

Factores de riesgo e incidencia de seroconversiones del virus de la hepatitis C en pacientes hemodializados. Estudio con diferentes técnicas serológicas

J García-Valdecasas, M. C. Bernal*, F. García*, C. Roldán* y S. Cerezo*
Servicio de Nefrología* y Servicio de Microbiología. Hospital Universitario. Granada.

RESUMEN

Este estudio fue realizado en 107 pacientes hemodializados para determinar la prevalencia de anticuerpos frente al virus de la hepatitis C (VHC), investigados con diferentes técnicas serológicas, así como los factores epidemiológicos asociados con la infección por el VHC. Entre estos factores se analizaron el sexo, edad, historia de transfusiones de sangre, tiempo de duración del tratamiento dialítico y la elevación de los niveles de transaminasas. La prevalencia de anticuerpos en estos pacientes fue del 27 %. El sexo y la edad no mostraron asociación significativa con la presencia de estos anticuerpos. Por el contrario, hubo asociación entre la presencia de anticuerpos y los antecedentes de transfusiones de sangre, cuando éstas fueron realizadas con anterioridad a la investigación de éstos anticuerpos en los donantes de sangre ($p < 0,001$), así como con el tiempo de duración del tratamiento de diálisis (prevalencia inferior en los pacientes tratados menos de sesenta meses frente a aquellos que llevaban tratados más de sesenta meses, $p < 0,05$).

Se realizó un seguimiento durante treinta meses, observándose elevación de transaminasas en el 51,7 % de pacientes seropositivos y en el 21,8 % de seronegativos. Durante este período, 13 de los pacientes negativos seroconvirtieron al VHC, no existiendo asociación entre el sexo, edad o número de transfusiones sanguíneas con cada seroconversión individual. Tres pacientes negativos tuvieron un episodio de hepatitis aguda no relacionada con agente viral hepatotrofo conocido, colelitiasis o administración de drogas hepatotóxicas. De las técnicas serológicas estudiadas, el inmunoblot RIBA-III es el que ofrece mayor especificidad en el estudio del VHC, superando a las otras técnicas de ELISA (ELISA-II y MONOLISA ANTI-HCV) e inmunoblot de segunda generación (RIBA-II y DECISCAN ANTI-HCV).

Palabras clave: **VHC. Hemodiálisis. Seroconversiones. Anticuerpos**

Recibido: 19-VI-95.
En versión definitiva: 20-X-95.
Aceptado: 24-X-95.

Correspondencia: Dr. J García-Valdecasas Valverde.
Avda. Divina Pastora, 7, Bloque 8, 6.º B.
18012 Granada.

INCIDENCE AND RISK FACTORS OF VIRUS C SEROCONVERSION IN HEMODIALYSIS PATIENTS

SUMMARY

This study was carried out in 107 hemodialyzed patients to determine the prevalence of HCV antibodies, and the epidemiological factors associated with HCV infection: sex, age, history of blood transfusion, time on hemodialysis and elevation of transaminases levels. Prevalence of HCV antibodies was 27 %. There was no statistical association of sex and age with seropositivity to HCV antibodies. We found a significant association ($p < 0.01$) between seropositivity and blood transfusions performed before the investigation of these antibodies in blood donors, and with time on dialysis (lower in those who were treated less than 30 months, $p < 0.05$).

Patients were investigated throughout a follow up study of 30 months. Elevation of transaminase levels were found in 51.7 % of positive patients and in 21.8 % of seronegative. During this period of time, 13 seroconversions were observed, showing no relation to sex, age or history of blood transfusion. Three HCV negative patients had acute hepatitis without evidence of hepatotropic virus infection, cholelithiasis neither hepatotoxic drugs. Of the serological tests studied, RIBA-III immunoblot (ORTHO) was the most specific, compared to the other techniques: ELISA-II (ORTHO), RIBA-II (ORTHO), MONOLISA ANTI-HCV (PASTEUR) or DECISCAN ANTI-HCV (PASTEUR).

