

การศึกษาอุบัติการณ์ของแอนติเจนและแอนติบอดีต่อ โรคตับอักเสบบีในคนไทยและการทดสอบหน้าที่ของตับในพาหะ

ชินจิตต์ เอื้ออัมมาสัย*

ฤทัย สกกุลแรมรุ่ง** รัชนา สานตียนนท์***

Auaatcharsai C, Sakulramrung R, Santiyanont R. Studies of HBsAg and anti-HBs incidence in Thais and liver function test in hepatitis B carriers. Chula Med J 1988 Jan; 32 (1) : 13-19

The studies were carried out by screening 427 sera from people who came for free health examination on the Founding Day celebration of Chulalongkorn University in 1985. The age of the subjects ranged from 15-72 years. Of the total 427 samples tested, 27 samples (6.3%) were found positive for HBs Ag and 109 samples (25.5%) were positive for anti-HBs. No sample was positive for both HBs Ag and anti-HBs. The incidence of HBs Ag was higher in male than in female, at a ratio of 2.3 : 1. But no sex difference was observed in the occurrence of anti-HBs. In addition, positive seromarkers for viral hepatitis B exposure as indicated by positive tests for either HBs Ag or anti-HBs, were found mostly at ages between 25-45 years. All HBs Ag and anti-HBs positive sera were accompanied by normal liver function tests as considered from the levels of aspartate transaminase and alanine transaminase.

Reprint requests : Santiyanont R, Department of Medical Technology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10500, Thailand.

Received for publication. October 16, 1987.

-
- * นิสิตภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 - ** ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 - *** ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โรคตับอักเสบบี เป็นโรคติดต่อที่เป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญโรคหนึ่ง การทราบอุบัติการณ์ของแอนติเจนและแอนติบอดีต่อโรคนี้อาจมีประโยชน์ช่วยในการควบคุมและป้องกันการระบาดของโรคนี้ สำหรับในประเทศไทย ได้มีผู้รายงานไว้ต่าง ๆ กัน แต่เป็นการศึกษาที่ได้ทำในระยะเวลาที่ผ่านมา มากกว่าสิบปีแล้ว ดังนั้น จึงเป็นเรื่องน่าสนใจที่จะศึกษาอุบัติการณ์เหล่านี้ในปัจจุบัน เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ทันสมัย ประกอบการศึกษาทางระบาดวิทยาของโรคนี้

โดยปกติ ผู้ที่เป็นพาหะของโรคตับอักเสบบีอาจมีโอกาสดังอาการของโรคได้ในขณะใดขณะหนึ่ง ซึ่งกว่าจะวินิจฉัยได้ ผู้ป่วยส่วนใหญ่ก็มีอาการลุกลามมากแล้ว ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทดสอบหน้าที่ของตับโดยการวัดแอกติวิตีของเอนไซม์ ALT (alanine transaminase) และ AST (aspartate transaminase) ในซีรัม ซึ่งหากการทดสอบหน้าที่ของตับซึ่งทำได้ง่ายและมีได้ใช้เทคนิคที่รุกรานต่อผู้ป่วยนี้ สามารถให้ผลที่ช่วยในการวินิจฉัยโรคได้ตั้งแต่ระยะแรก ก็จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการป้องกันและรักษาโรคตับอักเสบบีในพาหะ

วัสดุและอุปกรณ์

1. **น้ำยา** น้ำยาตรวจหาแอนติเจนของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (HBs Ag) โดยวิธี reverse passive hemagglutination (RPHA) ของ Behring ประเทศเยอรมัน น้ำยาตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (anti-HBs) โดยวิธี passive hemagglutination (PHA) ของ Fujirebio ประเทศญี่ปุ่น Positive และ negative control serum สำหรับ HBs Ag เป็นของ Wellcome Diagnostic ประเทศอังกฤษ น้ำยาชุดสำหรับตรวจหา activity ของ AST (aspartate transaminase) และ ALT (alanine transaminase) เป็นของอาณานิคม ประเทศไทย และใช้สารควบคุมคุณภาพสำหรับการตรวจเอนไซม์ (Versatol) ของ General Diagnostics ประเทศสหรัฐอเมริกา

