

Un tentativo di migliorare la classificazione delle epatiti croniche HCV-correlate

An attempt to improve classification of HCV-correlated chronic hepatitis

Giuseppe Pasquale¹, Evangelista Sagnelli^{1,2}, Nicola Coppola^{1,2}, Mirella Onofrio¹, Ferdinando Scarano¹, Carlo Scolastico¹, Patrizia Franca Bellomo¹, Annamaria Lettieri², Anna Rita Mogavero¹, Nunzio Caprio¹, Caterina Sagnelli¹, Felice Piccinino¹

¹Dipartimento di Malattie Infettive, Seconda Università degli Studi di Napoli, Italy;

²Divisione di Malattie Infettive; Azienda Ospedaliera San Sebastiano, Caserta, Italy

■ INTRODUZIONE

Fino ad alcuni anni fa, l'epatite cronica (EC) era classificata come: epatite cronica persistente (ECP), epatite cronica lobulare (ECL), epatite cronica attiva (ECA) nei sottogruppi istologici di ECA mite, media e severa con o senza cirrosi, sulla base della variabile entità e combinazione delle tipiche lesioni istopatologiche: infiammazione portale nelle ECP; necrosi lobulare e infiammazione portale nelle ECL; infiammazione portale, necrosi piecemeal periportale (PMN), necrosi focale o a ponte (porto-portale o porto-centrale) nelle ECA [1-5].

Alle suddette categorie istologiche veniva attribuito anche un differente valore prognostico: favorevole nelle ECP, nelle ECL o nelle ECA miti, più sfavorevole perché potenzialmente evolutiva nelle ECA medie o gravi, soprattutto in quelle con necrosi a ponte e/o necrosi lobulare estesa.

La necessità di monitorare l'evoluzione dell'epatite cronica, che è spesso asintomatica, e di valutare la risposta istologica alla terapia antivirale, immunomodulante e/o immunosoppressiva, ha indotto alcuni autori a formulare sistemi di valutazione semiquantitativi con punteggio numerico per ogni lesione istologica compresa la fibrosi. Il sistema di Knodell è stato uno dei primi ad essere formulato ed è tuttora usato per stimare le lesioni necrotico-infiammatorie e la fibrosi [6-10]. Questo sistema

di punteggio permette una stima semiquantitativa dell'infiammazione portale e periportale (epatite all'interfaccia), della necrosi lobulare e della fibrosi epatica; la somma dei punteggi assegnati ad ogni lesione istologica fornisce l'Indice di Attività Istologica (HAI) che indica il "grading" ovvero la gravità della attività istologica nelle EC. Oggi è generalmente accettato che il punteggio della fibrosi, che indica lo stadio della malattia e che inizialmente era sommato a quello delle lesioni necrotico-infiammatorie, va valutato separatamente da quello dell'HAI. Basandosi sull'indice di attività istologica di Knodell (HAI), Desmet et al. hanno classificato l'EC in: minima EC (HAI 1-3); mite EC (HAI 4-8); media EC (HAI 9-12); grave EC (HAI 13-18) attribuendo ampiezze differenti di HAI alle varie forme di EC, a seconda della gravità della necro-infiammazione [11]. La suddetta classificazione di Desmet dell'epatite cronica non è stata però validata su ampia casistica [12].

In questo studio abbiamo rivisto 823 biopsie epatiche da pazienti con CH HCV-correlata per valutare l'efficacia diagnostica della classificazione di Desmet dell'epatite cronica da HCV.

■ PAZIENTI E METODI

Sono stati ammessi allo studio 801 pazienti giunti alla nostra osservazione nel periodo dal 1996 al 2002 per ipertransaminasemia pro-

