

Editorial

Hepatitis virales

Desde la A hasta la E

Rafael Claudino Botero

Las hepatitis virales han acompañado al hombre por centurias ya que la ictericia epidémica descrita por Hipócrates representaba muy probablemente infecciones por el virus de la hepatitis A o E. La naturaleza infecciosa de las hepatitis virales fue reconocida muy tempranamente por el papa Zacarías, quien en una carta escrita a San Bonifacio (751 aD), sugería que algunas formas de ictericia eran infecciosas y que las personas con ictericia fueran aisladas de las personas sanas (1). Desde el siglo XVII en adelante, la literatura médica describe epidemias de hepatitis. En 1834, Stokes describe que la "ictericia catarral", es una infección del hígado y no una obstrucción biliar secundaria a taponos mucosos, como se pensaba en esa época (2). En 1912 Cockayne propuso el término de hepatitis infecciosa para la hepatitis A (3), y finalmente McCallum en 1947 acuñó los términos de hepatitis A y B de uso actual (4).

A finales de la década de los 40 y comienzos de la del 50, Krugman y colaboradores (5), en una serie de estudios clásicos, no solamente confirmaron los hallazgos iniciales en relación a la hepatitis A y B, sino que claramente establecieron las diferencias epidemiológicas básicas que "actualmente se reconocen para dichas enfermedades y sus respectivos agentes etiológicos. Así mismo utilizaron en forma experimental la primera vacuna conocida para la hepatitis B, y sentaron las bases para su ulterior desarrollo.

En 1973, Feinstone y colaboradores (6), visualizaron el agente etiológico de la infección por microscopía electrónica inmune, utilizando como

anticuerpos el suero de pacientes convalecientes de hepatitis A. Este importante descubrimiento estimuló una serie de estudios dirigidos a determinar las propiedades biofísicas y bioquímicas del virus, y también a diseñar otros métodos diagnósticos más prácticos para detectar el agente y sus anticuerpos de los cuales disponemos hoy en día (7).

Utilizando suero de pacientes con hemofilia multitransfundidos y de un aborigen australiano, Blumberg y colaboradores en 1965 (8), identificaron una precipitina por la técnica de la doble difusión en agar. Esto significaba que el suero hemofílico tenía anticuerpos dirigidos contra un antígeno presente en el suero del aborigen australiano, y de allí su nombre inicial de antígeno Australia (Au).

Estudios subsecuentes revelaron que este antígeno era muy raro en americanos donantes de sangre, pero relativamente común en ciertas poblaciones de pacientes como los leucémicos o con síndrome de Down. Sin embargo, su aparición en el suero de un laboratorista del Dr. Blumberg que tenía hepatitis viral, y la positividad del antígeno en otro paciente con síndrome de Down que también tenía hepatitis, llevó a establecer la clara relación hoy demostrada entre el Au y el virus de la hepatitis B. Eventualmente el Au fue designado HBsAg (antígeno superficial de la hepatitis B), y finalmente Prince y colaboradores en 1968 (9), sentaron las bases para el entendimiento de la estructura viral, y el desarrollo de las serologías específicas, de tan frecuente uso hoy en día (10).

La primera evidencia sólida de que existía una forma adicional de hepatitis, se tuvo cuando se realizó el estudio de las hepatitis postransfusionales en los Estados Unidos, que demostró que un porcentaje importante de las hepatitis postransfusionales no eran ocasionadas por el virus A o el B,

Dr. Rafael Claudino Botero: Jefe de la Sección de Gastroenterología y Hepatología, Departamento de Medicina Interna, Fundación Santa Fe de Bogotá, Profesor Asistente, Escuela Colombiana de Medicina.

Solicitud de separatas al Dr. Botero

cuando se dispuso de las pruebas para diagnóstico serológico (11). Alter y colaboradores en su genialidad le dieron el nombre de hepatitis NiANiB que tanta aceptación ha tenido en la comunidad científica, y que denotaba la absoluta ignorancia sobre el agente en estudio (12).

