

Respuesta del virus de la hepatitis C y del virus de la hepatitis G al tratamiento con interferon alfa-2b recombinante

D. Infante Pina, M. Pich Rosal, S. Sauleda Oliveras¹, R. Tormo Carnice, J.I. Esteban Mur¹, R. Esteban Mur¹

Resumen. Objetivo: Evaluar la respuesta al tratamiento con interferón-alfa 2b recombinante (IFN) del virus de la hepatitis C (VHC) y del virus de la hepatitis G (VHG).

Pacientes-Método: 15 pacientes, intervalo 6-16 años, con hepatitis crónica por VHC y 4 de ellos coinfectados por VHG fueron tratados con IFN con una dosis de 3 MU / tres días por semana durante 6 meses y 12 meses en los respondedores. Se determinó el RNA-VHC, Ac anti VHC, copias de genoma viral VHC (expresado como 1.000 equivalentes de copias de genoma VHC = 1 keq), RNA- VHG y los anti-E2 del VHG pre tratamiento - 3-6 meses y a los 12-24 meses en los respondedores.

Resultados: cuatro VHC (27%), con una carga viral baja (media 36 keq/ml) presentaron una respuesta al tratamiento y 2 (13%) genotipos 1b y 3 Simmonds respuesta mantenida. Los 4 niños con viremia VHG fueron respondedores, continuando indetectable el RNA a los 12 meses, sin seroconversión a anti-E₂. A los 12 meses post-IFN, el RNA-VHG volvió a aparecer en tres y en 1 se observó respuesta mantenida sin seroconversión a anti - E₂.

Conclusión: los actuales resultados hacen cuestionar el tratamiento sistemático de hepatitis crónica VHC, y podría ser reservado a genotipos diferentes del 1b y con bajos niveles de carga genómica. El VHG es sensible al tratamiento con IFN, aunque sin respuesta mantenida. La respuesta del VHG al IFN es distinta e independiente del VHC y su coinfección no interfiere el curso de la HVC.

An Esp Pediatr 1998;49:609-614.

Palabras clave: Tratamiento con interferon; Hepatitis virus C; Hepatitis virus G; Infancia.

RESPONSE OF HEPATITIS C VIRUS AND HEPATITIS G VIRUS TO INTERFERON THERAPY

Abstract. Objective: The efficacy of recombinant alfa-2b interferon therapy in C-virus (HCV) and G-virus (HGV) in children with chronic hepatitis C was evaluated.

Patients and methods: Fifteen patients, between 6 and 16 years of age and positive for HCV of which four were also infected with HGV, were treated with interferon (3M three times a week for 6 months). The responders were treated for 12 months. HCV RNA, antibodies to HCV, HVC viral genome (expressed as 1000 copy equivalents of HCV genome = 1 keq), HGV RNA (RT/PCR, 5' NCR-NS5), and E2-HGV antibodies were determined before treatment and at 3 and 6 months in all patients and at 12-24 months in the responders.

Unidad de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Servicio de Hepatología. Departamento de Medicina Interna. Hospital Universitario "Vall d'Hebrón". Barcelona

Correspondencia: Dr Dámaso Infante Pina.

c/ Ronda General Mitre n° 93,3°,2°. 08022 Barcelona

Recibido: Marzo 1998

Aceptado: Junio 1998

Results: Four HCV patients (27%) with low viral load (mean 36 keq/ml) showed good results after interferon treatment and two of them (13%) with genotypes 1b and 3 according to Simmond's classification showed a maintained response. The four HGV children also showed the same good results and the RNA was negative without sero-conversion to anti-E₂ after 12 months of interferon treatment. In the post-interferon treatment period, the HGV RNA appeared again in the serum in 3 of the 4 children. In the child with a maintained response, serum conversion to anti-E₂ was not detected.

Conclusions: 1) The current results, with only 13% of the patients reaching a sustained response, question the systematic treatment of all children affected with hepatitis C virus. Since the cost-benefit ratio is not yielding the expected results, such therapy may be reserved for patients with genotype other than 1b and a low level of viral genome. 2) HGV is sensitive to treatment with interferon, although the infection frequently appears again once the treatment is over.

