

乙型肝炎肝硬化患者HBV预存耐药变异与基因型的关系

汪莉萍, 程笑, 李春杨, 戴明佳, 韩方正, 颜学兵

汪莉萍, 程笑, 李春杨, 戴明佳, 韩方正, 颜学兵, 徐州医科大学附属医院感染性疾病科 江苏省徐州市 221002

汪莉萍, 副教授, 主任医师. 主要从事慢性乙型肝炎发病机制及治疗方面的研究.

基金项目: 中国肝炎防治基金会天晴肝病研究基金资助项目, No. CFHPC20132140.

作者贡献分布: 此课题由汪莉萍与韩方正设计; 研究过程由程笑、李春杨及戴明佳操作完成; 数据分析汪莉萍与程笑完成; 本论文写作由汪莉萍与颜学兵完成.

通讯作者: 颜学兵, 教授, 221002, 江苏省徐州市泉山区淮海西路99号, 徐州医科大学附属医院感染性疾病科.
yxbxuzhou@126.com
电话: 0516-85807972

收稿日期: 2017-01-18

修回日期: 2017-02-15

接受日期: 2017-02-27

在线出版日期: 2017-04-08

Relationship between pre-existing resistance mutations and HBV genotype in patients with HBV related liver cirrhosis

Li-Ping Wang, Xiao Cheng, Chun-Yang Li, Ming-Jia Dai, Fang-Zheng Han, Xue-Bing Yan

Li-Ping Wang, Xiao Cheng, Chun-Yang Li, Ming-Jia Dai, Fang-Zheng Han, Xue-Bing Yan, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China

Supported by: China Hepatitis Prevention and Treatment Foundation, No. CFHPC20132140.

Correspondence to: Xue-Bing Yan, Professor, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, 99 Huaihai West Road, Quanshan District, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China. yxbxuzhou@126.com

Received: 2017-01-18

Revised: 2017-02-15

Accepted: 2017-02-27

Published online: 2017-04-08

Abstract AIM

To investigate the relationship between hepatitis B virus (HBV)-related drug resistance mutations and HBV genotype in patients with HBV-related liver cirrhosis (LC).

METHODS

Serum samples were collected from 112 patients with HBV-related LC who did not receive prior anti-viral treatment. HBV reverse transcriptase regions were amplified by PCR, and PCR products were directly sequenced.

RESULTS

Among 112 HBV-related LC patients, 13 (11.61%, 13/112) had lamivudine resistance associated mutations, 15 (13.39%, 15/112) had adefovir resistance associated mutations, and 1 had mutations associated with both lamivudine and adefovir resistance. All of these resistance mutations occurred in patients infected with HBV genotype C, and there was no mutation in patients infected with HBV genotype B.

CONCLUSION

Adefovir/lamivudine resistance associated mutations exist in patients with HBV-related LC, and the mutations are related to HBV genotype. Compared with patients infected with HBV genotype B, those infected with HBV genotype C are prone to resistance mutations.

■背景资料

随着核苷(酸)(nucleos(t)ide analogues, NAs)广泛应用, 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)耐药变异的问题越发突出, 也逐渐被临床所重视, 但对于HBV预存耐药变异与临床的关系仍缺少相应的调查.

□同行评议者

丁向春, 副教授, 主任医师, 宁夏医科大学总医院感染性疾病科; 杨江华, 副教授, 皖南医学院弋矶山医院感染科

研究前沿

近年来HBV基因变异已经成为研究热点, 但其耐药机制及如何干预耐药的发生是亟需解决的问题。

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis B virus; Liver cirrhosis; Pre-existing resistance mutations; Genotype

Wang LP, Cheng X, Li CY, Dai MJ, Han FZ, Yan XB. Relationship between pre-existing resistance mutations and HBV genotype in patients with HBV related liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2017; 25(10): 891-896 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i10/891.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v25.i10.891>

