



Distribución nacional y regional de genotipos del virus hepatitis C en Chile

Mauricio Venegas, Claudio Torres, Alvaro Urzúa y Javier Brahm

National and regional distribution of hepatitis C virus genotypes in Chile

Genotyping of hepatitis C virus has an important prognostic value for response to antiviral therapy. The results of hepatitis C virus genotyping performed between 1994 and 2012 from 1,766 patients of different regions of Chile are reported. Global genotype (Gt) distribution was as follows: 7.87% Gt1a, 72.71% Gt1b, 1.98% Gt2, 16.53% Gt3a, 0.57% Gt4, 0.28% Gt5a and 0.06% Gt6. In most regions the genotype distribution was similar to the global. However, there were some differences, in particular in the south of our country, where 3a is present in more than 30% in some regions.

Key words: Hepatitis C virus, genotype, chronic hepatitis.

Palabras clave: Virus hepatitis C, genotipo, hepatitis crónica.

el blanco de los ensayos de geno-tipificación del VHC, dentro de los cuales destacan el análisis de restricción, hibridación con sondas y secuenciación directa. Todos estos ensayos superan el 95% de concordancia al compararlos con la secuenciación nucleotídica de la región NSSB⁴.

Hasta hace poco tiempo, desde el punto de vista terapéutico, en el estudio de la variabilidad genética de VHC sólo tenía importancia el genotipo viral. En el tratamiento combinado con interferón pegilado más ribavirina, el conocimiento del genotipo, permitía establecer la dosis de ribavirina, la duración de la terapia y además, era uno de los principales predictores de la obtención de una respuesta virológica sostenida (RVS)⁶. Con este tratamiento, se obtiene aproximadamente 80% de RVS en los pacientes infectados con los genotipos 2 ó 3, con una duración de la terapia de 24 semanas. En los pacientes infectados con el genotipo 1, la RVS no supera el 50%, a pesar de que la terapia se extienda por 48 semanas^{7,8}.

Con la aparición de los nuevos fármacos antivirales de acción directa (AAD), desarrollados específicamente contra el genotipo 1, se ha hecho necesario llegar hasta la sub-genotipificación, debido a la respuesta diferente que presentan los genotipos 1a y 1b^{9,10}. Esto es de principal importancia en nuestro medio, donde el genotipo 1 es el más frecuente a nivel nacional¹¹.

En Chile, no existe información sobre la distribución de los distintos genotipos y subtipos de VHC en las distintas regiones del país, objetivo de esta investigación.

Material y Método

Se recopilaron todos los resultados de los exámenes de geno-tipificación de VHC de las muestras que ingresaron al Laboratorio de Gastroenterología del Hospital Clínico de la Universidad de Chile, desde marzo de 1994 a diciembre de 2012. Es preciso señalar que hasta el año 2006 éste era el único laboratorio que realizaba el examen, por lo que hasta esa fecha contemplaba la totalidad de las muestras para estudio de genotipos del VHC en el país. Después de esa fecha, este centro sigue siendo uno de los principales centros de referencia del examen de geno-tipificación.

Para la geno-tipificación del VHC se utilizaron las técnicas de transcripción reversa, seguida por RPC anidada y posterior ensayo de polimorfismo del tamaño de los fragmentos de restricción (RFLP). El método consiste en la extracción del ARN de VHC desde el suero. Luego de una transcripción reversa, se realiza una doble RPC (anidada) dirigida a la región 5' no codificante. Los productos amplificados por RPC son digeridos con enzimas de restricción específicas para la obtención de patrones característicos de cada genotipo, los que se visualizan en un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio. Este método fue diseñado y validado con la técnica comercial de hibridación con sondas INNO Lipa y mediante secuenciación directa en el Instituto Pasteur de Francia^{12,13}. En nuestro laboratorio también se comparó la técnica de RFLP con el ensayo comercial de secuenciación bidireccional TRUGENE HCV 5'NC Genotyping®, obteniéndose resultados equivalentes¹⁴. La metodología de geno-tipificación utilizada en este estudio permite identificar los seis genotipos virales y los subtipos más comunes, incluyendo el 1a y 1b.

Para el cálculo de tamaño muestral, se utilizó un universo de 64.000 pacientes infectados por VHC. Con este universo, con un nivel de confianza de 95% y un error de 5%, el tamaño muestral requerido fue de 382 pacientes.

