

Infección por virus de hepatitis en el trasplante renal. Estudio prospectivo

V. ALVAREZ CHIVA *, V. CARREÑO **, J. J. PLAZA *, I. MORA ** y L. HERNANDO *

* Servicio de Nefrología.

** Servicio de Digestivo.

Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

RESUMEN

Los pacientes trasplantados sufren frecuentemente hepatitis víricas. Sin embargo, las variaciones serológicas que ocurren en el período postrasplante no han sido perfectamente establecidas, sobre todo en lo que se refiere al virus B. El objetivo de este trabajo es determinar la incidencia de estas infecciones y las alteraciones clínicas y serológicas que suceden tras el trasplante.

Se han estudiado prospectivamente 52 pacientes, de los que 18 presentaban marcadores del virus B antes del trasplante, observándose en el seguimiento un descenso del título de anticuerpos y un aumento en la concentración de AgHBs en los pacientes que presentaban este marcador.

La mayoría de las hepatitis agudas fueron producidas por virus NANB (60 %, seguidas del virus B (20 %) y citomegalovirus (20 %). Un caso de hepatitis B se diagnosticó por la aparición del antiHBc-IgM en ausencia de AgHBs.

Once pacientes desarrollaron hepatitis crónica, siendo el virus NANB el agente responsable de 10 casos y el virus B del otro. Este último paciente tenía positividad VBH-DNAp.

En conclusión, tras el trasplante renal disminuye el riesgo de infección por virus B, observándose una disminución del título de anticuerpos, aumentando sin embargo la concentración de AgHBs. El antiHBc-IgM parece ser necesario para establecer el diagnóstico de hepatitis por virus B en estos pacientes. El principal agente responsable de las hepatitis del trasplantado es el virus NANB.

Palabras clave: Hepatitis. Inmunodepresión. Virus B. Virus NANB. Citomegalovirus.

HEPATITIS VIRUS INFECTION IN RENAL TRANSPLANT RECIPIENTS A PROSPECTIVE STUDY

SUMMARY

A high infection rate with hepatitis virus in renal transplant recipients has been demonstrated. However, the serological events that take place in the postransplant period have not been perfectly established, especially in relation to hepatitis B virus.

The aim of the present work is to determine the incidence of hepatic viral infection in the postransplant period, and the clinical and serological events in relation with hepatitis virus.

A total of 52 patients were included and followed prospectively. Of these, 18 had serological markers of HBV (Anti HBs + Anti HBc, Anti HBs, Anti HBc alone, HBsAg). During the follow up a decrease in titers of these antibodies was observed. However, in the postransplant period and increase of HBsAg concentration was demonstrated in patients with HBsAg + prior to the renal transplantation. In

Recibido: 25-II-1984.

En forma definitiva: 10-IV-1984.

Aceptado: 11-IV-1984.

Correspondencia: Dr. V. Alvarez Chiva.
Servicio de Nefrología.
Fundación Jiménez Díaz.
28040 Madrid.

addition 10 patients suffered acute hepatitis, due to HBV (20 %), cytomegalovirus (20 %) and Non-A non-B virus (NANB, 60 %). One of the cases of acute hepatitis B was diagnosed by the appearance of Anti HBc-IgM in the absence of HBsAg.

With respect to chronic evolution, 11 patients developed chronic hepatitis. NANB virus was the agent implicated in 10 cases, and HBV in the other case. This patient was also positive for HBV-DNAp.

In conclusión, during the postransplant period the HBV infection risk decreases as demonstrated by titration of antibodies. However HBsAg concentration increases in these patients. The Anti-HBc-IgM seems to be necessary to establish the diagnosis of HBV hepatitis in these patients. The principal agent responsible for hepatitis either acute or chronic in the transplant recipient is the NANB virus.

Key words: Hepatitis. Immunodepression. B virus. NonA-NonB virus. Cytomegalovirus.

