

Hemodiyaliz Hastalarında Hepatit C Virüs Enfeksiyonunun Taranması

[Hepatitis C Virüs Infections Screening in Hemodialysis Patients]

Mevhibe Balk
Gülsevrim Saydam
Doğan Cengiz
Aygül Türkmen
İhsan Ayturan
Tuğrul Himmetoğlu

T.Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Biyokimya Laboratuvarı Ankara/ Türkiye

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

Dr. Mevhibe Balk,
Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi,
Biyokimya Şef Yardımcısı, Ankara
Tel: +90-312-310 30 80
e-mail: mevhibeb@hotmail.com

Kayıt tarihi 25.8.2004; kabul tarihi 20.10.2004
[Received 25.8.2004; accepted 20.10.2004]

ÖZET

Hepatit C Virüs (HCV) enfeksiyonu, diyaliz hastalarında akut veya kronik hepatitlerin en sık görülen nedenlerinden birisidir. Hemodiyaliz ünitelerinde HCV antikorlarının yaygınlığının %5 ile %60 arasında değiştiği bildirilmektedir. Bu çalışmanın amacı, kronik hemodiyaliz hastalarında HCV enfeksiyonunun yaygınlığını saptamak ve bu amaçla kullanılan testlerin klinik önemini belirtmektir. Bu çalışmada, Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Hemodiyaliz Ünitesi'nde hemodiyalize giren 70 hastada, HCV antikorlarının yaygınlığı %21 olarak bulundu; bu grupta HCV-RNA pozitiflik oranı %66 idi. Hemodiyaliz hastalarında ortalama ALT düzeylerinin sağlıklı kişilere göre daha düşük olduğu belirlendi (13.6±9.0'a karşı 23±18 U/L, p<0.05). Anti-HCV(-) olan hemodiyaliz hastalarında ortalama ALT düzeyleri anti-HCV(+), HCV-RNA(-) olan hastalara göre daha düşüktü (13.6±9.0'a karşı 19.40±5.0 U/L, p<0.05). Anti-HCV(+), HCV-RNA(-) olan hemodiyaliz hastalarında ortalama ALT düzeyleri, anti-HCV(+), HCV-RNA(+) olan hastalara göre daha düşük bulundu (19.40±5.0'a karşı 39.3±22.3 U/L, p<0.05). Normal referans değerler kullanıldığında, ALT için en yüksek değer (ortalama+2SD) 41U/L'dir. HCV viremisinin tespitinde, ALT ≥ 41 U/L değerinde, duyarlılık %50, özgüllük %100, pozitif tahmin değeri %100 bulundu. HCV enfeksiyonu bulunmayan hemodiyaliz hastalarında ALT için en yüksek değer 22 U/L idi. HCV viremisinin tespitinde, ALT ≥ 22 U/L değerinde, duyarlılık %100, özgüllük %80, pozitif tahmin değeri %91 idi. Normal referans değerleri kullanıldığında, ALT testinin hemodiyaliz hastalarında HCV enfeksiyonunun taranmasında duyarlı bir test olmadığı görülmektedir. Hemodiyaliz hastalarında ALT değerleri sıklıkla sağlıklı kişilerden daha düşük olduğu için, HCV ile viremik olan hemodiyaliz hastalarında yükselmiş olan ALT düzeyleri, normal referans değerler içinde olabilir. Bu nedenle, diyaliz hastalarında HCV enfeksiyonunun teşhisinde antikor tarama testleri ile birlikte HCV-RNA'nın tespit edilmesi "altın standart" olarak düşünülebilir.

