

## Implicaciones clínicas de los anticuerpos anti-core en las unidades de diálisis

R. MATESANZ\*, J. L. TERUEL\*, R. BUENO\*\*, R. MARCEN\*, C. QUEREDA\*, J. ORTUÑO\*.

\* Servicio de Nefrología.

\*\* Laboratorio de Virología.  
Centro Ramón y Cajal. Madrid.

### RESUMEN

Desde 1979 a 1981 se estudió prospectivamente la incidencia de marcadores del virus B (Ag HBs, Ac HBc, Ac HBs) en una sala de diálisis de 16 puestos. Mensualmente se determinaron Ag HBs (RIA) y enzimas hepáticas (SMAC 20), y anualmente Ac HBc y Ac HBs. Siempre que se detectó una elevación enzimática se realizó un estudio virológico amplio (virus de Epstein-Barr, CMV, IgM anti-HA, Ag HBs, Ac HBs, Ac HBc).

Todos los enfermos se mantuvieron Ag HBs negativos a lo largo del estudio. En 1979, 13 de 55 pacientes (23,6 %) eran Ac HBc+, de los que 10 eran además Ac HBs+. Durante el año siguiente estos enfermos se dializaron en la misma sala que los demás, pero en máquinas separadas. En 1980, 3 de éstos pacientes se habían hecho Ac Hbc negativos y 2 se habían trasladado a otras unidades; sin embargo, otros 2 nuevos enfermos politransfundidos se hicieron Ac HBc+. En total 11 de 64 pacientes eran Ac HBc+ (17,1 %) de los que 9 eran Ac HBs+. Desde entonces, todos los enfermos se dializaron indistintamente en todas las máquinas, sin medidas de aislamiento. Un año después, en 1981 no se había registrado ninguna positivización, quedando 9 de 54 enfermos Ac HBc+ (16,6 %), todos ellos Ac HBs+.

Durante el período de estudio se registraron 14 elevaciones enzimáticas de intensidad moderada, sin ictericia (1/7, 5 enfermos/año), ninguna de las cuales pudo ser atribuida al virus B.

Estos datos abogan por una escasa o nula infectividad de los enfermos Ac HBc+, sean además Ac HBs+ o no, sin que parezca necesario adoptar con ellos medidas de aislamiento. La determinación sistemática del Ag HBs por RIA en enfermos y donantes de sangre, con medidas estrictas de aislamiento para los pacientes de Ag HBs+, parece suficiente para la prevención de la hepatitis B.

**Palabras clave:** Anticuerpos anti-core: Hepatitis B, Hemodiálisis.

### SUMMARY

Since 1979 to 1981, the incidence of virus B markers (Ag-HBs, AbHBc, AbHBs) was prospectively studied in a one room dialysis unit with 16 beds. AgHBs (RIA) and serum alanin-transferases (SMAC 20) were determined every month; AbHBc and AbHBs were investigated yearly. Also, whenever an enzymatic elevation was detected, a wide virological screening was done (Epstein-Barr virus, CMV, IgM-anti HA, AbHBc, AbHBs, AgHBs).

All patients were AgHBs negative throughout the study. In 1979, 13/55 patients (23,6 %) were AbHBc+, 10 of them also AbHBs+. During the following year these

patients were dialysed in the same room but in separated machines. In 1980, 3 of them became AbHBc negative and 2 were transferred to other units; however 2 new patients became AbHBs+. As a whole, 11/64 were AbHBc+ (17,1 %) and 9 of them AbHBs+ (17,1 %).

After this moment, all patients were dialysed indistinctly in all machines with no isolation measures. One year later, one more patient became AbHBc negative and none became positive, resulting in 9/54 (16,6 %) AbHBc+, all of them AbHBs+.

During the period of the study, 14 enzymatic elevations, mild to moderate, without jaundice, were detected (1/7,5 patients/year) and none of them could be attributed to the virus B. So, our unit is hepatitis B free after 4 years.

These data support a low or nul infectivity of AbHBc positive  $\pm$  AbHBs patients; isolation measures with them seem to be unnecessary. AgHBs detection by RIA is enough for hepatitis B prevention. Only AgHBs patients should be isolated.