2. **เครื่องมือ** ใช้ microtiter plates V-form สำหรับการทดสอบ HBs Ag และ U-form สำหรับการทดสอบ anti-HBs การวัด activity ของเอนไซม์ใช้เครื่อง Spectrophotometer Coleman Junior II ของประเทศสหรัฐอเมริกา

3. **ตัวอย่างเลือด** ได้จากผู้มารับบริการตรวจสุขภาพในวันคล้ายวันสถาปนาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พ.ศ. 2528 จำนวน 427 ราย

วิธีดำเนินการ

1. **การเก็บตัวอย่างเลือด** เก็บตัวอย่างเลือดจากผู้มารับบริการตรวจสุขภาพ บั่นแยกซีรัม แล้วแบ่งซีรัมใส่ถ้วยเล็กที่มีฝาปิด เก็บเป็น aliquots ไว้ที่ -20°C จนกว่าจะใช้

2. **การตรวจหา HBs Ag** นำซีรัมมาตรวจ HBs Ag โดยวิธี RPHA⁽¹⁾ โดยมีหลักการว่าแอนติบอดีต่อ HBs Ag ซึ่งเกาะอยู่บนผิวของเม็ดเลือดแดงจะทำปฏิกิริยากับ HBs Ag ในซีรัม ทำให้มีการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงเกิดขึ้น

3. **การตรวจหา anti-HBs** นำซีรัมมาตรวจ anti-HBs โดยวิธี PHA⁽²⁾ โดย HBs Ag ซึ่งเกาะอยู่บนผิวของเม็ดเลือดแดงจะทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีต่อ HBs Ag ในซีรัม ทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

4. **การทดสอบหน้าที่ของตับ** นำซีรัมที่ตรวจพบ HBs Ag และ/หรือ anti-HBs มาตรวจหาแอกติวิตีของเอนไซม์ AST และ ALT โดยวิธีของ Reitman & Frankel⁽³⁾

5. **การควบคุมคุณภาพของการตรวจสอบ** ในการศึกษาครั้งนี้ได้มีการควบคุมคุณภาพของการทดสอบ โดยในการตรวจหา HBs Ag และ anti-HBs แต่ละครั้งจะมี positive และ negative control serum ทำควบคุมไปในการทดสอบซีรัมที่ศึกษาด้วย ส่วนในการตรวจเอนไซม์ได้ใช้สารควบคุมคุณภาพที่ทราบค่าแน่นอน คือ Versatol ในการตรวจสอบเพื่อยืนยันความถูกต้องของผลวิเคราะห์ไปพร้อมกับการทดสอบทุกครั้ง

ผลการทดลอง

1. **อุบัติการณ์ของ HBs Ag และ anti-HBs ในผู้มารับบริการตรวจสุขภาพ** จากการตรวจหา HBs Ag และ anti-HBs ในซีรัมจำนวน 427 ราย ซึ่งเป็นชาย 232 ราย หญิง 190 ราย (ขาดข้อมูล 5 ราย) ผลปรากฏว่าการทดสอบ HBs Ag ให้ผลบวกทั้งสิ้น 27 ราย คิดเป็นร้อยละ 6.3 ส่วนการทดสอบ anti-HBs ให้ผลบวกทั้งสิ้น 109 ราย คิดเป็นร้อยละ 25.5 และไม่พบบุคคลที่มีทั้งแอนติเจนและแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในเวลาเดียวกัน

ผู้ที่ตรวจพบ HBs Ag 27 ราย ปรากฏว่าเป็นชาย 20 ราย ซึ่งนับเป็นร้อยละ 8.6 ของเพศชายที่ทำการทดสอบ เป็นหญิง 7 ราย คิดเป็นร้อยละ 3.7 ของเพศหญิง