Anahtar Kelimeler: Hemodiyaliz hastaları, HCV enfeksiyonunun taranması

ABSTRACT

Hepatitis C Virus (HCV) infection is the most common cause of acute or chronic hepatitis in dialysis patients. The prevalence of HCV antibodies in hemodialysis (HD) units has been reported to range from 5 to 60%. The aim of this study was to establish the prevalence of HCV infection in chronic HD patients and clinical importance of tests used with this purpose was to determine. In this study, 70 HD patients undergoing regular hemodialysis in T.Yüksek İhtisas Hospital were studied and the prevalence of anti-HCV antibody was found 21%. The prevalence of HCV-RNA in this group was 66%. Mean ALT in HD patients was lower than in normal subjects (13.6±9.0 vs. 23±18 U/L, p<0.05). Mean ALT in Anti-HCV- HD patients was significantly lower than Anti-HCV+, HCV-RNA- HD patients (13.6±9.0 vs. 19.4±5.0 U/L, p<0.05). Mean ALT in Anti-HCV+, HCV-RNA- HD patients was significantly lower than in Anti-HCV+, HCV-RNA+ HD patients (19.4±5.0 vs. 39.3±22.3 U/L, p<0.05). The upper limit (mean+2SD) for ALT in normal healthy subjects was 41 U/L. Sensitivity of ALT value ≥41 U/L in the diagnosis of HCV viremia was 50% and specificity was 100%. The positive predictive value of this test in diagnosis of hepatitis C viremia was 100%. The upper limit for ALT in hepatitis-free HD patients was 22 U/L. Sensitivity of ALT value ≥ 22 U/L in the diagnosis of HCV viremia was 100% and specificity was 80%. The positive predictive value of this test in diagnosis of hepatitis C viremia was 91%. Obviously, ALT is not a sensitive screening test for HCV infection in HD patients using normal reference values. Because ALT values are frequently lower in HD patients than in healthy individuals, the elevated ALT values in HD patients who are viremic with HCV may still fall within the normal reference range. Therefore, antibody screening combined with detection of HCV - RNA can be considered as the "gold standart" for diagnosing HCV infection in dialysis patients.

Key Words: Hemodialysis patients, HCV infection screening

GİRİŞ

Hepatit C Virüsü (HCV), posttransfüzyon hepatitlerin başlıca nedenlerinden birisidir. HCV enfeksiyonu, 1988 yılından beri bütün dünyada hemodiyaliz ile ilişkili önemli bir problem olarak bilinmektedir (1,2,3). HCV enfeksiyonu, kronik diyaliz hastalarında akut veya kronik hepatitlerin en sık görülen nedenlerinden birisidir. Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda, hemodiyaliz ünitelerinde HCV antikorlarının yaygınlığının %5 ile %60 arasında değiştiği bildirilmektedir (2,4-7).

Diyaliz hastalarında HCV enfeksiyonu yaygınlığının yüksek olması, kan transfüzyonu, diyalizin süresi, diyalizin tipi ve önceden yapılmış organ nakli veya intravenöz ilaç alışkanlığının bulunması gibi çeşitli risk faktörlerine bağlanmaktadır (8,9).

Hastalığı kontrol etmek ve önlemek için kurulan merkezler, HCV enfeksiyonu için kronik hemodiyaliz hastalarının sürekli alanin aminotransferaz (ALT) aktivitesi ölçülerek taranmasını önermektedir. Ancak hemodiyaliz hastalarında, ALT düzeylerinin sıklıkla sağlıklı kişilerden daha düşük olduğu da bilinmektedir (2,7,8,10,11). ALT aktivitesi yükselmiş olan hastalarda HCV'ye karşı antikor (anti-HCV) tespit etmek için daha sonra immunoserolojik testlerin yapılması tavsiye edilmektedir. Ayrıca, enfeksiyonun başlangıç periyodunda anti-HCV testleri negatif olabileceğinden HCV-RNA gibi doğrulama testlerine gereksinim olduğu da bildirilmektedir (10,11,12)

Bu çalışmanın amacı, hastanemizin hemodiyaliz ünitesinde hemodiyalize giren hastalarda HCV enfeksiyonunun yaygınlığını saptamak ve bu hastalığın taranması amacıyla kullanılan testlerin klinik önemini belirtmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Hemodiyaliz Ünitesi'nde hemodiyalize giren yaşları 25-72 (ortalama 58) arasında değişen, 48 erkek ve 22 kadın olmak üzere kronik böbrek yetmezlikli toplam 70 hastadan alınan kan örneklerinde yapıldı. Sağlıklı kontrol grubu, böbrek, karaciğer, kalp hastalığı ve diyabet gibi bir kronik hastalığı olmayan, yaşları 25-64 (ortalama 42) olan, 50 kadın ve 50 erkek olmak üzere sağlıklı 100 kişiden oluşturuldu.

