

NUEVAS PERSPECTIVAS EN EL DIAGNÓSTICO DEL VIRUS C EN HEMODIÁLISIS

*O. Delgado, Equipo de Enfermería
Servicio de Nefrología. Hospital "Creu Roja", Barcelona*

INTRODUCCIÓN

Desde la aparición de los primeros test serológicos aplicados para la detección de los anticuerpos del virus C (HCV Ac) en hemodiálisis, se han multiplicado las comunicaciones describiendo las diferentes tasas de prevalencia de dichos anticuerpos.

Estos tests se basaban en la detección del anticuerpo c. 100 en el sistema ELISA I y de los anticuerpos c. 100 y 5.1.1. con el método RIBA I, consistente en un soporte de nitrocelulosa.

La progresiva incorporación en el diagnóstico del virus C, de tests con mayor sensibilidad, conocidos como método de 2.^a generación (ELISA Y RIBA II), ha conllevado un incremento en las cifras de prevalencia. No obstante, la falta de un marcador que pudiera detectar la presencia viral, constituía un serio problema tanto desde el punto de vista del diagnóstico precoz, confirmación de contagio o en el estudio de las posibles fuentes de contagio intradiálisis.

En 1991, aparece el primer método diagnóstico para la detección del material genético viral, que dada la naturaleza del virus, posiblemente un flavovirus, con material genético RNA, ha sido denominado PCR-RNA (Polimerasa chain reaction-RNA). La complejidad de este sistema se nos presenta como el mayor inconveniente para su utilización rutinaria. Por otro lado, la falta de clínica específica en la fase de contagio o incluso durante la evolución de la enfermedad, así como la falta de elevación de marcadores bioquímicos, como las transaminasas en muchos pacientes portadores de HCV Ac, añaden mayor complejidad en el estudio del virus C en los pacientes en tratamiento sustitutivo.

Por último, hay que considerar que las transfusiones no constituyen la única vía de contagio posible dentro de la hemodiálisis, por lo que el conocimiento exacto del punto de contagio aportará mayores conocimientos sobre las fuentes de transmisión.

En nuestro trabajo hemos estudiado la tasa de prevalencia de HCV Ac, en nuestra población de hemodiálisis, en diferentes periodos de tiempo, siendo estudiados por los tests de I y II generación, así como por un nuevo método experimental denominado RIBA SIA PROTOTYPE. Asimismo hemos determinado la presencia de material genético viral por técnica de PCR-RNA.

MATERIAL Y MÉTODOS

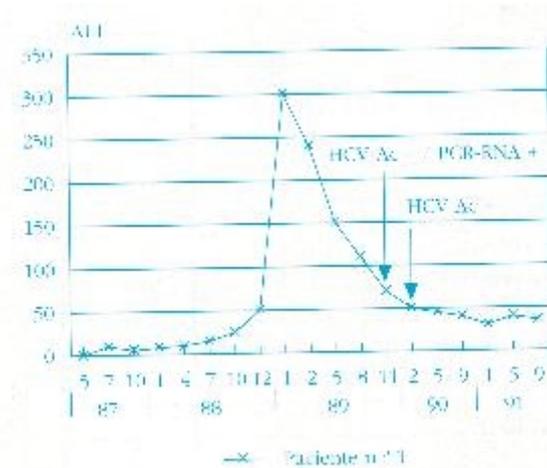
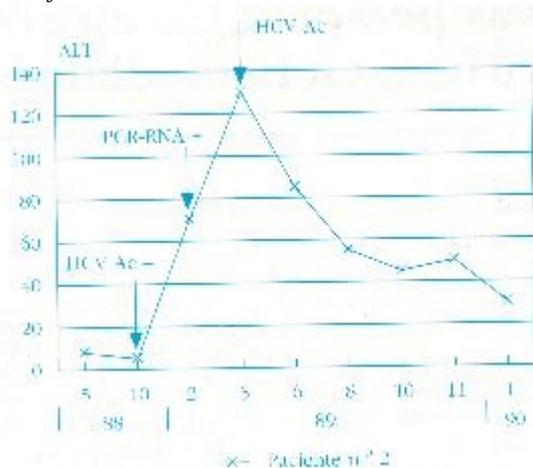
Hemos estudiado diferentes métodos serológicos diagnósticos para la búsqueda de anticuerpos del virus C (HCV Ac) en los pacientes afectos de IRCT en programa de hemodiálisis de nuestra unidad de hemodiálisis ambulatoria.

