

Hepatitis C en el trasplante hepático

CLÍNICA Y DIAGNÓSTICO pág. 110

HISTORIA Y EVOLUCIÓN pág. 115

TRATAMIENTO pág. 119

Puntos clave

La recidiva de la infección por el virus de la hepatitis C (VHC) se da de modo universal tras el trasplante hepático (TH).

Tras la reperfusión del injerto, se produce un descenso rápido de la carga viral (CV) que traduce la entrada masiva de viriones en los hepatocitos del injerto.

A partir de las 12 h tras la reperfusión, se asiste a un aumento progresivo de la CV que puede llegar a alcanzar valores iguales o superiores a los pre-TH a los 5 días de la intervención.

La respuesta inmunológica específica en el ámbito humoral y celular desencadenada contra el VHC puede condicionar la gravedad de la recurrencia de la infección en el injerto.

El tratamiento antiviral en lista de espera para TH muestra una eficacia limitada y una mala tolerancia.

El uso de gammaglobulinas hiperinmunes anti-C en la prevención de la recurrencia de la infección por el VHC tras el TH no ha dado resultados positivos.

Fisiopatología de la reinfección por el virus de la hepatitis C en el hígado trasplantado y profilaxis de ésta

MONTSERRAT GARCÍA RETORTILLO

Unitat de Digestiu. Hospital de Mataró. Mataró. Barcelona. España.

La recidiva de la infección por el virus de la hepatitis C (VHC) tras el trasplante hepático (TH) es universal y la hepatopatía que produce evoluciona de modo mucho más rápido que en individuos inmunodeprimidos^{1,2}. Hasta un 30% de los pacientes trasplantados que están infectados por el VHC presentan de nuevo una cirrosis hepática a los 5 años tras el TH, lo que comporta una supervivencia peor a largo plazo^{2,3}. Dado que la cirrosis por el VHC es la primera indicación de TH en nuestro medio y que no disponemos de medidas eficaces para evitar la recidiva posterior, ésta se considera uno de los problemas principales para los equipos de TH de todo el mundo.

Cinética viral de la reinfección del virus de la hepatitis C y evolución de las cuasiespecies en la fase postrasplante temprana

La recurrencia de la infección por el VHC es un proceso que aparece de modo inmediato tras el trasplante. Para el estudio de la cinética viral post-TH, se han utilizado modelos matemáticos que en su día ayudaron a la comprensión de la infección por el HIV y del efecto de los antirretrovirales. Estos modelos, aplicados al VHC, han permitido un mayor conocimiento del ciclo vital de este virus y es

de esperar que permitan el diseño de estrategias más efectivas en el control de la recidiva de la infección post-TH.

Aunque inicialmente se pensaba que la replicación del VHC en el injerto no comenzaba hasta días después del trasplante, estudios recientes demuestran que ésta aparece a las pocas horas tras la reperfusión del injerto. El primer estudio en analizar la cinética viral de la reinfección del VHC lo publicaron Fukumoto et al⁴. En él se ponía de relieve que la reinfección se daba de modo universal en todos los pacientes que presentaban ARN del VHC detectable en sangre en el momento del TH y que la replicación se iniciaba a los pocos días de la intervención. Sin embargo, en un estudio posterior de García-Retortillo et al⁵, con toma de muestras en la fase anhepática, fase de reperfusión y de forma seriada tras la reperfusión del injerto, se demostraron varios hechos. El primero fue que, de forma constante, en los 20 pacientes analizados, aparecía un descenso rápido de viremia en la fase anhepática que llegaba a un mínimo a las 8-24 h tras la reperfusión del injerto (descenso medio de la CV 1,53 log₁₀ U/ml). El descenso de la carga viral (CV) en esta fase postrasplante inmediato traduciría la entrada masiva de viriones circulantes en los hepatocitos y en las células reticuloendoteliales del nuevo injerto. A partir de ese momento, la CV aumentaba de forma progresiva en los días siguientes hasta alcanzar valores similares a los basales a los 5 días tras el TH en una proporción significativa de los pacientes analizados (fig. 1). Se ha podido establecer que la infección del injerto se produce a partir de los viriones circulantes en sangre periférica

Lectura rápida



La recidiva de la infección por el virus de la hepatitis C (VHC) tras el trasplante hepático (TH) se da de forma universal y temprana.