Kan örnekleri 10 ml'lik vakumlu tüpler içine alındı. Kanlar 3000 µg'de 10 dak santrifüj edilerek serum örnekleri ayrıldı. ALT ve anti-HCV testleri hiç bekletilmeden çalışıldı. HCV-RNA tayini için serum örnekleri 500µl'lik eppendorf tüplere alınarak, çalışma gününe kadar -70°'de saklandı.

ALT Tayini: Roche/Hitachi Modular PP klinik kimya analizöründe (Tip: Modular 020GS) Roche Diagnostics marka kitler (Lot No: 1876805) ile çalışıldı. Test kitlerinin çalışma prensibi, IFCC'nin referans metoduna dayanır.

Anti-HCV Tayini: Abbott AxSYM analizöründe (Tip: LR40071), Abbott marka test kitleri (Lot No: B3B440) ile çalışıldı. Abbott AxSYM System HCV Version 3.0 kitinin

çalışma prensibi insan serum ve plazmasında hepatit C virüsüne karşı antikorunu tespit etmek için mikropartikül enzim "immunoassay" tekniğine dayanır.

HCV-RNA Tayini: RNA, Macherey-Nagel Nucleospin RNA Virus kitleri ile serum örneklerinden izole edildi. PCR işlemi için ABgene marka RT-PCR kiti (Reddy Mix Version) kullanıldı. 1. turda Reddy mix RT-PCR master mix (Thermoprime Plus DNA polimeraz 1.25 U/L, reaksiyon tamponu, dNTP karışımı (her bir nükleotitten 0.2 mM), MgCl₂ 1.5 mM), "reverse" transkriptaz karışımı, RNA kalıbı, MS2 pozitif RNA kontrol, C1 ve C2 primer (100 pmol/µl), kullanıldı. 2. turda, Reddy mix RT-PCR master mix üzerine C3 ve C4 primeri (100 pmol/µl) (Bio Synthesis) ve 1.tur PCR ürünü ilave edildi. Daha sonra PCR ürünleri %2'lik agaroz jel (Sea Kem LE) üzerinde değerlendirildi. Deneyde, Accurun marka pozitif ve negatif kontroller, 100 baz çifti DNA standardı kullanıldı. PCR ürün uzunluğu 251 baz çiftiydi.

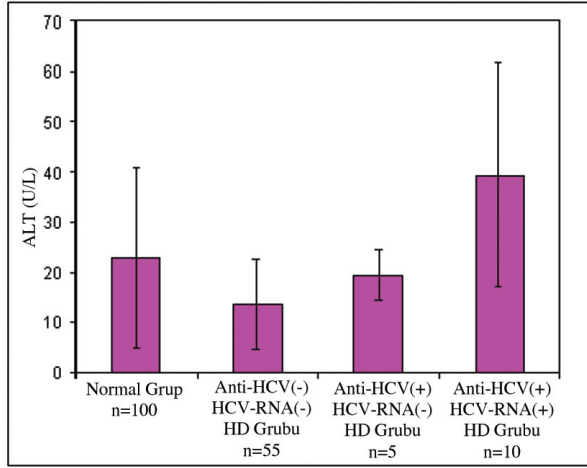
İstatistiksel çalışmalar "SPSS 9.01 for Windows" istatistik programı ile değerlendirildi. Grupların karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi kullanıldı. p<0.05 olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Bu çalışmada, hemodiyalize giren 70 hastada HCV antikorlarının yaygınlığı %21 olarak bulundu, bu grupta HCV-RNA pozitiflik oranı %66 idi. Normal sağlıklı grupta ALT düzeyleri ortalama 23±18 U/L bulundu. Hemodiyaliz hastalarında ortalama ALT düzeylerinin sağlıklı kişilere göre anlamlı derecede daha düşük olduğu belirlendi (13.6±9.0'a karşı 23±18U/L, p<0.05). Anti-HCV(-) olan hemodiyaliz hastalarında ortalama ALT düzeyleri anti-HCV(+), HCV-RNA(-) olan hastalara göre anlamlı derecede daha düşüktü (13.6±9.0'a karşı 19.4±5.0U/L, p<0.05). Anti-HCV(+), HCV-RNA(-) olan hemodiyaliz hastalarında ortalama ALT düzeyleri, anti-HCV(+), HCV-RNA(+) olan hastalara göre anlamlı derecede daha düşük bulundu (19.4±5.0' e karşı 39.3±22.3U/L, p<0.05). Tüm gruplara ait ALT düzeyleri şekil 1'de gösterildi. HCV enfeksiyonu bulunan hemodiyaliz hastalarının sadece %26'sında ALT düzeyleri yüksek bulundu.