ที่ทำการทดสอบ ดังนั้นอัตราส่วนของผู้ที่ตรวจพบ HBs Ag ในเพศชายและเพศหญิงจึงเป็น 2.3 : 1 ส่วนผู้ที่ตรวจพบ anti-HBs 109 ราย พบว่าเป็นชาย 60 ราย (ร้อยละ

25.9 ของเพศชายที่ทำการทดสอบ) เป็นหญิง 49 ราย (ร้อยละ 25.8 ของเพศหญิงที่ทำการทดสอบ) ซึ่งแสดงว่า ตรวจพบ anti-HBs ในทั้งสองเพศได้เท่ากัน (รูปที่ 1)

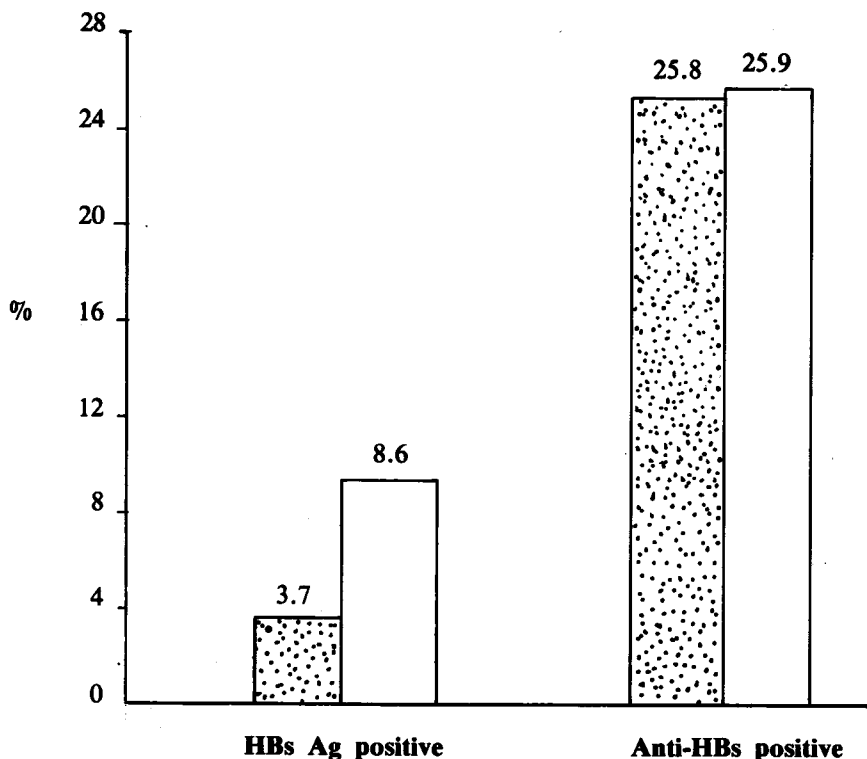


Figure 1 Incidence of HBs Ag positive and anti-HBs positive

อุบัติการณ์ของ HBs Ag ในช่วงอายุต่าง ๆ ได้แสดง ข้อมูลไว้ในตารางที่ 1 พบว่าช่วงอายุ 25-54 ปี จะมีอุบัติการณ์ของ HBs Ag สูงกว่าช่วงอายุอื่น ในทำนองเดียวกันอุบัติการณ์

ของ anti-HBs ในช่วงอายุ 25-44 ปี จะสูงกว่าในช่วงอายุอื่น ๆ (ตารางที่ 2)

Table 1 Incidence of HBs Ag divided according to age and sex*

Age (years)	Man			Woman			Total		
	No. tested	Positive		No. tested	Positive		No. tested	Positive	
		No.	%		No.	%		No.	%
15-24	60	3	5.0	44	-	-	104	3	2.8
25-34	79	8	10.1	61	3	4.9	140	11	7.8
35-44	32	4	12.5	41	2	4.9	73	6	8.2
45-54	32	5	15.6	31	1	3.2	63	6	9.5
>55	21	-	-	11	1	-	32	1	3.1
Total	224	20	8.9	188	7	3.7	412	27	6.6

* Total number was less than 427 of samples tested because of incomplete data of 15 samples.

