

Prevalencia de genotipos del virus de la hepatitis C en el área de El Ferrol (La Coruña)

Sonia Touceda, Mercedes Pereira y Andrés Agulla

Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario Arquitecto Marcide Profesor Novoa Santos. El Ferrol. La Coruña. España.

FUNDAMENTOS. Conocer la prevalencia de los distintos genotipos del virus de la hepatitis C (VHC) en el área de El Ferrol (La Coruña), así como su distribución según los factores de riesgo.

MÉTODOS. Se estudiaron 479 pacientes con hepatitis C: 254 sin antecedentes de riesgo conocidos, 161 con antecedentes de adicción a drogas por vía parenteral (ADVP) y 64 con historia de transfusiones. La presencia de ARN del VHC se estudió mediante reacción en cadena de la polimerasa-transcripción inversa (RT-PCR) y para la genotipificación se utilizó una prueba de hibridación reversa (INNO-LiPA).

RESULTADOS. La distribución de genotipos fue 1b, 269 (56,2%); 1a, 79 (16,5%); 3a, 59 (12,3%); 4c/4d, 35 (7,3%); 1, 19 (4,0%); 2a/2c, 3 (0,6%); 4, 3 (0,6%); 2b, 2 (0,4%). En 10 pacientes (2,1%) no se pudo determinar el genotipo. En los pacientes sin factores de riesgo conocidos el genotipo predominante fue el 1b, 191 de los 254 estudiados (75,2%). En el grupo de pacientes con ADVP la distribución de genotipos fue más variada, siendo los más prevalentes el 1a en 49 (30,4%) y el 3a en 43 (26,7%). En los 64 pacientes con historia de transfusiones predominó el 1b, 54 de 64 (84,4%).

CONCLUSIONES. El genotipo VHC predominante en nuestra área fue el 1b. Se observaron diferencias en la distribución de genotipos en los diferentes grupos de población según sus antecedentes de riesgo.

Palabras clave: Epidemiología. Genotipos. Hepatitis C. Prevalencia.

Prevalence of hepatitis C virus genotypes in the area of El Ferrol (La Coruña, Spain)

BACKGROUND. To determine the prevalence of hepatitis C virus (HCV) genotypes in the area of El Ferrol, as well as their distribution according to risk factors.

METHODS. A total of 479 patients with hepatitis C were studied, including 254 with no known risk factors, 161 intravenous drug abusers (IVDA) and 64 with a history of blood transfusions. The presence of HCV RNA was studied by RT-PCR, and a reverse hybridization method (INNO-LiPA) was used for genotyping.

RESULTS. Genotype distribution was as follows: 1b, 269 (56.2%); 1a, 79 (16.5%); 3a, 59 (12.3%); 4c/4d, 35 (7.3%); 1, 19 (4.0%); 2a/2c, 3 (0.6%); 4, 3 (0.6%); 2b, 2 (0.4%). In 10 patients (2.1%) genotype could not be determined. In patients with no known risk factor, the predominant genotype was 1b, detected in 191 of the 254 patients in this group (75.2%). Distribution of genotypes was more varied in the IVDA group, with the most frequent being 1a in 49 (30.4%) and 3a in 43 (26.7%). In the 64 patients who had received transfusions, 1b was predominant, detected in 54 of 64 patients (84.4%).

CONCLUSIONS. The predominant HCV genotype in our area is 1b. Differences in genotype distribution were observed in the population groups studied, according to their underlying risk factors.

Key words: Epidemiology. Genotypes. Hepatitis C. Prevalence.

Introducción

El virus de la hepatitis C (VHC), como todos los virus ARN, muestra una marcada variabilidad genética. El análisis de las secuencias de diferentes regiones genómicas del VHC en numerosos aislados ha permitido clasificar el virus en diferentes tipos y subtipos. Cada tipo VHC difiere al menos el 20% de otros, mientras que cada subtipo tiene alrededor del 10% de distancia genética del resto¹. Aunque se han usado varias nomenclaturas, la clasificación propuesta por Simmonds et al^{2,3} ha sido aceptada por muchos investigadores, y reconoce 6 genotipos mayores con dos o más subtipos relacionados.

