



TESIS DOCTORAL

**EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DEL
VIRUS DE LA HEPATITIS C EN GALICIA:
PREVALENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE
LOS GENOTIPOS VIRALES EN EL ÁREA
SANITARIA DE SANTIAGO DE
COMPOSTELA**

Daniel Navarro de la Cruz

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y
PARASITOLOGÍA

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2016





TESIS DOCTORAL

**EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DEL
VIRUS DE LA HEPATITIS C EN GALICIA:
PREVALENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE
LOS GENOTIPOS VIRALES EN EL ÁREA
SANITARIA DE SANTIAGO DE
COMPOSTELA**

Fdo.:

Daniel Navarro de la Cruz

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y
PARASITOLOGÍA

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2016



**ANTONIO AGUILERA GUIRAO, PROFESOR ASOCIADO DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA**

CERTIFICA:

Que la presente Tesis titulada: «Epidemiología molecular del virus de la hepatitis C en Galicia: prevalencia y distribución de los genotipos virales en el área sanitaria de Santiago de Compostela» ha sido realizada bajo mi dirección, por D. Daniel Navarro de la Cruz en el Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad de Santiago de Compostela y, estimando que se encuentra finalizada y en condiciones de optar al grado de Doctor, solicita sea admitida a trámite para su lectura y defensa pública.



Santiago de Compostela, mayo de 2016

Fdo. Dr. Antonio Aguilera Guirao





*a Cristóbal y Josefa
a la memoria de Lope*



AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar al Dr. Antonio Aguilera por todo el conocimiento y tiempo que me ha dedicado durante estos años de trabajo y estudio. Además de mi máxima admiración como profesional y persona.

Al Profesor Benito Regueiro y a la Dra. María Luisa Pérez del Molino a quienes agradezco su confianza y apoyo.

Al Dr. Francisco Gude con el que ha sido un honor trabajar, por su ayuda en la orientación de este trabajo.

A los Dres. Antonio Antela, Javier Fernández-Castroagudín, Elena Losada, Esther Molina, Esteban Otero y Santiago Tomé, quienes con su solidez de conocimientos, su enorme experiencia y su meticulosidad en el diagnóstico y seguimiento de estos pacientes han hecho posible esta Tesis Doctoral.

A la Dra. Begoña Palop por animarme desde el primer momento a llevar a cabo este proyecto.

A mis compañeros Facultativos, Residentes, Técnicos e Investigadores del Servicio de Microbiología y Parasitología por su apoyo y amistad. En especial a los Dres. María Dolores Peñalver, Mercedes Treviño, Carlos García Riestra y a la memoria de Eduardo Varela.

A Ana y Daniel Rodríguez de Leiras por todo su afecto y ayuda.

A mis padres Cristóbal y Josefa por quererme, cuidarme y por convertirme en quien soy, a Xavi por todo lo que compartimos como hermanos y como mejores amigos, a Ruth por su cariño, por enseñarme el camino a seguir y por todas las alegrías que nos da, a José Manuel por sus ánimos, sus consejos y por ser mi hermano mayor, a los pequeños Daniel y Marina por llegar a mi vida y quienes aun no saben lo mucho que me han ayudado en estos últimos pasos, a Esperanza por cuidarme tanto y en especial a mi amor Paula Avelina por todo su cariño, paciencia y apoyo constante.

Pero sin duda, quisiera ofrecer mi máximo agradecimiento a todas aquellas personas y familiares que conviven con la infección por el virus de la hepatitis C, detrás de cada uno de ellos se esconde una historia personal que les convierte en auténticos supervivientes de sus propias circunstancias.

Daniel Navarro de la Cruz



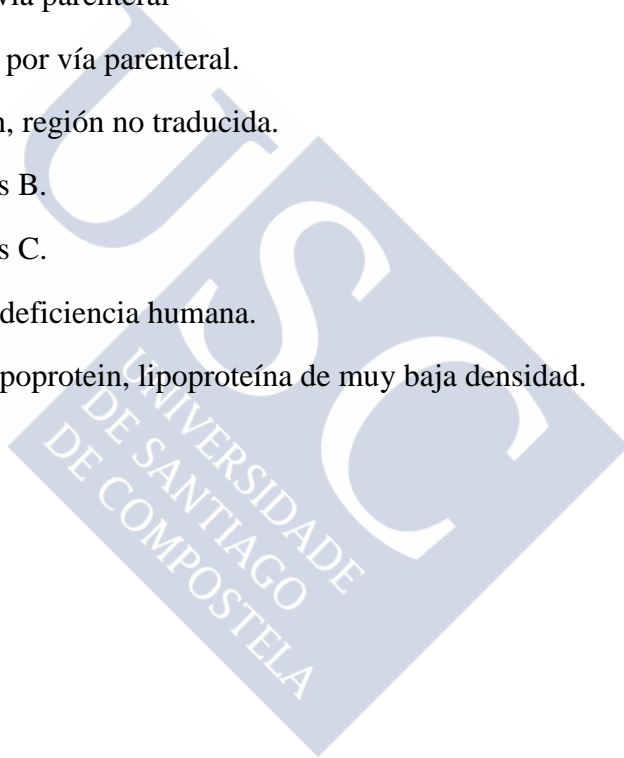
ABREVIATURAS

AAD:	antiviral de acción directa.
AASLD:	American Association for the Study of Liver Diseases, Asociación Americana para el Estudio de las Enfermedades del Hígado.
AC:	área costera.
ADN:	ácido desoxirribonucleico.
ADNc:	ácido desoxirribonucleico complementario.
AG:	aparato de Golgi.
ALT:	alanina aminotransferasa.
AM:	área metropolitana.
AR:	área rural.
ARN:	ácido ribonucleico.
ARNm:	ácido ribonucleico mensajero.
AS:	área sanitaria.
AST:	aspartato aminotransferasa.
BOC:	boceprevir.
C:	proteína core.
CHC:	carcinoma hepatocelular.
CD81:	clúster de diferenciación 81.
CDC:	US Center of Disease Control and Prevention, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los EEUU.
CHUS:	Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela.
CI:	cuestionario informativo.
CLDN:	claudina.
CPN:	core y complejo de proteínas no estructurales.
CR:	complejo de replicación.
CRD:	cuaderno de recogida de datos.

CV:	carga viral.
DAC:	daclatasvir.
DAS:	dasabuvir.
E:	glicoproteína de envuelta.
EASL:	European Association for the Study of the Liver, Asociación Europea para el Estudio del Hígado.
ECDC:	European Centre for Disease Prevention and Control, Centro Europeo para la Prevención y el Control de las Enfermedades.
EMA:	European Medicines Agency, Agencia Europea del Medicamento.
EMCDDA:	European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, Centro Europeo de Observación para las Drogas y Adictos a Drogas.
eIF4F:	eukaryotic initiation factor-4F, factor de iniciación eucariótico 4F.
GAG:	glicosaminoglicanos.
GEHEP:	Grupo Español para el Estudio de las Hepatitis Virales de la SEIMC.
GGT:	γ -glutamyltranspeptidasa.
GL:	gotitas lipídicas.
HSH:	hombres que mantienen relaciones sexuales con otros hombres.
IC:	infectados crónicos.
IFN:	interferón.
IgG:	inmunoglobulina G.
IL:	interleuquina.
IN:	inhibidor nucleosídico.
INN:	inhibidor no nucleosídico.
IP:	inhibidor de la proteasa.
IRES:	internal ribosome entry site, sitio interno de entrada al ribosoma.
ISG:	interferon stimulated genes, genes estimulados por interferón.
LDL:	low density lipoprotein, lipoproteína de baja densidad.
LDLR:	low-density lipoprotein receptor, receptor de lipoproteína de baja densidad.
LED:	ledipasvir.

LiPA:	ensayo de hibridación reversa en línea.
NAT:	nucleic acid test, test de ácidos nucleicos.
NS:	nonstructural protein, proteína no estructural.
OCLN:	occludina.
OMB:	ombistasvir.
ORF:	open reading frame, marco abierto de lectura.
p7:	proteína canal iónico 7.
PAR:	paritaprevir.
PCR:	polymerase chain reaction, reacción en cadena de la polimerasa.
PIFN:	peginterferón.
PIFN-α2a:	peginterferón alfa-2a.
PIFN-α2b:	peginterferón alfa-2b.
RAVs:	resistance-associated variants, variantes asociadas a resistencia.
RBV:	ribavirina.
RdRp:	RNA dependent RNA polymerase, polimerasa de ARN dependiente de ARN.
RE:	retículo endoplasmático.
RFLP:	restriction fragment length polymorphisms, polimorfismos de longitud de fragmento de restricción.
RIBA:	recombinant immunoblot assay, ensayo inmunoblot recombinante.
RIC:	rango intercuartílico.
Rito:	ritonavir.
RM:	red membranosa.
RVS:	respuesta viral sostenida.
RVS12:	respuesta viral sostenida a la semana 12.
RVS24:	respuesta viral sostenida a la semana 24.
RVT:	respuesta viral temprana.
SEIMC:	Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.
SIM:	simeprevir.
SL:	stem-loop, tallo-bucle.

SNP:	single nucleotide polymorphism, polimorfismos de nucleótido simple.
SOF:	sofosbuvir.
SR-B1:	receptor scavenger clase B tipo I
TEL:	telaprevir.
Tm:	melting temperature, temperatura de fusión.
TNAI kit:	total nucleic acid isolation kit, kit de aislamiento de ácidos nucleicos totales.
TNF-α:	tumor necrosis factor α , factor de necrosis tumoral α .
T/P:	tatuaje y/o piercing.
UDPV:	uso de drogas por vía parenteral
UDPVs:	usuarios de drogas por vía parenteral.
UTR:	untranslated region, región no traducida.
VHB:	virus de la hepatitis B.
VHC:	virus de la hepatitis C.
VIH:	virus de la inmunodeficiencia humana.
VLDL:	very low density lipoprotein, lipoproteína de muy baja densidad.



