

Türkiye’de İlk Kez Saptanan Hepatit B Virus Genotip H Enfeksiyonu Olgusu

First Case of Hepatitis B Virus Genotype H Infection in Turkey

Onur URAL¹, Murat SAYAN², Sıla AKHAN³, Şua SÜMER¹, Funda ŞİMŞEK⁴

¹ Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya.

¹ Selçuk University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Konya, Turkey.

² Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Merkez Laboratuvarı, PCR Ünitesi, Kocaeli.

² Kocaeli University Medical Faculty Hospital, Central Laboratory, PCR Unit, Kocaeli, Turkey.

³ Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli.

³ Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Kocaeli, Turkey.

⁴ İstanbul Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul.

⁴ Istanbul Okmeydanı Education and Research Hospital, Infectious Diseases and Clinical Microbiology Clinic, Istanbul, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 01.01.2013 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 25.01.2013

ÖZET

Günümüzdeki klinik çalışmalar Türkiye’de hepatit B virus (HBV) genotip D’nin diğer genotiplere göre daha yaygın olduğunu göstermektedir. Genotip H enfeksiyonu ile ilgili epidemiyolojik ve klinik bilgiler halen sınırlıdır. Genotip H enfeksiyonu genellikle dünyada bölgesel (Orta ve Güney Amerika) prevalans gösterir. Bu raporda, Türkiye’de kronik hepatit B’li bir hastada ilk kez tanımlanan HBV genotip H enfeksiyonu olgusunun sunulması amaçlanmıştır. Kliniğimize başvuran 42 yaşındaki erkek hastanın laboratuvar bulguları; HBsAg (+), anti-HBs (-), HBeAg (-), anti-HBe (+), anti-HBc IgM (-), anti-HBc IgG (+), anti-HAV IgG (+), HBV-DNA: 5.689.776 IU/ml ve karaciğer enzimleri yüksek (ALT: 223 U/L, AST: 121 U/L) olarak belirlenmiştir. Hastanın öyküsünde HBV bulaşını açıklayacak intravenöz ilaç kullanımı, kan transfüzyonu, yurt dışı seyahat ve şüpheli cinsel ilişki tespit edilememiştir. Karaciğer ultrasonografisinde multipl hemanjyomlar izlenen hastaya ultrasonografi eşliğinde karaciğer biyopsisi yapılmış ve modifiye Knodell skorlama sistemine göre histolojik aktivite indeksi 6/18 ve fibrozis 2/6 olarak belirlenmiştir. Hastanın serum örneğinden izole edilen HBV DNA’sı polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılmış ve HBV polimeraz gen bölgesi direkt dizileme yöntemiyle dizilenmiştir. Virusun genotipi UPGMA yöntemi ile yapılan filogenetik analiz sonucu belirlenmiştir. HBV izolatının nükleotid dizileri, uluslararası DNA veri bankası (GenBank) ile karşılaştırılmış ve suşun genotiplendirme sonucu genotip H olarak belirlenmiştir. Hastaya tenofovir disoprosksil fumarat tedavisi başlanmış ve tedaviye yanıtı iyi olan hasta takibe alınmıştır. Bu bulgu, Türkiye’de yaygın olan HBV genotip D dışında diğer genotiplerin de bulunduğunu vurgulamaktadır. Kronik hepati-

İletişim (Correspondence): Yrd. Doç. Dr. Şua Sümer, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 42131, Selçuklu, Konya, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 332 241 2181, **E-posta (E-mail):** suasumer@gmail.com

te neden olan HBV genotip H'nin epidemiyolojik ve moleküler özelliklerini belirlemek dünyadaki yayılımının anlaşılmasına imkan tanınması açısından önemli olabilir.

Anahtar sözcükler: Hepatit B virus; HBV genotip H; Türkiye.

