

KRONİK HEPATİT B VE HEPATİT C'Lİ HASTALARDA GENOTİP DAĞILIMI VE HEPATİT B OLGULARINDA DİRENÇ PATERNİNİN ARAŞTIRILMASI

GENOTYPE DISTRIBUTION OF CHRONIC HEPATITIS B AND HEPATITIS C PATIENTS AND INVESTIGATION OF THE RESISTANCE PATTERNS IN HEPATITIS B CASES

Raike KALAYCI¹, Mustafa ALTINDIŞ¹, Cihangir GÜLAMBER¹, Neşe DEMİRTÜRK², Yusuf AKCAN³, Tuna DEMİRDAL²

¹ Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar. (maltindis@gmail.com)

² Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar.

³ Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, Afyonkarahisar.

ÖZET

Hepatit B ve C viruslarının (sırasıyla; HBV ve HCV) sahip olduğu genetik çeşitlilik ve genotiplerin patojeniteleri ile tedaviye yanıtları arasında farklılıkların olması, bu virusların genotiplerinin ve direnç durumlarının izlenmesini gerekli kılmaktadır. Bu çalışmada, kronik hepatit B (KHB) ve kronik hepatit C (KHC) enfeksiyonu olan hastalarda genotip dağılımının araştırılması ve lamivudin (LAM) tedavisi alan ve almayan KHB'li olgularda direnç paternlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Eylül 2007-Mart 2008 tarihleri arasında gerçekleştirilen çalışmaya, KHB tanısı alan 44 hasta (yaş ortalaması: 42 ± 13.6 yıl; 31'i erkek) ile KHC tanısı alan 30 hasta (yaş ortalaması: 47 ± 12.4 yıl; 8'i erkek) alınmıştır. Mutasyonel analiz ve ilaç direnci çalışmaları dizi analizi yöntemi ile (ABI PRISM 310 Genetic Analyzer; Applied Biosystems, ABD) yapılmıştır. HBV dizi analizi için DNA polimeraz geninin 80-260. kodonları arasındaki bölge çoğaltılmış; HCV için ise, genomun "5' non-coding" bölgesinin genotip belirleyici dizileri analiz edilmiştir. Çalışmada, KHB'li 44 hastanın tümünün (%100) genotip D ile enfekte olduğu saptanmış; KHC'li hastalarda ise genotip 1 (26/30; %86.6) baskın genotip olarak belirlenmiştir. HCV genotiplerinin dağılımı ise sıklık sırasına göre; %63.3 (n= 19) oranında 1b, %20 (n= 6) oranında 1a, %13.3 oranında (n= 4) 4a ve %3.3 (n= 1) oranında 1c olarak izlenmiştir. KHB'li hastaların %34.1 (15/44)'inde çeşitli mutasyonlar saptanmış ve bunlar; LAM direncinden sorumlu M204I (n= 6), Q215S (n= 2), L80I + M204I (n= 1), L80V + M204I (n= 1), Q215S + M204I (n= 1) ve M204I + L180M (n= 1); ADV direncinden sorumlu V214A (n= 1) ve A181T + N236T (n= 1); ADV + LAM direncinden sorumlu V84M + V173L (n= 1) mutasyonu olarak tanımlanmıştır. Hiç LAM tedavisi uygulanmamış 25 hastanın 3 (%12)'ünde sadece LAM direnci saptanırken; halen LAM tedavisi almakta olan 19 hastanın 9'unda sadece LAM, 2'sinde sadece ADV ve birinde LAM + ADV direnci olmak üzere toplam 12 (%63.2)'sinde ilaç direnci tespit edilmiştir. Buna göre KHB'li hastalarımızda saptanan toplam LAM direnci %27.3 (%6.8 primer, %20.5 sekonder), ADV direnci %4.5 (2/44) ve çoklu direnç (LAM + ADV) %2.3 (1/44) olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, elde edilen verilerin, bölgemizdeki viral hepatitlere bağlı kronik karaciğer hastalıklarının tanı, tedavi ve takiplerinde yol gösterici olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: Genotip, mutasyon, antiviral ilaç direnci, lamivudin, adefovir, Türkiye.

