

# **AVALIAÇÃO DO USO DA SALIVA PARA O DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO E MOLECULAR DO VÍRUS DA HEPATITE B (VHB): uma revisão sistemática**

Ingrid Laise Vivas silva<sup>1</sup>

Gisele Barreto Lopes Menezes<sup>2</sup>

## **RESUMO**

**Objetivo:** avaliar quais os métodos de diagnósticos sorológicos e moleculares podem ser utilizados na detecção do VHB na saliva. **Metodologia:** Este estudo trata-se de uma revisão sistemática a qual utilizou para a elaboração da metodologia as bases de dados eletrônicas SciELO, LILACS e PUBMED, sendo os descritores de assunto em ciências da saúde (DECs) utilizando para as buscas das palavras chaves em português: Saliva, VHB, Detecção de Antígenos AgHBs e suas correspondentes em inglês. Os critérios utilizados para a inclusão foram artigos publicados na língua portuguesa e inglesa nos períodos de 2005 e 2018 e os critérios exclusão: foram artigos de revisão e não disponíveis na íntegra. **Conclusão:** Conclui-se que as técnicas de diagnóstico sorológico e molecular podem ser utilizadas para avaliação da saliva no diagnóstico do VHB, todavia o ELISA é o método mais eficaz tanto para o soro como para a saliva, outros estudos devem ser realizados para analisar as outras técnicas as quais são PCR, os biossensores e testes rápidos.

**Palavras-chave:** VHB. Saliva. Antígenos. Métodos diagnósticos.

## **1. INTRODUÇÃO**

A infecção pelo vírus da hepatite B (VHB) é uma das doenças populacionais mais relevantes, estima-se que 257 milhões de pessoas estejam infectados pelo VHB (OMS, 2016). Os indivíduos infectados podem desenvolver cirrose, carcinoma hepatocelular e outras lesões hepáticas (TRÉPO; CHAN; LOK, 2014). O vírus da hepatite B classifica-se como membro da família Hepadnaviridae, é um pequeno vírus de ácido desoxirribonucleico (DNA) circular de fita simples que se replica através de um intermediário de ácido ribonucleico (RNA) podendo integrar-se ao genoma do hospedeiro (BECK *et al.*, 2007).

A transmissão do VHB ocorre através sangue e outros fluidos corpóreos contaminados. A presença do antígeno de superfície da hepatite B (AgHBs) é

<sup>1</sup> Biomédica, Universidade Católica do Salvador - UCSAL, ingrid.laise@hotmail.com.

<sup>2</sup> Bióloga. Mestre em Patologia Humana e Experimental, UFBA. Doutoranda em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, UFBA. Docente Assistente da UCSAL, gisele.menezes@pro.ucsal.br.

detectado em várias secreções humanas: saliva, lágrimas, suor, espermatozoides, urina e fezes (KIDDLJUNGGREN *et al.*, 2006). A saliva representa um importante veículo na infecção da hepatite do tipo B adquirida pela via não parenteral a transmissão pode ainda ocorrer pelo ar, através de grandes gotas expelidas por espirros, tosse, beijos ou contato com brinquedos e doces mastigados entre as crianças (KRASTEVA *et al.*, 2013).

A partícula infecciosa do VHB denominada (partícula Dane), consiste de um envelope lipídico envolvido em um nucleocapsídeo interno complexado com a polimerase codificada viralmente do genoma de DNA viral (GERLICH *et al.*, 1980). Do ponto de vista estrutural o vírus apresenta diferentes antígenos (Ag): o Ag de superfície AgHBs, o Ag do core (AgHBc) e Ag centrais, que podem ser secretados como a proteína de envelope (AgHBe). Os anticorpos de correlatos, como o anticorpo contra o antígeno de superfície (anti-HBs), anticorpos totais contra o core do vírus (anti-HBc) IgM e IgG e anticorpo produzido contra a proteína de envelope (anti-HBe) são essenciais para o diagnóstico e o acompanhamento da infecção pelo VHB (DIENSTAG *et al.*, 2008).

