

# PERFIL EPIDEMIOLÓGICO MOLECULAR DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C EN LA REGIÓN CENTRAL DE ARGENTINA

**Molecular epidemiology pattern of hepatitis C virus infection in central region of Argentina**

Viviana E. Ré<sup>1,5</sup>, Adrián A. Farías<sup>1</sup>, María P. Díaz<sup>2</sup>, María B. Pisano<sup>1</sup>, Silvia Mengarelli<sup>3</sup>, Luis Kremer<sup>4</sup>, Osvaldo Elbarcha<sup>5</sup>, Marta Contigiani<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Virología "Dr. José M. Vanella", Fac. de Cs. Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Enfermera Gordillo Gómez s/n, 5016 Córdoba, Argentina. [www.inviv.fcm.unc.edu.ar](http://www.inviv.fcm.unc.edu.ar). [vivianare@fcm.unc.edu.ar](mailto:vivianare@fcm.unc.edu.ar)

<sup>2</sup>Bioestadística. Escuela de Nutrición. Fac. de Cs. Méd., UNC, Córdoba, Argentina.

<sup>3</sup>Hospital San Roque - Córdoba, Argentina.

<sup>4</sup>Hospital Nacional de Clínicas, Córdoba, Argentina.

<sup>5</sup>Cátedra de Virología. Fac. de Cs. Químicas, Universidad Católica de Córdoba

## Resumen

La presencia de RNA-HCV y la distribución de genotipos se detectaron mediante técnicas moleculares (RT-nested PCR y RFLP) en 310 muestras de individuos de la región centro de Argentina. Se halló 11,8% de coinfección HCV/HIV, con mayor prevalencia de genotipo 1 (73%). La distribución de los genotipos 1 y 2 entre individuos mono infectados fue de 49,4% y 43,9%, respectivamente.

El análisis de regresión logística multivariado mostró que la edad y el uso de drogas endovenosas (UDEV) condicionó la distribución de genotipos. El genotipo 2 se halló frecuentemente entre adultos mayores y su diseminación no se pudo asociar a ninguna vía de transmisión. El genotipo 1 se lo halló principalmente en adultos jóvenes y asociados al UDEV. El notable incremento de genotipo 1, homogéneamente distribuido en todas las edades posee importantes implicancias en las decisiones terapéuticas, considerando que posee baja respuesta a la terapia antiviral.

**Palabras Clave:** Virus de la hepatitis C (HCV), genotipos, epidemiología molecular, coinfección HCV/HIV, Argentina.

Trabajo recibido:  
agosto 2009

Aprobado: octubre 2009

## Abstract

The presence of HCV RNA and genotype distribution among 310 samples from Central region of Argentina was detected by molecular techniques (RT-nested PCR and RFLP). HCV/HIV coinfection was 11,8% and genotype 1 was more prevalent (73%) in this group. Among HCV monoinfected individuals the prevalence of genotypes 1 and 2 were 49.4% and 43,9%, respectively.

Logistic regression analysis showed that age and intravenous drug use (IVDU) are independent determinants of genotype distribution. Genotype 2 had higher prevalence in people older than 50 years, but not association with routes of transmission could be found. The prevalence of genotype 1 was due to the use IVDU among young adults. The increasing prevalence of genotype 1, homogeneously distributed in all ages has important implications in therapeutic decisions, considering its low response to antiviral therapy.

**Key words:** Hepatitis C virus (HCV), genotypes, molecular epidemiology, HCV/HIV coinfection, Argentina.

## Introducción

El virus de la hepatitis C (HCV) es el principal agente causante de hepatitis crónica, cirrosis y cáncer de hígado, en el mundo (1). La principal vía de transmisión es la parenteral o exposición a sangre infectada y la mayor parte de los individuos infectados la constituyen los usuarios de drogas endovenosas y los individuos que recibieron sangre o hemoderivados antes de la introducción de los métodos de detección en 1990 (2).