ABSTRACT

The high genetic diversity in hepatitis B and C viruses (HBV and HCV, respectively), and the presence of differences in pathogenicity and response to therapy, necessitates continuous monitorization of the genotypes and antiviral resistance patterns. The aims of this study were to investigate the genotype distribution of HBV and HCV in chronically infected patients and to detect the resistance patterns of HBV strains in treatment-naïve patients and those under lamivudine (LAM) treatment. A total of 44 chronic hepatitis B (CHB) patients (mean age: 42 ± 13.6 years; 31 were male) and 30 chronic hepatitis C (CHC) patients (mean age: 47 ± 12.4 years; 8 were male) were included to this study which was carried on between September 2007-March 2008. Mutational analysis and antiviral drug resistance studies were performed by sequence analysis (ABI PRISM 310 Genetic Analyzer; Applied Biosystems, USA), with the use of the region between 80-260 codons in HBV DNA polymerase gene, and the genotype determining sequences in 5' non-coding region in HCV genome. As a result, all of the 44 CHB patients (100%) were found to be infected with HBV genotype D, while genotype 1 (26/30; 86.6%) was found to be the predominant HCV genotype in CHC patients. The frequency of HCV genotypes were as follows; 63.3% (n= 19) genotype 1b, 20% (n= 6) 1a, 13.3% (n= 4) 4a and 3.3% (n= 1) 1c. Various mutations were detected in 34.1% (15/44) of CHB patients and these were identified as M204I (n= 6), Q215S (n= 2), L80I + M204I (n= 1), L80V + M204I (n= 1), Q215S + M204I (n= 1) and M204I + L180M (n= 1) mutations responsible for LAM resistance; V214A (n= 1) and A181T + N236T (n= 1) mutations responsible for adefovir (ADV) resistance, and V84M + V173L (n= 1) mutation responsible for ADV + LAM resistance. In 12% (3/25) of the treatment-naïve CHB patients LAM resistance was detected. However, total antiviral resistance rate was found 63.2% (12/19) for CHB patients (LAM resistance in 9, ADV resistance in 2, and LAM + ADV resistance in 1 patient) who were currently under LAM treatment. Accordingly, total LAM resistance in our CHB cases was 27.3% (6.8% primary and 20.5% secondary resistance), ADV resistance was 4.5% and multidrug (LAM + ADV) resistance was 2.3%. It was concluded that, our data would be helpful in the diagnosis and management of patients with chronic liver diseases due to viral hepatitis in our region.

Key words: Genotype, mutation, antiviral drug resistance, lamivudine, adefovir, Turkey.

GİRİŞ

Hepatit B virusu (HBV), dünya nüfusunun üçte birini etkileyen ve 400-500 milyon kişinin taşıyıcı olduğu önemli bir enfeksiyon etkenidir¹. Asemptomatik enfeksiyondan fulminant hepatite, inaktif taşıyıcılıktan karaciğer sirozu ve karaciğer kanseri (HSC) gibi değişik klinik tablolara neden olabilmektedir. Enfeksiyonun seyrini konağa ait genetik faktörler, yaş ve virusun genetik değişkenliği etkilemektedir. Genetik değişkenlik, taşıyıcı popülasyonlarda görülen genotipik farklılıklar ya da enfekte konakta ortaya çıkan mutasyonlar şeklinde görülmektedir. HBV patojenitesinde genotipik farklılıkların rolü ve enfeksiyonun klinik seyri üzerine genotiplerin etkisi henüz tam olarak açıklanamamıştır. Ancak bulgular, genotipler arasında klinik ve patojenik farklılıklar olduğunu desteklemektedir². Bu nedenle hastalığın başlangıcında genotipin belirlenmesi, klinik yaklaşımların daha bilinçli gerçekleştirilmesine olanak sağlayacaktır.

