهش‌هایی است که در مطالعه اخیر گزارش شده، که علت اصلی آن گزارش تمام تغییرات اسید آمینه‌ای در محدوده 112 تا 157 پروتئین HBsAg توسط آولون و همکاران می‌باشد، در حالی که در مطالعه ما تنها برخی از تغییرات اسید آمینه‌ای در محدوده 100 تا 147 که تحت عنوان جهش‌های گریز HbsAg شناخته می‌شوند مورد بررسی قرار گرفته‌اند. مطالعه حاضر تاثیر آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی را بر ایجاد جهش‌های گریز HBsAg رد می‌کند ولی جهت تائید این مطالعه پیشنهاد می‌شود که مطالعه‌ای با تعداد نمونه بیشتر انجام شود. در چنین مطالعه‌ای می‌توان بیماران را بر اساس نوع درمان با آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی دسته‌بندی کرد (درمان با لامیوودین به تنهایی، درمان با آدفویر به تنهایی و درمان هم‌زمان با آدفویر و لامیوودین). هم‌چنین پیشنهاد می‌شود که گروه بیماران تحت درمان به مدت بیش از 1 سال با آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی درمان شده باشند. در نهایت پیشنهاد می‌شود که گروه بیماران تحت درمان از نظر جهش‌های مقاومت دارویی نیز مورد بررسی قرار گیرند و این بیماران از نظر حضور هم‌زمان هر دو دسته جهش (جهش‌های مقاومت دارویی و جهش‌های گریز HBsAg) ارزیابی شوند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر به نظر می‌رسد که جهش‌های گریز HBsAg در بیماران هپاتیت B الزاماً تحت اثر دارو ایجاد نمی‌شوند و مصرف آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی در ایجاد جهش‌ها گریز HBsAg تأثیر ندارد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از شرکت کاوش فن آور کوثر به دلیل تعیین توالی تقدیر می‌گردد. این مقاله خلاصه‌ای از پایان نامه خانم سپیده مهین روستا جهت دریافت درجه

Archive of SID
www.SID.ir

کارشناسی ارشد (به کد تصویب طرح 63415128822678) به راهنمائی دکتر علی پوریاسین و مشاوره دکتر سید مؤید علویان می‌باشد.

منابع

1. McMahon BJ, editor. Epidemiology and natural history of hepatitis B. 2005: New York: Thieme-Stratton, c1981.
2. Lada O, Benhamou Y, Poynard T, Thibault V. Coexistence of hepatitis B surface antigen (HBs Ag) and anti-HBs antibodies in chronic hepatitis B virus carriers: influence of "a" determinant variants. Journal of virology. 2006; 80(6): 2968-75.
3. Weber B. Genetic variability of the S gene of hepatitis B virus: clinical and diagnostic impact. Journal of clinical virology. 2005;32(2):102-12.
4. Yeh CT. Development of HBV S gene mutants in chronic hepatitis B patients receiving nucleotide/nucleoside analogue therapy. Antiviral therapy. 2010;15(3):471-5.
5. Carman WF, Karayiannis P, Waters J, Thomas H, Zanetti A, Manzillo G, et al. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. The lancet. 1990;336(8711):325-9.
6. Carman W. The clinical significance of surface antigen variants of hepatitis B virus. Journal of viral hepatitis. 1997;4:11-20.
7. Gerlich W, Glebe D, Schüttler C. Deficiencies in the standardization and sensitivity of diagnostic tests for hepatitis B virus. Journal of viral hepatitis. 2007;14:16-21.
8. Kramvis A, Kew M, François G. Hepatitis B virus genotypes. Vaccine. 2005;23(19):2409-23.
9. Coleman PF, Jack Chen YC. Immunoassay detection of hepatitis B surface antigen mutants. Journal of medical virology. 1999;59(1):19-24.
10. Jongerius J, Wester M, Cuypers H, Oostendorp WR, Lelie P, Poel CL, et al. New hepatitis B virus mutant form in a blood donor that is undetectable in several hepatitis B surface antigen screening assays. Transfusion. 1998; 38(1):56-9.
11. Liver EAFTSOT. EASL Clinical Practice Guidelines: management of chronic hepatitis B. J Hepatol. 2009;50:227-42.
12. Zoulim F, Locarnini S. Hepatitis B virus resistance to nucleos (t) ide analogues. Gastroenterology. 2009;137(5):1593-608. e2.
13. Altmann A, Bastian B, Hoffmann D, Kaiser R, Lengauer L, Schuldenzucker U, et al. Geno2pheno. [updated July 2009]; Available from: http://hbv.bioinf.mpi-inf.mpg.de/index.php.
14. Chakravarti A, Verma V, Kumaria R, Dubey A. Anti-HCV seropositivity among multiple transfused patients with beta thalassaemia. Journal of the Indian Medical Association. 2005;103(2):64-6.
15. Sayiner AA, Agca H, Sengonul A, Celik A, Akarsu M. A new hepatitis B virus vaccine escape mutation in a renal transplant recipient. Journal of clinical virology. 2007;38(2):157-60.
16. Sayan M, Şentürk Ö, Akhan SÇ, Hülagü S, Cekmen M. Monitoring of hepatitis B virus surface antigen escape mutations and concomitantly nucleos (t) ide analog resistance mutations in Turkish patients with chronic hepatitis B. International Journal of Infectious Diseases. 2010;14:e136-e41.
17. Avellón A, Echevarria JM. Frequency of hepatitis B virus 'a'determinant variants in unselected Spanish chronic carriers. Journal of medical virology. 2006;78(1):24-36.

Archive of SID

www.SID.ir