Basado en la divergencia de la secuencia de nucleótidos se lo ha clasificado en 6 genotipos y numerosos subtipos (3). Mundialmente, la distribución de los genotipos de HCV ha sido asociada con áreas geográficas y modos específicos de transmisión. Los genotipos 1, 2 y 3 están ampliamente distribuidos en el mundo mientras que los genotipos 4, 5 y 6 están confinados a áreas geográficas limitadas (4). Estudios realizados en la región metropolitana de Argentina (Ciudad de Buenos Aires y alrededores) y en regiones del sur de Brasil demuestran, una mayor prevalencia del genotipo 1 (principalmente 1b), seguido del genotipo 2 y 3 (5, 6, 7). Sin embargo, la distribución de genotipos se modifica continuamente debido tanto a cambios culturales que se asocian con nuevas conductas de riesgo como a movimientos poblacionales.

La detección de genotipos de HCV es un importante factor en la respuesta al tratamiento antiviral; la predicción de la respuesta virológica sostenida, post-tratamiento y la elección de la duración del tratamiento dependen del genotipo (8). Asimismo, la diversidad de las secuencias de HCV continúa siendo el mayor obstáculo para el desarrollo de vacunas y terapias efectivas (9, 10).

En el presente estudio se muestra la epidemiología molecular de los genotipos de HCV y sus cambios entre individuos infectados por HCV de la segunda provincia más poblada de Argentina.

## Materiales y Métodos

Se determinó la prevalencia de RNA, los genotipos y la distribución de los mismos según los factores de riesgo y la edad en 630 individuos [320 infectados con HIV (275 hombres; edad media 35,2 años, (r= 15-68) y 45 mujeres; 35,3 años, (r= 13-61)] que concurren al Instituto de Virología de la Universidad de Córdoba, Argentina entre Octubre de 2001 y Diciembre de 2007 para la confirmación diagnóstica de la infección por HCV. Este estudio fue aprobado por el comité de Ética de la Facultad de Ciencias

Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba.

Para la detección de anticuerpos anti-HCV se utilizó la técnica de ELISA test III kit (Abott, AXSYM system) y para la detección de RNA de HCV se usó la técnica de transcripción reversa y reacción en cadena de la polimerasa anidada (RT-nested PCR) que amplificó un fragmento de 280 pb de la región 5' no codificante (11). Para la detección de genotipos se utilizó la técnica RT-nested PCR seguida de restricción enzimática y análisis del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) de la región 5' NCR (11). Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete STATISTIC versión 6.0 para windows, de Satatsoft. La asociación entre variables categóricas y genotipos fue realizada mediante los test  $\chi^2$  y exacto de Fisher. El análisis de regresión logística multivariado se usó para identificar los factores asociados con la infección y para estimar los coeficientes de riesgo.

## Resultados

De los 320 individuos infectados con HIV, 39 (12,2%) resultaron serológicamente positivos para HCV. El RNA de HCV se detectó en 97% (n=38) de las muestras positivas mostrando una prevalencia de infección activa de 11,8%.

El análisis de regresión logística multivariado mostró que el sexo (OR ajustado =1.326, CI (95%): [1.086, 2.609]), edad (OR=2.562, CI (95%): [2.445, 2.691]) y UDEV (OR=25.0, CI (95%): [6.2, 100.1]) fueron factores de riesgo asociados a la infección por HCV en los pacientes infectados con HIV.

Los restantes 273 (88,3% 273/310) fueron positivos sólo para anticuerpos anti-HCV y para RNA de HCV. Las características de la población total, que resultó HCV positiva (n=311, 273 mono infectados y 38 coinfectados HIV/HCV) se muestran en la Tabla I.

Tabla 1. Población de estudio con infección por HCV

Edad (años)	Nº	Vías de transmisión de HCV (%)					Adquirido de la comunidad o desconocido
		Transfusión	Diálisis	UDEV	Exposición ocupacional	Intrafamiliar o sexual	
0-29	29	2,7	0	37,9	3,4	13,7	17,2
30-39	67	1,2	0	37,3	0	5,9	44,8
40-49	69	23,2	2,9	21,7	2,9	5,8	43,5
50-59	87	24,1	4,6	3,4	4,6	3,4	59,8
>59	59	22	3,4	1,7	3,4	0	69,5

La genotipificación se pudo realizar en 310 muestras RNA positivas. La distribución de genotipos hallada en la población de estudio (mono infectados HCV y coinfectados HCV-HIV) se muestran en la Tabla II. La prevalencia de genotipos según las diferentes rutas de transmisión se muestra en la Tabla III. En 153 de 311 pacientes (49.2%), la ruta de transmisión pudo ser identificada, siendo la más común la vía transfusional y el UDEV.

