

# Comparación entre Xpert® y COBAS®-TaqMan® para la medición de carga viral de virus hepatitis B y C

## Comparison between Xpert® and COBAS® TaqMan® for the measuring of viral load of hepatitis B and C viruses

Felipe Ramírez<sup>1</sup>, Julio Miranda<sup>1</sup> y Mauricio Venegas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sección de Gastroenterología, Departamento de Medicina Interna, Hospital Clínico Universidad de Chile, Santiago de Chile, Chile.

Financiamiento: ninguno.

Conflicto de interés: ninguno.

Recibido: 4 de febrero de 2021 / Aceptado: 12 de mayo de 2021

### Resumen

**Introducción:** La medición de carga viral (CV) de virus hepatitis B (VHB) y C (VHC) es fundamental en el seguimiento de pacientes con terapia antiviral. La metodología más utilizada para su determinación es COBAS®-TaqMan®. Recientemente, se desarrolló la tecnología Xpert®, que se debe evaluar. **Objetivo:** Comparar la medición de la CV de VHB y VHC por metodología Xpert® con COBAS®-TaqMan® como método de referencia. **Material y Métodos:** 39 muestras de suero de pacientes con VHB y 39 con VHC, previamente cuantificadas por COBAS®-TaqMan®, fueron analizadas mediante Xpert® y los resultados se compararon utilizando la regresión de Deming y gráfico Bland-Altman. **Resultados:** Hubo una alta correlación entre Xpert® y COBAS®-TaqMan®. Para VHB, la ecuación de Deming fue  $Xpert_{HBV} = 0,44 + 0,99 \times COBAS_{TaqMan_{HBV}}$ , con coeficiente de correlación de 0,94 y diferencia entre medias de  $-0,401 \log_{10}$  (IC95%: -1,985 a 1,183). Para VHC, la ecuación de Deming fue  $Xpert_{HCV} = 0,36 + 0,87 \times COBAS_{TaqMan_{HCV}}$ , con coeficiente de correlación de 0,98 y diferencia entre medias de  $0,328 \log_{10}$  (IC95%: -0,449 a 1,105). **Conclusión:** El nuevo sistema Xpert® muestra una buena correlación con COBAS®-TaqMan® para la medición de la CV de VHB y VHC, siendo una buena alternativa para el seguimiento de pacientes en tratamiento.

**Palabras clave:** virus de la hepatitis B; virus de la hepatitis C; carga viral; diagnóstico molecular.

### Abstract

**Background:** The measurement of viral load (VL) of hepatitis B (HBV) and C (HCV) viruses is essential in the follow-up of patients with antiviral therapy. The most widely used methodology for this determination is COBAS®-TaqMan®. Recently, the Xpert® technology was developed and needs to be evaluated. **Aim:** To compare the measurement of the VL of HBV and HCV by Xpert® methodology with COBAS®-TaqMan® as a reference method. **Material and Methods:** 39 serum samples from patients with HBV and 39 with HCV, previously quantified by COBAS®-TaqMan®, were analyzed using Xpert® and the results were compared using Deming regression and Bland-Altman plot. **Results:** There was a high correlation between Xpert® and COBAS®-TaqMan®. For HBV, the Deming equation was  $Xpert_{HBV} = 0.44 + 0.99 \times COBAS_{TaqMan_{HBV}}$ , with a correlation coefficient of 0.94 and a difference between means of  $-0.401 \log_{10}$  (95% CI: -1.985 to 1.183). For HCV, the Deming equation was  $Xpert_{HCV} = 0.36 + 0.87 \times COBAS_{TaqMan_{HCV}}$ , with a correlation coefficient of 0.98 and a difference between means of  $0.328 \log_{10}$  (95% CI: -0.449 to 1.105). **Conclusion:** The new Xpert® system shows a good correlation with COBAS®-TaqMan® for the measurement of the VL of HBV and HCV, being a good alternative for the follow-up of patients under treatment.