La distribución geográfica de los diferentes genotipos no es homogénea, y existen importantes diferencias en la prevalencia de cada uno de ellos entre distintas áreas del mundo. Aunque los trabajos efectuados hasta la fecha no son concluyentes, parece que existe distinta capacidad patogénica, de respuesta al tratamiento y de recidiva tras un trasplante hepático en relación al genotipo, por lo que su determinación resulta importante para obtener una mejor valoración clínica y pronóstica de la hepatopatía crónica. También es importante el aspecto epidemiológico

Correspondencia: Dr. A. Agulla.
Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario Arquitecto Marcide Profesor Novoa Santos. San Pedro, s/n. 15405 El Ferrol. La Coruña.
Correo electrónico: amar@las.es

Manuscrito recibido el 17-04-2001; aceptado el 22-01-2002.

e incluso de prevención con implicaciones en el desarrollo de vacunas^{1,3,4-6}.

En nuestro estudio se determinó la prevalencia de los distintos genotipos del VHC en el área de El Ferrol, en 3 grupos de población diferenciados según los antecedentes de contagio por el virus.

Material y métodos

Desde julio de 1996 hasta noviembre de 2000 se estudiaron los sueros pertenecientes a 479 pacientes (edades comprendidas entre 17 y 88 años, media 46 años; desviación estándar [DE], 16,10) a los que previamente se les había detectado anticuerpos frente al VHC por enzoinmunoanálisis e inmunoblot. Los pacientes se dividieron en 3 grupos de población: 254 pacientes sin antecedentes conocidos de transfusión ni de adicción a drogas por vía parenteral (ADVP), 161 pacientes con antecedentes de ADVP y 64 pacientes con historia de transfusión antigua (pacientes que recibieron transfusiones antes del año 1990).

Los sueros recogidos se repartieron en alícuotas y se congelaron a -70°C (evitando ciclos de congelación-descongelación) hasta el momento de su estudio. La presencia del virus se confirmó por la presencia del ARN viral en suero mediante reacción en cadena de la polimerasa-transcripción inversa (RT-PCR) (Amplicor HCV, Roche), utilizando cebadores específicos biotinilados frente a la región 5' no codificante. Los amplicones se conservaron a -20°C hasta ser procesados para el genotipado.

El genotipado se realizó mediante una técnica de hibridación reversa. En esta prueba los amplificados biotinilados obtenidos de la RT-PCR se enfrentan a sondas derivadas de distintos genotipos del VHC fijadas en fila sobre una tira de nitrocelulosa (INNO-LiPA HCV II, Innogenetics). La hibridación se realiza durante 1 hora a 50°C en baño con agitación. Tras los lavados, se usa estreptavidina marcada con fosfatasa alcalina para marcar los productos hibridados. Posteriormente se revela, obteniéndose unas bandas marrón pardusco que permiten determinar el genotipo. Este método permite diferenciar

los 6 genotipos principales y los subtipos más comunes. No distingue entre los genotipos 2a y 2c, así como tampoco distingue el 4c del 4d.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó, para distribución normal, el test de la *t* de Student y el ANOVA (análisis de varianza) y para distribución no normal, la prueba de Kruskal-Wallis en comparaciones entre K grupos (para valores $K \geq 3$) y la U de Mann-Whitney (para $K = 2$). El tratamiento de los datos se realizó con el programa estadístico SPSS/PC+.

Resultados

En las tablas 1 y 2 se muestra la distribución de genotipos y subtipos. El genotipo predominante en nuestra área sanitaria fue el 1, que se encontró en 367 de los pacientes estudiados (76,6%); le siguió en frecuencia el genotipo 3a presente en 59 pacientes (12,3%). El genotipo 4 se encontró en 38 pacientes (7,9%). El genotipo 2 se encontró sólo en 5 pacientes (1,0%). En 10 casos no fue posible determinar el genotipo con la prueba utilizada. Dentro del genotipo 1, la mayor prevalencia correspondió al subtipo 1b, que estuvo presente en 269 pacientes (56,2%). El subtipo 1a fue encontrado en 79 pacientes (16,5%)

En los 254 pacientes con infección por VHC sin antecedentes de transfusión ni de ADVP, el genotipo predominante fue el 1b en 191 pacientes (75,2%). Los otros genotipos se encontraron con una frecuencia muy inferior.

En el grupo de pacientes con antecedentes de ADVP se estudiaron 161 sueros y en la distribución de genotipos obtenida, aunque se encontró con más frecuencia el genotipo 1, la distribución fue más variada, sin que aparecieran subtipos predominantes. Al realizar el análisis estadístico se encontraron diferencias significativas en la distribución de genotipos cuando

TABLA 1. Distribución de genotipos de virus de la hepatitis C

Genotipo	Sin antecedentes de ADVP ni transfusiones (n [%])	ADVP (n [%])	Transfundidos (n [%])	Total (n [%])
1	223 (87,8)	83 (51,5)	61 (95,3)	367 (76,6)
2	1 (0,4)	4 (2,5)		5 (1,0)
3	16 (6,3)	43 (26,7)		59 (12,3)
4	11 (4,3)	26 (16,1)	1 (1,6)	38 (7,9)
NG	3 (1,2)	5 (3,1)	2 (3,1)	10 (2,1)
Total	254	161	64	479

ADVP: adictos a drogas por vía parenteral; NG: no genotipificable.