Múltiples estudios posteriores establecieron claramente las características epidemiológicas, historia natural y complicaciones de esta "nueva enfermedad" (13), y a pesar de múltiples comunicaciones de haber identificado un agente etiológico en el suero de pacientes infectados, cuando se hacían estudios con paneles de sueros conocidos, esto no podía confirmarse. La identificación del virus de la hepatitis NANB se convirtió en una obsesión que sólo, como veremos, recientemente ha podido resolverse.

Desde 1955, han sido descritas epidemias de una forma de hepatitis relacionada con contaminación fecal-oral y que serológicamente no corresponden a los virus A o B ya conocidos (14). La mayor epidemia ocurrió en Nueva Delhi y después en Nepal, Pakistán, Birmania, Indonesia, Rusia, varios países africanos y México (15). En 1983 fueron halladas por primera vez partículas virales que medían 27 a 30 nm en las materias de un paciente de Tashkent, Rusia y de un voluntario humano infectado con materias fecales de casos de esta área (16).

Este agente recientemente caracterizado se denomina virus de la hepatitis E (HEV), y la investigación se encuentra dirigida hacia el desarrollo de pruebas serológicas que permitan un diagnóstico rápido y simple (17).

Aunque Krugman y colaboradores (18), desde 1971 ya habían diseñado y experimentado con una vacuna para la hepatitis B derivada del suero, la época moderna de la inmunización en hepatitis se inicia desde 1976, cuando los estudios de Maupas y colaboradores (19), Gerety y colaboradores (20), Szmunn y colaboradores (21), Crosnier y colaboradores (22), realizan los primeros estudios con vacunas derivadas del suero humano purificadas e inactivadas utilizando sistemas de seguridad y eficacia demostrada repetidamente, y que abrieron el camino a las vacunas recombinantes,

hoy en día disponibles y de igual efectividad (23).

En 1977, Rizzetto y colaboradores en Turín (24), descubrieron un antígeno en tejido cuando investigaban biopsias de pacientes con hepatitis crónica por el virus B. Como no tenía homología con ningún virus conocido, y era diferente del B, lo denominaron virus Delta (HDV), iniciando los estudios epidemiológicos y clínicos que demostraron su distribución mundial y sus graves consecuencias (25).

En mayo de 1988, Houghton y colaboradores en los laboratorios Chiron, identificaron por primera vez un antígeno en los pacientes con hepatitis NANB postransfusional (26), abriendo el camino para una prueba serológica que permitiría prevenir un gran porcentaje de las hepatitis postransfusionales, y que como ya habían sugerido en 1974 Prince y colaboradores fue denominado virus de la hepatitis C (HCV) (27).

Para la última década del presente siglo, tenemos entonces cinco agentes virales bien caracterizados y que son responsables de la gran mayoría de los casos de hepatitis viral en el mundo.

Debe quedar claro que los virus de la hepatitis C y E explican actualmente la mayoría de los casos de hepatitis NANB, de acuerdo a la anterior denominación, y los pacientes con serologías negativas para estos cinco agentes, probablemente presentan infección con un agente o agentes, aún no identificados.

Revisaremos rápidamente las características generales más importantes de las infecciones con cada uno de estos agentes y los pondremos en el contexto colombiano con la información hoy en día disponible.

El virus de la hepatitis A (HAV), es un Picorna virus, que tiene como ácido nucleico un RNA relativamente simple y que como todos los de su familia tiene predilección por el sistema digestivo (28). Se contagia por vía fecal oral, ocasionando hepatitis aguda relativamente benigna, con un alto porcentaje de casos anictéricos, sin progresión a la cronicidad y con una mortalidad por debajo de 0.5% (29). Es frecuente en los países en vía de desarrollo en los niños y adultos jóvenes (30). Se previene mejorando las condiciones higiénicas de la pobla-

ción, aislando adecuadamente los casos agudos y a través del uso de inmunidad pasiva con inmunoglobulina corriente (31), o con inmunidad activa utilizando una vacuna que muy próximamente estará disponible (32).

El virus de la hepatitis B (HBV), pertenece a la familia de los virus Hepadna que tienen predilección por el hígado (33), y que también infectan a otros mamíferos y aves (34). Tiene un ácido nucleico de tipo DNA de doble cadena, en el cual están contenidos los genes que codifican los antígenos pre-S1, pre-S2, S, C y X de tanta utilidad clínica (35).

