

· 临床论著 ·

恩替卡韦耐药位点阳性患者的回顾性分析

徐飞 孙喜斌 何艳群 周淳 孙继云 宋淑静 陆瑶 蔡皓东

【摘要】目的 探讨 ETV 变异位点及其相关临床意义。方法 对本院临床实验室 PCR 室 2013 年 1 月至 2013 年 7 月使用 PCR 产物直接测序法检测出的 18 例 HBV 多聚酶序列 ETV 耐药位点 [T184、S202 和 (或) M250] 变异阳性患者的临床状况进行回顾性分析。结果 18 例患者中有 7 例 (38.9%) 肝硬化患者, 16 例 (88.9%) 为核苷 (酸) 类药物经患者, 且大多在 LAM 或 LdT 治疗失败后采取单药序贯治疗, 部分患者的治疗依从性差。12 例患者为典型的 ETV 耐药位点变异, 均为 (L180M + M204V) + T184A/L 或 S202G 变异, 其中 12 例 (66.7%) 患者检测出 T184 位点变异, 6 例患者 (33.3%) 检测出 S202 变异, 未检测到 M250 位点的变异。有 6 例患者为不典型的 ETV 耐药位点变异, 仅检出 T184 单一位点变异, 此 6 例患者既往均未服用过 ETV 治疗。结论 核苷 (酸) 类药物经治患者单药序贯治疗及患者的依从性差是 ETV 耐药发生的主要原因。ETV 耐药一般在 L180M + M204V 变异的基础上再加上 T184、S202 和 (或) M250 位点变异, 但 M250 位点变异少见, 而单一 T184 位点变异阳性并不代表对 ETV 产生耐药。

【关键词】 肝炎病毒, 乙型; 抗病毒治疗; 恩替卡韦; 病毒变异; 耐药

Retrospective analysis on the drug resistance of patients with entecavir points mutations positive XU Fei, SUN Xibin, HE Yanqun, ZHOU Zhun, SUN Jiyun, SONG Shujing, LU Yao, CAI Haodong. *Clinical Laboratory, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China*
Corresponding author: CAI Haodong, Email: chddt@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between the ETV mutation loci and clinical and its clinical significance. **Method** In our hospital clinical laboratory PCR room in between January 2013 and July 2013, the sequence of 18 cases of HBV polymerase ETV resistance loci (T184, S202 and/or M250) mutations detected by PCR product direct sequencing method in patients with positive clinical condition were analyzed, retrospectively. **Results** There were 7 (38.9%) cases among 18 cases of patients with cirrhosis, 16 (88.9%) cases were a nucleoside (acid) drugs by patients, and largely in LAM or LdT treatment failure after treated with single-agent sequential, part of the treatment of patients with poor compliance. There were 12 patients for typical ETV resistance loci mutation, who with (L180M + M204V) + T184A/L or S202G variations, 12 (66.7%) cases were detected T184 locus mutation while 6 (33.3%) cases were detected the S202 variation, and no M250 locus mutation were found. Six patients was not typical of ETV resistance loci mutation, only check out T184 single locus mutation, These 6 cases were treated without ETV. **Conclusions** Nucleoside (acid) drugs via treated patients with single-agent sequential treatment, and patients with poor compliance is the main cause of ETV resistance occurs. Born in L180M + ETV resistance in M204V variation on the basis of plus T184, S202 and/or M250 locus mutation, but rare M250 variant, and positive does not represent a single T184 variant of ETV could occasionally result in drug resistance.

【Key words】 Hepatitis B virus; Antiviral treatment; Entecavir; Virus variation; Drug resistance

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2014.02.018

作者单位: 100015 北京, 首都医科大学附属北京地坛医院检验科

通讯作者: 蔡皓东, Email: chddt@163.com

恩替卡韦 (entecavir, ETV) 为鸟嘌呤核苷类似物, 对乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 多聚酶具有较强的抑制作用, 且有较高的耐药屏障, 被美国和欧洲推荐为治疗慢性乙型肝炎的口服抗病毒一线药物^[1-2]。ETV 耐药罕见, 其耐药需要在拉米夫定 (lamivudine, LAM) 耐药的基础上 (M204I/V 和 L180M 变异), 再加上至少 1 个 ETV 耐药位点 [T184、S202 和 (或) M250] 变异, 才能构成具有临床意义的 ETV 耐药^[3-5]。T184、S202 和 M250 属于恩替卡韦特异性耐药位点。这些位点变异与临床状况关系的研究尚少。本文对本院临床实验室检测出 ETV 耐药位点 [T184、S202 和 (或) M250] 变异的患者进行回顾性分析, 探讨这些耐药位点的临床意义。

