www.magiran.com

تعیین فراوانی هپاتیت B با آنتی‌ژن e منفی، در بیماران با هپاتیت مزمن B در شهر همدان (از فروردین ۱۳۸۰ تا شهریور ۱۳۸۱)

دکتر محمدمهدی کریمی[۱] ـ دکتر امیر مجلسی[۲]

چکیده :

مقدمه : شیوع هپاتیت B، HBeAg منفی به‌خصوص در کشورهای آسیایی و مدیترانه رو به افزایش است. در این نوع هپاتیت B، آنتی‌ژن e (HbeAg) ساخته نمی‌شود؛ بنابراین این بیماران HbsAg مثبت دارند و در سرم خود HbeAg را ندارند ولی به روش PCR، HBVDNA آنها مثبت است. این نوع هپاتیت نسبت به نوع معمول هپاتیت B به اینترفرون به‌خوبی جواب نمی‌دهد. برای این دسته از بیماران، داروی خوراکی لامیودین مؤثرتر است. شیوع هپاتیت B با HBeAg منفی در ایران هنوز به درستی شناخته نشده است.

روش کار : ۷۶ بیمار هپاتیت مزمن B که حداقل ۶ ماه HbsAg مثبت داشتند در شهر همدان از فروردین ماه ۱۳۸۰ تا شهریورماه ۱۳۸۱ وارد مطالعه شدند. از کلیه بیماران، آزمایشات HbeAg، HbeAb، AST و ALT به عمل آمد و از طریق PCR، HBVDNA بیماران بررسی گردید.

نتایج : متوسط سن بیماران ۴۰ سال بود. ۱۷ نفر (۲۲٪) زن و ۵۹ نفر (۷۸٪) مرد بودند. از ۷۶ نفر، ۱۱ نفر (۱۴/۵٪) HbeAg منفی، HbeAb مثبت، HBVDNA مثبت داشتند (هپاتیت B با HbeAg منفی). تمامی این ۱۱ نفر دارای ترانس آمینازهای غیرطبیعی بودند و متوسط ALT آنها ۶۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و متوسط AST آنها ۴۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود.

نتیجه‌گیری : فراوانی هپاتیت B با HbeAg منفی در بین بیماران هپاتیت مزمن B همدانی، ۱۴/۵ درصد است. این نوع هپاتیت B، هم از لحاظ پیش‌آگهی و هم از نظر تصمیم درمانی با داروی لامیودین اهمیت دارد.

واژگان کلیدی : هپاتیت مزمن B، HbeAg

مقدمه

۳۰ سال قبل، وجود آنتی‌ژن e هپاتیت (HbeAg) در هپاتیت مزمن B، به منزلهٔ نشانگر حساس و قابل‌اعتمادی برای اثبات تکثیر ویروس به شمار می‌آمد(۱). بیمارانی که HbsAg مثبت داشتند اما HbeAg آنها منفی بود، به عنوان یک عفونت هپاتیت B غیرفعال و بدون تکثیر ویروس قلمداد می‌شدند.

در اوایل دههٔ ۱۹۸۰ شواهدی به‌دست آمد که ویروس هپاتیت B در غیاب HbeAg هم می‌تواند تکثیر یابد و HBVDNA آنها با روش PCR مثبت است(۲-۴). بیمارانی که بیشتر از منطقهٔ مدیترانه بودند هرچند که HbeAg منفی و HbeAb مثبت داشتند گزارش می‌شدند که هپاتیت مزمن B با تکثیر فعالانه ویروس دارند(۵). از آن به بعد واژهٔ هپاتیت مزمن B با HbeAg منفی مرسوم شد. در سال ۱۹۸۹ اساس مولکولی این شکل از هپاتیت مزمن B کشف شد(۶و۷). بدان‌گونه که در هپاتیت B اغلب موتاسیونی در قطعهٔ پره کور[۳] اتفاق می‌افتد که دیگر قادر به تولید HbeAg نیست ولی همچنان به صورت نرمال تکثیر می‌یابد(۸و۹) (پره کورموتان). شایع‌ترین جهش در قطعهٔ پره کور که از تولید HbeAg جلوگیری می‌کند، تغییر و جابه‌جایی گوانین به جای آدنین در نوکلئوتید شماره ۱۸۹۶ است (G1896A)(۱۰).