Uno de ellos el HBV prefiere al hombre ocasionándole infección aguda, autolimitada en la gran mayoría de los casos, con progresión a la cronicidad en 5-10% de los adultos, y en más de 90% de los recién nacidos hijos de madres infectadas (36).

Tiene una mortalidad del 0.5-1.0% y es causa importante de hepatitis crónica, cirrosis y hepatocarcinoma en el mundo (37, 38).

Se transmite por vía parenteral, perinatal y sexual, y es frecuente en personas que se encuentran en contacto con sangre y secreciones como personal de salud, homosexuales, prostitutas, drogadictos y pacientes en hemodiálisis.

Existen en el mundo más de 300 millones de personas portadoras principalmente en el Asia y el Africa, las cuales representan un gran riesgo para la población sana. Estos portadores tienen un riesgo de más de 200 veces de desarrollar un hepatocarcinoma si los comparamos con las personas no infectadas (39). Desde el punto de vista de morbimortalidad es mucho más importante que el SIDA, pero las autoridades de salud le han dado mucha menos importancia, e infortunadamente no han implementado adecuadamente las medidas disponibles de control.

Existen vacunas derivadas del plasma y sintéticas de probada seguridad y eficacia, que en asociación con la gammaglobulina hiperinmune, pero kirán erradicar esta temible enfermedad. Es la primera vacuna disponible que puede prevenir la infección por el virus B, D y el desarrollo de un tumor hepático (40). Infortunadamente los grupos de alto riesgo y principalmente el personal de salud, no han

entendido la importancia y el impacto que puede tener la vacunación, permaneciendo expuestos a este serio problema. Como consecuencia de esto, hemos presenciado la muerte de cinco personas relacionadas con la salud, que pudo haberse evitado con la inmunización oportuna. Las razones fundamentales que han llevado al personal de salud a no vacunarse, son fundamentalmente el temor infundado al SIDA, y el alto costo de la vacuna. El advenimiento de la vacuna recombinante no derivada del suero permitirá finalmente la inmunización de todo el personal de salud con inmensos beneficios para la comunidad. Esperamos que las autoridades de salud de nuestro país adquieran en forma masiva este tipo de vacuna a través de organizaciones como la OMS, que ha prometido rebajar el costo significativamente. En síntesis, no existe ninguna razón, lo suficientemente válida hoy en día para que el personal de salud no se inmunice contra la hepatitis B.

La hepatitis D es ocasionada por un virus derivado de las plantas y que tiene un RNA de cadena simple (41). Es considerado un virus defectuoso, ya que requiere de un virus ayudador, en este caso el HBV que le sintetiza el HBsAg indispensable para que pueda penetrar a la célula hepática e infectarla. Por lo tanto el HDV no puede estar solo, siempre requiere del HBV para ser patógeno (42). Se transmite como el HBV por vía parenteral y transfusiones de sangre y por esta razón es frecuente en los drogadictos.

Es muy frecuente en el sur de Italia, en donde se descubrió y existen áreas epidémicas en Venezuela y ciertas regiones de nuestro país.

Hay dos formas de presentación de la enfermedad: coinfección, esto es infección simultánea de un paciente con el HBV y el HDV, ocasionando dos picos clínicos con pocos días de diferencia los cuales representan la infección con cada uno de estos agentes (43). La mayoría de los pacientes con esta modalidad clínica se recuperan por completo, pero infortunadamente, la coinfección ocasiona hepatitis fulminante con alta mortalidad, en un porcentaje mucho mayor que cuando ocurre infección B solamente (44).

La otra forma es la sobreinfección, en la cual un

portador sano del HBV se infecta con el HDV ocasionándole descompensación de su enfermedad, falla hepática aguda, hepatitis crónica activa, cirrosis y muerte en la gran mayoría de los pacientes (45). En esencia, el HDV es importante porque hace más grave la infección por HBV.

Afortunadamente la vacuna de la hepatitis B protege también contra infecciones por el D, evitando sus funestas consecuencias.