INTRODUCCION

La infección por virus es uno de los problemas que con más frecuencia padecen los enfermos trasplantados¹⁻³. Esto se debe esencialmente a tres factores. En primer lugar el enfermo con insuficiencia renal crónica padece un déficit inmunológico que le hace más susceptible a infecciones virales⁴. Por otra parte, estos pacientes suelen ser transfundidos con frecuencia durante su período de hemodiálisis^{5,6}. Además, cuando por fin son sometidos a trasplante renal se les aplica terapia inmunosupresora, que agrava el déficit inmunológico que tenían previamente⁷⁻⁹.

Entre los agentes infecciosos capaces de producir lesión hepática en los trasplantados renales, los más frecuentes son los virus NoA-NoB (NANB) de la hepatitis, virus B, virus A, citomegalovirus y con menos frecuencia los virus de Epstein-Barr, adenovirus y herpes simple².

El objetivo del presente trabajo es tratar de conocer la incidencia de infección viral hepática en los pacientes trasplantados, determinando los posibles factores de riesgo y de forma prospectiva seguir la evolución serológica de los marcadores de virus de la hepatitis.

MATERIAL Y METODOS

Se incluyeron 52 pacientes trasplantados en el período comprendido entre febrero de 1979 a diciembre de 1982, con un trasplante renal funcionando durante al menos 6 meses y un seguimiento adecuado.

Antes del trasplante todos los enfermos habían sido sometidos a hemodiálisis durante un período de tiempo que oscilaba entre 2 meses y 5 años (20 ± 4 meses). La edad de los pacientes estaba comprendida entre 16 y 57 años (32 ± 4 años). Todos habían recibido alguna transfusión de sangre antes del trasplante (de 1 a 36 transfusiones: $8 \pm 9,5$).

Los pacientes fueron sometidos a terapia inmunosupresora después del trasplante con azatioprina (2-3 mg/kg. peso) y prednisona (1,5 mg.) en pauta descendente. Treinta eran varones y 22 hembras.

Todos fueron evaluados clínica y analíticamente antes del trasplante y después quincenalmente durante los tres primeros meses y mensualmente durante un año. La realización de otros exámenes analíticos o biopsia hepática fueron indicados según las circunstancias clínicas de cada paciente.

Determinaciones analíticas

Pruebas de función hepática: bilirrubina total, TGO, TGP, fosfatasa alcalina y GGTP fueron determinadas por métodos rutinarios (SMAC-Technicon), así como la albúmina, gamma-globulina (espectro electroforético) y sangre elemental (Coulter).

Pruebas serológicas virales

Para la determinación del agente viral responsable de la lesión hepática se extrajo una muestra de suero 15 días antes del trasplante y posteriormente en los períodos citados. Las muestras se almacenaron a -20°C hasta el momento de la realización de las diversas pruebas.

El antígeno de superficie de la hepatitis B (AgHBs), antiHBs y antiHBc se estudiaron en las muestras por RIA (Abbott) y el AgHBe y antiHBe sólo en las que resultaron positivas al AgHBs. El título de antiHBs y antiHBc se estableció mediante diluciones seriadas. El antiHAV-IgM y el antiHBcIgM se determinaron por RIA y ELISA, respectivamente.

Los anticuerpos frente a citomegalovirus y herpes simple se detectaron por técnica de fijación de complemento y los anticuerpos frente a virus de Epstein-Barr por inmunofluorescencia indirecta. La actividad DNA polimerasa del virus B de la hepatitis (VBH-DNAp) se determinó mediante la técnica de MARION y cols.¹⁰ por ultracentrifugación.

Criterios diagnósticos

Se consideró que existía hepatitis aguda cuando en un paciente con parámetros bioquímicos normales se producía una elevación de los mismos superior a 2,5 veces el límite alto de la normalidad, en dos muestras separadas entre sí al menos una semana. La presencia de hepatitis crónica se confirmó cuando los parámetros bioquímicos permanecían alterados al menos durante 6 meses, y en la biopsia hepática se demostraba lesión compatible con el diagnóstico de hepatitis crónica. La definición etiológica de enfermedad por citomegalovirus, Epstein-Barr o herpes simple se estableció cuando se producía seroconversión a anticuerpos frente a estos virus con incremento en el título de los mismos de al menos cuatro veces en dos muestras separadas 15 días.