Kronik HBV enfeksiyonunun tedavisinde interferon (IFN) ve nükleozid analogları kullanılmaktadır. Bir nükleozid analogu olan lamivudin, en sık tercih edilen ilaçtır. İlacın kullanıldığı süreyle orantılı olarak yıllar içerisinde direnç gelişiminde artış gözlenmekte; birinci yıl %15 olan direnç oranı, dördüncü yılda %67'ye yükselmektedir³. Tedavi başarı-

sını izlemek ve başarısızlık halinde alternatif ilaçlarla tedaviye devam edebilmek için, lamivudine karşı direnç gelişiminin saptanması önemlidir⁴.

Dünya nüfusunun yaklaşık %3'ü kronik HCV taşıyıcısı olup, ülkemizde HCV görülme sıklığı %0.3-1.8 (ortalama %0.5) arasındadır⁵. Akut hepatitlerin %20'sinden, kronik hepatitlerin %70'inden, son dönem sirozun %40'ından, HSK'nin %60'ından ve karaciğer transplantasyonunun %30'undan HCV sorumlu tutulmaktadır⁵. HCV'nin yüksek genetik heterojenitesi nedeniyle, 6 majör genotipi ve 100'den fazla alt tipi ve türümsü yapıları bulunmaktadır⁶. Genotip 1, 2 ve 3 tüm dünyada bulunurken, diğerleri coğrafi bölgelere göre farklılıklar göstermektedir. Bu genotipler arasında IFN'ye yanıt açısından da farklılıklar bulunmakta; genotip 1 ve 4, IFN'ye daha dirençli iken, genotip 2 ve 3, IFN tedavisine daha iyi yanıt vermektedir⁶. Bu nedenle tedavi öncesi genotiplendirme yapılması önerilmektedir.

Bu çalışmada, kronik HBV ve HCV enfeksiyonu olan hastalarda genotip dağılımının araştırılması ve hiç lamivudin tedavisi almamış ya da halen lamivudin tedavisi almakta olan kronik HBV'li olgularda direnç paternlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Eylül 2007-Mart 2008 tarihleri arasında, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Uygulama ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Gastroenteroloji polikliniklerine başvuran olgulardan, izlem sonucu kronik hepatit B (KHB) tanısı alan 44 hasta (yaş aralığı 17-71 yıl, yaş ortalaması: 42 ± 13.6 yıl; 31'i erkek) ile kronik hepatit C (KHC) tanısı alan 30 hasta (yaş aralığı 28-68 yıl, yaş ortalaması: 47 ± 12.4 yıl; 8'i erkek) dahil edildi. Etik izin dahilinde gerçekleştirilen çalışmada, tüm hastalardan onam formu alındı.

Hasta serumlarında hepatit B ve C serolojik belirteçleri (HBsAg, HBeAg, anti-HBcIgM, anti-HBcIgG, anti-HBe, anti-HBs ve anti-HCV), ticari mikropartikül ELISA yöntemi (Ortho-Clinical Diagnostics, ABD) ile çalışıldı. HBV-DNA ve HCV-RNA düzeyleri ise IQTM 5 Multicolor Real-Time PCR cihazı (Bio-Rad, ABD) ile belirlendi. Serumlar genotiplendirme ve mutasyon analizi için çalışılncaya kadar -80°C'de saklandı.

HBV-DNA pozitif 44 hastanın 25'i hiç lamivudin (LAM) tedavisi almamış, 19'u ise halen LAM tedavisi alan ve tedavi sırasında klinik olarak LAM direnci düşünülen hastalardı.

Örneklerden HBV-DNA ve HCV-RNA izolasyonu, QIAGEN QIAamp MinElute Virus Spin ekstraksiyon kiti ile (Cat.No 57704; QIAGEN, ABD) yapıldı. HBV ve HCV genotiplendirmesi, mutasyonel analiz ve ilaç direnci, dizi analizi yöntemi ile ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, ABD) cihazında araştırıldı. HBV dizi analizi için DNA polimeraz geninin 80-260. kodonları arasındaki bölge çoğaltıldı. HCV için ise, genomun "5' non-coding" (5'NC) bölgesinin genotip belirleyici dizileri analiz edildi. Diziler Clustal W programı kullanılarak hizalandı; filogenetik ağaç çizimi ve analizi NEIGHBOR-JOINING metodu kullanılarak MEGA version 3.0 bilgisayar yazılım programı ile gerçekleştirildi.