Table 2 Incidence of anti-HBs divided according to age and sex*

Age (years)	Man			Woman			Total		
	No. tested	Positive		No. tested	Positive		No. tested	Positive	
		No.	%		No.	%		No.	%
15-24	60	14	23.3	44	3	6.8	104	17	16.3
25-34	79	26	32.9	61	21	34.4	140	47	33.6
35-44	32	8	25.0	41	15	36.6	73	23	31.5
45-54	32	6	18.8	31	7	22.6	63	13	20.6
>55	21	5	23.8	11	2	18.1	32	7	21.9
Total	224	59	26.3	188	48	25.5	412	107	26.0

* Total number was less than 427 of samples tested because of incomplete data of 15 samples.

เมื่อตรวจดูการสัมผัสกับเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (รวม 25-54 ปี เป็นช่วงอายุที่พบการสัมผัสกับเชื้อไวรัสในคนที่ตรวจพบ HBs Ag และ anti-HBs) พบว่าช่วงอายุ ที่สูง (ตารางที่ 3)

Table 3 Incidence of viral hepatitis B exposure (either positive test for HBs Ag or anti-HBs) divided according to age and sex*

Age (years)	Man			Woman			Total		
	No. tested	Positive		No. tested	Positive		No. tested	Positive	
		No.	%		No.	%		No.	%
15-24	60	17	28.3	44	3	6.8	104	20	19.2
25-34	79	34	43.0	61	24	39.3	140	58	41.4
35-44	32	12	37.5	41	17	41.4	73	29	39.7
45-54	32	11	34.4	31	8	25.8	63	19	30.2
>55	21	5	23.8	11	3	27.3	32	8	25.0
Total	224	79	35.3	188	55	29.3	412	134	32.5

* Total number was less than 427 of samples tested because of incomplete data of 15 samples

2. การทดสอบหน้าที่ของตับกับการติดเชื้อ
ไวรัสตับอักเสบบี
เมื่อนำซีรัมของผู้ที่ตรวจพบ HBs Ag มาทดสอบ

เอนไซม์ AST และ ALT พบว่ามีค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ
สำหรับซีรัมของผู้ที่ตรวจพบ anti-HBs ก็ให้ผลการทดสอบ
หน้าที่ของตับปกติเช่นเดียวกัน (รูปที่ 2)

