TRANSFUSION DE SANGRE Y HEPATITIS

Dr. Luigi Accatino L.

I. MAGNITUD DEL PROBLEMA

La frecuencia registrada de hepatitis post - transfusional es muy variable en los diversos estudios, variando su tasa de ataque (casos de hepatitis por 100 pacientes transfundidos) entre 0 % y 12 % (1-6). En Chile la tasa de ataque era de aproximadamente, 4 % entre los años 1951 y 1955 (7,8) siendo actualmente del orden de 1% (5).

Por otro lado la incidencia de hepatitis ictérica varía de 0 a 9 casos por 1000 unidades de sangre transfundidas. Si se consideran los casos de hepatitis anictérica la incidencia total es también muy variable, de 0 a más de 80 casos por 1000 unidades transfundidas. Los casos de hepatitis anictérica, detectados mediante la determinación periódica de transaminasas, ocurren 2 a 10 veces más frecuentemente que los casos con ictericia, aunque no existe una correlación directa entre ambas formas de hepatitis en las distintas series (9).

El riesgo de transmisión de la hepatitis viral después de transfusiones de sangre varía según el origen (mayor es el riesgo si la sangre proviene de dadores profesionales) y la cantidad de sangre transfundida, y depende también del estado inmunitario de los receptores.

Lógicamente el riesgo es mayor cuanto mayor es el número de unidades de sangre transfundida. Esta importante relación ha sido confirmada en diversos estudios como se ilustra en la siguiente tabla:

RIESGO DE HEPATITIS VIRAL EN RELACION CON EL NUMERO DE UNIDADES DE SANGRE TRANSFUNDIDA. (Tasa de ataque ± Es por 100 enfermos transfundidos).

Unidades Administradas	Allen et al (3) (U.S.A.)	Katz et al (5) (CHILE)	Egoz et al (4) (ISRAEL)
1	1.4 ± 0.4	0.1 ± 0.1	0.4 ± 0.2
2	2.6 ± 0.7	1.5 ± 0.5	0.2 ± 0.2
3-4	2.8 ± 0.7	1.4 ± 0.7	1.3 ± 0.7
5-9	6.4 ± 1.2	4.4 ± 1.5	1.3 ± 0.9
10 ó más	6.0 ± 1.8		3.1 ± 2.2

Poseen un riesgo de transmisión de la hepatitis similar al de la transfusión de sangre, la transfusión de glóbulos rojos, plasma de un donante único, plasma fresco congelado y la transfusión de plaquetas.

El riesgo aumenta considerablemente cuando se transfunden productos derivados de la sangre obtenida de múltiples donantes. Son producto de "alto riesgo" el plasma de múltiples donantes y los concentrados de factores de coagulación, en particular el factor antihemofílico para el tratamiento de la hemofilia A, las distintas preparaciones que contienen factor IX concentrado para el tratamiento de la hemofilia B, y el fibrinógeno (6,10). En este sentido, un problema especialmente serio ha sido creado por el uso indiscriminado de los factores II,VII, IX

y X como agentes hemostáticos de amplio espectro en pacientes postoperados y con enfermedad hepática (11). Por último existen derivados de la sangre que son de riesgo menor que los mencionados anteriormente. Estos son: la albúmina sérica, fracción de proteínas plasmáticas, trombina, profibrinolisina, esterilizados por el calentamiento a 60°C durante 10 horas. También es bajo el riesgo de transmisión de hepatitis con el uso de globulina sérica inmune normal y globulina hiperinmune (usada en la profilaxis de hepatitis B, parotiditis, tétano, etc.) y con la transfusión de glóbulos rojos lavados (12).

II. EL VIRUS DE LA HEPATITIS B

La identificación del antígeno "Australia" fue seguida por la identificación de partículas, demostrables mediante la microscopía electrónica. La primera partícula que se reconoció, y la más numerosa, es de forma redondeada y tiene un diámetro de aproximadamente 20 nm. La segunda es de forma tubular o cilíndrica con un diámetro de aproximadamente 20 nm. y una longitud variable. La tercera partícula es, probablemente el virus mismo y se le ha denominado "partícula de Dane". Su diámetro es de aproximadamente 42 nm. y contiene un núcleo o porción central de 27 nm., envuelto por una capa proteica. La porción central es formada en el núcleo de hepatocitos infectados, desde el que migra hacia el citoplasma donde es recubierta con las proteínas que forman la capa externa. Estas dos fracciones tienen propiedades antigénicas diferentes y se denominan HBcAg y HBsAg, respectivamente (Hepatitis B core y hepatitis B surface antigens) (12). La denominación HBsAg es operacional pero, posiblemente inadecuada ya que la superficie incluye a, por lo menos, cinco antí-

