

## VITROS 3600의 HBsAg 검사 평가

정유석 · 임영애

아주대학교 의과대학 진단검사의학교실

### Evaluation of the VITROS 3600 Analyzer for HBsAg

Yu Soek Jung, Young Ae Lim

Department of Laboratory Medicine, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea

**Background:** The VITROS 3600 (Ortho Clinical Diagnostics, Johnson & Johnson, Buckinghamshire, UK), which uses the enhanced chemiluminescence immunoassay, has recently been introduced; however, it has not been evaluated for detection of HBsAg in Korea. We evaluated the ability of the VITROS 3600 for detection of HBsAg, compared with the ARCHITECT i2000 (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA), which is used widely in Korea to help in selection of an analyzer for detection of HBsAg.

**Methods:** A total of 800 samples were tested randomly for HBsAg and 150 samples with positive HBV DNA detected by real-time PCR were used in this study. Precision, agreement, and Pearson correlations between two analyzers were evaluated.

**Results:** The total standard deviations (SD) were 0.016 and 0.183 for the negative and positive HBsAg controls, respectively; the precision met the criteria suggested by the manufacturer. There were 100% agreements for the 800 random samples (positive 33, negative 767) and 150 samples with HBV DNA (positive 148, negative 2) between two analyzers. In addition, good correlation was observed between two analyzers for the 767 HBsAg negative samples ( $r=0.691$ ,  $P=0.004$ ), and 148 HBV DNA positive samples ( $r=0.763$ ,  $P<0.001$ ).

**Conclusion:** The VITROS 3600 showed good precision and agreement. And, correlation between the VITROS 3600 and the ARCHITECT i2000 was excellent. Therefore, this result will be helpful in selection of an analyzer for detection of HBsAg. (Korean J Blood Transfus 2013;24:41-47)

**Key words:** VITROS 3600, Enzyme-linked immunosorbent assay, HBsAg, Hepatitis B virus

### 서론

만성 간질환의 주요 원인인자 중 하나인 B형 간염 바이러스 감염은 현재까지도 국내에서 문제

가 되고 있다. 1980년 이전의 B형 간염 바이러스 감염 유병률은 8~15%이었다. 하지만 1980년 초반에 B형 간염 백신이 소개되었고, 1995년 영아 대상으로 B형 간염 예방접종이 실시되어, 2007년

Received on March 25, 2013. Revised on April 16, 2013. Accepted on April 16, 2013

Correspondence to: Young Ae Lim

Department of Laboratory Medicine, Ajou University School of Medicine, San-5 Woncheon-dong, Yeongtong-gu, Suwon 443-721, Korea  
Tel: 82-31-219-5786, Fax: 82-31-219-5778, E-mail: limyoung@ajou.ac.kr

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.  
Copyright ©2013 The Korean Society of Blood Transfusion

을 기준으로 중학생과 소아의 유병률은 각각 0.4%, 0.2%로 낮아졌지만, 성인의 유병률은 2.0~8.9%로 아직까지 높다.<sup>1)</sup> 또한 Ott 등의 HBV 유병률에 대한 범 세계적 비교 연구에서, 유병률이 2~4%로 'low intermediate'의 등급을 받은 우리나라는 유병률이 5~7%의 'high intermediate' 등급을 받은 중국 및 다른 동남아시아 국가들보다 HBV 유병률은 낮지만 북아메리카 국가들(2% 이하 'low' 등급)보다는 HBV 유병률이 높다.<sup>2)</sup> 그러므로, 신생아 대상의 B형 간염 예방접종 프로그램을 시행 이전과 비교하여 B형 간염 바이러스의 유병률은 낮아졌지만, 다른 국가들과 비교하면 우리나라는 아직까지 B형 간염에 대한 안전한 국가라고 볼 수 없다.

B형 간염 바이러스 감염은 수혈로 인한 감염 중 가장 심각한 결과를 초래하는 질환 중 하나인데, B형 간염 바이러스 항체를 가지고 있지 않은 환자에서 HBsAg (B형 간염 바이러스의 표면항원) 양성 혈액이 수혈되면 90% 이상 감염이 된다. 따라서, 수혈 전 검사에서 B형 간염 바이러스 선별 검사는 필수적으로 시행되고 있다.