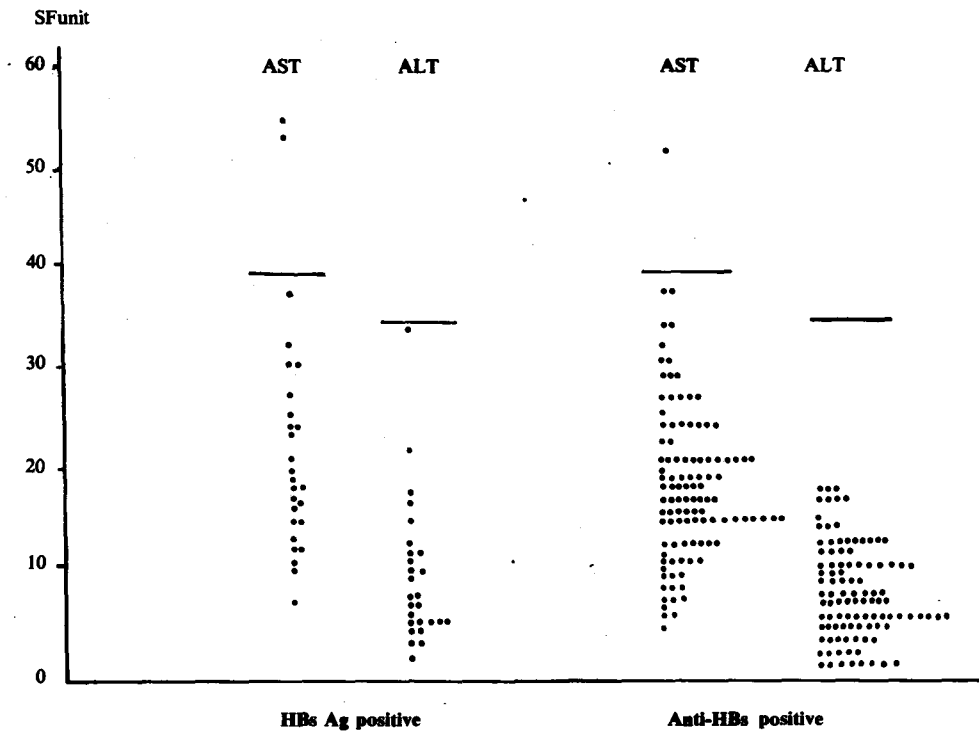


Figure 2 Level of transaminases in sera which contained either HBs Ag or anti-HBs (—) was cut off level for normal range.

วิจารณ์

1. อุบัติการณ์ของ HBs Ag และ anti-HBs ในผู้มารับบริการตรวจสุขภาพ เนื่องจากความหมายของคำว่าพาหะที่ไม่มีอาการปรากฏ คือ ภาวะที่มีการตรวจพบ HBs Ag ในซีรัมทุกครั้งที่ตรวจในคนเดียวกันเป็นเวลาดังแต่ 6 เดือนขึ้นไป โดยไม่พบอาการผิดปกติ แต่การศึกษานี้เป็นการศึกษา ณ จุดเวลาหนึ่ง จึงไม่สามารถติดตามตรวจ HBs Ag ในผู้ที่พบ HBs Ag ในเลือดได้เป็นช่วงระยะเวลาาน ๆ เนื่องจากผู้มารับบริการตรวจมาจากหลายแห่งของประเทศไทยทั้งในกรุงเทพฯ และต่างจังหวัด การศึกษานี้ จึงเป็นการดูอุบัติการณ์และระบาดวิทยาของโรคอย่างคร่าว ๆ ในประเทศไทย ซึ่งพบมีอุบัติการณ์ของผู้เป็นพาหะร้อยละ 6.3 เป็นการยืนยันผลการวิจัยที่มีผู้ศึกษารายงานไว้แล้วว่า อุบัติการณ์ของพาหะ สำหรับประชาชนทั่วไปในประเทศไทยจะพบได้ร้อยละ 5-10⁽⁴⁻¹¹⁾ โดยที่วิธีการตรวจ HBs Ag นี้ใช้น้ำยา RPHA ซึ่งมีความไวพอประมาณ สามารถตรวจ HBs Ag ในปริมาณไม่ต่ำกว่า 100 นาโนกรัม/มิลลิลิตร อุบัติการณ์ของ HBs Ag นี้ จะพบสูงขึ้นหากใช้วิธีการตรวจที่มีความไวสูง เช่น เเรดิโออิมมิวโนแอสเส หรืออีไลซ่า ผลการตรวจนี้ชี้ให้เห็นว่าอุบัติการณ์ของโรคนี้ในคนไทยยังไม่เพิ่มขึ้น

2. การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างเพศ อายุ กับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี

เพศ อุบัติการณ์ของ HBs Ag ในเพศชายสูงกว่าเพศหญิง 2.3 เท่า ซึ่งผลการศึกษานี้คล้ายกับการศึกษาของ Feinman และคณะ⁽¹²⁾ ในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตชาวคาตาลา ซึ่งพบอุบัติการณ์ของ HBs Ag ในเพศชาย : เพศหญิง = 2 : 1 การศึกษาที่ได้ผลลักษณะนี้มีอีกหลายรายงาน^(6,9,13,14) ซึ่งยังไม่ทราบเหตุผลที่แน่ชัดว่าการที่พบ HBs Ag ในเพศชายบ่อยกว่าในเพศหญิงนี้เป็นเพราะการดำเนินชีวิตในแบบของผู้ชาย หรือเนื่องจากสาเหตุทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับเพศ⁽⁴⁾