Key words: **HCV. Hemodialysis. Seroconversion. Antibodies**

INTRODUCCION

El virus de la hepatitis C (VHC), que se identificó en 1989¹, está considerado actualmente como el agente más importante y frecuente de hepatitis viral en los pacientes hemodializados (HD). Tras su identificación se desarrollaron técnicas serológicas basadas en métodos inmunoenzimáticos (ORTHO HCV ELISA test) y de inmunoblot recombinante (CHIRONRIBA HCV test) para detectar anticuerpos dirigidos contra el VHC (Ac-VHC). La primera generación de técnicas de ELISA y RIBA estaban caracterizadas por frecuentes resultados falsos positivos y falsos negativos, debido a que estas técnicas notifican la presencia de Ac dirigidos contra el péptido viral C100, que aparece en suero de forma tardía en la evolución de la enfermedad y desaparece relativamente pronto de la sangre. Las modificaciones de estas técnicas con objeto de conseguir una mayor especificidad y sensibilidad, dieron como resultado las técnicas de segunda generación. La técnica ELISA-II permite detectar Ac dirigidos contra el péptido estructural C22, y el no estructural C200, y el RIBA-II detecta Ac dirigidos contra el antígeno estructural C22, y tres antígenos no estructurales (C33, 5-1-1 y C100).

Existe un nuevo ELISA de segunda generación (MONOLISA ANTI-HCV) que detecta Ac dirigidos

contra el antígeno estructural de la cápside viral NC-450 y contra un antígeno no estructural de la región NS3 (409-1-1), y una nueva técnica confirmatoria inmunoblot de segunda generación (DECISCAN HCV) que permite detectar Ac frente a los antígenos virales de la cápside C1 y C2, así como contra los antígenos no estructurales de la región NS3 (409-1-1) y de la región NS4.

La técnica RIBA-II ha sido considerada como la más sensible y específica para detectar la presencia de infección por el VHC^{2,3}, pero últimamente, con el fin de mejorar la sensibilidad de éste, se ha comercializado el RIBA-III, que incluye la detección de Ac frente a la región no estructural NS5.

Numerosos estudios han notificado una elevada prevalencia de VHC-Ac en los pacientes tratados con HD⁴⁻⁶. Esta prevalencia aumenta año tras año, principalmente como consecuencia de las seroconversiones que tienen lugar en pacientes previamente negativos⁷.

Este estudio ha sido realizado con el fin de determinar la prevalencia de VHC-Ac y los factores epidemiológicos asociados a la misma en pacientes en HD y en pacientes seroconvertidos durante un período de observación prospectivo de treinta meses, así como para evaluar las diferencias existentes en la especificidad y sensibilidad entre las diferentes técnicas serológicas de segunda y tercera generación.

PACIENTES Y METODOS

El estudio se realizó en 107 pacientes tratados con HD en el Hospital Universitario de Granada, en los que se realizó un seguimiento durante un período de treinta meses. Ninguno de ellos era portador del antígeno de superficie del VHB o de Ac frente al VIH.

Entre los factores epidemiológicos valorados se incluyó el sexo, la edad, el tiempo de duración del tratamiento de diálisis, la historia individual de transfusiones de sangre y la elevación de transaminasas, que se evaluaron mensualmente, considerándose elevadas cuando la alanina amino-transferasa (ALT) estaba 1,5 veces por encima del valor máximo de la normalidad en al menos dos muestras.

Nuestro criterio de infección aguda por el VHC incluyó la presencia de Ac-VHC en un paciente previamente negativo, asociado a elevación de ALT en al menos dos determinaciones consecutivas con una semana de intervalo, elevación de aspartato amino-transferasa y/o de gamma glutamil-transpeptidasa, sin infección por cualquier otro virus hepatotrofo (VHA, VHB, CMV, VEB y VHS)^{8,9}. Los pacientes que recibían alguna droga considerada hepatotóxica o que presentaban colelitiasis no fueron valorados en el estudio.

En estos pacientes las transfusiones se realizaron siempre que aparecía anemia sintomática o cuando se utilizaron para mejorar el curso posterior de un posible trasplante renal (hasta 1985, cada paciente recibía de 5 a 10 unidades de 300 ml de sangre previo al trasplante renal). La detección de Ac-VHC en la sangre transfundida se realizó desde abril de 1990, desconociéndose, por tanto, el estado serológico frente al virus C con anterioridad a dicha fecha.