ÍNDICE

RESUMEN	V
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Perspectiva histórica de la hepatitis C	3
1.2 Estructura y ciclo biológico del VHC	4
1.2.1 Estructura	4
1.2.2 Ciclo biológico	5
1.3 Clasificación, variabilidad genética e identificación del genotipo	8
1.3.1 Clasificación	8
1.3.2 Variabilidad genética	9
1.3.3 Identificación del genotipo	9
1.4 Prevalencia y distribución de genotipos	12
1.4.1 A nivel global	12
1.4.2 Europa	12
1.4.3 España	16
1.4.4 Galicia	18
1.5 Vías de transmisión	19
1.5.1 Parenteral	19
1.5.2 Sexual	20
1.5.3 Vertical	20
1.6 Historia natural de la hepatitis C	21
1.7 Diagnóstico de laboratorio	25
1.7.1 Métodos indirectos	25
1.7.2 Métodos directos	26
1.8 Tratamiento	27
1.8.1 Indicaciones para tratar a un individuo con hepatitis C crónica	27
1.8.2 Perspectivas históricas y terapia estándar	28
1.8.3 Factores que predisponen a la respuesta al tratamiento	28
1.8.4 Antivirales de acción directa aprobados por la Agencia Europea del Medicamento (EMA: European Medicines Agency)	31
1.8.5 Actuales terapias recomendadas	34
1.8.6 Causas de fracaso a las nuevas terapias con antivirales de acción directa	36

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	39
3. MATERIAL Y MÉTODOS	43
3.1 Tipo de diseño, población y entorno.....	45
3.2 Metodología.....	46
3.2.1 Variables de estudio	46
3.2.2 Determinaciones.....	52
3.2.3 Validación del método de genotipado	56
3.2.4 Determinación de variantes filogenéticas del subtipo 1a y detección del polimorfismo Q80K	57
3.3 Tratamiento estadístico.....	57
4. RESULTADOS	59
4.1 Validación del método de genotipado empleado	61
4.2 Distribución de genotipos y factores de riesgo en el área sanitaria	61
4.2.1 Distribución de genotipos y factores de riesgo en cada sexo y en el total de infectados crónicos por el VHC en el área sanitaria.....	61
4.2.2 Distribución de genotipos y factores de riesgo en las diferentes áreas	63
4.2.3 Distribución de genotipos y factores de riesgo en grupos de coinfectados con el VHB y con el VIH.....	65
4.3 Distribución de genotipos y factores de riesgo por edades en el área sanitaria	69
4.3.1 Distribución de genotipos y factores de riesgo por edades en el total de la población	69
4.3.2 Distribución de genotipos y factores de riesgo por edades en cada género	70
4.3.3 Distribución de genotipos y factores de riesgo por edades en cada área.....	71
4.3.4 Distribución de genotipos y factores de riesgo por edades en los diferentes grupos de coinfectados	72
4.4 Distribución de genotipos en la población virémica circulante	74
4.5 Prevalencia de infectados crónicos	75
4.5.1 Prevalencia de infectados crónicos en cada área.....	75
4.5.2 Prevalencia de infectados crónicos en cada localidad del AM.....	76
4.5.3 Prevalencia de infectados crónicos en cada localidad del AC	77
4.5.4 Prevalencia de infectados crónicos en cada localidad del AR	77
4.6 Asociación de los diferentes genotipos con la progresión de la enfermedad.....	80
4.6.1 Asociación de los diferentes genotipos con la progresión a cirrosis	80
4.6.2 Asociación de los diferentes genotipos con el desarrollo de carcinoma hepatocelular	84
4.6.3 Asociación de los diferentes genotipos con la necesidad de trasplante hepático	88
4.7 Asociación de los genotipos con la respuesta al tratamiento.....	92
4.7.1 Terapias basadas en interferón	92
4.7.2 Terapias libres de interferón.....	103

4.8 Variantes filogenéticas del subtipo 1a y detección del polimorfismo Q80K	105
4.8.1 Variantes filogenéticas	105
4.8.2 Polimorfismo Q80K.....	105
4.9 Sumario	105
5. DISCUSIÓN.....	111
5.1 Validación del método de genotipado empleado.....	113
5.2 Distribución de genotipos en el área sanitaria	113
5.2.1 Características de la población de estudio	113
5.2.2 Distribución actual de genotipos en el área sanitaria y su asociación con los diferentes factores de riesgo.....	114
5.2.3 Prevalencia de infectados crónicos en el área sanitaria	117
5.2.4 Distribución de genotipos por edades	118
5.3 Asociación de los genotipos con la progresión de la enfermedad.....	121
5.3.1 Asociación de los genotipos con la progresión a cirrosis	121
5.3.2 Asociación de los genotipos con el desarrollo de carcinoma hepatocelular	121
5.3.3 Asociación de los genotipos con la necesidad de trasplante hepático.....	121
5.4 Asociación de los genotipos con la respuesta al tratamiento.....	122
5.4.1 Terapias con interferón	122
5.4.2. Terapias libres de interferón	123
6. CONCLUSIONES	125
7. BIBLIOGRAFÍA	129
8. ANEXO.....	171
9. ÍNDICES COMPLEMENTARIOS	175
Índice de figuras	177
Índice de tablas.....	177



RESUMEN

Galicia adolece de estudios recientes que evalúen la distribución de los diferentes genotipos del VHC, su epidemiología y la asociación con los principales factores clínicos y virológicos. Nuestro objetivo ha sido informar sobre la epidemiología molecular de los genotipos del VHC en Galicia durante el período 2000-2015.

Se realizó un estudio retrospectivo donde se reclutaron 1815 pacientes procedentes de las consultas externas de Digestivo, Hepatología y Enfermedades Infecciosas del CHUS desde el 1 de enero del 2000 hasta el 31 de diciembre de 2015. Se registró la distribución anual de genotipos y subtipos del VHC en el total de AS, en cada comarca y municipio, así como el género, la edad, las vías de transmisión, la coinfección con el VHB y con el VIH, los detalles de la progresión de la enfermedad y de respuesta al tratamiento. Los datos fueron anonimizados en una base de datos de SPSS y para el análisis se emplearon proporciones y el test de Chi-cuadrado (χ^2).

La mediana de edad de la población crónicamente infectada con el VHC fue de 50 años (RIC 57-45), donde un 72,5% eran hombres, un 1,8% eran inmigrantes, un 39,9% se encontraban coinfectados con el VHB y un 16,6% con el VIH. La ruta de transmisión más frecuente fue la parenteral (86,3%) donde la mayoría de casos se asociaron con el UDVP (56,0% del total) principalmente en las áreas metropolitana y costera, y el factor de riesgo nosocomial (29,4% del total) que fue la más prevalente en el área rural. La distribución de genotipos fue la siguiente: 61,7% genotipo 1 (28,2% subtipo 1a y 32,8% subtipo 1b), 3,2% genotipo 2, 20,3% genotipo 3, 14,7% genotipo 4 y 0,1% genotipo 5. El subtipo 1a y el genotipo 4 estuvieron significativamente asociados con el UDVP, la residencia en el área costera, el sexo masculino y la coinfección con el VHB y el VIH, mientras que el genotipo 3 sólo lo hizo con el UDVP y la residencia en el área costera. En contraste, el subtipo 1b estuvo significativamente asociado con el sexo femenino, la residencia en el área rural, los factores de riesgo nosocomial y desconocido, y la no coinfección con el VHB y/o el VIH. Además, se observó un efecto de la edad en la distribución de genotipos, con el subtipo 1b y el genotipo 2 asociados a mayores de 69 años, los genotipos 3 y 4 más vinculados a individuos con edades comprendidas entre 50 y 69 años, y el subtipo 1a con una mayor prevalencia en menores de 50 años. Con respecto al total de pacientes tratados con las distintas terapias que contienen interferón, en la monoterapia con IFN/PIFN fue el genotipo 4 el que presentó la RVS más elevada con el 20,0%, mientras que los genotipos 2 y 3 fueron los que mejor respondieron a IFN/PIFN+RBV con el 85,2% y 77,9% respectivamente, por último en las terapias con PIFN+RBV+AAD la RVS que se obtuvo en los subtipos 1a y 1b y en el genotipo 4 fue del 48,3%, 67,0% y 45,5% respectivamente. Finalmente en las terapias libres de interferón, se alcanzó una RVS del 97,3% con independencia del genotipo y de fracasos a tratamientos previos.

Presentamos los datos más recientes sobre la epidemiología molecular del VHC en Galicia. Este estudio confirma que en nuestro área sanitaria la distribución de genotipos varía con la edad, el sexo, la coinfección con el VHB y con el VIH, así como en las diferentes áreas geográficas, edades y grupos epidemiológicos.

PALABRAS CLAVE

VHC, prevalencia, distribución, genotipos, infectados crónicos.





1. INTRODUCCIÓN



1.1 PERSPECTIVA HISTÓRICA DE LA HEPATITIS C

La hepatitis C fue descubierta en 1975 en pacientes postrasfusionados con hepatitis y se la denominó “hepatitis no-A, no-B”.¹ La identificación del agente causal tardó más de una década debido a la dificultad del virus para propagarse de forma eficiente en los cultivos celulares. La clonación y caracterización del genoma del virus de la hepatitis C (VHC) reveló que pertenece a la familia Flaviviridae y género *Hepacivirus*.²

Se estima que la prevalencia global de la infección por el VHC es de un 2-3%, lo que equivale a 130-170 millones de personas con evidencia serológica de anticuerpos de clase IgG anti-VHC,^{3,4} actualmente el VHC se ha convertido en el principal responsable de la enfermedad hepática de origen infeccioso, provocando infecciones agudas y crónicas que pueden conducir a fibrosis, cirrosis y carcinoma hepatocelular (CHC), y representando además en Europa y EEUU, la principal causa de trasplante hepático en la actualidad.

La epidemia por el VHC tiene importantes diferencias geográficas y temporales tanto a nivel mundial como regional. En nuestro país se ha producido un cambio epidemiológico importante en los últimos 15 años, debido principalmente al aumento en la seguridad de las transfusiones de sangre, mejora de las condiciones sanitarias, llegada de inmigrantes desde zonas donde el VHC es endémico y sobre todo al continuo aumento del uso de drogas por vía parenteral (UDVP); provocando un cambio en la distribución de los genotipos y subtipos del VHC y también en los grupos epidemiológicos, haciendo que los datos de prevalencia de los estudios realizados hace más de una década ya no puedan emplearse para estimar la actual y futura carga de la enfermedad por el VHC.

El primer tratamiento contra el VHC fue la monoterapia con interferón (IFN), que se administraba de forma diaria. Poco después se descubrió que añadiendo ribavirina (RBV) se aumentaba de una forma significativa la sensibilidad viral.⁵ A finales de los años 90 llegó la forma pegilada de interferón (PIFN) que permitía la inyección semanal con niveles en suero mantenidos y una disminución de los efectos adversos. A principios del siglo XXI se demostró la eficacia de peginterferón alfa-2a (PIFN- α 2a) y peginterferón alfa-2b (PIFN- α 2b) cuando se usaban con RBV, por lo que dicha terapia se convirtió en la estándar.⁶⁻⁸ La introducción de los inhibidores de la proteasa de primera generación telaprevir (TEL) y boceprevir (BOC) en el año 2011 inició la era de los tratamientos con antivirales de acción directa (AAD), estos tratamientos incrementaron la RVS desde aproximadamente el 50% a más del 70%, pero esta terapia restringía aun más la elección del paciente y estaba solamente aprobada para el tratamiento de la infección por el genotipo 1 del VHC. El IFN se ha mantenido durante mucho tiempo como la columna vertebral del tratamiento del VHC, ya que ayuda a prevenir el avance viral, sin embargo tiene una eficacia limitada y está asociado con efectos adversos graves y toxicidad, especialmente entre pacientes cirróticos. Por este motivo, actualmente se intentan aplicar terapias libres de IFN, empleando combinaciones de AAD de nueva generación de diferentes familias con o sin RBV, con la intención de mejorar las tasas de RVS y ofrecer nuevos tratamientos para otros genotipos del VHC y para pacientes no aptos o pacientes que no respondieron a terapias previas.

1.2 ESTRUCTURA Y CICLO BIOLÓGICO DEL VHC

1.2.1 Estructura

El genoma del VHC es muy heterogéneo y consta de una única cadena monocatenaria de ácido ribonucleico (ARN) de sentido positivo, de una longitud aproximada de 9600 nucleótidos y con un único marco abierto de lectura (ORF: open reading frame) que está flanqueado por regiones no traducidas (UTR: untranslated region): 5'-UTR y 3'-UTR.

Este único ORF codifica la poliproteína del VHC, que consta de 3000 aminoácidos de longitud, la cual va a ser procesada cotraduccional y postraduccionalmente por proteasas celulares y virales, dando lugar a:

1. Tres proteínas estructurales:

- Core (C): que se relaciona con la unión y homooligomerización del ARN.^{9,10}
- E1 y E2: que son glicoproteínas de envuelta situadas sobre la superficie viral, cuya función es la de unir al virus a receptores celulares como CD81 (clúster de diferenciación 81) y SR-B1 (receptor scavenger clase B tipo I)^{11, 12} y participar en su posterior entrada en el interior de las células diana.