摘要

目的

了解乙型肝炎肝硬化(liver cirrhosis, LC)患者中乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)预存耐药变异与基因型的关系。

方法

利用聚合酶链反应产物直接测序法检测112例从没用过核苷(酸)类药物治疗的HBV DNA阳性的乙型肝炎LC患者外周血HBV DNA逆转录酶区基因序列。

结果

112例LC患者中发生与拉米夫定相关的耐药变异13例(11.61%, 13/112), 与阿德福韦酯相关的耐药变异15例(13.39%, 15/112), 拉米夫定和阿德福韦酯均相关的耐药变异1例。上述耐药变异均发生在C基因型中, B基因型中没有发现有预存耐药的发生。

结论

本地区乙型肝炎LC患者中存在拉米夫定和阿德福韦酯的预存耐药变异, 预存耐药容易发生在C基因型中。

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 乙型肝炎病毒; 肝硬化; 预存耐药; 基因型

核心提要: 本实验利用聚合酶链反应产物直接测序法检测了乙型肝炎肝硬化(liver cirrhosis, LC)患者外周血乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)逆转录酶区的基因序列, 证实在乙型肝炎LC患者中存在HBV预存耐药变异, 且耐药变异与基因型相关。

汪莉萍, 程笑, 李春杨, 戴明佳, 韩方正, 颜学兵. 乙型肝炎肝硬化患者HBV预存耐药变异与基因型的关系. 世界华人消

化杂志 2017; 25(10): 891-896 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i10/891.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v25.i10.891>

0 引言

核苷(酸)(nucleos(t)ide analogues, NAs)类药物抗乙型肝炎病毒的疗效已经得到临床证实。但目前所有口服NAs类, 拉米夫定、阿德福韦、替比夫定、恩替卡韦(entecavir, ETV)及替诺福韦(tenofovir disoproxil fumarate, TDF)等在治疗过程中均可出现不同程度的耐药性^[1-6]。一旦出现耐药可能会出现病情的不易控制或者恶化, 因此指南^[7,8]推荐对于乙型肝炎肝硬化(liver cirrhosis, LC)患者抗病毒应选用高基因耐药屏障的ETV或者TDF。对于抗病毒治疗过程中及时进行病毒耐药变异检测呼声很高, 但对抗病毒治疗之前进行基因耐药变异检测却很少提及。由于HBV DNA聚合酶缺少校对功能, 在复制过程中会产生大量的核苷酸错配。因此在未抗病毒治疗的慢性乙型肝炎感染者中可能就存在与耐药有关的变异株。对于LC患者而言, 由于反复的免疫损伤, 病毒在免疫压力之下可能发生变异的机会增多, 因此有必要在抗病毒治疗之初进行基因耐药检测, 根据检测结果选用合适的药物, 既可以减少耐药的发生也可以减少不必要的浪费。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 标本来源: 112例外周血HBV DNA阳性的乙型肝炎LC患者血清来自2011-04/2014-04徐州医学院附属医院感染科门诊及住院患者。

1.1.2 仪器与试剂: 罗氏有限公司Light Cycler实时荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)系统; 美国ABI公司的3130型基因测序仪; 上海申友生物工程股份有限公司提供的乙型肝炎病毒逆转录酶区PCR检测及测序试剂; ABI公司提供的测序用试剂BIGDYE等。