Anti-HCV(+) olan hemodiyaliz hastalarında ortalama diyaliz süresi 5.5±3 yıl, anti-HCV(-) olan hastalarda ise 3±2 yıl idi. Anti-HCV(+) olan 15 hemodiyaliz hastasında ortalama ALT düzeyleri 33.6±24.8 U/L iken anti-HCV(-) olan 55 hastada ortalama ALT düzeyi 13.6±9.0 U/L bulundu.

Normal referans değerler kullanıldığında, ALT için en yüksek değer (ortalama+2SD) 41U/L'dir. Anti-HCV(+) hastalarda HCV viremisinin tespit edilmesinde, ALT ≥41U/L değerinde, duyarlılık %50, özgüllük %100, pozitif tahmin değeri %100 bulundu. HCV enfeksiyonu bulunmayan hemodiyaliz hastalarında ALT için en yüksek değer 22U/L idi. Anti-HCV(+) hastalarda HCV viremisinin tespitinde, ALT ≥22U/L değerinde, duyarlılık %100, özgüllük %80, pozitif tahmin değeri %91 idi



Şekil 1. Normal Sağlıklı Grupta ve HD Hasta Gruplarında ALT Düzeyleri

TARTIŞMA

1988 yılından beri HCV enfeksiyonu, dünya üzerinde hemodiyaliz ilişkili başlıca problem olarak bilinmektedir (2,3,13). Kronik hemodiyaliz tedavisi gören hastalar HCV enfeksiyonu açısından yüksek bir risk grubunu oluştururlar (1,7,13). Çeşitli ülkelerde belli diyaliz merkezlerinde yapılan çalışmalarda, hemodiyaliz hastaları arasında HCV enfeksiyonunun yaygınlığının Kuzey Avrupa'da %2-6'dan, Amerika'da %10'a, Japonya'da %20'ye, Suudi Arabistan'da %60'ın üzerine değişen oranlarda olmak üzere sağlıklı kan donörlerinden daha yüksek olduğu gösterilmiştir (1,2,4-8,12,13). HCV enfeksiyonlarının teşhisi genellikle EIA ile spesifik HCV antikorlarının tespitine dayanır. Bu çalışmada Hastanemizin hemodiyaliz ünitesinde hemodiyalize giren 70 hastada HCV antikorlarının yaygınlığı %21 olarak bulundu. Hemodiyaliz hastaları arasında anti-HCV antikorlarının yüksek oranda olması, başlangıçta üremik aneminin tedavisi için kullanılan kan transfüzyonlarının bir sonucu olarak düşünülmüş, ancak daha sonraları kan transfüzyonundan daha çok hemodiyaliz süresinin uzunluğuna bağlı olduğu kabul edilmiştir (2,4,8,9,13). Bu çalışmada da, anti-HCV(+) olan hastaların anti-HCV(-) olan hastalara göre daha uzun süre hemodiyalize girdikleri belirlendi. Bu da uzun süre hemodiyalize giren hastaların tekrarlanan tedaviden dolayı enfeksiyöz ajanlara daha fazla maruz kalmalarına bağlı olabilir. Ayrıca diyaliz işleminin ve hijyenik standartların düzeyi de enfeksiyonun ortaya çıkmasında etkilidir. Çalışmamızda, erkek hastalarda anti-HCV(+)’lik oranı kadın hastalara göre daha yüksekti. Bununla birlikte, bu enfeksiyonun cinsiyet ile farklılık gösterip göstermediği henüz açık değildir.