Los VHC-Ac fueron analizados cada dos meses por la técnica ELISA-II (ORTHO HCV ELISA test System second generation, Ortho Diagnostic System, Raritan, N. J., EE.UU. Ref. 933940), que detecta Ac frente a los péptidos virales C22 y C200, y los resultados positivos fueron confirmados por RIBA II (CHIRON RIBA HCV test System second generation, Chiron Corporation, Emeryville, CA, EE.UU. Ref. 930780), técnica que detecta Ac dirigidos contra los péptidos víricos C22, C33, C100 y 5-1-1. Alícuotas de estas muestras de suero fueron almacenadas a -60 °C.

Se consideró como criterio de positividad la presencia en suero de dos o más Ac frente a estos antígenos estudiados por RIBA-II. Las muestras de sangre en las que se detectaron Ac por ELISA-II, pero que por RIBA-II sólo se detectaba la presencia de un solo Ac, fueron consideradas indeterminadas. Por el contrario, aquellas muestras de sangre positivas por ELISA-II, pero negativas por RIBA-II, se consideraron falsas positivas.

Con el fin de evaluar estos criterios, las muestras consideradas falsas positivas e indeterminadas fueron estudiadas posteriormente por un nuevo ELISA de segunda generación (MONOLISA ANTI-HCV, Sanofi Diagnostic Pasteur, Marnes La Coquette, France, Ref. 72302), que detecta Ac frente a los antígenos del VHC NC-450 y 409-1-1, y un nuevo inmunoblot de segunda generación (DECISCAN HCV, Sanofi Diagnostic Pasteur, Marnes La Coquette, France, Ref. 72304), que determina la presencia de Ac dirigidos contra los antígenos virales C1, C2, 409-1-1 y un péptido de la región NS4, así como por RIBA III, que detecta Ac frente a los péptidos C22, C33, C100 y un péptido de la región NS5.

Tras aplicar dichas técnicas, la presencia de dos o más Ac frente a los péptidos del VHC detectados por DECISCAN o por RIBA-III fue criterio de positividad. La ausencia de Ac por MONOLISA, DECISCAN y/o RIBA-III se consideró criterio de negatividad. Por otro lado, un suero positivo con MONOLISA, pero negativo con los confirmatorios DECISCAN y/o RIBA-III, se consideró falso positivo. La valoración serológica de indeterminado se basó en la presencia de Ac por MONOLISA junto a la presencia de un solo Ac por DECISCAN y/o RIBA-III.

El análisis estadístico fue realizado por el test Chi cuadrado¹⁰.

RESULTADOS

De los 107 pacientes estudiados, 37 presentaron Ac-VHC por ELISA de segunda generación (prevalencia del 34,6 %). Sin embargo, cuando posteriormente fueron valorados por RIBA-II, solamente 27 de los 37 positivos previos fueron confirmados como positivos (prevalencia del 25,2 %). De los 10 pacientes restantes, siete fueron considerados falsos positivos, y tres indeterminados. Estos 10 pacientes fueron estudiados por las técnicas MONOLISA, DECISCAN y RIBA-III: los siete falsos positivos, fueron negativos por estas tres técnicas; los tres indeterminados fueron negativos con MONOLISA; uno de ellos resultó positivo por DECISCAN y RIBA-III, otro negativo con ambas técnicas y el tercero resultó indeterminado por DECISCAN y positivo por RIBA-III, lo que permitió considerarlo positivo. Por todo ello, al comienzo del período de estudio el número de pacientes seropositivos fue de 29 (prevalencia del 27,1 %).

Durante el período de seguimiento se perdieron un total de 11 pacientes: tres positivos y ocho negativos. De los 70 negativos, 13 seroconvirtieron (18,5 %) durante el tiempo de observación, ninguno de ellos considerado previamente falso positivo (incidencia de 0,6 pacientes/100 pacientes/mes).

Por lo que respecta al sexo, no existieron diferencias estadísticas en la prevalencia de anticuerpos (16 positivos/62 hombres, 25,8 %, y 13 positivos/45 mujeres, 28,9 %), así como tampoco en las seroconversiones (ocho hombres seroconvertidos, 17,3 %), y cinco mujeres, 17,2 %).

La **tabla I** muestra la prevalencia de Ac-VHC con respecto a la edad. No se encontraron diferencias estadísticas entre la edad de los seropositivos (media de edad de 53,4 ± 9,2 años) y seronegativos (media de edad de 47,2 ± 10,5 años); aunque existe un aumento de la prevalencia de Ac-VHC a medida que aumenta la edad, no se observaron diferencias significativas entre los intervalos estudiados.