La reinfección del injerto hepático se produce a partir de las partículas virales circulantes, las cuales se pueden detectar en suero durante todo el TH y en la fase inmediatamente posterior.

A pesar de que el ARN-VHC se detecta de forma temprana tras el trasplante, la lesión histológica no aparece hasta unas semanas después.

La respuesta inmune que se origina a partir de la recidiva de la infección puede, en parte, condicionar el tipo de evolución de la hepatopatía en el injerto.

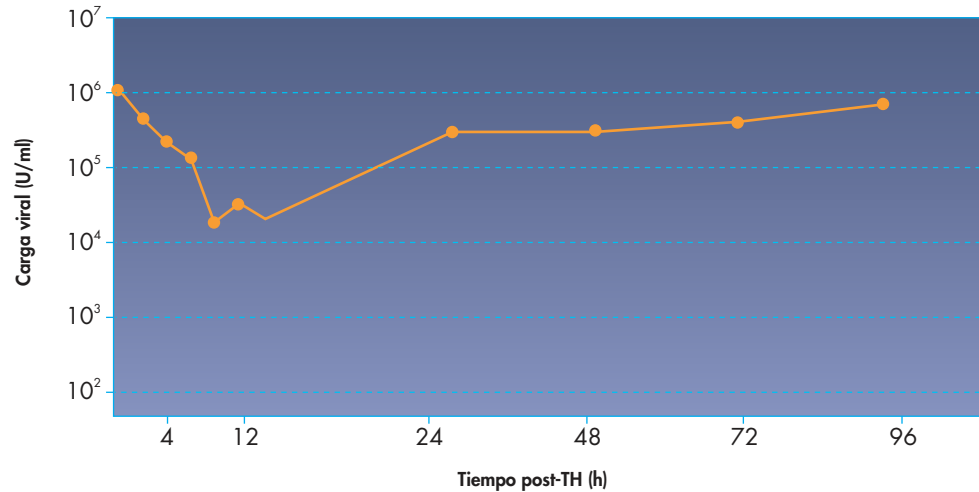


Figura 1. Cinética de la recurrencia de la infección por el virus de la hepatitis C en la fase inmediata post-TH. En la gráfica de un paciente tipo se describe la evolución de la carga viral tras el TH.

Como se puede observar, durante la fase anhepática y de reperfusión, se observa un rápido descenso de la carga viral (CV) que puede alcanzar los 2 log. Se alcanza un mínimo entre las 4-12 h. A partir de ese momento, se asiste a un aumento progresivo de la CV hasta llegar a valores similares a los basales a los pocos días después del TH.

en la mayoría de los pacientes y que, una vez que estos logran infectar el injerto, los hepatocitos de éste se transforman en la principal fuente de replicación viral^{5,6}. Sin embargo, algunos autores señalan que hasta un 4% de los viriones circulantes durante esta fase podrían proceder de la replicación en reservorios extrahepáticos^{6,7}. Aunque no hay confirmación sobre cuáles pudieran ser estas fuentes extrahepáticas de viriones, se especula sobre el papel que en este sentido desempeñarían las células mononucleares circulantes de sangre periférica.

El VHC circula en el individuo inmunocompetente como un conjunto de secuencias genómicas muy similares entre sí, pero diferentes, conocidas como *cuasiespecies*⁸. Esta característica genética del VHC se ha relacionado con los mecanismos de persistencia que utilizaría el virus para escapar de la vigilancia inmune del huésped y así lograr la cronicidad de la infección⁹. Tras el TH, se observa una evolución de las cuasiespecies hacia una población viral más homogénea desde el punto de vista genético (disminución de la distancia genética entre las diferentes cuasiespecies circulantes)^{10,11}. A pesar de que aún no se conocen con exactitud los mecanismos de entrada en el hepatocito que utiliza el VHC, es de suponer que no todas las cuasiespecies preexistentes deben estar igualmente capacitadas para infectar el nuevo injerto. Así, el proceso de contacto e internalización de las partículas virales en el hepatocito actúa como un “cuello de botella”, y selecciona las varian-