پره کورموتان، معمولاً نسبت به نوع معمول هپاتیت B بیماری کبدی پیشرفته‌تری ایجاد می‌کند(۱۰). نوع معمول هپاتیت B که در آن HbeAg مثبت است نوع خفیف‌تر بیماری را سبب شده و به درمان با اینترفرون پاسخ بهتری به نسبت پره کورموتان می‌دهد.

---

۱ و ۲ ـ فوق تخصص گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی همدان.

3. Pre-core.

www.magiran.com

اینترفرون در درمان پره کورموتان مؤثر نمی‌باشد و جدیداً نشان داده شده است که برای این دسته از بیماران داروی لامیودین اثربخشی بهتری دارد(۱۱)؛ لذا شناسایی این دسته، از میان بیماران هپاتیت B ، هم از لحاظ پیش‌آگهی بیماری و هم از نظر اتخاذ تصمیم در درمان این افراد دارای اهمیت بسیار زیادی است.

با گذشت زمان، مشخص شد پره کورموتان که در آغاز به صورت یک شکل غیرمعمول و نادر منحصر به منطقهٔ مدیترانه تصور می‌شد، توزیع جغرافیایی گسترده‌تری دارد و شیوع آن در حال افزایش است(۱۰).

فراوانی هپاتیت B با HbeAg منفی در ایران هنوز به‌درستی شناخته نشده ولی در کشورهای دیگر تا ۵۰٪ گزارش شده است. در انگلیس ۲۳٪(۱۲)، تونس ۳۶٪(۱۳)، هونگ‌کونگ ۴۵٪(۱۴)، چین از ۱۷/۶٪ در یک منطقه تا ۷۸/۹٪ در منطقه دیگر(۱۵)، هند ۱۵/۵٪(۱۰)، سنگاپور ۱۰٪(۱۶)، آلمان ۵۰٪(۱۷) و ژاپن ۲۶٪(۱۸) شیوع پره کورموتان داریم.

در این مطالعه هدف ما آن است که فراوانی هپاتیت B با HbeAg منفی را در بین بیماران هپاتیت مزمن B در شهر همدان تعیین کنیم.

روش کار

از فروردین ماه ۱۳۸۰ تا شهریورماه ۱۳۸۱، تعداد ۷۶ بیمار با هپاتیت مزمن B در شهر همدان وارد مطالعه شدند. معیار برای مزمن بودن بیماری، حداقل گذشت ۶ ماه از مثبت بودن HbsAg در نظر گرفته شد. از تمام این افراد علاوه بر تست‌های کبدی که شامل بیلی‌روبین، ترانس‌آمیناز (AST, ALT) و آلکالین فسفاتاز بود، تست‌های HbeAg و HbeAb نیز در سازمان انتقال خون همدان انجام شد. سپس برای تمام بیماران تست HBVDNA به روش PCR در آزمایشگاه انتقال خون تهران انجام پذیرفت.

بیمارانی که همزمان هپاتیت C یا AIDS داشتند از مطالعه خارج شدند. بیماران‌الکلی با کبد چرب، تاریخچهٔ مصرف داروهای هپاتوتوکسیک، هپاتیت اتوایمون و بیماری‌های متابولیک کبدی کنار گذاشته شدند. افرادی به عنوان هپاتیت B با HbeAg منفی تشخیص داده می‌شدند که دارای معیارهای ذیل بودند(۲۱):

۱ ـ HbsAg مثبت، برای حداقل ۶ماه که مزمن بودن هپاتیت B را تأیید کند.

۲ ـ HbeAg منفی (معمولاً با HbeAb مثبت) برای حداقل ۶ ماه یا ترجیحاً یک سال.

۳ ـ افزایش ترانس‌آمینازها (ALT یا AST) که آسیب هپاتو ـ سلولار را نشان دهد (ترجیحاً ۱/۵ برابر محدودهٔ بالای نرمال).

۴ ـ HBV DNA مثبت.

۵ ـ رد کردن علل دیگر یا علل همزمان هپاتیت.