ABSTRACT

Clinical studies reported from Turkey indicate that hepatitis B virus (HBV) genotype D is more prevalent than other genotypes. Epidemiological and clinical information on genotype H infection is currently limited. Genotype H infection is most likely due to its regional (Central and South America) prevalence throughout the world. The aim of this report is to present the first HBV genotype H infection in a chronic hepatitis B patient in Turkey. Laboratory findings of a 42 years old male patient admitted to our hospital revealed HBsAg (+), anti-HBs (-), HBeAg (-), anti-HBe (+), anti-HBc IgM (-), anti-HBc IgG (+), anti-HAV IgG (+), HBV-DNA: 5.689.776 IU/ml and high liver enzymes (ALT: 223 U/L, AST: 121 U/L). History of the patient indicated no risk factor (intravenous drug use, blood transfusion, suspicious sexual contact) related to HBV transmission. Since liver ultrasonography showed multiple hemangiomas, biopsy was performed and histologic activity index was found as 6/18 and fibrosis as 2/6, according to modified Knodell score system. HBV DNA isolated from the serum sample of the patient was amplified by polymerase chain reaction and polymerase gene segment of HBV was directly sequenced. UPGMA method was used for phylogenetic analysis, and the genotype of the virus was identified accordingly. The nucleotide sequence was compared to those from the international DNA data bank (GenBank). The genotyping of the patient revealed that the isolated HBV was genotype H. Treatment with tenofovir disoproxil fumarate was initiated and the patient responded to the treatment. This finding suggested that other HBV genotypes, except the predominant genotype D may also be in circulation in Turkey. In conclusion, detection of epidemiologic and molecular characteristics of HBV genotype H which is related to chronic hepatitis, seems to be necessary in order to better understand its circulation and progression around the world.

Key words: Hepatitis B virus; HBV genotype H; Turkey.

GİRİŞ

Hepatit B virus (HBV) enfeksiyonu; akut, fulminan ve kronik hepatitin yanı sıra karaciğer sirozu ve hepatoselüler karsinomaya neden olabildiği için tüm dünyada önemini koruyan bir enfeksiyon hastalığıdır^{1,2}. Günümüzde HBV'nin 8 genotipi (A-H) tanımlanmıştır¹⁻⁴. Farklı genotiplerin varlığında hastalığın klinik seyrinde ve tedavi yanıtında farklılıklar izlenmektedir. Bu nedenle HBV enfeksiyonu varlığında genotipin bilinmesi hastalığın seyrinin öngörülmesi ve uygun tedavi seçeneğinin belirlenmesi açısından önemlidir^{1,5}. HBV genotiplerinin dağılımı coğrafik farklılıklar göstermektedir. Kuzey Avrupa, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Orta Afrika'da genotip A; Asya'da genotip B ve C; Güney Avrupa, Ortadoğu ve Hindistan'da genotip D; Afrika'da genotip E; Orta ve Güney Amerika'da özellikle Pasifik okyanusundaki adalarda (Polinezya) genotip F ve ABD ve Fransa'da genotip G sık görülmektedir^{2,4}. Genotip H ise, ilk olarak ABD ve Nikaragua'da tanımlanmış daha sonra Orta Amerika, Meksika ve Japonya'dan bildirilmiştir^{1,2,6}.

Türkiye, HBV enfeksiyonunun orta düzey endemik olduğu (%2-7) bir bölge olup her yıl yaklaşık olarak 6500 yeni HBV enfeksiyonu bildirilmektedir^{7,8}. Yapılan çalışmalar, Tür-

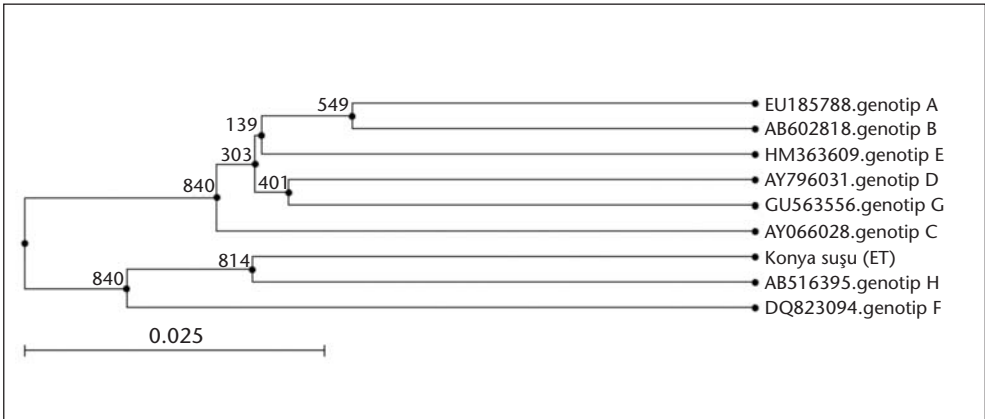
kiye’de HBV genotip D’nin baskın olduğunu göstermektedir^{7,9-12}. Bu raporda, Türkiye’de tanımlanan ilk HBV genotip H enfeksiyonu olgusunun sunulması amaçlanmıştır.