资料与方法

一、资料来源

本研究资料来源于 2013 年 1 月至 2013 年 7 月本院临床实验室 PCR 室使用 PCR 产物直接测序法^[6]检测的标本, 共 493 份, 检测出含有 HBV 多聚酶序列 ETV 耐药位点 [T184、S202 和 (或) M250] 变异阳性标本共 18 份, 占 3.65%。通过医院信息系统 (hospital information system, HIS) 检索、走访医生和随访患者, 回顾 ETV 耐药位点变异阳性患者的治疗情况和转归, 探讨 ETV 耐药位点检测的临床意义。

二、检测方法

1. HBV 血清标记物和 HBV DNA 的检测: HBsAg、HBsAb 的检测仪器为美国雅培公司 ARCHITECT i2000SR 全自动免疫分析仪及配套试剂和质控物。HBV DNA 检测仪器为罗氏生物公司的 Light cycler 480 基因扩增仪。HBV DNA 检测试剂盒购自上海科华生物公司, 该试剂盒的检测下限为 5×10^2 拷贝/ml。

2. HBV DNA 的提取: 采用“酚-氯仿提取法”, 血清 200 μ l, 加裂解液 200 μ l (100 mmol/L Tris-HCl, 2 mmol/L 乙二胺四乙酸, 1% 十二烷基硫酸钠, 2 mg/ml 蛋白酶 K), 56 $^{\circ}$ C 消化 3 h, 加 400 μ l 酚/氯仿/异戊醇 (25:24:1), 震荡混匀后 13 000 r/min 离心 10 min ($r = 12$ cm); 取上清液, 加入等量异丙醇, -20 $^{\circ}$ C 沉淀 2 h, 13 000 r/min 离心 10 min, 弃上清液; 75% 预冷乙醇漂洗, 真空抽干, 沉淀物溶于 20 μ l TE 缓冲液, -20 $^{\circ}$ C 保存。

3. 引物设计及 PCR 扩增: 参照文献设

计对引物进行巢式 PCR 扩增。外侧引物为 BP1 (5'-CTGCTGGTGGCTCCAGTT-3') 和 BP2 (5'-CAATACCACATCATCCAT-3') 目的片段长度为 1410 bp 位于核苷酸序列的 2829 ~ 1017 位。内侧引物为上游引物 NS1: 5'-TTCTIGGGAACAAGAGCTAC-3'。下游引物 NS2: 5'-GCAAACCCCAAAAGAGCCACAAT-3'。nt 836-819。第 1 次 PCR 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 热启动 5 min, 98 $^{\circ}$ C 变性 10 s, 50 $^{\circ}$ C 退火 15 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 30 个循环 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。反应结束后取 7 μ l 样品进行第 2 次 PCR 扩增, 反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 热启动 15 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 20 s, 52 $^{\circ}$ C 退火 20 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 20 s, 30 个循环 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。巢式 PCR 反应结束后, 以 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳, 扩增条带约为 800 bp, 如获得特异性条带, 则对 PCR 产物进行纯化, 备用。

4. PCR 扩增产物测序: 将扩增得到的特异性条带由北京三博远志公司进行测序。

5. 结果判读: 采用 BIOEDIT 以及 Contig Express 软件对结果进行整理拼接后进行判读。

三、ETV 耐药性变异的诊断

典型的 ETV 耐药位点变异: 在拉米夫定耐药的基础上 (M204I/V 和 L180M 变异), 再加上至少 1 个 ETV 耐药位点 [T184、S202 和 (或) M250] 的变异^[3-5]。