El virus B se aceptó como responsable de la lesión hepática si la misma coincidía con la aparición a nivel circulante de AgHBs o seroconversión a antiHBc-IgM. Para conocer el nivel de replicación viral se hizo determinación de actividad VBH-DNAp si el AgHBs resultaba positivo. Cuando el paciente presentaba inicialmente antiHBs y antiHBc para determinar si después del trasplante se producía contacto con el virus B, se hicieron titulaciones seriadas de éstos.

La hepatitis aguda por virus A se descartó por la determinación de antiHAV-IgM. El diagnóstico de enfermedad hepática por virus NANB se realizó por exclusión serológica de los diversos virus citados. Cuando se sospechaba hepatotoxicidad por drogas se realizaban test de estimulación y supresión, y los casos que resultaron positivos se excluyeron del estudio.

Este estudio estadístico se realizó empleando el test de X cuadrado con la corrección de Yates y la t de Student.

RESULTADOS

a) *Contacto con el virus B previo al trasplante* (tabla I)

El 35 % de los pacientes incluidos en nuestro estudio tenían contacto previo frente al virus B (tabla I). La mayoría de ellos presentaban un patrón de positividad simultánea a antiHBs y antiHBc, aunque algunos de ellos tenían detectable aisladamente el antiHBs o el antiHBc. Solamente 2 presentaban AgHBs positivo a nivel circulante. El título medio de antiHBs disminuyó en la muestra que se tomó al año del trasplante (log del título: 3,07 frente a 2,47), aunque la diferencia no llegó a alcanzar nivel estadísticamente significativo. Asimismo, el título de antiHBc disminuyó con respecto al basal (2,27 y 1,97, respectivamente), aunque la diferencia tampoco fue significativa. Con respecto a la concentración de AgHBs en los 2 casos que eran positivos antes del trasplante, se comprobó que aumentaba en la muestra anual (266.400 vs 310.000, y 5.500 vs 6.200 ng/ml., respectivamente). Uno de ellos resultó positivo a la VBH-DNAp, no apreciándose variaciones en el seguimiento. No existían diferencias con respecto a la titulación de anticuerpos entre los pacientes que tenían enfermedad hepática después del trasplante y aquellos que no la desarrollaban.

b) *Hepatitis aguda* (tabla II)

De los 52 pacientes incluidos, 10 padecieron hepatitis aguda con evolución a curación. La mayoría de las hepatitis fueron atribuibles a virus NANB. En 2 casos la hepatitis fue por virus B, ya que en uno de ellos apareció antiHBc-IgM positivo con títulos crecientes durante el período de seguimiento y en el otro el AgHBs era positivo. Además existían otros 2 casos atribuibles a citomegalovirus, ya que se comprobó la existencia de seroconversión a anticuerpos frente al mismo, con incremento progresivo del título. La hepatitis NANB fue la que más tarde normalizó las transaminasas, seguida de la hepatitis por virus B y citomegalovirus. No se observó ningún caso de hepatitis por virus A.

c) *Hepatitis crónicas* (tabla III)

Once pacientes que previamente al trasplante tenían la bioquímica hepática normal desarrollaron enfermedad hepática con evolución a cronicidad (11/52:21 %) (tabla III). El virus NANB fue responsable de 10 casos. La evolución a cronicidad global de hepatitis NANB fue del 62 % (10/16).

El diagnóstico histológico fue cuatro hepatitis crónicas activas (HCA) y seis hepatitis crónicas persistentes (HCP). Existía además otro caso de HCA por virus B (AgHBs, AgHBe y VBH-DNAp +). La evolución a la cronicidad de hepatitis B total en nuestra serie era del 30 %.

Con respecto al número de transfusiones recibidas por los trasplantados que padecieron una afectación hepática y los que se vieron libres de ella, se observó que estos últimos recibieron menos (8 concentrados de hematies) que los primeros (10), pero sin diferencias significativas.