genos diferentes: antígeno a, que es un determinante antígeno específico, y dos pares antigénicos subdeterminantes, y mutuamente excluyentes, d-y y w-r. En esta forma, todos los sueros que contienen HBsAg pueden ser divididos en 4 subtipos: adw, adr, ayw y ayr, que han sido utilizados como marcadores epidemiológicos, pero que no aparecen tener importancia clínica (26). Por otro lado, otro antígeno específico, denominado antígeno e, parece tener trascendencia clínica ya que su presencia se ha correlacionado con el desarrollo de hepatitis crónica (25). Los anticuerpos que reaccionan con el antígeno común de la capa externa de la partícula de Dane se denominan anti-HBs, y los que reaccionan con el núcleo central se denominan anti-HBc. En el sujeto expuesto sin anti-HBs pre-existente, el período de incubación puede durar semanas o meses (28 a 160 días). El HBs-Ag aparece entonces en la sangre, seguido a menudo de un plazo breve por la hepatitis clínica y la aparición de anti-HBs. El anti-HBs puede aparecer durante el curso de la infección o aparecer meses más tarde, cuando la infección ha cedido. Un pequeño grupo de pacientes quedan como portadores de HBsAg, pero en la gran mayoría el antígeno desaparece en pocas semanas. Otras personas expuestas al virus pueden desarrollar anti - HBs' sin haber tenido cantidades detectables de HBsAg o signos de daño hepático. Una vez presentes, el anti - HBc y anti-HBs pueden persistir por meses o años.

Los sujetos expuestos que tienen anti-HBs preexistente generalmente presentan un aumento de los títulos de anticuerpo y parecen ser resistentes a la reinfección sin desarrollar, generalmente, signos de hepatitis.

Por último en algunos pacientes la persistencia del HBsAg se acompaña de una hepatitis crónica que puede conducir finalmente a una cirrosis (12,19,20).

III. ETIOLOGIA DE LA HEPATITIS POST-TRANSFUSIONAL O POR INOCULACION

El descubrimiento y la descripción del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBs-Ag, antígeno Australia) han permitido grandes avances en el conocimiento de la naturaleza y epidemiología de la hepatitis tipo B (13). Más recientemente, ha sido identificado un antígeno asociado con la hepatitis viral, tipo A, (HA-Ag) y se han desarrollado métodos para su detección (14,15). Usando estos marcadores serológicos, es posible determinar positivamente en la actualidad, si un episodio de hepatitis es de tipo A o B.

Otras enfermedades infecciosas pueden simular una hepatitis viral: toxoplasmosis, infección por citomegalovirus, o infección por virus de Epstein-Barr, por ejemplo, mononucleosis infecciosa.

Interesantemente, los estudios efectuados utilizando marcadores serológicos han puesto en evidencia casos de hepatitis que no pueden ser atribuídos a los virus A o B ni tampoco a enfermedades infecciosas que simulan una hepatitis. Esta nueva forma de hepatitis, con un período de incubación intermedio, entre el de la hepatitis A y el de la hepatitis B, ha sido denominada "hepatitis no - A, -B" o "hepatitis C" (16,17). Sin embargo, los intentos para identificar un antígeno o partícula viral asociados a esta forma de hepatitis no han tenido éxito hasta ahora.

Hepatitis A : El virus de la hepatitis A, es rara vez transmitido parenteralmente, a través de la administración de sangre o por el uso de agujas y jeringas contaminadas. Probablemente, la razón de esta baja frecuencia

es que el virus de la hepatitis A está presente y desaparece rápidamente después del comienzo de la fase ictérica.