tratta e positività del siero per anti-HCV ed HCV-RNA (472 maschi e 329 femmine) ai quali era stata praticata biopsia epatica presso la nostra divisione di epatologia. L'età mediana dei pazienti era di 47 anni (range 9-68). La diagnosi di EC è stata sempre fatta sulla base dei criteri universalmente codificati: incremento dei livelli delle transaminasi per 6 mesi consecutivi ed evidenza istologica di EC. Erano inclusi in questo studio solo i pazienti che non mostravano segni clinici, biochimici od ecografici inequivocabili di cirrosi. Gli altri criteri di esclusione erano: un campione di frustolo epatico <1,5 cm, HBsAg positività, HIV positività, una storia di uso di droghe, ingestione di alcool alla base di più di 50 g/die per i maschi e di 25 g/die per le femmine, marcatori di malattie del metabolismo con compromissione epatica (emocromatosi, morbo di Wilson, deficit di α_1 -antitripsina, ...), presenza nel siero di auto-anticorpi (anticorpi anti-nucleo, anticorpi anti-muscolo liscio, anticorpi anti-mitosomi epatici/renali tipo 2), assunzione di farmaci epatoclesivi, precedente trattamento con interferone e/o altri farmaci antivirali o immunosoppressivi, trapianto epatico. Le biopsie epatiche sono state eseguite con tecnica di Meneghini modificata, dopo aver ottenuto dai pazienti il consenso informato. Le biopsie epatiche sono state fissate in formalina, incluse in paraffina e colorate con ematossilina-eosina, Van Gieson, tricromica di Masson e con il metodo di Perls per la ricerca di ferro emosiderinico. Le biopsie sono state valutate da uno degli autori (G.P.) con esperienza in istopatologia epatica di oltre 30 anni e non informato sui dati clinici e di laboratorio del paziente.

IL grading è stato stimato valutando l'indice di attività istologica sec. Knodell (HAI) che attribuisce all'infiammazione portale i punteggi: 0, 1, 3, 4, all'infiammazione periportale con o senza necrosi a ponte i punteggi 0, 1, 3, 4, 5, 6, 10 ed alla necrosi lobulare i punteggi 0, 1, 3, 4 [6].

La diagnosi di epatite cronica è stata formulata secondo la classificazione di Desmet, che sulla base dell'indice di attività istologica di Knodell (HAI) le suddivide in EC minima HAI 1-3; mite HAI 4-8; media HAI 9-12; grave HAI 13-18 [11].

La fibrosi epatica (staging) è stata definita secondo il sistema di Scheuer che la suddivide nei seguenti stadi: 0 = assente; 1 = fibrosi portale; 2 = fibrosi periportale e setti porto-portali,

ma con architettura intatta; 3 = fibrosi porto-portale e porto-centrale con alterazione dell'architettura lobulare, ma senza evidenza di cirrosi; 4=cirrosi probabile o definita (4). Abbiamo preferito il sistema di punteggio di Scheuer per la fibrosi epatica perchè valuta anche la fibrosi peri-portale ed i setti porto-portali con architettura intatta (grado 2) e valorizza la presenza dei ponti porto-portali e porto-centrali con distorsione dell'architettura lobulare, ma senza rigenerazione nodulare (grado 3). Inoltre il nostro anatomopatologo da circa 13-anni ha esperienza di questo sistema di punteggio.

L'accordo intra-osservatore è stato valutato dal K indice in 103 biopsie epatiche selezionate in maniera causale (13). Un valore dell'indice K di 0,415 per la valutazione dell'HAI, ha indicato un accordo intra-osservatore medio o buono. Per l'infiammazione portale, necrosi peri-portale "piecemeal" e necrosi globulare, l'indice K era rispettivamente pari a 0,428, 0,433 e 0,443, indicante accordo discreto. L'accordo per la fibrosi è stato buono (K indice di 0,61).

I test di funzionalità epatica sono stati eseguiti con metodi di routine. Anti-HCV nel siero è stato determinato mediante metodica ELISA di 3ª generazione (HCV EIA 3,0-Abbott Laboratories, North Chicago, Il). HCV-RNA sierico è stato determinato con la reazione di polimerasi a catena (PCR) usando i primers complementari al 5'- untranslated regione (14). Le differenze sono state valutate con il test del chi quadro. Un valore di p inferiore a 0,05 è stato considerato come significativo.