En nuestro centro, el estudio de HCV Ac se realiza de forma periódica, cada tres meses, desde 1989. Hasta 6/91 el test serológico utilizado era ELISA I generación ([tabla I](#)); a partir de esta fecha los tests utilizados fueron ELISA y RIBA de II generación.

Tabla 1: Descripción de resultados:

N.º pac.	1.1 HCV Ac +	Método	Seroteca	Método	ALT	N.º Transf.
1	Marzo-90	ELISA I	1988 NEGATIVO	ELISA 11	si	24
2	Abril-89	ELISA I	1988 NEGATIVO	ELISA 11	si	9
3	Dic.-90	ELISA I	1988 POSITIVO	ELISA II	si	2

4	Dic.-90	ELISA 1	1988 POSITIVO	ELISA 11	NO	10
5	Dic.-90	ELISA 1	1988 POSITIVO	ELISA 11	NO	12
6	Sept.-90	ELISA I 1	1989 POSITIVO	ELISA 11	si	2
7	Sept.-90	ELISA 1	1988 NEGATIVO	ELISA 11	NO	6
8	Sept.-90	ELISA 1	1989 POSITIVO	ELISA 11	si	2
9	Enero-91	ELISA 1	1990 NEGATIVO	ELISA 11	NO	4
10	junio-91	ELISA 11	1988 POSITIVO	ELISA 11	NO	49
11	junio-91	ELISA 11	1988 POSITIVO	ELISA II	NO	14
12	junio-91	ELISA 11	1988 POSITIVO	ELISA 11	si	20
13	junio-91	ELISA 11	1988 POSITIVO	ELISA 11	NO	6
14	junio-91	ELISA 11	1988 POSITIVO	ELISA II	NO	2
15	junio-91	ELISA 11	1988 POSITIVO	ELISA 11	NO	0
16	junio-91	ELISA 11	1988 POSITIVO	ELISA 11	si	12
17	junio-91	ELISA 11	1988 POSITIVO	ELISA 11	si	16
18	junio-91	ELISA 11	1988 POSITIVO	ELISA 11	NO	2
19	junio-91	ELISA 11	1990 NEGATIVO	ELISA 11	si	2



Diseño del estudio

Con carácter retrospectivo (seroteca) se determinaron los HCV Ac de los pacientes de nuestro programa de hemodiálisis ambulatoria en 1988. Dicho estudio se realizó mediante técnica de ELISA I. se incluyeron 43 pacientes, de edades comprendidas entre 30-83 años ($X = 66,3 \pm 10$), 24 varones (55,8%) y 19 mujeres (44,2%), con un tiempo de permanencia en hemodiálisis que oscilaba entre 9-109 meses ($X = 54,7 \pm 27,4$).

Desde 1989 hasta 6/90 se han estudiado los HCV Ac, por técnica ELISA I generación y a partir de esta fecha se aplicaron los tests de II generación.

En la actualidad, los pacientes han sido clasificados en dos grupos:

- GRUPO A: Pacientes
HCV Ac + en 1988
- GRUPO B: Pacientes
HCV Ac + entre 1989 – 1991