1.2 方法

1.2.1 HBV DNA定量检测: 采用匹基公司的实时荧光PCR仪及其荧光定量检测试剂盒, 按照说明进行HBV DNA进行检测。

1.2.2 HBV DNA模板提取: 按照上海申友公司说明书提取HBV DNA。

1.2.3 HBV DNA逆转录酶片断PCR扩增: 用扩

相关报道

在NAs应用过程中出现病毒学反弹及时进行HBV基因耐药检测报道颇多, 但预存耐药变异与基因型及肝病的进展的关系如何未见报道。

表 1 患者的基线特征

基线特征	B型(<i>n</i> = 6)	C型(<i>n</i> = 106)	<i>P</i> 值
年龄(岁)	35.83±14.13	48.81±12.50	0.600
性别(男/女)	6/0	82/24	0.340
ALT(U/L)	377.83±377.24	117.38±152.65	0.000
TB(μmol/L)	154.17±224.67	56.09±97.86	0.000
ALB(g/L)	39.60±6.17	33.66±8.05	0.590
PLT(log10/L)	2.42±0.70	1.87±0.25	0.000
WBC(log10/L)	0.72±0.09	0.60±0.22	0.148
HBV DNA(log10IU/mL)	4.88±2.37	5.81±1.27	0.018

ALT: 谷丙转氨酶; TB: 总胆红素; ALB: 白蛋白; PLT: 血小板; WBC: 白细胞; HBV: 乙型肝炎病毒。

创新点

本文采用聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)产物直接测序法检测从没用过NAs治疗的乙型肝炎肝硬化(liver cirrhosis, LC)患者外周血HBV DNA逆转录酶区基因序列, 获得了乙型肝炎LC患者HBV预存耐药变异与基因型的关系。

增引物进行PCR扩增: PCR反应体系: 缓冲液20 mL, MgCl₂ 2 mL, 引物2 mL, Taq酶2 mL, HBV DNA模板4 mL, 总反应体积为30 mL。反应条件: 42 °C 保温5 min、94 °C 预变性5 min、然后94 °C 变性10 s, 55 °C 退火30 s, 72 °C 延伸40 s, 45个循环; 37 °C 恒温。

1.2.4 PCR产物酶解: 取3 μL PCR产物, 加入2 μL SAP的混合物, 混匀, 37 °C 60 min, 80 °C 15 min, 最后4 °C 保存。

1.2.5 HBV逆转录酶区测序: 取3 μL PCR酶解、BIGDYE 1 μL和测序引物2 μL进行PCR扩增: 96 °C 1 min变性, 而后96 °C 10 s, 50 °C 5 s, 60 °C 4 min共25个循环, 而后4 °C 恒温保存。

1.2.6 测序产物纯化: 按操作说明进行。

1.2.7 耐药位点检测: 对HBV DNA>5×10³ copies/mL的标本利用ABI基因测序仪3130检测。已知拉米夫定耐药位点: rtV173L, rtL180M, rtM204I/V/S, rtV207I/L/G, rtS213T; 阿德福韦酯的耐药位点rtA181V/T/S, rtV214A, rtQ215S, rtN236T, rtP237H, rtN/H238T/D; ETV的耐药位点: rtI169M, rtT184A/G/I/S, rtS202G/I, rtM204V/I, rtM250V/L; 替比夫定的耐药位点: rtL180M, rtM204I/V/S; TDF耐药位点: rtP177G, rtA194T, rtF249A, rtA181V/T/S, rtN236T。

采用Chromas2.0软件对HBV DNA P基因片段核苷酸编码氨基酸的差异和变异类型进行分析, 将测序结果(核苷酸序列)与Genbank中已知的HBV不同基因型野毒株序列进行比较, 从而确定感染的HBV基因型和耐药位点变异特点。

统计学处理 采用SPSS16.0软件包, 比较B型、C型HBV DNA水平, 先行方差齐性检验, 然后进行单因素方差分析并进行两两比较,

检验水准 $\alpha = 0.05$; 不同基因型之间变异发生率的比较采用 χ^2 检验, 均值比较采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 患者的基线特征 在112例LC患者中, 男性88例, 女性24例, 平均年龄44.12岁, C型106例, B型6例, 没有检测到其他基因型。两基因型中患者年龄、性别分布无统计学差异($P > 0.05$)。两组患者ALT、TBil及PLT比较有统计学差异($P < 0.01$)。两基因型之间病毒载量比较有统计学差异($P < 0.05$, 表1)。