نتایج

افراد شرکت‌کننده در این طرح شامل ۱۷ نفر (۲۲٪) زن و ۵۹ نفر (۷۸٪) مرد بودند. سن متوسط بیماران ۴۰ سال بود. حداکثر سن ۷۰ سال و حداقل ۱۳ سال بود. متوسط ALT ، ۸۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و متوسط AST ، ۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود. حداکثر ALT ، ۱۵۷ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و حداکثر AST ، ۸۹ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود. از ۷۶ بیمار، ۱۱ نفر (۱۴/۵٪) HbeAg منفی، HbeAb مثبت، HBVDNA مثبت، با افزایش ALT و AST بودند (هپاتیت B با HbeAg منفی). ۶ نفر (۸٪) از ۷۶ بیمار HbeAg منفی، HbeAb مثبت و HBVDNA مثبت داشتند. ولی چون ترانس‌آمینازها در این گروه نرمال بود، بنابراین جزو معیارهای تشخیصی هپاتیت B با HbeAg منفی در نظر گرفته نمی‌شدند.

۵۹ نفر (۷۷/۵٪) از ۷۶ نفر نوع معمول هپاتیت B داشتند که شامل HbeAg مثبت، HbeAb منفی، ترانس‌آمینازهای نرمال و HBVDNA منفی بودند.

بحث

با وجود پیشرفت‌های چشمگیر در جلوگیری از هپاتیت B توسط واکسیناسیون، هنوز بیش از ۳۰۰ میلیون نفر مبتلا به این بیماری در جهان وجود دارد(۱۹-۲۱). در طی سیر طولانی عفونت مزمن هپاتیت B، تعداد کثیری کاهش در تکثیر ویروس پیدا می‌کنند که خود را با منفی شدن HbeAg و تبدیل آن به HbeAb مثبت نشان می‌دهند. با این وجود تعدادی از این افراد با HbeAg منفی، تکثیر ویروس را به صورت دائم و یا غیرپیوسته دارند که با آماس و نکروز سلول‌های کبد و فیبروز پیشرونده همراه است. به این شکل از بیماری هپاتیت مزمن B با HbeAg منفی اطلاق می‌شود که اغلب با جهش در ژنوم ناحیه پره کور همراه می‌باشد و درنتیجه نمی‌تواند HbeAg تولید نماید.

www.magiran.com

تغییرات جغرافیایی در شیوع هپاتیت B با HbeAg منفی، اخیراً با تغییرات ژنوتیپ هپاتیت مزمن B در آن منطقه قابل تفسیر است(۲۴-۲۲). بدین ترتیب که ژنوتیپ‌های غیر از A (E,D,C,B) تمایل به جهش پره کور دارند و در مناطقی مثل مدیترانه که ژنوتیپ A کم و بقیه ژنوتیپ‌ها بیشتر است، هپاتیت B با HbeAg منفی نیز بیشتر است(۲۹-۲۵). برعکس در آمریکا، اروپای شمالی و مناطقی از آفریقا که ژنوتیپ A هپاتیت مزمن B غالب است، هپاتیت B با HbeAg منفی شیوع کمتری دارد(۲۹).

در کشورهای آسیایی هم ژنوتیپ A و هم ژنوتیپ‌های غیر A مشاهده می‌شود(۳۰). به عنوان مثال در یک مطالعه از کشور چین ۳۸٪ بیماران هپاتیت مزمن با HbeAg منفی، پره کورموتان بوده‌اند(۳۰).

در مطالعه ما، در شهر همدان (غرب ایران)، شیوع هپاتیت B با HbeAg منفی ۱۴/۵٪ است که تقریباً با کشور هند (۱۵/۵٪) شباهت دارد. البته ممکن است در سایر نقاط کشور، شیوع هپاتیت B با HbeAg منفی متفاوت باشد که نیاز به تحقیقات مشابه در نقاط دیگر ایران دارد. باتوجه به این میزان فراوانی می‌توان چنین نتیجه گیری کرد که در شهر همدان، ژنوتیپ A هپاتیت مزمن B غالب است.

در تشخیص هپاتیت B با HbeAg منفی، ارزیابی تکثیر ویروس و ویرمی به حساسیت شیوه مورد استفاده، بستگی دارد(۳۱). اگر روش PCR را انتخاب کنیم ـ که بسیار حساس است ـ مثبت شدن HBVDNA بیشتر تخمین زده می‌شود؛ درحالی که اگر شیوه هیبرید مولکولی را برگزینیم، تخمین مثبت شدن HBVDNA کم خواهد بود، زیرا در روش اخیر مقادیر کمتر از 10^5 کپی در هر میلی‌لیتر منفی تلقی می‌گردند.