**Key words:** Antibodies anti-core; Hepatitis B, Hemodialysis.

## INTRODUCCION

Pese a los considerables avances registrados en los últimos 15 años en el conocimiento de la historia natural, diagnóstico y prevención de las hepatitis B<sup>1</sup>, éstas continúan siendo un problema de primera magnitud, tanto en la población general<sup>2</sup> como, de una forma más concreta, en las Unidades de diálisis<sup>3</sup>, llegando a afectar en 1978 al 22,4 % de los pacientes en tratamiento dialítico hospitalario incluidos en el Registro de la E.D.T.A.

Los puntos básicos en la profilaxis de las hepatitis B en las Unidades de diálisis radican en el despistaje sistemático de los portadores del virus B entre los donantes de sangre mediante procedimientos sensibles específicos<sup>4,5</sup> y en una política de aislamiento estricto de los portadores del virus<sup>6,7</sup>.

La introducción en la clínica de procedimientos de determinación de los nuevos marcadores del virus B ha permitido una caracterización más precisa de los enfermos que alguna vez han estado en contacto con el virus B, hayan o no tenido repercusión clínica y sean o no portadores del mismo<sup>8</sup>. Sin embargo, desde un punto de vista práctico, la utilización de éstos marcadores puede plantear dudas acerca del carácter potencialmente infeccioso de algunos enfermos con antígeno de superficie negativo pero con anticuerpos anti-core positivos<sup>9</sup>, lo que trae como consecuencia un serio dilema a la hora de aislar o no a un enfermo determinado.

El presente estudio se planificó con miras a determinar, con datos obtenidos de nuestra propia experiencia, cual es la actitud correcta ante enfermos con anticuerpos anti-core en presencia de un antígeno de superficie negativo.

## METODOLOGIA

La Unidad de Diálisis hospitalaria del Centro Ramón y Cajal consta de 16 puestos distribuidos en una única sala rectangular, utilizados en turnos de mañana y tarde. A una

distancia superior a 200 metros, con acceso y dependencias totalmente independientes, existen otros dos puestos dedicados a enfermos con antígeno de superficie de la hepatitis B (AgHBs) positivo. En ningún caso se reutilizaron los dializadores. Desde la puesta en funcionamiento de la Unidad (Septiembre de 1977), hasta la finalización de éste estudio (Mayo de 1981), se incorporaron a nuestro programa hospitalario 79 enfermos de los que 3 eran inicialmente AgHBs+ y se dializaron siempre en la zona de aislamiento. En la sala general no se ha dializado hasta el momento ningún enfermo AgHBs+.

En todos los pacientes se realizaron determinaciones mensuales de bilirrubina y enzimas hepáticas (SMAC 20 - Technicon) y del AgHBs. En Mayo de 1979 se determinó por vez primera a todos los enfermos de la Unidad los anticuerpos anti-core (AcHBc) y los anticuerpos anti-superficie (AcHBs) repitiéndose posteriormente con una periodicidad anual. El AgHBs, AcHBc y AcHBs se determinaron por técnicas de RIA en fase sólida (AUSRIA II, CORAB y AUSAB, Abbott-Laboratories). No se determinaron específicamente los anticuerpos anti-core de tipo IgM.

Siempre que se detectó una elevación de transaminasas y tras revisar la medicación en busca de algún fármaco hepatotóxico susceptible de suspensión, se realizó un estudio virológico amplio, con despistaje del virus B (AgHBs, AcHBc y AcHBs), virus A (IgM anti-HA: Dr. R. Bueno y colaboradores: Técnica personal presentada al VI Congreso Nacional de Microbiología, Cádiz, 1979), citomegalovirus (crecimiento e identificación del virus a partir de la orina en cultivo de fibroblastos de pulmón de embrión humano, e inmunofluorescencia indirecta y/o determinaciones seriadas de anticuerpos específicos por fijación de complemento, con ascenso de más de 4 veces el valor basal) y virus Epstein-Barr (determinación de anticuerpos heterófilos empleando glóbulos rojos de caballo y adsorción previa del suero con extracto de riñón de cobaya: Test de Paul Bunnell-Davidson).