2.2 耐药变异类型检测结果 112例LC患者中发生已知位点耐药变异的29例(25.90%), 其中与拉米夫定相关的耐药变异13例(11.61%), 与阿德福韦酯耐药的变异15例(13.39%), 1例rtS213T+rtN/H238T/D为拉米夫定和阿德福韦酯均相关耐药变异。已知位点耐药均发生在C基因型中, B基因型中没有发现已知位点耐药变异, 结果如表2。

3 讨论

慢性乙型肝炎患者在服用NAs过程中出现应答不良或者病毒学反弹及时进行耐药检测已经逐渐被临床所重视^[2,3], 但对于在服用NAs治疗之前是否需要耐药检测则持有不同的观点^[9]。由于HBV DNA聚合酶缺少校对功能, 因此在自然状况下HBV有可能会发生与耐药相关的变异(预存变异), 这一观点在多数研究中都已经得到证实^[10-12]。但多数研究认为这种预存耐药发生率^[13-16]。Gomes-Gouvea等^[17]检测了702例慢性乙型肝炎患者, 结果发

应用要点

本研究获得了乙型肝炎LC患者HBV预存耐药变异与基因型的关系, 为乙型肝炎LC患者抗病毒精准治疗提供了有力的循证医学证据。

表 2 预存耐药变异类型分布

变异类型	n	耐药相关
rtV173L	2	LAM
rtA181T/V	1	ADV
rtM204I/V/S	1	LAM/LDT
rtV207I/L/G	1	LAM
rtS213T	7	LAM
rtV214A	7	ADV
rtQ215S	2	ADV
rtN/H238T/D	4	ADV
rtL180M+rtS213T	1	LAM
rtA181T/V+rtV214A	1	ADV
rtV207I/L/G+rtS213T	1	LAM
rtS213T+rtN/H238T/D	1	LAM+ADV
191V/I	7	未知
229L/V	1	未知
224I/V	3	未知
221F/Y	3	未知
191V/I+221F/Y	4	未知
191V/I+221F/Y+229L/V	1	未知
合计	48	

LAM: 拉夫米定; ADV: 阿德福韦; LDT: 替比夫定。

现1.6%(11/702)存在对NAs的单位点耐药或联合耐药变异, 但其研究人群主要是A基因型患者, C基因型患者仅占0.9%。土耳其学者Özgüler等^[18]应用INNO-LiPA检测了当地78例HBeAg-阴性和22例HBeAg-阳性的慢性乙型肝炎患者初始基因耐药变异, 结果只发现1例L180M和M204V变异。国内也有学者检测了620例住院的慢性乙型肝炎及相关患者, 认为原发的基因型耐药变异率低, 没有必要在抗病毒治疗之初进行基因耐药检测^[19]。但也有学者研究发现在没有抗病毒治疗的慢性乙型肝炎患者中存在的基因耐药变异与使用抗病毒治疗的患者基因耐药变异发生率无明显差异^[20], 并认为在抗病毒治疗之初应该予以HBV基因耐药检测以利于选择有益的抗病毒药物治疗^[21]。

本研究发现在112例没有服用NAS治疗的乙型肝炎LC患者中发生发现已知位点耐药变异的29例(25.90%), 其中与拉米夫定相关的耐药变异13例(11.61%), 与阿德福韦酯耐药的变异15例(13.39%), 1例rtS213T+rtN/H238T/D为拉米夫定和阿德福韦酯均相关耐药变异。另外我们还检测到191V/I, 229L/V, 224I/V, 221F/Y, 191V/I+221F/Y, 191V/I+221F/Y+229L/V等未