不典型的 ETV 耐药位点变异: 仅检测到 T184、S202 和 (或) M250 位点变异, 而未检测到 M204I/V 和 L180M 位点变异。

结 果

一、患者的一般资料

本研究中 18 例患者中 10 例为男性, 8 例为女性; 7 例 (38.9%) 患者诊断为肝硬化, 其中 3 例患者合并肝细胞癌; 4 例患者 HBeAg 阴性, 均为肝硬化患者, 其余患者的 HBeAg 均为阳性。

从患者既往治疗中可以看出, 18 例患者中有 16 例 (88.9%) 为核苷 (酸) 类药物经患者, 其中 11 例 (61.1%) 为 LAM 经治患者, 3 例 (16.7%) 为替比夫定 (telbivudine, LdT) 经治患者, 2 例 (11.1%) 为阿德福韦酯 (adefovir dipivoxil, ADV) 经治患者, 其中 9 例在既往 LAM 或 LdT 治疗失败后采取单药序贯治疗, 5 例在 LAM 或 LdT 耐药后直接换用 ETV 0.5 mg/d 单药治疗。有 4 例患者既往治疗依从性差, 间断或不规律服药, 或自行

表 1 18 例患者的基本情况及耐药位点的检测

序号	性别	年龄	诊断	HBeAg	既往用药史	ETV 服药时间	L180	M204	T184	S202	M250	目前治疗
1	女	62	肝硬化/ 肝癌	-	LAM→ADV→ETV (0.5 mg/d)	6 年	M	V		G		ETV + ADV
2	男	35	肝硬化/ 肝癌	+	INF→LAM+ADV→停药	未服 ETV			A			LAM + ADV
3	男	51	肝硬化/ 肝癌	-	LAM	未服 ETV	M	V		I		LAM + ADV
4	男	49	肝硬化	-	LAM (依从性差) → LAM+ADV → 肾损害 → ETV (1.0 mg/d)	4 年	M	V	L			ETV + ADV
5	男	61	肝硬化	-	LAM	未服 ETV			L			LAM + ADV
6	男	51	肝硬化	+	LAM→ETV (0.5 mg/d)	3 年	M	V	L			ETV + ADV
7	女	57	肝硬化	+	无	未服 ETV			A			ETV
8	女	48	慢性肝炎	+	ETV (0.5 mg/d) (间断服药)	4 年	M	V		G		ADV
9	男	47	慢性肝炎	+	INF+LAM→ETV (0.5 mg/d)	4 年	M	V		G		ETV + ADV
10	男	31	慢性肝炎	+	LAM→ADV→ETV (0.5 mg/d)	4 年	M	V		G		ETV + ADV
11	男	49	慢性肝炎	+	LAM→ETV (0.5 mg/d)	3 年	M	V	A			ETV + ADV
12	女	64	慢性肝炎	+	LAM→ADV→INF→ETV(0.5 mg/d)	2.5 年	M	V	L			ETV + ADV
13	女	38	慢性肝炎	+	LAM→ADV→ETV (依从性差)	1 年	M	V		G		ETV+ADV
14	男	48	慢性肝炎	+	LdT→ETV (0.5 mg/d)	5 年	M	V	A			ETV+ADV
15	女	41	慢性肝炎	+	LdT→ETV (0.5 mg/d)	3 年	M	V	L			ETV+ADV
16	女	34	慢性肝炎	+	LdT	未服 ETV			A			LdT+ADV
17	男	26	慢性肝炎	+	ADV	未服 ETV			A			ETV
18	女	32	慢性肝炎	+	ADV	未服 ETV			A			ETV

注: LAM: 拉米夫定; ADV: 阿德福韦酯; ETV: 恩替卡韦; INF: 干扰素; LdT: 替比夫定

停药, 见表 1。

二、耐药位点的检测

18 例患者耐药位点的检测详见表 1。结果显示, 18 例患者中有 12 例 (66.7%) 检测出 T184 位点变异, 7 例为 T184A 变异, 5 例为 T184L 变异; 6 例 (33.3%) 检测出 S202 变异, 其中 1 例为 S202I, 其余均为 S202G; 未检测到 M250 位点的变异。说明 T184 和 S202 是恩替卡韦耐药相关的最常见变异位点。