از آنجا که در ایران، روش کمّی برای ارزیابی تکثیر ویروس وجود ندارد، از این‌رو در این مطالعه مجبور شدیم تا از روش کیفی PCR که حساسیت بالاتری دارد استفاده نماییم. بنابراین شاید شیوع هپاتیت B با HbeAg منفی در این منطقه با استفاده از روش هیبرید حتی پایین‌تر از این میزان باشد.

همان‌طور که مطالعهٔ ما نیز نشان داد بیماران هپاتیت B با HbeAg منفی معمولاً مرد هستند و سن آنها بیشتر از بیماران با هپاتیت مزمن HbeAg مثبت یا ناقلین سالم است (۴۰ تا ۵۵ سالگی)(۳۲). این بیماران به‌ندرت تاریخچهٔ عفونت حاد یا برخورد با علت شناخته‌شدهٔ بیماری را می‌دهند. اغلب هپاتیت مزمن B در دیگر افراد فامیل مخصوصاً خواهران و برادرها نیز دیده می‌شود که نشان‌دهندهٔ اکتساب عفونت هپاتیت B از اوایل کودکی است(۳۳). بیماران غالباً هیچ‌گونه علامت بالینی ندارند(۳۴). در مطالعه ما اکثر موارد به دنبال اهدای خون متوجه بیماری خود شده بودند. به هرحال به نظر می‌رسد که تفاوت عمده‌ای در تظاهرات بالینی بین بیماران با HbeAg مثبت و HbeAg منفی وجود نداشته باشد.

شناخت پره کورموتان هم از لحاظ پیش‌آگهی و هم از لحاظ پاسخ‌دهی مناسب به اینترفرون به نسبت نوع معمول هپاتیت B حائز اهمیت است.

بعضی از بیماران هپاتیت B با HbeAg منفی، در همان ابتدای شروع بیماری، فیبروز کبدی پیشرفته دارند. تقریباً ۴۰٪ بیماران از همان ابتدای تشخیص بیماری، سیروز دارند(۳۵).

به‌طور کلی پیش‌آگهی در این بیماران بد است. در ایتالیا، یک سوم بیماران در طی مدت متوسط ۶ سال، سیروز پیدا کردند(۳۵). در یک مطالعهٔ بزرگ در یونان که روی ۳۲۲ بیمار انجام شد، در طول ۴ سال از پیدایش تظاهرات، میزان مرگ و میر بیماران ۲۹٪ و پیدایش کارسینوم هپاتوسلولار، ۱۴٪ گزارش شد که به مراتب بیشتر از گروه بیمارانی بود که HbeAg مثبت داشتند(۳۶).

درمان بیماران هپاتیت مزمن HbeAg منفی با اینترفرون با ۳ تا ۵ میلیون واحد سه بار در هفته برای مدت ۶ ماه مؤثر نمی‌باشد و پاسخ مستمر فقط بین ۱۰٪ تا ۱۵٪ است(۳۸-۳۷). درمان برای مدت طولانی‌تر تا یکسال مؤثرتر بوده و پاسخ مستمر ۴۳٪ بوده است(۳۹). استفاده از لامیودین در درمان این بیماران در پایان یک سال مؤثر می‌باشد طوری که ۷۵٪ بیماران هم از لحاظ بیوشیمیایی و هم از لحاظ ویروس‌شناسی در حد طبیعی قرار می‌گیرند. متأسفانه این تأثیر موقتی بوده و به‌زودی عود ایجاد می‌شود به‌نحوی که پاسخ‌دهی مستمر از ۱۲ تا ۱۵٪ تجاوز نمی‌کند(۴۱-۴۰). از طرفی هم، مصرف طولانی‌مدت لامیودین، مقاومت ویروسی ایجاد می‌کند و نوع جهش‌یافته YMDD که مقاوم به لامیودین است، در ۶۰٪ بیماران در سال چهارم مصرف این دارو دیده می‌شود(۵).

www.magiran.com

استفاده از داروهای جدیدتر نوکلئوزاید مثل ادفوویر[1] هنوز در مرحلهٔ آزمایش است و نتایج خوبی در بیماران هپاتیت مزمن B با HbeAg منفی در پی داشته است(۴۲و۳۹). از مزایای این دارو، اثربخشی آن روی موتان‌های مقاوم به لامیودین بوده و تا به حال با آن مقاومت گزارش نشده است(۴۱).