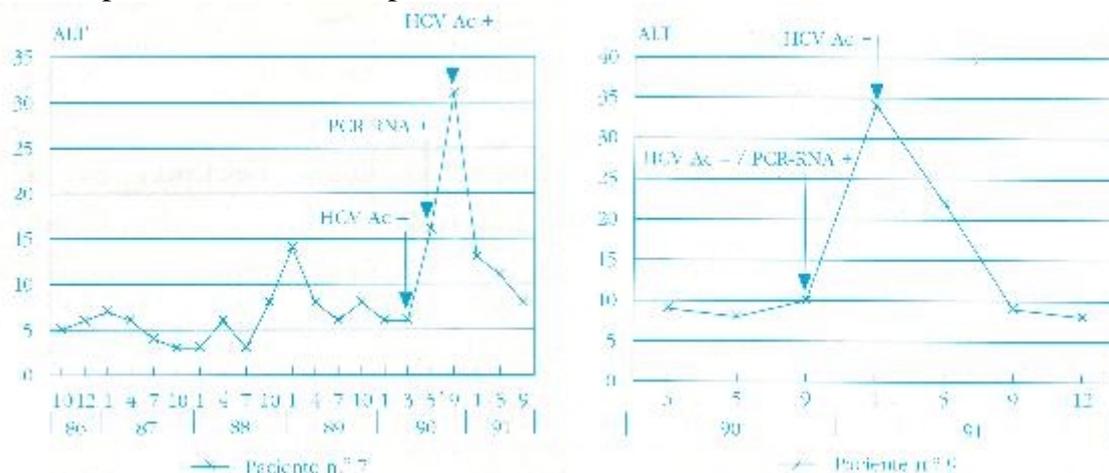
Los pacientes incluidos en el grupo A, dada la falta de determinaciones de HCV Ac previas a 1988, fueron considerados positivos crónicos. Por otro lado, los enfermos incluidos en el grupo B, fueron clasificados como seroconvertidos agudos, dada la negatividad en la búsqueda de HCV Ac (ELISA I) realizados previamente y de forma repetida. Este grupo se halla formado por pacientes incluidos en programa anteriormente a 1988 e incluidos entre los años 1989-91. Con la incorporación en junio/91 de los tests de 2.^a generación (ELISA y RIBA II) se reevaluaron los resultados obtenidos por ELISA I generación en ambos grupos de pacientes.

Finalmente, hemos comparado los resultados obtenidos por RIBA II generación y por RIBA SIA PROTOTYPE, consistente en un método experimental que combina tres antígenos recombinantes (c. 33, NS-5, SOD) y dos bandas pépticas sintéticas (c. 22, c. 100).

Asimismo hemos determinado la presencia de material genético viral mediante técnica de PCR-RNA en todos los enfermos portadores de HCV Ac al final del estudio y en el periodo de seroconversión aguda.

A todos los pacientes HCV Ac, en ambos grupos, se recopilaron todas las determinaciones de transaminasas efectuadas previas a su inclusión en tratamiento sustitutivo o de forma periódica cada 3 meses desde su inicio en hemodiálisis. se consideró hepatitis aguda, si la elevación en las cifras de ALT superaban 2 veces los valores normales y si previamente los valores de las mismas se hallaban dentro de los niveles de la normalidad. Asimismo se procedió al recuento de las transfusiones efectuadas.

Todos los enfermos compartieron los mismos monitores durante todo el periodo de estudio, no adoptándose medidas especiales de aislamiento.



Crterios diagnósticos

El estudio de los anticuerpos del virus C se realizó mediante:

- ELISA I generación (Ortho Diagnostic Systems; Raritan, NJ. USA).
- ELISA II generación (Ortho Diagnostic Systems; Raritan, NJ. USA).
- RIBA II generación (Ortho Diagnostic Systems; Raritan, NJ. USA).
- RIBA SIDA PROTOTYPE (Ortho Diagnostic Systems; Raritan, NJ. USA).

El estudio de material genético viral se realizó mediante técnica de PCR-RNA.