La política de transfusiones ha sido en todo momento restrictiva, limitándolas a los enfermos con anemia sintomática que no responden a feroterapia en los casos con ferropenia, y a los anabolizantes en los no ferropénicos<sup>10</sup>. Con ésta pauta, los índices transfusionales han sido de 0,78, 2,64 y 1,26 unidades/enfermo-año durante 1979, 1980 y 1981 respectivamente. Se administró habitualmente concentrado de hematies previa determinación en el do-

nante del AgHBs por hemaglutinación pasiva.

**RESULTADOS**

En 1979, cuando se hizo la primera determinación de AcHBc y AcHBs, se estaban dializando en la sala grande descrita anteriormente 55 enfermos, de los que 13 eran AcHBc+ (23,6 %) (Figura 1); de éstos 13 pacientes, 10 eran también AcHBs+ y los otros 3

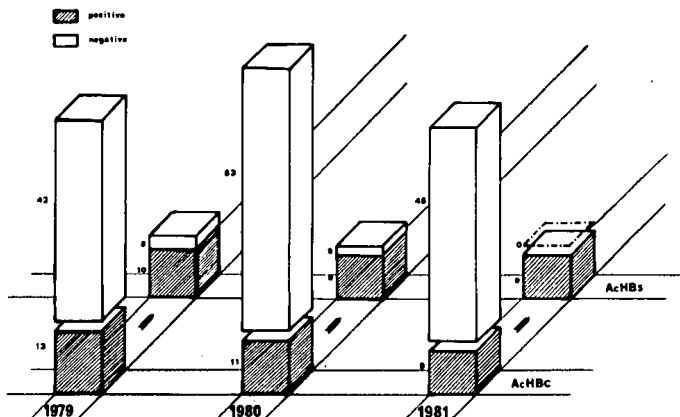


Fig. 1.—Incidencia de pacientes con AcHBc+ y AcHBs+ en la Unidad de diálisis hospitalaria en las 3 determinaciones realizadas con periodicidad anual. En rayado casos positivos, en blanco negativos.

AcHBs. A la vista de éstos resultados, de los datos de literatura sobre el carácter potencialmente infeccioso de los pacientes AcHBc+ <sup>9</sup> y de la imposibilidad física de aislar a la cuarta parte de los enfermos, adoptamos una actitud intermedia, destinando a éstos 13 enfermos una zona de la unidad con 4 máquinas empleadas para ellos de forma exclusiva (Fig. 2).

1979-80

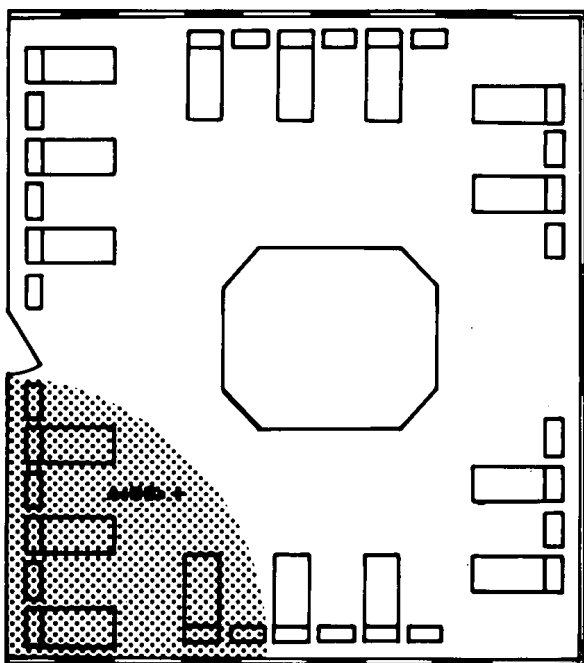


Fig. 2.—Distribución de puestos en la Unidad de diálisis hospitalaria. En sombreado, cuatro máquinas dedicadas a enfermos AcHBc+, durante el primer año de estudio.

Un año después, en 1980, se realizó la segunda determinación general de marcadores del virus B. De los 13 pacientes que previamente eran AcHBc+, 2 habían abandonado el programa de diálisis por trasplante y traslado a otra unidad respectivamente, 3 se habían negativizado y 8 persistían positivos. Por otra parte se había incorporado un nuevo enfermo AcHBc+ al programa y otros dos que con anterioridad eran negativos se habían positivizado (Figura 3). En total habían 11/64 enfermos AcHBc+ (17,2 %) de los que 9 eran además AcHBs+ (Figura 1).