**Keywords:** hepatitis B virus; hepatitis C virus; viral load; molecular diagnostics.

### Correspondencia a:

Mauricio Venegas Santos.  
mvenegas@huch.cl

## Introducción

Las infecciones crónicas por los virus de la hepatitis B (VHB) y hepatitis C (VHC) representan una de las causas de enfermedad hepática de mayor importancia a nivel mundial. Se estima que aproximadamente 257 millones de personas son portadores crónicos del antígeno de superficie del VHB mientras que 71 millones de individuos presentan infección crónica por VHC en todo el mundo<sup>1</sup>. Las guías clínicas nacionales e internacionales recomiendan el uso de técnicas de amplificación de ácidos nucleicos sensibles, específicas y exactas para la cuantificación del ADN del VHB y del ARN de VHC en el contexto del seguimiento del tratamiento antiviral en pacientes con infección crónica<sup>2-7</sup>. Actualmente, existen varios test comerciales para la cuantificación del ADN de VHB y ARN de VHC en muestras de suero o plasma de pacientes, siendo los más utilizados los ensayos RealTime HBV/HCV Viral Load de Abbott (Abbott Molecular, Des Plaines, IL, USA) y COBAS®-TaqMan® HBV/HCV Test<sup>8,9</sup> (Roche Molecular Systems, Inc., Branchburg, NJ, USA). Estas dos plataformas necesitan una infraestructura de laboratorio compleja y personal altamente entrenado para su manejo. Para el procesamiento de las muestras se deben juntar en lotes para optimizar el rendimiento, lo que implica un retraso en la entrega de resultados.

Recientemente, se han desarrollado los ensayos de carga viral (CV) Xpert® HBV y Xpert® HCV (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA), que consisten en cartuchos que contienen todos los componentes para la extracción de los ácidos nucleicos virales, transcripción reversa en el caso de VHC y reacción de polimerasa en cadena (RPC) en tiempo real. Los cartuchos para estos ensayos contienen controles internos que permiten asegurar el rendimiento del proceso y la medición de la CV. Para el procesamiento de las muestras, el suero o plasma es cargado en el cartucho y éste se inserta en el instrumento GeneXpert Dx que procesa en forma individual cada muestra, entregando el resultado en 1 y 2 h para CV de VHB y CV de VHC, respectivamente. Hasta la fecha, existen algunos estudios comparativos entre metodología Xpert® para medir CV de VHB o VHC y las metodologías RealTime Viral Load o COBAS®-TaqMan®, describiéndose una buena correlación.<sup>10-19</sup> No existen estudios en que se compare los ensayos Xpert® con COBAS®-TaqMan® HBV y HCV Test a la vez y tampoco existe experiencia nacional al respecto. Esta comparación es particularmente importante en nuestro medio en el caso del VHB, dado que el genotipo circulante es diferente al existente en otros países<sup>20</sup>.

## Material y Métodos

### Muestras

Se analizaron muestras de suero, las cuales habían sido previamente cuantificadas mediante la tecnología

COBAS®-TaqMan® HBV o HCV en el equipo COBAS TaqMan 48, todas dentro del contexto de inicio o seguimiento de tratamiento antiviral. Tanto para VHB como para VHC se analizaron 39 muestras independientes correspondientes al mismo número de pacientes, las que se encontraban debidamente almacenadas a -20 °C.

En el caso de las muestras de pacientes con VHB se seleccionaron sueros con distintos niveles de CV, con un rango entre 0,78 log<sub>10</sub> y 8,04 log<sub>10</sub> UI/mL. Del mismo modo, en las muestras de VHC, se seleccionaron sueros con distintos niveles de CV, con un rango entre 1,4 log<sub>10</sub> y 7,62 log<sub>10</sub> UI/mL. El uso de las muestras fue autorizado por la dirección del Hospital Clínico de la Universidad de Chile y el estudio fue aprobado por el Comité de Ética con N° de Certificado 53/19.

### Determinación de carga viral de VHB y VHC

Las muestras de suero fueron descongeladas a temperatura ambiente y homogenizadas. Para la medición de CV de VHB se utilizó 1 mL de suero y para VHC se usó 1,1 mL. Los sueros fueron depositados en los cartuchos correspondientes y éstos fueron cargados en el instrumento GeneXpert GX IV, de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Los rangos lineales para las CV Xpert VHB y Xpert VHC están entre 1-9 log<sub>10</sub> y 1-8 log<sub>10</sub> UI/mL, respectivamente.