O diagnóstico laboratorial da hepatite B é feito através da detecção dos constituintes do vírus, nas diferentes fases evolutivas da infecção, destaca-se que o protocolo de diagnóstico usual para VHB é realizado no sangue. Várias técnicas são empregadas no diagnóstico, através de testes sorológicos (pesquisa de antígenos e anticorpos) e moleculares (pesquisa qualitativa e quantitativa do DNA viral). No teste sorológico como por exemplo os testes rápidos (TR) os quais podem ter vantagens em relação aos procedimentos laboratoriais padrão, vem aumentando o acesso ao diagnóstico, especialmente entre populações expostas e muitas vezes moradores em áreas de difícil acesso (CRUZ *et al.*, 2015).

O presente estudo mostra-se relevante sob o caráter científico e em nível de saúde pública, pois busca contribuir no entendimento sobre a possibilidade do uso da saliva a qual permite o diagnóstico menos invasivo do vírus da hepatite B, contribuindo assim para os indivíduos com dificuldades de acesso para a coleta de sangue, como exemplo obesos e pacientes hemodialisados. Partindo desse contexto este estudo consiste em avaliar quais os métodos de diagnósticos sorológicos e moleculares podem ser utilizados na detecção do VHB na saliva.

Esse estudo é uma revisão sistemática que utilizou com bases de dados eletrônicas Scientific Electronic Library Online (SciELO), Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) e Serviço da U.S. National Library of Medicine (MEDLINE). Os descritores de assunto em ciências da saúde (DECs) utilizados para as buscas em português foram: Saliva, VHB, detecção de Antígenos e seus correspondentes em inglês: saliva, VHB, detection and antigen. No rastreamento das publicações foram utilizados os operadores booleanos “AND” e “OR”, de modo a combinar com os descritores citados acima.

Os critérios de inclusão utilizados foram artigos publicados na língua portuguesa e inglesa, no período entre 2005 e 2018 que abordavam métodos de diagnóstico da infecção pelo VHB em amostras de saliva. Os critérios de exclusão foram artigos de revisão e não disponíveis na íntegra.

A seleção dos artigos para a pesquisa foi realizada em três etapas: na primeira etapa foram pré-selecionados os artigos encontrados pelas ferramentas de busca através da leitura dos títulos e resumos que preenchessem os critérios de inclusão. Na segunda etapa os artigos selecionados foram lidos na íntegra pelos autores e, através da aplicação dos critérios de inclusão, foi determinado quais artigos seriam incluídos. Na terceira etapa, os artigos incluído foram lidos na íntegra e fichados para a coleta dos dados. Desde artigos, foram coletados os seguintes dados: a) métodos diagnósticos; b) testes rápidos (TR); c) VHB-DNA em amostra salivar. Os dados coletados das publicações foram apresentados através de tabelas e gráficos.

A construção deste artigo consistiu-se através do checklist PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) (MOHER *et al.*, 2009).

## **2. DESENVOLVIMENTO E APRESENTAÇÃO DE RESULTADOS**

Ao realizar a busca nas bases de dados, foram obtidos um total de 48 artigos, dos quais 35 estão registrados no PubMed, cinco vinculam-se ao LILACS e por fim oito artigos encontra-se na base de dados SciELO. Destes nove foram excluídos após análise dos títulos por não se relacionarem ao tema, restaram 39 artigos que

foram pré-selecionados após a leitura do resumo, dos quais 16 deles foram excluídos por não possuir conteúdo compatível aos objetivos estabelecidos no presente estudo. 23 artigos foram selecionados para serem lidos na íntegra, 14 deles foram excluídos por fazerem associação com outras doenças e não utilizarem técnicas moleculares ou sorológicas, por conseguinte obteve-se um total de 9 artigos que foram incluídos na revisão sistemática, ressaltando que nenhuma publicação repetida foi encontrada entre as bases de dados. Este resultados são observados no fluxograma da Figura 1.