**EVOLUCION DE LOS AcHBc +**

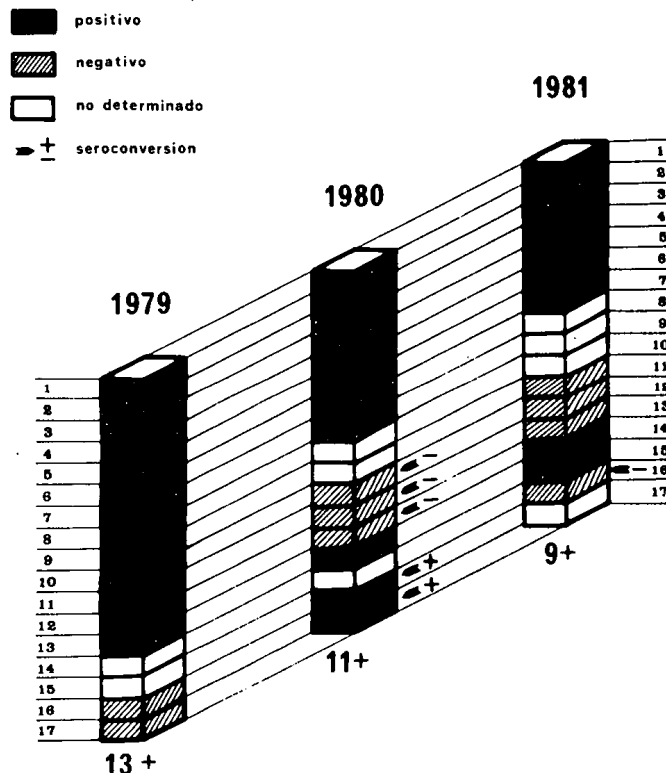


Fig. 3.—Evolución pormenorizada de los anticuerpos anti-core en los 17 enfermos que en algún momento de su evolución presentaron positividad de este marcador del virus B.

Dado que ésta política de aislamiento parcial planteaba múltiples problemas logísticos ante las averías de máquinas, cambios de turno y diálisis urgentes, y que no se habían producido nuevos trabajos que apoyaran la infectividad de éstos enfermos, tras conocer los resultados de ésta segunda determinación, decidimos desistir de cualquier tipo de aislamiento y equiparar en todo a éstos pacientes a los demás dializados. Esta actitud, en la práctica, supuso una rotación de la mayoría de los enfermos por casi todas las máquinas, habida cuenta de las eventualidades cotidianas de cualquier Unidad de diálisis.

Al año siguiente, y tras 12 meses de haber suspendido todo tipo de aislamiento, se realizó una tercera determinación general de marcadores del virus B. En ella se observó que un nuevo enfermo

AchBc+ se había negativizado, 2 pacientes AchBc+ habían abandonado la unidad por trasplante y fallecimiento respectivamente, y no se había registrado ninguna positivización (Figura 3). Con ello quedaban 9 enfermos AchBc+ (16,6 %) todos ellos AchBs+ (Figura 1).

Durante el período de estudio (Mayo 1979 - Mayo 1981) se registraron en nuestra unidad hospitalaria 14 episodios de elevación de transaminasas (1 episodio/7,5 enfermos - año). De acuerdo con los criterios actuales<sup>8</sup>, ninguna de ellas puede atribuirse al virus B, correspondiendo la mayoría al tipo «no A, no B» (78,5 %), seguido de las inducidas por noretandrolona (7 %), el virus de Epstein-Barr (7 %) y el virus A (7 %).