ส่วนการตรวจพบ anti-HBs ในการศึกษาครั้งนี้ ไม่มีความแตกต่างระหว่างเพศ ซึ่งคล้ายกับผลการศึกษาของ Cherubin กับคณะ⁽¹⁵⁾ ซึ่งได้ทำการศึกษาในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตในสหรัฐอเมริกา นอกจากนี้ยังมีรายงานที่ได้ผลการศึกษาเช่นเดียวกันนี้อีกหลายรายงาน^(9,16,17)

การศึกษานี้เป็นการยืนยันว่า susceptibility ของเพศชายและเพศหญิงในการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี คล้ายกันในกลุ่มประชากรในประเทศต่าง ๆ แม้ว่าอุบัติการณ์ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในเขตร้อนจะสูงกว่าในเขตอบอุ่นก็ตาม

อายุ อุบัติการของ HBs Ag จะสูงขึ้นเรื่อย ๆ ในแต่ละช่วงอายุ (ตารางที่ 1) แต่ในช่วงอายุ 55 ปีขึ้นไป อุบัติการของ HBs Ag ก็ลดลงอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งอาจเป็นเพราะไวรัสตับอักเสบบีจะค่อยถูกกำจัดออกจากร่างกายของผู้ที่เป็นพาหะได้เอง^(18,19) เมื่อเวลาผ่านไปนานพอสมควร ดังนั้น อุบัติการของ HBs Ag ในช่วงอายุสูงจึงน้อยกว่าในช่วงอายุน้อย

ส่วนอุบัติการของ anti-HBs เมื่อเปรียบเทียบกับอายุจะเห็นว่าอุบัติการของ anti-HBs ในช่วงอายุ 25-44 ปี จะสูงกว่าช่วงอายุอื่น ๆ (ตารางที่ 2) ซึ่งอาจเป็นเพราะช่วงนี้เป็นช่วงที่บุคคลอาจมีโอกาสสัมผัสกับไวรัสได้เพิ่มขึ้น และร่างกายในระยะนี้ก็มีการพัฒนาของระบบภูมิคุ้มกันอย่างเต็มที่ สามารถตอบสนองต่อแอนติเจนได้เป็นอย่างดี

3. การทดสอบหน้าที่ของตับกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี

การตรวจแอกติวิตีของเอนไซม์ transaminases จะบอกถึงการทำงานของตับได้อย่างดี โดยเฉพาะเอนไซม์ ALT ซึ่งมีความไวต่อการตรวจหน้าที่ของตับสูงเพราะถึงแม้เซลล์ของตับจะถูกทำลายไปเพียง 1% ก็จะมีระดับเอนไซม์นี้ในเลือดสูงผิดปกติแล้ว⁽²⁰⁾ การศึกษาก่อนหน้านี้ของ Vittal และคณะ⁽²¹⁾ และ Simon และคณะ⁽²²⁾ พบว่าพาหะที่ไม่มีอาการปรากฏทุกคนมีอาการผิดปกติของตับ

และส่วนใหญ่ให้ผลการทดสอบหน้าที่ของตับผิดปกติ แต่รายงานของ Ricci และคณะ⁽²³⁾ รวมทั้งอีกหลายรายงาน⁽²⁴⁻²⁸⁾ พบว่าพาหะที่ไม่ปรากฏอาการมีจำนวนน้อยที่จะให้ผลการทดสอบหน้าที่ของตับผิดปกติและในการตรวจชิ้นเนื้อตับก็พบว่าส่วนใหญ่มีเซลล์ตับปกติ