2. Una proteína canal iónico p7: que parece no tener competencias en la replicación del ARN. Su función principal es la de participar en el ensamblaje y liberación de las partículas virales.¹³⁻¹⁵

3. Seis proteínas no estructurales (NSs):

- NS2: posee un dominio proteasa en la mitad de su C-terminal, que junto con el dominio proteasa N-terminal de la NS3 van a dar lugar a una proteasa catalíticamente activa que romperá la unión NS2/NS3.^{16, 17}
- NS3: va a presentar dos actividades enzimáticas diferentes. Por un lado, su tercio N-terminal es una serín-proteasa que con la ayuda de NS4A, a la que se une de forma no covalente (actuando de cofactor), romperá todas las uniones restantes entre las NSs que hay corriente abajo, y por otro lado, dos tercios de su C-terminal contienen una ARN helicasa/NTPasa. Ambas actividades son importantes para la replicación del VHC.^{18, 19}
- NS4A: como ya se comentó anteriormente, sirve como cofactor para la proteasa NS3.

- NS4B: induce la formación de la RM (red membranosa), que es un compartimento especializado de membrana donde se produce la replicación del ARN.²⁰
- NS5A: su dominio I tiene una estructura dimérica que la hace presentar un surco putativo de unión al ARN.^{21,22}
- NS5B: es la polimerasa de ARN dependiente de ARN (RdRp: RNA dependent RNA polymerase), responsable de sintetizar *de novo* la hebra negativa complementaria como intermediario de replicación y posteriormente la replicación a ARN genómico empleando como molde la hebra de ARN negativa.^{23, 24}

Las proteínas estructurales se encuentran en el N-terminal de la poliproteína y las no estructurales en el C-terminal.

1.2.2 Ciclo biológico

1.2.2.1 Unión y entrada

Las células hepáticas son las principalmente infectadas por el VHC *in vivo*.²⁵ El virus se une por sí solo a la superficie de la célula hospedadora por medio de interacciones débiles mediante glicosaminoglicanos (GAG) y/o receptor de lipoproteína de baja densidad (LDLR: low-density lipoprotein receptor), una vez unido y concentrado sobre la superficie celular, los viriones van a interactuar con alta afinidad con receptores de entrada como CD81 y SR-BI, el complejo virus-receptor se transloca hacia las uniones estrechas donde claudina (CLDN) y ocludina (OCLN) actúan como cofactores e inducen la endocitosis mediada por receptor. El endosoma que contiene al virus es acidificado en el citoplasma, un proceso que provoca en las glicoproteínas de envuelta el inicio de la fusión y liberación de la nucleocápside. El ARN genómico del VHC se libera y se emplea como molde para la replicación y también para la traducción de la poliproteína, que va a ser dirigida a localizaciones celulares específicas donde será cotraduccional y postraduccionalmente modificada y producirá proteínas virales maduras que formarán el complejo de replicación (CR) y se ensamblarán en nuevos viriones, esa progenie de viriones brotarán del lumen del retículo endoplasmático (RE) y saldrán de la célula hospedadora a través de la vía secretora²⁶ (Figura 1).

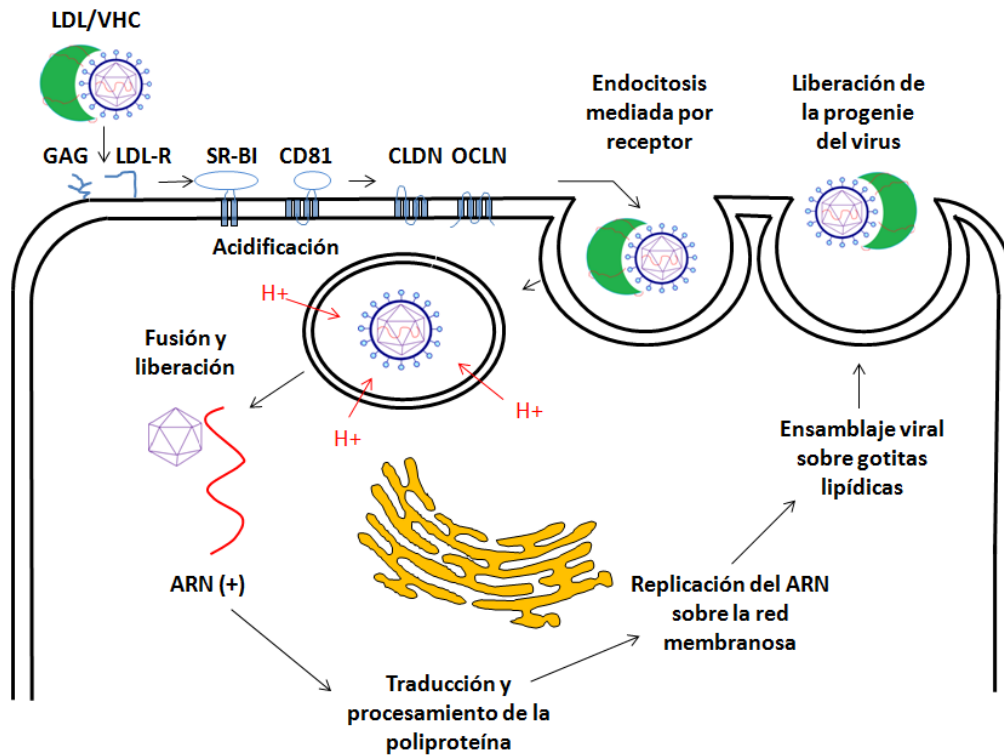


Figura 1. Ciclo viral VHC

Modificado de Tang H *et al.*, 2009²⁷

1.2.2.2 Traducción

La traducción eucariota necesita normalmente una estructura 5'-7meG-cap que reclute el factor de iniciación eucariótico 4F (eIF4F: eukaryotic initiation factor-4F) al ARNm y permita a la subunidad pequeña del ribosoma (40S) unirse al extremo 5' y escanear el codón de iniciación de una forma ATP-dependiente. Pero el ARN del VHC no contiene una caperuza 5', así que lo que hace es usar una caperuza independiente basada en sitios internos de entrada al ribosoma (IRES: internal ribosome entry site).²⁸ El IRES se encuentra en el interior del 5'-UTR y está formado por tres dominios con estructura secundaria en tallo-bucle (SL: stem-loop): SLII, SLIII y SLIV y unos pocos primeros codones del ORF de la core. El IRES puede inducir por sí mismo cambios conformacionales en la unidad 40S, lo que dará lugar a la formación del complejo activo 80S.²⁹⁻³¹

1.2.2.3 Replicación

La replicación del VHC se produce en membranas intracelulares.³² Para ello es necesario tener ancladas, en estas membranas, a todas las NSs (lo que producirá su alteración), formándose así el CR,^{20, 33} que está compuesto por el genoma viral, proteínas NSs y cofactores de la célula. El modelo de Quinkert D *et al.*, 2005³⁴ expone que se produce una invaginación en la membrana del RE y forma estructuras de vesículas de membrana que van a englobar a todos los componentes activos del CR funcional³⁵ (Figura 2B).

1.2.2.4 Formación y liberación de las partículas virales

El ensamblaje del VHC parece ocurrir sobre las gotitas lipídicas (GL) y la proteína C, que se encuentra cubriendo su superficie.³⁶ También tienen un importante papel en este proceso las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL: very low density lipoprotein) y las NSs. Las NSs se encuentran divididas en al menos dos grupos en las células infectadas, por un lado NS3, NS5B y la cola 3'-X son importantes a la hora de generar viriones,³⁷ y por otro NS5A, NS2 y NS3 tienen un papel esencial en la liberación de partículas virales^{14,38-40} (Figura 2A).

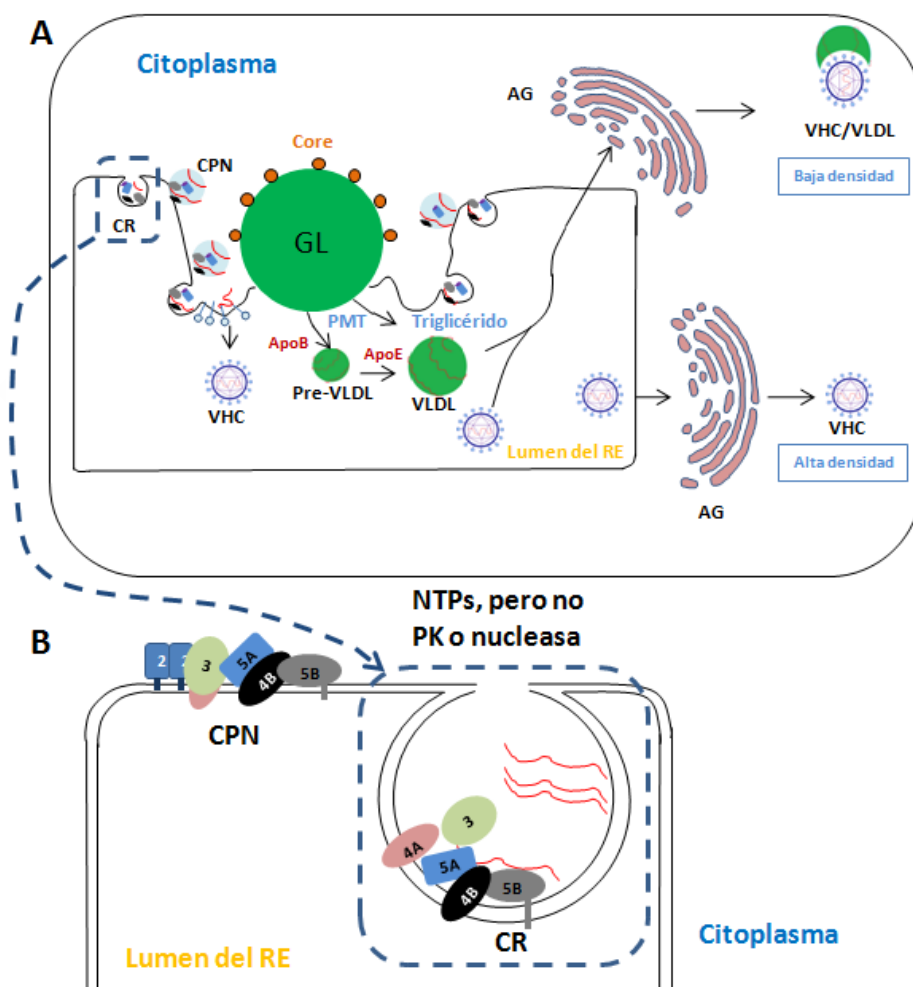


Figura 2. Ensamblaje y liberación del VHC

(A): Modelo de ensamblaje y liberación. Las gotas lipídicas (GL), con la core y el complejo NS (CPN) interactuando sobre la superficie no sólo sirve como un sitio para el ensamblaje viral, sino también suministra lipoproteínas que se acomplejan con las partículas del VHC. La densidad de las partículas del VHC está determinada por su asociación con lipoproteínas. (B): Los CR unidos a la membrana como propuso Quinkert D *et al.*,³⁴ Nota: el interior del CR es accesible a nucleótidos pero no a moléculas grandes tales como la PK o la nucleasa S7. PMT (proteína microsomal transferidora de triacilglicerol); triglicérido, triacilglicerol; VLDL, very-LDL; CPN, complejo de proteínas no estructural; AG, aparato de Golgi. Modificado de Tang H *et al.*, 2009²⁷