■ RISULTATI

Degli 801 pazienti arruolati nello studio, 148 avevano evidenza istologica di cirrosi epatica e 653 di EC senza cirrosi. Di questi 653 pazienti, in accordo con la classificazione di Desmet, 145 mostravano EC minima, 424 EC mite, 73 media e solo 11 avevano EC grave (Tabella 1). La distribuzione dei valori di HAI in ogni singolo tipo di EC ha mostrato un ampio spettro di attività istologica; tuttavia, i più alti punteggi di attività (gradi 15-18) non sono stati mai assegnati. I casi con EC minima erano uniformemente distribuiti tra valori di HAI di 1, 2 e 3; valori di HAI 4, 5 e 6 erano quelli più frequentemente assegnati alle EC miti ed i valori di HAI 9 e 10 a quelle medie; a tutti i casi

Tabella 1 - Distribuzione dei gradi HAI in 653 casi di EC-HCV correlata in accordo con la classificazione di Desmet ed una da noi proposta.

Classificazione delle EC sec. Desmet				HAI Score	Nostra proposta di classificazione delle EC			
Minima HAI: 0-3 145 casi	Mite HAI: 4-8 424 casi	Media HAI: 9-12 73 casi	Grave HAI: 13-18 11 casi		Minima HAI: 0-3 145 casi	Mite HAI: 4-6 363 casi	Media HAI 7-8 61 casi	Grave HAI: 9-18 84 casi
				0				
50				1	50			
34				2	34			
61				3	61			
	135			4		135		
	133			5		133		
	95			6		95		
	21			7			21	
	40			8			40	
		41		9				41
		22		10				22
		8		11				8
		2		12				2
			11	13				11
				14				
				15				
				16				
				17				
				18				

con EC grave è stato assegnato un valore di HAI di 13 (Tabella 1).

I 148 casi di cirrosi rappresentavano il 18% dei casi totali. Il range dei valori di HAI era molto ampio per questi pazienti, essendo compreso tra 1 e 14, con 65% dei casi tra 9 e 11. Solo ad un paziente con cirrosi è stato assegnato un valore di HAI di 14.

Questi dati dimostrano che la classificazione di Desmet delle epatiti croniche basata su HAI di Knodell sottostima le forme medie e gravi di epatite cronica HCV-correlata. Per questi motivi abbiamo valutato la possibilità di migliorare la classificazione dell'epatite cronica C secondo Desmet modificandola in modo da lasciare invariati i punteggi di HAI per le forme minime (HAI 1-3), restringendo il range di HAI per le forme miti a 4-6 quello per le forme medie a 7-8 ed attribuendo alle forme gravi i valori da 9 a 18.

Secondo la nostra classificazione, dei 653 pazienti con EC, i pazienti con epatite cronica minima restavano numericamente invariati (145), mentre il numero dei pazienti con epatite cronica mite, media e grave passava rispettivamente a 363, 61 e 84 (Tabella 1). Infatti, 61 pazienti che avevano una EC mite secondo Desmet erano considerati EC media nella nostra classificazione e tutti i 73 pazienti che avevano

una EC media secondo Desmet erano considerati EC grave nella nostra. Di conseguenza, con la nostra classificazione, le EC medie e gravi erano diagnosticate in una percentuale più alta (22.1%) rispetto a quella osservata usando la classificazione di Desmet (11.7%, $p < 0.0001$).

L'analisi della distribuzione dei singoli componenti di HAI nelle varie EC diagnosticate secondo la classificazione di Desmet e quella da noi proposta è mostrata nella Tabella 2. In particolare, se si esaminano i punteggi di HAI relativi alla peri-portite con o senza necrosi a ponte, abbiamo rilevato che tutti i 61 pazienti che passano da EC mite sec. Desmet a EC media secondo la nostra classificazione mostrano un'inflammatione periportale di grado 3 (piecemeal necrosis media). Inoltre tutti i 37 pazienti con un'inflammatione periportale di grado 4 (marcata piecemeal necrosis), tutti i 23 pazienti con necrosi a ponte di grado 5 (moderate piecemeal necrosis più bridging necrosis) e 5 pazienti con necrosi a ponte di grado 6 (marcata piecemeal necrosis più bridging necrosis) passano dalla diagnosi di EC media sec. Desmet a quella grave secondo la nostra classificazione.

La Figura 1 mostra una valutazione dello staging in 653 pazienti senza cirrosi. Essa dimostra una correlazione tra il grado di staging e la severità del grading in entrambe le classifi-

Table 2 - Distribuzione dei punteggi dei singoli componenti di HAI in accordo con la classificazione proposta da Desmet e da noi.