### Análisis estadístico

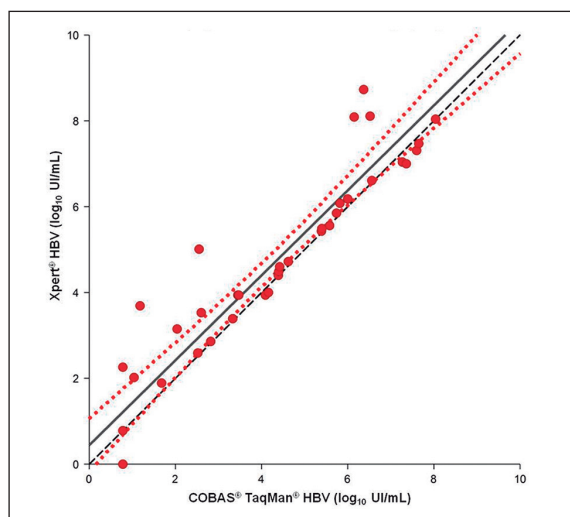
Los resultados obtenidos por ambas pruebas se tradujeron de UI/mL a log UI/mL para su posterior análisis estadístico. Para la comparación de métodos de la medición de CV de VHB y VHC entre los ensayos COBAS®-TaqMan® y Xpert® se utilizó la regresión de Deming, la cual toma en cuenta los errores de medición para ambos métodos y, por lo tanto, es adecuado para comparar ensayos de laboratorio. También se utilizó el análisis de gráficos de Bland-Altman que se utiliza para comparar dos mediciones de la misma variable por métodos distintos, donde las diferencias entre los dos ensayos son graficadas frente al promedio de los resultados de las dos técnicas. Para estos análisis se utilizó el programa estadístico NCSS 2020 v20.0.3 y GraphPad Prism 7.04, considerando el ensayo COBAS®-TaqMan®, como método de referencia.

## Resultados

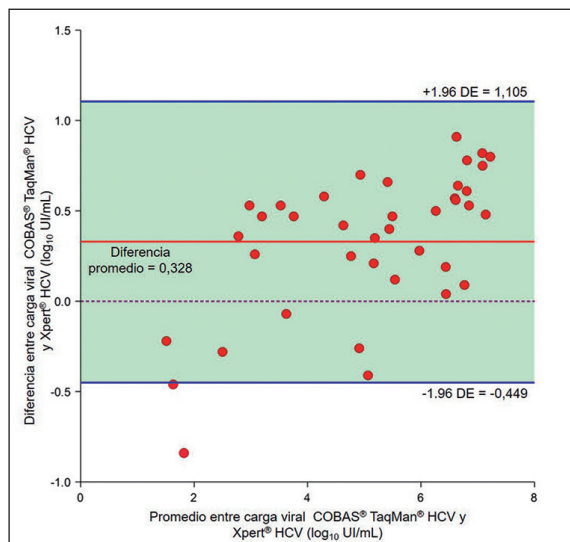
En 38 de las 39 muestras de VHB se conocía el genotipo viral, siendo dos genotipos A, tres genotipos B, tres genotipos C y 30 genotipos F. En el caso del VHC, se disponía del genotipo viral de las 39 muestras, siendo 11 genotipos 1a, 19 genotipos 1b, cuatro genotipos 3a, cuatro genotipos 4 y un genotipo 5a.

El análisis de regresión de Deming mostró que los resultados obtenidos por los dos ensayos de CV de VHB se correlacionaron a través de todo el rango de cuantificación, obteniéndose la siguiente ecuación de Deming:

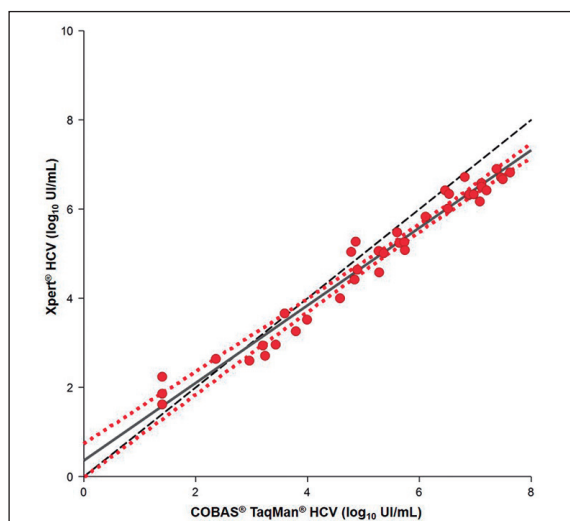
**Figura 1.** Análisis de regresión de Deming para la medición de carga viral de hepatitis B por los métodos de COBAS®-TaqMan® y Xpert®. El gráfico de la regresión de Deming muestra la línea de identidad (discontinua) y el ajuste de Deming con un 95 % de intervalo de confianza (línea continua y dos líneas punteadas, respectivamente).



**Figura 2.** Gráfica de Bland-Altman que muestra el nivel de concordancia para la medición de carga viral de hepatitis B por los métodos de COBAS®-TaqMan® y Xpert®. La diferencia promedio es resaltada en línea roja continua con desviación estándar de  $\pm 1,96$  mostrada en línea azul. La línea negra segmentada representa una condición de idealidad.



**Figura 3.** Análisis de regresión de Deming para la medición de carga viral de hepatitis C por los métodos de COBAS®-TaqMan® y Xpert®. El gráfico de la regresión de Deming muestra la línea de identidad (discontinua) y el ajuste de Deming con un 95 % de intervalo de confianza (línea continua y dos líneas punteadas, respectivamente).

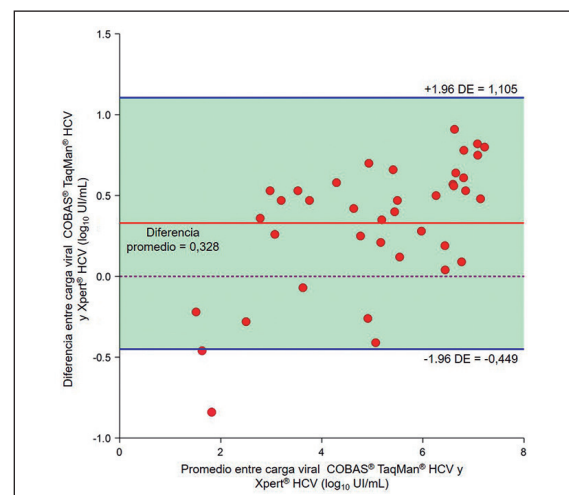


$Xpert-HBV = 0,44 + 0,99x \text{ COBAS}TaqMan-HBV$  ( $F = 296,2$ ; 37 grados de libertad,  $p < 0,0001$ ) (Figura 1). La diferencia logarítmica máxima entre las dos pruebas, en 32 de los pacientes (82,5%), fue de 0,98 log. En las siete muestras restantes, todas del genotipo F, se observó una diferencia logarítmica mayor a 1,0 (1,11-2,52). En estos casos, las CV oscilaron entre 0,78 log<sub>10</sub> y 6,52 log<sub>10</sub> UI/mL con el método COBAS®-TaqMan®, mientras que con el método Xpert® las CV fueron todas más altas y oscilaron entre 2,26 log<sub>10</sub> y 8,72 log<sub>10</sub> UI/mL.

En el análisis de Bland-Altman para la CV de VHB, se observó una alta concordancia entre las dos metodologías analíticas, la cual mostró un coeficiente de correlación de 0,94 y una diferencia entre los promedios de -0,401 log<sub>10</sub> (95% IC: -1,985 a 1,183) (Figura 2). Sólo hubo tres muestras (genotipo F) que salieron del 95% del intervalo de confianza establecido.

Con respecto a la comparación de la medición de CV de VHC, el análisis de regresión de Deming también mostró una buena correlación a través de todo el rango de cuantificación, obteniéndose la siguiente ecuación de Deming:  $XpertHCV = 0,36 + 0,87x \text{ COBAS}TaqManHCV$  ( $F = 1051$ , 37 grados de libertad,  $p < 0,0001$ ) (Figura 3). La diferencia logarítmica máxima entre los dos ensayos fue de 0,90 log<sub>10</sub> con una diferencia mínima de 0,04 log<sub>10</sub>.