Hepatitis B : La aplicación de las pruebas para determinar los antígenos y anticuerpos asociados a la hepatitis B ha tenido un impacto muy importante en el conocimiento de la epidemiología de la hepatitis B. Es claro, por ejemplo, que si bien la transmisión parenteral del HBsAg es un problema frecuente, la transfusión terapéutica o la inyección de sangre o productos contaminados con HBsAg no es la forma más común de transmisión de la hepatitis B (10). Actualmente se sabe que aproximadamente un 0,5 % de la población de los Estados Unidos de Norteamérica son portadores de HBsAg y que el suero del 15 % a 25 % de los adultos jóvenes contiene anticuerpos (anti-HBs), indicando una exposición previa a la hepatitis B. La adquisición del anti-cuerpo ocurre con mayor frecuencia entre las edades de 15 a 25 años. Además experimentos que demuestran que la Hepatitis B puede ser transmitida por la vía oral, la demostración de HBsAg en secreciones y la alta tasa de transmisión en familiares de portadores sugieren fuertemente que el modo primario de transmisión de la enfermedad es por el contacto personal íntimo y que la infección produce generalmente una enfermedad inaparente (16,18,20).

Sin embargo a pesar de estas consideraciones epidemiológicas, la magnitud del problema de la hepatitis post-transfusional es considerable. En Estados Unidos antes de que se exigiera a los bancos de sangre determinar la presencia de HBsAg en la sangre de los dadores, ocurrían 30.000 casos de hepatitis clínica post-transfusional anualmente, de los cuales 1500 a 3000 fallecían. Desde que se exigió la determinación de HBsAg en todos los donantes, el número de casos ictéricos de hepatitis B post-transfusional se ha reducido substancialmente y, en la actualidad, sólo el 20 % de las hepatitis post-transfusionales pueden ser

atribuídas a este agente causal (18,20).

Hepatitis no A, no B : Como se mencionó, la importancia relativa de un tercer virus de la hepatitis humana ha aumentado desde que la frecuencia de la hepatitis B post-transfusional ha disminuído como consecuencia del uso rutinario de pruebas serológicas para detectar HBsAg. En un estudio en receptores de sangre HBsAg negativa (electroforesis cruzada) la incidencia de hepatitis anictérica fue de 18 casos por 1000 unidades transfundidas, de los cuales 2,9 casos por 1000, solamente, correspondían a hepatitis B (20). Otros estudios sobre hepatitis post-transfusional sugieren que 40 % a 71 % de tales hepatitis son del tipo no A, no B (17,21,22) e indican que en los centros en los que se utilizan los métodos más sensibles de detección del HBsAg, más del 90 % de las hepatitis post-tranfusionales son debidas a una hepatitis no-A, no B (23)

IV. TECNICAS PARA LA DETECCION DEL HBsAg (12)

Las técnicas utilizadas con mayor frecuencia son:

a) Difusión en gel de agar: se basa en la difusión radial de las proteínas séricas desde fositas hechas en una placa de gel de agar, formándose una línea de precipitación donde el antígeno se encuentra con el anticuerpo. Ventajas: Simple, de fácil montaje y bajo costo, es un método de referencia para verificar la especificidad de una reacción. Desventajas: es la técnica menos sensible, y puede requerir varios días para obtener un resultado positivo.

b) Electroforesis cruzada: (inmno electroforesis cruzada) (26). Se ajusta al pH y la fuerza iónica de tal forma

que la aplicación de una corriente eléctrica a través de una placa de gel de agar produce la migración del HBsAg hacia el ánodo y de su anticuerpo hacia el cátodo. Ventajas: Algo más compleja, pero más sensible y rápida (60-90 minutos) que la difusión en gel de Agar. Tiene pocas reacciones no especificas , es de montaje fácil y bajo costo. Denventajas: menos sensible que la hemaglutinación pasiva reversa y el radioinmuno análisis.

c) Hemaglutinación pasiva reversa: (27) Utiliza glóbulos rojos recubiertos con anticuerpo, produciéndose su aglutinación en presencia de HBsAg. Ventajas: Adecuadamente simple, su sensibilidad es cercana a la del radio-inmuno análisis, es rápida (pocas horas),se encuentra disponible en el comercio y su costo es moderado. Desventajas: las reacciones no específicas son relativamente frecuentes.

d) Radio-inmuno análisis : (28) Se basa en la formación de un complejo entre el HBsAg y el anticuerpo en un sistema en el que la marca con yodo radioactivo del anti-HBs puede ser cuantificada. Ventajas: Adecuadamente simple, relativamente rápida (1 día a 45°C), disponible comercialmente, es la técnica de mayor sensibilidad. Desventajas: Caro y su cuantificación es más compleja.