TABLA I

CONTACTO AL VIRUS B PREVIO AL TRASPLANTE

| Patrón serológico | N | % sobre el total N = 52 | Enfermedad hepática postrasplante |
|-------------------|-----------|-------------------------|-----------------------------------|
| AntiHBs + antiHBc | 11 | 21 | 5 (no por virus B) |
| AntiHBc | 3 | 6 | — |
| AntiHBs | 2 | 4 | — |
| AgHBs | 2 | 4 | 1 |
| TOTAL | 18 | 35 | 6 |

TABLA II

HEPATITIS AGUDAS POSTRASPLANTE

| Etiología | N | % sobre el total N = 52 | Duración elevación% transaminasas | marcadores previos al virus B |
|-----------------|---|-------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| Virus B | 2 | 4 | 6-8 semanas | — |
| Citomegalovirus | 2 | 4 | 3-4 semanas | 1/2: 50 % |
| Virus NANB | 6 | 11 | 6-16 semanas | 1/6: 17 % |

TABLA III

HEPATITIS CRONICAS POSTRASPLANTE

| Etiología | N | HCP | HCA | % marcadores previos al virus B |
|------------|----|-----|-----|---------------------------------|
| Virus B | 1 | — | 1 | — |
| Virus NANB | 10 | 6 | 4 | 3/10: 30 % |

La cifra global de lesión hepática fue del 40 % (21/52): de ellas 3 eran por virus B (14 %), 2 por citomegalovirus (9 %) y 16 por NANB (76 %) (tabla IV).

DISCUSION

En nuestro trabajo se ha confirmado el elevado riesgo de infección por virus B en los pacientes de diálisis. El 35 % tenían evidencia serológica de contagio previo al trasplante. Este resultado coincide con los publicados en la literatura: 50 %^{2, 5, 6}.

Sin embargo, y a pesar de este elevado porcentaje de contacto previo, se observó una disminución en los títulos de anticuerpos en el período postrasplante. Este hecho puede tener varias explicaciones. En primer lugar se sabe que el título de anticuerpos después de un contacto con el virus B tiende a descender si no se repite una nueva exposición al mismo¹¹. En los trasplantados al no estar sometidos a diálisis disminuye el riesgo de contacto con el virus y, por tanto, es posible que la caída de anticuerpos que hemos observado sea una expresión de la historia natural de la respuesta humoral¹². Otra posibilidad sería que la inmunosupresión terapéutica de estos pacientes influya en la caída del título de anticuerpos, aunque pensamos que esto es menos probable, ya que una vez iniciada la reacción de linfocitos B hacia un tipo de antígeno es difícil que disminuya la producción de anticuerpos¹³.

Otro dato interesante que observamos con respecto a la concentración de AgHBs durante el seguimiento fue un incremento progresivo de la misma en sujetos que eran portadores de AgHBs antes del trasplante, cuando normalmente ocurre una disminución en su concentración en el curso de la historia natural de la infección¹⁴. La posible explicación de este hecho es que los inmunosupresores pueden actuar sobre la respuesta celular, disminuyendo la misma y, por tanto, facilitando la replica-

ción del virus^{15, 16}. Sin embargo, no se pueden obtener conclusiones definitivas puesto que sólo existían 2 sujetos que eran portadores de AgHBs antes del trasplante.

El riesgo de lesión hepática por virus después del trasplante fue de un 40 % en nuestra serie, y esta cifra es similar a la comunicada en otros trabajos (30-60 %)^{1, 2, 17}. Cuando se compara el riesgo de infección viral por vía transfusional en la población general (8-26 %)¹⁸ y en los trasplantados, éste es muy superior. Esto puede estar condicionado por la inmunosupresión a que son sometidos los enfermos en el período postrasplante, ya que disminuye la inmunidad celular y facilita que tengan una menor capacidad de respuesta a la infección¹⁹.