## DISCUSION

El enfermo en hemodiálisis periódicas está expuesto a todo tipo de agresiones hepáticas con una frecuencia muy superior a la de la población general<sup>11</sup>. Numerosas Unidades de diálisis se ven afectadas por el virus de la hepatitis A<sup>12, 13</sup>, por CMV<sup>14</sup>, por el virus de Epstein-Barr<sup>15, 16</sup> y por virus «no A - no B»<sup>14, 17, 18</sup>, sin olvidar la hepatotoxicidad de fármacos empleados habitualmente tales como anabólicos, hipotensores, quimioterápicos, etc.<sup>19</sup> e incluso la afectación hepática inducida por material sintético procedente del circuito extracorpóreo<sup>21</sup>. Sin embargo, el virus B continua siendo con gran diferencia el principal motivo de preocupación tanto para enfermos como para el personal asistencial<sup>1, 3, 4, 6, 16, 19, 21, 22</sup>. Aunque es posible que el empleo generalizado de la vacuna de la hepatitis B pueda cambiar dramáticamente el panorama en la década de los ochenta<sup>23</sup>, en el momento actual, sólo la aplicación estricta de medidas profilácticas de detección y aislamiento<sup>5</sup> puede mantener las unidades de diálisis libres del virus B. En principio, el aislamiento debe limitarse a los pacientes AgHBs+, aunque existen datos que apuntan, de una forma más selectiva, a los portadores crónicos del antígeno «E» (AgHBe+) como poseedores de una reduplicación viral más activa y por tanto mayor capacidad de transmitir el virus y de padecer una hepatopatía más severa,<sup>24, 26</sup> a diferencia de los que desarrollan anticuerpos anti-e (AchBe+) que tendrían mejor pronóstico y menor infectividad.

Los anticuerpos anti-core pueden considerarse como la prueba más específica disponible en la actualidad para la detección del virus B: aparecen alrededor de un mes después de la positivización del AgHBs, unas dos semanas antes de la elevación de enzimas hepáticas, y pueden persistir muchos años a título bajo, existiendo un período de tiempo variable entre la negativización del AgHBs y la aparición de los AchBs en que constituyen el único marcador

detectable del virus B<sup>8, 9, 27, 28</sup>. Aunque los estudios iniciales mediante la fijación del complemento sugerían que los AchBc constituirían un indicador de reduplicación viral<sup>28</sup>, la introducción del radioinmunoanálisis demostró que, si bien el momento de su aparición coincide con el mayor título de antígeno de superficie y de actividad DNA-polimerasa (y en éste sentido los títulos altos de AchBc podrían considerarse coincidentes con una situación de reduplicación viral), posteriormente descienden conforme van apareciendo los AchBs persistiendo ambos anticuerpos de forma prolongada en el suero de los sujetos que alguna vez han estado en contacto con el virus, sin que ello signifique infección activa<sup>8</sup>.

En el ya citado período de tiempo comprendido entre la negativización del AgHBs por RIA y la positivización de los AchBs, con una duración variable entre semanas y años, el suero de algunos enfermos resulta potencialmente infeccioso<sup>9, 28</sup>, probablemente porque de hecho sean también portadores del AgHBs a título bajo, inferior a 1 ng/ml, indetectable incluso con el RIA<sup>29</sup> habiéndose comprobado la presencia del core en el núcleo de sus hepatocitos<sup>30</sup>.

La presencia de éstos «portadores de bajo nivel», plantea un problema epidemiológico de enorme magnitud, fundamentalmente a nivel de bancos de sangre y unidades de diálisis. Si con los procedimientos más sensibles de que disponemos en la actualidad para la determinación del antígeno Australia se nos escapan enfermos con infección activa, ello significa que sigue existiendo un peligro evidente de transmisión del virus B con los derivados sanguíneos (lo cual por otro lado forma parte de la experiencia clínica habitual<sup>2, 9, 31</sup>), con el riesgo que ello implica en poblaciones de enfermos como los dializados que tienden a recibirlos cada vez con mayor asiduidad como consecuencia de los programas de transfusiones previos al trasplante renal<sup>32</sup>.

Si la explicación de éstas hepatitis B transmitidas por sujetos teóricamente AgHBs- radica, al menos en parte, en éstos portadores de bajo nivel, sólo la determinación sistemática de los AchBc podría eliminarlos. Esta decisión sin embargo conllevaría unas implicaciones económicas de inusitada cuantía al introducir una nueva técnica a añadir a la del antígeno Australia, de coste relativamente alto<sup>9, 14, 31</sup>. La incidencia de anticuerpos anti-core en la población general española oscila entre el 14 y el 20 %<sup>14, 33, 34</sup> y, en caso de etiquetar a los portadores como potencialmente infecciosos mediante una determinación analítica, sería preciso desechar análogos porcentajes de donantes de sangre y, por el mismo razonamiento, aislar un número muy elevado de enfermos en diálisis.