유병률이 높은 지역에서는 HBsAg검사가 B형 간염 바이러스 감염을 선별하는데 많이 이용되고 있는데, 이는 HBsAg이 B형 간염 바이러스 감염 초기 시 나타나는 표지자이며 혈청의 감염 가능성을 간접적으로 가장 잘 나타내는 지표이기 때문이다.<sup>3)</sup> 검출 방법으로는 크게 면역크로마토그래피법(immunochromatographic assay, ICA), 역수동혈구응집법(reverse passive hemagglutination assay, RPHA) 등의 간접검사가 있고, 이 두 가지 검사보다 민감도가 더 증가된 효소면역검사법(enzyme immunoassay, EIA), 그리고 화학발광면역검사법(chemiluminescent immunoassay, CLIA) 등이 있다. 이 중 CLIA가 가장 민감도가 좋은 HBsAg 검출방법으로 알려져 있다.<sup>4)</sup> 최근 기존의 CLIA

보완으로 반응 신호를 증폭기로 증폭시켜 지속시켜주는 강화된 화학발광면역측정법(Enhanced Chemiluminescence immunoassay, ECLIA)이 고안되었고, 이 방법을 기초로 한 VITROS 3600 (Ortho Clinical Diagnostics, Johnson & Johnson, Buckinghamshire, UK)이 개발되었다. 이 장비에 대한 HBsAg에 대한 분석능 평가는 외국문헌은 일부 있으나,<sup>5-8)</sup> 국내에서 환자를 대상으로 이 장비의 HBsAg 분석능의 평가에 대한 보고는 없었다. 따라서 본 연구는 ECLIA법을 이용한 VITROS 3600을 기존의 CLIA법을 이용한 ARCHITECT i2000 (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA)의 HBsAg 분석능과 비교 분석하여 B형 간염 환자의 진단이나 선별에 도움을 주고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 환자검체

2012년 2월 20일부터 3월 23일까지 아주대학교병원의 진단검사의학과로 HBsAg 검사가 의뢰되어 시행한 만 20세 이상 성인 환자 검체 중 VITROS 3600에 의한 HBsAg 검사가 가능한 정도의 검체량(약 300  $\mu$ L 이상)이 남아있는 환자의 무작위 800 검체를 대상으로 하였다. 그리고 HBV real time PCR검사가 의뢰되어 시행된 검체 중 양성인 시료 그 값이 높지 않은 20~100 IU/mL의 결과를 보인 150 검체를 사용하였다. 이 연구는 아주대학교병원 생명연구윤리 심의위원회(Institutional Review Board)의 승인을 받았다.

### 2. 검사법

VITROS 3600 장비에 대한 시약은 VITROS HBsAg ES (Ortho Clinical Diagnostics, Johnson & Johnson, Buckinghamshire, UK)를 사용하였다. 시

약의 제조사에서 제시한 기준에 의하여 S/Co (Sample-to-cutoff) 값이 1.0 이상을 양성, 0.9 미만을 음성으로 간주하였고, 0.9~1.0 사이를 경계 (borderline)로 간주하였다. 비교되는 장비 ARCHITECT i2000에 대한 시약으로는 ARCHITECT HBsAg Qualitative II reagent (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL USA)으로, 시약 제조사에서 제시한 기준을 토대로 S/Co 값이 1.0 이상을 양성 1.0 미만을 음성으로 간주하였다. HBV real time PCR 검사 장비로는 COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan (Roche Diagnostics, Roche, Branchburg, USA), 시약은 COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HBV Test v. 2.0 (Roche Diagnostics, Roche, Branchburg, USA)을 이용하였다.

### 3. 검토방법

VITROS HBsAg ES 정밀도(precision-repeatability, reproducibility)는 미국 CLSI EP5-A2 지침에<sup>9)</sup> 준하여 제조사에서 제공되는 HBsAg 음성, 양성의 VITROS 전용 정도관리 물질로 10일간 하루에 오전, 오후에 2회씩(5시간 이상 간격을 두고) 중복으로 측정하여, 검사간(within run), 일내(between run) 및 일간(between day)의 표준편차와 변이계수를 구하였다. 그리고 각각의 표준편차와 변이계수들의 평균값을 총 표준편차 및 총 변이계수로 정의하였고, 총 표준편차 및 총 변이계수가 제조사에서 제공하는 기준을 만족하는지 여부를

를 관찰하였다.