Cuando se analizó el número de transfusiones recibidas en los pacientes que desarrollaron lesión hepática se comprobó que habían recibido más concentrados de hemáties que el resto, aunque la diferencia no fue significativa. Este dato sugiere que las transfusiones de sangre son un vehículo probable de infección hepática, aunque se precisan estudios más amplios para confirmar este punto.

Según nuestros resultados la mayoría de las hepatitis por virus en el postrasplante (agudas o crónicas) son producidas por NANB (76 %). Estos resultados coinciden con los publicados en la literatura de los últimos años¹⁸, ya que desde la introducción de la determinación sistemática del AgHBs en los bancos de sangre se ha observado una disminución de las hepatitis B a prácticamente el 10 % de los casos con un incremento a 80 ó 90 % de hepatitis NANB postransfusionales. Sin embargo, es relativamente sorprendente que a pesar de la determinación de AgHBs todavía se producen hepatitis B postransfusionales. Probablemente esto se debe a la relativa baja sensibilidad de los test comerciales (RIA y ELISA) para detectar el AgHBs. Así TABOR y cols.²⁰ con experimentos de inoculación a chimpancés han demostrado que muestras diluidas de AgHBs por debajo de la sensibilidad del RIA todavía son capaces de transmitir la enfermedad. Otra posible explicación sería la infecciosidad de donantes AgHBs (-) con antiHBc (+) que, según se ha demostrado²¹, pueden ser pacientes con hepatitis aguda en fase de ventana, siendo sólo detectable en este período el antiHBc. También en nuestro estudio se pone de manifiesto la importancia de detectar el antiHBc-IgM para diagnosticar adecuadamente las hepatitis NANB²², ya

TABLA IV.

CUADRO CLINICO Y BIOQUIMICO DE LAS HEPATITIS POSTRASPLANTE

| Etiología | N.º | Intervalo entre el trasplante renal y la aparición de hepatitis | Valor medio de ALAT (U/ml.) en las hepatitis durante la fase de máxima elevación | Bilirrubina (mg. %) | Gamma-globulina (g. %) | Sintomatología clínica |
|-----------------|-----|---|--|---------------------|------------------------|------------------------|
| Virus B | 3 | 2 ± 1,4 meses | 2.360 ± 1.100 | 7 ± 4,3 | 1,55 ± 0,2 | 1 |
| Citomegalovirus | 2 | 2 meses | 1.120 ± 200 | 3 ± 1,5 | 1,50 | 1 |
| Virus NANB | 16 | 2,9 ± 4 meses | 1.750 ± 800 | 4 ± 2,8 | 1,61 ± 0,3 | 4 |

que uno de nuestros pacientes con hepatitis aguda por VBH era AgHBs— y antiHbc+, y sin la determinación de antiHBcIgM probablemente habría sido diagnosticado de hepatitis aguda por virus NANB con contacto antiguo por VBH expresado en la positividad a antiHbc²³.

En nuestra serie no se dieron casos de hepatitis por virus A. Esto se explica por el corto período de viremia del mismo, haciendo que el contagio postransfusional sea excepcional²⁴. Por otra parte la incidencia de antiHAV es del 76 % de la población española, y las posibilidades de infección por el mismo son muy escasas²⁵.

La lesión hepática por herpes simple es muy rara², según se demuestra también en nuestro estudio, ya que ninguno de los enfermos padeció esta infección.

En las hepatitis agudas postransfusionales el papel del citomegalovirus es de poca importancia¹⁸, pero es más importante en las hepatitis que se producen en el postrasplante renal, llegando a cronicarse¹⁷.

Con respecto a la evolución, observamos que solamente uno de los casos producidos por virus B evolucionó a la cronicidad (30 %). Este porcentaje de evolución es superior al que se observa en las hepatitis agudas tipo B en la población general, que se estima alrededor de un 14 %²⁶. Esta mayor evolución a cronicidad en los pacientes trasplantados puede estar condicionada por el efecto de los inmunosupresores¹⁹.

