MEDIC

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ KHÁNG THỂ ANTI-HBs Ở BỆNH NHÂN NHIỄM VIRUS VIÊM GAN B HỒI PHỤC TẠI TRUNG TÂM Y KHOA MEDIC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

LÊ ĐÌNH VĨNH PHÚC, NGUYỄN BẢO TOÀN, PHAN THANH HẢI

TRUNG TÂM Y KHOA MEDIC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

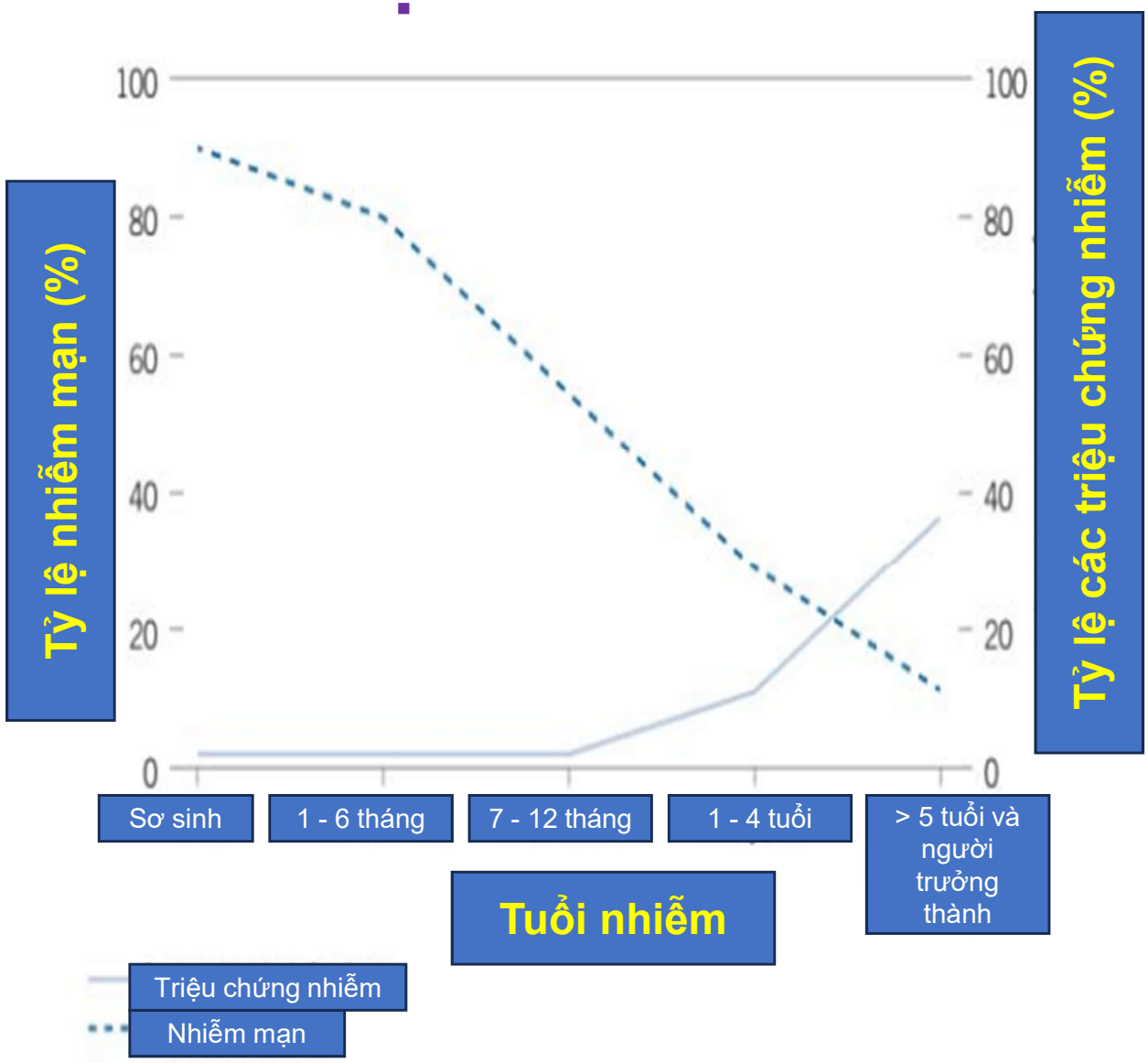
MEDIC

ĐẶT VẤN ĐỀ

- Nhiễm HBV là vấn đề sức khỏe toàn cầu, ước khoảng 254 triệu người nhiễm mạn tính trên TG, gây tử vong 1,1 triệu người năm 2022. WHO dự đoán con số này tăng lên 1,14 triệu người tử vong năm 2034 nếu không có biện pháp can thiệp hiệu quả. Đặc điểm LS nhiễm HBV đa dạng từ mang virus bất hoạt đến nguy hiểm tính mạng gồm viêm gan tối cấp, xơ gan, HCC. Khoảng 1/2 dân số toàn cầu sống ở vùng dịch tễ lưu hành cao của VGSV B [WHO, 2024].
- VN nằm trong vùng dịch tễ lưu hành cao của virus viêm gan B, với tỷ lệ HBsAg (+) > 8% [Bộ Y tế, 2019]. Dựa theo NC cắt ngang DTH huyết thanh ở 32 tỉnh/ thành với cỡ mẫu 25.649 người tham gia, ghi nhận tỷ lệ HBsAg (+) là 9,4% năm 2018 [https://www.globalhep.org].

MEDIC

ĐẶT VẤN ĐỀ



World Health Organization

ĐẶT VẤN ĐỀ

●Để đạt mục tiêu loại trừ HBV năm 2030 của WHO và tăng khả năng phát hiện - chẩn đoán, CDC Mỹ khuyến cáo tầm soát VGSV B tất cả người từ 18 tuổi trở lên 1 lần trong đời bằng sàng lọc bộ 3 huyết thanh: HBsAg, anti-HBs và anti-HBc total [Conners, 2023].

*HBsAg: xuất hiện đầu tiên khi nhiễm HBV, thời gian cửa sổ để phát hiện trung bình 38 ngày phụ thuộc độ nhạy của test, miễn dịch người nhiễm và động học virus; trong tình huống OBI thì HBsAg (-); [HBsAg] định lượng dùng theo dõi đáp ứng Rx.

*Anti-HBs: kháng thể trung hòa, bảo vệ; tạo ra sau thanh thải HBsAg tự nhiên hay Rx hoặc sau chủng ngừa thành công; có thể tồn tại cùng với HBsAg trong một số tình huống.

*Anti-HBc total: xuất hiện khoảng 3 tháng sau nhiễm, tồn tại kéo dài, ± anti-HBs, biểu hiện tình trạng đã nhiễm hoặc đang nhiễm [WHO, 2024].

Ý nghĩa của bộ 3 huyết thanh sàng lọc VGSV B

Xét nghiệm tầm soát			Lý giải	Chích ngừa
HBsAg	Anti-HBc	Anti-HBs		
+	+	-	VGSV B mạn	Không
-	+	+	Nhiễm HBV quá khứ, đã khỏi	Không
-	+	-	Nhiễm HBV quá khứ, đã khỏi hoặc (+) giả	Chích
-	-	+	Đã có kháng thể nhờ chích ngừa	Không
-	-	-	Chưa từng nhiễm HBV và chưa có kháng thể	Chích

Terrault AS Lok, BJ McMahon, et al. (2018). Update on Prevention, Diagnosis, and Treatment and of Chronic Hepatitis B: AASLD Hepatitis B Guidance. Hepatology. 2018;67(4):1560-99.