Tabla I. Prevalencia de anticuerpos frente al VHC en relación con la edad.

Edad (años)	Pacientes	Ac +	Prevalencia (%)
23 - 29	12	2	16,7
30 - 39	21	4	19,0
40 - 49	18	4	22,2
50 - 59	21	7	33,3
60 - 69	23	8	34,8
70 - 79	12	4	33,3

Ac + = pacientes con anticuerpos positivos.
No existieron diferencias significativas en la prevalencia entre los diferentes grupos.

La **tabla II** muestra la prevalencia de Ac-VHC en relación con la duración del tratamiento de hemodiálisis. Existió una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en la duración del tratamiento entre los pacientes seropositivos (73,3 ± 38,2 meses) frente a los seronegativos (40,3 ± 32,1 meses). Cuando el tiempo de tratamiento es inferior a sesenta meses, la prevalencia de Ac-VHC (14 positivos de 80 pacientes, 17,5 %) es inferior a la obtenida en los pacientes tratados durante más de sesenta meses (15 positivos de 27 pacientes, 51,8 %) ($p < 0,05$).

El número de transfusiones recibidas está relacionada con la prevalencia de Ac: 55 pacientes no fueron transfundidos y ocho de ellos fueron positivos (14,5 %), mientras que de 52 que recibieron alguna transfusión de sangre, 21 resultaron positivos (40,4 %) ($p < 0,01$). Respecto al número de transfusiones recibidas, se observó una prevalencia inferior en los pacientes que tuvieron una o dos transfusiones de sangre (tres positivos/19 pacientes, 15,8 %), frente a los que recibieron tres o más transfusiones de sangre (18 positivos/33 pacientes, 54,5 %) ($p < 0,01$). Cuatro de los pacientes que seroconvirtieron habían sido transfundidos durante el período de observación, pero en estos casos el producto sanguíneo estuvo siempre investigado para la presencia de Ac-VHC,

Tabla II. Prevalencia de anticuerpos frente al VHC en relación con el tiempo de duración del tratamiento de hemodiálisis.

Meses	Pacientes	Ac +	Prevalencia (%)
1 - 12	15	2	13,3
13 - 24	20	3	15,0
25 - 36	15	3	20,0
37 - 48	16	3	18,7
49 - 60	14	3	21,4
61 - 72	9	4	44,4
73 - 84	7	4	57,1
85 - 96	4	3	75,0
> 97	7	4	57,1
Global < 60	80	14	17,5
Global > 60	27	15	55,6

Ac + = pacientes con anticuerpos positivos.
No existieron diferencias en la prevalencia entre los distintos grupos; sin embargo, si existieron diferencias estadísticas entre los pacientes tratados menos de sesenta meses en comparación con los tratados más de sesenta meses ($p < 0,05$).

estudio que se realiza en nuestro hospital desde abril de 1990.

La **tabla III** muestra el número de pacientes con ALT elevada o normal en los seropositivos, seroconvertidos y seronegativos. No existieron diferencias significativas en el porcentaje de pacientes con elevación de ALT entre los positivos y los negativos. En 39 pacientes se observó elevación de ALT (36,4 %), 21 de los cuales presentaban Ac-VHC (15 de ellos positivos desde el comienzo del estudio y siete que seroconvirtieron en el seguimiento), así como en 17 negativos. Por el contrario, 20 positivos no tuvieron en ningún momento elevación de niveles séricos de ALT (14 positivos desde el comienzo del estudio y seis seroconvertidos). En estos últimos seis pacientes se detectó la seroconversión únicamente por su cambio en el estado serológico.

Tabla III. Relación entre anticuerpos frente al VHC y elevación de ALT

ALT	Pacientes	Ac +	SC	Ac -
Elevadas	39 (36,4 %)	15 (38,5 %)	7 (17,9 %)	17 (43,6 %)
Normales	68 (63,6 %)	14 (20,6 %)	6 (8,8 %)	48 (70,6 %)

ALT = alanina aminotransferasa; Ac + = pacientes con anticuerpos positivos; SC = pacientes seroconvertidos; Ac - = pacientes con anticuerpos negativos.