TABLA 2. Distribución de subtipos de virus de la hepatitis C

Genotipo	Sin antecedentes de ADVP ni transfusiones (n [%])	ADVP (n [%])	Transfundidos (n [%])	Total (n [%])
1 NS	9 (3,5)	10 (6,2)		19 (4,0)
1a	23 (9,1)	49 (30,4)	7 (10,9)	79 (16,5)
1b	191 (75,2)	24 (14,9)	54 (84,4)	269 (56,2)
2a/2c	1 (0,4)	2 (1,2)		3 (0,6)
2b		2 (1%)		2 (0,4)
3a	16 (6,3)	43 (26,7)		59 (12,3)
4 NS	3 (1,2)			3 (0,6)
4c/4d	8 (3,1)	26 (16,1)	1 (1,6)	35 (7,3)
NG	3 (1,2)	5 (3,1)	2 (3,1)	10 (2,1)
Total	254	161	64	479

ADVP: adictos a drogas por vía parenteral; NG: no genotipificable; NS: no subtipificable.

TABLA 3. Distribución por sexo y edad de subtipos de virus de la hepatitis C

Subtipo	Sexo		Edad media en años (DE)	Edad (años)			
	Varón	Mujer		< 20	21-40	41-60	> 60
1 NS	13	6	37 (15,37)	1	12	4	2
1a	63	16	35 (11,89)	1	61	12	5
1b	142	127	55 (13,81)	2	48	104	115
2a/2c	2	1	37 (6,81)		2	1	
2b	2		31 (10,61)		2		
3a	50	9	34 (7,90)		54	4	1
4 NS	2	1	38 (8,33)		2	1	
4c/4d	27	8	34 (10,35)	1	29	4	1
NG	9	1	31 (7,43)		9	1	
Total	310	169		5	219	131	124

DE: desviación estándar; NG: no genotificable; NS: no subtipificable.

TABLA 4. Distribución por sexo y edad de subtipos de virus de la hepatitis C en pacientes sin antecedentes de riesgo conocidos

Subtipo	Sexo			Edad (años)			
	Varón	Mujer		< 20	21-40	41-60	> 60
1 NS	4	5		5		2	2
1a	14	9		12		7	4
1b	94	97		15		81	95
2a/2c	1			1			
3a	10	6		14		1	1
4 NS	2	1		2		1	
4c/4d	5	3	1	5		2	
NG	3			3			
Total	133	121	1	57		94	102

NG: no genotificable; NS: no subtipificable.

comparó este grupo de pacientes con los otros dos ($p < 0,001$).

Se estudiaron 64 pacientes con historia de transfusión de más de 10 años de antigüedad. La mayoría de los sueros de estos pacientes fueron del genotipo 1b (84,4%).

En la tabla 3 se observa la distribución de genotipos y subtipos por sexo y edad de los pacientes estudiados. El subtipo 1b fue el predominante en los pacientes de mayor edad (más de 40 años), mientras que los genotipos 1a y 3a se encontraron con más frecuencia en pacientes entre 21 y 40 años.

En las tablas 4 a 6 se expone la distribución por edad y sexo en los 3 grupos de pacientes estudiados.

Discusión

La técnica utilizada para el genotipado del VHC resultó sencilla y eficaz, y fue posible obtener un resultado de genotipo en la mayoría de los pacientes estudiados. La utilidad de esta prueba, en el diagnóstico clínico, ha sido avalada por otros autores⁷.

Está establecida una clara diferencia en la distribución de genotipos en diferentes grupos de población según sus antecedentes de riesgo¹. A pesar de que la población estudiada no se corresponde con una distribución real, sí puede decirse que al igual que en otras áreas geográficas, el genotipo predominante en nuestra área fue el 1b^{3,8-13}. Este genotipo podría ser el genotipo predominante en todo el nivel mundo.