در پایان می‌باید خاطرنشان کرد که این مطالعه شیوع هپاتیت B با HbeAg منفی را صرفاً در شهر همدان نشان می‌دهد و انجام چنین مطالعه‌ای برای شناسایی شیوع این نوع از هپاتیت B در سایر نقاط ایران توصیه می‌شود.

منابع

1. Hoofnagle J.H., Type B hepatitis: virology, serology and clinical course. Semin. Liver Dis., 1981; 1:7-14.
2. Hadziyannis S.J., Anti-Hbe positive chronic active hepatitis. In: Szmuness W, Alter H, Maynard J., (eds). Viral Hepatitis International Symposium. 3rd ed., NewYork: The Franklin Institute Press, 1981, pp: 683.
3. Bonino F., Hoyer B., Nelson J. et al., Hepatitis B virus DNA in the sera of HbsAg carriers: a marker of active hepatitis B virus replication in the liver. Hepatology, 1981; 1: 386-91.
4. Brechot C., Hadchouel M., Scotto J., et al., Detection of hepatitis B virus DNA in liver and serum: a direct appraisal of the chronic carrier state. Lancet, 1981; 2: 765-68.
5. Hadziyannis S.J., Lieberman H.M., Karvountzis G., et al., Analysis of lover disease, nuclear HbeAg, viral replication and hepatitis B virus DNA in liver and serum of HbeAg Vs. anti-Hbe positive carriers of hepatitis B virus. Hepatology, 1983; 3: 656-62.
6. Brunetto M.R., Stemler M., Rizzetto H., et al., A HBV variant is responsible for anti-Hbe positive hepatitis B [Abstract]. J. Hepatol., 1989; 9: 11.
7. Carman W., Jacyna M.R., Katayiannis P. et al., Point mutations in the pre-core regions of HBV in anti-Hbe positive patients with chronic hepatitis and persistent HBV replication [Abstract]. J. Hepatol., 1989; 9: 518.
8. Carman W. F., Jacyna M. R., Hadziyannis S., et al., Mutation preventing formation of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. Lancet, 1989; 2: 588-91.
9. Brunetto M. R., Stemler M., Bonino F., et al., A new hepatitis B virus strain in patients with severe anti-Hbe positive chronic hepatitis B. J. Hepatol., 1990; 10: 258-61.
10. Hadziyannis S. J., Hepatitis B e antigen negative chronic hepatitis B: from clinical recognition to pathogenesis and treatment. Viral Hepat Rev clinical recognition to pathogenesis and treatment. Viral. Hepat. Rev., 1995; 1: 7-36.
11. Carman W. F., Jacyna M. R., Hadziyannis S. et al., Mutaion preventing formation of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. Lancet, 1989; 6: 588-90.
12. Ballard A.L., Boxall E.H., Epidmiology of precore mutants of hepatitis B in the united-kingdom. J. Med. Virol., 2000; 62(4): 463-70.
13. Triki H., Ben Slimane S., High circulation of hepatitis B virus (BV) precore mutants in Tunisia, North Africa. Epidemiol. Infect., 2000: 125(1): 169-74.
14. Chan H. L., Leung N.W., Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B in HongKong, Hepatology 2000; 31(3): 763-68.
15. Tu H., Xiong S.D., Frequency of hepatitis B virus e-minus mutants varies among patients from different areas if China, J. Med. Virol., 1997; 51(2): 85-89.
16. Guan R., Hepatitis B virus infection in Singapore Gut., 1996; 38(2): 13-17.
17. Knoll A., Rohrhofer A., Prevalence of precore mutants in antiHBe positive hepatitis B virus carriers in Germany. J. Med. Virol., 1999; 59(1): 14-18.
18. Fujiwara K., Yokosuka O., The two different states of hepatitis B virus DNA in asymptomatic carriers: HbeAg positive versus antiHBe positive asymptomatic carriers. Dig. Dis. Sci., 1998; 43(2): 368-76.
19. Papatheodoridis G. V., Hadziyannis S. J., Diagnosis and management of precore mutant chronic hepatitis B, Journal Vir. Hepatitis, 2001; 8: 311-21.
20. Maynard J.E., Hepatitis B: global importance and need for control. Vaccine 1990; 8(suppl.): S18-20.
21. Margolis H.S., Alter M.J., Hadler S.C., Hepatitis B: evolving epidemiology and implications for control. Semin. Liver. Dis., 1991; 11: 84-92.
22. Lok A.S., Akarca U., Greene S., Mutations in the pre-core region of hepatitis B virus serve to enhance the stability of the secondary structure of the pre-genome encapsidation signal. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1994; 91: 4077-81.