El virus de la hepatitis C (HCV), parece ser responsable de más de 85% de los casos de hepatitis postransfusional en el mundo, y aunque su estructura completa no se ha identificado, ni se ha podido visualizar su morfología los estudios elegantes e ingeniosos de Houghton y colaboradores (26), sugieren que tiene un ácido nucleico linear de cadena simple, con 10.000 nucleótidos aproximadamente y con características y propiedades similares a los flavivirus o arbovirus tipo B. Es interesante anotar que estos investigadores estudiaron el suero de pacientes infectados en forma postransfusional, lo inyectaron en primates que desarrollaron la enfermedad y después de concentrarlo, extrajeron los ácidos nucleicos existentes, entre los cuales presumiblemente debería estar el del agente etiológico investigado.

Utilizando transcriptasa reversa obtuvieron un banco de datos de DNA después de amplificarlo en un fago y posteriormente insertarlo en el genoma del *E. Coli*. Esta bacteria produjo millones de antígenos contra los cuales se confrontó el suero de un paciente infectado, y que presumiblemente debería tener anticuerpos específicos. Después de cinco años de investigación y de estudiar más de un millón de antígenos, se encontró uno que reaccionaba con el suero del paciente y del cual se deriva la serología actualmente disponible, y que por primera vez ha permitido en muchos años, evaluar la sangre que se va a transfundir y detectar el agente más importante de la hepatitis postransfusional.

Este agente se transmite también por vía percutánea y parece existir una forma esporádica sin relación con la sangre (46). Tiene un período de incubación intermedio entre la A y la B y el aspecto más preocupante es que más de 50% de los pa-

cientes infectados se convierten en portadores crónicos y la mayoría desarrollan con el tiempo, a pesar de no tener ningún síntoma, una hepatitis crónica activa. Cerca de un 20% de estos pacientes, desarrollan finalmente cirrosis hepática con todas sus consecuencias (47). Lo anterior indica que el HCV es una causa importante de cirrosis en el mundo.

Los estudios serológicos iniciales en el mundo muestran positividad para el anti-HCV en 10 a 29% de los casos de hepatitis aguda, 67 a 85% de los casos de hepatitis crónica, 0.2 a 1.5% de los donantes de sangre, 70% de los drogadictos, 70% de los hemofílicos, 20% de los pacientes en hemodiálisis y 80% de los homosexuales (48-54). Esto indica un riesgo importante en las personas que están en contacto con la sangre de una u otra forma. Así mismo se ha encontrado que un alto porcentaje de los pacientes con hepatocarcinoma no relacionado con el HBV tienen marcadores serológicos positivos para el HCV (55).

El desarrollo de otras técnicas diagnósticas más sensibles y la identificación de la partícula viral en forma completa, permitirán interpretar adecuadamente estos resultados preliminares.

Por primera vez en medicina se identifica el genoma de un agente infeccioso, antes de conocer la estructura y morfología.

La hepatitis E es causada por un virus que pertenece a la familia de los calicivirus, tiene un RNA de cadena simple, un tamaño de 32 a 34 nm y una morfología esférica con partículas e indentaciones en la superficie. La partícula, como se mencionó ya ha sido visualizada en las materias fecales de pacientes infectados (16). Tiene un período de incubación promedio de seis semanas y las epidemias, sin excepción, han sido claramente relacionadas con la contaminación del agua en sitios con condiciones higiénicas deficientes o inundaciones (15). Ocasiona una enfermedad autolimitada principalmente en la población joven, y no progresa a la cronicidad ni a la cirrosis.

Por razones desconocidas ocasiona hepatitis muy severas con 10 a 20% de mortalidad en las mujeres embarazadas (56). Aún no existe vacuna, pero parece que la gamalobulina derivada de pa-

Tabla 1. Características más importantes de la infección por virus A, B, C, D y E.