También conviene señalar que el único caso de hepatitis crónica por virus B que se dio en estos pacientes era positivo a la actividad VBH-DNAp y, por tanto, tenía alto nivel de replicación viral y elevada capacidad de transmitir esta enfermedad a otros pacientes o familiares. Por tanto, creemos que la determinación de actividad VBH-DNAp en portadores crónicos de virus B trasplantados o sin trasplantar es importante para discernir entre alto y bajo nivel de replicación viral, tomar las medidas profilácticas adecuadas y considerar a estos enfermos como candidatos a terapia antiviral²⁷.

La mayoría de las hepatitis agudas virales que evolucionaron a la cronicidad también fueron producidas por virus NANB. Las hepatitis agudas NANB en sujetos sanos también evolucionan a cronicidad (35 %) con más frecuencia que las inducidas por virus B²⁶. Pero en trasplantados este hecho se acentúa más probablemente por el déficit inmunológico que padecen¹⁹.

BIBLIOGRAFIA

1. LA QUAGLIA, M. P.; TOLKOFF-RUBIN, N. E.; DIENSTAG, J. L.; COSIMI, A. B.; HERRIN, J. T.; KELLY, M., y RUBIN, R. H.: «Impact of hepatitis on renal transplantation». *Transplantation*, 32: 504-507, 1981.
2. WARE, A. J.; LUBY, J. P.; HOLLINGER, B.; EIGENBRODT, E. H.; CUTHBERT, J. A.; ATKINS, C. R.; SHOREY, J.; HULL, A. R., y COMBES, B.: «Etiology of liver disease in renal-transplant patients». *Ann. Int. Med.*, 91: 364-371, 1979.