tes con más capacidad de adaptación al medio^{8,10,12}. Pero la tendencia a la homogeneización de las cuasiespecies parece ir más allá de los primeros días e incluso se hace más evidente a las 3-4 semanas del TH. Este aumento en la homogeneidad de las cuasiespecies más allá de la primera semana post-TH estaría ocasionado por la ausencia de presión inmune secundaria a los valores elevados de inmunodepresión que caracterizan la fase posterior al trasplante. Por otro lado, la evolución de la composición de las cuasiespecies en el TH se ha relacionado con la gravedad de la recurrencia de la infección en el injerto hepático. Algunos estudios, aunque no todos, han relacionado una mayor homogeneidad de la población de las cuasiespecies virales con una recidiva más agresiva, lo que probablemente refleja una respuesta inmune del huésped menos efectiva en el control de la infección^{13,14}.

Mecanismos patogénicos del virus de la hepatitis C y la repercusión en el injerto hepático

Si bien la producción de viriones en el injerto hepático se inicia en las primeras horas tras la reperfusión del injerto, no parece haber evidencia de lesión histológica hasta transcu-

rridas unas 3 semanas del trasplante¹⁵. La lesión histológica precede a la elevación de las transaminasas y la clínica de hepatitis aguda que típicamente pueden aparecer entre 1 y 3 meses tras el trasplante. La hepatitis aguda en el injerto muestra un infiltrado inflamatorio portal y lobulillar. En esta fase más del 90% de los hepatocitos pueden estar infectados según se desprende de algunos estudios que utilizan técnicas de inmunohistoquímica. En estos estudios se ha podido observar un infiltrado inflamatorio constituido por linfocitos CD8+ y CD57+ que, a través del contacto con los hepatocitos infectados, produciría un aumento de la apoptosis y de la proliferación celular¹⁶.

La hepatitis colestásica fibrosante representa una forma inusual (menos del 10% de los casos), pero muy grave, de recurrencia de la infección por el VHC que se caracteriza por colestasis e ictericia progresiva. Se asocia a una CV muy elevada y se ha relacionado con una inmunodepresión más radical. Aparece a las pocas semanas del TH y evoluciona rápidamente hacia una hepatitis grave. El pronóstico es ominoso y conlleva una mortalidad muy elevada en ausencia de tratamiento antiviral eficaz o de retrasplante. En las biopsias de estos pacientes se observan signos de colestasis y fibrosis sin apenas infiltrado inflamatorio, con grado variable de necrosis^{17,18}. Hay pocos estudios que hayan analizado el patrón de respuesta inmune en esta entidad. Los pocos datos de los que se dispone parecen sugerir que prácticamente hay una ausencia de respuesta específica CD4 contra el VHC por parte de los linfocitos circulantes y que, en el ámbito intrahepático, la respuesta inmune no específica está desviada hacia un tipo de respuesta TH2 más que TH1, con valores elevados de producción de IL-10 y de IL-4^{19,20}. Así pues, la lesión histológica se produciría por un efecto citopático directo del VHC.

Estrategias profilácticas para evitar la recidiva de la infección por el virus de la hepatitis C tras el trasplante hepático

De los datos de cinética viral descritos anteriormente, se desprende que una estrategia verdaderamente profiláctica de la recurrencia de la infección por el VHC tras el TH debería aplicarse en la fase pre-TH o inmediatamente posterior al trasplante. Idealmente se evitaría que las partículas virales llegaran a contactar con los hepatocitos del injerto, por lo que no se produciría lesión histológica alguna. Sin embargo, en el momento actual, no hay medidas profilácticas realmente eficaces, si bien hay estudios que pretenden acercarse a este objetivo. En el futuro deberá establecerse si estas medidas por sí solas o, más probablemente, en combinación con otras estrategias de tratamiento post-TH permitirán controlar o disminuir los efectos de la reinfección por el VHC tras el TH.