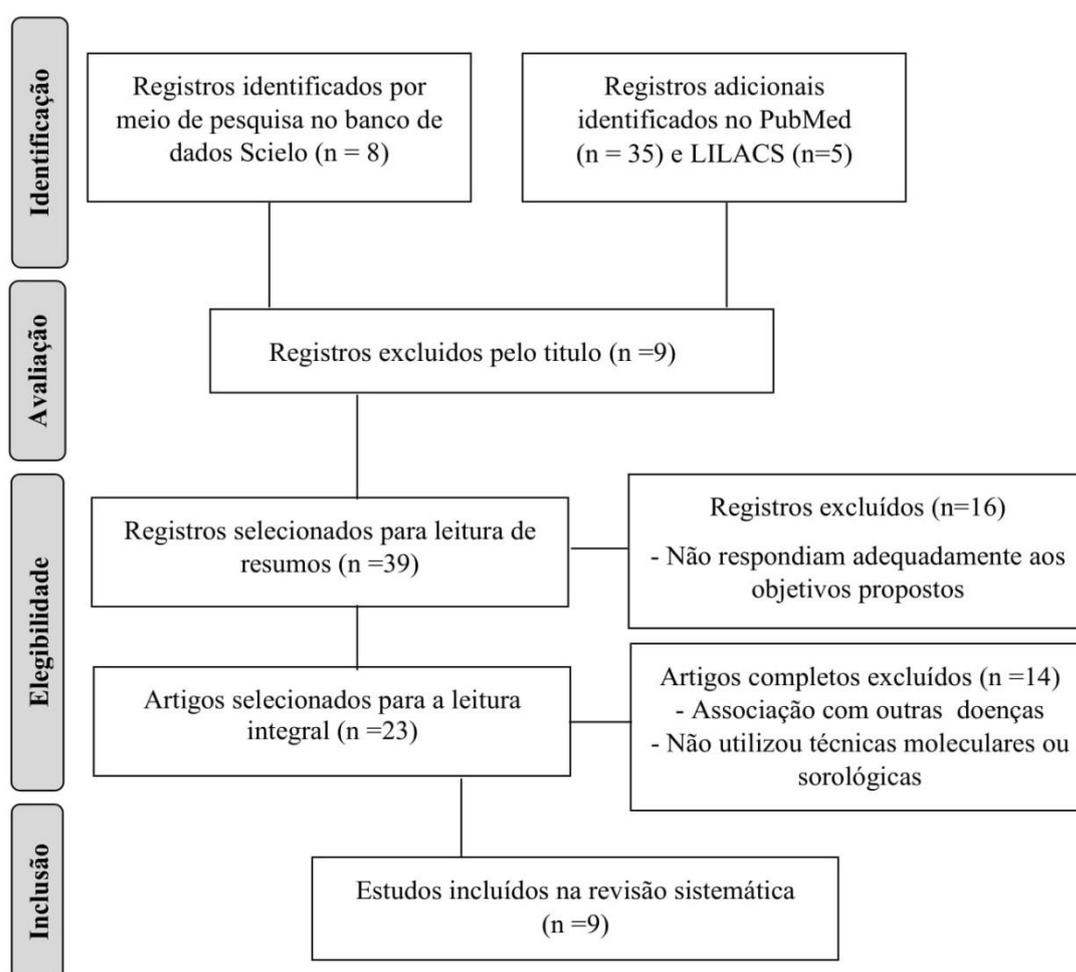


Figura 1 - Fluxograma do processo de seleção dos artigos incluídos na revisão sistemática.

As características das publicações de acordo com o autor, local, população bem como sua soropositividade para o antígeno (AgHBs) e valores significativos na utilização da técnica com as amostras de soro e saliva podem ser visualizados no

quadro 1. Nota-se que, independente dos objetivos dos artigos estudados todos eles utilizaram-se da técnica sorológica Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) que baseia-se em reações antígeno-anticorpo detectáveis por meio de reações enzimáticas (teste imunoenzimático), para identificação de anticorpos contra o VHB (Khadse *et al.*, 2016; Banvar *et al.*, 2014; Cruz *et al.*, 2011; Hutse *et al.*, 2005).

Quadro 1 - Resultados comparativos da utilização do ELISA anti-VHB nas amostras de soro e saliva em estudos publicados na literatura.