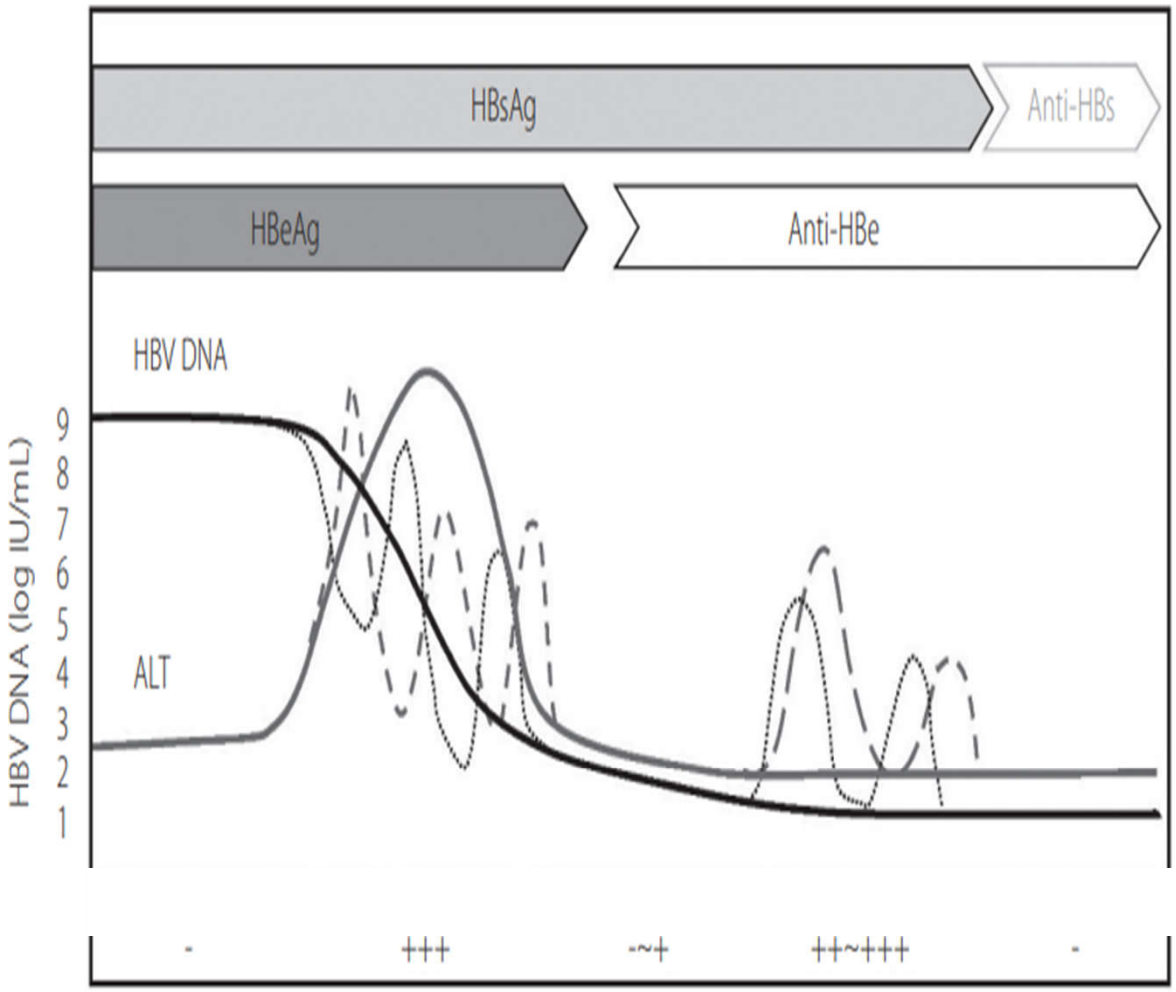
MEDIC

ĐẶT VẤN ĐỀ

- Mất HBsAg là mục tiêu điều trị lý tưởng trong VGSV B cấp hoặc mạn tính, được gọi là VGSV B đã khỏi (*resolved hepatitis B*) hoặc chữa khỏi về mặt chức năng (*functional cure*) [Terrault, 2018].
- Tuy nhiên, khi mất HBsAg, HBV vẫn chưa bị loại trừ do sự tồn tại của cccDNA và HBV DNA tích hợp (HBV DNA integration). Do đó, vẫn có nguy cơ chuyển đảo ngược huyết thanh HBsAg, tái hoạt HBV, xơ gan và HCC hoặc OBI [Terrault, 2018]. Do đó, cần tiếp tục theo dõi sau khi mất HBsAg. Tuy nhiên, việc giám sát biến chứng sau khi mất HBsAg và vai trò của anti-HBs vẫn còn gây tranh cãi [Huang, 2022].