Resultados

Se estudiaron un total de 1.766 genotipos de VHC (edad: 2 a 83 años), correspondientes a 889 varones y 877 mujeres. La distribución de genotipos fue la siguiente: el más prevalente fue el genotipo 1 (n = 1.423; 80,58%), seguido por los genotipos 3a (16,53%) y 2 (1,98%). Los genotipos 4, 5a

Introducción

La infección crónica por el virus hepatitis C (VHC) es un problema de salud pública mundial, ya que se estima que existen aproximadamente 170 millones de personas infectadas¹. Muchas de éstas desarrollarán complicaciones como fibrosis, cirrosis y carcinoma hepatocelular, siendo ésta una de las causas más frecuentes de trasplante hepático². En Chile, un estudio poblacional de prevalencia de anticuerpos anti-VHC en una muestra de 959 personas \geq 20 años de edad, en la comuna de La Florida, Región Metropolitana, reveló una seroprevalencia de 0,8%. De este total; 62,5% fue virémico³. Basados en estos resultados, se estimaba que para el año 2010 había aproximadamente 64.000 pacientes con infección crónica por el VHC en el país.

Desde el punto de vista virológico, el VHC tiene una gran heterogeneidad genómica, debido a la elevada tasa de replicación (10^{12} viriones al día) y la baja fidelidad de la ARN polimerasa viral. La heterogeneidad genética puede ser clasificada en cuatro niveles, dando lugar a genotipos, subtipos, aislados y cuasi-especies. Los genotipos alcanzan una homología intergenómica entre 67 y 69%, designándose con número arábigo (se han descrito del 1 al 6). Dentro de un mismo genotipo, si la homología es de 75-80%, se clasifica en subtipo y se designa con una letra después del número (a, b, c, etc.)⁴. Por su parte, los aislados y las cuasi-especies poseen una homología entre 85 y 95% y entre 95 y 99%, respectivamente⁵.

Para la determinación de los genotipos de VHC, el estándar de oro es la secuenciación bidireccional de la región NSSB y el posterior análisis filogenético. Sin embargo, como todos los ensayos de detección del ARN de VHC están dirigidos a la región 5' no codificante, ésta se ha convertido en

Hospital Clínico Universidad de Chile. Departamento de Medicina, Sección de Gastroenterología.

Conflictos de interés: no existen.
Financiamiento: no tiene.

Recibido: 4 de abril de 2013 / Aceptado: 1 de julio de 2013

Correspondencia a:
Mauricio Venegas Santos
mvenegas@hcuch.cl



Tabla 1. Distribución de genotipos y subtipos de VHC en Chile

Genotipo VHC	n	(%)	Sexo (M/F)
1a	139	(7,8)	77/62
1b	1.284	(72,7)	595/687
2	35	(1,9)	27/8
3a	292	(16,5)	181/113
4	10	(0,5)	5/5
5a	5	(0,2)	3/2
6	1	(0,06)	1/0
Total	1.766	(100)	889/877

y 6 fueron casos aislados, representando menos de 1% de la población estudiada (Tabla 1).

En todas las regiones estudiadas, el subtipo más frecuente fue el 1b, que también fue el más común en la población total. El genotipo 3a, segundo en frecuencia, lo fue también en las regiones con mayor representación (Metropolitana, de Valparaíso y del Bío-Bío), con un mayor porcentaje en la Región del Bío-Bío (30% vs 16,6% a nivel nacional). Este mismo genotipo también fue más frecuente en otras regiones del país (del Maule, de los Lagos y Magallanes), aunque el número de pacientes estudiados fue bastante menor (Tabla 2).

Discusión

Al analizar la distribución nacional de los genotipos de VHC, tal como sucede en otros países sudamericanos, Europa y Asia, el subtipo 1b fue el más frecuente en la población^{15,16}. Esto contrasta con lo que sucede en E.U.A., en que el subtipo predominante es el 1a^{16,17}.