Se ha observado episodio de hepatitis aguda en un total de 10 pacientes previamente negativos; de ellos, siete han seroconvertido y tres continúan siendo negativos. De los siete seroconvertidos, dos normalizaron los niveles de ALT a los tres y cinco meses respectivamente; dos presentaron elevación alternante de ALT, y los tres restantes han mantenido la ALT eleva-

da durante todo el seguimiento. De los tres pacientes sin seroconversión al VHC, dos normalizaron los niveles de ALT a los diez y doce meses del episodio agudo y en el tercero se observó elevación alternante.

Cuando se estudió la sensibilidad y especificidad de las técnicas utilizadas y empleando el RIBA-III como técnica de referencia, se encontró que el ELISA-II tiene una sensibilidad del 100 % (ningún falso negativo) y una especificidad del 90,7 % (ocho falsos positivos). La técnica MONOLISA mostró una sensibilidad del 90,6 % (tres falsos negativos) y una especificidad del 100 % (ningún falso positivo). Los inmunoblots de segunda generación (DECISCAN y RIBA-II) mostraron ambos una especificidad del 100% (ningún falso positivo), pero una sensibilidad del 96,7 % (un falso negativo) y del 90,6% (tres falsos negativos), respectivamente.

DISCUSION

Desde que se inició la detección sérica de los Ac-VHC¹¹ han sido numerosos los estudios que han mostrado una elevada prevalencia en los pacientes HD^{12,13}. En la población estudiada ha sido del 27 %, similar a la encontrada por otros investigadores^{4,14-17} y superior a la observada en la población normal de nuestro medio (donantes de sangre, 1,03 %, y embarazadas, 0,98 %) ¹⁸, lo que descarta un factor geográfico asociado a la misma; sin embargo, es inferior a la observada en otros grupos de riesgo, tales como hemofílicos (70 %) y adictos a las drogas (70 %) ⁴.

En este estudio, los factores relacionados con esta prevalencia han sido el tiempo de duración del tratamiento de diálisis y el haber recibido transfusiones de sangre. Quizá ambos factores están relacionados entre sí, ya que son los pacientes con mayor tiempo en hemodiálisis los que tienen una historia superior de transfusiones de sangre, las cuales se realizaron en un período de tiempo donde las técnicas de detección de estos Ac-VHC no estaban disponibles, hecho similar a lo encontrado en otras unidades de diálisis en España ^{5,19}. Aunque la prevalencia estuvo relacionada con el número de transfusiones de sangre, no podemos descartar la posibilidad de que hayan estado involucradas otras vías de transmisión. Hemos observado seroconversión en 13 pacientes en los que no se puede considerar a la transfusión sanguínea como vector de transmisión, ya que todas las transfusiones realizadas en el período de seguimiento estuvieron investigadas para el VHC. En un estudio previo ⁷ nosotros hemos mostrado un posible papel de la transmisión intradiálisis en estos pacientes seroconvertidos. Por otro lado, esta elevada prevalencia pudiera estar relacionada con el deterioro de la inmunidad celular y humoral que tiene lugar en pa-

cientes con enfermedad renal crónica, como algunos autores han sugerido ²⁰⁻²³, o asociada con la patología renal (glomerulonefritis) y/o insuficiencia renal severa, como nosotros hemos sugerido previamente ¹⁸. Recientemente, la asociación entre VHC y enfermedad renal mediada inmunológicamente ha sido demostrada, especialmente en pacientes con glomerulonefritis membranosa ²⁴, membranoproliferativa ²⁵ y crioglobulinemia ²⁶, aunque la patogénesis de esta asociación permanece aún desconocida.

De los 10 pacientes que tuvieron episodio de hepatitis aguda durante el estudio, se pudo demostrar que el VHC estaba implicado en el 70 % de ellos, pero aunque esta infección es actualmente la causa más importante de las hepatitis agudas no A - no B en las unidades de diálisis ^{4,16,19,27,28}, en nuestro estudio existe un sustancial grupo de pacientes que tienen elevación de ALT sin una etiología definida. Este hecho pudiera estar relacionado con niveles muy bajos de Ac-VHC en sangre, no detectable con las técnicas serológicas actuales²⁹, no pudiéndose descartar que sea debido a la existencia de otros agentes hepatotropos desconocidos. Estos datos sugieren que el hallazgo de transaminasas elevadas en pacientes tratados con hemodiálisis es todavía un dato inespecífico, siempre que se haya descartado la existencia de Ac frente al VHC.