También se evidenció una alta concordancia entre los métodos para la medición de CV de hepatitis C en el análisis de Bland-Altman, con un coeficiente de correlación de 0,98 y una diferencia entre las medias de 0,328 log<sub>10</sub> (95% IC: -0,449 a 1,105) (Figura 4). Sólo hubo dos muestras (genotipo 1b) que salieron del 95% del intervalo de confianza establecido.



**Figura 4.** Gráfica de Bland-Altman que muestra el nivel de concordancia para la medición de carga viral de hepatitis C por los métodos de COBAS®-TaqMan® y Xpert®. La diferencia promedio es resaltada en línea roja continua con desviación estándar de  $\pm 1,96$  mostrada en línea azul. La línea negra segmentada representa una condición de idealidad.

## Discusión

La detección del ADN del VHB y del ARN del VHC junto a la cuantificación de sus respectivas CV se utilizan en la práctica clínica para efectuar diagnóstico, definir tratamiento y controlar la respuesta a las distintas terapias antivirales. Para su medición se usa la técnica de RPC en tiempo real, siendo la tecnología COBAS®-TaqMan® la más utilizada a nivel mundial en la actualidad, con un desempeño analítico satisfactorio. Esta tecnología requiere para su ejecución de tres laboratorios separados, profesionales entrenados y, además, en el equipo COBAS TaqMan 48 utilizado en este estudio (formato más pequeño de la línea molecular), se necesitan al menos 12 muestras de suero o plasma para procesar en lotes que sean costo-efectivos, lo que implica juntar muestras, aumentando el tiempo de respuesta para el resultado de los pacientes. Una vez que se tienen las 12 muestras, el tiempo de procesamiento oscila entre 5 y 6 h dependiendo si es CV de VHB o VHC, respectivamente.

Actualmente, se encuentra disponible la plataforma Xpert® para la medición de ambas CV, que trabaja con cartuchos que tienen incorporado un sistema integrado de purificación, transcripción reversa (en el caso de VHC), amplificación y detección cuantitativa de los ácidos nucleicos virales, lo que permite trabajar en un solo laboratorio para el procesamiento de las muestras y no es necesario disponer de personal altamente entrenado. Además, debido a que los cartuchos son individuales, no es necesario trabajar lotes de muestras, obteniendo los resultados en una o dos horas para CV de VHB o VHC, respectivamente<sup>10,14</sup>.

Considerando que esta nueva tecnología resultaba atractiva para simplificar la medición de CV de virus hepatitis, se presentaba como una necesidad evaluar su desempeño diagnóstico en nuestro medio. Esto es especialmente relevante para el caso de VHB, dado que esta prueba diagnóstica, al igual que la de COBAS®-TaqMan®, utilizó el estándar internacional de la OMS que es genotipo A para su desarrollo y evaluación. En Chile el genotipo F es el prevalente<sup>20</sup>, genotipo que no es frecuente en los países en donde se fabrican los *kits* para diagnóstico.

En nuestro estudio, demostramos que los nuevos ensayos de CV Xpert® cuantifican con precisión los niveles de ADN del VHB y ARN del VHC en muestras de suero utilizando como técnica de comparación al ensayo COBAS®-TaqMan®.

Respecto a la medición de CV de VHB encontramos una alta concordancia entre ambos métodos. Si bien, en siete de los 39 pacientes objetivamos diferencias logarítmicas mayores a 1,0, según el ensayo utilizado, en dos de estos pacientes las CV se encontraban por debajo del rango de  $3,3 \log_{10}$  (2.000 UI/mL), mientras que en tres pacientes las cargas virales estaban por sobre el rango de  $4,3 \log_{10}$

(20.000 UI/mL), lo que, para términos de indicación de tratamiento, dependiendo de las características clínicas de los pacientes, no significa cambios en la conducta. De este modo, sólo dos pacientes presentaron resultados divergentes con una diferencia logarítmica de 2,46 y 2,52 respectivamente. Estas diferencias deben analizarse con cautela dado que el diagnóstico y la determinación de la fase de la infección pueden basarse, en parte, en la medición de la CV del VHB, pudiendo tener estos resultados repercusiones en la decisión de tratamiento y seguimiento de estos pacientes. Una posible explicación en los resultados discordantes es la cuantificación no apropiada del genotipo F por alguna de las dos tecnologías. Sin embargo, la diferencia se encontró en sólo siete de las 30 muestras que tenían este genotipo. Por último, no se puede descartar que las diferencias se deban a un error puntual en el procesamiento de esas muestras por alguno de los dos métodos.