Tratamiento antiviral en lista de espera

En los últimos años han aparecido estudios que han evaluado la eficacia y la seguridad del tratamiento antiviral en lista de espera para prevenir la recidiva de la infección del VHC post-TH²¹⁻²³. Se trata de unos pocos estudios con un número limitado de pacientes, pero con resultados relevantes, los cuales se resumen en la tabla 1. Si bien la eficacia del tratamiento antiviral en lista de espera es de alrededor de un 30%, estos estudios confirman que la erradicación de la infección del VHC no sólo es posible antes del TH aún en pacientes con hepatitis C avanzada, sino que esta

Lectura rápida



Hasta la fecha, no hay medidas realmente eficaces para prevenir la recurrencia de la infección por el VHC tras el TH.

El tratamiento antiviral en lista de espera es eficaz en un tercio de los pacientes tratados, si bien sólo en un 20% de los casos se alcanza la erradicación de la infección post-TH.

Las medidas de inmunoprofilaxis ensayadas hasta el momento no se han mostrado eficaces en la prevención de la recurrencia de la infección y serán necesarios nuevos estudios para establecer cuál podrá ser su papel en el futuro.



Tabla 1. Tratamiento antiviral en lista de espera para TH

	n	Régimen de tratamiento	RV (%)	Recurrencia tras el TH
Crippin et al ²¹	15	IFN mono 1 o 3 MU 3 veces/semana o IFN (3 MU 3 veces/semana) más RIB (800 mg/día)	33	–
Everson et al ²²	124	Low accelerating dosage regimen (IFN más RIB a dosis crecientes según tolerancia)	46	3/15
Forns et al ²³	30	IFN 3 MU/día más RIB 800 mg/día	30	3/9

IFN: interferón; RIB: ribavirina; RV: respuesta virológica; TH: trasplante hepático.

Bibliografía recomendada

García-Retortillo M, Forns X, Feliu A, Moitinho E, Costa J, Navasa M, et al. Hepatitis C virus kinetics during and immediately after liver transplantation. *Hepatology*. 2002;35:680-7.

Descripción detallada de la cinética viral del virus de la hepatitis C (VHC) inmediatamente después del trasplante hepático (TH). En este estudio se demuestra que la recurrencia de la infección se da de modo inmediato tras la reperusión del injerto y que los viriones circulantes son la principal fuente de infección. La replicación viral en el injerto comienza a las pocas horas del TH, lo que traduce una enorme capacidad del VHC para adaptarse a un nuevo entorno.

Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Genetic-Heterogeneity of hepatitis C virus-Quasiespecies and Genotypes. *Semin Liver Dis*. 1995;15:41-63.

Capítulo de la revisión de la revista Seminars in Liver Diseases en el que se describe la heterogeneidad genética del virus de la hepatitis C (VHC), tanto en los genotipos como en las quasiespecies. Lectura recomendable para entender algunos de los mecanismos de persistencia del VHC y las estrategias que utiliza para escapar al sistema inmune del huésped.

respuesta virológica se mantiene después del trasplante, a pesar de la inmunodepresión. Everson et al²² utilizaron un régimen de tratamiento con dosis crecientes de antivirales en 124 pacientes cirróticos descompensados. La respuesta virológica apareció en un 46% de los pacientes. Un 24% alcanzó una respuesta virológica sostenida (RVS). De los 15 pacientes que llegaron con ARN indetectable en el momento del trasplante, sólo 3 presentaron recidiva post-TH. En el estudio de Forns et al²³ se administraron dosis plenas de interferón más ribavirina a 20 pacientes en lista de espera para TH. El tratamiento se iniciaba unos meses antes del trasplante y se mantenía hasta el día de la intervención. Se logró la negativización del ARN del VHC en el 30% de los pacientes, pero se comprobó la recidiva post-TH en 3 pacientes (RVS del 20%).