Key words: Interferon treatment. Hepatitis C virus. Hepatitis G virus. Infancy.

El virus de la hepatitis C (VHC), hasta hace poco tiempo conocido como virus no A no B⁽¹⁾, es el responsable actualmente de la mayoría de hepatitis crónicas de la infancia^(2,3). Desde hace una década se está ensayando en el adulto el tratamiento con interferón Alfa-2b recombinante (IFN), para frenar la evolución a la cirrosis y posible hepatocarcinoma, con diferentes resultados, existiendo poca experiencia en la época pediátrica⁽⁴⁻⁶⁾. El genoma del VHC muestra gran variabilidad y se han descrito, hasta el momento actual 6 genotipos distintos y varios subtipos, siendo al parecer el factor que influiría, junto al nivel de viremia, de una manera determinante en la respuesta al tratamiento^(7,8).

Recientemente han sido identificados dos nuevos virus, con posible participación hepática; el virus de la hepatitis G (VHG)⁽⁹⁾ y el virus de la hepatitis GB-C (VHGB-C)⁽¹⁰⁾. Ambos virus presentan un 95% de secuencia genómica similar siendo considerados cepas diferentes de un mismo virus, habiendo sido aceptada su denominación con la siglas VHG. La prevalencia de exposición en la población pediátrica sana, según nuestros estudios, es del 6% con unos índices de viremia del 3%. La prevalencia en afecciones hepáticas se acerca al 60% en los adultos⁽¹¹⁾ y al 42% en la infancia⁽¹²⁾ y su poder patogénico hepático no ha sido por el momento suficientemente delucidado. La coinfección con el VHC es frecuente, aunque no influye en la evolución del cuadro clínico de la hepatopatía crónica.

Tabla I Datos de los pacientes con coinfección VHC/VHG

Edad/sexo	Contagio	Genotipo	RNA/VHG+ genoma VHC (keq/ml)*. Inicio trt ^o	Copias de	Respuesta mantenida	Respuesta
6/H	Vertical	1b	RNA-	842	No	
12/V	Trasfusional 4 a	1b	RNA-	105	No	
16/V	Trasfusional 5m	1b	RNA-	773	No	
11/V	Vertical	1b	RNA+	21	No	
9/H	Vertical	1b	RNA-	28	Si	No
12/V	Vertical	1b	RNA+	180	No	
12/V	Desconocido	3	RNA+	2	Si	No
7/H	Vertical	1b	RNA-	386	No	
9/V	Trasfusional 2a	1b	RNA-	44	No	
16/V	A.V.D.P.	1a	RNA+	550	No	
13/V	Vertical	1b	RNA-	1621	No	
12/H	Trasfusional 4a	4	RNA-	1,7	No	
12/H	Trasfusional RN	1b	RNA-	1025	No	
12/V	Vertical	No tipificado	RNA-	3,3	Si	No
13/H	Trasfusional 1a	1b	RNA-	109	Si	Si

*(Keq= 1.000 equivalente de copias de genoma).

En el presente trabajo se ha evaluado la eficacia del tratamiento con interferon alfa 2b recombinante sobre el VHC y el VHG, valorando los posibles factores predictivos de respuesta.

Pacientes y método

Pacientes

A 15 pacientes, diez varones, con una edad media de 10 años (intervalo 6-16 años), afectados de hepatitis crónica por VHC se les incluyó en un protocolo prospectivo, abierto y unicentrico de tratamiento con interferon alfa 2b recombinante (INTRON A, Schering-Plough) a dosis de 3 MU tres veces por semana durante 6 meses. En los pacientes respondedores, normalización de transaminasas y desaparición del RNA viral del suero, dicho tratamiento se prolongó hasta los 12 meses. La etiología de la infección fue vertical en 7, trasfusional en 6, por A.V.D.P en 1 y desconocida en 1 caso. Todos ellos cumplían los requisitos necesarios para ser incluidos en dicho tratamiento⁽¹³⁾; transaminasas elevadas durante más de 1 año (en nuestros pacientes una media de 8 años), Anticuerpos anti-VHC +, PCR-RNA viral +, y constancia histológica de hepatitis crónica. En todos ellos habían sido excluidas otras patologías que pudieran ocasionar daño hepático, y descartado la posible coinfección por VHB, así como enfermedades sistémicas acompañantes (enfermedades hematológicas, nefróticas en diálisis, virus de la inmunodeficiencia humana). Los anticuerpos anti organos (antinucler, anti-mitocondria, antimusculo liso, antireticulina y anti LKM) fueron todos previamente negativos.