BULGULAR

Çalışmamızda, KHB'li 44 hastanın tümünün (%100) genotip D ile enfekte olduğu saptanmıştır. KHC'li hastalarda ise baskın genotipin, genotip 1 olduğu izlenmiş (26/30; %86.6), en yüksek oranda (%63.3) genotip 1b pozitifliği bulunmuştur (Tablo I).

Mutasyonel analiz ve ilaç direnci çalışmalarının sonunda; KHB'li hastaların 15 (%34.1)'inde ilaç direncinden sorumlu çeşitli mutasyonlar saptanmış (Tablo II); 29 (%65.9)'unda ise mutasyon ya da ilaç direncine rastlanmamıştır. Hiç LAM tedavisi uygulanmamış 25 hastanın 3 (%12)'ünde sadece LAM direnci saptanırken; halen LAM tedavisi almakta olan 19 hastanın 9'unda sadece LAM, 2'sinde sadece adefovir (ADV) ve 1'inde LAM + ADV direnci olmak üzere toplam 12 (%63.2)'sinde ilaç direnci tespit edilmiştir (Tablo II). Buna göre KHB'li hastalarda toplam direnç oranları LAM için %27.3 (12/44), ADV için %4.5 (2/44) ve LAM + ADV için %2.3 (1/44) olarak bulunmuştur.

Tablo I. Kronik Hepatitli Hastalarda HBV ve HCV Genotiplerinin Dağılımı

Virus ve genotip	Pozitif hasta sayısı/Toplam hasta sayısı (%)
HBV Genotip D	44/44 (100)
HCV Genotip 1a	6/30 (20)
HCV Genotip 1b	19/30 (63.3)
HCV Genotip 1c	1/30 (3.3)
HCV Genotip 4a	4/30 (13.3)

HBV: Hepatit B virusu, HCV: Hepatit C virusu.

Tablo II. HBV Mutasyonlarının Lamivudin Tedavisi Alan ve Almayan Hasta Gruplarına Göre Dağılımı*

Mutasyon	Sorumlu olduğu direnç	Hasta grubu		Toplam (%)
		Tedavi alanlar (n= 19)	Tedavi almayanlar (n= 25)	
M204I	LAM	4	2	6
Q215S	LAM	1	1	2
V214A	ADV	1	-	1
L80I + M204I	LAM	1	-	1
A181T + N236T	ADV	1	-	1
V84M + V173L	ADV + LAM	1	-	1
L80V + M204I	LAM	1	-	1
M204I + Q215S	LAM	1	-	1
M204I + L180M	LAM	1	-	1
Toplam (%)		12 (63.2)	3 (12)	15 (34.1)

* Sayıların az olması nedeniyle yüzde oranları sadece toplamalar için verilmiştir.

HBV: Hepatit B virusu, LAM: Lamivudin, ADV: Adefovir.

TARTIŞMA

Kronik hepatit B ve C enfeksiyonları, tüm dünyada olduğu gibi ülkemiz için de önemli bir halk sağlığı problemi oluşturmaktadır^{7,8}. Bu virusların sahip olduğu serotip ve genotip farklılıkları, tanı ve tedavide de birtakım sorunları beraberinde getirmektedir. HBV, genomundaki %8'lere varan nükleotid farklılığı ile A'dan H'ye kadar 8 alttıpe ayrılmış olup ülkemizin de içinde bulunduğu coğrafyada genotip D baskındır⁹⁻¹³. Ülkemizde Bozdayı ve arkadaşlarının¹⁰ 67 örnekte gerçekleştirdikleri çalışmada, pre-S2 gen bölgesinin dizi analizlerine göre tüm suşların genotip D ve subtip ayw ile uyumlu olduğu saptanmıştır. Sentürker Güldas ve Abacioğlu¹¹, KHB'li 23 hastadan izole ettikleri HBV S geni analizi sonunda hepsinin genotip D dizilerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Mısırlıoğlu ve arkadaşlarının¹³ çalışmasında, HBsAg pozitif 57 çocuk hastanın tümünde HBV genotipi, S gen bölgesi dizilemesi ile genotip D olarak bulunmuştur. Sünbül ve arkadaşları¹² da, Türkiye'nin 15 farklı merkezinden toplam 88 KHB'li hasta ile yaptıkları çalışmada, olguların %85.9'unda genotip D'yi saptamışlardır. Çalışmamızda, KHB'li hastalarımızın tümünde genotip D saptanmış olup, sonuçlar ülkemizdeki diğer verilerle uyumlu bulunmuştur.