El principal problema de esta estrategia es la mala tolerancia por parte de los pacientes que obliga a realizar modificaciones frecuentes de las dosis de antivirales y a la utilización de eritropoyetina o de factores estimulantes de colonias granulocíticas para paliar la anemia y la leucopenia resultantes del tratamiento. En resumen, la experiencia acumulada por estos estudios sugiere que el tratamiento en lista de espera debería ofrecerse a todos los pacientes con una función hepática conservada (Pugh-Child A). En pacientes Pugh-Child B, o incluso C, la indicación de tratamiento debería individualizarse. En estos casos, deberían tenerse en cuenta, entre otros, factores de buena respuesta al tratamiento, como son la carga viral baja o un genotipo no-1. En cualquier caso, sólo debería plantearse en centros con experiencia suficiente en el tratamiento de estos pacientes.

Administración de gammaglobulinas hiperinmunes peritrasplante hepático

En la hepatitis C se ha intentado hallar una gammaglobulina hiperinmune capaz de prevenir la recurrencia de la infección post-TH. La hipótesis consiste en que la administración exógena de anticuerpos específicos contra el VHC podría neutralizar e inactivar los viriones circulantes, y de esta manera impedir la infección del injerto. Hay evidencias in vitro que demuestran que anticuerpos monoclonales y policlonales dirigidos contra la proteína de la envoltura E2 son capaces de neutralizar el VHC^{24,25}. Algunas regiones del genoma del VHC se han propuesto como las principales dianas de neutralización, como la región hipervariable 1 (HVR-1), dentro de la glucoproteína de la envoltura viral E2. Sin embargo, estudios recientes parecen demostrar que otros epítomos de neutralización podrían ser igual-

mente importantes, como la región para la unión con CD81 de E2^{26,27}. La razón por la que los anticuerpos procedentes de un solo donante sólo protegen de un modo parcial, se encuentra en la heterogeneidad genética que presenta el VHC, es decir, en la presencia de las cuasiespecies²⁶. Algunos experimentos llevados a cabo con anticuerpos policlonales específicos contra el VHC y procedentes de diferentes donantes administrados a chimpancés han logrado prevenir o diferir la infección cuando se administraban al animal antes que el inóculo infeccioso²⁸. Sin embargo, estos resultados no se han podido reproducir en humanos.

Hasta la fecha, hay 2 estudios que han intentado explorar esta estrategia para evitar la recurrencia de la infección por el VHC tras el TH. El primer intento realizado es un estudio piloto en el que se administraron dosis bajas de inmunoglobulina anti-E2 en la fase peritrasplante. Los autores no detectaron ningún efecto en la carga viral o en la evolución clínica de la infección, lo que parece que se debió a la dosis extremadamente baja utilizada²⁹. Sin embargo, posteriormente, Davis et al³⁰ diseñaron un estudio multicéntrico y aleatorizado en el que se incluyó a 18 pacientes que se aleatorizaron en 3 ramas de tratamiento en el que administraron la gammaglobulina anti-E2 a dosis bajas (grupo 1), a dosis altas (grupo 2) o no se administraba (grupo control). La administración se iniciaba entre 8 y 12 h post-TH y a diferentes intervalos hasta el día 98 post-TH. A pesar de que no se consiguió un efecto positivo en la carga viral, en el grupo que recibió inmunoglobulina a dosis altas hubo una tendencia a presentar menor elevación de las transaminasas. Los autores concluyen que estos resultados justifican la puesta en marcha de otros estudios que evalúen la eficacia de la administración de la inmunoglobulina a dosis más altas o por períodos más prolongados. Es de esperar que un mejor conocimiento de la interacción virus-complejo receptor celular sea de gran utilidad para redefinir el papel de las inmunoglobulinas en la prevención de la recurrencia del VHC post-TH.

Bibliografía

 www.ghcontinuada.com
Encontrará enlaces a los resúmenes de esta bibliografía

- Importante ●● Muy importante
- Ensayo clínico controlado

1. Berenguer M, Ferrell L, Watson J, Prieto M, Kim M, Rayon M, et al. HCV-related fibrosis progression following liver transplantation: increase in recent years. *J Hepatol*. 2000;32:673-84.