El diagnóstico y control evolutivo de respuesta, se efectuó mediante la determinación basal, a los 3 y 6 meses, y a los 12 y 24 meses en los respondedores, de: transaminasas, anticuer-

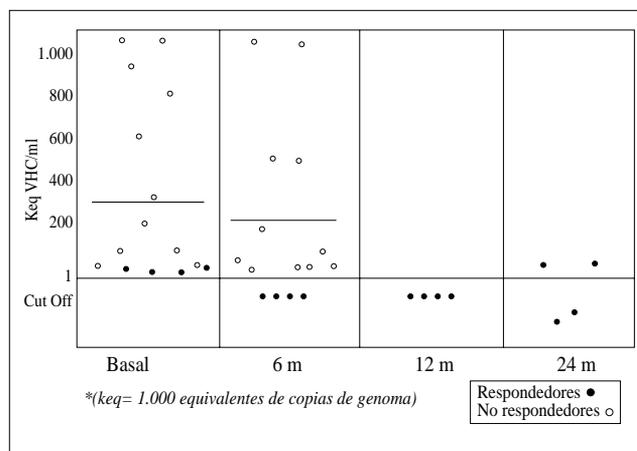


Figura 1. Copias de genomas de VHC (expertos en Keq/ml suero)*.

pos anti-VHC, RNA viral cualitativa y cuantitativa. El genotipo y serotipo, clasificación de Simmond, fue determinado antes de iniciar la terapia. Se consideró respuesta completa una normalización de la ALT y una negativización del RNA genómico, a los 6 meses del tratamiento y respuesta mantenida si dichos marcadores continuaban negativos a los 12 meses de suspendida la terapia.

El estudio fue aprobado por el comité de ética del hospital y se constató el permiso de tratamiento mediante consentimiento escrito de los padres.

En todos estos pacientes se determinó también el RNA-VHG y los anticuerpos anti-E2, antes de iniciar el tratamiento con IFN. En los pacientes con viremia positiva, dichas determinaciones

Tabla III Evolución de RNA-VHG y de los Anti-E2 durante el tratamiento con interferón

Caso	3 m. IFN			6 m. IFN			12 m. IFN			12 m. post-IFN		
	VHC	VHG	Anti E2	VHC	VHG	Anti E2	VHC	VHG	Anti E2	VHC	VHG	Anti E2
1	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
2	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-
3	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-

se repitieron a los 3-6-12 y a los 12 meses de finalizar el tratamiento con IFN.

Metodo

Las determinaciones bioquímicas fueron:

-Transaminasas (autoanalizador standar).

-Anticuerpos anti-VHC (ELISA, confirmación RIBA).

-RNA viral cualitativa (PCR Amplicor Roche) y cuantitativa (PCR Monitor Roche) del VHC expresado como número de equivalentes de copias de genoma (1keq = 10^3 eq / ml de suero), considerandose el "cut off" en 1keq.

-El genotipo y serotipo del VHC, clasificación de Simmonds (Southern Blot, Innolipa II- Innogenetics, Serotipo Murex.)

-El RNA del virus G fue determinado por retrotranscripción y reacción en cadena de la polimerasa (RT/PCR), (Boehringer Mannheim). Se consideraron positivas las muestras reactivas frente a las dos regiones del virus analizadas, o las muestras repetidamente positivas para la región 5'NC, aunque negativas para NS5.

-Los anticuerpos anti-E2 se determinaron a partir de de suero mediante el test precomercial PLATE HGenV de Boehringer Mannheim.