OLGU SUNUMU

Kırk iki yaşındaki erkek hasta, dış merkezde yaptırdığı tetkikler sırasında HBsAg pozitifliği saptanması üzerine Konya Selçuk Üniversitesi Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Polikliniğine başvurdu. Hastanın öyküsünde HBV bulaşını açıklayacak intravenöz ilaç kullanımı, kan transfüzyonu, yurt dışı seyahat ve şüpheli cinsel ilişki gibi riskli temas yoktu. Yapılan aile taramasında HBV ile enfekte başka odak bulunamadı. Laboratuvar tetkiklerinde; HBsAg (+), anti-HBs (-), HBeAg (-), anti-HBe (+), anti-HBc IgM (-), anti-HBc IgG (+), anti-HAV IgG (+), HBV-DNA: 5.689.776 IU/ml, ALT: 223 U/L (0-55 U/L), AST: 121 U/L (5-34 U/L), PT: 1.19 INR (0.8-1.3), PTT: 27.9 (21-36) olarak tespit edildi. Hastanın HDV, HCV, HIV tetkikleri ile otoantikörleri (ANA, AMA, anti-dsDNA ve anti-SMA) negatifti. Karaciğer ultrasonografisinde multipl hemanjiyomlar izlenen hastaya ultrasonografi eşliğinde karaciğer biyopsisi yapıldı. Karaciğer biyopsisi sonucu modifiye Knodell skorlama sistemine göre HAI: 6/18 ve fibrozis: 2/6 olarak belirlendi. HBV genotiplenme ve filogenetik analiz sonucu genotip H olarak tespit edildi (Şekil 1). Hastaya EASL (European Association for the Study of the Liver) rehberine göre tenofovir disoprosil fumarat tedavisi başlandı. Tedaviye yanıtı iyi olan hastanın takipleri devam etmekte idi.

DNA İzolasyonu, HBV *pol* Geni Dizileme ve Genotiplenme

HBV DNA, QIAAsymphony SP manyetik partikül izolasyon platformunda (QIAGEN GmbH, Hilden, Almanya) izole edildi. HBV polimeraz bölgesi (RT kangalı, 80.-250. aminoasitler arası) PCR ile çoğaltıldı. Bu amaçla *forward* (5'-TCGTGGTGGACTTCTCAATT-



Şekil 1. HBV *pol* geni dizisinin filogenetik analizi [Filogenetik ağaç, HBV ters transkriptaz kangalı (kodon 80-250) dizilenerek ve UPGMA analizi kullanılarak oluşturulmuştur. Bootstrap değeri 1000 olarak seçilmiştir. Filogenetik ağacın oluşturulmasında CLC Sequence Viewer 6.7.1 (CLC bio A/S, Danimarka) programı kullanılmıştır. HBV genotip A: EU185788; B: AB602818; C: AY066028; D: AY796031; E: HM363609; F: DQ823094; G: GU563556 ve H: AB516395 referans dizileri GenBank’tan sağlanmıştır].

3') ve *revers* (5'-CGTTGACAGACTTTCCAATCAAT-3') primerler tasarlandı. PCR koşulları; 95°C'de 15 dakika. 45 döngü 95°C'de 45 saniye, 56°C'de 45 saniye ve 72°C'de 45 saniye olarak uygulandı. Primerler 0.3 µM final konsantrasyonda kullanıldı. Elde edilen PCR ürün büyüklüğü yaklaşık 742 baz çifti (bp) olarak belirlendi. Tüm PCR ürünleri High Pure PCR Product Purification Kit (Roche Diagnostics GmbH, Almanya) ile saflaştırıldı ve ürünler ABI PRISM 310 platformunda DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing Kit (Amersham Pharmacia Biotech Inc., ABD) kullanılarak dizilendi. Direkt dizileme için kullanılan PCR protokolü; 35 döngü 95°C'de 20 saniye, 50°C'de 25 saniye ve finalde 60°C'de 2 dakika olarak gerçekleşti. Elektroferogramlar Vector NTI v5.1 (InforMax, Invitrogen, Life Science Software, ABD) programı aracılığıyla elde edildi.