12 例患者为典型的 ETV 耐药位点变异, 均为 (L180M + M204V) + T184A/L 或 S202G 变异。这些患者在临床上也均有典型的耐药表现, 其 HBV DNA 均比治疗的最低点反弹 $> 1 \log_{10}$ 拷贝/ml^[7-8], 其中 11 例在服用 ETV 治疗 1~6 年 (中位数 4 年) 后发生耐药, 仅 1 例患者未曾用过 ETV 治疗, 在服用 LAM 耐药后检测到典型的 ETV 耐药性变异。6 例患者为不典型的 ETV 耐药位点变异, 其中 5 例为 T184A 变异, 1 例为 T184L 变异, 无 1 例检测到 S202 位点变异。这些患者既往均未服用过 ETV 治疗。

7 例未曾用过 ETV 治疗的患者检测到 T184 或 S202 位点变异者中, 其中 4 例为肝硬化患者。

12 例典型的 ETV 耐药位点变异患者中有 9 例患者在耐药后采用 ETV + ADV 联合治疗, 其中 7 例 HBV DNA 下降至低于检测下限; 2 例患者因治疗费用问题分别采用 LAM + ADV 联合治疗或 ADV 单药治疗, 其 HBV DNA 均未下降到低于检测值下限。1 例患者既往服用 LAM 治疗, 因治疗依从性差导致耐药, 改用 LAM + ADV 联合治疗 3 年后出现 ADV 相

关性肾损害, 血清肌酐水平升高, 血磷降低, 改用 ETV 1.0 mg/d 治疗, 但 4 年后发生 ETV 耐药, 目前仍继续服用 ETV 治疗, 肝功能正常, HBV DNA 为 5.34×10^4 拷贝/ml。

6 例不典型的 ETV 耐药位点变异的 2 例患者中有 2 例为 ADV 经治, 因 ADV 单药疗效不佳进行耐药位点的检测, 未检测到 ADV 耐药位点的变异, 而检测到 T184A 位点变异, 改用 ETV 治疗后, HBV DNA 均下降到 < 500 拷贝/ml。1 例患者为核苷 (酸) 类药物初治患者, 在治疗前进行病毒序列的检测, 发现 T184A 变异, 仍选择 ETV 治疗, 6 个月后 HBV DNA < 500 拷贝/ml。1 例患者既往干扰素治疗失败, 改用 LAM + ADV 治疗后 HBV DNA 下降到 < 500 拷贝/ml, 但患者自行停药, 导致 HBV DNA 反弹, 检测病毒序列, 发现 T184A 位点变异, 再次服用 LAM + ADV 治疗, HBV DNA 再次下降到低于检测下限。1 例患者在服用 LAM 治疗 2 年后耐药, 未检测到 M204I/V 和 L180M 变异, 检测到 T184L 变异, 8 个月后患者的 HBV DNA < 500 拷贝/ml。1 例患者服用 LdT 治疗 10 个月, HBV DNA 仍 $> 1 \times 10^4$ 拷贝/ml, 检测病毒序列, 发现 T184A 变异, 加用 ADV 联合治疗后 HBV DNA < 500 拷贝/ml。

讨 论

近年来, 核苷 (酸) 类药物逐渐成为治疗 HBV 感染的主要药物, 具有口服给药、方便、有效和不良反应少等优点。但是, 由于这些药物不能清除乙型肝炎病毒的共价闭合环状 DNA (ccc

DNA)的复制模板作用,停药后病毒则重新活动,导致HBV DNA反弹,因此,需要长期治疗。而长期应用该类药物则可能增加病毒耐药风险。ETV对HBV有强大的抑制,且耐药的发生率较低,对核苷(酸)类药物初治患者治疗5年累积基因型耐药的发生率仅为1.2%^[9]。但是,近年来由于PCR产物直接测序法在临床上的广泛应用,ETV耐药相关的变异位点时有检出,研究这些位点变异与临床状况的关系及其临床意义可以更好地指导临床治疗。