Tabla 2. Distribución de genotipos de 310 pacientes infectados con HCV mono y coinfectados con HIV

Genotipo	HCV, n (%)	HCV+HIV, n (%)	Total, n (%)
1	135 (49,4)	27 (72,9)	162 (52,2)
2	120 (43,9)	1 (2,7)	121 (39,0)
3	18 (6,6)	5 (13,5)	23 (7,4)
coinfección 1-2 indeterminado	0	1 (2,7)	1 (0,3)
Total	273	37	310

Tanto el modelo multinomial lineal como el análisis de regresión logística multivariado mostraron que en la población de estudio la edad condiciona la distribución de genotipos

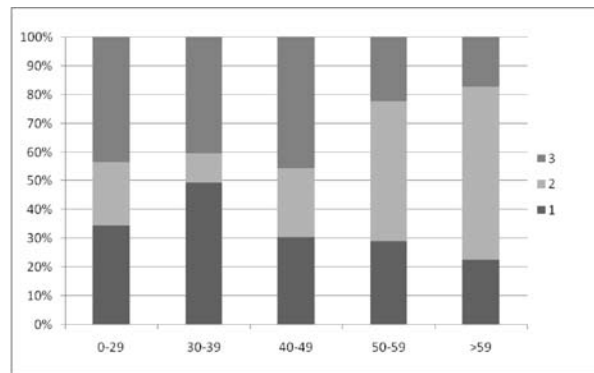
**Tabla 3. Distribución de genotipos según las diferentes rutas de transmisión**

Vías de transmisión	Genotipos (n°)			
	1	2	3	otros
Transfusión	29	25	9	1 <sup>b</sup>
Dialisis	3	4	1	0
UDEV	18	3	1	0
UDEV-HIV	27	1	3	3 <sup>c</sup>
Exposición Ocupacional	5	3	1	0
Intrafamiliar o sexual	9	2	4 <sup>a</sup>	0
Adquirido de la comunidad o desconocido	71	83	4	0

<sup>a</sup> pacientes HIV (+), n=2; <sup>b</sup> coinfección genotipos 1 y 2; <sup>c</sup> patrón RFLP indeterminado, paciente HIV(+), n=1.

(OR= 3.260, p <0.05) (Fig. 1). Específicamente, usando al genotipo 2 como referencia, el grupo etario de 30-39 años tuvo mayor chance (4 veces) de infección con genotipos 1 (OR= 4.524, CI (95%): [1.324-15.385], p= 0.016) y 9 veces más con el genotipo 3 (OR= 9.408, 95 %CI: [1.923-46.022], p= 0.005). En individuos de 40-49 años, el riesgo de estar infectados con el genotipo 3 fue significativamente mayor que por la infección por genotipo 2 (OR= 3.752, 95% CI): [1.071-11.912], p= 0.038). En los grupos de 50-59 años y mayores de 59, la prevalencia de genotipo 2 se incrementó abruptamente (OR= 2.866, 95% CI [1.141-7.1999], p =0.025); (OR= 4.586, 95% CI: [1.729-12.164], p= 0.002) respectivamente, mientras que en los genotipos 1 y 3 disminuyó (Fig 1.).

**Fig. 1. Distribución de genotipos de HCV en diferentes grupos etarios.**



En pacientes UDEV, el riesgo de infección por genotipo 1 fue 11 veces mayor que con el genotipo 2 (OR= 11.627, 95% CI: [1.484-90.909], p= 0.019), mientras que las infecciones adquiridas de la comunidad o de riesgo desconocido y en pacientes con historia de transfusión ambos genotipos 1 y 2 se distribuyeron homogéneamente en ambos grupo (45% and 52%; 44% and 38%, respectivamente). Sin embargo, conocemos las limitaciones de nuestro estudio en cuanto a la falta de identificación de las rutas de transmisión en el 51% de los pacientes. En este sentido, es altamente posible que varios pacientes no conocieran su factor de riesgo o que muchos hayan recibido transfusiones u otra exposición parenteral en el pasado y no recuerdan dicho evento.