Resultados

De los 15 pacientes tratados 4 (27%), fueron inicialmente respondedores, por lo cual el tratamiento fue prolongado hasta 12 meses. Los pacientes pertenecían según la clasificación de Simmonds⁽¹⁴⁾, 11 al genotipo 1b (74%), uno al genotipo 3a, uno al genotipo 3, y uno al genotipo 4. En un caso no fue posible la tipificación. De los 4 pacientes respondedores 2 (13%) presentaron respuesta mantenida con transaminasas normales y ausencia del RNA viral, a los 12 meses de finalizado el tratamiento. La media de RNA viral de todos lo pacientes fue de 379 keq al inicio del tratamiento versus 282 keq a los 6 meses, sin diferencia significativa. La media de RNA viral de los pacientes respondedores fue de 36 keq ($p < 0.001$ con respecto a la media del grupo). Los datos generales de los pacientes estan expresados en la Tabla I. En la figura 1 se muestra la evolución de los niveles de copias de genoma RNA viral. Solamente uno de los pacientes incluidos en el protocolo, a su vez no respondedor, debió de ser excluido por presentar leucopenia, el resto presentaron al inicio del tratamiento sintomas leves consistentes en fatiga, astenia, fiebre, cefaleas, mialgias, en las primeras horas ó días del que se solucionaron con paracetamol.

Con respecto al VHG la viremia fue demostrada en 4 niños (27%) afectos de VHC, siendo 2 casos (5'UTR + / NS5+), y otros 2 (5'UTR + / NS5 -). Los cuatro niños con infección activa negativizaron su RNA viral a los tres meses del tratamiento. A los 6 y 12 meses la viremia seguía indetectable y ninguno había seroconvertido a anti-E2. En el seguimiento tras finalizar el tratamiento con IFN, el RNA viral volvió a aparecer en 3 de los 4 niños, uno de ellos con respuesta completa para el VHC En el paciente con respuesta mantenida del VHG, no se detecto seroconversión anticuerpor anti-E2. Estos datos son expuestos en la Tabla II. La correlación de los infectados por VHG con el genotipo y con los niveles de viremia del VHC son referidos en la Tabla I.

Discusión

La hepatitis C habitualmente presenta un curso asintomático a lo largo de la infancia y adolescencia, con ligera elevación de los enzimas hepáticos de manera fluctuante y una alteración de la histología hepática con lesiones leves o moderadas de hepatitis crónica activa o persistentes, no apreciandose lesiones de fibrosis importante. La remisión bioquímica espontanea y la finalización de la replicación viral son excepcionales y pero una progresión a una lesión más importante hepática en la época adulta podría ser esperada, dado las lesiones histológicas importantes vistas en los adultos, y que muy probablemente hayan tenido su origen en la época infantil. Las transfusiones fueron hasta 1991, año en que se introdujeron las técnicas de detección sistemática de los donantes de sangre, la principal causa de contagio. A demás de las transfusiones de sangre y derivados del plasma, han sido sujetos de riesgo, los hemodializados y trasplantados, así como los drogodependientes⁽¹⁵⁾. Otro riesgo añadido en la infancia es la trasmisión materno filial (vertical). Se ha demostrado que entre 10%-25% de los RN de madres portadoras de VHC adquieren la infección, siendo mayor el riesgo para los hijos de madres con títulos altos de viremia. Tambien se ha puesto de manifiesto que los hijos de madres infectadas simultaneamente por el virus HIV transmiten el VHC con mayor frecuencia^(16,17). Parece ser que el genotipo viral tambien tendría su papel en el indice de contagio, habiendose publicado que el genotipo 1b sería el más contagioso⁽¹⁸⁾. En nuestra serie 7 de los pacientes incluidos en el protocolo de tratamiento habían adquirido la infección por vía vertical.