El presente estudio se planteó con el fin de valorar el significado real de la determinación sistemática de anticuerpos anti-core en una Unidad de diálisis, en

presencia de un AgHBs persistentemente negativo. Nuestros datos apuntan hacia una escasa importancia de la positividad de los anticuerpos anti-core tanto considerados como determinación aislada, adicional a la del antígeno de superficie, como determinada conjuntamente con los anticuerpos anti-superficie. En teoría, la aparición de los AchBs implica una inmunidad frente al virus y una eliminación del mismo por parte del organismo<sup>8, 9</sup>, pero ello no siempre es así, y de hecho se ha señalado la presencia de antígenos virales en hepatocitos de pacientes con anticuerpos anti-superficie<sup>35, 36</sup>. El hecho de que durante el segundo año de estudio hubiera una rotación libre por toda la unidad de 11 enfermos con AchBc+, de los que 9 eran AchBs+ y 2 AchBs-, y sin embargo no se produjo positivización alguna de los marcadores del virus B, va claramente en contra de la infectividad de éstos pacientes, aunque por supuesto no la excluye de forma categórica.

Desde el punto de vista práctico, estas observaciones abogan por la importancia de la determinación sistemática del AgHBs, con métodos de la mayor sensibilidad posible, como procedimiento fundamental de detección de portadores del virus B tanto entre los donantes de sangre como en los enfermos en diálisis, que en caso de positividad deben ser aislados de inmediato. Con éstas medidas, en nuestra unidad no se ha producido ningún caso de contagio de hepatitis B ni entre los enfermos ni en el personal asistencial, y la incidencia de marcadores del virus B se mantiene en unos límites equiparables a los de la población general, a los 4 años de funcionamiento.

#### BIBLIOGRAFIA

1. REED, J. S.; BOYER, J. L.: «Viral hepatitis. Epidemiologic, serologic and clinical manifestations». *Diseases a Month*, 9: 1979.
2. MILICUA, J. M.; DOMINGUEZ, A.; BUENO, R.; FARO, M. V.; IÑIGUEZ, F. I.; HERNANDEZ RANZ, F.; MOREIRA, V.; RUIZ DEL ARBOL, L.; BOIXEDA, D.: «Hepatitis viral aguda: estudio epidemiológico, virológico y evolutivo de cinco casos». *Gastroenterología y Hepatología*, 4: 221-228, 1980.
3. WING, A. J.; BRUNNER, F. P.; BRYNGER, H.; CHANTLER, C.; DONCKER-WOLCKE, A.; CURLAND, H. J.; HATHWAY, R. A.; JACOBS, C.: «Combined Reports on Regular Dialysis and Transplantation in Europe VIII, 1977». *Proc. EDTA*: Vol. 15-16, 1978.
4. GOLDSMITH, H. J.: «Viral hepatitis in dialysis units». *Nephron* 12: 355-367, 1974.
5. SNYDMAN, D. R.; BRYAN, J. A.; DIXON, R. E.: «Prevention of nosocomial viral hepatitis, Type B (hepatitis B)». *Ann. Int. Med.* 83: 838-845, 1975.
6. DANKERT, J.; UITENTUIS, J.; HOUWEN, B.; TEGZESS, A. M.; VAN DER HEM, C. K.: «Hepatitis B surface antigen in environmental samples from hemodialysis units». *J. Infect. Dis.* 134: 123-127, 1976.
7. POSTIC, B.; SHREINER, D. P.; HANCHETT, J. E.; ATCHISON, R. W.: «Containment of hepatitis B virus infection in a hemodialysis unit». *J. Infect. Dis.* 128: 884-889, 1978.
8. KRUGMAN, S.; OVERBY, L. R.; MUSHAWAR, I. K.; LING, Ch. M.; FROSENER, G.; DEINHARDT, F.: «Viral hepatitis, type B. Studies on natural history and prevention re-examined». *N. Engl. J. Med.* 300: 101-106, 1979.
9. HOOFNAGLE, J. H.; SEEFF, L. B.; BALES, Z. B.; ZIMMERMAN, H. J.: «Type B Hepatitis after transfusion with blood containing antibody to hepatitis B core antigen». *N. Engl. J. Med.* 298: 1379-1383, 1978.
10. QUEREDA, C.; MATESANZ, R.; OROFINO, L.; ESCRIBANO, L.; GALLEGO, N.; VILLA, T.; VILLAFRUELA, J.; ORTUÑO, J.: «Estudio de la evolución de los depósitos de hierro en enfermos dializados». *Nefrología* 2: 107-114, 1982.