Otros métodos, como la fijación de complemento y la hemaglutinación pasiva, no ofrecen ventajas sobre los descritos y son técnicamente más complejos.

V. MEDIDAS PREVENTIVAS GENERALES DE LA HEPATITIS POST-TRANSFUSIONAL

V.1. SELECCION DE LOS DONANTES DE SANGRE (11,19)

a) En los países en los que existen bancos de sangre comerciales, que efectúan pagos por la donación de sangre, se ha demostrado que la sangre proveniente de ellos es de considerable mayor riesgo en la transmisión de hepatitis post-transfusional. Se ha considerado, por lo tanto, que una medida preventiva importante es la eliminación de las donaciones pagadas.

b) Las personas adictas a drogas, en particular aquéllas que se practican inyecciones, tienen una mayor incidencia de positividad en la determinación de HBs Ag (30). Por lo tanto no deben ser aceptados como donantes.

c) Los individuos que se hayan efectuado tatuaje, deben ser excluídos como donantes hasta 6 meses después de habérselo realizado.

d) Los donantes que han tenido hepatitis en el pasado deben ser excluídos (4).

e) Los donantes que han recibido transfusión de sangre dentro de los seis meses previos deben ser excluídos. (29)

f) Cuando la sangre donada por una persona en el pasado ha sido sospechosa de haber causado hepatitis post-transfusional, ella debe ser excluída como donante.

g) Dado que la condición de portador del virus de la hepatitis puede persistir durante un prolongado perío

do de tiempo, es extremadamente importante que los portadores sean identificados y excluídos de futuras donaciones. Es evidente, por lo tanto la necesidad de un sistema de notificación y resgistro de los casos de hepatitis viral y de sus contactos, ya que las medidas anteriores no permiten eliminar a todos los portadores de virus.

V.2. DETECCION DE PORTADORES MEDIANTE TECNICAS DE LABORATORIO

a) El estudio de los donantes con exámenes de "función hepática", por ejemplo transaminasas séricas, bilirrubinemia, etc., no es útil.

b) Detección de portadores de HBsAg. La detección de marcadores del virus de la hepatitis B, como el HBsAg, ha contribuído, indudablemente, a disminuír la frecuencia de hepatitis post-transfusional. Sin embargo, como se mencionó antes, la reducción de la incidencia no ha sido, en general, superior al 25% (16, 18, 20, 23).

Esta ineficiencia relativa para eliminar la hepatitis post-transfusional depende probablemente de dos factores. Primero las técnicas de detección de HBsAg no son lo suficientemente sensibles como para detectar a todos los portadores de virus de la hepatitis B. El suero puede ser diluído bastante más allá de los límites de sensibilidad de todos los métodos de detección de HBsAg y aún puede ser infectante al ser inyectado en el ser humano (31).

Por otro lado existe la posibilidad de que uno o más virus, distintos al causante de la hepatitis B y no detectables por los métodos actuales sean responsables de la mayor parte de las hepatitis post-transfusionales en la actualidad.

V.3. EVALUACION DE LA NECESIDAD DE TRANSFUSION

a) Es necesario definir cuidadosamente el grado de anemia de un paciente determinado, incluyendo una adecuada estandarización de los métodos de laboratorio que permiten cuantificarla, en particular, la hemoglobinometría. En esta forma se evitarán transfusiones innecesarias.

b) En general, hay acuerdo de que es criticable iniciar la transfusión de sangre con la intención de administrar al paciente solamente una unidad de sangre. Sin embargo si después de haber iniciado la transfusión es aparente que sólo se requerirá una unidad de sangre para llevar al paciente a una condición hemodinámica adecuada, no deberá administrarse entonces otra unidad de sangre adicional.

c) Si es preciso utilizar sangre total o derivados de "riesgo intermedio" (glóbulos rojos concentrados, plasma fresco congelado, plasma de un donante único y plaquetas) deberá administrarse la cantidad mínima necesaria para lograr el fin terapéutico.

d) No debe utilizarse productos de "alto riesgo" (plasma obtenido de varios donantes, factores de coagulación) cuando es posible usar un sustituto más seguro (albúmina, fracción de proteínas plasmáticas , plasma fresco congelado).