## Discusión

Los resultados confirman una alta prevalencia (11,8%) de HCV entre individuos coinfectados por HIV en dos nosocomios de Córdoba, Argentina. La coinfección del virus de la hepatitis C (HCV) en individuos HIV (+) se la asocia con una alta incidencia de injuria y descompensación hepáticas y con la disminución del tiempo de vida, en comparación con lo individuos sólo infectados con HCV (12). Además la coinfección con hepatitis C en individuos infectados con HIV puede afectar la efectividad de la terapia antirretroviral (HAART) (12,13). Existen evidencias de la asociación entre la interrupción de HAART y la coinfección con HCV, especialmente debidas al incremento

de la toxicidad y la comorbilidad, lo que dificulta aún más el manejo del paciente (13, 14). Por esto, es importante implementar en nuestra región políticas públicas serias para mejorar el diagnóstico confirmatorio de la infección, la genotipificación, la detección de carga viral y de los parámetros histológicos necesarios para el comienzo y el seguimiento de la terapia anti-HCV, lo que redundará en la detección precoz de este agente y en la mejor calidad y expectativa de vida de estos pacientes.

Los resultados de la caracterización molecular de HCV muestra que la distribución de los genotipos más prevalentes 1 y 2 entre individuos mono infectados fue similar (49,4% y 43,9%, respectivamente). Coincidente con estudios previos realizados en nuestra región se halló alta prevalencia de genotipo 2 (11, 15, 16, 17). Este patrón difiere de otras cohortes realizados en Argentina, como en la región vecina del Sur de Brasil, donde el genotipo 1 es el único predominante y aunque el genotipo 2 fue hallado no supera al 15% de prevalencia. (5, 6, 7). Sin embargo, entre los sujetos coinfectados con HIV la infección con el genotipo 1 fue predominante. La distribución de genotipos está asociada con cierta estratificación o grupos poblacionales. Varios estudios reportan que en individuos infectados con HIV- UDEV el genotipo 1 es el más prevalente, sin embargo, el genotipo 3 es frecuentemente encontrado (18, 19). En Argentina, coincidentemente, varios estudios en individuos coinfectados HCV-HIV muestran prevalencias de genotipo 1 mayores al 70% (6, 20), seguidas por genotipo 3 y 2. En este sentido, el análisis de regresión logística multivariado mostró que tanto la edad como el UDEV fueron determinantes independientes en la distribución de genotipos. Coincidente con varios reportes, la elevada prevalencia de genotipo 1 es debida al UDEV entre adultos jóvenes (18, 21). La relación entre los genotipos de HCV y SIDA no ha sido bien establecida, sin embargo, algunos estudios muestran que pacientes infectados con el genotipo 1 incrementan el riesgo de mortalidad, principalmente relacionado a SIDA, comparado con aquellos infectados con genotipo 2 o 3 (22). En coincidencia, "Van Asten y col." (23) reportaron diferencias en la progresión a SIDA asociadas al genotipo de HCV involucrado en la coinfección, siendo más rápida cuando estuvieron involucrados el genotipo 1 o infecciones con múltiple genotipos.

El impacto del genotipo de HCV sobre la progresión de la infección por HIV posee importantes implicancias para el cuidado médico y el tratamiento de los pacientes. Así, los resultados obtenidos en este estudio deben ser considerados al momento de planificar la terapia antiviral adecuada a aplicar en este grupo de pacientes.

Con respecto al genotipo 2 vs. edad, se hallaron prevalencias mayores de éste en personas mayores de 50 años de edad. Este patrón es análogo al encontrado en algunas regiones de Italia, las cuales poseen una distribución similar de genotipos y el genotipo 2 es el más prevalente en adultos mayores (21, 24).

La razón por la que el genotipo 2 se diseminó en la región central de Argentina aún se desconoce, podría ser atribuido a infecciones adquiridas en la comunidad, transmisión iatrogénica y/o hepatitis protransfusional como ocurre en el Sur de Italia (25, 26). Otra explicación tentativa podría estar relacionada con factores biológicos, tales como, una diferente infectividad de los genotipos de HCV o aún no reconocidos modos de transmisión. Estudios tendientes a dilucidar y profundizar en el proceso de diversificación de éste genotipo, se están realizando, utilizando análisis moleculares y bioinformáticos, asociados a datos epidemiológicos.