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า ทั้งในผู้ที่ตรวจพบ HBs Ag และ anti-HBs มีค่า ALT ปกติ และในผู้ที่ตรวจพบ HBs Ag ก็มีระดับ AST ผิดปกติเล็กน้อยและพบเพียงร้อยละ 7 เท่านั้น ซึ่งการพบ AST ผิดปกตินี้คงจะไม่เกี่ยวข้องกับการทำหน้าที่ของตับ เพราะระดับ AST อาจสูงกว่าปกติได้ในหลายภาวะนอกจากโรคตับ นอกจากนี้ระดับ ALT ซึ่งเปลี่ยนแปลงได้รวดเร็วกว่า AST เมื่อเซลล์ตับถูกทำลายก็เป็นปกติในบุคคลเหล่านี้

ส่วนในผู้ที่ตรวจพบ anti-HBs มีระดับ AST สูงกว่าปกติเล็กน้อยเพียงร้อยละ 1 ในขณะที่ Sakuma และคณะ⁽²⁹⁾ พบมีความผิดปกติในการทดสอบหน้าที่ของตับถึงร้อยละ 9 อย่างไรก็ตามการตรวจพบ AST สูงกว่าปกติในการศึกษานี้คงไม่เกี่ยวข้องกับการทำหน้าที่ของตับ ดังเหตุผลที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคุณสมใจ ตัญญศิริ สำหรับงานพิมพ์ต้นฉบับ

อ้างอิง

- Hirata AA, Emerick AJ, Boley WF. Hepatitis B virus antigen detection by reverse passive hemagglutination. Proc Soc Exp Biol Med 1973; 143 : 761-763
- Vyas. GN, Shuluman NR. Hemagglutination assay for Ag und Ab associated with viral hepatitis. Science 1970 Oct 16.; 170 (3955) : 332-333.
- Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am J Clin Pathol 1957 Jan; 28 (1) : 56-60
- Pongpipat D, Suvatte V, Ratanawong A. The determination of Australia antigen and antibody by cross-over immunoelectrophoresis. J Med Assoc Thai 1971 Aug; 54 (8) : 569-571
- Vejjajiva S, Sakulramrung R, Sriratanban A, Pranich K. Incidence of HAA in blood donor at Chulalongkorn Hospital. J Med Assoc Thai : 54 (8) : 564-567
- Grossman RA, Benenson MW, Scott RM, Snitbhan R, Top FH, Jr., Pantuwatana S. An epidemiologic study of hepatitis B virus in Bangkok, Thailand. Am J Epidemiol 1975 Feb; 101 (2) : 144-159
- Punyagupta S, Olson LC, Harinasuta U. The epidemiology of hepatitis B antigen in a high prevalence area. Am J Epidemiol 1971 Jul ; 94 (7) : 569-571
- Thongcharoen P, Panpatana P, Wasi C, Chandanyingyong D, Jatikavamich V, Yongchaiyud U. The incidence of hepatitis B surface antigen in tropical infections and