El 47,3 % de seropositivos no presentó elevación de ALT, lo que pudiera estar en relación con infección asintomática o evolución natural de la infección VHC en estos pacientes.

Respecto a las técnicas que detectan la presencia de Ac-VHC, en el momento actual no existe ninguna que pueda tomarse como técnica de referencia. Por ello, para estudiar la sensibilidad y especificidad, nosotros hemos elegido como patrón el RIBA-III, que detecta anticuerpos frente a un mayor número de proteínas estructurales y no estructurales del VHC. Cuando se aplican diversas técnicas en el estudio de los pacientes considerados indeterminados, hemos encontrado que la técnica MONOLISA no resuelve esta situación serológica. La técnica ELISA-II tiene una especificidad del 90,7 % y una sensibilidad del 100 %, similar a la observada por otros autores ¹⁷. Los confirmatorios inmunoblot RIBA-II y DECISCAN presentan una mayor especificidad (100 %), pero menor sensibilidad que el test ELISA-II (90,6 % y 96,7 %, respectivamente). Las diferencias entre estas técnicas permanecen sin clarificar y pudieran estar relacionadas con el hecho de que algunas de ellas no incluyan los epítomos antigénicos más inmunodominantes de las diferentes proteínas víricas, lo cual impida detectar niveles bajos de anticuerpos.

Resumiendo, hemos encontrado una elevada prevalencia de Ac frente al VHC en nuestros pacientes dializados. Esta prevalencia ha estado relacionada

con historia previa de transfusiones sanguíneas y con la duración del tratamiento dialítico. El hallazgo de test de función hepática anormales es un dato no específico en los pacientes VHC-Ac positivos. Las seroconversiones son en el momento actual un problema importante en los pacientes hemodializados, las cuales no pueden ser consideradas un fenómeno relacionado con las transfusiones de sangre. El conocimiento de los factores epidemiológicos involucrados en la infección por el VHC de los pacientes en diálisis podrá permitir en el futuro disminuir la incidencia de estas complicaciones en nuestros pacientes.