Classificazione delle EC sec. Desmet				Componenti di HAI Periportite (epatite all'interfaccia) +/- necrosi a ponte	Nostra proposta di classificazione delle EC			
Minima HAI: 0-3 145 casi	Mite HAI: 4-8 424 casi	Media HAI: 9-12 73 casi	Grave HAI: 13-18 11 casi		Minima HAI: 0-3 145 casi	Mite HAI: 4-6 363 casi	Media HAI 7-8 61 casi	Grave HAI: 9-18 84 casi
139	145			0	139	145		
6	215	1		1	6	215		1
	64	7		3		3	61	7
		37		4				37
		23		5				23
		5	11	6				16
10								
Necrosi lobulare								
108	118	1		0	108	111	7	1
37	303	59		1	37	252	51	59
	3	12	11	3			3	23
		1		4				1
Portite								
0								
88	2			1	88	2		
57	162	6		3	57	148	14	6
	260	67	11	4		213	47	78

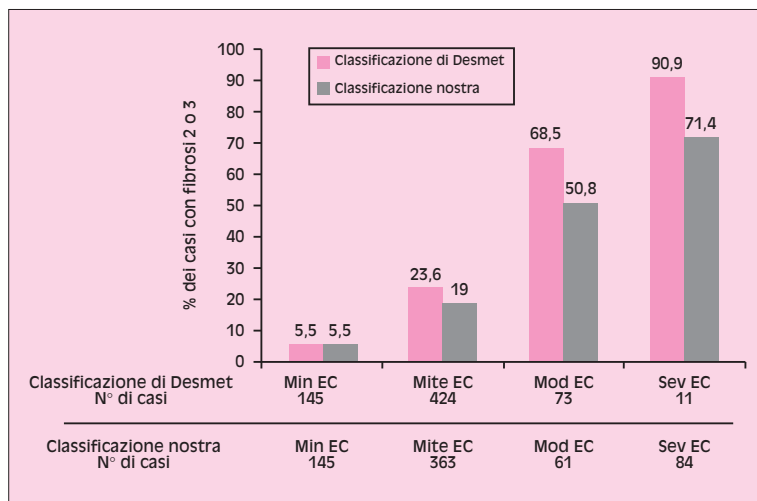


Figura 1 - Percentuale dei casi con fibrosi stadio 2 o 3 in 653 pazienti con epatite cronica C senza cirrosi in accordo con la classificazione di Desmet e quella da noi proposta.

cazioni; infatti, i più alti punteggi di fibrosi nelle biopsie dei pazienti non cirrotici (gradi 2 e 3) erano più frequentemente presenti nei pazienti con EC media e grave.

■ DISCUSSIONE

In questa ampia casistica di epatiti croniche da HCV abbiamo riscontrato, seguendo la classificazione di Desmet, un'alta percentuale di

forme istologiche miti, in accordo con i dati di altri studi, però le forme medie e gravi sono state osservate rispettivamente solo nell'11.1% e nel 1.6% dei 653 pazienti non cirrotici [15-19]. I nostri dati hanno pertanto dimostrato che la classificazione delle epatiti croniche secondo Desmet, basata sull'HAI di Knodell, sottovaluta le forme medie e gravi delle epatiti croniche HCV-correlate. Infatti, il valore di 13 di HAI è stato attribuito solo ad 11 dei 653 casi di EC senza cirrosi, un valore di 14 solo ad un pa-

ziente con cirrosi e valori da 15 a 18 non sono stati mai assegnati.

Pertanto, la classificazione di Desmet applicata alle epatiti croniche da HCV, alquanto infrequentemente definisce un'epatite cronica HCV-correlata come media e ancora più raramente come grave. Infatti, applicando i criteri di questa classificazione, l'epatite cronica può essere diagnosticata come grave solo con un range di HAI compreso tra 13 e 18, valori attribuibili solo alla seguente combinazione di punteggi: grado 3 o 4 per l'infiammazione portale, grado 5 e 6 per l'infiammazione peri-portale (epatite all'interfaccia), associata a necrosi a ponte, valori di 10 per la necrosi multilobulare, valori di 3 o 4 per necrosi lobulare, combinazioni piuttosto infrequenti nell'infezione cronica da HCV. Questo difetto risultò evidente già nell'originale studio di Knodell, effettuato su 14 biopsie consecutive da 5 pazienti con EC, 4 dei quali avevano un'epatite NonA-NonB ed uno epatite B, ai quali fu possibile assegnare solo valori di HAI compresi tra 1 e 14 [6]. È verosimile che i valori di HAI da 15 a 18 possono essere attribuiti solo alle forme gravi di epatite cronica autoimmune o alle epatiti croniche da virus B e delta, caratterizzate da una maggiore frequenza di necrosi a ponte e da una più estesa necrosi lobulare.