- liver diseases in Thailand. *J Med Assoc Thai* 1976 Dec; 59 (12) : 546-549
9. Chiewsilp P, Vinyan S, Bhamarapravati N. HB Ag and HB Ab in blood donors. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1974 Apr; 68 (4) : 339-340
 10. จันทนา คุณอนก. การศึกษาที่สถาบันวิจัยไวรัส แอนติเจนไวรัสตับอักเสบบีในผู้ป่วยและผู้ที่เป็นพาหะ. ใน : จันทพงษ์ ะสี, ประเสริฐ ทองเจริญ. บรรณาธิการ ไวรัสตับอักเสบบีในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์อักษรสมัย, 2526. 178-184
 11. ศรีวิไล ต้นประเสริฐ. ไวรัสตับอักเสบบีและการถ่ายทอด. ใน : จันทพงษ์ ะสี, ประเสริฐ ทองเจริญ. บรรณาธิการ. ไวรัสตับอักเสบบีในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์อักษรสมัย, 2526. 123-133
 12. Feinman SV, Cooter N, Sinchair JC, Wrobel DM, Berris B. Clinical and epidemiological significance of the HBs Ag (Australia antigen) carrier state. *Gastroenterology* 1975 Jan; 68 (1) : 113-120
 13. Szmunness W, Prince AM, Diebolt G. The epidemiology of hepatitis B in Africa result of a pilot survey in Republic of Senegal. *Am J Epidemiol* 1973 Feb; 98 (2) : 104-110
 14. Drew JS, London WT, Lustbader ED. Hepatitis B virus and sex ratio of offspring. *Science* 1978 May 12; 200 (4342) : 687-692.
 15. Cherubin CE, Purcell RH, Lander JJ, McGinn T G, Cone LA. Acquisition of antibody to hepatitis B antigen in three socioeconomically different medical populations. *Lancet* 1972 Jul 22 ; 2 (7769) 149-151
 16. Lander JJ, Holland PV, Alter HJ. Antibody to hepatitis associated antigen : frequency and pattern of response as detected by radioimmuno precipitation. *JAMA* 1972 May; 220 (8) : 1079-1082
 17. Szmunness W, Prince AM, Etling GF. Development and distribution of hemagglutinating antibody against the hepatitis B antigen institutionalised population. *J Infect Dis* 1972 Nov; 126 (5) : 498-506
 18. Szmunness W. Recent advances in the study of the epidemiology of hepatitis B. *Am J Pathol* 1975 Dec; 81 (3) : 629-649
 19. Szmunness W, Harley EJ, Prince AM. Intra-familial spread of asymptomatic hepatitis. *Am J Med Sci* 1975 Sept-Oct ; 270 (2) : 293-304
 20. Mass DW, Henderson R, Kachmar JF. Principles of diagnostic enzymology. In : Tietz N, ed. *Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia : W.B. Saunders, 1986. 670.
 21. Vittal SBV, Dourdourekas D, Shobassay N. Asymptomatic hepatic disease in blood donors with hepatitis B antigenemia. *Am J Clin Pathol* 1974 Nov; 62 (11) : 649-654
 22. Simon JB, Patel S. Liver disease in asymptomatic carriers of hepatitis B antigen. *Gastroenterology* 1974 May; 66 (5) : 1020-1028
 23. Ricci G, Debac C, Caramia F. Liver disease Australia-antigen carriers. *Lancet* 1972 Feb 26; 1 (7748) : 494
 24. Anderson KE, Sun SC, Berg HS, Chang NK. Liver function and histology in asymptomatic chinese military personnel with hepatitis B antigenemia. *Am J Digest Dis* 1974 Aug, 19 (8) : 693-703
 25. Piccinino F, Manzillo G, Sagnelli E. The significance of the Australia antigen (HBs Ag) persistent healthy carrier "status" : a long term follow-up of 34 cases. *Acta Hepatol Gastroenterol* 1978 Feb; 25 (2) : 171-178
 26. Liaw YF, Sung JL. Liver biopsy in asymptomatic carrier of HBs Ag. *Gastroenterology* 1979 May; 76 (5) : 1084,
 27. Gonzalez MA, Sarrion IV, Rayon M, Rodrigo-Moreno M, Primo I, Berenguer J, Marfy ML. Liver biopsy in asymptomatic carriers of HBs Ag. *Gastroenterology* 1980 Jun; 78 (6) : 1652-1653
 28. Koretz RL, Lewis KJ, Rebhun DJ, Gitnick GL. Hepatitis B surface antigen carrier-to biopsy or not to biopsy. *Gastroenterology* 1978 Nov ; 75 (5) : 860-862.
 29. Sakuma K, Takahara T, Okuda K, Tsuda F, Mayumi M. Prognosis of hepatitis B virus surface antigen carriers in relation to routine liver function tests : a prospective study. *Gastroenterology* 1982 Jul ; 83 (1) : 114-117