Es destacable el alto porcentaje de genotipos 3a en la Región del Bío-Bío, lo que se observó también en otras regiones del sur del país (aunque con menos número de muestras), lo que podría sugerir una vía de infección distinta en esta zona. El genotipo 3a se ha asociado a drogadicción intravenosa, sin embargo, este antecedente se encontró sólo en 5% de los pacientes infectados con VHC en nuestro país¹⁸. Otra posibilidad es una fuente de infección común inicial con el genotipo 3a, como por ejemplo, productos sanguíneos de un mismo origen. Esto es difícil de asegurar, por la falta de información retrospectiva y rastreo del origen, dada la historia natural prolongada de la infección crónica. Un origen filogenético distinto en la población de estas regiones o la presencia de una migración específica en algún momento, como se ha sugerido en otros países, podría explicar por qué los sujetos de ciertas zonas del país tienen predominio de uno u otro genotipo¹⁷. De igual forma, llama la atención el número de pacientes con genotipo 2 encontrados en la Región de Arica (4 de 25), considerando la baja prevalencia de este genotipo en el país. Esto podría explicarse por tratarse de una región con migración de países vecinos, como Perú y Bolivia. Lamentablemente hay escasa información sobre la distribución de genotipos en estos países. Existe sólo un estudio que reportó una prevalencia de 2% de genotipo 2 en Lima, Perú, zona distante de la frontera¹⁵, porcentaje bastante más bajo que en la Región de Arica. En esta línea, sería interesante estudiar el origen del genotipo 2 en esta zona, junto con la prevalencia en las zonas fronterizas de Perú y Bolivia.

Con respecto a la distribución del genotipo 1a, ésta es homogéneamente baja a lo largo del país. En cambio, la distribución del genotipo 1b, si bien es el más frecuente, cede participación en aquellas regiones donde la 3a se hace más importante. Este fenómeno es difícil de explicar y podría responder

Tabla 2. Distribución porcentual de genotipos y subtipos de VHC en las regiones de Chile

Región	n	1a (%)	1b (%)	2 (%)	3a (%)	4 (%)	5a (%)	6 (%)
Tarapacá	5		80		20			
Antofagasta	17	6	76		6	12		
Atacama	5	20	60		20			
Coquimbo	16		81		13	6		
Valparaíso	104	11	76	< 1	11	< 1	< 1	
L. B. O'higgins	22	9	73		18			
Maule	22	9	64		27			
Bío-Bío	123	4	64	2	30			
Araucanía	9	33	44	11	11			
Los Lagos	16	6	50	6	38			
Aysén	0							
Magallanes	9	22	33	11	33			
Los Ríos	8	12,5	75		12,5			
Arica	25	8	72	16	4			
RM	1.385	8	74	2	16	< 1	< 1	< 1
Nacional		7,87	72,71	1,98	16,53	0,57	0,28	0,06

a una fuente estable de contagio del genotipo 1a y una fuente compartida entre el 1b y 3a, aunque habitualmente lo descrito es una vía común para el 1a y 3a¹⁹. La distinta distribución de los genotipos 1a y 1b ha adquirido importancia con el uso actual de los AAD, dada la mayor resistencia del genotipo 1a a este tipo de fármacos¹⁰.

Los casos aislados de genotipos 4, 5a y 6 corresponden en su mayoría a pacientes extranjeros o chilenos infectados en el exterior. Estos genotipos son propios de Egipto, sur de África y Asia Oriental, respectivamente²⁰.

El hecho de que la distribución no sea seleccionada de una muestra poblacional, podría ser interpretado como un sesgo. Sin embargo, hasta el año 2006 nuestro laboratorio era de referencia nacional para el estudio de geno-tipificación por lo que la muestra, en nuestra opinión, es representativa de la realidad nacional desde que se empezó a estudiar el VHC en Chile.

Este es el primer estudio de distribución de genotipos de VHC en Chile y sus distintas regiones. Esta información podría tener un valor importante en definir las políticas de terapia en las distintas zonas del país, lo que es de especial relevancia dada la importancia que tienen los distintos genotipos en cuanto a su respuesta terapéutica. En un futuro, se deberían estudiar las posibles causas de la distribución geográfica particular del VHC en Chile y si la respuesta terapéutica de los distintos genotipos replica lo ocurrido en otras poblaciones, sobre todo cuando los nuevos fármacos AAD estén disponibles.

Resumen

La geno-tipificación del virus hepatitis C tiene un importante valor pronóstico para la respuesta al tratamiento antiviral. Se presentan los resultados de la geno-tipificación del virus hepatitis C realizada entre los años 1994 y 2012, proveniente de 1.766 pacientes de distintas regiones de Chile. La distribución global de los genotipos (Gt) fue la siguiente: Gt1a



7,8%; Gt1b 72,7%; Gt2 1,9%, Gt3a 16,5%; Gt4 0,5%; Gt5a 0,2% y Gt6 0,06%. En la mayoría de las regiones, la distribución de genotipos fue similar a la global. Sin embargo, hubo algunas diferencias, en particular en la zona sur del país, donde el genotipo 3a representó sobre el 30% en algunas regiones.