知的变异类型。并且已知位点的耐药变异均发生在C基因型中, 在B基因型中没有发现已知位点耐药变异。

目前研究多数认为HBV预存基因耐药率低, 没有必要在抗病毒治疗前检测基因型耐药, 但我们研究发现在LC患者中预存基因耐药率高达25.9%, 这可能与各研究选择的人群不同, 上述研究没有区分患者病情, 也许在慢性乙型肝炎或者乙型肝炎病毒携带者中这种预存基因耐药变异率低, 但随着病情进展, 病毒在免疫压力下发生变异的机会增加, 因此到了LC阶段预存耐药变异自然也就明显增高。因此我们推测随着病情进展, 这种预存耐药的发生率有可能就会增高。另外rt191V/I单位点及多点变异发生率较高10.7%(12/112), 但该位点变异是否会影响NAs的抗病毒疗效还有待于进一步临床验证。

多数研究认为HBV耐药变异与HBV基因型无关^[22-24]。也有研究发现HBV耐药变异与基因型有关^[25-28], Li等^[27]调查了国内13847例核苷类药物治疗的慢性乙型肝炎感染者, 结果发现感染基因C型的患者发生多药耐药的风险高于基因B型, 且两种基因型感染的患者对ETV耐药的模式也有不同。戚应杰等^[29]对81例慢性乙型肝炎患者的基因型与耐药关系也发现C基因型与B基因型相比更易发生耐药变异。但罗杰等在观察ETV初治慢性乙型肝炎患者体内HBV基因型的变化情况时发现11例(28.9%)患者在ETV抗病毒治疗过程中基因型发生了改变, 6例从C型变成B型, 5例从B型变成C型, 患者体内HBV基因型可发生改变^[30]。这也意味着ETV抗病毒治疗过程中可能会导致HBV基因型的改变。而本研究选择的是从未服用过NAs的人群, 因此不存在NAs对HBV基因型的影响。我们研究结果发现已知耐药位点相关变异均发生在C基因型中, 在B基因型中没有检测到相关的耐药变异。这可能意味着感染HBV C基因型LC患者比B基因型更容易发生耐药变异。当然本研究涉及的病例数少, 还需要扩大样本量来证实HBV基因型与耐药变异的关系。

由于病毒、宿主和环境因素之间复杂的相互作用, HBV基因型和临床分布之间的关系仍然没有明确。有学者研究认为, 肝病的进展与患者感染的乙型肝炎病毒基因B/C型无关^[31,32]。本研究发现在乙型肝炎LC患者中B基因型患

者的病毒载量相对较少($P<0.05$), 而B基因型组患者ALT及TB升高程度比C基因型明显, 可能提示到LC阶段, B基因型患者的肝脏损害程度较C基因型患者明显($P<0.01$).

总之, 本研究结果提示在乙型肝炎LC患者中存在较高比例的预存耐药变异, 主要是针对拉米夫定及阿德福韦酯的补偿耐药变异位点, 没有发现有ETV或者TDF的预存耐药。并且这种已知耐药变异均发生在C基因型患者, 提示与感染HBV B基因型患者相比, C基因型患者可能更容易发生预存耐药变异。到LC阶段, B型患者的肝损程度比C基因型明显。因此对于LC患者而言, 在选用NAs之前最好进行基因耐药检测, 根据检测结果选择合适的抗病毒药物。