MEDIC

ĐẶT VẤN ĐỀ

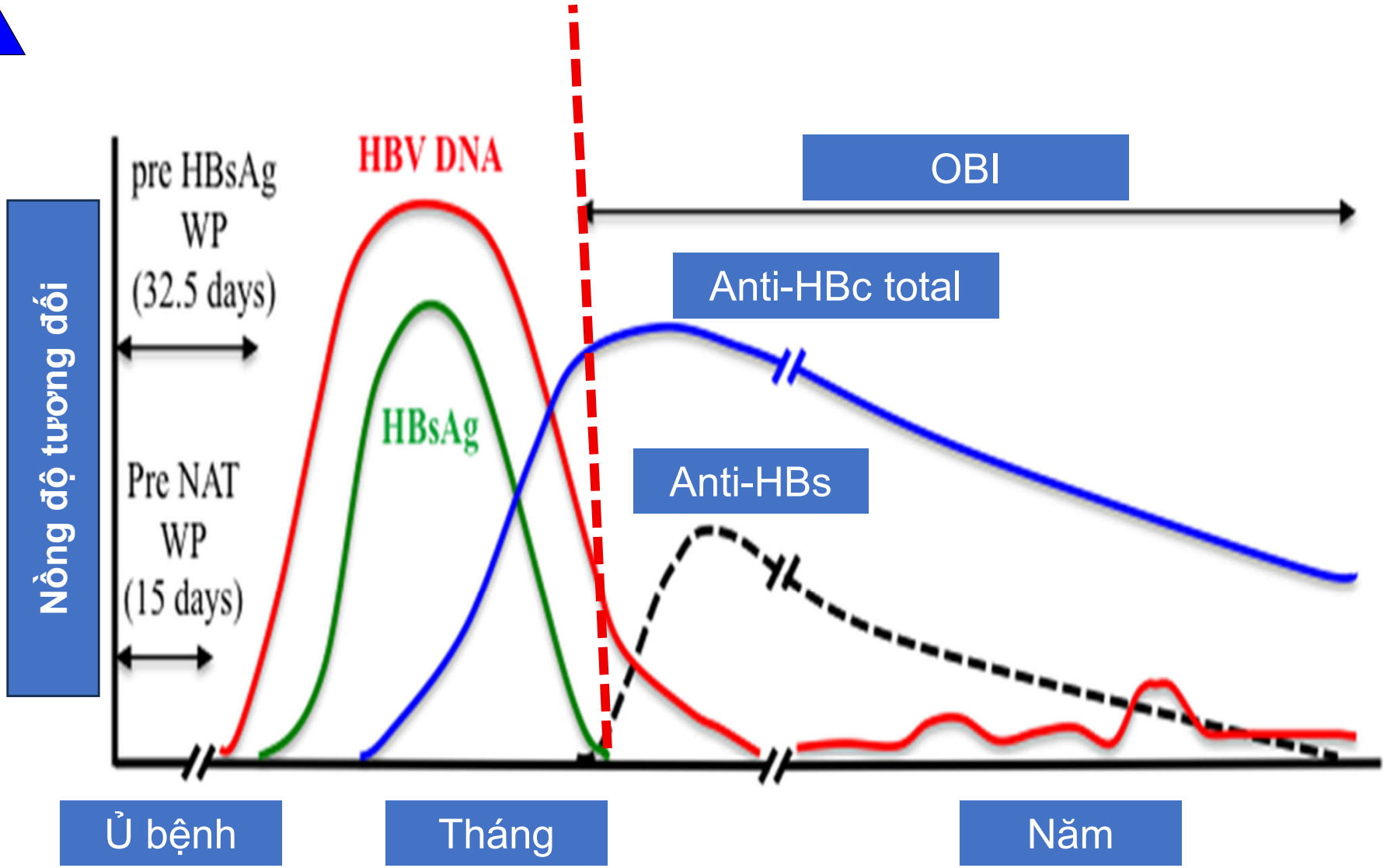


Nhiễm HBV mạn e (+)	VGSV B mạn e (+)	Nhiễm HBV mạn e (-)	VGSV B mạn e (-)	MẤT HBsAg

Biểu đồ diễn tiến tự nhiên của VGSV B mạn [KASL, 2022]

MEDIC

ĐẶT VẤN ĐỀ

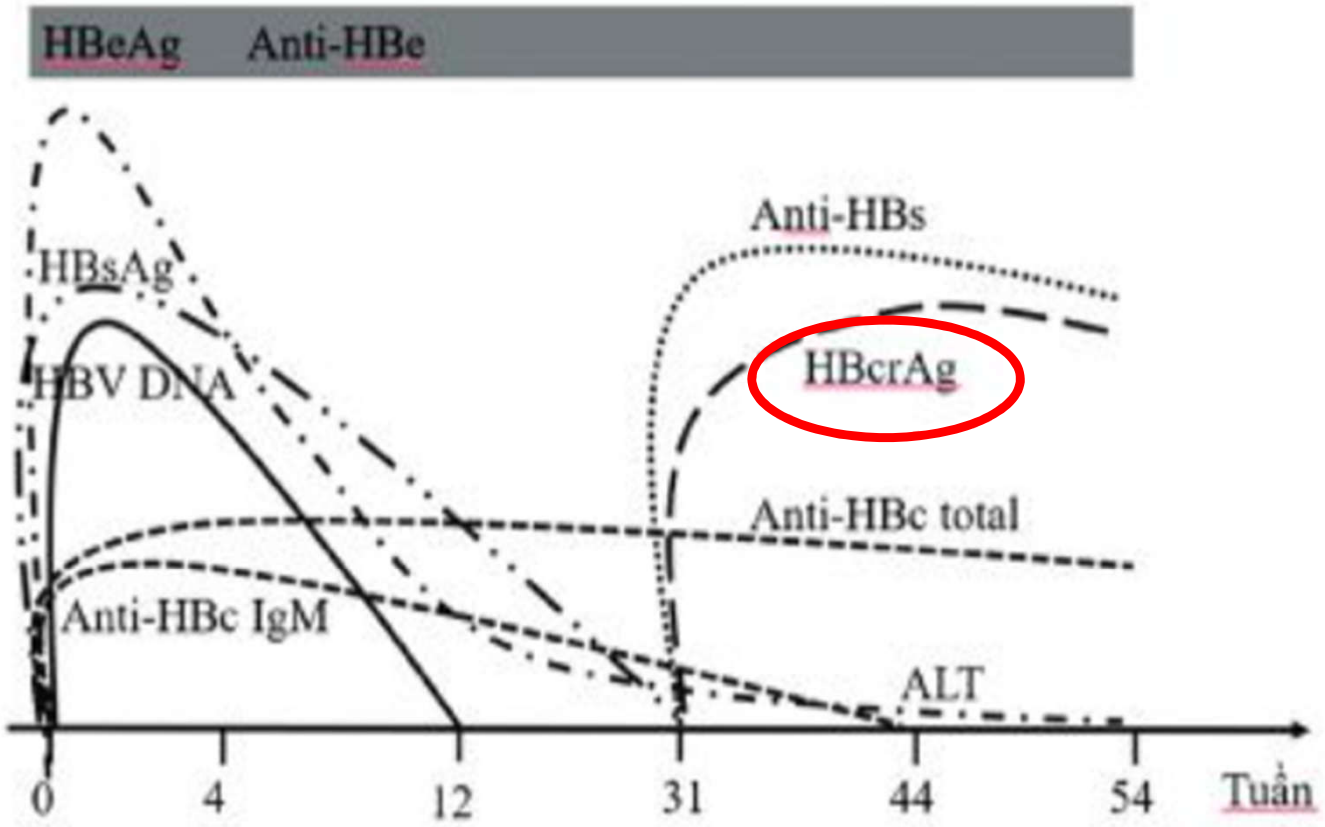


Các dấu ấn virus viêm gan B sau nhiễm hồi phục (recovered HBV infection) [Daniel Candotti, 2018]

ĐẶT VẤN ĐỀ

MEDIC 128

Tạp chí GAN MẬT VIỆT NAM số 58-2024



Hình 1. Diễn tiến các dấu ấn huyết thanh trong quá trình điều trị

Sự tồn tại kéo dài của HBcrAg sau khi mất HBsAg trong VGSV B cấp hồi phục [L. Đ. V. Phúc, 2024]

MEDIC

ĐẶT VẤN ĐỀ

- Anti-HBs là chỉ số phản ánh khả năng miễn dịch bảo vệ khỏi mắc VGSV B, có thể tạo ra nhờ tiêm chủng thành công hoặc nhiễm VGSV B hồi phục [Habib, 2007].
- Anti-HBs ≥ 10 mUI/mL được coi là đạt ngưỡng bảo vệ, đảm bảo hiệu quả chống nhiễm HBV 10 năm sau liều vaccine cuối cùng [DHHS, 2024].
- Tình hình nghiên cứu tại VN và trên thế giới:

Tại VN: Trong NC cắt ngang khảo sát thực trạng XN tầm soát VGSV B tại BV ĐH Y Hà Nội năm 2023, trong 367 BN nhiễm HBV trong quá khứ (HBsAg âm tính, anti-HBc dương tính), có 280 BN tạo được anti-HBs (+), chiếm tỷ lệ 76,3% [N. T. N. Lan, 2023].

ĐẶT VẤN ĐỀ

- Tình hình nghiên cứu tại VN và trên thế giới (tt):

Trên thế giới: Huang và cs nghiên cứu đoàn hệ về anti-HBs ở người nhiễm HBV đã khỏi giai đoạn 1999 - 2018, dữ liệu tại Mỹ, mẫu gồm 3.455 người trưởng thành đã khỏi HBV (HBsAg âm tính và anti-HBc dương tính) có 2.645 người có anti-HBs (+), tỷ lệ 76,56% [Huang, 2023].