Hoofnagle et al, describieron la eficacia del tratamiento con IFN en la C hepatitis crónica por VHC en adultos⁽¹⁹⁾. Junto a la

acción antiviral y al efecto estimulante sobre la expresión de antígenos HLA de clase I, posee un efecto sobre la activación de las células procesadoras de antígeno y la potenciación de las células natural Killer. Numerosos trabajos efectuados en adultos han demostrado que responden al tratamiento entre el 50%-70% de los pacientes tratados, apreciándose una normalización de las transaminasas y una desaparición del RNA viral⁽²⁰⁾. Aproximadamente el 50% de los pacientes respondedores recidivan dentro de los 6 meses siguientes a la supresión del tratamiento. Si las transaminasas persisten normales y el RNA del virus está ausente a los 12 meses, se considera que se ha conseguido una respuesta completa mantenida. No obstante se desconoce dicha respuesta en seguimientos de más larga duración. La recaída, con negativización previa del RNA en suero puede ser dependiente de un reservorio viral intralinfocitario o a nivel del parénquima hepático, por lo cual algunos autores consideran que para hablar de negativización viral, el genoma debería de estar ausente del parénquima hepático⁽²¹⁾. La dosis de 3 MU, tres veces por semana durante doce meses, en los respondedores, es la pauta más utilizada en pediatría siendo por lo general muy bien tolerado, como hemos podido ver en nuestros pacientes, no habiendo observado los efectos adversos, con afectación del desarrollo, comentados por otros autores⁽²²⁾. Los mejores factores predictivos de buena respuesta en los adultos han sido: ausencia de cirrosis hepática, edad inferior a 45 años, niveles de viremia inferiores a 10^5 , niveles bajos de GGT y ferritina. Parece ser que el genotipo que peor responde al tratamiento es el 1 subtipos a y b, de la clasificación de Simmonds, que correspondería a el genotipo II de Okamoto^(23,24).

Existen datos contradictorios en cuanto a los resultados obtenidos en niños, oscilando entre 30%-40% de respuesta al tratamiento y una respuesta mantenida que estaría entre 10-40%⁽²⁵⁻³⁰⁾. Los marcadores empleados para medir las tasas de respuesta varían de unos trabajos a otros. En algunos ensayos solo determinaban los Ac y el RNA cualitativo por PCR. La presencia de Ac contra el antígeno del virus solo reflejará un estado inmune pero no el estado de viremia, no siendo habitual la desaparición de los Ac en casos de infección mantenida. Las nuevas técnicas de ampliación de las ramas de bDNA por hibridación nos permiten medir el número de copias de genomas virales pero su ausencia no nos puede garantizar la desaparición del virus en suero, ni de otros posibles reservorios tales como las células mononucleares periféricas o el parénquima hepático. En nuestra serie solo hemos obtenido una respuesta al tratamiento de un 27%, lo cual es inferior a lo encontrado en las series de adultos. Es posible que esta baja respuesta, en la edad pediátrica, este ligada a una menor respuesta potenciadora de la expresión de antígenos en la infancia. También es posible que dado lo precoz de la infección, con los sistemas inmunitarios todavía muy inmaduros haga que la penetrancia del virus sea mayor, con una mala respuesta posterior al IFN. Dado que el tratamiento con IFN es caro y molesto hemos intentado encontrar factores predictivos de respuesta, para proponer un tratamiento más selectivo. Todos ellos presentaban algunas de las características predictoras positivas descritas para la buena res-

puesta en adultos, poco tiempo de evolución, ALT poco elevada, ferritina normal, excasa afectación anatomopatológica hepática. Los cuatro pacientes respondedores presentaban unos niveles de viremia bajos, (media de 36 keq/ml). La media de todo el grupo de las copias de genoma fue de 379 keq/ml al inicio descendiendo a 282 keq/ml a los 6 meses de tratamiento aunque sin presentar diferencias significativas. Se confirma que el genotipo 1 b, 74% de los pacientes, es el más frecuente en nuestro medio, y también que posiblemente responda mal al tratamiento, lo cual justificaría el índice bajo de respuesta en nuestro grupo, en contraste con otros estudios con una respuesta mantenida de 43% perteneciendo la mayoría el 80% de los pacientes a un genotipo distinto del 1b⁽²²⁾. Otras series⁽²⁵⁾ con índice de respuesta también más elevada presentaban PCR-VHC positivos y anti-VHC negativos al inicio del estudio, dato que ni nosotros ni otros autores hemos confirmado, ya que todos nuestros pacientes eran anti VHC positivos y lo continuaron siendo tras la terapia.