Autores/Ano	País	População	Positividade Soro % (N)	Positividade Saliva % (N)	Especificidade % (N)	Sensibilidade % (N)	Valor de P
KHADSE <i>et al.</i> , (2016)	Índia	40 soropositivos 40 soronegativos	100 (40)	100 (40)	100	100	p>0,0001
BANVAR <i>et al.</i> , (2014)	Índia	20 soropositivos 20 soronegativos	100 (20)	45 (9)	100	45	.*
CRUZ <i>et al.</i> , (2011)	Brasil	47 soropositivos 68 soronegativos	100 (47)	Fluido oral 85,1 (40) Saliva Total 93,6 (44)	Fluido oral 94,1 Saliva Total 92,6	Fluido oral 85,1 Saliva Total 93,6	p<0,05
HUTSE <i>et al.</i> , (2005)	Bélgica	43 soropositivos 73 soronegativos	100 (43)	90,7 (39)	100	90,7	.*

\* Não foi determinado pelo autor do artigo.

Fonte: Desenvolvido pelo Autor.

O presente estudo concluiu que a positividade na saliva através do ELISA apresentou uma variação entre o menor resultado obtido de 45% (Banvar *et al.*, 2014), e maior resultado de 85,1% a 100% (Khadse *et al.*, 2016; Cruz *et al.*, 2011; Hutse *et al.*, 2005). Em relação a sensibilidade capacidade que o teste diagnóstico apresenta de detectar os indivíduos verdadeiramente positivos, observou-se um menor valor com 45% e a especificidade capacidade que o teste diagnóstico tem de detectar os verdadeiros negativos, obteve uma melhor concordância com 100%. Foi observada significância estatística nos estudo de Segundo Khadse *et al.*, (2016) e Cruz *et al.*, (2011) sendo elas p>0,0001; p<0,05.

Quadro 2 - Características das publicações quanto ao método de diagnóstico sorológico e molecular do VHB.

<b>Autores/Ano</b>	<b>País</b>	<b>Método Diagnóstico/ Tipo de Técnica</b>	<b>População</b>	<b>Amostra Biológica</b>
CHO <i>et al.</i> , (2018)	Coreia do Sul	Biossensor / Técnica Molecular (Dispositivo Analítico)	*N/I	Amostra de soro e saliva
RIEDEL <i>et al.</i> , (2017)	*N/I	Biossensor / Técnica Molecular ( Dispositivo Analítico)	08 soronegativos	Amostra de soro e saliva
PORTILHO <i>et al.</i> , (2017)	Brasil	Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) / Técnica Molecular	32 soropositivos 42 soronegativos	Amostra de soro e saliva
CRUZ <i>et al.</i> , (2015)	Brasil	Teste Rápido (TR) / Técnica Sorológica	*N/I	Amostra de soro, sangue total e saliva
PORTILHO <i>et al.</i> , (2012)	Brasil	Reação em Cadeia Polimerase de (PCR) / Técnica Molecular	20 soronegativos	Amostra de soro e saliva

\*N/I : Não Informado

Fonte: Desenvolvido pelo autor

Dois artigos que foram incluídos nos resultados foram realizados no Brasil e pelo mesmo autor (Portilho *et al.*, 2017; Portilho *et al.*, 2012), em distintas épocas, mas com a mesma determinação pela Polymerase Chain Reaction (PCR) com a utilização da saliva. No estudo realizado por Portilho e colaboradores, em 2017, indivíduos com sorologia positiva para o VHB apresentaram detecção do VHB-DNA no soro de 100%. O autor utilizou diferentes kits para coleta da saliva como Tubo Salivette®, Cartões FTA® e Dispositivo DNA.SAL™, obtendo resultados de positividade por ELISA de 53,1% (17) utilizando tubo Salivette®, 50% (16) utilizando cartões FTA® e 40,6% (13) amostras obtidos com o dispositivo DNA.SAL™. Enquanto nos 42 indivíduos não reagentes para o AgHBs o VHBDNA não foi detectado nos soronegativos tanto nas amostras de soro ou nas amostras de fluido

oral, independente dos três dispositivos utilizados para coleta da saliva. Portanto, observou-se 100% de especificidade para detecção do VHB-DNA nas amostras de saliva independente do kit de coleta utilizado.