MEDIC

ĐẶT VẤN ĐỀ

- Chương trình tiêm chủng mở rộng ở nước ta triển khai tiêm vắc xin phòng viêm gan siêu vi B từ năm 1997 và tiêm liều sơ sinh trong vòng 12 - 24h đầu sau sinh từ năm 2003 theo khuyến cáo của WHO, trẻ sinh ra từ người mẹ có mang HBsAg cần tiêm globulin miễn dịch viêm gan B (hepatitis B immunoglobulin: HBIG) trong vòng 12h đầu sau sinh.
- Tại VN, các nghiên cứu chủ yếu tập trung đánh giá nồng độ anti-HBs đạt được sau chủng ngừa.

MEDIC

ĐẶT VẤN ĐỀ

- Mục tiêu nghiên cứu:

1. Xác định tỉ lệ có anti-HBs đạt ngưỡng bảo vệ ở nhóm bệnh nhân đã khỏi HBV;

2. Đánh giá các yếu tố ảnh hưởng lên nồng độ anti-HBs ở nhóm nghiên cứu.

MEDIC

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

Đối tượng nghiên cứu:

- BN tầm soát VGSV B bằng bộ ba xét nghiệm (HBsAg, anti-HBs và anti-HBc) có XN HBsAg (-) và anti-HBc (+);

Phương pháp nghiên cứu: Hồi cứu.

Thời gian và địa điểm:

- Trung tâm Y khoa Medic TP. Hồ Chí Minh;
- Từ tháng 4/2024 - tháng 7/2024.

Thiết kế nghiên cứu:

- Nghiên cứu mô tả phân tích.

MEDIC

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

Cỡ mẫu: Tính theo công thức:

$$n \geq \left(\frac{Z_{1-\alpha/2}}{d}\right)^2 p(1-p)$$

Trong đó: α = 0,05; $Z_{1-\alpha/2}$ = 1,96

*p là tỷ lệ anti-HBs (+) ở nhóm người khỏi HBV. Theo kết quả NC của Huang và cs, tỷ lệ này là 76,56% [Huang, 2023]. Chúng tôi lấy tỷ lệ p là 70% phù hợp để ước lượng cỡ mẫu tối thiểu dùng trong NC; *d là sai số mong muốn, chọn d = 0,05;

Do đó, cỡ mẫu cần thiết tính cho nghiên cứu là n ≥ 323 bệnh nhân.

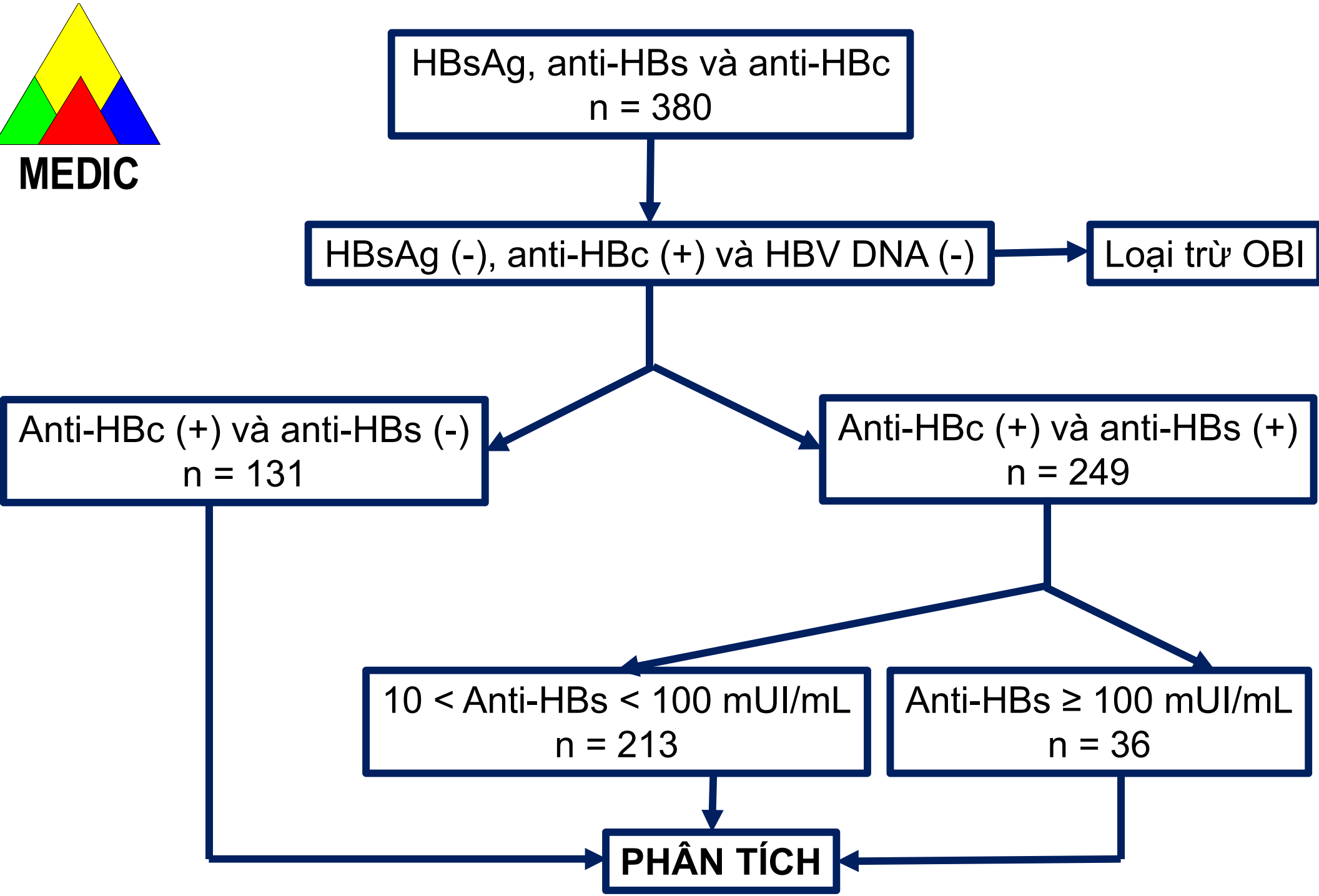
Thực tế mẫu chúng tôi thu thập được là 380 bệnh nhân.

MEDIC

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

Kỹ thuật dùng trong NC:

- Xét nghiệm HBsAg: Sử dụng kít HBsAg (Abbott, Roche);
- Xét nghiệm anti-HBs: Sử dụng kít anti-HBs (Cobas, Roche), giá trị anti-HBs < 10 mUI/mL là (-); anti-HBs ≥ 10 mUI/mL là (+);
- Xét nghiệm anti-HBc: Sử dụng kít anti-HBc total (Abbott, Roche);
- Xét nghiệm PCR định lượng HBV DNA: Kỹ thuật probe TaqMan bằng kít GeneProof HBV PCR (châu Âu).