1.3 CLASIFICACIÓN, VARIABILIDAD GENÉTICA E IDENTIFICACIÓN DEL GENOTIPO

1.3.1 Clasificación

El VHC se encuentra dividido en 7 genotipos principales, cada grupo genético está formado por distintos subtipos que están más estrechamente relacionados entre sí genética y epidemiológicamente. Mediante métodos filogenéticos se encuentran clasificados en (Figura 3): genotipo 1 (subtipos 1a, 1b, 1c, 1e, 1g, 1h y 1l), genotipo 2 (subtipos 2a, 2b, 2c, 2d, 2e, 2i, 2j, 2k, 2m, 2q y 2r), genotipo 3 (subtipos 3a, 3b, 3g, 3h, 3i y 3k), genotipo 4 (subtipos 4a, 4b, 4c, 4d, 4f, 4g, 4k, 4l, 4m, 4n, 4o, 4p, 4q, 4r, 4t, 4v y 4w), genotipo 5 (subtipo 5a), genotipo 6 (subtipos 6a, 6b, 6c, 6d, 6e, 6f, 6g, 6h, 6i, 6j, 6k, 6l, 6m, 6n, 6o, 6p, 6q, 6r, 6s, 6t, 6u, 6v, 6w y 6xa) y genotipo 7 (subtipo 7a).⁴¹

Los genotipos se diferencian entre sí por un 31% al 33% a nivel de nucleótidos, siendo esa diferencia en los subtipos del 20% al 25%. En la secuencia del VHC existe una elevada diversidad, pero todos los genotipos comparten un conjunto idéntico de genes colineales de un tamaño similar o idéntico a lo largo del ORF, y las interrelaciones genéticas de las variantes del VHC son notablemente consistentes en todo el genoma.⁴² Esto ha permitido que muchas de las actuales variantes reconocidas del VHC sean provisionalmente clasificadas basándose en secuencias parciales de regiones subgenómicas tales como C/E1 o NS5B.⁴³

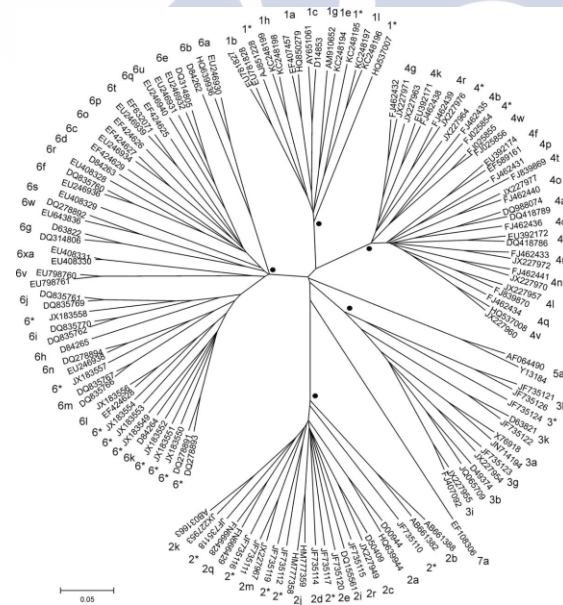


Figura 3. Árbol filogenético de 129 secuencias representativas de regiones codificantes completas

Fueron alineados hasta dos secuencias representativas de cada genotipo/subtipo confirmado (junto con una tercera variante extrema de los subtipos 4g y 6e) y un árbol de neighbor joining se construyó usando la máxima probabilidad entre las distancias de nucleótidos de las regiones codificantes empleando MEGA 5⁴⁴. Las secuencias fueron escogidas para ilustrar la máxima diversidad dentro de un subtipo. Las sugerencias son etiquetadas por el número de acceso y subtipo (* subtipo sin asignar). Para los genotipos 1, 2, 3, 4 y 5 la rama común compartida más abajo por todos los subtipos y apoyado por el 100% de repeticiones de arranque (n=5000) está indicado por un ".". Imagen de Smith DB *et al.*, 2014.⁴¹

Es importante mencionar que además, dentro del subtipo 1a existen dos tipos diferentes de variantes filogenéticas, conocidas como clado I y II. Estos clados presentan diferente distribución geográfica y también distinta resistencia natural a los inhibidores de NS3/4.

La secuenciación, entre otras, de las regiones NS3/4, NS5A y NS5B permite diferenciar estos clados mediante el correspondiente análisis filogenético.

La distribución de estos clados varía entre los diferentes países y regiones, siendo por ejemplo significativamente diferente entre EEUU y países europeos ($p < 0,001$), con el clado I más prevalente en EEUU (75,7%) y ambos clados igualmente distribuidos en países europeos como Italia (el clado I representa el 49,3%).⁴⁵ En España, estudios recientes han demostrado que predomina el clado II.

Por su parte, estos clados presentan también diferente barrera genética a los inhibidores de NS3/4 al presentar distinta prevalencia en la distribución de los polimorfismos naturales de resistencia presentes en dicha región, que como en el caso del polimorfismo Q80K se encuentra de manera mayoritaria en el clado I.⁴⁵⁻⁴⁷

1.3.2 Variabilidad genética

Las regiones más conservadas del genoma del VHC son el 5'-UTR, y las 99 bases terminales del 3'-UTR. También la secuencia de aminoácidos traducida del gen core es poco variable entre los distintos genotipos. La mayor variabilidad se encuentra en la región hipervariable de E2^{48, 49} debido a que esta región está muy sometida a la selección inmunológica,⁵⁰⁻⁵⁴ este hecho provoca una alteración en la filogenia del VHC.

Una dificultad añadida para la clasificación del VHC es la recombinación entre genotipos.^{55, 56} La recombinación homóloga en el VHC podría estar favorecida por varios factores, entre los que destacan la superposición que existe en la distribución de genotipos en muchas regiones del mundo y por la conducta de riesgo que pueda seguir el individuo, como es el caso de los usuarios de drogas por vía parenteral (UDVPs), donde pueden producirse exposiciones frecuentes durante la infección primaria y también en la infección crónica debido a que no se genera inmunidad protectora frente al VHC.

1.3.3 Identificación del genotipo

La identificación del genotipo del VHC es metodológicamente diferente a su clasificación. Conocer el genotipo es esencial para la clínica, ya que la duración del tratamiento, las tasas de curación y la necesidad de incorporar RBV a algunas de las pautas con los nuevos AAD dependen en parte del genotipo y subtipo del VHC.

Las pruebas de genotipado suelen estar basadas en el análisis de la secuencia de un segmento amplificado del genoma, normalmente la región 5'-UTR y región C, que aunque son regiones poco variables, en ellas existe un grupo de polimorfismos que permiten extrapolar el genotipo. Estos polimorfismos pueden ser detectados mediante secuenciación directa⁵⁷ de las regiones 5'-UTR, C, NS3, NS5A y NS5B, y su posterior análisis filogenético. También la secuenciación de las regiones NS3, NS5A y NS5B en `geno2phenoHCV` (<http://hcv.geno2pheno.org/>), o bien en BLAST (http://hcv.lanl.gov/content/sequence/BASIC_BLAST/basic_blast.html) donde además

también se puede analizar la región C y 5'-UTR. La secuenciación directa está considerada como el método de referencia para el genotipado del VHC. Pero debido a su complejidad a la hora de aplicarse en la rutina de laboratorio, se han utilizado otros métodos comerciales para la determinación del genotipo, como por ejemplo:^{58,59}

- A. La secuenciación de la región 5'-UTR (Trugene 5'NC HCV Genotyping Kit, Siemens).
- B. La PCR a tiempo real alelo específica (Abbott HCV GTII y Roche).
- C. Los sistemas de genotipado por PCR multiplex (Seeplex, HCV genotyping kit).
- D. La amplificación a ADNc empleando primers conservados seguidos de polimorfismos de longitud de fragmento de restricción (RFLP: restriction fragment length polymorphisms).
- E. LINEAR ARRAY HCV Genotyping Test, mediante AMPLICOR y COBAS AMPLICOR HCV Test, v2.0 (Roche). Los principios del test son los siguientes: está basado en la transcripción reversa del ARN diana para generar ADNc, amplificación por PCR de la diana de ADNc usando primers específicos complementarios, hibridación de los productos amplificados mediante sondas de oligonucleótidos específicas de la diana y la detección de los productos amplificados unidos a estas sondas por determinación colorimétrica. El amplicón marcado con biotina se une al sitio específico en la tira. Después de la hibridación y varias etapas de lavado se añade estreptavidina-peroxidasa que se une a la sonda marcada con biotina. Tras lavar el substrato (peróxido de hidrógeno y 3, 3', 5, 5'-tetrametilbencidna), éste da un color azul en la franja donde se produce la hibridación. Los resultados se leen visualmente y se comparan con el patrón de bandas de color de la tabla de referencia de los patrones de genotipos.
- F. El ensayo de hibridación reversa en línea (LiPA), es uno de los métodos más ampliamente empleados para el genotipado del VHC. En un inicio se utilizó el LiPA 1.0 que amplificaba solamente la región 5'-UTR del VHC por medio de primers biotinilados. Pero a pesar de la elevada conservación del 5'-UTR, se observó que al igual que otros métodos que únicamente están basados en el análisis de esta región, se identificaba erróneamente los genotipos 6c a 6l, así como los subtipos del genotipo 1,^{60,61} siendo incapaz de distinguir entre el subtipo 1a y el 1b en el 5% al 10% de los casos.^{62, 63} Para mejorar este problema se desarrolló un nuevo ensayo de hibridación reversa en línea (VERSANT HCV genotype 2.0 assay, LiPA 2.0) que emplea, además de la información de la secuencia del 5'-UTR, la de la secuencia C.
Los principios del VERSANT HCV genotype 2.0 assay, LiPA 2.0 son los siguientes: el producto de ADN biotinilado, generado por amplificación por RT-PCR de las regiones 5'-UTR y C del ARN del VHC, se hibrida

con sondas de oligonucleótidos inmovilizados. Las sondas, que están unidas a una tira de nitrocelulosa por una cola poli(dT), son específicas para la región 5'-UTR y región C de los diferentes genotipos.^{64, 65} Después del paso de hibridación, se lava el producto de PCR que no ha hibridado en la tira y se une la estreptavidina marcada con fosfatasa alcalina (conjugado) al híbrido biotinilado. El cromógeno BCIP/NBT (substrato) reacciona con el complejo estreptavidina-fosfatasa alcalina formando un precipitado de color púrpura/marrón, lo que resulta en un patrón de bandas visible sobre la tira.⁶⁶