Ülkemizde yapılan çalışmalar, HCV enfeksiyonlarının büyük çoğunluğunun genotip 1b tarafından oluşturulduğunu vurgulamakta; genotip 2, 3 ve 4 enfeksiyonlarının, bölgelere göre değişmekle birlikte, daha az oranda olduğunu göstermektedir¹⁴⁻¹⁷. Abacioğlu ve arkadaşlarının¹⁴ 1995 yılında yayınlanan çalışmasında, genotip 1b (%75.3) predominant tip olarak belirlenmiş, bunu genotip 1a (%19.1), 2 (%3.4) ve 4 (%2.2) izlemiştir. Bölgemizde Altındış ve arkadaşlarının¹⁶ 2006 yılında yaptığı dizileme çalışmasında, HCV genotip 1b %96.7, genotip 1a ise %3.3 oranında bildirilmiştir. Altuğlu ve arkadaşları¹⁷, KHC'li 345 hastanın %87.2'sinde genotip 1b, %9.9'unda genotip 1a, %1.4'ünde genotip 3a, %0.9'unda genotip 2a ve %0.6'sında genotip 4 saptamışlardır. Bizim çalışmamızda da, hastaların %63.3'ünün genotip 1b ile enfekte olduğu izlenmiş, ikinci ve üçüncü sırayı ise sırasıyla genotip 1a (%20) ve genotip 4a (%13.3) almıştır.

Günümüzde KHB tedavisinde kullanılan nükleozid analogu ilaçlardan olan LAM, HBV replikasyonunu baskılamakta etkili olmakla birlikte, uzun süreli kullanımlarda, zaman içinde metioninin valin veya izolösine dönüşmesi ile (rtM204I/V) direnç gelişmektedir¹⁸. Bu nedenle LAM tedavisi alan hastaların tedavi başarısı ve direnç gelişimi açısından izlenmesi, gerektiğinde ilaç değişikliği yapılması önerilmektedir¹⁹. Niesters ve arkadaşları²⁰ KHB'li bir hastada YMDD motifinde yeni bir varyant saptamışlar; bu varyantta 204. pozisyonundaki metioninin serine (rtM204S), 195. pozisyonundaki tirozinin valine (YSDD varyantı) ve 180. pozisyonundaki lösinin de metionine (rtL180M) değiştiğini belirlemişlerdir. YMDD motifinde daha önce tanımlanan klasik iki mutasyon; rtM204I ve rtM204V'dir. LAM direncinden sorumlu birincil mutasyonun, polimeraz geninin katalitik bölgesinin C kantalında; ikinci sıklıktaki mutasyonun ise (rtL180M) polimeraz geninin katalitik bölgesinin B kantalında yer aldığı ve çoğunlukla rtM204V veya rtM204I mutasyonları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir²⁰. Çalışmamızda bulunan M204I + L180M mutasyonu, LAM tedavisi sırasında saptanmış ve bu araştırmacıların²⁰ verileri ile uyumlu bulunmuştur. Akarsu

ve arkadaşlarının²¹ çalışmasında da, 71 inaktif HBV taşıyıcısının 13 (%18.3)'ünde YMDD varyantları tespit edilmiş; bu 13 hastanın 10 (%76.9)'unda aynı zamanda L180M mutasyonu da belirlenmiş, iki hastada ise sadece YIDD ve/veya YVDD varyantları ile birlikte L180M mutasyonu saptanmıştır.