La proporción de genotipo 3 fue mayor entre individuos adultos jóvenes (30-39 años) y adultos entre 40-49 años.

Una importante particularidad a destacar es la baja prevalencia detectada de este genotipo entre individuos UDEV. Esta observación contrasta con reportes previos que indican una predominancia del genotipo 3 entre UDEV (18, 19).

En conclusión, en Córdoba, la distribución de genotipos HCV varía de acuerdo con la edad y el modo de transmisión. Este hallazgo sugiere que la diseminación de los

genotipos 1 y 2 podría deberse a eventos epidemiológicos diferentes. Los genotipos 1 y 3 son prevalentes entre adultos jóvenes quienes pueden ser el origen de futuros infecciones transmitidas principalmente por UDEV, transmisión sexual y vertical en esta región de Argentina.

El incremento gradual de la prevalencia de genotipo 1, homogéneamente distribuido en todas las edades y en ambos grupos (monoinfectado – coinfectados) posee importantes implicancias en las decisiones terapéuticas, considerando que éste posee baja respuesta a la terapia antiviral.

### Acknowledgements

Este proyecto fue parcialmente subsidiado por la Secretaría de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Córdoba (SECyT-UNC) y Secretaría de Posgrado, Universidad Católica de Córdoba (SIP-UCC). Agradecemos la colaboración de los pacientes y a las Dras. Sandra Gallego, Gabriela Barbás y al Dr. Miguel Orsilles por los aportes realizados al estudio.

### Bibliografía

1. Poynard T, Yuen MF, Ratziu V, Lai CL: Viral hepatitis C. *Lancet*; 2003, 362:2095–2100.
2. Center for Disease Control and Prevention. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. Atlanta, MMWR; 1998, 47 (No. RR-19).
3. Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deléage G, Enomoto N, Feinstone S, Halfon P, Inchauspé G, Kuiken C, Maertens G, Mizokami M, Murphy DG, Okamoto H, Pawlotsky JM, Penin F, Sablon E, Shin-I T, Stuyver LJ, Thiel HJ, Viazov S, Weiner AJ, Widell A. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*; 2005, 42: 962–973.
4. Zein N. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *Clin Microbiol Rev*; 2000, 13: 223-235.
5. Picchio GR, Bare PC, Descalzi VI, Bussy MV, Soria SM, Raffa MP, Mazzencio NE, Etchahun S, Camera JA, Mosier DE, Villamil FG. High prevalence of infection with a single hepatitis C virus genotype in a small rural community of Argentina. *Liver Int*; 2006, 26: 660-665.
6. Quarleri, J.F., B.H. Robertson, V.L. Mathet, M. Feld, L. Espínola, M.P. Requiño, O.Mando, G Carallal, and J. Oubiña. Genomic and phylogenetic analysis of hepatitis C virus isolates from argentine patients: a six-year retrospective study. *J Clin Microbiol*; 2000, 38: 4560-4568.
7. da Silva CMD, Costi C, Krug LP, Ramos AB, Grandi T, Gandolfi VL, Menezes ME, Ocampos M, Niel C, Rossetti MLR. High proportion of hepatitis C virus enotypes 1 and 3 in a large cohort of patients from Southern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*; 2007, 102: 867-870.
8. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, Balan V, Diago M, Marcellin P, Ramadori G, Bodenheimer H Jr, Bernstein D, Rizzetto M, Zeuzem S, Pockros PJ, Lin A, Ackrill AM; PEGASYS International Study Group. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med*; 2004,140: 346-355.
9. Hultgren C, Desombere I, Leroux-Roels G, Hultgren C, Desombere I, Leroux-Roels G, Quiroga JA, Carreno V, Nilsson B, Weiland O, Matti Sallberg M. Evidence for a relation between the viral load and genotype and hepatitis C virus specific T cell responses. *J Hepatol*; 2004, 40:971–978.