4 参考文献

- Morgan M, Keeffe EB. Diagnosis and treatment of chronic hepatitis B: 2009 update. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2009; 55: 5-22 [PMID: 19212304]
- Nguyen MH, Keeffe EB. Chronic hepatitis B: early viral suppression and long-term outcomes of therapy with oral nucleos(t)ides. *J Viral Hepat* 2009; 16: 149-155 [PMID: 19236641 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2009.01078.x]
- Deng L, Tang H. Hepatitis B virus drug resistance to current nucleos(t)ide analogs: Mechanisms and mutation sites. *Hepatol Res* 2011; 41: 1017-1024 [PMID: 21917087 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00873.x]
- Chang TT, Lai CL, Kew Yoon S, Lee SS, Coelho HS, Carrilho FJ, Poordad F, Halota W, Horsmans Y, Tsai N, Zhang H, Tenney DJ, Tamez R, Iloeje U. Entecavir treatment for up to 5 years in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010; 51: 422-430 [PMID: 20049753 DOI: 10.1002/hep.23327]
- Buti M, Tsai N, Petersen J, Flisiak R, Gurel S, Krastev Z, Aguilar Schall R, Flaherty JF, Martins EB, Charuwarn P, Kittrinos KM, Subramanian GM, Gane E, Marcellin P. Seven-year efficacy and safety of treatment with tenofovir disoproxil fumarate for chronic hepatitis B virus infection. *Dig Dis Sci* 2015; 60: 1457-1464 [PMID: 25532501 DOI: 10.1007/s10620-014-3486-7]
- Tenney DJ, Rose RE, Baldick CJ, Pokornowski KA, Eggers BJ, Fang J, Wichroski MJ, Xu D, Yang J, Wilber RB, Colonno RJ. Long-term monitoring shows hepatitis B virus resistance to entecavir in nucleoside-naïve patients is rare through 5 years of therapy. *Hepatology* 2009; 49: 1503-1514 [PMID: 19280622 DOI: 10.1002/hep.22841]
- 王贵强, 王福生, 成军, 任红, 庄辉, 孙剑, 李兰娟, 李杰, 孟庆华, 赵景民, 段钟平, 侯金林, 贾继东, 唐红, 盛吉芳, 彭劼, 鲁凤民, 谢青, 魏来. 慢性乙型肝炎防治指南(2015年最新版). 临床肝胆病杂志 2015; 31: 1941-1960
- Sarin SK, Kumar M, Lau GK, Abbas Z, Chan HL, Chen CJ, Chen DS, Chen HL, Chen PJ, Chien RN, Dokmeci AK, Gane E, Hou JL, Jafri W, Jia J, Kim JH, Lai CL, Lee HC, Lim SG, Liu CJ, Locarnini S, Al Mahtab M, Mohamed R, Omata M, Park J, Piratvisuth T, Sharma BC, Sollano J, Wang FS, Wei L, Yuen MF, Zheng SS, Kao JH. Asian-Pacific clinical practice guidelines on the management of hepatitis B: a 2015 update. *Hepatol Int* 2016; 10: 1-98 [PMID: 26563120 DOI: 10.1007/s12072-015-9675-4]