Para un adecuado control del problema de la hepatitis asociada a transfusiones es necesario llevar un registro adecuado de las transfusiones o derivados de ésta. Esto es indispensable para poder identificar al receptor de una unidad de sangre determinada y, por otro lado, para identificar las unidades recibidas por un

mismo paciente.
En esta forma, los portadores no detectados por la medición del HBsAg, podrán ser identificados y excluídos de futuras donaciones.
Por último es necesario tener presente que cualquier instrumento que penetre la piel o mucosas de una persona o que se contamine con sangre, con productos de secreción glandular u otras secreciones (saliva, bilis, lágrimas, leche materna, secreciones vaginales, semen, orina y secreción nasal o bronquial) o con deposiciones, debe ser esterilizado adecuadamente para evitar que transmita la hepatitis a otra persona.

V.4. INMUNIZACION PASIVA (29)

La utilidad de la globulina sérica inmune (G S I) en la prevención de la hepatitis B ha sido objeto de controversia, siendo su efectividad en general, nula o escasa. Es probable que esto se deba, en parte a la variabilidad en el contenido de anti-HBs de los distintos lotes de GSI. La eficacia de la inmunización pasiva en la hepatitis B dependerá de dos factores, por lo menos.

a) La cantidad de anticuerpo protector (incluyendo posiblemente anticuerpos contra formas de hepatitis no - A, no B en cada lote de G S I.

b) La dosis de virus que es transmitida por las unidades de sangre transfundida, por una inoculación accidental o por otro procedimiento.
Estudios recientes sugieren que el uso de GSI con títulos altos de anti-HBs (GSI - HB o gama globulina hiperinmune) puede tener un efecto protector más significativo (29, 32), y se está investigando su efectividad en la prevención de hepatitis B después de

transfusiones múltiples, inoculación accidental o hemodiálisis.
Mientras no se disponga de GSI-HB se sugiere administrar GSI a las personas que han recibido sangre o derivados potencialmente infectantes, que han sufrido una inoculación accidental o que han tenido contacto íntimo con un portador de HBsAG. La dosis de GSI en adultos (50 Kg o más de peso corporal) es de 5.0 cc. de la solución al 16 % (Ampollas de 2 cc., que contienen 320 mg. de gamaglobulina).

V.5. INMUNIZACION ACTIVA

La búsqueda de una vacuna que pueda proporcionar protección contra la hepatitis B ha sido estimulada por dos tipos de observaciones:

1) Las personas que poseen anti-HBs en la sangre antes de la inoculación o de la transfusión infectante (HBsAg positiva) están protegidas total o parcialmente contra la hepatitis B (33).

2) El suero contaminado con virus de la hepatitis B que es diluído con agua destilada y calentado a 98°C durante un minuto es antigénico, pero no infectante y su uso se asocia a un efecto protector, a una atenuación de la infección por hepatitis B y a una disminución de la frecuencia de portadores de HBsAg (29).
Dado que el anti-HBc no es anticuerpo protector, se está investigando actualmente la posibilidad de utilizar HBsAg purificado o algunos de sus polipéptidos o glucolípidos, para obtener una inmunización activa adecuada con un riesgo mínimo de infección por la vacuna misma.
Es posible que la mayor utilidad de una futura vacuna anti-hepatitis B sea la prevención de la infección en

personas especialmente expuestas, por ejemplo, personas propensas a ser portadores de HBsAg (retardados mentales), personas en las cuales puede anticiparse un riesgo de infección (necesidad de transfusiones periódicas) y personas expuestas al riesgo por la naturaleza de su trabajo.

B I B L I O G R A F I A

1. SPURLING, N., et. al.
Incidence, incubation period and symptomatology of homo logous serum jaundice.
British Med. J. 2: 409, 1946

2. RUBINSON, R.M., et. al.
Serum hepatitis after open-heart operation.
J. Thor Card. Surg 50: 575, 1965

3. ALLEN, J.C., et. al.
Serum hepatitis from transfusions of blood.
J.A.M.A. 180: 1079, 1962

4. EGOZ, N., et. al.
Viral hepatitis in Israel: transfusion associated hepatitis.
Transfusion 12: 12, 1972.

5. KATZ, R., et. al.
Post-transfusion hepatitis-effect of modified gamma globulin added to blood in vitro.
New Engl. J. Med. 285:925, 1971.

6. National Transfusion Hepatitis Study: Risk of post-transfusion hepatitis in the United States; a prospective coope - rative study.
J.A.M.A. 220:692, 1972.