HCV enfeksiyonunun kontrolü ve önlenmesi için kurulan merkezler, hemodiyaliz hastalarının HCV enfeksiyonu için sık sık seri ALT ölçümleri yapılarak taranmasını, ALT düzeyleri yüksek olan hastalarda da anti-HCV testlerinin yapılmasını önermektedir. Ayrıca, HCV-RNA

testi de aktif HCV enfeksiyonunun doğrulanması ve antiviral tedavinin izlenmesi için önerilmektedir (8,10,11).

Bir çok araştırmacı yaptıkları çalışmalarda, hemodiyaliz hastalarında ALT düzeylerinin genellikle sağlıklı kişilere göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir (2,7,8,10,11). Biz de bu çalışmada, hemodiyaliz hastalarında ortalama ALT düzeylerinin sağlıklı kişilere göre anlamlı derecede daha düşük olduğunu bulduk (13.6 ± 9.0 'a karşı $23 \pm 1-8$ U/L, $p < 0.05$). Hemodiyaliz hastalarındaki düşük ALT düzeylerinden sorumlu mekanizmalar henüz açık değildir, pyridoxine eksikliği, ultraviyole absorbe eden bileşikler ve diyaliz hastalarındaki üremik toksinler muhtemel nedenler olarak bildirilmektedir (7,10).

Kronik hemodiyaliz tedavisindeki anti-HCV(+) hastalarda, ALT düzeyi yüksekliğinin %4.5-80 arasında değiştiği bildirilmektedir (7). Biz de anti-HCV(+) hemodiyaliz hastalarının sadece %26'sında ALT düzeylerinin yüksek olduğunu bulduk. Ancak, hemodiyaliz hastalarında ALT düzeylerinin düşük olduğu, HCV enfeksiyonunda ALT düzeylerindeki artışın düzensiz değişim gösteren bir örneği takip ettiği ve HCV viremisinin değişken olabileceği de dikkate alınmalıdır. Bu çalışmada, anti-HCV(-) olan hemodiyaliz hastalarında ortalama ALT düzeyleri anti-HCV(+), HCV-RNA(-) olan hastalara göre anlamlı derecede daha düşüktü (13.6 ± 9.0 'a karşı 19.4 ± 5.0 U/L, $p < 0.05$). Anti-HCV(+), HCV-RNA(-) olan hemodiyaliz hastalarında ortalama ALT düzeyleri, anti-HCV(+), HCV-RNA(+) olan hastalara göre anlamlı derecede daha düşük bulundu (19.4 ± 5.0 'e karşı 39.3 ± 22.3 U/L, $p < 0.05$). Normal referans değerler kullanıldığında, ALT için en yüksek değer (ortalama+2SD) 41U/L'dir. Anti-HCV(+) hastalarda HCV viremisinin tespit edilmesinde, ALT ≥ 41 U/L değerinde, duyarlılık %50, özgüllük %100, pozitif tahmin değeri %100 bulundu. HCV enfeksiyonu bulunmayan hemodiyaliz hastalarında ALT için en yüksek değer 22U/L idi. Anti-HCV(+) hastalarda HCV viremisinin tespitinde, ALT ≥ 22 U/L değerinde, duyarlılık %100, özgüllük %80, pozitif tahmin değeri %91 idi. Normal referans değerler kullanıldığında, ALT testinin hemodiyaliz hastalarında HCV enfeksiyonunun taranmasında duyarlı bir test olmadığı görülmektedir. Hemodiyaliz hastalarında, ALT değerleri sıklıkla sağlıklı kişilerdekinden daha düşük olduğu için, HCV ile viremik olan hastalarda yükselmiş olan ALT düzeyleri hala normal referans değerler içinde olabilir. Pozitif tahmin değerinin %100 olmasına bağlı olarak, gerçekten yüksek ALT düzeylerine sahip olan anti-HCV(+)hemodiyaliz hastalarının çoğunda, HCV-RNA'nın (+) olması beklenebilir. Diğer taraftan, özgüllüğün %100 olması, ALT düzeyleri normal, HCV-RNA(-) olan anti-HCV(+)hemodiyaliz hastalarında (hastaların %34'ü), virüs replikasyonunun çok düşük düzeylerde olduğunu veya HCV klirensinin tam olduğunu belirtebilir, ayrıca HCV viremisinin değişken olduğu da dikkate alınmalıdır. Yapılan bir çalışmada hemodiyaliz işlemleri sırasında HCV-RNA'nın diyaliz membranına adsorbe edilebileceği ve viral partikülün diyaliz membranı yüzeyinde parçalanabileceği de ileri sürülmektedir (14).