Bibliografía recomendada

McCaughan GW, Zekry A. Mechanisms of HCV reinfection and allograft damage after liver transplantation. *J Hepatol*. 2004;40:368-74.

Revisión completa de los diferentes aspectos fisiopatológicos implicados en la reinfección del injerto por el virus de la hepatitis C tras el trasplante hepático y de sus consecuencias.

Kaplan M, Gawrieths S, Cotler SJ, Jensen DM. Neutralizing antibodies in hepatitis C virus infection: a review of immunological and clinical characteristics. *Gastroenterology*. 2003;125:597-604.

Revisión sobre el papel de los anticuerpos neutralizantes del virus de la hepatitis C (VHC) y su lugar en la clínica. Implicaciones en la inmunoprofilaxis de la infección por el VHC.

2. ● Prieto M, Berenguer M, Rayon JM, Cordoba J, Arguello L, Carrasco D, et al. High incidence of allograft cirrhosis in hepatitis C virus genotype 1b infection following transplantation: relationship with rejection episodes. *Hepatology*. 1999;29:250-6.
3. Forman LM, Lewis JD, Berlin JA, Feldman HI, Lucey MR. The association between hepatitis C infection and survival after orthotopic liver transplantation. *Gastroenterology*. 2002;122:889-96.
4. Fukumoto T, Berg T, Ku Y, Bechstein WO, Knoop M, Lemmens HP, et al. Viral dynamics of hepatitis C early after orthotopic liver transplantation: evidence for rapid turnover of serum virions. *Hepatology*. 1996;24:1351-4.
5. ● García-Retortillo M, Forns X, Feliu A, Moitinho E, Costa J, Navasa M, et al. Hepatitis C virus kinetics during and immediately after liver transplantation. *Hepatology*. 2002;35:680-7.
6. Dahari H, Feliu A, García-Retortillo M, Forns X, Neumann AU. Second hepatitis C replication compartment indicated by viral dynamics during liver transplantation. *J Hepatol*. 2005;42:491-8.
7. Powers K, Ribeiro RM, Patel K, Pianko S, Nyberg L, Pockos P, et al. Kinetics of hepatitis C virus reinfection after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2006;12:207-16.
8. Martell M, Esteban JI, Quer J, Genesca J, Weiner A, Esteban R, et al. Hepatitis C virus (HCV) circulates as a population of different but closely related genomes—Quasispecies nature of HCV genome distribution. *J Virol*. 1992;66:3225-9.
9. Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Genetic-Heterogeneity of hepatitis C virus-quasispecies and genotypes. *Seminars in Liver Diseases*. 1995;15:41-63.
10. Feliu A, Gay E, García-Retortillo M, Saiz JC, Forns X. Evolution of hepatitis C virus quasispecies immediately following liver transplantation. *Liver Transpl*. 2004;10:1131-9.
11. Hughes MG, Rudy CK, Chong TW, Smith RL, Evans HL, Iezzoni JC, et al. E2 quasispecies specificity of hepatitis C virus association with allograft immediately after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2004;10:208-16.
12. Martell M, Esteban JI, Quer J, Vargas V, Esteban R, Guardia J, et al. Dynamic behavior of hepatitis C quasispecies in patients undergoing orthotopic liver transplantation. *J Virol*. 1994;68:3425-6.
13. Lyra C, Fan X, Lang DM, Yusim K, Ramrakhiani S, Brunt EM, et al. Evolution of hepatitis C virus quasispecies after liver transplantation. *Gastroenterology*. 2002;123:1485-93.
14. Arenas J, Khatib MA, Groninger H, Wilkinson J, Williams J, Mulligan D, et al. Pattern of HCV quasispecies transmission and evolution after liver transplantation predict de severity of recurrence. *Hepatology*. 2002;36:179A.
15. Guerrero RB, Batts KP, Burgart LJ, Barrett SL, Germer JJ, Poterucha J, et al. Early detection of hepatitis C allograft reinfection after orthotopic liver transplantation. *Mod Pathol*. 2000;13:229-37.