Hình 1. Sơ đồ nghiên cứu

KẾT QUẢ - BÀN LUẬN

Bảng 1. Đặc điểm chung nhóm nghiên cứu (n = 380)

Đặc điểm		Tần số	Tỉ lệ (%)	p (χ^2)
Tuổi	Trung bình (nhỏ nhất - lớn nhất)			
	50,8 ± 12,0 (21 - 89)			
	Nhóm tuổi			
	< 30	15	3,9	< 0,05
	30 - < 60	269	70,8	
	≥ 60	96	25,3	
Giới	Nam	215	56,6	< 0,05
	Nữ	165	43,4	
Bệnh kèm	Nhiễm HCV	15	3,9	< 0,05[a]
	Đái tháo đường típ 2	35	9,2	
	Nhiễm HIV	1	0,3	
	Suy thận mạn	3	0,8	
	Lao phổi	2	0,5	
	Ung thư cơ quan ngoài gan	4	1,1	
	Không có bệnh kèm	320	84,2	
Tổn thương tế bào gan	ALT < ULN	242	63,7	< 0,05
	ALT ≥ ULN	138	36,3	
	AST < ULN	287	75,5	< 0,05
	AST ≥ ULN	93	24,5	
Hình thái tổn thương gan trên siêu âm	Nhu mô gan mịn	185	48,7	0,61[b]
	Nhu mô gan thô	20	5,3	
	Gan thấm mỡ	162	42,6	
	Nhu mô gan vừa thô vừa thấm mỡ	13	3,4	
Chỉ số APRI (Giai	< 0,5 (F0 - F1)	324	85,3	
	0,5 - < 1,0 (F2)	39	10,3	

MEDIC

KẾT QUẢ - BÀN LUẬN

Phần lớn bệnh VGSV B hồi phục trong mẫu NC gặp ở lứa tuổi ≥ 30 (chiếm 76,1%), là ngưỡng tuổi bắt đầu bước qua giai đoạn DNMD (*immune tolerant phase*). Chỉ có 3,9% hồi phục ở lứa tuổi < 30, có thể các case này phục hồi sau VGSV B cấp. Về tổn thương gan, có 36,3% tăng ALT và 24,5% tăng AST, có 8,7% nhu mô gan thô trên siêu âm và 14,7% chỉ số APRI ≥ 0,5 (F2, F3, F4). Điều này cho thấy hậu quả để lại sau khi nhiễm VGSV B mặc dù đã khỏi nhưng một số case có để lại tổn thương gan. Yang chỉ ra một số yếu tố độc lập dự đoán sự phát triển HCC sau khi mất HBsAg trong đó có xơ hóa gan [Yang, 2022].

MEDIC

KẾT QUẢ - BÀN LUẬN

Bảng 2. Nồng độ anti-HBs trong nhóm nghiên cứu (n = 380)

Nồng độ anti-HBs (mUI/mL)	Tần số	Tỉ lệ (%)	p (χ^2)
< 10	131	34,5	< 0,05
10 - < 100	213	56,1	
≥ 100	36	9,4	

Nhận xét: Có 65,5% bệnh nhân sau nhiễm HBV tạo được kháng thể đạt mức bảo vệ, gồm 56,1% có anti-HBs từ 10 - < 100 mUI/mL và 9,4% có anti-HBs trên 100 mUI/mL, trong khi có 34,5% bệnh nhân có anti-HBs dưới 10 mUI/mL. Sự khác biệt về các tỷ lệ có ý nghĩa (p < 0,05).

MEDIC

KẾT QUẢ - BÀN LUẬN

Các NC theo dõi dọc theo thời gian chỉ ra khoảng thời gian xuất hiện anti-HBs sau mất HBsAg. NC của Arase cho biết có 50,2% xuất hiện anti-HBs vào năm thứ 5 sau thanh thải HBsAg tự nhiên ở BN VGSV B mạn [Arase, 2006]. NC của Roushan chỉ ra, 78,2% BN nhiễm VGSV B mạn HBeAg (-) (VGSV B mạn không hoạt động) có anti-HBs sau mất HBsAg trong vòng 10 năm [Roushan, 2016]. Nhìn chung, các NC cho thấy xu hướng tăng tỷ lệ xuất hiện anti-HBs theo thời gian sau mất HBsAg ở BN VGSV B mạn.

MEDIC

KẾT QUẢ - BÀN LUẬN

NC của Huang cho thấy anti-HBs có liên quan giảm tỷ lệ tử vong ở nhóm người nhiễm HBV hồi phục nhờ vai trò của anti-HBs trong việc giảm VG tái hoạt và giảm xơ hóa gan [Huang, 2023]. Tỷ lệ anti-HBs (+) trong nhóm NC là 65,5%, thấp hơn so với NC của N. T. N. Lan (2023) tại BV ĐH Y Hà Nội, tỷ lệ này là 76,3%. Tương tự, NC của Huang (2023) trên quần thể 3.455 người nhiễm VGSV B hồi phục cho thấy tỷ lệ anti-HBs (+) là 76,56%. Nhìn chung, tỷ lệ anti-HBs (+) sau nhiễm VGSV B hồi phục khá cao nhưng thấp hơn so với KQ đánh giá tạo kháng thể anti-HBs sau vaccine ở trẻ lúc 12 tháng là 87,4% [Phí Đức Long, 2014].

MEDIC

KẾT QUẢ - BÀN LUẬN

Điều này lý giải là do đặc điểm anti-HBs sẽ giảm nồng độ theo thời gian, trong khi các NC đánh giá anti-HBs sau VGSV B hồi phục không xác định được BN nhiễm khi nào, mất HBsAg lúc nào và đạt được anti-HBs bảo vệ khi nào, điều này thực sự khó xác định chính xác trên lâm sàng và trong NC.

Bảng 3. Mối liên quan giữa các yếu tố và nồng độ anti-HBs (n = 380)

Các yếu tố		Anti-HBs (< 10 mUI/mL)	Anti-HBs (≥ 10 mUI/mL)	p (χ^2)
Nhóm tuổi	< 30	5 (33,3%)	10 (66,7%)	0,863
	30 - < 60	95 (35,3%)	174 (64,7%)	
	≥ 60	31 (32,3%)	65 (67,7%)	
Giới	Nam	78 (36,3%)	137 (63,7%)	0,398
	Nữ	53 (32,1%)	112 (67,9%)	
Bệnh kèm	Có	18 (30%)	42 (70%)	0,427
	Không	113 (35,3%)	207 (64,7%)	
Tổn thương tế bào gan	ALT < ULN	75 (31%)	167 (69%)	0,059
	ALT ≥ ULN	56 (40,6%)	82 (59,4%)	
	AST < ULN	92 (32,1%)	195 (67,9%)	0,081
	AST ≥ ULN	39 (41,9%)	54 (58,1%)	
Hình thái tổn thương gan trên siêu âm	Nhu mô gan mịn	67 (36,2%)	118 (63,8%)	0,486
	Nhu mô gan thô và/ hoặc thấm mỡ	64 (32,8%)	131 (67,2%)	
Chỉ số APRI (Giai đoạn xơ hóa)	< 0,5 (F0 - F1)	99 (30,6%)	225 (69,4%)	< 0,05
	≥ 0,5 (≥ F2)	32 (57,1%)	24 (42,9%)	

MEDIC

KẾT QUẢ - BÀN LUẬN

KQ NC cho thấy ở nhóm anti-HBs đạt ngưỡng bảo vệ (≥ 10 mUI/mL) tỷ lệ F0-F1 cao hơn có ý nghĩa so với ở nhóm anti-HBs < 10 mUI/mL. Ngược lại, tỷ lệ ≥ F2 thấp hơn có ý nghĩa so với ở nhóm anti-HBs < 10 mUI/mL ($p < 0,05$). Người ta thấy vai trò của anti-HBs trong việc làm giảm tỷ lệ viêm gan tái hoạt (*HBV reactivation*) sau khi mất HBsAg do sự tồn tại kéo dài của cccDNA trong TB gan, nhờ đó làm giảm xơ hóa gan. KQ của chúng tôi cũng tương đồng KQ của Huang chỉ ra chỉ số FIB-4 cao hơn ở nhóm anti-HBs (-) so với nhóm anti-HBs (+) [Huang, 2023].