	Tipo A	Tipo B	Tipo C	Tipo D	Tipo E
TRANSMISIÓN	Fecal-oral	Percutáneo y perinatal venéreo	Percutáneo	Percutáneo	Fecal-oral
PERÍODO DE INCUBACIÓN (DÍAS)	20 a 37	60 a 110	35 a 70	Igual a la B	10 a 56
PREVALENCIA	Niños y adultos jóvenes	2 a 5% población general	80 a 90% hepatitis postransfusión	Zonas epidémicas en Colombia	Epidemias en Asia
CURSO DE LA ENFERMEDAD	No progresa a la cronicidad	Cronicidad en 1 a 10%	Cronicidad del 50%	Cronicidad común en la sobreinfección	No progresa a la cronicidad
PREVENCIÓN	Gammaglobulina y vacuna	Gammaglobulina y vacuna	Precaución con sangre	Vacuna de la hepatitis B	Agua sin contaminación
MORTALIDAD	0.2%	0.3% a 1.5%	Probablemente mayor que la B	2 a 20%	1 a 2% y 10 a 15% en embarazadas
CÁNCER HEPÁTICO	No	Sí	Sí	No	No
EN COLOMBIA	Sí	Sí	Sí	Sí	Desconocido

cientes en convalecencia, es efectiva para prevenir esta infección (ver artículo de revisión, en este mismo número) (57).

Con este panorama en mente, ¿qué podemos decir de la importancia de las hepatitis virales en Colombia?

Indudablemente que la causa más frecuente de hepatitis aguda en la población infantil y adulta joven, es la hepatitis A. Es una enfermedad endémica que ocurre durante todo el año principalmente después del invierno y las vacaciones. Es tan frecuente, que anualmente observamos dos a tres pacientes con hepatitis fulminante con gran mortalidad. Por lo anterior, es raro que un paciente de más de 40 años en Colombia, con una hepatitis aguda, tenga hepatitis de tipo A, ya que generalmente la ha tenido en la infancia.

La hepatitis B se observa en Colombia en grupos de alto riesgo como los mencionados, y es rara en personas sin ningún antecedente epidemiológico que implique contacto sexual o transmisión percutánea. Un estudio recientemente realizado en el Hospital Materno Infantil y la Fundación Santa Fe de Bogotá en 1.000 mujeres en el momento del parto, sólo encontró una madre positiva para el HBsAg, y baja frecuencia de otros marcadores (56).

Esto sugiere que la transmisión perinatal no es un mecanismo importante de transmisión del HBV en Bogotá.

De acuerdo con la encuesta nacional de salud en 1977, 4.7% de la población estudiada en tres zonas geográficas del país, es portadora del HBV (58).

Se han descrito poblaciones con altas frecuencias de portadores y también se ha demostrado el riesgo del personal de salud, homosexuales y pacientes en hemodiálisis (59-62).

Existen zonas epidémicas para la hepatitis B y D tales como las poblaciones de la Sierra Nevada de Santa Marta, Vaupés, Amazonas, Urabá, Nariño (61-66).

En un estudio próximo a publicarse, encontramos en tres ciudades del país, 54 pacientes con hepatitis crónica.

De éstos, 20% tenía hepatitis B, 10% sobreinfección delta y 24% hepatitis C demostrada por claros antecedentes de transfusiones de sangre y positividad confirmada para el anti-HCV (38).

Es importante aclarar, que en Colombia la epidemiología de las hepatitis B y D difiere sustancialmente dependiendo del área estudiada, puede ser muy alta en las zonas epidémicas mencionadas, o muy baja en las grandes ciudades. Este hecho debe tenerse en cuenta al analizar la epidemiología de estas enfermedades en nuestro medio.

La hepatitis E no ha sido descrita aún en Colombia.

El futuro parece optimista con el reciente adve-

nimignto del Interferon Alfa como tratamiento específico para los pacientes con hepatitis B y C crónicas activas. Se ha observado respuesta favorable en 30-50% de los pacientes tratados (67,68). Futuros estudios confirmarán esta importante observación.

Actualmente la conciencia del problema en los grupos de alto riesgo, parece estar mejorando y es satisfactorio observar un grupo cada vez mayor de personal de salud que desea inmunizarse. El Instituto Nacional de Salud se encuentra actualmente inmunizando a la población infantil de la Sierra Nevada de Santa Marta y de otras regiones epidémicas. Este tipo de programa permitirá erradicar de nuestro país en un futuro no muy lejano, esta temible enfermedad.

En la Tabla 1 se observan las características más importantes de las hepatitis mencionadas.