Un hecho a destacar es que en los dos pacientes con respuesta mantenida, la mejoría de los niveles de transaminasas y negativización de la viremia fué espectacular al mes del tratamiento, lo que no ocurrió en el resto de los pacientes. Dicho hallazgo podría ser un dato de respuesta favorable mantenida. En cuanto a los hallazgos anatómicos, no es un factor a tener en cuenta en nuestro grupo, uno de los pacientes con respuesta mantenida presentaba una HCA de escasa intensidad y otro una HCP. Lo importante es la erradicación del virus, la mejoría anatomopatológica será una consecuencia. Se ha descrito que existe una mejoría histológica en los respondedores mantenidos, y en el 50% de los no respondedores. En los pacientes que responden es mucho más evidente la mejoría de las biopsias efectuadas a los dos años de finalizar el tratamiento, por esta razón creemos que dado que la biopsia hepática es un acto cruento, no debe de recurrirse a ella como marcador de respuesta. Son los parámetros bioquímicos fundamentalmente, la determinación del genoma viral la que nos indicará una negativización, siendo la respuesta bioquímica de normalización de transaminasas y la mejoría anatomopatológica una consecuencia lógica.

Con respecto al VHG, hemos podido observar, que es sensible al IFN, aunque la infección recidiva una vez suspendido el tratamiento. Y vemos como la respuesta es distinta e independiente de la respuesta del VHC. Se ha descrito en adultos una mayor incidencia de coinfección con el VHC sin alteración del curso clínico de la hepatopatía, tanto desde el punto de vista clínico como anatomopatológico^(31,32). Tampoco en nuestros pacientes apreciamos ningún tipo de diferencia en las cifras de transaminasas, gamma GT, nº de copias RNA viral VHC, o evolución clínica. En los adultos ha sido asociada una mayor incidencia del virus con algún genotipo determinado del VHC^(33,34), en algunos casos con el 3 a y en otros casos con el 1 b. En nuestros pacientes (ver Tabla I) también se asocio con más frecuencia al genotipo 1 b, pero hemos de tener en cuenta que dicho genotipo lo presentan el 74% de nuestros pacientes. Creemos que dicha asociación es más una cuestión estadística que una preferencia del VHG por un genotipo determinado.

Nuestra opinión sobre el VHG, a la luz de los datos disponibles, al menos en la edad pediátrica, sería que dada su alta prevalencia y la escasa o nula afectación hepática, podría tratarse de un virus accidental o defectivo. Es posible que se trate de un virus linfotrofo que puede persistir en sangre sin causar daño hepático, o bien solamente discreta hepatitis, al igual que el virus de Epstein-Barr^(35,36). No hemos diagnosticado ni han sido publicados casos de hepatitis aguda, hepatopatía crónica, ni hepatitis fulminante en la población pediátrica. Existe tanto en series de adultos como en nuestra serie una mayor incidencia en los pacientes afectados de VHC, sin que se pueda en la infancia explicar totalmente dicha prevalencia mayor, dado que las vías de transmisión del adulto no se dan en la infancia.

A pesar del daño mantenido hepático, datos clínicos y anatomopatológicos nos demuestran escasa progresión de la hepatitis crónica por VHG durante la infancia y adolescencia. Es posible que la evolución a la cirrosis sea un evento tardío del curso natural de la enfermedad por VHC, en la época adulta, estimulado por el uso de alcohol o drogas^(37,38). Resulta complicado dar una norma categórica sobre si debe continuarse la indicación general del tratamiento con IFN en la hepatitis crónica por VHC en la infancia dado que la relación coste-beneficio no está aportando los resultados esperados⁽³⁹⁾, o si deberíamos esperar a las nuevas perspectivas de su asociación con la ribavirina o otras drogas futuras. En estos momentos sí podríamos al menos aconsejar que fueran excluidos de la indicación los pacientes con genotipo 1, sobretodo el subtipo b con altos niveles de genoma. Si bien el tratamiento es muy bien tolerado y no hemos observado efectos adversos, este debe efectuarse en un centro experimentado y con los suficientes medios de laboratorio, que permitan elaborar pautas seguras de indicación y seguimiento.