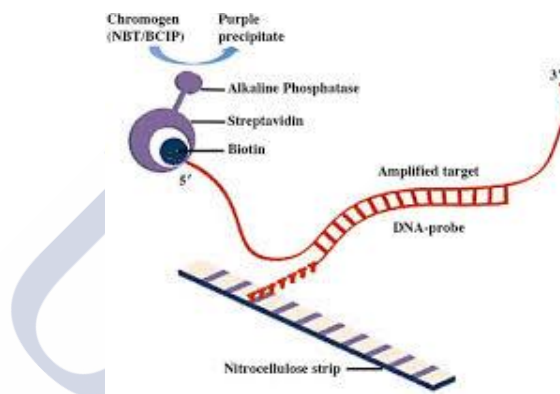
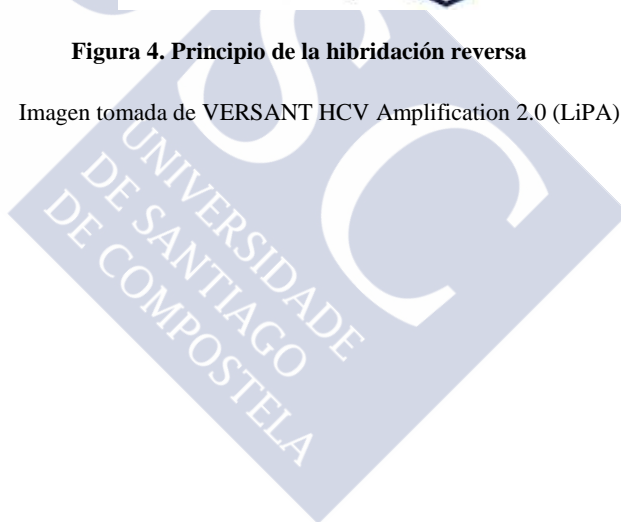


Figura 4. Principio de la hibridación inversa

Imagen tomada de VERSANT HCV Amplification 2.0 (LiPA).⁶⁶



1.4 PREVALENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS

1.4.1 A nivel global

A. Prevalencia: se estima que entre un 2-3% de la población mundial tiene evidencia serológica de anticuerpos de clase IgG anti-VHC.^{3,4} Esta prevalencia es muy variable entre los distintos países, oscilando entre <1% a >10%.⁴ Las mayores tasas se registran en África y Oriente Medio, y las menores en las dos Américas, Australia y en Europa del Norte y Occidental.⁴ En cuanto a países son Egipto y Camerún los que poseen mayores tasas (>10%).^{67,68} En números absolutos de infectados, China (con 29,8 millones), India (con 18,2 millones), Egipto (con 11,8 millones), Pakistán (con 9,4 millones) e Indonesia (con 9,4 millones también) son los países con mayor cantidad de individuos infectados por el VHC.⁴

B. Distribución de genotipos: la distribución global de los genotipos del VHC es diversa, lo que refleja diferencias en la epidemiología, incluyendo diferencias temporales en los modos de transmisión y variabilidad étnica. Los genotipos 1, 2 y 3 están ampliamente distribuidos por todo el mundo, el genotipo 1 es el más común en la mayoría de zonas de Norte América,²⁸ Europa Occidental y del Norte,^{69,70} América del Sur, Asia y Australia.⁷¹ Mientras que los genotipos 4, 5 y 6 suelen ser más específicos de ciertas regiones,⁷² el genotipo 4 se encuentra predominantemente en África⁷³ y Oriente Medio,^{74,75} el genotipo 5 es casi exclusivo de Sudáfrica⁷⁶ y el genotipo 6 es endémico del Sudeste Asiático,⁷⁷ siendo altamente prevalente en Hong Kong⁷⁸ y en el Sur de China.⁷⁹

1.4.2 Europa

A. Prevalencia: en Europa se estima que entre 7,3 y 8,8 millones de personas (1,1-1,3%) están infectadas con el VHC.⁸⁰ Presenta un patrón heterogéneo de prevalencia (Figura 5), con tasas que van de intermedias a altas (>2,5%) en: Europa Oriental (Rumanía y Rusia),^{81, 82} Europa del Sur (Italia),⁸³ y tasas de baja prevalencia(<=1%) en: Europa Occidental (Holanda y Reino Unido)^{84, 85} y en Europa del Norte (Noruega).⁸⁶

El European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) informó de un aumento constante en la incidencia global de infectados por el VHC en Europa, pasando de 4,5 por 100.000 personas al año en 1995, a 8,5 por 100.000 personas al año en 2005.⁸⁷ Aunque dicho aumento no se da en todas las zonas, ya que en Europa Occidental se observa una disminución desde la década de los 90^{69,88,89} y un aumento en Europa Oriental (República Checa, Estonia, Polonia y Rusia).^{70,90} Además esta distribución ha cambiado a lo largo del tiempo, en Europa la propagación inicial del virus comenzó durante el siglo XX a través del factor de riesgo nosocomial (uso de inyecciones parenterales no seguras, procedimientos médicos y quirúrgicos invasivos y sobretudo transfusiones de productos sanguíneos contaminados), dicho factor ha ido perdiendo relevancia a lo largo del tiempo, siendo sustituido por el UDVP, que actualmente se considera el factor de riesgo mayoritario en nuestro continente. El momento de aparición de la epidemia, su extensión y la duración de los factores asociados a su transmisión en las distintas zonas y países del continente, es lo

que explica de forma general, la existencia de los diferentes patrones epidemiológicos en Europa (países Noroccidentales y países Surorientales).⁷⁰

En Europa Occidental se han podido describir tres patrones de transmisión del VHC:⁹¹

- En Europa del Norte, la epidemia ha sido principalmente transmitida por UDVPs y en una época posterior a la ocurrida en otras zonas del continente, observándose en la actualidad una prevalencia general baja (entre el 0,1% y 1%). Aquí la mayoría de infectados son adultos entre 30 y 50 años.⁹¹⁻⁹⁶
- En Europa Central, la prevalencia del VHC es intermedia, tasas que van desde el 0,2% en Holanda al 1,2% en Francia.^{92, 97-99}
- En Europa del Sur (España, Italia, Grecia o Sur de Francia), la tasa de prevalencia general ronda entre el 2,5% y el 3,5%,^{92,97,100-105} incluso hay áreas aisladas de alta prevalencia en Italia y Grecia donde se llega al 7% y al 20% respectivamente.^{102,104-109} Aquí ocurrió una epidemia inicial (hace más de 50 años) asociada a la realización de procedimientos médicos inseguros (principalmente transfusiones) que provocó una alta prevalencia de infectados (principalmente personas de avanzada edad), seguida por una segunda epidemia, unos 30 años después y que actualmente sigue en curso, relacionada con UDVP, responsable de los casos de infección entre jóvenes.¹¹⁰

B. Distribución de genotipos (Figura 5): se sabe que la distribución de genotipos está estrechamente asociada con el modo de transmisión, el subtipo 1a y los genotipos 3 y 4 están relacionados con el UDVP, y el subtipo 1b y el genotipo 2 con transfusiones de sangre y procedimientos médicos inseguros.¹¹⁰⁻¹¹⁴ A comienzos de los 90, los genotipos 1, 2 y 3 constituían la mayoría de las infecciones en donantes de sangre y en pacientes.^{92,97,115} Siendo el genotipo 1 el más prevalente seguido del 3, excepto en el sur de Italia donde era el 2 (del 25% al 30% de las infecciones entre personas mayores).^{83, 92,107,111} Las infecciones por el genotipo 4 en el sur de Europa se encontraban en una baja frecuencia (4-6%),¹¹¹⁻¹¹⁴ pero a partir de los años 90 esta imagen ha ido cambiando, observándose una disminución del subtipo 1b y del genotipo 2, y un aumento de 1a, 3 y 4, debido a cuatro principales factores:

- Control sobre las transfusiones de sangre: fue la principal causa de la propagación del VHC en la mayoría de los países europeos desde la Segunda Guerra Mundial. A finales de los 80, del 2 al 10% de las unidades de sangre en países desarrollados transmitieron el VHC.^{101, 116-118} Así que fueron infectados la mayoría de los receptores crónicos de transfusiones y de concentrados de factores de la coagulación.^{119, 120} Esta propagación se pudo frenar por medio de una serie de avances como la implantación de un sistema de donantes voluntarios de sangre (1980), procedimientos efectivos de inactivación del virus en derivados de sangre (1987) y la introducción de test anti-VHC de primera (1990) y segunda generación para donantes de sangre (1992).^{93,116, 119, 121, 122} Desde 1994 los únicos casos de transmisión del VHC por transfusión se deben a aquellas unidades donadas durante el periodo de ventana serológico.^{116, 123}

- Mejora de la seguridad de los procedimientos sanitarios: gracias al uso de elementos de inyección desechables, a la mejora de técnicas de desinfección para equipamientos no desechables y al cumplimiento de los estándares de medidas de control de la infección.¹²⁴⁻¹²⁷ Pero, pese a esa disminución, todavía siguen ocurriendo infecciones por causas iatrogénicas en países con altos estándares sanitarios, son en su mayoría transmisiones paciente a paciente (ya sea esporádica o como pequeños brotes) y son más comunes en áreas y entornos con alta prevalencia del VHC como las Unidades de Diálisis.^{91, 93, 116, 128}

- Inmigración: varios países europeos han sostenido altas tasas de migración neta durante décadas, sobre todo en los últimos años. En algunos países hasta el 12% de la población son inmigrantes.⁷⁰ El aumento en la prevalencia del VHC asociado con la inmigración varía entre países, en España se podría estimar que sobre 90.000 nuevos portadores del VHC, llegaron al país durante 1993 y 2008.⁷⁰

- UDVP: es el núcleo de la epidemia actual del VHC. El Centro Europeo de Observación para las Drogas y Adictos a Drogas (EMCDDA)¹²⁹ y Eurosurveillance¹³⁰ han estimado una tasa media de 5,3 UDVPs por 1000 personas de entre 16 a 64 años, por tanto hay 1,7 millones de UDVPs en los países de la UE. El UDVP es una de las rutas más eficientes para la transmisión del VHC, que es la infección viral que más rápidamente se adquiere tras la iniciación del individuo en esta práctica, especialmente durante el primer año.¹³¹ En este grupo, la prevalencia está en torno al 60%, que llega a ser de más del 80% en los UDVPs de países que formaban parte de la antigua Unión Soviética.^{130, 132-136} La transmisión del VHC entre los UDVPs sigue aumentando, sobre todo entre jóvenes UDVPs, y las tasas de incidencia oscilan entre 11 y 42 por 100 UDVPs/año.^{131, 136-138} La peor situación está en Europa Oriental.^{132, 139-145} Incluso los genotipos del VHC relacionados con el UDVP (1a, 3, 4) han sustituido a los tradicionales genotipos predominantes 1b y 2, entre los donantes de sangre y pacientes jóvenes.¹⁴⁶⁻¹⁵³ También entre los UDVPs infectados con el VIH (>70%), la infección activa por el VHC continúa creciendo¹⁵⁴ observándose además un aumento del número de coinfectados con el genotipo 4.¹⁵⁵