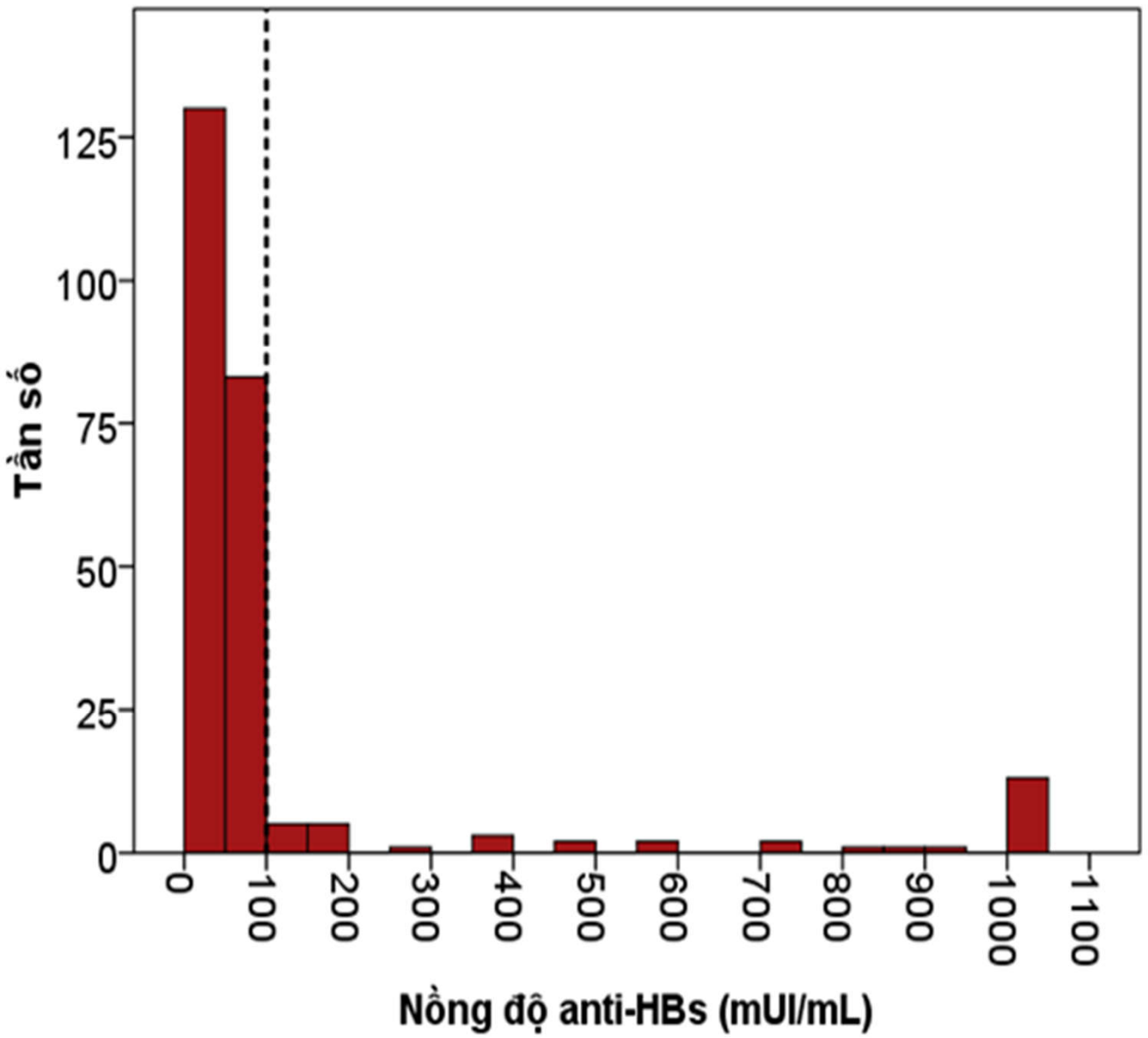
MEDIC

KẾT QUẢ - BÀN LUẬN

Việc thanh thải HBsAg và xuất hiện anti-HBs có ý nghĩa bảo vệ BN giảm biến chứng. Yuen chỉ ra nhóm BN thanh thải HBsAg trước tuổi 50 thì nguy cơ xảy ra xơ gan, HCC thấp hơn có ý nghĩa so với thanh thải HBsAg xảy ra sau tuổi 50 [Yuen, 2008].

MEDIC

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU



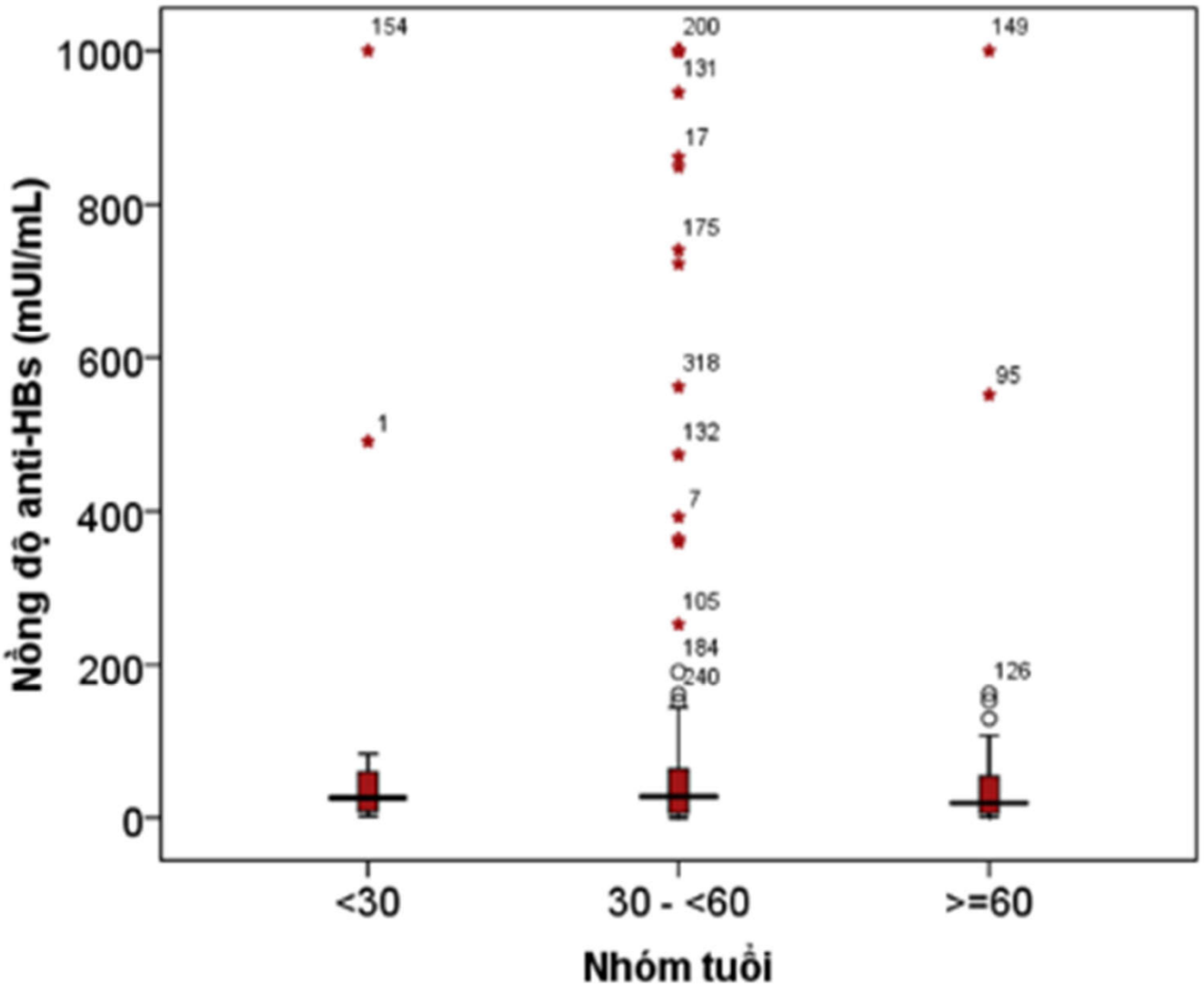
Biểu đồ 1: Phân bố nồng độ anti-HBs ở nhóm tạo kháng thể (n = 249)