- Vutien P, Trinh HN, Garcia RT, Nguyen HA, Levitt BS, Nguyen K, da Silveira E, Daugherty T, Ahmed A, Garcia G, Lutchman GA, Nguyen MH. Mutations in HBV DNA polymerase associated with nucleos(t)ide resistance are rare in treatment-naïve patients. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014; 12: 1363-1370 [PMID: 24342744 DOI: 10.1016/j.cgh.2013.11.036]
- Ismail AM, Samuel P, Eapen CE, Kannangai R, Abraham P. Antiviral resistance mutations and genotype-associated amino acid substitutions in treatment-naïve hepatitis B virus-infected individuals from the Indian subcontinent. *Intervirology* 2012; 55: 36-44 [PMID: 21311172 DOI: 10.1159/000323521]
- Afshar RM, Mollaie HR. Detection of HBV resistance to lamivudine in patients with chronic hepatitis B using Zip nucleic acid probes in Kerman, southeast of Iran. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 3657-3661 [PMID: 23098450 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.8.3657]
- Coppola N, Tonziello G, Colombatto P, Pisaturo M, Messina V, Moriconi F, Alessio L, Sagnelli C, Cavallone D, Brunetto M, Sagnelli E. Lamivudine-resistant HBV strain rtM204V/I in acute hepatitis B. *J Infect* 2013; 67: 322-328 [PMID: 23796869 DOI: 10.1016/j.jinf.2013.06.006]
- Widasari DI, Yano Y, Heriyanto DS, Utsumi T, Yamani LN, Rinonce HT, Wasityastuti W, Lusida MI, Soetjipto R, Murakami Y, Tanahashi T, Azuma T, Hayashi Y. A deep-sequencing method detects drug-resistant mutations in the hepatitis B virus in Indonesians. *Intervirology* 2014; 57: 384-392 [PMID: 25382636 DOI: 10.1159/000366420]
- Li X, Liu Y, Zhao P, Wang Y, Chen L, Xin S, Zhang XX, Xu D. Investigation into drug-resistant mutations of HBV from 845 nucleoside/nucleotide analogue-naïve Chinese patients with chronic HBV infection. *Antivir Ther* 2015; 20: 141-147 [PMID: 24992206 DOI: 10.3851/IMP2813]
- Januszkiewicz-Lewandowska D, Rucka A, Kowala-Piaskowska A, Bereszynska I, Mozer-Lisewska I, Zajac-Spychala O, Wysocki J, Nowak J. Mutations in Pol gene of hepatitis B virus in patients with chronic hepatitis B before and after therapy with nucleoside/nucleotide analogues. *Acta Virol* 2014; 58: 185-189 [PMID: 24957725 DOI: 10.4149/av_2014_02_185]
- Mantovani N, Cicero M, Santana LC, Silveira C, do Carmo EP, Abrão PR, Diaz RS, Caseiro MM, Komninakis SV. Detection of lamivudine-resistant variants and mutations related to reduced antigenicity of HBsAg in individuals from the cities of Santos and São Paulo, Brazil. *Virol J* 2013; 10: 320 [PMID: 24165277 DOI: 10.1186/1743-422X-10-320]
- Gomes-Gouvêa MS, Ferreira AC, Teixeira R,