11. POLAKOFF, S.: «Dialysis associated hepatitis. En 'Replacement of Renal Function by dialysis'. P. 625. Ed. por Drukker, W.; Parsons, F. M.; Manuer, J. F.; La Haya, 1978.
12. SZMUNESS, W.; DIENSTAG, J. L.; PURCOLL, R. H.; PRINCE, A. M.; STEVENS, C. E.; LEVINE, R. W.: «Hepatitis type A and Hemodialysis. A seroepidemiologic study in 15 U.S. centers». *Ann. Intern. Med.* 87: 8-13, 1977.
13. ALLES, A.; BOLIVAR, J. E.; HERRERO, M.; CABALLERO, A.; LOPEZ GOMEZ, J. M.; LUÑO, J.; GONZALEZ, C.; VALDERRABANO, F.: «Virus A: Una causa frecuente de hepatitis en las pacientes en hemodiálisis periódicas (a)». *Resúmenes XII. Reunión de la Sociedad Española de Nefrología*. P. 213, 1980.
14. MATESANZ, R.; QUEREDA, C.; MARCEN, R.; OROFINO, L.; FERNANDEZ, R.; BUENO, R.; GONZALEZ, J.; ORTUÑO, J.: «Contribución de nuevos marcadores al diagnóstico de hepatitis en diálisis». *Rev. Clin. Esp.* 159: 171-175, 1980.
15. COREY, L.; STAMM, W. E.; FEORINO, P. M.; BRYAN, J. A.; WESELEY, S.; GREGG, M. B.; SOLANGI, K.: «Hbs Ag negative hepatitis: Relation to Epstein-Barr virus». *New Engl. J. Med.* 293: 1273-1277, 1975.
16. LIAÑO, F.; MATESANZ, R.; CANNATA, J.; MORENO, A.; HERNANDO, L.: «Hepatitis B y «no B» en una Unidad de Diálisis (a) Resúmenes». *X Reunión Nacional de la Sociedad Española de Nefrología*. P. 168, 1977.
17. GUTIERREZ MILLET, V.; GOMEZ, E.; SOLIS, J.; PRIETO, C.; MERINO, J. L.; RODICIO, J. L.: «Brote de hepatitis Antígeno Australia negativo en una Unidad de Hemodiálisis (a)». *Resúmenes IX Reunión de la Sociedad Española de Nefrología*. P. 142, 1976.
18. GALBRAITH, R. M.; PORTMANN, B.; EDDLESTON, A.; WILLIAMS, R.; GOWER, P. E.: «Chronic liver disease developing after outbreak of HBsAg negative hepatitis in hemodialysis units». *Lancet* ii 886-890, 1975.
19. SIMON, P.; HEIRY, D.; BRIJSOT, P.; COUGARD, A.; MEYRIER, A.: «Long Term follow up of chronic hepatitis by serial liver biopsies in HBs positive hemodialysis patients. Role of Hepatotoxic drugs». *Proc. E.D.T.A. Vol.* 15: 596-598, 1978.
20. BOMMER, J.; WALDHERR, E.; RITZ, E.: «Silicone filings in macrophages of viscera: an iatrogenic complication of haemodialysis». *Proc. E.D.T.A. Vol.* 18: 731-735, 1981.
21. SNYDMAN, D. R.; HINDMAN, S. H.; WINELAND, M. D.; WINELAND, B. A.; BRYAN, J. A.; MAYNARD, J. E.: «Nosocomial viral hepatitis B. A cluster among staff with subsequent transmission to patients». *Ann. Intern. Med.* 85: 573-577, 1976.
22. SNYDMAN, D. R.; BREGMAN, D.; BRYAN, J. A.: «Hemodialysis associated hepatitis in the United States, 1974». *J. Infect. Dis.* 135: 687-691, 1977.