Aygen ve arkadaşlarının²², 2007 yılında 17 merkezin katılımı ile toplam 283 KHB'li hastada yaptıkları çalışmada, hastaların tamamında HBV genotip D saptanmış ve 25 hastada (%10.7) LAM direnci (17 sekonder, 8 primer direnç) belirlenmiştir. LAM tedavisi alanlarda saptanan YMDD mutasyonlarının, antiviral tedavi almayan olgularda da gözlenmesi ilginçtir. Akarsu ve arkadaşları²¹, LAM ile tedavi edilmemiş inaktif HBV taşıyıcılarında yüksek oranda YMDD motif varyantlarının ortaya çıktığını ifade etmektedirler. Bizim çalışmamızda, hiç LAM tedavisi almayanlarda saptanan %12 (3/25) oranı primer direnç, halen LAM tedavisi alanlarda saptanan %63.2 (12/19) oranı ise sekonder direnç olarak değerlendirilmiştir. Bu sonuçlar bize primer direnç açısından, tedavi almamış hastalarda nükleozid tedavisi öncesinde YMDD motif mutasyonlarının belirlenmesinin, tedavi seçimine olumlu katkı sağlayabileceğini göstermektedir.

LAM ile karşılaştırıldığında, ADV direncinin gelişimi daha nadirdir ve tedavi sırasında daha geç dönemlerde (≥ 1 yıl) ortaya çıkmaktadır. Yapılan çalışmalarda, bugüne kadar ADV direncine neden olan mutasyonlar rtN236T ve rtA181V olarak tanımlanmış ve tedavinin birinci yılında hiç ADV direnci saptanmazken, beşinci yılında %28'e yükseldiği bildirilmiştir^{23,24}. Locarnini ve arkadaşları²⁴, LAM ve ADV kombinasyonu ile tedavi edilen bir hastada, ADV'ye karşı direnç saptarken LAM'a karşı dirence rastlamamışlar ve ADV direncine neden olan mutasyonların nadiren oluşabileceğini ve bu durumun LAM direncine yol açma olasılığının çok düşük olabileceğini ifade etmişlerdir. Çalışmamızda da, LAM tedavisi alan birer hastada ADV direncinden sorumlu V214A ve A181T + N236T mutasyonları ile LAM + ADV direncinden sorumlu V84M + V173L mutasyonu saptanmıştır (Tablo II).

Sonuç olarak bu çalışmada; KHB'li hastaların tamamının genotip D ile enfekte olduğu belirlenmiş; hastaların %6.8 (3/44)'inde primer LAM direnci, %20.5 (9/44)'inde sekonder LAM direnci, %4.5 (2/44)'inde ADV direnci ve %2.3 (1/44)'ünde çoklu direnç (LAM + ADV) saptanmıştır. KHC'li hastalarımızda ise dominant HCV genotipinin genotip 1 olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda elde edilen verilerin, bölgemizdeki viral hepatitlere bağlı kronik karaciğer hastalıklarının tanı, tedavi ve takiplerinde yol gösterici olabileceği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Kurt H. Hepatit B virus enfeksiyonu, s: 129-35. Tekeli E, Balık İ (ed), Viral Hepatit 2003. 2003, 1. baskı. Deniz Ofset, İstanbul.
2. Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. Gastroenterol 2000; 118: 554-9.
3. Leung NW, Lai CL, Chang TT. Extended lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B enhances hepatitis B e antigen seroconversion rates: results after 3 years of therapy. Hepatology 2001; 33: 1527-32.