Bảng 4. Nồng độ anti-HBs trung bình ở nhóm tạo kháng thể (n = 249)

Các yếu tố		Anti-HBs trung bình (mUI/mL)	p (t - test)
Nhóm tuổi	< 30	183,7 ± 320,1	< 0,05[a]
	30 - < 60	145 ± 267,1	
	≥ 60	68,7 ± 137,4	
Giới	Nam	90,3 ± 184,1	< 0,05
	Nữ	171,2 ± 296,6	
Bệnh nền	Có	95 ± 199,2	0,357
	Không	133,1 ± 252,2	
Tổn thương tế bào gan	ALT < ULN	129,3 ± 238,5	0,812
	ALT ≥ ULN	121,4 ± 256,5	
	AST < ULN	128,2 ± 242,3	0,854
	AST ≥ ULN	121,2 ± 252,8	
Hình thái tổn thương gan trên siêu âm	Nhu mô gan mịn	145,2 ± 263,4	0,257
	Nhu mô gan thô và/ hoặc thấm mỡ	110 ± 225,1	
Chỉ số APRI (Giai đoạn xơ hóa)	< 0,5 (F0 - F1)	135,5 ± 255	< 0,05
	≥ 0,5 (≥ F2)	43,7 ± 37,8	

MEDIC

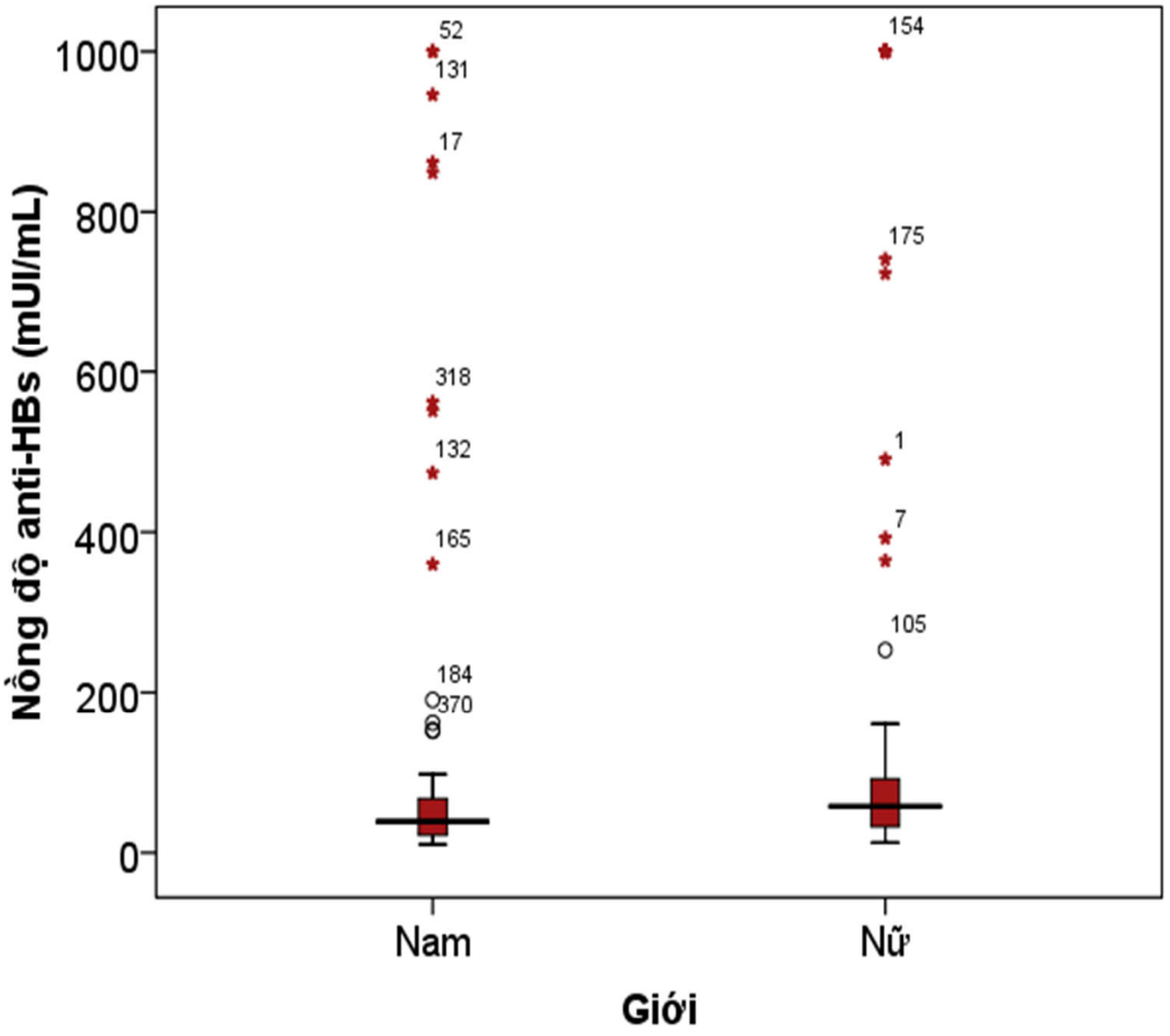
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU



Biểu đồ 2A: Phân bố các giá trị anti-HBs theo nhóm tuổi (n = 249)