Referencias bibliográficas

- 1.- World Health Organization. Global surveillance and control of hepatitis C. *J Viral Hepat* 1999; 6: 35-47.
- 2.- Marcellin P. Hepatitis C: the clinical spectrum of the disease. *J Hepatol* 1999; 31 Suppl 1: 9-16.
- 3.- González R, Soza A, Hernández V, Pérez RM, Álvarez M, Morales A, et al. Incidence and prevalence of hepatitis C virus infection in Chile. *Ann Hepatol* 2005; 4: 127-30.
- 4.- Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deléage G, Enomoto N, Feinstone S, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005; 42: 962-73.
- 5.- Bukh J, Miller R H, Purcell R H. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Sem Liver Dis* 1995; 15: 41-63.
- 6.- Di Bisceglie A M, Hoofnagle J H. Optimal therapy of hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36 (Suppl 1): S121-7.
- 7.- Fried M W, Shiffman M L, Reddy K R, Smith C, Marinos G, Gonçalves F L Jr, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 975-82.
- 8.- Manns M P, McHutchison J G, Gordon S C, Rustgi V K, Shiffman M, Reindollar R, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomized trial. *Lancet* 2001; 358: 958-65.
- 9.- Chevaliez S, Bouvier-Alias M, Brillet R, Pawlotsky J M. Hepatitis C virus (HCV) genotype 1 subtype identification in new HCV drug development and future clinical practice. *PLoS One* 2009; 4: e8209.
- 10.- Halfon P, Locarnini S. Hepatitis C virus resistance to protease inhibitors. *J Hepatol* 2011; 55:192-206.
- 11.- Muñoz G, Venegas M, Velasco M, Brahm J. Biología molecular en el diagnóstico y seguimiento de virus hepatitis C: 15 años de experiencia. *Gastr Latinoam* 2008; 19: 302.
- 12.- Thiers V, Jaffredo F, Tuveri R, Chodan N, Bréchet C. Development of a simple restriction fragment length polymorphism (RFLP) based assay for HCV genotyping and comparative analysis with genotyping and serotyping tests. *J Virol Methods* 1997; 65: 9-17.
- 13.- Muñoz G, Velasco M, Thiers V, Hurtado C, Brahm J, Larrondo-Lillo M, et al. Prevalencia y genotipos del virus de la hepatitis C en donantes de sangre y en pacientes con enfermedad hepática crónica y hepatocarcinoma en población chilena. *Rev Med Chile* 1998; 126: 1035-42.
- 14.- Muñoz G, Venegas M, Acevedo W, Velasco M, Brahm J. Genotipificación de aislados chilenos de virus hepatitis C por secuenciación de la región 5' NC (TRUGENE): concordancia con el método de restricción fragment length polymorphism (RFLP). *Gastr Latinoam* 2003; 14: 384.
- 15.- Szabo S M, Bibby M, Yuan Y, Donato B M, Jiménez-Mendez R, Castañeda-Hernández G, et al. The epidemiologic burden of hepatitis C virus infection in Latin America. *Ann Hepatol* 2012; 11: 623-35.
- 16.- Negro F, Alberti A. The global health burden of hepatitis C virus infection. *Liver Int* 2011; 31 Suppl 2: 1-3.
- 17.- Germer J J, Mandrekar J N, Bendel J L, Mitchell P S, Yao J D. Hepatitis C virus genotypes in clinical specimens tested at a national reference testing laboratory in the United States. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 3040-3.
- 18.- Soza A, Arrese M, González R, Álvarez M, Pérez RM, Cortés P, et al. Clinical and epidemiological features of 147 Chilean patients with chronic hepatitis C. *Ann Hepatol* 2004; 3: 146-51.
- 19.- Pawlotsky J M. Hepatitis C virus genetic variability: pathogenic and clinical implications. *Clin Liver Dis* 2003; 7: 45-66.
- 20.- Antaki N, Craxi A, Kamal S, Moucari R, Van der Merwe S, Haffar S, et al. The neglected hepatitis C virus genotypes 4, 5 and 6: an international consensus report. *Liver Int* 2010; 30: 342-55.