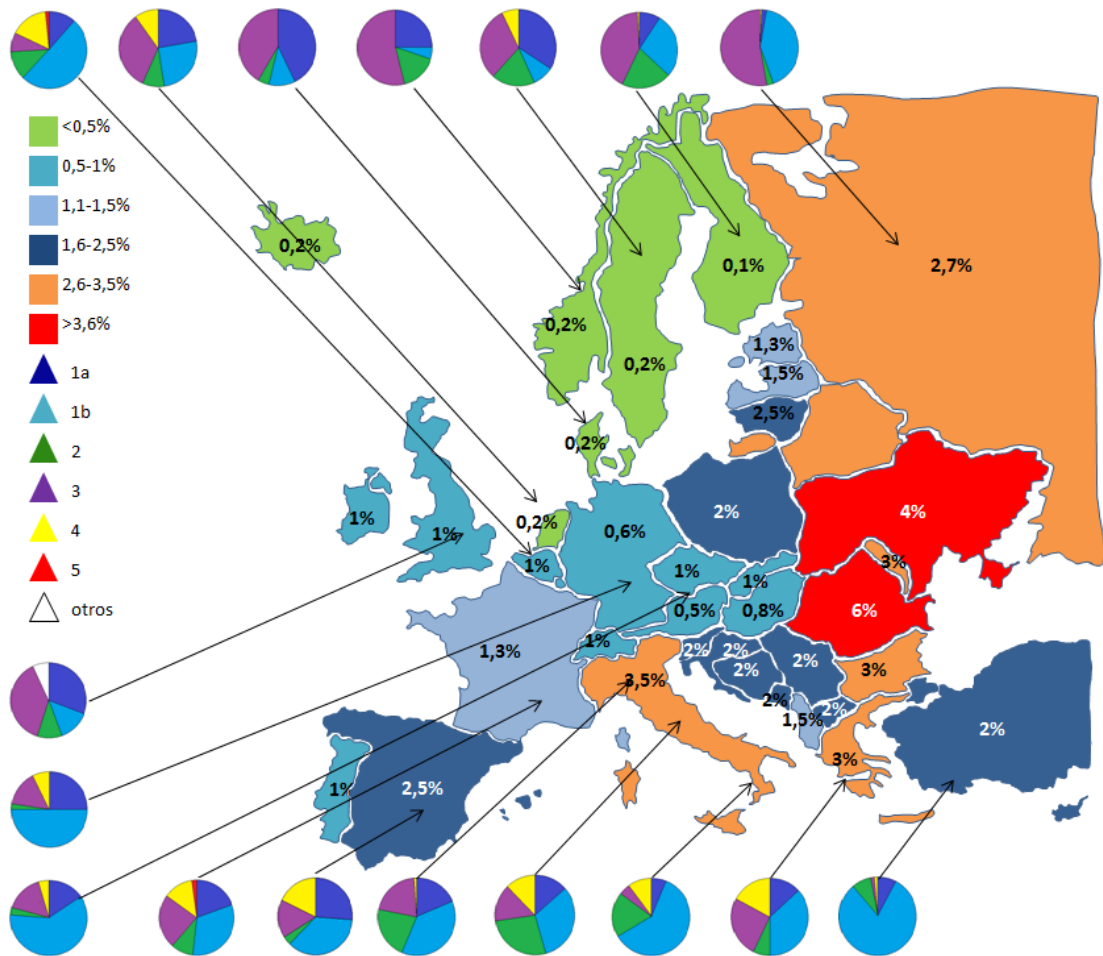


Figura 5. Actual estimación de prevalencia de la infección y distribución estimada de genotipos entre individuos infectados por el VHC en Europa.

Actual estimación de prevalencia de la infección por el VHC en Europa: verde, prevalencia <0,5%; celeste, prevalencia entre 0,5-1%; azul, prevalencia entre 1,1-1,5%; azul oscuro, prevalencia entre 1,6-2,5%; naranja, prevalencia entre 2,6-3,5%; y rojo, prevalencia mayor a 3%.^{83,86, 90, 92,95,98-100,103-105,156-174} Y distribución estimada de genotipos entre individuos infectados por el VHC en Europa. Sólo se han representado datos procedentes de cohortes que incluían más de 250 pacientes evaluados después de 1999: azul, subtipo 1a; celeste, subtipo 1b; verde, genotipo 2; morado, genotipo 3; amarillo, genotipo 4; rojo, genotipo 5; blanco, genotipos 4 y 5 en Reino Unido.^{54,57, 83,146-148,151, 152, 156,175-183} Modificado de Esteban JI *et al.* 2008⁷⁰ y Hajarizadeh B *et al.* 2013.¹⁸⁴

1.4.3 España

La prevalencia de anticuerpos anti-VHC en España oscila entre 1,6% y el 2,6%.¹⁷⁴ Se han realizado multitud de estudios en nuestro país para conocer las características epidemiológicas y distribución de genotipos del VHC tanto en la población general de infectados crónicos con el VHC como en grupos de pacientes seleccionados:

1.4.3.1 Estudios realizados sobre la población general de infectados crónicos con el VHC

En 1998, Pena MJ *et al.*¹⁸⁵ estudiaron las características epidemiológicas y la distribución de genotipos en 179 pacientes de la población general de infectados crónicos en Gran Canaria. El genotipo 1 fue el más prevalente con el 89,9% de los casos, representando el subtipo 1b el 63,7% y 1a el 16,7%, le siguió el genotipo 3 (4,4%), genotipo 4 (3,8%) y genotipo 2 (1,6%). Observaron una asociación significativa del subtipo 1b con el sexo femenino, mayores de 45 años y transfusiones y el factor de riesgo desconocido, y del subtipo 1a y los genotipos 3 y 4 con el sexo masculino, menores de 45 años y el UDVP.

En otro estudio realizado por Ramos-Sánchez MC *et al.* en 2003,¹⁸⁶ analizaron la distribución de genotipos en la población general de infectados crónicos de Valladolid, reclutando un total de 355 pacientes. La distribución de genotipos observada fue la siguiente: el genotipo 1 era el más prevalente (67,7%), representando el subtipo 1b el 44,0% y el 1a el 23,7%, le siguió el genotipo 3 (19,7%), genotipo 4 (7,0%), genotipo 2 (2,8%) y genotipo 5 (0,3%).

También en 2003 Rodríguez JC *et al.*¹⁸⁷ analizaron las características epidemiológicas y la distribución de genotipos en la población general de infectados crónicos de la Comunidad Valenciana, un total de 281 pacientes, donde el 68,7% eran hombres y un 17,6% de la población estaba coinfectada con el VIH. El genotipo 1 fue el más prevalente (50,4%), representando el subtipo 1b el 38,4% y el 1a el 13,5%, le siguió el genotipo 3 (23,1%), el genotipo 4 (9,1%) y el genotipo 2 (1,8%). Observaron una asociación del subtipo 1b con el sexo femenino, la no coinfección con el VIH, el factor de riesgo desconocido y mayores de 40 años. El subtipo 1a y los genotipos 3 y 4 se asociaron con el sexo masculino, el UDVP y menores de 40 años.

En 2006 Echevarría JM *et al.* realizaron en nuestro país uno de los estudios más importantes sobre las características epidemiológicas y la distribución de genotipos del VHC en la población general de infectados crónicos.¹⁸⁸ En este trabajo reclutaron un total de 3161 pacientes de toda España. La distribución de genotipos observada fue la siguiente: el genotipo 1 era el más prevalente (65,4%), representando el subtipo 1b el 41,3% y el 1a el 24,1%, le siguió el genotipo 3 (19,6%), el genotipo 4 (11,6%), el genotipo 2 (3,1%) y el genotipo 5 (0,3%). Observaron una asociación del subtipo 1a con el UDVP y la coinfección con el VIH y del subtipo 1b con los nacidos antes de 1950 y con el factor de riesgo desconocido, siendo éste el principal factor de riesgo (78,9%).

En 2015 Buti M *et al.*¹⁸⁹ analizaron la distribución de genotipos en la población general de infectados crónicos en un estudio multicéntrico que englobaba hospitales de diversas zonas del país, recogiendo datos de un total de 1000 pacientes. En su estudio, el genotipo 1 fue el más prevalente (76,6%), representando el subtipo 1b el 53,5% y el subtipo 1a el 21,8%, le siguió el genotipo 3 (12,3%), el genotipo 4 (7,4%), el genotipo 2 (2,7%) y el genotipo 5 (0,4%).

Por último, el mayor y más reciente estudio realizado sobre las características epidemiológicas y la distribución de genotipos del VHC en la población general de infectados crónicos, fue el proyecto GEHEP 005, llevado a cabo por el Grupo Español para el Estudio de las Hepatitis Virales de la SEIMC (GEHEP) y cuyos resultados fueron presentados a finales del año 2015.¹⁵⁶ En este estudio se reclutaron 15140 pacientes de toda España genotipados entre 2011 y 2015, la mediana de edad de la población infectada fue de 50 años y donde el 68,6% eran hombres. El principal genotipo fue el 1 (68,8%), donde el subtipo 1b representó el 35,9% y el subtipo 1a el 27,0%, le siguió el genotipo 3 (16,5%), el genotipo 4 (11,9%), el genotipo 2 (2,7%) y los genotipos 5 y 6 con un 0,1%. El principal factor de riesgo fue el parenteral (62,3%), dentro del cual el UDVP supuso el 60,0% y nosocomial el 30,3%, le siguió el factor de riesgo desconocido (32,5%), sexual (3,8%) y vertical (0,4%). Observaron una distinta distribución geográfica de los genotipos, siendo los genotipos 3 y 4 significativamente más prevalentes en el norte y el sur del país. Informaron de un 28,2% de coinfectados con el VHB y un 14,8% con el VIH. Observaron una asociación significativa del subtipo 1b con mayores de 50 años y la residencia en la zona central del país. El subtipo 1a y los genotipos 3 y 4 se asociaron de forma significativa con la coinfección con el VHB pero sólo 1a y 4 con la coinfección con el VIH.

1.4.3.2 Estudios realizados sobre poblaciones seleccionadas de infectados crónicos con el VHC

En 1996, Bravo R *et al.*¹⁹⁰ estudiaron la distribución de genotipos y factores de riesgo en 88 pacientes UDVPs. Observando que el 43,8% estaban coinfectados por más de un genotipo, representando la coinfección con 1a+1b el 82,7% de los casos de coinfección. En los no coinfectados (56,2% de la población estudiada) 1a fue el más prevalente con el 22,9%, seguido del 1b con el 13,3% y 3 con el 11,4%; los genotipos 2 y 4 fueron muy poco comunes y no se registraron casos de genotipo 5.

También en 1998 García F *et al.*¹⁹¹ analizaron la distribución de genotipos entre UDVPs, individuos coinfectados con VIH y pacientes en hemodiálisis en el Sur de España, suponiendo un total de 71 pacientes (32, 15 y 24 individuos respectivamente). El genotipo 1 fue el más prevalente con un 80,3%, representando el subtipo 1b el 54,9% y 1a el 25,4%, le siguió el genotipo 3 (8,5%), el genotipo 4 (1,4%) y describieron un 7,0% de coinfecciones. Observaron una asociación significativa del subtipo 1a con el UDVP y de 1b con los no UDVPs. Informaron de una emergencia del subtipo 1a entre jóvenes UDVP en el Sur de España.

En un estudio multicéntrico publicado por León P *et al.* en 1999,¹¹² se analizó la distribución de genotipos en un grupo seleccionado de 441 donantes de sangre infectados con el VHC pertenecientes a 17 comunidades autónomas con el objetivo de extrapolar los resultados obtenidos a la población general española. La distribución de genotipos fue la siguiente: el genotipo 1 fue el más prevalente (85,5%), representando el subtipo 1b el 78,0% y el 1a el 7,5%, le siguió el genotipo 3 (4,4%), el genotipo 2 (4,1%), el genotipo 4 (3,4%) y el genotipo 5 (0,5%), informaron de un 1,1% de coinfectados.

Rubio M *et al.* en el año 2001¹¹³ analizaron la distribución de genotipos en un total de 278 pacientes coinfectados con el VIH en la provincia de Lérida. Observaron que el genotipo 1 fue el más prevalente (51,4%), representando el subtipo 1b el 30,6% y el subtipo 1a el 15,7%, le siguió el genotipo 3 (29,1%), el genotipo 4 (19,1%) y el genotipo 2 (0,4%), informaron de un 5,0% de coinfectados. El 52,0% de las infecciones se relacionaron con el UDVP, la vía de transmisión heterosexual representó el 8,6%, homosexual el 0,7% y transfusionados el 1,1%.