REFERENCIAS

1. Gerety RJ. Hepatitis A. *Academic Press, Inc* ; 1984: 1 -8.
2. Stokes, H. Catarral Jaundice. *London Med Surg* 1834; 5: 197- 205.
3. Cockayne EA, Infectious Hepatitis. *Q J Med* 1912; 6:1-29.
4. MacCallum FO, Bradley WH. Transmission of infective hepatitis to human volunteers. *Lancet* 1944; 2: 228.
5. Krugman S, Wad R, Giles JP. The natural history of infectious hepatitis. *Am J Med* 1962; 32: 717.
6. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH. Hepatitis A: Detection by immune electron microscopy of a virus-like antigen associated with acute illness. *Science* 1973; 182:1026.
7. Duermeyer W, Van Der Veen J. Specific detection of IgM antibodies by ELISA applied in hepatitis A. *Lancet* 1978; 2: 684.
8. Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S.A. "New" antigen in leukemia sera. *JAMA* 1965; 191: 541.
9. Prince AM. An antigen detected in the blood during the incubation period of serum hepatitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1968; 60: 814.
10. Gerety RJ (editor). Hepatitis B. *Academic Press, Inc* 1985:1-71.
11. Prince AM, Grady GF, Hazzi C, et al. Long incubation posttransfusion hepatitis without serological evidence of exposure to hepatitis B virus. *Lancet* 1974; 2: 241.
12. Alter HJ, et al. Evidence for a transmissible agent in non-A, non B hepatitis. *Lancet* 1978; 1: 459.
13. Gerety RJ (editor). Non-A, Non-B Hepatitis. *Academic Press* 1981:1-293.
14. Viswanathan R. Infectious hepatitis in Delhi (1955-1956): A critical study; epidemiology. *Indian J Med Res* 1957; 45 (Suppl):1- 30.
15. Krawczynski K. Epidemic Non-A, Non-B Hepatitis. Proceedings of The American Association for the Study of Liver Diseases, Chicago, Illinois, October 28-29, 1989:151-169.
16. Balayan MS, Andzhaparidze AG, Savinskaya SS, et al. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal oral route. *Intervirology* 1983; 20: 23-31.
17. Krawczynski K, Bradley DW. Enterically transmitted non-A, non-B hepatitis; identification of virus associated antigen in experimentally infected cynomolgus macaques. *J. Infect Dis* 1989; 159: 1042-1047.
18. Krugman S, et al. Viral hepatitis, type B (MS-2 strain): Studies on active immunization. *JAMA* 1971; 122:432.
19. Maupas P, Goudeau A, Dubois F, Coursaget P, Barin F (eds 1981). Potency and efficacy of HB vaccine applied to a high risk population, a five year study. Hepatitis B vaccine-Inserm Symposium No. 18 Maupa P, and Guesry P. Elsevier/North Holland *Biomedical Press*.
20. Gerety RJ, Tabor E, Purcell RH, Tyeryar FJ. Summary of an international workshop on Hepatitis B vaccines. *J.Infect.Dis.* 1979; 140: 642-648.
21. Szmunness W, et al. Hepatitis B vaccine: Demonstration of efficacy in a controlled clinical trial in a high-risk population in the United States. *N Engl J Med* 1980; 303: 834.