RESULTADOS:

En 1988 (Grupo A) se determinaron HCV Ac positivos en 13/43 pacientes (30,2%). La edad media de los pacientes oscilaba entre $61,9 \pm 14,2$, 7 mujeres y 6 varones, con T.º de permanencia en Hd entre $77,07 \pm 20,3$. En el año 1989-90 ocho pacientes, 4 hembras y 4 varones, edad entre 61-80 años ($X = 73,7 \pm 6,05$), T.º Hd entre 9-79 m ($X = 42,5 \pm 27,09$) presentaron seroconversión determinada por ELISA I y en 1991 otros once pacientes, 5 varones y 6 hembras, edades entre 34-86 ($68,18 \pm 15,67$), con T.º Hd entre 18-118 ($X = 70,45 \pm 36,96$) fueron considerados seroconvertidos agudos por técnica de ELISA (1990)-II (1991) generación, habiéndose determinado previamente HCV Ac negativos por ELISA I (Grupo B).

De los 19 pacientes que forman el grupo B, 15 de ellos corresponden a pacientes incluidos en programa de hemodiálisis previo a 1988.

Se determinaron los HCV Ac por test ELISA y RIBA II, mediante estudio de seroteca, en los pacientes incluidos en el grupo B.

En los 15 pacientes incluidos en Hd con anterioridad a 1988, la determinación se realizó en este mismo año y en el resto de los pacientes 12 meses previos a la primera determinación HCV Ac + por ELISA I.

Se apreció positividad en los HCV Ac por ELISA-RIBA II en 14/19 pacientes del grupo B, doce de los cuales corresponden a enfermos en programa de Hd con anterioridad a 1988, por lo que únicamente 5 pacientes, 2 mujeres y 3 varones, edad 68-82 ($X = 74,8 \pm 5,06$), T.º Hd entre 7-72 ($X = 36,4 \pm 27,79$) pueden ser considerados verdaderas seroconversiones agudas.

El estudio de distribución de anticuerpos por RIBA II, en los pacientes del grupo B, HCV Ac + (14/19) por ELISA II (seroteca) demostró positividad del 100% (c. 33), 100% (c. 22), 64,2% (5.1.1.) y 0% (c. 100). Los cinco pacientes con HCV Ac (seroteca) fueron negativos para los cuatro marcadores del RIBA II (tabla 2).

Tabla 2: Estudio Riba II (seroteca)

N.º pac.	Año determ	c. 100	5.1.1	c.33	c. 22		
1	1988	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO		
2	1988	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO		
3	1988	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO		
4	1988	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO		
5	1988	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO		
6	1989	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO		
7	1988	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO		
8	1989	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO		
9	1990	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO		
10	1988	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO		
11	1988	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO		
12	1988	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO		
13	1988	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO		
14	1988	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO		
15	1988	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO		
16	1988	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO		
17	1988	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO		
18	1988	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO		
19	1990	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO		
N.º pac.	Año	Método	c. 100	c. 33	c. 22	5.1.1	NS5
19	1988-90	RIBA 11	01%	1001%	1001%	64,21%	
29	1991	RIBA 11	51,71%	1001%	86,21%	72,41%	
29	1991	R-S-PRT	86,21%	1001%	1001%	NO DET.	13,8

Tres pacientes correspondientes al grupo A, fallecieron durante el periodo de estudio. En ninguno de ellos la causa del éxito estuvo relacionada con insuficiencia hepática.

La prevalencia actual de HCV Ac en nuestra unidad es del 53,71% (29/54 pac.). La distribución de anticuerpos medidos por RIBA 2 es:

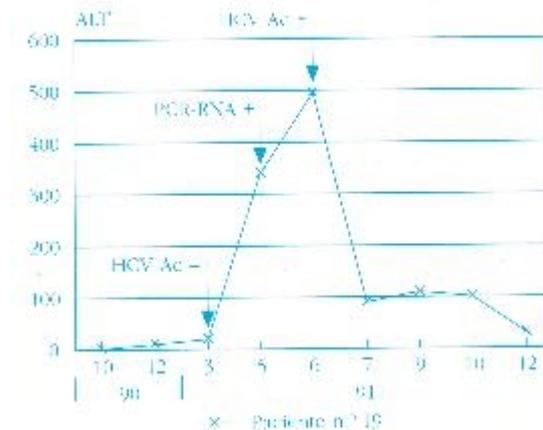
100% (c. 33), 86,2% (c. 22), 72,4% (5.1.1) y 51,7% (c. 100) Se determinaron los anticuerpos del virus C por RIBA SIA PROTOTYPE (c. 100, c. 22, c. 33, NS5) Su distribución fue 86,2%, 100%, 100% y 13,8% respectivamente.