本研究显示,ETV耐药位点阳性的患者88.9%为核苷(酸)类药物经治患者,其中主要是LAM和LdT经治者。其原因已经与众所周知,M204位点是LAM和LdT这两种低耐药屏障药物耐药的主要变异位点,M204位点变异后常常发生补偿性L180M变异^[10],在这两个位点变异的基础上再出现一个ETV的耐药位点[T184、S202和(或)M250]变异则构成了具有临床意义的ETV耐药。而本文研究中14例LAM或LdT经治患者中有9例在耐药后选择了单药序贯治疗,因此,更易导致病毒耐药位点的变异。

本研究中38.9%(7/18)ETV耐药位点阳性的患者是乙型肝炎肝硬化患者,其中4例患者既往未曾用过ETV治疗,1例患者甚至为核苷(酸)类药物初治,但确检测出ETV耐药位点的变异。这可能因乙型肝炎肝硬化患者比慢性肝炎患者体内的HBV准种复杂度较高^[11],更易发生病毒变异,一些患者甚至在治疗前就预存有对药物耐药的病毒株^[12]。因此,乙型肝炎肝硬化患者在核苷(酸)类药物治疗选择时,更应该注意选择高耐药屏障的药物或初始联合治疗,以免病毒变异发生耐药。另外,治疗依从性差,间断或不规律服药,或自行停药也是导致耐药发生的原因之一。

Baldick等^[13]研究显示,典型的ETV耐药大多在M204V耐药基因突变的基础上发生,很少在M204I基因突变框架基础上发生。这与本研究结果相似。本研究中,典型的ETV耐药位点变异均存在L180M+M204V变异,未检测到M204I变异。这可能是由于M204I突变株仍保留了对ETV较高的敏感性。M204I变异是LdT耐药的主要变异形式。但本研究2例LdT经治的患者在序贯ETV治疗后发生ETV耐药,其M204位点的变异为M204V,而非M204I。其机制与LAM耐药后发生的ETV耐药相似。在LAM经治患者中M204I突变最常

见,其次是L180M+M204V突变,而ETV耐药却是以L180M+M204V突变占绝对优势。因此,刘妍等^[14]推测,在ETV耐药突变筛选过程中可能存在一个M204I突变向L180M+M204V突变转换的过程。本研究中T184和S202是恩替卡韦耐药相关的最常见变异位点,而M250位点变异少见。Mukaide等^[15]认为,L180M+M204V变异的同时联合T184位点或S202G(不是rtS202C)突变则改变了HBV与ETV结合区的空间构象,减小了ETV与靶点的结合力,是引发ETV治疗失败(病毒学突破)的关键因素,与本研究结果一致。

以往一些研究中曾发现,LAM长期治疗耐药的患者能够诱导出预存的ETV耐药位点突变,大多在T184位点的替换,而S202G少见。这些基因型突变形式在体外实验中并不都显示对ETV的高耐药特性^[3,16]。本研究中,6例未曾用过ETV治疗的患者检测到T184变异,以T184A变异为主,无患者检测到S202位点变异。6例患者中有3例使用ETV治疗,仍有良好的抗病毒疗效。这进一步证实了仅有T184位点变异的患者并不代表体内的HBV对ETV产生耐药,仍可选择ETV治疗。但由于观察时间较短,对这些患者长期治疗的耐药性尚无法确定。

美国和欧洲的乙型肝炎管理指南建议,ETV耐药后应换用或加用替诺福韦酯(tenofovir disoproxil, TDF)治疗,也可以换用TDF和恩曲他滨的复合制剂治疗^[1-2]。但由于TDF及Truvada均未在我国上市,因此,我国《慢性乙型肝炎防治指南》建议,乙型肝炎患者在ETV耐药后应该加用ADV联合治疗^[17]。本研究也证实,ETV耐药的患者加用ADV联合治疗是有效的,77.8%(7/9)的患者达到了病毒学完成应答的疗效,而采用LAM+ADV、ETV 1.0 mg/d或序贯ADV单药治疗均不能有效地抑制HBV复制。

总之,本研究进一步证实,ETV耐药多发生在核苷(酸)类药物经治患者中,患者的治疗依从性差和耐药后选择单药序贯治疗是ETV耐药发生的主要原因。乙型肝炎肝硬化患者在治疗前有可能因为准种复杂度较高或预存耐药病毒株,更容易发生耐药。ETV耐药一般在生在L180M+M204V变异的基础上再加上T184、S202和(或)M250位点变异,但M250位点变异少见。仅有T184位点变异的患者并不代表体内的HBV对ETV产生耐药,仍可选择ETV治疗,但其长期疗效有待进一步观察。