4. Whalley SA, Brown D, Teo CG. Monitoring the emergence of hepatitis B virus polymerase gene variants during lamivudine therapy using the Lightcycler. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 1456-9.
5. Sünbül M. HCV enfeksiyonunun epidemiyolojisi ve korunma, s: 208-19. Tabak F, Tekeli E, Balık İ (ed), *Viral Hepatit* 2007. 2007, 1. baskı. Deniz Ofset, İstanbul.
6. Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005; 42: 962-73.
7. Demirtürk N, Demirdal T, Toprak D, Altındış M, Aktepe OC. Hepatitis B and C virus in West-Central Turkey: seroprevalence in healthy individuals admitted to a university hospital for routine health checks. *Turk J Gastroenterol* 2006;17: 267-72.
8. Huy TT, Abe K. Molecular epidemiology of hepatitis B and C virus infections in Asia. *Pediatr Int* 2004; 46: 223-30.
9. Schaefer S. Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 14-21.
10. Bozdayı AM, Bozkaya H, Turkyılmaz AR, et al. Nucleotide divergences in the core promoter and precore region of genotype D hepatitis B virus in patients with persistently elevated or normal ALT levels. *J Clin Virol* 2001; 21: 91-101.
11. Sentürk Güldas N, Abacıoğlu YH. S-gene sequences and genotype-related restriction sites in hepatitis B virus carriers in Turkey. *Infection* 2004; 32: 344-9.
12. Sunbul M, Leblebicioğlu H. Distribution of hepatitis B virus genotypes in patients with chronic hepatitis B in Turkey. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1976-80.
13. Mısırlıoğlu M, Kayın E, Akman E, Tuncer S. Hepatitis B virus genotypes and viral load analysis in pre- and post-vaccination sera from carrier children. 2nd Molecular and Diagnostic Microbiology Congress. 21-25 April 2002, Kemer, Antalya. Congress Proceedings Book, p: 152, P3-88.
14. Abacıoğlu YH, Davidson F, Tuncer S, Yap PL, Ustacelebi S, Yulug N, Simmonds P. The distribution of hepatitis C virus genotypes in Turkish patients. *J Viral Hepat* 1995; 2: 297-301.
15. Yıldız E, Öztan A, Sar F, et al. Molecular characterization of a full genome Turkish hepatitis C virus 1b isolate (HCV-TR1): a predominant viral form in Turkey. *Virus Genes* 2002; 25: 169-77.
16. Altındış M, Aktepe OM, Çetinkaya Z, Çiftçi İH. Determination of hepatitis C virus genotypes by INNO-LIPA and sequence analysis methods. *Mikrobiyol Bul* 2007; 41: 121-6.
17. Altuglu I, Soyler I, Ozacar T, Erensoy S. Distribution of hepatitis C virus genotypes in patients with chronic hepatitis C infection in Western Turkey. *Int J Infect Dis* 2008; 12: 239-44.
18. Asahina Y, Enomoto N, Nagayama K, et al. Hepatitis B virus mutations associated with lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B. *Hepatol Res* 1999; 15: 145-56.
19. Dan Y, Wai C, Lee Y. Outcome of lamivudine-resistant hepatitis B virus is generally benign except in cirrhotics. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4344-50.
20. Niesters HG, De Man RA, Pas SD, Fries E, Osterhaus AD. Identification of a new variant in the YMDD motif of the hepatitis B virus polymerase gene selected during lamivudine therapy. *J Med Microbiol* 2002; 51: 695-9.
21. Akarsu M, Sengonul A, Tankurt E, et al. YMDD motif variants in inactive hepatitis B carriers detected by Inno-Lipa HBV DR assay. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1783-8.
22. Aygen B, Yıldız O, Demirtürk N ve ark. Kronik hepatit B li hastalarda lamivudin direnci: Türkiye sonuçları. IX. Ulusal Viral Hepatit Kongresi. 03-06 Nisan 2008, Belek-Antalya. Konuşma Özetleri ve Bildiriler Kitabı, s: 167-9.
23. Buster EH, Janssen HL. Antiviral treatment for chronic hepatitis B virus infection--immune modulation or viral suppression? *Neth J Med* 2006; 64: 175-85.
24. Locarnini S, Qi W, Arterburn S, et al. Incidence and predictors of emergence of adefovir resistant HBV during four years of adefovir dipivoxil therapy for patients with chronic hepatitis B (abstract). *J Hepatol* 2005; 42: 17.