Sulla base della nostra esperienza abbiamo dedotto che il range dei valori di HAI attribuiti dalla classificazione di Desmet alle forme di epatite cronica C mite e media è troppo ampio. Per questa ragione abbiamo revisionato la classificazione di Desmet lasciando immutato il valore di HAI per le forme minime, contraendo l'ampiezza dei valori di HAI delle forme miti a 4-6, quello delle forme medie a 7-8 ed attribuendo alle forme gravi valori di HAI da 9 in su. Seguendo questa classificazione, l'epatite cronica da HCV media e grave è stata diagnosticata in una percentuale dei casi (22.1%) più elevata di quella osservata adottando la classificazione di Desmet (11.7%, $p < 0.0001$). Osservando la distribuzione dei singoli componenti di HAI nelle stesse biopsie valutate secondo la classificazione di Desmet e secondo la nostra, si può notare che le EC etichettate come miti sec. Desmet e come medie secondo la nostra classificazione avevano una necrosi piecemeal di grado medio (grado 3 di infiammazione peri-portale). Inoltre i 65 casi dei 73 pazienti che passano da EC media sec. Desmet a EC grave secondo la nostra classificazione avevano un grado di infiammazione peri-portale di grado 4

o maggiore di 4. Pertanto la nostra classificazione è più in accordo con la valutazione di tipo descrittivo della gravità delle epatiti croniche (1-3) che definisce come media l'epatite cronica con un'infiammazione peri-portale anche di grado 3 e come già grave l'epatite con un'infiammazione peri-portale di grado 4. Il paziente con infiammazione peri-portale di grado 1 e i 7 pazienti con infiammazione peri-portale di grado 3, classificati come affetti da EC severa da noi, mostrano in realtà una marcata infiammazione portale (grado 4) e necrosi intralobulare più estesa (grado 4).

In base a tali valutazioni, riteniamo che le modifiche apportate alla classificazione di Desmet la rendano più valida nella diagnosi delle epatiti croniche virali, comprese quelle da HCV, consentendo una più realistica ed obiettiva identificazione di tutte le forme ed in particolare di quelle medie e gravi, più suscettibili di progressione verso la cirrosi e più stimolanti un impiego terapeutico.

In entrambe le classificazioni, abbiamo osservato una correlazione tra il grado di staging e la gravità del grading; infatti, i più alti punteggi di fibrosi (gradi 2 e 3) sono più frequentemente trovati nelle forme medie e gravi.

La correlazione osservata tra lo stadio di fibrosi e la severità dell'HAI in entrambe le classificazioni indica che la fibrosi, anche nell'epatite cronica da HCV, potrebbe essere considerata patogeneticamente in relazione alla necroinfiammazione. Tuttavia, il risultato di fibrosi di grado 2 o 3 in alcuni pazienti con EC mite è di difficile e controversa interpretazione. Infatti, non è chiaro se la fibrosi può considerarsi una conseguenza di una necrosi estesa che si è avuta in passato e di cui l'EC settale è un esempio ormai accettato dai patologi o se può essere un fenomeno indotto direttamente dalla noxa patogena ed evolvere indipendentemente dalla necrosi epatocitaria [20]. Un monitoraggio istologico di questi casi con EC mite e fibrosi 2 o 3 effettuato da alcuni autori ha rilevato che una fibrosi avanzata (di grado 2 o 3) accelera l'evoluzione in cirrosi, dimostrando che anche la sola fibrosi allo stadio 2 o 3 può influenzare il decorso della malattia [21, 22].