22. Crosnier J, Jungers P, Courouce Am, et al. Randomised placebo-controlled trial of Hepatitis B surface antigen vaccine in French haemodialysis units. *Lancet* 1981; 1:455-59.
23. Scheiermann N, Geseman M, Maurer C, Just M, Berger R. Persistence of antibodies after immunization with a recombinant yeast-derived hepatitis B vaccine following two different schedules. *Vaccine* 1990 (suppl); 8: s44-s46.
24. Rizzeto M, et al. Immunofluorescence detection of a new antigen-antibody system (delta/anti-delta) associated with hepatitis B virus in liver and serum of HBsAg carriers. *Gut* 1977; 18: 997.
25. Bonino F, Smedile A. Delta Agent (TypeD Hepatitis) *Seminars in Liver Disease* 1986; 6 No. 1: 28-33.
26. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359-62.
27. Kuo G, Choo QL, Alter HJ, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989; 244:362-4.
28. Ticehurst JR. Hepatitis A Virus: Clones, Cultures, and Vaccines. *Seminars in Liver Disease* 1989; 6 No. 1:46-55.
29. Mijch AM, Gust IA. Clinical, Serologic, and Epidemiologic Aspects of Hepatitis A Virus Infection. *Seminars in Liver Disease* 1986; 6No. 1:42-45.
30. Nath H, et al. Prevalence of antibodies to Hepatitis A virus in blood donors of 13 western Hemisphere countries and territories. *Bull. PAHO* 1980; 14 (2):135-38.
31. Drake ME, Ming C. Gamma globulin in epidemic hepatitis: Comparative value of two dosage levels apparently near the minimal effective level. *JAMA* 1954; 155:1302.
32. Provost PJ, Buynack EB, McLean AA, et al. Progress toward a live attenuated human hepatitis A virus vaccine. In: Vyas GN, Dienstag JL, Hoofnagle JH (Eds): *Viral Hepatitis and Liver Disease*. Orlando, FL, Grune & Stratton; 1984:467-475.
33. Summers J. The recently described animal virus models for human hepatitis B virus. *Hepatology* 1981; 1:179-183.
34. Mason WS, Seal G, Summers J. Virus of Pekin ducks with structural and biological relatedness to human hepatitis B virus. *J Virol* 1980; 36:829-836.
35. Summers J, O'Connell A, Millman I. Genome of hepatitis B virus: Restriction enzyme cleavage and structure of DNA extracted from Dane particles. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 4597-4601.
36. Hoofnagle JH, Schafer DF. Serologic Markers of Hepatitis B Virus Infection. *Seminars in Liver Disease*. Feb 1986; 6 (1):1-10.
37. Seeff LB, Koff RS. Evolving concepts of the clinical and serologic consequences of hepatitis B virus infection. *Seminars in Liver Diseases* Feb 1986; 6(1): 11-22.
38. Botero RC, Correa G, Arango C, De Lima E, Cavanzo FJ, Sierra F, Argüello M. Hepatitis crónica en Colombia. *Acta Med Colomb* 1990; 15 (supl.):241 (Res. 97).
39. Beasley RP, Hwang LY. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. In: Vyas GN, Dienstag JL, Hoofnagle JH (Eds). *Viral hepatitis and liver disease*. Orlando, FL, Grune & Stratton, 1984.
40. Stevens CE, Taylor PE. Hepatitis B Vaccine: Issues, Recommendations