Abreviaturas

IFN.: interferon

VHC: virus de la hepatitis C

VHG : virus de la hepatitis G

KEQ: 1.000 equivalentes de copias de genoma RNA / ml suero...

Bibliografía

- Choo Q L, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood borne non -A, non-B hepatitis genome. *Science* 1989; **244**:359-362.
- Hari S, Biscenglie M. Management of chronic viral hepatitis in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; **20**:365-375.
- Nowicki MJ, Balistreri WF. The hepatitis C virus: Identification, epidemiology, and clinical controversies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; **20**:248-274.
- Camps J, Esteban R, Hepatitis C. *Infecc Microbiol Clin* 1995; **13**:31-39.
- Jouet P, Roudot-Thoraval F, Dhumeaux D, et al. Comparative efficacy of interferon alfa in cirrhotic and noncirrhotic patients with non-A non-B, C hepatitis. *Gastroenterology* 1994; **106**:687- 690.
- Interferon therapy in chronic hepatitis C. European Association for the

study of the liver. International Symposium on viral hepatitis. Athens, September 1994.

- Lau J, Davvis LL, Kniffen J, Quian KP, Urdea M et al. Significance of serum hepatitis C virus RNA levels in chronic hepatitis C. *The Lancet* 1993; **341**:1501-1504.
- Alonso C, Lamelin DQ, Sanjose S, Vitvitski L et al. Serological responses to different genotypes of hepatitis C virus in France. *J Clin Microbiol* 1994; **32**:211-212.
- Deinhardt F, Holmes AW, Capps RB. et al.: Studies on the transmission of disease of human viral hepatitis to marmoset monkeys. I. Transmission of disease, serial passage and description of liver lesions. *J Exp Med* 1967; **125**:673-687.
- Linnen J, Wages JJ, Zhang-Keck Z-Y. et al. (Genelabs Technologies, Redwood city, California). Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: A transfusion-transmissible agent. *Science* 1996; **271**:505-508.
- Kim JP, Linnen J, Wages J. et al.: Hepatitis G virus (HGV), a new hepatitis virus associated with human hepatitis. *J Hepatol* 1995; **23**(Suppl., 1):78.
- Nagata I, Tzampouras N, Chokshi S, Naumov NV.: Hepatitis GB virus-C/ hepatitis G virus infection in liver disease. *Arch Dis Child* 1997; **77**:223-226.
- Tratamiento con interferon en las hepatitis crónicas. Panel de expertos. Dirección general de aseguramiento y planificación sanitaria. Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid. Mayo de 1994.
- Simmonds P, Holmes EC, Cha T-A, et al. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. *J Gen Virol* 1993; **74**:2391-2399.
- Ni YH, Chang MH, Lue HC, et al. Post-transfusion hepatitis C infection in children. *J Pediatr* 1994; **124**:709-713.
- Zuccotti GV, Ribero L, Giovannini M, Fasola M, Riva E, Portera G et al. Effect of hepatitis C genotype on mother-to-infant transmission of virus. *J Pediatr* 1995; **127**:278-280.
- Ho-Hsiung L, Jia Kao, Hong Juan H, et al. Absence of infection in breast-fed infant born to hepatitis C virus infected mothers. *J Pediatr* 1995; **126**:589-591.
- Rest M, Azzari C, Lega L Rossi ME, Aammarchi E, Novembre E, Vierrucci A. Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Acta Paediatr* 1995; **84**:251-255.
- Hoffnogle JH, Mullen KD, Jones DB, et al. The treatment with interferon. *New Engl J Med* 1986; **315**:1575-1578.
- Booth JCL, Brown JL, Thomas HC. The treatment on chronic hepatitis C with interferon. *Gut* 1995; **37**:449-454.
- Jhonson Y, Lau N, Mizokami M, Ohno T, Diamond D, Kniffen J, Davis GL. Discrepancy between biochemical and virological responses to interferon alfa in chronic hepatitis C. *Lancet* 1993; **342**:1208-1209.
- Gottrand F, Michaud L, Guimber D, Atego S, Dubar G, et al. Influence of recombinant interferon alpha on nutritional status and growth pattern in children with chronic viral hepatitis. *Eur J Pediatr* 1996; **155**:1031-1034.
- Bortolotti F, Vajro P, Balli F, Giacchino R, Crivellaro C, Barbera C, et al. Hepatitis C virus genotypes of children. *J Viral Hepat* 1996; **3**:323-327.
- Matsubara T, Sumazaki R, Shin K, Nagai Y, Takita H. Genotyping of hepatitis C virus: Coinfection by multiple genotypes detected in children with chronic posttransfusion hepatitis C. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1996; **22**:79-84.
- Ruiz Moreno M, Rua M^aJ, Castillo I, García Novo M^aD, Santos M, Navas