3. RUBIN, R. H.; WOLFSON, J. S.; COSIMI, A. B., y TOLKOFF-RUBIN, E. E.: «Infection in the renal transplant recipient». *Amer. J. Med.*, 70: 405-411, 1981.
4. BOULTON-HONES, J. M.; VICK, R.; CAMERON, J. S., y BLACK, P. J.: «Immune responses in uremia». *Clin. Nephrol.*, 1: 351-360, 1973.
5. GARIBALDI, R. A.; FORREST, J. N.; BRYAN, J. A.; HANSON, B. F., y DISMUKES, W. E.: «Hemodialysis-associated hepatitis». *J.A.M.A.*, 225: 384-389, 1973.
6. SZMUNESS, W.; PRINCE, A. M.; GRADY, G. F.; MANN, M. K.; LEVINE, R. W.; FRIEDMAN, E. A.; JACOBS, M. J.; JOSEPHSON, A.; RIBOT, S.; SHAPIRO, F. L.; STENZEL, K. H.; SUKI, W. N., y VYAS, G.: «Hepatitis B infection. A point prevalence study in 15 US hemodialysis centers». *J.A.M.A.*, 227: 901-906, 1974.
7. MORRIS, P. J.: «Infection-prone hospital patients». Eds. Burke, J. F., Hildich-Smith. Little Brown and Co. Boston, 157-174, 1978.
8. ZURIER, R. B., y WEISSMAN, N. G.: *Med. Clin. N. Amer.*, 57: 1295-1307, 1973.
9. MURPHY, J. F.; McDONALD, F. D., y DAWSON, M.: «Factors affecting the frequency of infection in renal transplant recipients». *Arch. Int. Med.*, 136: 670-677, 1976.
10. MARION, P. L.; OSHIRO, L. S.; REGNER, D. C.; SCULLARD, G. H., y ROBINSON, W. S.: «A virus in Beechey ground squirrels that is related to hepatitis B virus of humans». *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 77: 2941-2945, 1980.
11. KRUGMAN, S.; OVERBY, L. R.; MUSHAHWAR, I. K.; LING, C. M.; FROESNER, G. G., y DEINDERHARDT, F.: «Viral hepatitis, type B». *New Engl. J. Med.*, 300: 101-106, 1979.
12. SZMUNESS, W.; STEVENS, C. E.; ZANG, E. A.; HARLEY, E. J., y KELLNER, A.: «A controlled trial of the efficacy of the Hepatitis B Vaccine (Hepatavax B): a final report». *Hepatology*, 1: 377-385, 1981.
13. LEE, K. C.; LANGMAN, R. E., y PAETKAU, V. H.: «The cellular basis of cortisone-induced immunosuppression of the antibody response studied by its reversal in vitro». *Cell. Immunology*, 17: 405-417, 1975.
14. MORA, I.; PORRES, J. C., y CARREÑO, V.: «Marcadores serológicos del virus B de la hepatitis (VBH): progresos realizados». *Rev. Clin. Esp.* (en prensa), 1984.
15. LIPINSKI, M.; TURSZ, T.; KREIS, H.; FINALE, Y., y AMIEL, J. L.: «Dissociation of natural Killer cell activity and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in Kidney allograft recipients high-dose immunosuppressive therapy». *Transplantation*, 29: 214-218, 1980.
16. DIMITRIU, A., y FAUCI, A. S.: «Differential sensitivity of human lymphocyte subpopulations to azathioprine». *Transp. Proc.*, 11: 878-881, 1979.
17. SOPKO, J., y ANURAS, S.: «Liver disease in renal transplant recipients». *Am. J. Med.*, 64: 139-146, 1978.
18. KNODELL, R. G.; CONRAD, M. E.; DIENSTAG, J. L., y BELL, C. J.: «Etiological spectrum of postransfusion hepatitis». *Gastroenterology*, 69: 1278-1285, 1975.
19. BACH, J. F.: «Immunosuppression». En: *Renal Transplantation*. Ed. Williams & Wilkins. Hamburger, S.; Crosnier, J.; Bach, J. F.; Kreis, H. Baltimore/London, pp. 89-145, 1981.
20. TABOR, E.; PURCELL, R. H.; LONDON, W. T., y GERETY, R. J.: «Use of and interpretation of results using inocula of hepatitis B virus with known infectivity titers». *J. Inf. Dis.*, 147: 531-534, 1983.
21. HOOFNAGLE, J. H.; SEEFF, L. B.; BALES, Z. B.; ZIMMERMAN, H. J., and the Veterans Administration Hepatitis Cooperative Study Group. «Type B hepatitis after transfusion with blood containing antibody to hepatitis B core antigen». *N. Engl. J. Med.*, 298: 1379-1383, 1978.
22. COHEN, B. J.: «The IgM antibody responses to the core antigen of hepatitis B virus». *J. Med. Virol.*, 3: 141-149, 1978.
23. CARREÑO, V.; PORRES, J. C.; HERNANDEZ GUIO, C.; MARINA FIOL, C.; ALVAREZ, V., y HERNANDO, L.: «The significance of hepatitis B infection to nurses, paramedics and laboratory workers». *Proc. of the Eur. Symp. on hepatitis B*. Eds. S. Krugman y S. Sherlock. M. S. D. Int. Rahway, 27-38, 1981.
24. ROUTENBERG, J. A.; DIENSTAG, J. L.; HARRISON, W. O.; KILPATRICK, M. D.; HOOPER, R. R.; PURCELL, R. H., y FORNES, M. F.: «A food borne epidemic of hepatitis A virus (HAV) infection among navy recruits». *Gastroenterology*, 69: A/59/859, 1975.
25. CARREÑO GARCIA, V.; GONZALEZ ALONSO, R.; PORRES CUBERO, J. C.; ORTIZ MASLLORENS, F.; MARTIN CALDERIN, F., y HERNANDEZ GUIO, C.: «Prevalencia de antiHAV en la población española». *Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.*, 64: 187-190, 1983.
26. PORRES, J. C.; CARREÑO, V., y HERNANDEZ GUIO, C.: «Estudio prospectivo de hepatitis aguda por virus A, B y NANB: diferencias epidemiológicas y clínicas». *Rev. Clin. Esp.* (en prensa), 1984.
27. CARREÑO, V.; MONTAÑO, L., y TORRES, M.: «Tratamiento de la hepatitis crónica por virus B». *Rev. Clin. Esp.*, 171: 73-76, 1983.