Entre el grupo de pacientes infectados por el VHC pero sin antecedentes de riesgo conocidos, el subtipo más representado fue el 1b en el 75,2% de los pacientes. Algunos autores han indicado la posibilidad de que una forma de contagio de estos pacientes pueda realizarse por medio de jeringuillas no desechables, usadas hace algunos años en todos los centros de salud¹⁰. La proximidad a personas que llevan a cabo prácticas de riesgo de adquisición del VHC convierte a los acompañantes en personas con peligro de contraer la enfermedad. Ésta podría ser otra causa de contagio para los pacientes de este grupo, aunque esto implicaría una mayor variabilidad en los genotipos no observada. Otros subtipos han presentado baja prevalencia, el 1a (9,1%) y el 3a (6,3%). El genotipo 4 muy raro en Europa y prevalente en Egipto y Oriente Medio^{1,3} se encontró en el 4% de los pacientes de este grupo.

En nuestro estudio, el grupo de población con antecedentes de ADVP presentó una mayor variedad en los genotipos y subtipos. Así se encontraron dos subtipos predominantes, el 1a con el 30,4% y el 3a con el 26,7%. El subtipo 3a se ha encontrado con mayor frecuencia en otros estudios sobre población ADVP en España⁶. Por el contrario, como se ha comentado anteriormente, estos subtipos en la población sin antecedentes de riesgo presentaron una prevalencia muy inferior, 9,1 y 6,3%, respectivamente. El tercer subtipo más representado en los pacientes ADVP fue el 4c/4d con el 16,1%. Con mucha menos frecuencia que en los otros 2 grupos detectamos el 1b en el 14,9%. Por último, en este grupo de ADVP se encontraron 5 pacientes con genotipo 2, no encontrados

TABLA 5. Distribución por sexo y edad de subtipos de virus de la hepatitis C en pacientes con antecedentes de adicción a drogas por vía parenteral

Subtipo	Sexo		Edad media en años	Edad (años)			
	Varón	Mujer		< 20	21-40	41-60	> 60
1 NS	9	1	30	1	7	2	
1a	44	5	30		46	3	
1b	23	1	30	1	23		
2a/2c	1	1	35		1	1	
2b	2		31		2		
3a	40	3	32		40	3	
4c/4d	21	5	33		23	2	1
NG	5		27		5		
Total	145	16		2	147	11	1

NG: no genotipificable; NS: no subtipificable.

TABLA 6. Distribución por sexo y edad de subtipos de virus de la hepatitis C en pacientes con antecedentes de transfusiones

Subtipo	Sexo		Edad media en años	Edad (años)			
	Varón	Mujer		< 20	21-40	41-60	> 60
1a	5	2	38	1	3	2	1
1b	25	29	53	1	10	23	20
4c/4d	1				1		
NG	1	1	39		1	1	
Total	32	32		2	15	26	21

NG: no genotipificable; NS: no subtipificable.

en estudios realizados en Madrid⁸ y Zaragoza⁵. En Barcelona también se han observado pacientes infectados con este genotipo⁹. Otros estudios también obtienen gran variedad de genotipos en este grupo de pacientes con antecedentes de ADVP¹⁴. No se detectó ningún genotipo 5, que sí se han detectado en el área de Barcelona⁹. Tampoco se ha encontrado genotipo 6 ni coinfecciones.

En el grupo de ADVP hay una diferencia significativa en relación al sexo, predominan los varones ($p < 0,001$), y en relación a la edad, predominan los pacientes jóvenes, con una edad media de 31,3 años (DE, 7,18). En los otros 2 grupos estudiados, sin embargo, no se encuentran diferencias significativas en relación a edad y sexo, y la edad media es más elevada. Esta distribución estaría justificada por las características habituales de las poblaciones ADVP con predominancia de varones y edades similares a la población estudiada por nosotros. En poblaciones sin antecedentes de ADVP, al tratarse la hepatitis C de una enfermedad crónica silente y de larga duración, la edad media de los pacientes afectados suele ser elevada.

La incidencia de infección por VHC debida a transfusión ha disminuido en la mayoría de los países a partir de 1985, al excluir de los programas de transfusión a todos los pacientes con alto riesgo de estar infectados por VIH¹⁵. Sabiendo además que desde finales de 1990 en nuestro país se realizan pruebas para la detección de anticuerpos frente al VHC en todos los donantes¹⁰, el resultado que se ha obtenido entre los transfundidos (84,4% con el subtipo 1b) podría constituir un buen marcador del genotipo predominante en nuestra población antes de esas fechas. Es posible que genotipos diferentes al 1 hayan entrado recientemente en nuestra área geográfica desde otras zonas donde son más prevalentes.

En un estudio realizado en Francia¹⁶, el subtipo 1b fue reconocido preferentemente en sujetos de edad avanzada infectados por transfusiones o de forma desconocida, mientras que los genotipos 3a, 4 y 1a fueron predominantes en personas jóvenes, principalmente con historias de ADVP en los últimos años. En nuestro estudio se puede comprobar cómo el subtipo 1b es predominante también en los pacientes de más edad.