- S, Carreño V. Treatment of children with chronic hepatitis C with recombinant interferon. A pilot study. *Hepatology* 1992; **16**:882-885.
- 26 Bortolotti F, Giacchino R, Vajro P, Barbera C, Crivellaro C, et al. Recombinant interferon -alfa therapy in children with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1995; **22**:1623-1627.
- 27 Ioro R, Pensati P, Vairo P, Botta S, Tuccillo C, Vegnente A. HVC-RNA serum levels in children with chronic hepatitis C and response to interferon therapy. Abstracts of the 30th Annual ESPGAN Meeting. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997; **24**:487.
- 28 Jara P, Hierro L, Frauca E, Robledo C, Camarena C, et al. Interferon, alfa2b treatment in children with chronic HVC hepatitis. Abstracts of the 30th Annual ESPGAN Meeting. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997; **24**:487.
- 29 Fujisawa T, Inui A, Okhawa T, Komatsu H, Miyakawa Y, Onoue M., Response to interferon therapy in children with chronic hepatitis C. *J Pediatr* 1995; **127**:660-662.
- 30 Jonas MM. Interferon alpha for viral hepatitis. *J Pediatric Gastroenterol Nutr* 1996; **23**:93-106.
- 31 Bralet MP, Roudot Thoraval F, Pawlotsky JM, Bastie A. et al.: Histopathologic impact of GB virus C infection on chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1997; **112**:188-192.
- 32 Martinot M, Marcellin P, Boyer N, Detmer J, et al.: Influence of hepatitis G virus infection on the severity of liver disease and response to interferon-alpha in patients with chronic hepatitis C. *Ann Intern Med* 1997; **126**:874-881.
- 33 Davidson S, Skidmore S, Collingham K, Irving W. et al.: The role of hepatitis C and G infection in graft hepatitis following paediatric liver transplantation. (Abstracts). *J Ped Gastroenterol Nutr* 1997; **24**:484.
- 34 Karayiannis P, Hadziyannis SJ, Kim J, Pickering JM et al.: Hepatitis G virus infection: clinical characteristics and response to interferon. *J Viral Hepat* 1997; **4**:37-44.
- 35 Alter HJ, Nakatsuji Y, Melpolder J, Wages J. et al.: The incidence of transfusion- associated hepatitis G virus infection and its relation to liver disease. *N Engl J Med* 1997; **336**:747-754.
- 36 Loya F.: Does the hepatitis G virus cause hepatitis?. *Tex. Med* 1996; **92**:68-73.
- 37 Bortolotti F, Jara P, Diaz C, Vajro P, Hierro L et al. Posttransfusion and community acquired hepatitis C in childhood. *J Pediatr gastroenterol Nutr* 1994; **18**:279-283.
- 38 Maggiore G. Chronic hepatitis in children. *Curr Opin Pediatr* 1995; **7**:539-546.
- 39 Zein NN, Rakela J., Interferon therapy in hepatitis C. *Semin Gastrointest Dis* 1995; **6**:43-53.