무작위 연속 검체의 일치도에 대한 검토는 검체량이 충분한 800 검체를 ARCHITECT i2000으로 HBsAg을 검사한 후, 2시간 이내의 VITROS 3600으로 HBsAg으로 검사하는 방법으로 시행하였다. 그리고 HBV Real time PCR 양성인 150 검체를 ARCHITECT i2000으로 HBsAg을 검사한 후, 2시간 이내 VITROS 3600으로 검사하여 양성 검체의 일치도를 검토하였다.

ARCHITECT i2000과 VITROS 3600의 두 검사 결과값의 S/Co 값 사이에 상관성이 있는지를 확인하기 위하여 각각의 양성 및 음성 검체에서 두 장비간의 상관성 검증을 위해 Pearson 상관계수를 구하고 일반 선형모델을 이용하여 회귀분석을 시행하였다.

## 결 과

### 1. 정밀도(precision-repeatability, reproducibility)

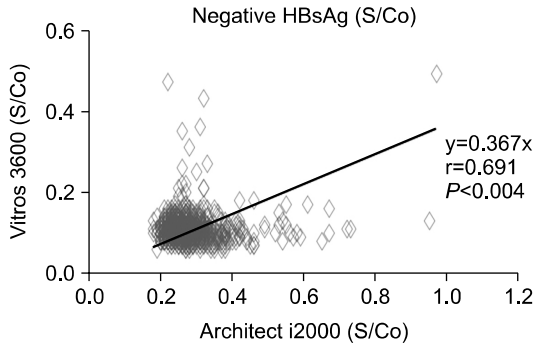
VITROS 3600의 HBsAg에 대한 총 표준편차 및 총 변이계수는 음성 정도관리물질 0.016과 16.8% 및 양성 정도관리물질 0.184과 4.1%로 이는 제조사가 제시하는 기준을 만족하였다(Table 1).

또한 VITROS 3600의 일간 표준편차와 일간 변이계수를 동일 기간 중에 측정한 ARCHITECT

**Table 1.** The precision for VITROS 3600

	Negative control				Positive control			
	Within run	Between run	Between day	Total precision	Within run	Between run	Between day	Total precision
SD	0.009	0.010	0.008	0.016*	0.040	0.073	0.164	0.184 <sup>†</sup>
CV	9.4%	10.6%	8.9%	16.8%	0.9%	1.6%	3.6%	4.1%

The criteria suggested by manufacture, \* < 0.150, <sup>†</sup> < 0.639.



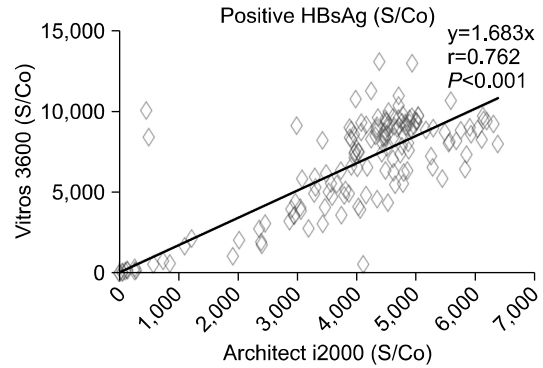
**Fig. 1.** The correlation for 767 samples with negative HBsAg results between VITROS 3600 and ARCHITECT i2000.

i2000의 HBsAg 음성 및 양성 정도관리물질에 대한 일간 표준편차 및 일간 변이계수와 비교하였다. 그 결과 VITROS 3600의 일간 표준편차와 일간 변이계수는 음성 정도관리물질에서의 ARCHITECT i2000의 일간 표준편차(0.025)와 일간 변이계수(9.2%)와 비교하여 큰 차이는 없었고, 양성 정도관리물질에서도 ARCHITECT i2000의 일간 표준편차(0.095), 일간 변이계수(2.9%)와 비교하여 큰 차이는 없었다. 그리고 ARCHITECT i2000의 제조사에서 제시하는 음성 및 양성 정도관리물질에서의 일간 표준편차는 각각 0.014~0.030과 0.072~0.103으로 이 기준을 각각 만족하였다.

## 2. 무작위 연속 검체 및 HBV DNA 양성 검체의 일치도

무작위 800 검체에 대한 VITROS 3600과 ARCHITECT i2000의 HBsAg 검출능을 비교하였는데 HBsAg 음성 767검체와 양성 33검체에 대하여 모두 100% 일치도를 보였다.