Filogenetik Analiz

HBV genotipi, UPGMA yöntemi ile filogenetik olarak analiz edildi. Bu amaçla oluşturulan filogenetik ağaç Şekil 1'de gösterildi. HBV suşu, genotip H olarak belirlendi ve nükleotid/aminoasit dizileri tanımlandı (Şekil 2). Filogenetik ağaç CLC Sequence Viewer 6.7.1 (CLC bio A/S, Danimarka) programı kullanılarak oluşturuldu ve bootstrap değeri 1000 olarak alındı. Filogenetik ağaç oluşturulurken kullanılan referans diziler GenBank'tan (www.ncbi.nlm.nih.gov) sağlandı. Referans HBV izolatlarının GenBank erişim numaraları; EU185788, AB602818, AY066028, AY796031, HM363609, DQ823094, GU563556 ve AB516395 idi (Şekil 1).

TARTIŞMA

Bu raporda, Türkiye'de kronik hepatit B'li bir hastada ilk kez tanımlanan HBV'nin H genotipi bildirilmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalara bakıldığında HBV enfeksiyonlarında genotip A ve G bildirilmesine rağmen, D genotipinin predominant olarak saptandığı görülmektedir^{7,9-12}. HBV'nin H genotipi Meksika, ABD ve Japonya'da görülmele birlikte özellikle Meksika'da predominant olduğu rapor edilmektedir⁴. Bu çalışmalarda bulaş yolları olarak seksüel geçiş ile kan ve kan ürünleri kullanımı ön plandadır^{4,6}. Ayrıca bu konuda farklı bölgelerden bildirilmiş olgu sunumları mevcuttur^{1-3,13}. Olgumuzda bulaş yoluna yönelik yapılan araştırmada riskli temas varlığı, çoklu cinsel partner varlığı, kan transfüzyonu ve yurt dışı seyahat öyküsü saptanmamıştır.

HBV genotiplendirmesinde altın standart yöntem, popülasyon temelli direkt dizileme tekniği ile elde edilen nükleotid dizilerinin filogenetik analizidir. Ayrıca direkt dizileme ile elde edilen nükleotid dizilerinin uluslararası dizi veri havuzu olan GenBank'a yüklenmesi ve böylece global sürveyansa katkı yapılması mümkündür¹⁴. Bu çalışmada, olgudan izole edilen HBV DNA'nın direkt dizilemesi ile nükleotid dizileri belirlenmiş ve HBV genotipi filogenetik olarak analiz edilmiştir. HBV suşu, genotip H olarak belirlenmiş ve nükleotid/aminoasit dizileri tanımlanmıştır (Şekil 1 ve 2).

HBV genotipleri birbirlerinden farklı biyolojik özelliklere sahiptir. Bu farklılıklar kliniği ve antiviral tedaviye yanıtı etkileyebilmektedir. Dolayısıyla genotiplendirme, hem değişik gen profillerinin belirlenmesinde hem de tedaviyi yönlendirmede önemli olabilir^{1,6}. Olgumuza, laboratuvar tetkikleri ve biyopsi sonucuna göre tenofovir disoproksil fumarat