Un dato interessante nel nostro studio è stato il riscontro di una percentuale relativamente alta (20%) di casi con evidenza istologica di cirrosi, dato di per sé sorprendente, dal momento che solo pazienti senza segni clinici, biochimici ed US indicanti cirrosi sono stati

ammessi allo studio. È noto peraltro che i dati clinici e biochimici e l'esame ecografico possono non evidenziare la cirrosi epatica nelle sue fasi iniziali quando la componente fibrotica è costituita da fibre collagene giovani e non consolidate in setti di fibre collagene più spesse [23, 24]. Sono i casi definiti come cirrosi istologica, perché diagnosticati solo con l'esame istologico. Questo dato sottolinea l'utilità della biopsia epatica nell'identificare pazienti negli stadi iniziali di cirrosi. Inoltre, l'alta percentuale dei casi con media o grave attività necroinfiammatoria nei pazienti con cirrosi può indicare la necessità di un tratta-

mento antivirale anche per questi pazienti.

Key word: HCV chronic hepatitis; liver histology; classification of chronic hepatitis.

Acknowledgements

This research was supported by funding for the Viral Hepatitis project "Multiple hepatitis infections: diagnostic and prognostic assessment of different virological pictures", no. 96/B/T27 of the Higher Institute for Health, Rome, and by a contribution from the Ministry for Higher Education, Scientific and Technological Research (MURST), Rome.

RIASSUNTO

L'attuale classificazione delle epatiti croniche (EC) di Desmet et al., secondo l'Histological Activity Index (HAI) di Knodell (somma dei punteggi attribuiti, secondo una scala lineare di gravità crescente, alle 3 lesioni caratterizzanti le EC: portite, periportite e necrosi globulare) le distingue in: minime (HAI 1-3); miti (HAI 4-8); medie (HAI 9-12); gravi (HAI 13-18).

Essa però non è stata ampiamente validata nelle EC da virus C (HCV) e spesso sottovaluta le forme medie e gravi perché valorizza poco la periportite di grado 3, per la diagnosi delle EC medie e quella di grado 4, per la diagnosi delle EC gravi.

Abbiamo pertanto proposto una nostra classificazione che attribuisce alle varie forme di EC da HCV una differente ampiezza dell'HAI: minima (HAI 1-3), mite (HAI 4-6), media (HAI 7-8), gravi (HAI 9-12). Essa è stata applicata a 801 biopsie epatiche di pazienti con EC-HCV, venuti consecutivamente alla nostra osservazione dal 1995 al

2002 per persistente ipertransaminasemia. La diagnosi di EC è stata posta per ogni paziente applicando sia la classificazione di Desmet, che la nostra.

Secondo la vecchia classificazione le EC-HCV sono risultate così distribuite: minime 145 (22%), miti 424 (65%), medie 73 (11,2%), gravi 11 (1,8%); secondo la nostra classificazione la distribuzione è stata la seguente: minime 145 (22%), miti 363 (55,6%), medie 61 (9,4%) e gravi 84 (13%). In entrambe le classificazioni, nei rimanenti 148 casi è stata fatta diagnosi di cirrosi.

La nostra classificazione ha individuato una più alta percentuale di EC-HCV medio-gravi (22,2%), rispetto a quella di Desmet (13%). I nostri dati sono in accordo anche con la valutazione di tipo descrittivo dell'intensità della necroinfiammazione epatica. L'identificazione quindi di più casi di epatite croniche medio-gravi orienta meglio le scelte terapeutiche e le valutazioni prognostiche.

SUMMARY

To verify the clinical efficacy of the Desmet classification of chronic hepatitis C we reviewed 801 liver biopsies from patients with HCV-chronic hepatitis (CH). The diagnosis of chronic hepatitis was assessed according to the Desmet classification based on the Knodell Histological Activity Index (HAI) (minimal CH = score 1-3; mild CH = 4-8; moderate CH = 9-12; severe CH = 13-18). Liver fibrosis was assessed according to the

Scheuer scoring system. One hundred forty-eight patients had cirrhosis and 653 CH. Of these 653, according to the Desmet classification 145 patients showed minimal, 424 mild, 73 moderate and 11 severe chronic hepatitis. Since the classification underestimated the moderate and severe forms of HCV-related chronic hepatitis, we evaluated the possibility of improving the Desmet classification of chronic hepatitis C us-

ing our classification: minimal CH = score 1-3; mild CH = 4-6; moderate CH = 7-8; severe CH = 9-18.