No entanto, a concordância geral entre a detecção do VHB-DNA em amostras de saliva em comparação com as amostras de soro foram baixas, variando de 40,6% a 53,1% a depender do dispositivo de coleta da saliva. Adicionalmente, entre os indivíduos detectáveis para o VHB-DNA um total de 90% dos indivíduos com carga viral elevada no soro tinham VHB-DNA em sua saliva (PORTILHO *et al.*, 2017).

No estudo de Portilho e colaboradores, em 2012, seu objetivo foi avaliar quatro métodos comerciais de extração de DNA e três protocolos de PCR para detecção do VHB em fluido oral artificialmente contaminado, sendo os protocolos de extração estabelecidos com base na facilidade de uso e custo. Os protocolos avaliados foram os Kits RTP® DNA/RNA Virus Mini e QIAamp® DNA Mini a qual obtiveram as maiores taxas de recuperação, apresentando 20 cópias de VHB-DNA como limite de detecção.

Os resultados demonstraram que o VHB-DNA pode ser detectado a partir de amostras de fluidos orais, mas que a otimização dos ensaios de PCR e a escolha dos métodos de extração devem ser determinados anteriormente de sua implementação. Os autores testaram dois métodos de amplificação de DNA, o nested-PCR e o semi-nested PCR otimizado, onde foi substituído um oligonucleotídeo na segunda rodada do PCR. As padronizações para isolamento de DNA da saliva e a otimização dos métodos de PCR, usando o semi-nested PCR, possibilitou a detecção do VHB-DNA de maneira satisfatória (PORTILHO *et al.*, 2012).

O estudo de Cruz e colaboradores, em 2015, demonstrou a utilização dos testes rápidos para o AgHBs no laboratório e no campo. Das amostras coletadas obtiveram um total de 1.503 amostras de soro, 1.268 sangue total e 502 amostras de saliva que foram incluídas nas análises, as quais foram usadas três tipos de testes rápidos (RTs) para detecção de AgHBs foram eles (Vikia® AgHBs, AgHBs e Teste Rápido® e Imuno-Rápido AgHBs®).

No geral, as especificidades de todos os TRs foram superiores a 97%, e as sensibilidades foram as mais baixas variando a 60%, se relacionarmos ao estudo de

prevalência que a pesquisa baseou-se. As amostras de saliva mediante ao ensaio ImunoRápido AgHBs® apresentou os maiores valores de concordância com o ELISA, o volume de amostra de saliva foi aumentado em todos os testes rápidos para melhorar a sensibilidade do ensaio, mas este procedimento não pôde ser traduzido em benefícios concretos (CRUZ *et al.*, 2015).

Os testes rápidos do AgHBs demonstraram excelente repetibilidade e reprodutibilidade em soro e amostras de saliva artificialmente contaminadas, demonstrando o bom desempenho destes ensaios em condições de laboratório. Contudo um alto número de resultados falsos positivos foi observado para os testes de todos os fabricantes, sabendo isso ressalta-se que os testes rápidos do AgHBs não foram originalmente desenvolvidos para amostras de saliva, o que também pode explicar a baixa concordância com os resultados do ELISA (CRUZ *et al.*, 2015).

Foram apresentados baixos desempenhos por meio do fluido oral mediante os resultados vistos nos métodos de TR (CRUZ *et al.*, 2015) e uma boa execução através de testes utilizando os biossensores (RIEDEL *et al.*, 2017; CHO *et al.*, 2018). Os biossensores desenvolvidos para a detecção de anticorpos como por exemplo contra hepatite B na saliva quando comparado com a análise convencional do soro sanguíneo, oferece a vantagem da coleta não invasiva de amostras (RIEDEL *et al.*, 2017).

De acordo com o artigo de Riedel e colaboradores, em 2017, os resultados se deram a partir de um estudo feito através de um biossensor desenvolvido para a detecção de anticorpos contra hepatite B na saliva clínica na análise não invasiva de anticorpos anti-HBs em amostras clínicas de saliva, sendo as mesmas coletadas de oito doadores saudáveis que foram vacinados ou não vacinados contra Hepatite B, o título de anticorpos anti-HBs no soro foi testado utilizando imunoensaios ligados a enzima, sendo o soro coletado dos mesmos doadores e ao mesmo tempo da saliva.