1. Adefovir.

www.magiran.com

course and response to interferon of chronic hepatitis B accompanied by antibody to hepatitis B e antigen. Hepatology, 1989; 10: 198-202.

33. Zarski J.P., Marcellin P., Cohard M. et al., Comparison of anti-Hbe-positive and Hbe-antigen-positive chronic hepatitis B in France. French Multicentre Group. J. Hepatol., 1994; 20: 636-40.
34. Okamoto H., Yotsumoto S., Akahane Y. et al., Hepatitis B viruses with precore region defects prevail in peristently infected hosts along with seroconversion to the antibody against e antigen. J. Virol., 1990; 64: 1298-303.
35. Bonino F., Rosina F., Rizzetto M. et al., Chronic hepatitis in HbsAg carriers with serum HBV-DNA and anti-Hbe. Gastroenterology, 1986; 90: 1268-73.
36. Brunetto M.R., Oliveri F., Colombatto P., et al., Treatment of chronic anti-Hbe-positive hepatitis B with interferon-alpha. J. Hepatol., 1995; 22: 42-44.
37. Manesis E.K., Hadziyannis S. J., Interferon-alpha treatment and retreatmentof hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. Gastroenterology, 2001; 121: 91-100.
38. Liaw Y.F., Chu C.M., Su I.J. et al., Clinical and histological events preceding hepatitis B e antigen seroconversion in chronic type B hepatitis. Gastroenterology, 1983; 84: 216-19.
39. Xinog X., Flores C., Yang H., et al., Mutations in hepatitis B DNA polymerase associated with resistance to lamivudine do not confer resistance to adefovir in vitro. Hepatology, 1998; 28: 1669-73.
40. Perrillo R., Schiff E., Yoshida E. et al., Adefovir dipivoxil for the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B mutants. Hepatology, 2000; 23: 129-34.
41. Torresi J., Locanini S., Antiviral chemotherapy for the treatment of hepatitis B virus infections. Gastroenterology, 2000; 118(suppl.): S83-S103.
42. Perrillo R., Schiff E., Yoshida E. et al., Adefovir dipivoxil for the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B mutants. Hepatology 2000; 32: 129-34.

23. Rodriguez-Frias F., Buti M., Jardi R., et al., Hepatitis B virus infection: precore mutants and its relation to viral genotypes and core mutations. Hepatology, 1995; 22: 1641-47.
24. Li J.S., Tong S.P., Wen Y.M., et al., Hepatitis B virus genotype A rarely circulates as an Hbe-minus mutant: possible contribution of a single nucleotide in the precore region. J. Virol., 1993; 67: 5402-10.
25. Grandjacques C., Pradat P., Stuyver L., et al., Rapid detection of genotypes and mutations in the pre-core promoter and the pre-core region of hepatitis B virus genome: Correlation with viral persistence and disease severity. J. Hepatol., 2000; 33: 430-39.
26. Cabrerizo M., Bartolome J., Inigo E.R., et al., Analysis of the hepatitis B virus precore and ORF-X sequences in patients with antibody to hepatitis B e antigen with and without normal ALT levels. J. Med. Virol., 1998; 56: 294-99.
27. Triki H., Ben Slimane S., Ben Mami N. et al., High circulation of hepatitis B virus (HBV) precore mutants in Tunisia, North Africa. Epidemiol. Infect., 2000; 125: 169-74.
28. Bozdayi A.M., Bizkaya H., Turkyilmaz A. et al., Polymorphism of precore region of hepatitis B virus DNA among patients with chronic HBV infection in Turkey. Infection, 1999; 27: 357-60.
29. Chan H.L., Hussain M., Lok A.S., Different hepatitis B virus genotypes are associated with different mutations in the core promoter and precore regions during hepatitis B e antigen serovonversion. Hepatology, 1999; 29: 976-84.
30. Butterworth L.A., Prior S.L., Buda P.J.,et al., Cooksley urement of hepatitis B viral DNA. J. Hepatol., 1996; 24: 686-91.
31. Pawlotsky J.M., Bastie A., Lonjon I., et al., What techniques should be used for routine detection and quantification of HBV DNA in clinical samples? J.Virol. Methods, 1997; 65: 245-253.
32. Brunetto M.R., Oliveri F., Rocca G. et al., Natural