또한 HBV real time PCR 검사상 양성인 150 검체에서 두 장비의 HBsAg 검출능을 비교한 결과



**Fig. 2.** The correlation for 148 samples with positive HBsAg results between VITROS 3600 and ARCHITECT i2000.

양성 148검체, 음성 2검체로 두 장비간의 일치도는 100%이었다.

## 3. 두 장비간의 상관성 검증

800개의 무작위 연속 검체 중 음성 결과를 보였던 767 검체 두 장비의 S/Co 값의 Pearson 상관계수는  $r=0.691$  ( $P=0.004$ )으로 두 장비의 S/Co 값에 유의한 상관성을 보였다(Fig. 1).

HBV DNA가 20~100 IU/mL인 HBsAg 양성 148개 검체에서 두 장비의 S/Co 값의 Pearson 상관계수는  $r=0.763$  ( $P<0.001$ )으로 두 장비의 S/Co 값에 유의한 상관성을 보였다(Fig. 2).

## 고 찰

B형 간염 바이러스는 한국에서의 간염 및 간암 등의 만성적 간질환을 유발하는 대표적인 원인 바이러스 중 하나이며, B형 바이러스 감염병은 가장 중요하고 영향력이 있는 수혈에 의한 감염 중 하나이다. 수혈에 의한 HBV 감염을 좀 더 엄격하게 줄이기 위하여 대한적십자 혈액원에서

는 2012년 6월부터 B형 간염 바이러스에 대한 헌혈자 선별검사로 핵산 증폭 검사(Nucleic acid Amplification Test, NAT)를 시행하고 있다. 이 검사는 HBsAg 검출을 이용한 선별검사보다 민감도 및 특이도가 높아서 위음성률이 적고, HBV 감염이지만 증상이 없고, 진단검사의학적 검사에서 위음성을 나타내게 하는 잠복기를 줄여주는 역할을 할 수 있어서, B형 간염 바이러스 유병률이 높은 지역에서의 수혈 관련 선별검사로 추천되고 있는 방법이다.<sup>10,11)</sup> 그러나 아직까지 NAT 기술에 대한 민감도 및 특이도의 개선할 부분이 남아 있고, 무엇보다도 만성적으로 HBV 감염으로 지속적인 HBsAg (+)인 소아, 면역억제자 및 소수의 건강한 사람들 중에서 virus 복제(replication)로 인한 HBV DNA (+)이었다가 B형 간염관련 치료로 viral load의 감소로 인한 DNA 검출 한계로 HBsAg (+)이나 HBV DNA (-)인 경우가 있고 이 또한 감염력이 있으므로 HBsAg 검출을 통한 선별검사는 아직까지 중요한 검사로 남아 있다.<sup>3,10,11)</sup>

영아 및 유아기의 B형 간염 예방접종으로 인하여 HBV의 유병률은 많이 감소하였지만, HBsAg의 변이형태가 많이 생기는 계기가 되었다. 특히 S 유전자의 'a' 결정기(determinant) 아미노산 서열의 변이는 예방접종에 의하여 빈번하게 발생된다.<sup>12)</sup> 이런 변이는 HBsAg의 항원력을 떨어뜨리게 되고, 기존의 HBsAg에 대한 특이 항체(진단시약)와의 결합력을 떨어뜨리게 된다.<sup>13)</sup> 이러한 점을 보완하고자 진단시약과 변이된 HBsAg의 약한 결합력에 대한 반응 신호를 증폭시켜 좀 더 정확한 HBsAg의 유무 및 양을 판단할 수 있게 하는 ECLIA법이 개발되었고,<sup>5)</sup> 이런 방법을 응용한 장비는 VITROS 3600이었다.