■名词解释

预存耐药变异: 在慢性乙型肝炎患者中NAs类似物应用之前即存在的耐药位点突变。

□ 同行评价

本文采用PCR产物直接测序法检测了没有抗病毒治疗的乙型肝炎LC患者外周血HBV DNA逆转录酶区基因序列, 了解乙型肝炎LC患者中HBV预存耐药变异与基因型的关系, 为临床诊疗提供有力的循证医学证据, 具有较好的使用价值。

- Andrade JR, Ferreira AS, Barros LM, Rezende RE, Natri AC, Leite AG, Piccoli LZ, Galvan J, Conde SR, Soares MC, Kliemann DA, Bertolini DA, Kunyoshi AS, Lyra AC, Oikawa MK, de Araújo LV, Carrilho FJ, Mendes-Corrêa MC, Pinho JR. HBV carrying drug-resistance mutations in chronically infected treatment-naïve patients. *Antivir Ther* 2015; 20: 387-395 [PMID: 25624410 DOI: 10.3851/IMP2938]
- 18 Özgüler M, Akbulut A, Demirdağ K, Özden M. Investigation by the Method of INNO-LiPA of Primary Resistance to Lamivudine in Patients with Chronic Hepatitis B Who Have Not Used Antiviral Therapy. *West Indian Med J* 2015; 65: [PMID: 26901602 DOI: 10.7727/wimj.2014.291]
- 19 Hua W, Zhang G, Guo S, Li W, Sun L, Xiang G. Microarray-based genotyping and detection of drug-resistant HBV mutations from 620 Chinese patients with chronic HBV infection. *Braz J Infect Dis* 2015; 19: 291-295 [PMID: 25982306 DOI: 10.1016/j.bjid.2015.03.012]
- 20 Stalke P, Rybicka M, Wróblewska A, Dreczewski M, Stracewska E, Smiatacz T, Bielawski KP. An initial assessment of correlations between host- and virus-related factors affecting analogues antiviral therapy in HBV chronically infected patients. *Med Sci Monit* 2014; 20: 321-328 [PMID: 24569300 DOI: 10.12659/MSM.889788]
- 21 Suppiah J, Mohd Zain R, Haji Nawi S, Bahari N, Saat Z. Drug-resistance associated mutations in polymerase (p) gene of hepatitis B virus isolated from Malaysian HBV carriers. *Hepat Mon* 2014; 14: e13173 [PMID: 24497877 DOI: 10.5812/hepatmon.13173]
- 22 Sharifi Z, Yari F, Gharebaghiyan A. Sequence analysis of the polymerase gene in hepatitis B virus infected blood donors in Iran. *Arch Iran Med* 2012; 15: 88-90 [PMID: 22292578 DOI: 10.1016/j.aim.2012.03.008]
- 23 叶扬, 张芳, 马玲. 慢性乙肝患者血清HBsAg定量和HBV DNA检测在HBV基因型与耐药变异中的临床研究. *世界最新医学信息文摘* 2015; 15: 7-8, 13
- 24 常凤霞. 慢性乙肝患者核苷类药物诱导HBV基因变异的检测及临床价值. *世界临床医学* 2016; 10: 229-231
- 25 Fan J, Zhang Y, Xiong H, Wang Y, Guo X. Nucleotide analogue-resistant mutations in hepatitis B viral genomes found in hepatitis B patients. *J Gen Virol* 2015; 96: 663-670 [PMID: 25481755 DOI: 10.1099/jgv.0.000010]
- 26 Mese S, Arikian M, Cakiris A, Abaci N, Gumus E, Kursun O, Onel D, Ustek D, Kaymakoglu S, Badur S, Yenen OS, Bozkaya E. Role of the line probe assay INNO-LiPA HBV DR and ultradeep pyrosequencing in detecting resistance mutations to nucleoside/nucleotide analogues in viral samples isolated from chronic hepatitis B patients. *J Gen Virol* 2013; 94: 2729-2738 [PMID: 24045109 DOI: 10.1099/vir.0.053041-0]
- 27 Li X, Liu Y, Xin S, Ji D, You S, Hu J, Zhao J, Wu J, Liao H, Zhang XX, Xu D. Comparison of Detection Rate and Mutational Pattern of Drug-Resistant Mutations Between a Large Cohort of Genotype B and Genotype C Hepatitis B Virus-Infected Patients in North China. *Microb Drug Resist* 2016 Oct 28. [Epub ahead of print] [PMID: 27792585 DOI: 10.1089/mdr.2016.0093]
- 28 Zhang Q, Liao Y, Chen J, Cai B, Su Z, Ying B, Lu X, Tao C, Wang L. Epidemiology study of HBV genotypes and antiviral drug resistance in multi-ethnic regions from Western China. *Sci Rep* 2015; 5: 17413 [PMID: 26612031 DOI: 10.1038/srep17413]
- 29 戚应杰, 岳莉, 朱义媛, 刘杨, 石玉如. 乙型肝炎病毒耐药基因变异位点与基因型及病毒载量的关系. *国际检验医学杂志* 2015; 392-394
- 30 罗杰, 李新华, 杜展, 林国莉, 敖云龙, 庞毅华, 吴元凯, 李向永, 崇雨田. 恩替卡韦初治慢性乙型肝炎患者HBV基因型变化情况. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 3484-3489
- 31 Kumar R, Testoni B, Fresquet J, Lim TK, Hao Y, Tan HH, Chow WC, Zoulim F. Development of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B patients with advanced fibrosis is independent of viral genotype. *J Med Virol* 2017; 89: 845-848 [PMID: 27709629 DOI: 10.1002/jmv.24707]
- 32 王晓忠, 王燕, 马燕, 郭峰, 庄小芳. 新疆地区HBV基因型分布特点及其与肝硬化的相关性分析. *临床肝胆病杂志* 2014; 30: 1307-1309

编辑: 马亚娟 电编: 胡珊





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