10. Kaplan DE, Sugimoto K, Ikeda F, Stadanlick J, Valiga M, Shetty K, Reddy KR, Chang K. T-cell response relative to genotype and ethnicity during antiviral therapy for chronic hepatitis C. *Hepatology*; 2005, 41:1365–1375.
11. Ré V, Lampe E, Yoshida CF, Oliveira JM, Lewis-Ximenez L, Spinsanti L, Elbarcha O, Contigiani M. Hepatitis C virus genotypes in Cordoba, Argentina. Unexpected high prevalence of genotype 2. *Medicina (B Aires)*; 2003, 63: 205-210.
12. Hall CS, Charlebois ED, Hahn JA, Moss AR, Bangsberg DR. Hepatitis C virus infection in San Francisco's HIV-infected urban poor. *J Gen Intern Med*; 2004, 19: 357-365.
13. Braitstein P, Zala C, Yip B, Brinkhof MW, Moore D, Hogg RS, Montaner JS. Immunologic response to antiretroviral therapy in hepatitis C virus-coinfected adults in a population-based HIV/AIDS treatment program. *J Infect Dis*; 2006, 193:259-268.
14. Braitstein P, Justice A, Bangsberg DR, Yip B, Alfonso V, Schechter MT, Hogg RS, Montaner JS. Hepatitis C coinfection is independently associated with decreased adherence to antiretroviral therapy in a population-based HIV cohort. *AIDS*; 14, 2006: 323-331
15. Ré V, Contigiani M, Yoshida C, Lampe E. Identification of hepatitis C virus subtype 2c by sequencing analysis in patients from Córdoba, Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz*; 2007, 102: 995-998.
16. Mengarelli S, Correa G, Farias A, Cudola A, Juri M, Guinard S, Frias M, Fay F. ¿Por qué el virus de la Hepatitis C en Cruz del Eje? *Acta Gastroenterol Latin*; 2006, 36: S3.
17. Mengarelli S, Kohn Ij, Correa G, Farias A, Ame C, Carnevale J, Mendoza C, Cudola A, Juri, M, Guinard S, Frias M, Fay F. Circulación del Virus C en la Provincia De Córdoba, *Acta Gastroenterol Latin*; 2006, 36:S3.
18. Ross RS, Viazov S, Renzing-Köhler K, Roggendorf M. Changes in the epidemiology of hepatitis C infection in Germany: Shift in the predominance of hepatitis C subtypes. *J Med Virol*; 2000, 60: 122-125.
19. Chlabicz S, Flisiak R, Kowalczyk O, Grzeszczuk A, Pytel-Krolczuk B, Prokopowicz D, Chyczewski L. Changing HCV genotypes distribution in Poland-Relation to source and time of infection. *J Clin Virol*; 2008, 42: 156-159.
20. Ré V, Gallego S, Fariás A, Barbás G, Kremer L, Díaz P, Contigiani M. Hepatitis C infection among HIV-infected subjects: prevalence, genotype characterization and risk factors. *Enf Infec Microbiol Clin*; 2008, 26: 423-425.
21. Dal Molin G, Ansaldo F, Biagi C, D'Agaro P, Comar M, Crocè L, Tiribelli C, Campello C. Changing molecular epidemiology of hepatitis C virus infection in Northeast Italy. *J Med Virol*; 2002, 68: 352-356.
22. Yoo TW, Donfield S, Lail A, Lynn H S, Daar E S. Hemophilia growth and development study. Effect of hepatitis C virus (HCV) genotype on HCV and HIV-1 disease. *J Infect Disease*; 2005, 191: 4-10.
23. van Asten L, Prins M. Infection with concurrent multiple hepatitis genotypes is associated with faster HIV disease progression. *AIDS*; 2004, 19: 2319-2324.
24. Ansaldo F, Bruzzone B, Salmaso S, Rota MC, Durando P, Gasparini R, Icardi G. Different seroprevalence and molecular epidemiology patterns of hepatitis C virus infection in Italy. *J Med Virol*; 2005, 76: 327 – 332.
25. Bortolotti F, Resti M, Marcellini M, Giacchino R, Verucchi G, Nebbia G, Zancan L, Marazzi MG, Barbera C, Maccabruni A, Zuin G, Maggiore G, Balli F, Vajro P, Lepore L, Molesini M, Guido M, Bartolacci S, Noventa F. Hepatitis C virus (HCV) genotypes in 373 Italian children with HCV infection: changing distribution and correlation with clinical features and outcome. *Gut* ; 2005, 54: 852-857.