23. STEVENS, C. E.; SZMUNESS, W.; GOODMAN, A. I.; WESELEY, S. A.; FOTINO, M.: «Hepatitis B vaccine: immune responses in hemodialysis patients». *Lancet* 4: 1211-1213, 1980.
24. MAGNIUS, L. O.; LINDHOLM, A.; LUNDIN, P.; IWARSON, S.: «A new antigen-antibody system. Clinical significance in long-term carriers of hepatitis B surface antigen». *JAMA* 231: 356-359, 1975.
25. HINDMAN, S. H.; GRAVELLE, C. R.; MURPHY, B. L.; BRADLEY, D. W.; BUDGE, W. R.; MAYNARD, J. E.: «E» Antigen, Dane particles, and serum DNA - polymerase activity in HBsAg carriers». *Ann. Intern. Med.* 85: 458-460, 1976.
26. ESTEBAN, R.; PEDREIRA, J. D.; GUARDIA, L.; HERNANDEZ, J. M.; MARTINEZ VAZQUEZ, J. M.: «El sistema antigénico e en los portadores de antígeno de superficie de la hepatitis por virus B». *Med. Clin.* 72: 313-315, 1979.
27. HOOFNAGLE, J. H.; GERETY, R. J.; BARKER, L. F.: «Antibody to hepatitis B virus core in man». *Lancet* 2: 869-873, 1973.
28. HOOFNAGLE, J. H.; GERETY, R. L.; NI, L. Y.; BARKER, L. F.: «Antibody to hepatitis B core antigen: A sensitive indicator of hepatitis B core replication». *New Engl. J. Med.* 290: 1336-1340, 1974.
29. LING, C. M.; OVERBY, L. R.: «Prevalence of hepatitis B virus as revealed by direct radioimmune assay with 125 - I - antibody». *J. Immunol.* 109: 834-841, 1972.
30. OMATA, M.; AFROUDAKIS, A.; LIEW CH. T.; ASHCAVAI, M.; PETERS, R. L.: «Comparison of serum hepatitis B surface antigen (HBsAg) and serum anticore with tissue HBsAg and hepatitis B core antigen». *Gastroenterology* 75: 1003-1009, 1978.
31. GRADY, C. F.: «Transfusions and hepatitis update in 78». *New Engl. J. Med.* 298: 1413-1415, 1978.
32. ANDREU, J.: «Transfusiones sanguíneas y trasplante renal». *Nefrología* 2: 1-2, 1982.
33. VARGAS, V.; PEDREIRA, J. D.; VILASECA, J.; RUIZ, K.; ESTEBAN, R.; HERNANDEZ, J. M.; GUARDIA, J.; BACARDI, R.: «Hepatocelular carcinoma and hepatitis B virus markers in Europe». *Lancet*, 1: 721-722, 1979.
34. SANCHEZ TAPIAS, J. M.; CABALLERIA, J.; BRUGUERA, M.; BALLESTA, A.; GUAL, J.; RODES, J.: «Marcadores serológicos de infección por virus de la hepatitis B en las hepatopatías crónicas HBsAg negativo». *Gastroenterología y Hepatología* 3: 111-118, 1980.
35. SPERO, J. A.; LEWIS, J. H.; VAN THIEL, D. H.; HASIBA, U.; RABIN, B. S.: «Asymptomatic structural liver disease in hemophilia». *New Engl. J. Med.* 298: 1373-1378, 1978.
36. KOJIMA, M.; UDO, K.; TAKAHASHI, Y.; YOSHIZAWA, H.; TSUDA, F.; ITCH, Y.; MIYAKAWA, Y.; MAYUMI, M.: «Correlation between titer of antibody to hepatitis B core antigen and presence of viral antigens in the liver». *Gastroenterology* 73: 664-667, 1977.