Asimismo, se ha realizado estudio sobre detección de material genético viral en los 29 pacientes HCV Ac +, mediante técnica de PCR-RNA siendo positivo en todos ellos.

El estudio de transaminasas (ALT) se realizó previo a la inclusión de los pacientes en hemodiálisis (controles ambulatorios) hasta la demostración de su seroconversión por

técnicas de II generación durante su estancia en hemodiálisis. Se detectó elevación de la misma en 14/29 pacientes, con valores entre 50-618 ($X = 125,6 \pm 103,07$) En el grupo de enfermos seroconvertidos agudos verdaderos, se apreció hipertransaminemia en 3/5 (60%) con valores entre 53-492 ($X = 158,8 \pm 127,7$) (fig. 1, 2, 3, 4, 5)

Del mismo modo, se recopilaron los episodios transfusionales recibidos hasta el momento de la seroconversión. El número de unidades sanguíneas recibidas osciló entre 0-60 ($X = 13,37 \pm 15,37$)



DISCUSIÓN

La identificación del virus C se debe a los esfuerzos de Chiron Corporation (Houghton M, Kwo E, Choo QL) en colaboración con el laboratorio del Center for Diseases Control (Bradley D) (1). El virus C puede corresponder a un Tofavirus, aunque parcialmente recuerda a un flavovirus o pestivirus. Su genoma está constituido por una cadena de RNA de 10000 nucleótidos. Su tamaño es de 30-60 nm de diámetro, con una cápsula lipídica, sensible al calor y al cloroformo.

En 1988 se desarrollaron a raíz del suero de monos afectados por virus non A-non B, los primeros tests de detección de anticuerpos frente al virus C, por técnica de ELISA I (2, 3, 4, 5, 6, 7), que determinaba la fracción c. 100 del virus C y el inmunoblot RIBA I que añadía el estudio del segmento 5.1.1. Con el método ELISA I se podía detectar entre el 50-60% de los pacientes portadores de HCV Ac.

En 1990 aparecen los sistemas de detección de los HCV Ac de 2.ª generación, ELISA y RIBA II, que incorporan nuevas fracciones del virus C (ELISA II: c. 100, c. 33) (RIBA II: c. 100, c. 33, c. 22, 5.1.1) con lo que se consigue una mayor detección de pacientes portadores de HCV Ac (8, 9)

La relativa baja incidencia de HCV Ac al inicio del estudio, coincide con otras series descritas cuyos anticuerpos han sido determinados por técnica ELISA I generación (10, 11, 12, 13, 14, 15) A lo largo del periodo estudiado, la elevada incidencia de posibles nuevas seroconversiones hacía pensar en la posibilidad de transmisión intradiálisis del virus C, aún más si consideramos que en nuestra unidad no se adoptaron medidas de aislamiento.

La incorporación de los tests de II generación, determinó el diagnóstico de nuevos pacientes, diez en nuestro estudio en un mismo control y permitió la comprobación, mediante estudio de seroteca, de la presencia de HCV Ac en estos pacientes en el momento de su inclusión en programa de hemodiálisis o al inicio del estudio, en aquellos pacientes cuya inclusión en hemodiálisis se realizó con anterioridad a 1988. Este hecho ha sido comprobado por varios autores (16, 17, 18, 19, 20)

El test de ELISA-RIBA II ha sido determinante para poder definir exactamente aquellos pacientes cuya seroconversión se ha realizado a lo largo de su permanencia en diálisis, permitiendo la valoración exacta del número de transfusiones recibidas como posible fuente de transmisión y el estudio de transaminasas. En la serie de Laustriat (16) y Papanastopoulos (21) se aprecia una distribución de resultados (positivo/negativo/indeterminado), mientras que en nuestra serie todos los pacientes ELISA II fueron también RIBA II positivos. Una posible explicación sería el alto índice de absorbencia (mt 2400 BEP II) de nuestra serie, aunque desconocemos este dato en los demás estudios.