ECLIA법과 측정법의 HBsAg 아형 검출에 대한 평가가 외국에서 시행되었는데,<sup>5-8)</sup> 기존의 검사법들이 검출 민감도를 감소시키는 'a' 결정기의 다

양한 변이에 대한 재조합 HBsAg으로 VITROS 3600의 검출능을 평가해 본 결과 민감도 및 특이도에서 우수하였다고 보고되었다.<sup>5)</sup> 그러나 La'ulu 등은 12종류의 변이형 HBsAg (재조합형 9, 환자 검체에서의 변이형 3)의 검출에 대한 VITROS 3600을 포함한 6가지 장비들간의 비교 연구에서, VITROS 3600을 포함한 2종류의 장비는 환자에서 유래된 3종류의 변이형 HBsAg을 하나도 검출할 수 없었고, 9종류의 재조합 HBsAg 변이항원 중 3종류만 검출하여 다른 종류의 장비에 비해 검출능이 낮다고 보고되었다.<sup>7)</sup> 그러나 보고된 연구에서 VITROS 3600이 검출할 수 있었던 3종류의 재조합 HBsAg 변이항원 중 하나는 아미노산 서열 126번에서 threonine이 serine으로 치환된 것이었고, 검출할 수 없었던 환자에서 유래된 3종류의 HBsAg 변이항원에는 아미노산 서열 126번에서 치환이 일어난 변이형 HBsAg이 포함되지 않았다.<sup>7)</sup> 아미노산 서열 126번에서의 치환이 일어난 변이항원이 국내에서 가장 많은 빈도를 보이고 있는 점으로 보아서<sup>14)</sup> 이 연구를 국내에 그대로 적용하기에는 무리가 있을 것으로 판단된다. 한편, 국내에서는 변이형 HBsAg 검출에 대한 2종류 장비의 평가가 있었으나 ECLIA법 사용한 VITROS 3600 장비는 포함되지 않았고,<sup>15)</sup> 무엇보다도 국내에서는 ECLIA법이 소개만 되었을 뿐 기본적인 HBsAg 평가도 이루어지지 않았으므로, ECLIA법을 이용한 VITROS 3600과 국내에서 널리 쓰이고 있는 CLIA법을 이용한 ARCHITECT i2000을 비교 평가하기에 이 연구의 의의가 있다고 여겨진다.

이 장비의 정밀도는 미국 CLSI EP5-A2 지침에 의해 만들어진 정도관리물질로 측정하여 제시된 기준에 만족하였고, 일간변이 결과는 비록 약간의 차이는 있었으나 ARCHITECT i2000과 비슷하였다. 그리고 '무작위 연속 검체의 일치도'는 기

존 사용하고 있었던 ARCHITECT i2000과 비교했을 때 양성 및 음성 검체 모두 100% 일치도를 보이며, 두 장비의 상관성을 비교했을 때 양성 및 음성 검체 모두 유의한 상관성을 보여서 두 장비간에 별 차이가 없는 것으로 확인되었다.

HBV real time PCR로 검사한 양성 검체 중 2개의 검체가 VITROS 3600과 ARCHITECT i2000으로 검사한 결과 모두 음성으로 나왔다. 이 두 환자 중 52세 여자환자는 7년 6개월 전 만성 B형 간염 진단을 받은 자로 최근 수 년간 B형 간염바이러스 e항원(HBeAg) 및 B형 간염바이러스 e항원 항체(anti-HBe)는 음성이었고, HBV DNA는 38 IU/mL였다. 이는 만성간염 환자에서의 잠복 B형 간염바이러스 감염(occult hepatitis B virus infection, OBI)의 가능성이 있다.<sup>16)</sup> 다른 57세 남자환자는 외상 관련 수술을 위한 진단검사 중 anti-HBs (-), HBV DNA 81 IU/mL, 및 HBsAg (-)이었다. 만성 알코올 중독 이외의 뚜렷한 병력이 없었던 환자로 역시 잠복 B형 간염바이러스 감염의 가능성이 있다.<sup>16)</sup> 종합하면 두 환자 모두 잠복 B형 간염바이러스 감염의 가능성이 있으며 거짓 잠복 B형 간염바이러스 감염의 감별을 위하여 다가 B형 간염바이러스의 표면항체(multivalent anti-HBs antibody)를 이용한 변이형 HBsAg 유무를 확인하거나 S 유전자의 염기서열분석이 필요하다.<sup>16)</sup> 그리고 VITROS 3600과 ARCHITECT i2000 모두 두 환자의 검체에서 HBsAg (-)이었기 때문에 이는 VITROS 3600 장비만의 한계라고 보기는 어려울 것으로 여겨졌다.

결론적으로 VITROS 3600은 ARCHITECT i2000과 비교하여 유사한 결과를 보였으나, 국내의 환자에서 유래하며 호발하는 변이형 HBsAg 검출에 대한 조사는 되어 있지 않으므로 이에 대한 VITROS 3600의 보강 검토 연구가 필요할 것으로 여겨졌다.