参考文献

- 1 Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009[J]. *Hepatology*,2009,50(3):661-662.
- 2 European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B virus infection[J]. *J Hepatol*,2012,57(1):167-185.
- 3 Tenney DJ, Rose RE, Baldick CJ, et al. Two-year assessment of entecavir resistance in lamivudine-refractory hepatitis B virus patients reveals different clinical outcomes depending on the resistance substitutions present[J]. *Antimicrob Agents Chemother*,2007,51(3):902-911.
- 4 Locarnini S. Primary resistance, multidrug resistance, and cross-resistance pathways in HBV as a consequence of treatment failure[J]. *Hepatol Int*,2008,2(2):147-151.
- 5 Mukaide M, Tanaka Y, Shin-I T, et al. Mechanism of entecavir resistance of hepatitis B virus with viral breakthrough as determined by long-term clinical assessment and molecular docking simulation[J]. *Antimicrob Agents Chemother*,2010,54(2):882-889.
- 6 薛瑞霞, 张缙云, 杨松, 等. 恩替卡韦治疗后出现病毒学突破的慢性乙型肝炎患者的耐药分析[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志: 电子版*,2009,3(2):9-12.
- 7 Pawlotsky JM, Dusheiko G, Hatzakis A, et al. Virologic monitoring of hepatitis B virus therapy in clinical trials and practice: recommendations for a standardized approach[J]. *Gastroenterology*,2008,134(2):405-415.
- 8 Lok AS, Zoulim F, Locarnini S, et al. Antiviral drug-resistant HBV: standardization of nomenclature and assays and recommendations for management[J]. *Hepatology*,2007,46(1):254-265.
- 9 Tenney DJ, Rose RE, Baldick CJ, et al. Long-term monitoring shows hepatitis B virus resistance to entecavir in nucleoside-naive patients is rare through 5 years of therapy[J]. *Hepatology*,2009,49(5):1503-1514.
- 10 Delaney WE 4th, Yang H, Westland CE, et al. The hepatitis B virus polymerase mutation rtV173L is selected during lamivudine therapy and enhances viral replication in vitro[J]. *J Virol*,2003,77(21):11833-11841.
- 11 姚碧莲, 刘峰, 黄素园, 等. 乙型肝炎病毒感染不同状态下血清病毒反转录酶区准种特点及其临床意义[J]. *中华传染病杂志*,2011,29(12):717-722.
- 12 Han Y, Huang LH, Liu CM, et al. Characterization of hepatitis B virus reverse transcriptase sequences in Chinese treatment naive patients[J]. *J Gastroenterol Hepatol*,2009,24(8):1417-1423.
- 13 Baldick CJ, Eggers BJ, Fang J, et al. Hepatitis B virus quasispecies susceptibility to entecavir confirms the relationship between genotypic resistance and patient virologic response[J]. *J Hepatol*,2008,48(6):895-902.
- 14 刘妍, 李庆虹, 李乐, 等. 慢性HBV感染患者恩替卡韦基因型耐药突变特征分析[J]. *解放军医学杂志*,2010,35(6):621-624, 628.
- 15 Mukaide M, Tanaka Y, Shin-I T, et al. Mechanism of entecavir resistance of hepatitis B virus with viral breakthrough as determined by long-term clinical assessment and molecular docking simulation[J]. *Antimicrob Agents Chemother*,2010,54(2):882-889.
- 16 Sherman M, Yurdaydin C, Simsek H, et al. Entecavir therapy for lamivudine-refractory chronic hepatitis B: improved virologic, biochemical, and serology outcomes through 96 weeks[J]. *Hepatology*,2008,48(1):99-108.
- 17 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[J]. *中华肝脏病杂志*,2011,19(1):13-24.

(收稿日期: 2013-10-22)
(本文编辑: 孙荣华)

徐飞, 孙喜斌, 何艳群, 等. 恩替卡韦耐药位点阳性患者的回顾性分析[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志: 电子版*, 2014, 8(2): 227-231.

中华医学会