Un hecho común a nuestro estudio es la poca efectividad diagnóstica de método ELISA I dado el nulo porcentaje de pacientes con el anticuerpo c. 100 en el estudio de seroteca, aunque su valor actual supera el 50% de los pacientes.

La elevada prevalencia del anticuerpo c. 33 y c. 22 entre nuestros pacientes, hecho común a otras series (22, 23, 24, 25), constituye el principal factor diagnóstico de los sistemas de II generación, con la característica de la persistencia de estos marcadores a lo largo del tiempo de evolución.

La reciente incorporación del test RIBA-SIA-PROTOTYPE (26), nos ha permitido apreciar un incremento significativo en la detección actual del anticuerpo c. 100, lo que nos hace suponer que dicho anticuerpo no es fluctuante o modificable en el tiempo, sino que los anteriores test diagnósticos presentaban una baja sensibilidad al c. 100.

Asimismo, el estudio de material genético por técnica de PCR-RNA nos ha permitido observar que todos los pacientes con anticuerpos del virus C en hemodiálisis, son portadores del virus.

La práctica rutinaria del PCR-RNA puede ser de gran utilidad para el diagnóstico precoz del contagio (27)

El papel de las transfusiones como vía de contagio ha sido ampliamente definida (28, 29, 30, 31) En nuestro estudio hemos podido determinar con mayor exactitud el número de ellas recibidas por nuestros pacientes, observando una importante reducción en su número, dado que el número de unidades de sangre recibidas en el momento de la primera determinación de HCV Ac oscilaba entre 0-110 ($X = 24,62 \pm 24,72$) Este dato resta valor a las transfusiones (10, 11, 18, 32) y nos hace presuponer otras posibles fuentes de transmisión del virus C, comunes a la población general o intradiálisis (18, 33, 34, 35)

Otro dato importante reside en la inconstante elevación en las cifras de transaminasas en los pacientes portadores de HCV Ac crónico o en aquellos seroconvertidos agudos; este dato añadido a la falta de afectación hepática en los pacientes HCV Ac + al inicio del estudio y fallecidos a lo largo del mismo, aunque puede deberse al conocido hecho de la falta de elevación de enzimas hepáticas entre la población en hemodiálisis (20, 36, 37, 38), añade más dudas sobre la hepatotoxicidad del virus C y las posibles indicaciones terapéuticas antivirales (interferón)

CONCLUSIONES:

1. Los test de I.ª generación no son útiles para el correcto diagnóstico de los HCV Ac entre los pacientes en hemodiálisis, siendo los responsables de las relativas bajas prevalencias descritas al inicio de los diferentes estudios del virus C.
2. Los test de II.ª generación, ELISA y RIBA constituyen los mejores métodos diagnósticos para el estudio de los HCV Ac.