Ramos B *et. al* en el año 2007¹⁹² estudiaron las características epidemiológicas y la distribución de genotipos en un total de 1226 pacientes genotipados entre los años 1998-2004 en el Hospital Carlos III de Madrid. La mediana de edad de la población fue de 41,4 años y siendo el 67,0% hombres. El genotipo 1 fue el más prevalente (64,1%), representando el subtipo 1b el 32,4% y 1a el 30,2%, le siguió el genotipo 3 (20,9%) y el genotipo 4 (11,7%). Un 65,0% del total estaban coinfectados con el VIH. El subtipo 1b estaba asociado de forma significativa con la no coinfección y el subtipo 1a y los genotipos 3 y 4 con la coinfección con el VIH. Observaron una disminución a lo largo del tiempo del genotipo 3 y un aumento del genotipo 4. Pero no encontraron ninguna asociación entre la distribución de genotipos y la edad de los pacientes.

1.4.4 Galicia

Los dos únicos estudios desarrollados en Galicia sobre las características epidemiológicas y distribución de genotipos del VHC fueron realizados sobre la población general de infectados crónicos.

El primero fue publicado en 1997 por Alonso P *et al.*¹⁹³ quienes reclutaron un total de 216 pacientes del Hospital Regional de Monforte de Lemos (Lugo). La media de edad fue de 46,4 años, el principal factor de riesgo fue el desconocido con un 36,5%, seguido del UDVP con el 29,1%, transfusiones con el 20,3% y el haber estado sometido a hemodiálisis el 13,8%. El genotipo 1 fue el más prevalente (75,9%), representando el subtipo 1b el 48,1% y el 1a el 21,3%, le siguió el genotipo 3 (11,1%) y el genotipo 4 (3,7%). El subtipo 1b se asoció con mayores de 45 años, las transfusiones y el factor de riesgo desconocido, y el subtipo 1a y los genotipos 3 y 4 con menores de 45 años y el UDVP

El segundo estudio fue publicado por Touceda S *et al.* en 2002,¹⁹⁴ quienes reclutaron un total de 479 pacientes genotipados entre 1996 y 2000 en el área sanitaria de Ferrol (A Coruña). Observaron una media de edad de 46 años donde el principal factor de riesgo fue el desconocido con un 53,0%, seguido de UDVP con el 33,6% y transfusiones con el 13,4%. El genotipo 1 fue el más prevalente (76,7%), representando el subtipo 1b el 56,2% y el subtipo 1a el 16,5%, le siguió el genotipo 3 (12,9%), el genotipo 4 (7,9%) y el genotipo 2 (1,0%). Observaron una asociación del subtipo 1b con el sexo femenino, mayores de 40 años, las transfusiones y el factor de riesgo desconocido; y del subtipo 1a y los genotipos 3 y 4 con los hombres, menores de 40 años y el UDVP.

1.5 VÍAS DE TRANSMISIÓN

El ARN del VHC puede detectarse en sangre (suero y plasma), saliva, lágrimas, líquido seminal, líquido ascítico y líquido cefalorraquídeo.¹⁹⁶⁻¹⁹⁹ No está claro cómo llega el virus al lugar primario de replicación en el hígado cuando no se produce una inoculación directa en el torrente sanguíneo. Es probable que el virus sea capaz de infectar algunas células sanguíneas mononucleares periféricas, siendo además capaz de replicarse en ellas.²⁰⁰

Las principales vías de transmisión conocidas son la parenteral, la sexual y la vertical, aunque en la mayoría de estudios realizados sobre la población general de infectados crónicos,^{156,185, 188, 193, 194} es el factor de riesgo desconocido la principal vía de transmisión.

1.5.1 Parenteral

1.5.1.1 Nosocomial

A. Transfusiones y administración de derivados hemáticos contaminados, como los concentrados de factores de la coagulación.²⁰¹⁻²⁰⁴ Por esta vía el virus es capaz de infectar al 90% de los receptores seronegativos,^{205, 206} de ahí que sea tan prevalente en ancianos que fueron politransfundidos antes de la aparición de las pruebas de detección del virus en donantes.²⁰⁷⁻²¹⁰

B. Trasplante de órgano infectado con el VHC en un receptor seronegativo casi siempre produce infección²¹¹⁻²¹³ y en un receptor seropositivo puede conducir a una superinfección con una cepa diferente del virus.²¹⁴

C. Accidentes sanitarios: la transmisión también puede producirse paciente a paciente por medio de endoscopios, hemodiálisis,²¹⁵⁻²²⁰ pinchazos accidentales²¹⁸⁻²²⁰ y transmisión de trabajadores a pacientes.²²¹

1.5.1.2 El uso de jeringuillas contaminadas y otros dispositivos en UDVPs

Actualmente este factor de riesgo se asocia con la mayoría de las infecciones en los países desarrollados.^{214, 222-226}

1.5.1.3 Otras vías percutáneas minoritarias

Tatuajes/piercing,²²⁷ mordeduras humanas, utilización de métodos de medicina tradicional como la acupuntura y escarificaciones rituales.²²⁸

1.5.2 Sexual

Aunque no está completamente demostrado, hay multitud de pruebas a favor de que este tipo de contagio existe. Se ha detectado ARN del VHC en semen y saliva.^{197, 198, 229} En personas con múltiples parejas sexuales, como las que se dedican a la prostitución existen altos índices de infección,²³⁰⁻²³² también en familias donde se ha documentado solamente el contagio a la pareja, demostrándose mediante la homología de la secuencia de nucleótidos del virus,^{233, 234} pero no queda claro si la causa es sexual o se debe al hecho de compartir productos de higiene. Otros estudios realizados en parejas sexuales de infectados de hepatitis C crónica que no usaban protección durante las relaciones sexuales muestran casos de contagio.^{235, 236} En hombres que mantienen relaciones sexuales con otros hombres (HSH), los casos documentados de infección por el VHC son menos frecuentes que los observados con el VIH o con el VHB.²³⁷⁻²⁴¹ Por tanto, estos datos indican que el VHC se puede contagiar por vía sexual, pero es mucho menos probable comparado con el VHB o el VIH. Seguramente se deba a la baja cantidad de viriones infectantes en los fluidos seminales y vaginales y/o por el bajo número de células susceptibles en la mucosa genital.

1.5.3 Vertical

Es poco habitual, se estima que la frecuencia de transmisión perinatal oscila entre 0-8%.^{242, 243} En las ocasiones que se ha podido documentar, parece que la transmisión se produce de forma intrauterina.²⁴³ El diagnóstico de la hepatitis C en el lactante debe basarse en la detección de ARN del virus o presencia de anticuerpos después de los 18 meses de edad. También se ha detectado ARN del virus en la leche materna,²⁴⁴ pero según varios estudios, el riesgo de transmisión es similar en niños alimentados con esta leche que con leche artificial,²⁴⁵⁻²⁴⁹ se piensa que por la baja cantidad de viriones infectantes en la leche materna y/o bajo número de células susceptibles en la mucosa digestiva.

La transmisión es menos probable mientras menor sea la CV detectable del virus²⁵⁰⁻²⁵² y más si hay coinfección con el VIH, ya que se asocia con mayores concentraciones de ARN del VHC.²⁵³⁻²⁵⁷

1.6 HISTORIA NATURAL DE LA HEPATITIS C

La hepatitis C aguda hace referencia a los 6 primeros meses de la infección y puede, o no, incluir signos o síntomas clínicos. La hepatitis C aguda sintomática ocurre en el 15-30% de los pacientes, apareciendo los síntomas entre las 5 y 12 semanas tras la exposición al VHC, pudiendo durar entre 2 y 12 semanas.²⁵⁸

La primoinfección con el VHC se caracteriza por la detección del virus en sangre entre los 2 y 14 días tras la exposición, con un aumento en suero de los niveles de las enzimas hepáticas alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) y con la aparición gradual de anticuerpos específicos contra el VHC entre los 20 y 150 días tras exposición.²⁵⁹⁻²⁶¹ Aunque los pacientes con hepatitis C aguda sintomática se suelen detectar frecuentemente, la mayoría de los pacientes son asintomáticos y es en ellos donde se pasa por alto el diagnóstico de hepatitis C aguda, basado a menudo en la simple aparición de anticuerpos de tipo IgG anti-VHC.

Dos son los principales factores que permiten medir la dinámica de la infección aguda por el VHC: el nivel de ARN viral y los niveles de ALT.

- Niveles de ARN viral: sus niveles siguen tres fases, la primera de ellas es la previa al crecimiento o *pre-ramp-up*, donde aparecen niveles iniciales cuantificables de ARN del VHC, la segunda es la de crecimiento o *ramp-up* (8-10 días) y la tercera es la fase de meseta (48-68 días).²⁶²

Después de la fase de meseta, los niveles de ARN del VHC disminuyen y se pueden aclarar espontáneamente o bien se produce una persistencia viral (Figura 6A).

- Niveles de ALT: la detección de niveles elevados suele ocurrir al final de la fase de meseta, en los 40-60 días siguientes a la infección (Figura 6B). Los aumentos de ALT suelen rondar entre 400-1000 UI/l (los niveles normales son menores a 30-40 UI/l), pero muchos pacientes tienen aumentos más limitados y alrededor del 20% pueden alcanzar niveles superiores a 1000 UI/l.^{258, 262} La infección sintomática está asociada con mayores niveles de ALT que la infección asintomática,²⁶² aunque no existe una clara correlación entre los niveles de transaminasas y la histología hepática,²⁶³ hay que tener en cuenta que niveles normales pueden asociarse con daño histológico, aunque generalmente este es de grado leve.^{264, 265}

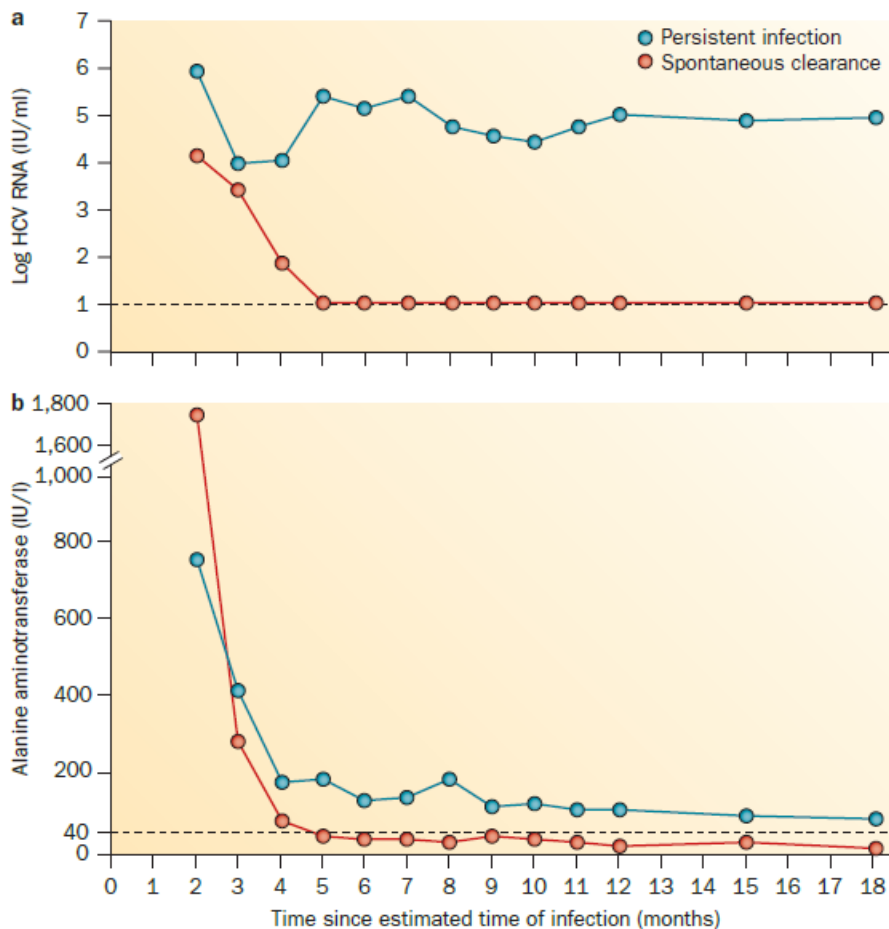


Figura 6. Dinámicas de la infección aguda del VHC durante los dos meses tras la infección, separados por resultados de la infección.