Hemodiyaliz hastalarında ALT için değiştirilmiş bir referans aralık kullanıldığında, testin duyarlılığının % 100 olduğu fakat özgüllük ve pozitif tahmin değerinin azaldığı görülmektedir. Bununla birlikte, anti-HCV(+) olan hastalarda yükselmiş ALT düzeyleri viremiyi belirtmek için faydalı olabilir. ALT düzeyleri sürekli normal referans değerler içinde bulunduğu sürece, hastanın viremik olup olmadığını anlamının tek yolu HCV-RNA'yı tespit etmektir.

Yapılan çalışmalarda, anti-HCV(-) olan hemodiyaliz hastalarında HCV-RNA'nın (+) olabileceği de bildirilmektedir. Bu durum, hemodiyaliz hastalarında HCV enfeksiyonunun teşhisi için serolojik testlerin tek başına yeterli olmadığını gösterir. Hemodiyaliz hastalarında, immun sistemin baskılanması sonucu immün cevabın bozulması yeterli anti- HCV antikor oluşumunu önleyebilir, anti-HCV testleri hastalığın başlangıç periyodunda negatif olabilir, ayrıca kullanılan anti-HCV test kitlerinin duyarlılık ve özgüllüğü de test sonuçlarını etkileyebilir. Bu nedenlerle, bütün enfekte hastaları teşhis etmek için HCV-RNA'nın tespit edilmesi gereklidir (1,8,11). Bizim çalışmamızda, RT-PCR yöntemi ile, HCV-RNA(+) olan tüm hastalarda anti-HCV antikoru (+) bulundu. Anti-HCV antikoru (+) olan bu grupta HCV-RNA pozitiflik oranı %66 idi, bu oran tüm hemodiyaliz hastalarında %14 olarak bulundu. Çalışmamızda anti-HCV(-) olan hastalarda HCV-RNA (+) bulunmadı.

PCR işlemleri, çok emek ve zaman harcanmasını gerektiren oldukça pahalı işlemlerdir, özel uzman ve cihazlar

gerektirir. Ayrıca, HCV-RNA oda sıcaklığında ve dondurup çözülme ile hızla parçalandığından örneklerin çalışılması ve saklanması, RT-PCR teknolojisinde sonuçları oldukça etkiler. Aynı zamanda primerlerin seçimi de testin duyarlılığını etkileyebilir çünkü HCV genomu geniş bir sekans değişkenliği gösterir. Bu nedenlerden, RT-PCR teknolojisi henüz rutin bir işlem olarak düşünülmemektedir. Bununla birlikte, son zamanlarda piyasaya çıkartılan standardize edilmiş ticari kitler yakın gelecekte hemodiyaliz hastalarında diagnostik test olarak faydalı olacaklardır (1,11,13).

Sonuç olarak, hemodiyaliz hastalarında ALT aktiviteleri anlamlı derecede azalmış olduğundan hastaların bazal ALT düzeylerinin belirlenerek aradaki farkın takip edilmesi ve ayrıca hemodiyaliz hastalarında ALT için normal referans değerlerin saptanması HCV enfeksiyonunun teşhisinde daha faydalı olacaktır. ALT düzeyleri yüksek, anti-HCV(+) olan hemodiyaliz hastalarının büyük bir kısmında HCV-RNA'nın (+) olması beklenebilir. Ancak hemodiyaliz hastalarında immun sistem baskılanmış olabileceğinden sadece immunoenzimatik testlerin çalışılması HCV enfeksiyonunun teşhisi için yeterli olmayabilir. Bu nedenle, ALT düzeyleri yüksek olan hastalarda HCV enfeksiyonunun taranması ve takip edilmesi için anti-HCV testi ile birlikte HCV-RNA testinin de çalışılması daha uygun olacaktır. Hemodiyaliz ünitelerinde HCV enfeksiyonunun taranmasında, antikor tarama testleri ile birlikte RT-PCR tekniği ile HCV-RNA'nın da tespit edilmesi "altın standart" olarak düşünülebilir.