3. La próxima incorporación comercial del test RIBA SIA PROTOTYPE puede añadir mayor sensibilidad al estudio de los HCV Ac.
4. La positividad del PCR-RNA en todos los pacientes portadores de anticuerpos descartan, en principio, la posibilidad de depuración espontánea del virus C.
5. El reducido número de transfusiones recibidas por nuestros pacientes, previo al diagnóstico serológico del virus C, hacen pensar en otras fuentes de contagio intradiálisis.
6. La escasa elevación en las cifras de transaminasas entre los pacientes portadores crónicos o en los que han presentado una seroconversión aguda, restan valor a esta determinación, como método diagnóstico de contagio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Choo QL, Kuo G, Weiner Ajl, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a clone during from a bloodborne non A, non B virus hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 362-4.
2. Agius C, Tupper G, García G et al. Ortho HCV antibody ELISA test for the detection of antibodies to hepatitis C (non A, non B hepatitis) virus: USA Clinical Trials Data. *Proceeding International Symposium Hepatitis C Virus. Roma 1889.*
3. Juo G, Choo QL, Alter HJ et al. An Assay for circulating antibodies to a mayor eiologic virus of human non A, non B hepatitis. *Science* 1989; 244: 362-4.
4. Alter HJ, Purcell RH, Shih JW et al. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively transfusion recipients with acute and chronic non A, non B hepatitis. *N. Engl. J. Med.* 1989; 321: 1494-500.
5. Ebeling F, Naukkarinen R, and Leikola J. Recombinant inmunoblot assay for hepatitis C virus antibody as predictor of infectivity. *Lancet* 335, 982-983 (1990).
6. Skidmore S. Recombinant inmunoblot assay for hepatitis C antibody *Lancet* 335, 1346 (1990).
7. Bellobuono A, Mozzi F, Petrini G, Zanella A and Sirchia G. Infectivity of blood that is inmunoblot intermediate reactive on hepatitis C cirus antibody testing. *Lancet* 336, 309 (1990).
8. Hadziyannis SJ. *Contemporary Issues in Blood Banking. 2 ST International Meeting on hepatitis C Virus. Strasbourg 1991.*
9. Baldi M, Manzini P, Fabiano A and cols. Evaluation and significance of inmunoenzymatic test for hepatitis C virus. *2 ST International Meeting on hepatitis C virus Strasbourg 1991.*
10. Lozano L, Nieto J, Sánchez M y cols. Evaluación de la incidencia de la hepatitis C en diálisis. *Nefrología Vol. 10 Supl. (abst). 1990.*
11. Oliva JA, Maymó RM, Ros T y cols. Prevalencia de los anticuerpos del virus C en hemodiálisis. *Nefrología Vol. 10 Supl. (abst).*
12. García Valdecasas J, Bernal MC, Montiel N y cols. Estudio seroepidemiológico de anticuerpos frente al virus C (VHC) en una unidad de hemodiálisis. *Nefrología Vol. 10 Supl. (abst). 1990.*
13. Gómez-Ullte P, Ocharan J, Corral J y cols. Hepatitis C en diálisis y trasplante. *Nefrología Vol. 10 Supl. (abst). 1990.*
14. Giménez M, Garrigos E, Martín J y cols. Anticuerpos antivirüs C en pacientes hemodializados. *Nefrología Vol. 10 Supl. (abst). 1990.*