No se han encontrado diferencias en cuanto a la distribución de genotipos y subtipos y el sexo de los pacientes, a diferencia de otro estudio¹² realizado en España que sí detecta algunas. Estos autores encontraron mayor prevalencia del subtipo 1b en mujeres y de los subtipos 1a, 3a y 4c/4d en varones.

La tendencia del VHC parece ser hacia la mayor dispersión de genotipos, disminuyendo en el futuro el predominio del 1b^{1,8}. Como la mayor incidencia de hepatitis C en países desarrollados aparece en poblaciones ADVP¹⁷, la distribución de los genotipos en la población en general tenderá a cambiar, y a parecerse más a la dispersión encontrada en estos pacientes.

Agradecimientos

Al Dr. Angel Facio por su amable aportación en el análisis estadístico de los datos.

Bibliografía

1. Simmonds P. Variability of hepatitis C virus. *Hepatology* 1995;21:570-83.
2. Simmonds P, Alberti A, Alter HJ, Bonino F, Bradley DW, Brechot C, et al. A proposed system for the nomenclature for genotypes of hepatitis C virus. *Hepatology* 1994;19(Suppl):1321-4.
3. San Miguel A, Alonso P, Orduña A, Rodríguez Torres A. Diversidad genética del virus de la hepatitis C. Genotipos. *Rev Clin Esp* 1997;197:266-75.

4. Dusheiko G, Schmilovitz-Weiss H, Brown D, McOmish F, Yap PL, Sherlock S, et al. Hepatitis C virus genotypes: An investigation of type-specific differences in geographic origin and disease. *Hepatology* 1994;19:13-8.
5. Ramos Paesa C, Pascual Catalán A, Arazo Garcés P, Aguirre Errasti JM, Lasierra P. Implicaciones clínicas del genotipo del virus de la hepatitis C en infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana con hepatopatía crónica. *Rev Clin Esp* 1998;198:212-6.
6. Sánchez Tapias JM. Virus de la hepatitis. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1995;13(Supl):3-14.
7. Lau J, Mizokami M, Kolberg JA, Davis GL, Prescott LE, Ohno T, et al. Application of six hepatitis C virus genotyping systems to sera from chronic hepatitis C patients in the United States. *J Infect Dis* 1995;171:281-9.
8. Domingo MJ, Fernández I, Lumbreras C, Manzanares J, Morales JM, Noriega AR, et al. Utilización de la hibridación de secuencias de ADN con sondas específicas de oligonucleótidos para identificar genotipos del virus de la hepatitis C. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1996;14:433-6.
9. Bansell JC, Esteban R. Hepatitis C. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1995;13 (Supl):31-9.
10. Bruguera M. La hepatitis C, otra plaga. *Med Clin (Barc)* 1994;103:615-6.
11. Echevarría JM, León P. Aspectos actuales del diagnóstico de la hepatitis C. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1995;13:387-9.
12. Pena JM, Mosquera MM, Pérez MC, Rodríguez San Román JL, Martín JM, Avalos O, et al. Prevalencia de genotipos del virus de la hepatitis C: epidemiología y características histológicas. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1998;16:456-60.
13. Alonso Alonso P, Orduña A, San Miguel A, Domínguez E, Gutiérrez P, Lorenzo B, et al. Genotipos del virus de la hepatitis C: relación con los factores de riesgo, con la gravedad de la enfermedad hepática y con la respuesta serológica. *Med Clin (Barc)* 1998;110:681-6.
14. Bravo R, Soriano J, García Samaniego J, González J, Castro A, Colmenero M, et al. Prevalencia de los genotipos del virus de la hepatitis C en drogadictos españoles con hepatitis crónica C. *Rev Clin Esp* 1996;196:673-7.
15. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C virus infection. En: Grouse LD, Sternberg RJ, eds. *Symposium HCV infection: Epidemiology, diagnosis and treatment*. University of Texas Southwestern Medical Center at Dallas 1995;5-6.
16. Pawlotsky JM, Tsakiris L, Roudot-Thoraval F, Pellet C, Stuyver L, Duval J, et al. Relationship between hepatitis C virus genotypes and sources of infection in patients with chronic hepatitis C. *J Infect Dis* 1995;171: 1607-10.
17. Thomas DL, Lemon SM. Hepatitis C. En: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R, eds. *Principles and practice of infectious diseases*. Filadelfia: Churchill Livingstone, 2000;1736-60.