En el caso del VHC, no encontramos diferencias logarítmicas mayores a 1,0 entre las mediciones de CV por COBAS®-TaqMan® y Xpert®, lo que evidencia una alta correlación entre estos métodos. Si bien, en el análisis de Bland-Altman hubo dos muestras que salen del 95% del IC y además se observa la tendencia de que a valores bajos de CV Xpert® muestra resultados más altos que COBAS®-TaqMan® y viceversa, el hecho de estas diferencias no sean mayores a  $1 \log_{10}$ , no reviste mayor importancia porque la variabilidad para las mediciones de CV por ambos métodos son hasta  $1 \log_{10}$ , lo que si bien parecen altos, no lo son por tratarse de técnicas de amplificación exponencial. De todas formas, sería importante estudiar si esta tendencia observada en las diferencias en la medición de CV de VHC se mantiene al incrementar el número de muestras a analizar.

En relación a las ventajas de la técnica Xpert®, ésta ofrece una reducción teórica del riesgo de contaminación cruzada de la muestra dado que todos los pasos (extracción, transcripción y RPC) tienen lugar dentro del mismo cartucho en un módulo independiente en el instrumento GeneXpert<sup>10</sup>. Por otro lado, permite el procesamiento de muestras individuales sin la necesidad de contar con muestras de control, ya que cada cartucho contiene reactivos de control de calidad internos<sup>11</sup>. Adicionalmente, demuestra ser superior en términos de velocidad del proceso, respecto a COBAS®-Taqman®, técnica que requiere la recolección de varias muestras para su procesamiento en lotes, lo que genera que los laboratorios procesen estas muestras, por lo general, una vez por semana.

En conclusión, los nuevos sistemas Xpert® VHB y VHC muestran una buena correlación con COBAS®-TaqMan® para la medición de CV de VHB y VHC, simplificando y optimizando el flujo de trabajo en el laboratorio y permitiendo una significativa mejora en la velocidad en la que los resultados están disponibles para la evaluación de los pacientes.