15. Pérez Fontán M, Moncalian J, Arrojo F y cols. Prevalencia de anticuerpos (Ac) contra el virus de la hepatitis C (HeC) en pacientes tratados con hemodiálisis y DPCA. *Nefrología* Vol. 10 Supl. (abst).
16. Laustriat D, Jahn M, Vouillot C, Bouderbala M, North ML. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus (HCV) in the hemodialysis unit of the C.H.U. of Strasbourg. 2 ST International Meeting on hepatitis C Virus. Strasbourg 1991.
17. Nordenfelt E, Löfgren B, Widell A et al. Epidemiology of hepatitis C among hemodialysis patients in southern Sweden as shown by antibody assays and PCR. 2 ST International Meeting on hepatitis C Virus. Strasbourg 1991.
18. Schlipköter U, Gladziwa U, Cjolkow K et al. Prevalence of hepatitis C virus infections in dialysis patients and their contacts using a second generation ELISA. 2 ST International Meeting on hepatitis C Virus. Strasbourg 1991.
19. Hatzidaki A, Katsoulidou A, Miriagou V et al. Prevalence of hepatitis C (HCV) antibodies as assessed by a second generation enzyme immunoassay in patients on chronic hemodialysis. 26 TH Meeting of the European Association for the study of the liver (abst) 1991.
20. Carvalho A, Calvao M, Sargento C et al. Anti-HCV in hemodialized patients follow-up study. 26 TH Meeting of the European Association for the study of the liver (abst) 1991.
21. Papanastopoulos B, Sofroniadou K, Kokkini G. First and second generation Riba HCV in high risk groups and blood donors. 2 ST International Meeting on hepatitis C Virus. Strasbourg 1991.
22. Nieto J, Ferreras I, Mora F. Estudio de anticuerpos frente a cuatro proteínas del virus C de la hepatitis (VCH) en pacientes en hemodiálisis (HD). *Nefrología* Vol 11 Supl. 2. 1991.
23. Chien D, Tabrizi A, MacFarland J, Kuo C, Houghton M et al. The patient plasma IgM and IgG antibody profile from the long term follow-up of hepatitis C cases with multiple HCV antigens. 2 ST International Meeting on hepatitis C Virus. Strasbourg 1991.
24. Chemello L, Cavalletto D, Belussi F et al. Antibodies to structural and Non structural hepatitis C virus epitopes in acute infection. 2 ST International Meeting on hepatitis C Virus. Strasbourg 1991.
25. Barrera JM, Ercilla MG, Bruguera M, Gil C et al. Patterns of antibody response to hepatitis C virus and HCV-RNA in serum in post-transfusión non A, non B hepatitis. 2 ST International Meeting on hepatitis C Virus. Strasbourg 1991.
26. Gary Gitnick MD. Current hepatitis risks to dialysis patients. 2 ST International Meeting on hepatitis C Virus. Strasbourg 1991.
27. Caselmann WH, Gelger C, Meyer M et al. Detection and cloning of hepatitis C virus sequences from a c. 100. Elisa and Riba 4 negative serum of a non A, non B hepatitis patient. 26 TH Meeting of the European Association for the study of the liver (abst) 1991.
28. Sousa F, Monfá JM, Acabel A y cols. Prevalencia y factores de riesgo asociados de infección por virus de la hepatitis C (VHC) en pacientes dializados. *Nefrología* Vol. 11 Supl. 2. 1991.
29. Foraster A, Carreras J, Prieto ML y cols. Prevalencia de anticuerpos de la hepatitis C (VHC) en una unidad de hemodiálisis. *Nefrología* Vol. 11 Supl. 2. 1991.

30. Barril G, De Castro M, Rincón B y cols. La alta prevalencia de Ac HCV + en pacientes en hemodiálisis ¿puede ser predictivo como índice de hepatopatía? *Nefrología* Vol. 11 supl. 2. 1991.
31. Esforzado N, Cases A, Barrera JM y cols. Incidencia y factores de riesgo de infección por virus de la hepatitis C (CHV) en una población de hemodiálisis. *Nefrología* Vol. 10 Supl (abst). 1990.
32. Espinosa M, Álvares-Lara M, Gómez JM y cols. Hepatitis agudas en hemodiálisis. etiología y evolución. ¿Transmisión? *Nefrología* Vol. 11 Supl. 2. 1991.
33. De Palma M, Vandelli C, Caragnani G an cols. Sexual transmission study of hepatitis C virus infection. 2 ST International Meeting on hepatitis C Virus. Strasbourg 1991.
34. Patti AM, Pompa MG, Vescia N et al. HCV and occupational hazard. 2 ST International Meeting on hepatitis C Virus. Strasbourg 1991.
35. Diego M, Garrigos E, Tuset C et al. Hepatitis C virus antibodies on patients on hemodialysis: Review after one year. 26 TH Meeting of the European Association for the study of the liver (abst) 1991.
36. Bruguera M, Vidal L, Sánchez-Tapias JM, Costa J, Revert L, Rodes J. incidence and features of liver disease in patients on chronic hemodialysis. *J. Clin. Gastroenterol* 1990; 12 (3): 298-302.
37. Catterall AP, Conway M, Brown E et al. Hepatitis C in a renal dialysis center. 26 TH Meeting of the European Association for the study of the liver (abst) 1991.
38. Bortolotti F, Ruffatti A, Bianco A et al. Hepatitis C infection in hemodialized patients detected by I and II generation assays. 26 TH Meeting of the European Association for the study of the liver (abst) 1991.