Kaynaklar

1. Schneeberger PM, Keur I, Vliet V, Hoek K, Boswijk H, Loon A, Dijk W. (1998) Hepatitis C Virus Infections in Dialysis Centers in The Netherlands: a National Survey by Serological and Molecular Methods. *Journal of Clinical Microbiology*. 36,1711-1715.
2. Furusyo N, Hayashi J, Kakuda K, Ariyama I, Kanamoto Y, Shimizu C, Etoh Y, Shigematsu M, Kashiwagi S. (2001) Acute Hepatitis C Among Japanese Hemodialysis Patients: A Prospective 9-Year Study. *The American Journal of Gastroenterology*. 96(5), 1592-1600.
3. Furusyo N, Hayashi J, Kakuda K, Ariyama I, Kanamoto Y, Shimizu C, Etoh Y, Shigematsu M, Kashiwagi S. (2000) Maintenance Hemodialysis Decreases Serum Hepatitis C Virus (HCV) Levels in Hemodialysis Patients With Chronic HCV Infection. *The American Journal of Gastroenterology*. 95(2), 490-496.
4. Dussol B, Berthezene P, Brunet P, Roubicek C, Berland Y. (1995) Hepatitis C Virus Infection Among Chronic Dialysis Patients in the South of France: A Collaborative Study. *American Journal of Kidney Diseases*. 25 (3), 399-404.
5. Stehman C, Emerson S, Gretch D, Johnson J. (1998) Risk of Death Among Chronic Dialysis Patients Infected With Hepatitis C Virus. *American Journal of Kidney Diseases*. 32 (4), 629-634.
6. Galan F, Perez M, Lozano A, Benavides B, Fernandez E, Iglesias R. (1998) A 3-year Follow up of HCV-RNA Viremia in Hemodialysis Patients. *Nephrol Dial Transplant*. 13, 1211-1214.
7. Fabrizi F, Lunghi G, Andrulli S, Pagliari B, Faranna P, Pagano A, Locatelli F. (1997) Influence of hepatitis C Virus (HCV) Viremia upon Serum Aminotransferase activity in chronic Dialysis Patients. *Nephrol Dial Transplant*. 12, 1394-1398

8. Lai K. (2001) Hepatitis C Infection Screening in Hemodialysis Units. *American Journal of Kidney Diseases*. 38 (1), 186-188.
9. Noiri E, Nakao A, Oya A, Fujita T, Kimura S. (2001) Hepatitis C Virus in Blood and Dialysate in Hemodialysis. *American Journal of Kidney Diseases*. 37 (1), 38-42.
10. Espinosa M, Martin A, Lara A, Soriano S, Aljama P. (2000) High ALT Levels Predict Viremia in Anti-HCV-positive HD Patients if a Modified Normal Range of ALT is Applied. (2000) *Clinical Nephrology*. 54 (2), 151-156.
11. Fabrizio F, Martin M, Dixit V, Brezina M, Russell J, Conrad A, Schmid P, Gerosa S, Gitnick G. (1999) Detection of de novo Hepatitis C Virus Infection by Polymerase Chain Reaction in Hemodialysis Patients. *American Journal of Nephrology*. 19,383-388.
12. Garcia F, Mateos M, Valdecasas J, Terual J, Bernal C, Fernandez M. (2000) Relevance of Investigating the Presence of Hepatitis C Virus RNA in HCV Antibody-Negative Hemodialysis Patients. *American Journal of Nephrology*. 20, 166-167.
13. Morera R, Renato J, Fares J, Takano I, Cardosa M, Saraceni C, Granato C. (2003) Prospective Study of Hepatitis C Virus Infection in Hemodialysis Patients by Monthly Analysis of HCV RNA and Antibodies. *Can J. Microbiol*. 49, 503-507.
14. Fabrizi F, Bunnapradist S, Lunghi G, Martin P. (2003) Kinetics of Hepatitis C virus Load During Hemodialysis: Novel Perspectives. *J.Nephrol*.16(4),467-475.