- tions, and new Developments. Seminars in Liver Disease. Feb 1986; **6** (1): 23-27.
41. **Murant AF, Mayo MA.** Satellites of plant viruses. *Am Rev Phytopathol* 1982; **20**:49-70.
 42. **Bonino F, Hoyer BH, Ford E, et al.** The Delta agent: HBsAg particles with Delta antigen and RNA in the serum of an HBV carrier. *Hepatology* 1981; **1**:127-131.
 43. **Smedile E, Farci P, Verme G, et al.** Influence of delta infection on severity of hepatitis B. *Lancet* 1982; **2**:9-15.
 44. **Govindarajan S, Chin KP, Redeker AG, Peters RL.** Fulminant B viral hepatitis: Role of delta agent. *Gastroenterology* 1984; **86**:1417-1420.
 45. **Rizzetto M, Verme G, Recchia S, et al.** Chronic hepatitis in carriers of hepatitis B surface antigen, with intrahepatic expression of delta antigen. An active and progressive disease unresponsive to immunosuppressive treatment. *Ann Intern Med* 1983; **98**:437-441.
 46. **Dienstag JL.** Non-A, Non-B Hepatitis: Hepatitis C. Proceedings of the postgraduate course: New Frontiers in Liver Disease. *The American Association for the Study of Liver Diseases*, Oct 28-29, 1989; 144-150.
 47. **Bruix J, Barrera J, Cavert X, et al.** Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Spanish patients with hepatocellular carcinoma and hepatic cirrhosis. *Lancet* 1989; **2**:1004-6.
 48. **Bortolotti F, Diodati G, Tagger A, et al.** The significance of antibody to hepatitis C virus in community-acquired acute and chronic NANB hepatitis. *The 1990 international symposium on viral hepatitis and liver disease. Abstract* 425:157.
 49. **Hopf U, Moller B, Kuther D, et al.** Longterm follow-up of posttransfusion and sporadic chronic hepatitis non-A, non-B and frequency of circulating antibodies to hepatitis C virus (HCV). *J Hepatol* 1989; **10**:69-76.
 50. **Esteban R.** Epidemiology of hepatitis C virus infection. The 1990 international symposium on viral hepatitis and liver disease. *Abstract* 434:160.
 51. **Bortolotti F, Taager A, Crivellaro C, et al.** High circulation of hepatitis C virus in drug abusers with acute viral hepatitis: Epidemiological and clinical implications. The 1990 international symposium on viral hepatitis and liver disease. *Abstract* 415:154.
 52. **Schramm W, Roggendorf M, Rommel F, et al.** Prevalence of antibodies of hepatitis C virus (HCV) in hemophiliacs. *Blood* 1989; **59**:390-2.
 53. **Niu MT, Alter MJ, Kristensen C, Hadler SC.** Hepatitis C virus outbreak in a hemodialysis unit. The 1990 international symposium on viral hepatitis and liver disease. *Abstract* 399:150.
 54. **Hanson M, Polesky HF.** Prevalence of Anti-HCV in male homosexuals. The 1990 international symposium on viral hepatitis and liver disease. *Abstract* 418:155.
 55. **Colombo M, Kuo G, Choo QL, et al.** Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma. *Lancet* 1989; **2**:1006-8.
 56. **Botero RC, Villegas de M N, Sierra F, et al.** Frecuencia de la infección por el virus de la hepatitis B (HBV) y/o el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) en maternas en 2 hospitales de Bogotá. *Acta Med Colomb* 1990; **15** (Supl.): 240 (Res. 96).
 57. **Sierra F.** Hepatitis E. *Acta Med Colomb* 1990; **15**:303-308.
 58. **Juliao O.** Prevalencia del HBsAg en Colombia por grupos etarios, en 3 zonas geográficas. 1980 (En publicación).
 59. **Botero RC, Correa G, y cols.** Prevalencia de infección por el virus de la hepatitis B en una comunidad rural. *Décimas Jornadas Latinoamericanas de Hepatología*, Medellín, Colombia. Octubre 1987.
 60. **Jaramillo C, y cols.** El Síndrome de la Hepatitis. *En Fundamentos de Medicina: Corporación para Investigaciones biológicas*. Medellín, 1990; **57**:430-452.
 61. **Buitrago B, Hadler SC, Popper H, et al.** Epidemiologic aspects of Santa Marta Hepatitis over a 40-year period. *Hepatology* 1986; **6**:1292-96.
 62. **Villegas de M N, Botero RC.** Frecuencia de la infección por el virus de la hepatitis B en homosexuales seropositivos y seronegativos para el virus de la hepatitis B. *Acta Med Colomb* 1987; **12**:133.
 63. **Buitrago B, Boshell J, Martínez M.** Prevalencia de marcadores de hepatitis B en la población de Los Cerros y Mitú, Vaupés. 1987. (En publicación).
 64. **Buitrago B, Boshell J, Martínez M.** Prevalencia de marcadores de hepatitis B en indígenas de San Rafael de Carapaná, Amazonas, 1987 (En publicación).
 65. **Arboleda M, Jaramillo C, y cols.** Epidemia de Hepatitis B en Urabá, Chocó. *Décimas Jornadas Latinoamericanas de Hepatología*, Medellín, Colombia. Octubre 1987.
 66. **Espinal C.** Frecuencia de Marcadores de hepatitis B en trabajadores de una plantación en Imbibi, Nariño. 1987 (En publicación).
 67. **Perrillo RP, Schiff ER, Davis G, et al.** A randomized, controlled trial of Interferon Alfa-2b alone and after prednisone with drawal for the treatment of chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 1990; **323**: 295-301.
 68. **Davis G, Balart LA, Schiff ER, et al.** Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alfa. *N Engl J Med* 1989; **321**:1501-1506.