MEDIC

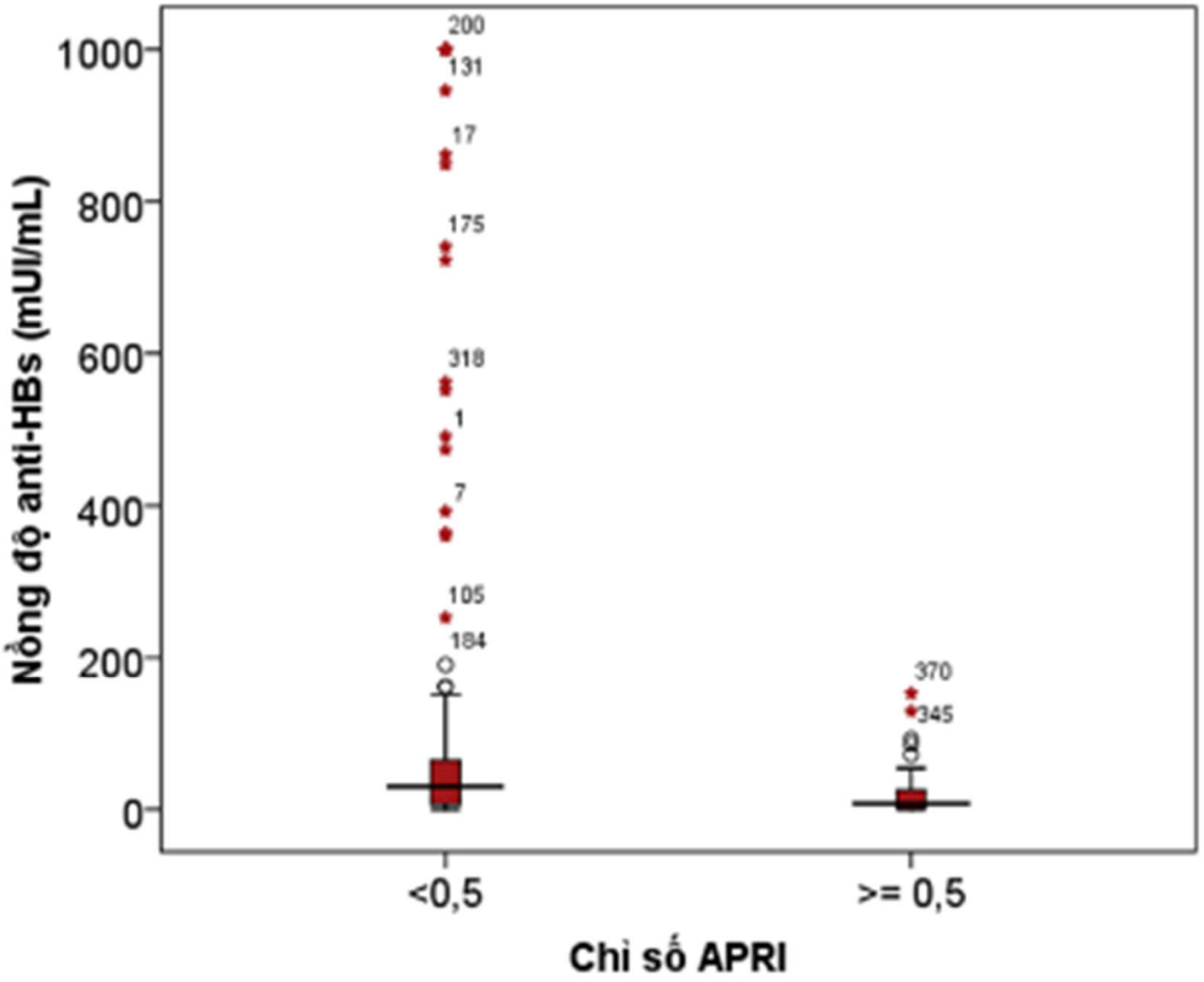
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU



Biểu đồ 2B: Phân bố các giá trị anti-HBs theo giới (n = 249)

MEDIC

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU



Biểu đồ 2B: Phân bố các giá trị anti-HBs theo chỉ số APRI (n = 249)

KẾT LUẬN

Hồi cứu 380 trường hợp nhiễm VGSV B hồi phục với bộ ba huyết thanh HBsAg, anti-HBs và anti-HBc total (đã loại trừ OBI) phát hiện 65,5% tạo được anti-HBs trên ngưỡng bảo vệ (≥ 10 mUI/mL). Tỷ lệ anti-HBs đạt ngưỡng bảo vệ có liên quan mức độ xơ hóa gan theo chỉ số APRI. Nhóm anti-HBs đạt ngưỡng bảo vệ tỷ lệ F0-F1 cao hơn có ý nghĩa so với ở nhóm anti-HBs < 10 mUI/mL. Ngược lại, tỷ lệ ≥ F2 thấp hơn có ý nghĩa so với ở nhóm anti-HBs < 10 mUI/mL ($p < 0,05$). Nồng độ anti-HBs trung bình khác biệt có ý nghĩa ở các nhóm tuổi, giới tính và mức độ xơ hóa gan theo chỉ số APRI ($p < 0,05$).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. WHO (2024). Guidelines for the prevention, diagnosis, care and treatment for people with chronic hepatitis B infection. p5.

2. Conners EE, Panagiotakopoulos L, Hofmeister MG, et al. (2023). Screening and testing for hepatitis B virus infection: CDC recommendations - United States. MMWR Recomm Rep.;72:1-5.

3. Terrault AS Lok, BJ McMahon, et al. (2018). Update on Prevention, Diagnosis, and Treatment and of Chronic Hepatitis B: AASLD Hepatitis B Guidance. Hepatology;67(4):1560-99.

4. Huang SW, Chen C, Kong HY, et al. (2022). Prevalence of cirrhosis/advanced fibrosis among HBsAg-negative and HBcAb-positive US adults: a nationwide population-based study. Infect Dis Ther.; 11:1901-16.

5. Habib S., Shaikh O.S. (2007). Hepatitis B immune globulin. Drugs Today. 43:379-394. doi: 10.1358/dot.2007.43.6.1050792.

6. DHHS (2024). Guidelines for the prevention and treatment of opportunistic infections in adults and adolescents with HIV: hepatitis B virus infection.

7. Bộ Y tế (2019). Hướng dẫn chẩn đoán, điều trị bệnh viêm gan vi rút B. Quyết định 3310/QĐ - BYT.

8. Shuai-Wen Huang, Xi-Tang Li, Chen Chen, et al. (2023). Effect of Anti-HBs on Mortality Among Resolved HBV Infection: a Population-Based Prospective Cohort Study. Infect Dis Ther.;12(3):871-890.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

9. Nguyễn Thị Ngọc Lan, Lê Hữu Lộc, Nguyễn Đức Tuấn (2023). Kết quả xét nghiệm một số chỉ số liên quan đến viêm gan virus B tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội. Tạp chí nghiên cứu Y học, 171(10): 45-52.

10. https://www.globalhep.org/sites/default/files/content/national_profiles/files/2024-03/Vietnam%20N-HEP-v3.pdf.

11. Yang H, Bae SH, Nam H, et al. A risk prediction model for hepatocellular carcinoma after hepatitis B surface antigen seroclearance. J Hepatol. 2022;77(3):632–641. doi: 10.1016/j.jhep.2022.03.032.

12. Shuai-Wen Huang, Xi-Tang Li, Chen Chen, et al. (2023). Effect of Anti-HBs on Mortality Among Resolved HBV Infection: a Population-Based Prospective Cohort Study. Infect Dis Ther. 2023 Feb 8;12(3):871-890. doi: 10.1007/s40121-023-00766-5.

13. M R H Roushan, M Mohammadpour, M Baiany, et al. (2016). Time to seroconversion of HBsAg to anti-HBs in individuals who lost HBsAg during follow-up. Epidemiol Infect.;144(12):2648-2653. doi: 10.1017/S0950268816001217.

14. Arase Y, Ikeda K, Suzuki F, et al. (2006). Long-term outcome after hepatitis B surface antigen seroclearance in patients with chronic hepatitis B. American Journal of Medicine; 119: e9-16.

15. Yuen MF, Wong DKH, Fung J, et al. (2008). HBsAg seroclearance in chronic hepatitis B in Asian patients: replicative level and risk of hepatocellular carcinoma. Gastroenterology; 135: 1192-1199.