16. Ballardini G, De Raffe E, Groff P, Bioulac-Sage P, Grassi A, Ghetti S, et al. Timing of reinfection and mechanisms of hepatocellular damage in transplanted hepatitis C virus-reinfected liver. *Liver Transpl*. 2002;8:10-20.
17. Sreekumar R, Gonzalez-Koch A, Maor-Kendler Y, Batts K, Moreno-Luna L, Poterucha J, et al. Early identification of recipients with progressive histologic recurrence of hepatitis C after liver transplantation. *Hepatology*. 2000;32:1125-30.
18. Doughty AL, Spencer JD, Cossart YE, McCaughan GW. Cholestatic hepatitis after liver transplantation is associated with persistently high serum hepatitis C virus RNA levels. *Liver Transpl Surg*. 1998;4:15-21.
19. Rosen HR, Hinrichs DJ, Gretch DR, Koziel MJ, Chou S, Houghton M, et al. Association of multispecific CD4(+) response to hepatitis C and severity of recurrence after liver transplantation. *Gastroenterology*. 1999;117:926-32.
20. Zekry A, Bishop GA, Bowen DG, Gleeson MM, Guney S, Painter DM, et al. Intrahepatic cytokine profiles associated with post-transplantation hepatitis C virus-related liver injury. *Liver Transpl*. 2002;8:292-301.
21. Crippin JS, McCashland T, Terrault N, Sheiner P, Charlton MR. A pilot study of the tolerability and efficacy of antiviral therapy in hepatitis C virus-infected patients awaiting liver transplantation. *Liver Transpl*. 2002;8:350-5.
22. ● Everson GT, Trotter J, Forman L, Kugelmas M, Halprin A, Fey B, et al. Treatment of advanced hepatitis C with a low accelerating dosage regimen of antiviral therapy. *Hepatology*. 2005;42:255-62.
23. ● Forns X, García-Retortillo M, Serrano T, Feliu A, Suarez F, De la Mata M, et al. Antiviral therapy of patients with decompensated cirrhosis to prevent recurrence of hepatitis C after liver transplantation. *J Hepatol*. 2003;39:389-96.
24. Tarr AW, Owsianka AM, Timms JM, McClure CP, Brown RJ, Hickling TP, et al. Characterization of the hepatitis C virus E2 epitope defined by the broadly neutralizing monoclonal antibody AP33. *Hepatology*. 2006;43:592-601.
25. Farci P, Alter HJ, Wong DC, Miller RH, Govindarajan S, Engle R, et al. Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees after antibody-mediated in vitro neutralization. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:7792-6.
26. ● Farci P, Shimoda A, Wong DC, Cabezon T, De Gioannis D, Strazzer A, et al. Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees by hyperimmune serum against the hypervariable region 1 of the E2 protein. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93:15394-9.
27. Keck ZY, Op De Beeck A, Hadlock KG, Xia J, Li TK, Dubuisson J, et al. Hepatitis C virus E2 has three immunogenic domains containing conformational epitopes with distinct properties and biological functions. *J Virol*. 2004;78:9224-32.
28. Yu MW, Bartosch B, Zhang P, Guo ZP, Renzi PM, Shen LM, et al. Neutralizing antibodies to hepatitis C virus (HCV) in immune globulins derived from anti-HCV-positive plasma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101:7705-10.
29. Willems B, Ede M, Marotta P, Wall M, Greig P, Lilly L, et al. Anti-HCV human immunoglobulins for the prevention of graft infection in HCV-related liver transplantation, a pilot study. *J Hepatol*. 2002;36 Suppl 1:32.
30. Davis GL, Nelson DR, Terrault N, Pruetz TL, Schiano TD, Fletcher CV, et al. A randomized, open-label study to evaluate the safety and pharmacokinetics of human hepatitis C immune globulin (Civavir) in liver transplant recipients. *Liver Transpl*. 2005;11:941-9.