Os resultados da análise da fluorescência com plasma avançado (PFE) de amostras de saliva indicam que amostras de saliva altamente positivas, podem ser discriminadas de forma confiável de amostras negativas. O biossensor mostrou excelente resistência à incrustação de amostras de saliva e permitiu distinguir saliva clínica altamente positiva respectiva resposta ELISA sérica e amostras de saliva clínica negativa (RIEDEL *et al.*, 2017).

Cho e colaboradores (2018) descreve um sensor transistor de efeito de campo (FET) baseado em nanofilme condutivo multidimensional (MCNF) para detecção de AgHBs, apresentando uma flexibilidade sendo altamente seletivo em misturas de moléculas interferentes, como soro humano diluído e saliva artificial. Além disso, em tempo real curvas de sensibilidade também são obtidas em ambientes com saliva artificial a qual este sensor pode distinguir AgHBs, mostrando potencial para o diagnóstico não invasivo de VHB na infecção, relaciona-se este estudo a importância do uso do biossensor na monitorização da hepatite sérica onde o nível de AgHBs é fundamental para o diagnóstico da infecção pelo VHB.

O mecanismo deste biossensor se dá por uma corrente de operação da proteção retardada contra curto-circuito de curta duração (Isd) a qual é claramente alterada quando a saliva artificial com 1 fM de AgHBs é injetada no eletrólito de salina tamponada com fosfato (PBS). A área de superfície ativada maximizada proveniente de nanofios de polipirrol de carboxila orientados verticalmente (CPPyNW) aumenta a quantidade de decoração dos aptâmeros de ligação a AgHBs e aumenta sua afinidade com o analito alvo (molécula de AgHBs). Como resultado, o aptasensor MCNF sugere alta sensibilidade (~ 10 aM) ao AgHBs que é de 10<sup>1</sup> a 10<sup>5</sup> vezes maior do que a de outros sistemas de sensores (CHO *et al.*, 2018).

### **3. CONCLUSÃO OU CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Conclui-se que as técnicas de diagnóstico sorológico e molecular podem ser utilizadas para avaliação da saliva no diagnóstico do VHB, todavia o ELISA é o método mais eficaz tanto para o soro como para a saliva, outros estudos devem ser realizados para analisar as outras técnicas as quais são PCR, os biossensores e testes rápidos.

### **REFERÊNCIAS**

BANVAR SR, Gurram SV. Saliva as a diagnostic tool for hepatitis B infection-A comparative ELISA study. International Journal of Scientific and Research Publications. 2014.

BECK, Juergen; Nassal Michael. Hepatitis B virus replication. World Journal Of Gastroenterology, [s.l.], v. 13, n. 1, p.48-64, 2007.

CHO, Kyung Hee et al. Multidimensional Conductive Nanofilm-Based Flexible Aptasensor for Ultrasensitive and Selective AgHBs Detection. *Acs Applied Materials & Interfaces*, [s.l.], v. 10, n. 34, p.28412-28419, 6 ago. 2018.

CRUZ, Helena Medina et al. Evaluating AgHBs rapid test performance for different biological samples from low and high infection rate settings & populations. *Bmc Infectious Diseases*, [s.l.], v. 15, n. 1, p.1-10, 30 nov. 2015.

CRUZ, Helena Medina et al. Evaluation of saliva specimens as an alternative sampling method to detect hepatitis B surface antigen. *Journal Of Clinical Laboratory Analysis*, [s.l.], v. 25, n. 2, p.134-141, 2011.

DIENSTAG, Jules L.. Hepatitis B Virus Infection. *New England Journal Of Medicine*, [s.l.], v. 359, n. 14, p.1486-1500, 2 out. 2008.

GERLICH, W. Hepatitis B virus contains protein attached to the 5' terminus of its complete DNA strand. *Cell*, [s.l.], v. 21, n. 3, p.801-809, out. 1980.

HUI, Alex Y. et al. Transmission of hepatitis B by human bite—Confirmation by detection of virus in saliva and full genome sequencing. *Journal Of Clinical Virology*, [s.l.], v. 33, n. 3, p.254-256, jul. 2005.