HBV Konya suşu (ET)	
ref nt:	GAAGACTGGGGACCCCTGCTATGACATGAGAACATCACATCAGGACTCTCCTGGTTACAGGGGTGGTTTCTTGGTACAAAAATCTCACAAATACACACAGACTCT
ref aa:	E D W G P C Y E H G E H I R T P R T P S R V T G G V F L V D K N P H N T T E S
query aa:
query nt:
ref nt:	AGACTCGTGGTGAAGTCTCTCAAAATTTCTAGGGTACCACCGGGTGTCCGGCCAAAATTCGCGAGTCCCAATCTCCAACTTACCAACTCTGCTCCCAACTTCTCCGGCTA
ref aa:	R L V V D F S Q F S R G T R V S W P K F A V P N L Q S L T N L L S S N L S W L
query aa:	? V D F T Q F S R G N H R V S W P K F A V L N L O S L T N L L S S N L S W L
query nt:GGTGGACTTCAATTTCTAGGGMAACCGCTGTCTGGCCAAAATTCGCGAGTCTCAATCTCCAACTTACCAACTCTGCTCCCAACTTCTCCGGTTA
ref nt:	TCGTTGGATGTCTGGCGGGTHTTATCATCTCTCCCTCTCATCCCTGCTATCCCTCATCTTCTTGGTGTCTTGGACTATCAAGGTATGTTGCCGTGTGCTCTACTTCCAGG
ref aa:	S L D V S A A F Y H L P L H P A A M P H L L V G S G L S R Y A R V S S T S R
query aa:	S L D V S A A F Y H L P L H P A A M P H L P A A M P S P A C V S G L S R Y A R V S S T S R
query nt:	TCGCTGGATGTCTGGCGGGTHTTATCATCTCTCCCTCTCATCCCTGCTATCCCTCATCTTCTTGGTGTCTTGGACTATCAAGGTATGTTGCCGTGTGCTCTACTTCCAGG
ref nt:	ATCTAACACACAGCAGGGACCCCTGCAAAACCTGCACACTCTGTCTCAAGACTCTATGTTTCCCTCCTGCTGTACAAACCTTCGGACGAAATTCGACCTGTATTCGCCAT
ref aa:	I Y N H Q H G T L Q N L H H S C S R H L Y V S L L L L Y Q T F G R K L H L Y S H
query aa:	I Y D H Q H G T L Q N L H H S C S R H L Y V S L L L L Y K T Y G R K L H L Y S H
query nt:	ATCTAACACACAGCAGGGACCCCTGCAAAACCTGCACACTCTGTCTCAAGACTCTATGTTTCCCTCCTGCTGTACAAACCTTCGGACGAAATTCGACCTGTATTCGCCAT
ref nt:	CCCATCATCTTGGGCTTCGGAATACCTATGGAGTGGCCCTCAGCCCGTTTCTTGGCTCAGTTTACTAGTGAATTTGTTTCAGTGGTGGCTTAGGGCTTCCCGACTCTGGCT
ref aa:	P I L G F R K I P M G V G L S P F L L A Q F T S A I C S V V R R A F P H C L A
query aa:	P I L G F R K I P M G V G L S P F L L A Q F T S A I C S V V R R A F P H C L A
query nt:	CCCATCATCTTGGGCTTCGGAATACCTATGGAGTGGCCCTCAGCCCGTTTCTTGGCTCAGTTTACTAGTGAATTTGTTTTCAGTGGTGGCTTAGGGCTTCCCGACTCTGGCT
ref nt:	TTTAGTTATATGATGATTTGGTATTGGGGCCAAATCTGTGAGCACTTGTAGTCCCTTTTACCCTTTTACCAATTTTTTGGTATCTGTGGCATCCCAATTTAAACACAGCTTAAACA
ref aa:	F S Y M D D L V L G A K S V Q H L E S L Y T A V T N F L L S V G I H L N T A K T
query aa:	F S Y M D D L V L G A K S V Q H L E S L Y T A V T N F L L S V G I H L N T A K T
query nt:	TTTAGTTATATGATGATTTGGTATTGGGGCCAAATCTGTGCAACATCTTGAATTCCTTTTATCCCGCTTACCAATTTTTTTCAGTGGTGGCTTAGGGCTTCCCGACTCTGGCT
ref nt:	AAATGGGGTATTCTTACACTTATGGGTTATAATAATGGAGTGGGACATTCCTCAGGACATATTGTGCAAAAATCAAAGTTGTTTCCCAAACTTCCCGTTTAAATAGA
ref aa:	K W G Y S L H F M G Y I I G S W G T L P Q E H I V A Q K I K D C F R K L P V N R
query aa:	K R W G Y S L H F M G Y I I G S W G T L P Q E H I V Q K I K D C F R K L P V N R
query nt:	AAATGGGGTATTCTTACACTTATGGGTTATAATAATGGAGTGGGACATTCCTCAGGACATATTGTGCAAAAATCAAAGTTGTTTCCCAAACTTCCCGTTTAAATAGA
ref nt:	CCCATGATGGAAAGTGTCAACGAATTTGGGTCCTTTCGACCCCTTTTACTCAATGTGTTTCCTGCTCTCATCCCGCTTATATGCTGTATATCCCGCTTAAACAGGCT
ref aa:	P I D W K V C Q R I V G L L G F A A P F T Q C G Y P L Y A L M P L Y A C I T A K Q A
query aa:	P I D W K V C Q R I V G L L G F A A P F T Q C G Y P L Y A L M P L Y A C I T A K Q A
query nt:	CCCATGATGGAAAGTGTCAACGAATTTGGGTCCTTTCGACCCCTTTTACTCAATGTGTTTCCTGCTCTCATCCCGCTTATATGCTGTATATCCCGCTTAAACAGGCT