According to our classification 145 showed minimal CH, 363 mild CH, 61 moderate CH and 84 severe CH. All the 61 patients who crossed over from mild CH under the Desmet to moderate CH under our classification showed a periportal in-

flammation of grade 3, and all the 73 patients but 8 who crossed over from moderate to severe showed a grade of periportal inflammation higher than 3. The Desmet classification of HCV-related chronic hepatitis underestimated the severe forms of HCV-CH, while our classification seems to be suitable also for chronic hepatitis C.

■ BIBLIOGRAFIA

- [1] Popper H., Schaffner F. The vocabulary of chronic hepatitis. *N. Engl. J. Med.* 284, 1154-1156, 1971.
- [2] Bianchi L., De Groote J., Desmet VJ., et al. Acute and chronic hepatitis revisited. *Lancet* 2, 914-919, 1977.
- [3] Sherlock S. Classifying chronic hepatitis. *Lancet* 11, 1168-1170, 1989.
- [4] Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. *J. Hepatol.* 13, 372-374, 1991.
- [5] Ludwig J. The nomenclature of chronic active hepatitis: an obituary. *Gastroenterology* 105, 274-278, 1993.
- [6] Knodell RG., Ishak KG., Black WC., et al. Formulation and application of a numerical score system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1, 431-435, 1981.
- [7] Mattson L., Weiland O., Glaumann H. Application of a numerical score system for assessment of a histological outcome in patient with chronic post-transfusion non-A, non-B hepatitis with or without antibodies to hepatitis C. *Liver* 10, 257-263, 1991.
- [8] The French METAVIR Cooperative Study Group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 20, [9] 15-20, 1994.
- Ishak K., Baptista A., Bianchi L., et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J. Hepatol.* 22, 696-699, 1995.
- [10] Bedossa P., Pynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 24, 289-293, 1996.
- [11] Desmet VJ., Gerber M., Hoofnagle JH., et al. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 19, 1513-1520, 1994.
- [12] Hubscher SG. Histological grading and staging in chronic hepatitis: clinical application and problems. *J. Hepatol.* 29, 1015-1022, 1998.
- [13] Landis JR., Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 33, 159-174, 1977.
- [14] Garson JA., Tedder RS., Briggs M., et al. Detection of hepatitis C viral sequences in blood donations by "nested" polymerase chain reaction and prediction of infectivity. *Lancet* 335, 1419-1422, 1990.
- [15] Giusti G., Galanti B., Gaeta GB., et al. Clinical presentation and natural history of chronic hepatitis persistent hepatitis. A multicentre retrospective study on 1197 cases. *Ital. J. Gastroenterol.* 23, 111-113, 1991.
- [16] Giusti G., Pasquale G., Galante D., et al. Clinical and histological aspects of chronic HCV infection and cirrhosis. *Hepato-Gastroenterol.* 40, 365-369, 1993.
- [17] Healey CJ., Chapmann RWG., Fleming KA. Liver histology in hepatitis C infection: a comparison between patients with persistently normal or abnormal transaminases. *Gut* 37, 274-278, 1995.
- [18] Hoofnagle JH. Hepatitis C: the clinical spectrum of disease. *Hepatology* 26, 15-20, 1997.
- [19] Marcellin P. Hepatitis C: the clinical spectrum of the disease. *J Hepatol* 31, 9-16, 1999.
- [20] Desmet VJ. Histopathology of Chronic Hepatitis. In *Chronic Hepatitis* Y.F. Liaw ed., Elsevier S.P. Amsterdam. 27-44, 1986.
- [21] Yano M., Kumada H., Kage M., et al. The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C. *Hepatology* 23, 6, 1334-1340, 1996.
- [22] Poynard T., Bedossa P., Opolon P. Natural History of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet* 349, 825-832, 1997.
- [23] Gaiani S., Gramantieri L., Venturoli N., et al. What is the criterion for differentiating chronic hepatitis from compensated cirrhosis? A prospective study comparing ultrasonography and percutaneous liver biopsy. *J Hepatol* 27, 979-985, 1997.
- [24] Aubé C., Oberti F., Korali N., et al. Ultrasonographic diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis. *J. Hepatol.* 30, 472-478, 1999.