7. KATZ, R., et.al.
Incidencia de la hepatitis consecutiva a transfusión de sangre y estudio de los dadores como posibles transmisores.
Rev. Med. Chile 83:101, 1955.

8. MEZA ARRAU, C., et. al.
Frecuencia de la hepatitis post-transfusional de sangre.
Rev.Med. Chile 86:106, 1958.

9. GIORGINI, G.L.
Radioinmunoassay detection of hepatitis type B antigen.
J.A.M.A. 222: 1514, 1972.

10. BARKER, L.F.
Viral hepatitis, Type B.
The Yale J. of Biol. and Med. 49:235, 1976.

11. SANDLER S.G.,et. al.
Prothrombin Complex concentrates in acquired hypopro - thrombinemia.
Ann. Intern. Med. 79:485, 1973.

12. SCHIFF, L.
Diseases of the liver. J.B. Lippincott Co.
Philadelphia, Toronto.pp. 500-593, 1975.

13. BLUMBERG, Bs., et. al.
Hepatitis and leukemia their relation to Australia antigen.
Bull NY Acad. Med. 44:1566, 1968.

14. FEINSTONE,S.M., et. al.
Hepatitis A: detection by inmune EM of a virus like antigen associated with acute illness.
Science 182: 1026, 1973.

15. MILLER, W.J. et. al.
Specific inmune adherence assay foy human hepatitis A antibody. Application to diagnostic and epidemiologic investigation.
Proc. Exp. Biol. Med. 149:254, 1975.

16. MOSLEY, J.W.
Hepatitis type B and nom-B. Epidemiologic back-ground.
J.A.M.A. 233:967, 1975.

17. HOOFNAGLE J.H., et. al.
Transmission of nom-A, nom-B Hepatitis.
Ann. Intern. Med. 87:14, 1977.

18. CONRAD, M.E., et. al.
Viral hepatitis-1975
J.A.M.A. 233:1277, 1975.

19. GITNICK, G.L. et. al.
The liver and the antigens of hepatitis B.
Ann Intern. Med. 85:488, 1976.

20. MELNICK, J.L. et. al.
Recent advances in viral hepatitis.
South Med. J. 69:634, 1976.

21. ALTER, H.J., et. al.
Clinical and serological analysis of transfusion-associa ted hepatitis.
Lancet 2:838, 1975.

22. PRINCE, A.M. et. al.
Long-incubation post-transfusion hepatitis without serolo gical evidence of exposure to hepatitis B virus.
Lancet 2:241, 1974.

23. SEEFF, L.B., et. al.
VA cooperative Study of post-transfusion hepatitis, 1969-1974. Incidence and characteristics of hepatitis and responsible risk factors.
Ann. J. Med. Sec. 270:355, 1975

24. LE BOUVIER,G.L.
Subtypes of hepatitis B antigen: clinical relevance ?
Ann. Intern. Med. 78:894, 1973.

25. NIELSEN J.O., et. al.
Incidence and meaning of the "e" determinant among hepatitis-B antigen positive patiens with acute and chronic liver deseases.
Lancet 2: 913, 1974.

26. PRINCE,A.M., et. al.
Serum hepatitis antigen (SH): rapid detection by high voltage inmunoelectro osmophoresis.
Science 169: 593, 1970.

27. VYAS G.N., et. al.
Hemogglutination assay for antigen and antibody associate with viral hepatitis.
Science 170:332, 1970.

28. WALSH, J.H., et. al.
Detection of Australia antigen and antibody by means of radioinmunoassay techniques.
J. Infect. Dis. 121:550, 1970.

29. KRUGMAN, S.
The prevention of viral hepatitis.
Ann. Clin. Res. 8:216, 1976.

30. CHERUBIN, C.E., et. al.
Persistence of transaminase abnomalities in former drugs addicts.
Ann. Intern. Med. 76:385, 1972.

31. BARKER L.F., et. al.
Transmission of serum hepatitis.
J.A.M.A. 211:1509, 1970

32. GRADY, G.F.
Passive inmunization against viral hepatitis.
Ann. J. Med. Su. 270:369. 1975.

33. HOLLIGER, F.B. et. al.
A prospective study indicating that double-antibody radioinmunoassay reduces the incidence of post-transfusion hepatitis B.
N. England J. Med. 290: 1104, 1974.