Bibliografía

- Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW y Houghton M: Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non A, non B viral hepatitis genome. *Science* 244 (4902):359-362, 1989.
- Van der Poel CL, Reesink HW, Lelie PN, Leentvaar-Kuypers A, Choo QL, Kuo G y Houghton M: Anti-hepatitis C antibodies and non-A, non-B posttransfusion hepatitis in the Netherlands. *Lancet* 2 (8658):297-298, 1989.
- Marcellin P, Martinot-Peignoux M, Boyer N, Pouteau M, Aumont P, Erlinger S y Benhamou JP: Second generation (RI-BA) test in diagnosis of chronic hepatitis C. *Lancet* 337:551-552, 1991.
- Esteban JI, Esteban R, Viladomiu L, Lopes-Talavera JC, Gonzales A, Hernández JM, Roget M, Vargas V, Genescan J, Buti M, Guardia J, Houghton M, Choo QL y Kuo G: Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Spain. *Lancet* 2 (8658):294-297, 1989.
- Teruel J, Fernández R, Gámez C, Marcén R, Celma ML, Liaño F y Ortuño J: Infección por el virus de la hepatitis C en enfermos tratados con hemodiálisis. *Med Clin (Barc.)* 95:81-83, 1990.
- Alfurayh O, Sobh M, Abdulrahman B, Ashraf M, Barri Y, Qunibi W y Taher S: Hepatitis C virus infection in chronic haemodialysis patients, a clinicopathologic study. *Nephrol Dial Transplant* 7:327-332, 1992.
- García-Valdecasas J, Bernal MC, Cerezo S, García F y Pereira BJG: Strategies to reduce the transmission of HCV infection in hemodialysis units. Proceedings of the 26th Annual Meeting of the American Society of Nephrology. Boston, MA, 347, 1993.
- Diengstang J: Non-A, non-B hepatitis. I. Recognition, epidemiology and clinical features. *Gastroenterology* 85:439-462, 1983.
- Bradley DW y Mayard JE: Biology and natural history of post-transfusion and enterically-transmitted non-A, non-B hepatitis. *Sem Liver Dis* 6:56-66, 1986.
- Statistical Applied Software 6.0. SAS Institute Inc. SAS/STAT User's Guide. Cary, NC, 1992.
- Kuo G, Choo QL, Alter HJ, Gitnick GL, Redeker AG, Purcell RH, Miyamura T, Dienstag JL, Alter MJ y Stevens CE: An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 244 (4902):362-364, 1989.
- Mondelli MU, Cristina G, Filice G, Rondanelli EG, Piazza V y Barbieri C: Anti-HCV positive patients in dialysis units? *Lancet* 335 (8709):224, 1990.
- Gurreri G, Picciotto A, Varagona G, Valle F, Sofia A y Fiorini F: Hepatitis C virus infection prevalence among chronic hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 7:725, 1992.
- Zeldis JB, Depner TA, Kuramoto IK, Gish RG y Holland PV: The prevalence of hepatitis C virus antibodies among hemodialysis patients. *Ann Intern Med* 112:958-960, 1990.
- Di Maggio A, Loperfido A, Montemurro NE, Godino F y Scatizzi A: Patterns of antibodies to hepatitis C virus in dialysis patients tested by a second-generation immunoblot assay. *Nephrol Dial Transplant* 7:724, 1992.
- Carrea F, Silva JG, Pires C y Oliveira C: Prevalence of non-A non-B hepatitis and anti-HCV antibodies in a Portuguese dialysis population. *Nephrol Dial Transplant* 7:913-916, 1992.
- Conway M, Catteral AP, Brown EA, Tibbs C, Gower PE, Curtis JR, Coleman JC y Murray-Lyon IM: Prevalence of antibodies to hepatitis C in dialysis patients and transplant recipients with possible routes of transmission. *Nephrol Dial Transplant* 7:1226-1229, 1992.
- García-Valdecasas J, Bernal MC, García F, Cerezo S, Umana WO, Albertini B y Kimmel PL: Epidemiology of hepatitis C virus infection in patients with renal disease. *J Am Soc Nephrol* 5:186-192, 1994.
- Fernández EJ, Ramón C, Rodríguez M, Benavides B, Del Castillo R y Hernández MC: Prevalencia de anticuerpos contra el virus de la hepatitis C en pacientes incluidos en programa de hemodiálisis periódica. *Nefrología* 11:258-262, 1991.
- Dobbelstein H: Immune system in uremia. *Nephron* 17:409-414, 1979.
- Goldblum SE y Reed WP: Host defenses and immunologic alterations associated with chronic hemodialysis. *Ann Intern Med* 93:597-613, 1980.
- Kay NE y Raji LR: Immune abnormalities in renal failure and hemodialysis. *Blood Purification* 4:120-129, 1986.
- Haag-Weber M y Hörl WH: Uremia and infection: Mechanism of impaired cellular host defense. *Nephron* 63:125-131, 1993.
- Rollino C, Roccatello D, Giachino O, Basolo B y Piccoli G: Hepatitis C virus infection and membranous glomerulonephritis. *Nephron* 59:319-320, 1991.
- Jhanson RJ, Gretch DR, Yamabe H, Hart J, Bacchi CE, Hartwell P, Couser WG, Corey L, Wener MH, Alpers CE y Willson R: Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 328:465-470, 1993.
- Misiani R, Bellavita P, Fenili D, Borelli G, Marchesi D, Massazza M, Vendramin G, Comotti B, Tanzi E, Scudeller G y Zanetti A: Hepatitis C virus infection in patients with essential mixed cryoglobulinemia. *Ann Intern Med* 117:573-577, 1992.
- Calabrese G, Vagelli G, Guaschino R y Gonella M: Transmission of anti-HCV within the household of haemodialysis patients. *Lancet* 338 (8780):1466, 1991.
- Teruel J, Pascual J, Mateos M, Liaño F, Marcén R y Ortuño J: Importance of nosocomial transmission of hepatitis C virus infection in haemodialysis patients: experience of two years of follow-up. *Nephrol Dial Transplant* 7:740, 1992.
- Caramelo C, Albalade M, Navas S, Ortiz A, Bermejillo T, Bartolomé J, Mosquera JR, Casado S y Carreño V: False negative diagnosis of virus C hepatitis in dialysis patients: value of aminotransferases as an orientative clue. XIIth International Congress of Nephrology, Madrid, 435, 1995.