HUTSE, Veronik et al. Oral fluid as a medium for the detection of hepatitis B surface antigen. *Journal Of Medical Virology*, [s.l.], v. 77, n. 1, p.53-56, 2005.

KHADSE, Smita V. Evaluation of Specificity and Sensitivity of Oral Fluid for Diagnosis of Hepatitis B. *Journal Of Clinical And Diagnostic Research*, [s.l.], p.12-14, 2016.

KIDD-LJUNGGREN, K. et al. High levels of hepatitis B virus DNA in body fluids from chronic carriers. *Journal Of Hospital Infection*, [s.l.], v. 64, n. 4, p.352-357, dez. 2006.

KRASTEVA, Assya et al. EVALUATION OF VHB DNA LEVELS IN SALIVA IN SUBJECTS WITH DIFFERENT VIREMIA AS WELL AS DURING PEGINTERFERON  $\alpha$ 2a THERAPY. *Journal Of Imab - Annual Proceeding (scientific Papers)*, [s.l.], v. 19, n. 4, p.355-358, 8 ago. 2013.

LOK, Anna S.f.. Chronic Hepatitis B. *New England Journal Of Medicine*, [s.l.], v. 346, n. 22, p.1682-1683, 30 maio 2002.

BANVAR SR, Gurram SV. Saliva as a diagnostic tool for hepatitis B infection-A comparative ELISA study. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 2014.

BECK, Juergen; Nassal Michael. Hepatitis B virus replication. *World Journal Of Gastroenterology*, [s.l.], v. 13, n. 1, p.48-64, 2007.

CHO, Kyung Hee et al. Multidimensional Conductive Nanofilm-Based Flexible Aptasensor for Ultrasensitive and Selective AgHBs Detection. *Acs Applied Materials & Interfaces*, [s.l.], v. 10, n. 34, p.28412-28419, 6 ago. 2018.

CRUZ, Helena Medina et al. Evaluating AgHBs rapid test performance for different biological samples from low and high infection rate settings & populations. *Bmc Infectious Diseases*, [s.l.], v. 15, n. 1, p.1-10, 30 nov. 2015.

CRUZ, Helena Medina et al. Evaluation of saliva specimens as an alternative sampling method to detect hepatitis B surface antigen. *Journal Of Clinical Laboratory Analysis*, [s.l.], v. 25, n. 2, p.134-141, 2011.

DIENSTAG, Jules L.. Hepatitis B Virus Infection. *New England Journal Of Medicine*, [s.l.], v. 359, n. 14, p.1486-1500, 2 out. 2008.

GERLICH, W. Hepatitis B virus contains protein attached to the 5' terminus of its complete DNA strand. *Cell*, [s.l.], v. 21, n. 3, p.801-809, out. 1980.

HUI, Alex Y. et al. Transmission of hepatitis B by human bite—Confirmation by detection of virus in saliva and full genome sequencing. *Journal Of Clinical Virology*, [s.l.], v. 33, n. 3, p.254-256, jul. 2005.

HUTSE, Veronik et al. Oral fluid as a medium for the detection of hepatitis B surface antigen. *Journal Of Medical Virology*, [s.l.], v. 77, n. 1, p.53-56, 2005.

KHADSE, Smita V. Evaluation of Specificity and Sensitivity of Oral Fluid for Diagnosis of Hepatitis B. *Journal Of Clinical And Diagnostic Research*, [s.l.], p.12-14, 2016.

KIDD-LJUNGGREN, K. et al. High levels of hepatitis B virus DNA in body fluids from chronic carriers. *Journal Of Hospital Infection*, [s.l.], v. 64, n. 4, p.352-357, dez. 2006.

KRASTEVA, Assya et al. EVALUATION OF VHB DNA LEVELS IN SALIVA IN SUBJECTS WITH DIFFERENT VIREMIA AS WELL AS DURING PEGINTERFERON  $\alpha$ 2a THERAPY. *Journal Of Imab - Annual Proceeding (scientific Papers)*, [s.l.], v. 19, n. 4, p.355-358, 8 ago. 2013.

LOK, Anna S.f.. Chronic Hepatitis B. *New England Journal Of Medicine*, [s.l.], v. 346, n. 22, p.1682-1683, 30 maio 2002.