Şekil 2. HBV Konya suşunun nükleotid ve aminoasit dizilerinin referans diziyile karşılaştırılması [Aminoasitlerdeki farklılıklar koyu ve altı çizgili olarak gösterilmiştir. Nükleotid ve aminoasit dizileri CLC Sequence Viewer 6.7.1 (CLC bio A/S, Danimarka) programı kullanılarak oluşturulmuştur. Kısaltmalar: ref: referans; query: HBV Konya suşu (ET); nt: nükleotid; aa: aminoasit].

tedavisi başlanmıştır. Tedaviye yanıt veren hastanın klinik takibi devam etmektedir. Sonuç olarak sunduğumuz Türkiye’de ilk kez saptanan HBV genotip H olgusu ile ülkemizde HBV’nin genotip D dışında diğer genotiplerinin de bulunabileceği gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Chihara N, Arase Y, Suzuki F, et al. Prolonged hepatitis after acute infection with genotype H hepatitis B virus. *Intern Med* 2007; 46(22): 1847-51.
2. Kumagai I, Abe K, Oikawa T, et al. A male patient with severe acute hepatitis who was domestically infected with a genotype H hepatitis B virus in Iwate, Japan. *J Gastroenterol* 2007; 42(2): 168-75.
3. Flichman D, Galdame O, Livellara B, Viaut M, Gadano A, Campos R. Full-length genome characterization of hepatitis B virus genotype H strain isolated from serum samples collected from two chronically infected patients in Argentina. *J Clin Microbiol* 2009; 47(12): 4191-3.
4. Alvarado-Esquivel C, Sablon E, Conde-González CJ, Juárez-Figueroa L, Ruiz-Maya L, Aguilar-Benavides S. Molecular analysis of hepatitis B virus isolates in Mexico: predominant circulation of hepatitis B virus genotype H. *World J Gastroenterol* 2006; 12(40): 6540-5.
5. Kramvis A, Kew MC. Relationship of genotypes of hepatitis B virus to mutations, disease progression and response to antiviral therapy. *J Viral Hepat* 2005; 12(5): 456-64.
6. Sánchez LV, Tanaka Y, Maldonado M, Mizokami M, Panduro A. Difference of hepatitis B virus genotype distribution in two groups of mexican patients with different risk factors. High prevalence of genotype H and G. *Intervirology* 2007; 50(1): 9-15.
7. Bozdayi G, Türkyılmaz AR, Idilman R, et al. Complete genome sequence and phylogenetic analysis of hepatitis B virus isolated from Turkish patients with chronic HBV infection. *J Med Virol* 2005; 76(4): 476-81.
8. Ozaslan M, Ozaslan E, Barsgan A, Koruk M. Mutations in the S gene region of hepatitis B virus genotype D in Turkish patients. *J Genet* 2007; 86(3): 195-201.
9. Sayiner AA, Ozcan A, Sengonul A. Naturally occurring MHR variants in Turkish patients infected with hepatitis B virus. *J Med Virol* 2008; 80(3): 405-10.
10. Serin MS, Akkiz H, Abayli B, Oksuz M, Aslan G, Emekdas G. Genotyping of hepatitis B virus isolated from chronic hepatitis B patients in the south of Turkey by DNA cycle-sequencing method. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 53(1): 57-60.
11. Sayan M, Akhan SC, Meric M. Naturally occurring amino-acid substitutions to nucleos(t)ide analogues in treatment naive Turkish patients with chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2010; 17(1): 23-7.
12. Sayan M, Sentürk O, Akhan SÇ, Hülagü S, Cekmen MB. Monitoring of hepatitis B virus surface antigen escape mutations and concomitantly nucleos(t)ide analog resistance mutations in Turkish patients with chronic hepatitis B. *Int J Infect Dis* 2010; 14(3): 136-41.
13. Ohnuma H, Yoshikawa A, Mizoguchi H, Okamoto H; JRC NAT Screening Research Group. Characterization of genotype H hepatitis B virus strain identified for the first time from a Japanese blood donor by nucleic acid amplification test. *J Gen Virol* 2005; 86(3): 595-9.
14. Sayan M. Molecular diagnosis of entecavir resistance. *Hepat Mon* 2010; 10(1): 42-7.