## Referencias bibliográficas

- 1.- WHO. Global hepatitis report. 2017. Disponible en <https://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/>
- 2.- Chile, Ministerio de Salud. Guía Clínica: Manejo y tratamiento de la infección crónica por virus de la hepatitis B (VHB). Ministerio de Salud, Chile. 2013. Disponible en [https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2015/10/GUIA-CLINICA-HEPATITIS-B\\_web.pdf](https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2015/10/GUIA-CLINICA-HEPATITIS-B_web.pdf).
- 3.- Manejo y tratamiento de la infección crónica por virus de la hepatitis C (VHC). Ministerio de Salud, Chile. 2015. Disponible en <https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2016/04/GUIA-VHC.-2015-Editada.pdf>.
- 4.- Terrault N A, Lok A S F, McMahon B J, Chang K, Hwang JP, Jonas MM, et al. Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 Hepatitis B Guidance. *Hepatology* 2018; 67(4): 1560-99. doi: 10.1002/hep.29800.
- 5.- EASL 2017 Clinical practice guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2017; 67(2): 370-98. doi: 10.1016/j.jhep.2017.03.021.
- 6.- Hepatitis C Guidance 2019 Update: American Association for the Study of Liver Diseases-Infectious Diseases Society of America Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2020; 71(2): 686-721. doi: 10.1002/hep.31060.
- 7.- EASL recommendations on treatment of hepatitis C: Final update of the series. *J Hepatol* 2020; 73(5): 1170-218. doi: 10.1016/j.jhep.2020.08.018.
- 8.- Chevaliez S, Bouvier-Alias M, Laperche S, Hézode C, Pawlotsky J M. Performance of TaqMan real-time PCR assay for hepatitis B virus DNA quantification. *J Clin Microbiol* 2010; 48(10):3641-7. doi: 10.1128/JCM.01306-10.
- 9.- Braun P, Delgado R, Drago M, Fanti D, Fleury H, Izopet J, et al. A European multicentre study on the comparison of HBV viral loads between VERIS HBV assay and Roche COBAS® TAQMAN® HBV test, Abbott RealTime HBV assay, Siemens VERSANT HBV assay, and Qiagen artus HBV RG kit. *J Clin Virol* 2017; 95: 76-83. doi: 10.1016/j.jcv.2017.08.015.
- 10.- McHugh M P, Wu A H B, Chevaliez S, Pawlotsky J M, Hallin M, Templeton K E. Multicenter evaluation of the Cepheid Xpert hepatitis C virus viral load assay. *J Clin Microbiol.* 2017; 55(5): 1550-56. doi: 10.1128/JCM.02460-16.
- 11.- Gupta E, Agarwala P, Kumar G, Maiwall R, Sarin S K. Point-of-care testing (POCT) in molecular diagnostics: Performance evaluation of GeneXpert HCV RNA test in diagnosing and monitoring of HCV infection. *J Clin Virol.* 2017; 88:46-51. doi: 10.1016/j.jcv.2017.01.006.
- 12.- Lamoury F M J, Bajis S, Hajarizadeh B, Marshall A D, Martinello M, Ivanova E, et al; LiveRLife Study Group. Evaluation of the Xpert HCV viral load finger-stick point-of-care assay. *J Infect Dis* 2018; 217(12): 1889-96. doi: 10.1093/infdis/jiy114.
- 13.- Grebely J, Lamoury F M J, Hajarizadeh B, Mowat Y, Marshall A D, Bajis S, et al; LiveRLife Study Group. Evaluation of the Xpert HCV viral load point-of-care assay from venepuncture-collected and finger-stick capillary whole-blood samples: a cohort study. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2017; 2(7): 514-20. doi: 10.1016/S2468-1253(17)30075-4.
- 14.- Abravanel F, Lhomme S, Trémeaux P, Miguères M, Harter A, Haslé C, et al. Performance of the Xpert HBV viral load assay versus the Aptima Quant assay for quantifying hepatitis B virus DNA. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2020; 96 (2): 114946. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2019.114946.
- 15.- Auzin A M, Slavenburg S, Peters C, Boland G, Rahamat-Langendoen J, Melchers W J G, et al. Rapid, random-access, and quantification of hepatitis B virus using the Cepheid Xpert HBV viral load assay. *J Med Virol* 2020 Aug 6. doi: 10.1002/jmv.26392.
- 16.- Poiteau L, Wlassowa M, Hézodeb C, Pawlotsky J M, Chevaliez S. Evaluation of the Xpert HBV viral load for hepatitis B virus molecular testing. *J Clin Virol* 2020; 129: 104481. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104481.
- 17.- Jackson K, Tekoa R, Li Xin, Locarnini S. Real-world application of the Xpert HBV viral load assay on serum and dried blood spots. *J Med Virol* 2020; 1-7. doi: 10.1002/jmv.26662.
- 18.- Gupta E, Khodare A, Rani N, Singh G, Aggarwal K, Sharma M. Performance evaluation of Xpert HBV viral load (VL) assay: Point-of-care molecular test to strengthen and decentralize management of chronic hepatitis B (CHB) infection. *J Virol Meth* 2021; 290: 114063. doi: 10.1016/j.jviromet.2021.114063.
- 19.- Marcuccilli F, Chevaliez S, Muller T, Colagrossi L, Abbondanza G, Beyser K, et al. Multicenter evaluation of the Cepheid Xpert® HBV viral load test. *Diagnostics (Basel)* 2021; 11(2): 297. doi: 10.3390/diagnostics11020297.
- 20.- Venegas M, Muñoz G, Hurtado C, Álvarez L, Velasco M, Villanueva R, et al. Prevalence of hepatitis B virus genotypes in chronic carriers in Santiago, Chile. *Arch Virol* 2008; 153: 2129-32. doi: 10.1007/s00705-008-0231-6.