## 요 약

**배경:** 최근 강화된 화학발광면역측정법을 이용하여 HBsAg 검출하는 VITROS 3600이 소개되었지만, 국내에서는 HBsAg 검출에 대한 평가는 이루어지지 않아서, 국내에서 많이 상용되고 있는 ARCHITECT i2000과 비교 평가하여 HBsAg 검출 분석 장비의 선택에 도움을 주고자 하였다.

**방법:** HBsAg 검사가 의뢰된 800개의 무작위 혈액 검체와 real-time PCR법을 이용하여 측정된 HBV DNA 양성인 150 검체를 사용하였고, 두 장비의 정밀도, 일치도, 그리고 두 분석 장비간의 Pearson 상관계수를 이용하여 분석하였다.

**결과:** HBsAg 음성 및 양성 검체에 대한 총 표준편차는 각각 0.016, 0.183으로 제조사가 제시한 기준을 만족하였고, 무작위 800검체(양성 33, 음성 767)와 HBV DNA 양성 150 검체(양성 148, 음성 2)를 대상으로 두 분석 장비간 일치도는 100%이었다. 또한 767개의 HBsAg 음성 검체( $r=0.691$ ,  $P=0.004$ )와 148개의 HBV DNA 양성 검체( $r=0.763$ ,  $P<0.001$ )로 두 분석 장비간 높은 상관성을 보였다.

**결론:** VITROS 3600은 HBsAg측정에 있어서 정밀도, 일치도 그리고 ARCHITECT i2000과 높은 상관성을 가졌으며, 이 결과는 HBsAg 검출 장비의 선택시에 도움을 줄 것으로 여겨졌다.

## 참고문헌

1. Chae HB, Kim JH, Kim JK, Yim HJ. Current status of liver diseases in Korea: hepatitis B. Korean J Hepatol 2009;15 Suppl 6:S13-24
2. Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. Vaccine 2012;

- 30:2212-9
3. Dufour DR. Hepatitis B surface antigen (HBsAg) assays--are they good enough for their current uses? *Clin Chem* 2006;52:1457-9
  4. Yang J, Kim JH, Kim Y. Comparison of nine different qualitative HBsAg assay kits. *Korean J Lab Med* 2010;30:178-84
  5. Echevarría JM, Avellón A. Improved detection of natural hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) mutants by a new version of the VITROS HBsAg assay. *J Med Virol* 2008;80: 598-602
  6. Guetta I, Petit V, Ferrando I, Maisonneuve L, Mittler J, Lusina D. Analytical characteristics of Vitros 3600 analyzer. *Ann Biol Clin (Paris)* 2010;68:465-72
  7. La'ulu SL, Roberts WL. The analytic sensitivity and mutant detection capability of six hepatitis B surface antigen assays. *Am J Clin Pathol* 2006;125:748-51
  8. Moerman B, Moons V, Sommer H, Schmitt Y, Stetter M. Evaluation of sensitivity for wild type and mutant forms of hepatitis B surface antigen by four commercial HBsAg assays. *Clin Lab* 2004;50:159-62
  9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline. 2nd ed. Document EP5-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2004
  10. Candotti D, Chaar M, Allain J. Transfusion transmission of hepatitis B virus: still learning more about it. *ISBT Sci Ser* 2011;6:234-40
  11. Roth WK. Hepatitis B and blood transfusion. *ISBT Sci Ser* 2007;2:178-83
  12. Carman WF, Zanetti AR, Karayiannis P, Waters J, Manzillo G, Tanzi E, et al. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. *Lancet* 1990;336:325-9
  13. Weber B. Diagnostic impact of the genetic variability of the hepatitis B virus surface antigen gene. *J Med Virol* 2006;78 Suppl 1:S59-65
  14. Song BC, Kim SH, Kim H, Ying YH, Kim HJ, Kim YJ, et al. Prevalence of naturally occurring surface antigen variants of hepatitis B virus in Korean patients infected chronically. *J Med Virol* 2005;76:194-202
  15. Cha YJ. Detection of hepatitis B virus surface antigen mutants. *Korean J Lab Med* 2005;25: 442-7
  16. Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR, Buendia MA, Chen DS, Colombo M, et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2008;49: 652-7