Medias mensuales de (A) niveles de ARN del VHC y (B) niveles de ALT. El punteado de líneas horizontal representa los límites cualitativos de detección de ARN del VHC (<10 UI/ml) y el límite superior del rango normal para los niveles de ALT (40 UI/l). Imagen de Hajarizadeh *Bet al.*, 2012.¹⁸⁴

En alrededor del 25% de los pacientes, la infección aguda por el VHC es seguida por un aclaramiento viral, caracterizada por niveles indetectables de ARN del VHC en sangre,²⁶⁶ en el otro 75% se producirá una progresión a infección crónica. El hecho de que la infección aguda por el VHC se aclare espontáneamente o persista, se cree que puede ser debido a una compleja interacción entre el hospedador y el virus. Los factores que se han asociado con el aclaramiento espontáneo son:

- Factores del hospedador: el sexo femenino,^{266, 267} amplias y fuertes respuestas inmunes,^{268, 269} la presencia de anticuerpos neutralizantes virus-específicos,²⁶⁹ genéticos^{270, 271} y por supuesto los polimorfismos del gen de la *IL28B*, que es el factor del hospedador más importante asociado con el aclaramiento del VHC.²⁷⁰⁻²⁷²
- Factores del virus, tales como la diversidad reducida de cuasiespecies²⁷³ y estar infectado con el genotipo 1.²⁷⁴

Las personas con hepatitis C crónica poseen un mayor riesgo de progresión a fibrosis, donde también influyen factores del hospedador como: el sexo masculino,²⁷⁵ la etnia (individuos de raza negra),²⁷⁶ haberse infectado hace más de 40 años,²⁷⁵⁻²⁷⁷ la inmunosupresión,²⁷⁸ la coinfección con el VIH,²⁷⁹ la diabetes,²⁸⁰ la resistencia a insulina,²⁷⁸ la obesidad,²⁸¹ la esteatosis hepática²⁸² y también el consumo excesivo de alcohol.²⁸³

La fibrosis aparece cuando se produce un problema crónico en el hígado. El hígado sano tiene una pequeña cantidad de colágeno y de tejido conectivo, cuando en él se produce una lesión hepática continua, como la ocasionada por la infección crónica por el VHC, se realiza un proceso dinámico de formación, degradación y remodelación continua de matriz extracelular que tiene como consecuencia la acumulación progresiva de esta.²⁸⁴

Entre los sistemas más frecuentes de caracterización de la fibrosis está la escala METAVIR, que a partir de biopsia hepática distingue los siguientes estadios: estadio F0 con ausencia de fibrosis, estadio F1 con fibrosis portal, estadio F2 con fibrosis periportal, estadio F3 con fibrosis en puentes y estadio F4 que representa la cirrosis hepática. Otras escalas como los sistemas de puntuación de Knodell, Ishak y Scheuer evalúan semicuantitativamente la fibrosis en la biopsia hepática.²⁸⁴

Existen también pruebas no invasivas para determinar el grado de fibrosis en pacientes con infección crónica por el VHC, como los biomarcadores séricos de la fibrosis hepática (Tabla 1) y la medición de la rigidez hepática por técnicas de imagen. La más empleada es FibroScan® (Echosens, Paris, France) que mide la velocidad de propagación de las ondas elásticas a través del hígado. Esta velocidad está directamente relacionada con la rigidez del tejido (expresado como $E = 3 \rho v^2$) donde v es la velocidad de corte y ρ es la densidad del tejido, que se supone constante. Mientras más rígido sea el tejido más rápida será la onda de corte. Los valores del Fibroscan® se relacionan con los grados de fibrosis de la escala METAVIR.²⁸⁵ Otras técnicas de imagen son: ARFI o pSWE (Virtual touch tissue quantification™, Siemens; elastography point quantification, ElastPQ™, Philips), 2D-SWE (Aixplorer™ Supersonic Imagine, France) o la resonancia magnética en 3D (RM 3D).²⁸⁶

El método más eficaz para la evaluación de la fibrosis es la combinación de biomarcadores directos y elastografía hepática transitoria.^{265, 287} La realización de una biopsia solamente se debería considerar en aquellos pacientes donde se obtuvieran resultados discordantes entre estas 2 modalidades de pruebas de evaluación, que además afectaran a la toma de decisiones clínicas. Con este enfoque, la necesidad de realizar una biopsia se reduce notablemente.²⁶⁵

Tabla 1. Biomarcadores en suero disponibles en la actualidad para la evaluación no invasiva de la fibrosis hepática en la enfermedad hepática crónica.

HCV
Fibrotest® (Biopredictive, Paris, France) patented formula combining α-2-macroglobulin, γGT, apolipoprotein A1, haptoglobin, total bilirubin, age and gender
Forns Index = 7.811 - 3.131 x ln(platelet count) + 0.781 x ln(GGT) + 3.467 x ln(age) - 0.014 x (cholesterol)
AST to Platelet Ratio (APRI) = AST (U/LN)/platelet (10 ⁹ /L) x 100
FibroSpectII® (Prometheus Laboratory Inc, San Diego, USA) patented formula combining α-2-macroglobulin, hyaluronate and TIMP-1
MP3 = 0.5903 x log(PIIINP [ng/ml]) - 0.1749 x log(MMP-1 [ng/ml])
Enhanced Liver Fibrosis score® (ELF) (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) patented formula combining age, hyaluronate, MMP-3 and TIMP-1
Fibrosis Probability Index (FPI) = 10.929 + (1.827 x Ln[AST]) + (0.081 x age) + (0.768 x past alcohol use*) + (0.385 x HOMA-IR) - (0.447 x cholesterol)
Hepascore® (PathWest, University of Western Australia, Australia) patented formula combining bilirubin, γGT, hyaluronate, α-2-macroglobulin, age and gender
Fibrometer® (Echosens, Paris, France) patented formula combining platelet count, prothrombin index, AST, α-2-macroglobulin, hyaluronate, urea and age
Lok index = -5.56 - 0.0089 x platelet (10 ³ /mm ³) + 1.26 x AST/ALT ratio = 5.27 x INR
Goteborg University Cirrhosis Index (GUCI) = AST x prothrombin - INR x 100/platelet
Virahep-C model = -5.17 + 0.20 x race + 0.07 x age (yr) + 1.19 ln(AST [IU/L]) - 1.76 ln(platelet count [10 ³ /ml]) + 1.38 ln(alkaline phosphatase [IU/L])
Fibroindex = 1.738 - 0.064 x (platelets [10 ⁴ /mm ³]) + 0.005 x (AST [IU/L]) + 0.463 x (gamma globulin [g/dl])
HALT-C model = -3.66 - 0.00995 x platelets (10 ³ /ml) + 0.008 x serum TIMP-1 + 1.42 x log(hyaluronate)
HBV
Hui score = 3.148 + 0.167 x BMI + 0.088 x bilirubin - 0.151 x albumin - 0.019 x platelet
Zeng score = -13.995 + 3.220 log(α-2-macroglobulin) + 3.096 log(age) + 2.254 log(GGT) + 2.437 log(hyaluronate)
HIV-HCV
FIB-4 = age (yr) x AST [U/L]/(platelets [10 ⁹ /L]) x (ALT [U/L]) ¹²
SHASTA index = -3.84 + 1.70 (1 if HA 41-85 ng/ml, 0 otherwise) + 3.28 (1 if HA >85 ng/ml, 0 otherwise) + 1.58 (albumin <3.5 g/dl, 0 otherwise) + 1.78 (1 if AST >60 IU/L, 0 otherwise)
NAFLD
NAFLD Fibrosis Score (NFS) = (-1.675 + 0.037 x age (yr) + 0.094 x BMI (kg/m ²) + 1.13 x IFG/diabetes (yes = 1, no = 0) + 0.99 x AST/ALT ratio - 0.013 x platelet count (x10 ⁹ /L) - 0.66 x albumin [g/dl])
BARD score (BMI ≥28 = 1; AST/ALT ratio ≥0.8 = 2; diabetes = 1; score ≥2, odds ratio for advanced fibrosis = 17)

*Graded as 0-2.

Tabla de guías de práctica clínica EASL & ALEH 2015²⁸⁶

La cirrosis hepática se caracteriza por una fase asintomática, denominada cirrosis compensada, de duración variable. En esta fase los pacientes pueden llegar a tener hipertensión portal y varices esofágicas.^{288,289} A medida que la enfermedad progresa con el desarrollo de mayor hipertensión portal y mayor deterioro de la función hepática, aparecen las complicaciones de la denominada cirrosis descompensada como: ascitis, hemorragia por varices, encefalopatía hepática o ictericia.²⁸⁹ El desarrollo de cualquiera de estas complicaciones marca la transición de la fase compensada a la descompensada.²⁸⁹ Una revisión sistemática estimó la tasa de progresión temprana a cirrosis después de 20 años tras la infección por el VHC y la situó entre el 4-24%.²⁹⁰ Otra posterior lo hizo en base a la duración de la infección y mostró una relación exponencial, estimando la probabilidad de padecer cirrosis a los 20 años tras la infección en el 16% y a los 30 años en el 41%.²⁹¹

Entre el 1-3% de los pacientes con hepatitis C crónica de más de 30 años de evolución desarrollan CHC,²⁹² pero en personas que además sufren cirrosis por el VHC, el desarrollo de CHC es más rápido, avanza a una tasa anual del 2-4%.^{293,294} Los factores del hospedador asociados con el riesgo de desarrollar CHC relacionado con el VHC son la edad

superior a 55 años, el consumo excesivo de alcohol y el sexo masculino.²⁹⁵ En cuanto a la asociación del virus, se ha observado que los pacientes infectados por el subtipo 1b del VHC tienen casi el doble de riesgo de desarrollar CHC.²⁹⁶

Por último, respecto a las manifestaciones extrahepáticas, la infección por el VHC está claramente relacionada con la crioglobulinemia esencial mixta, glomerulonefritis membranoproliferativa y porfiria cutánea tarda.²⁹⁷⁻³⁰¹ También se ha asociado con una menor frecuencia con úlceras corneales de Moren, síndrome de Sjögren, liquen plano y fibrosis pulmonar idiopática;³⁰² además en mujeres se asocia con autoanticuerpos tiroideos, tiroiditis de Hashimoto e hipotiroidismo.³⁰³

1.7 DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El US Center of Disease Control and Prevention (CDC) considera que una persona tiene evidencia serológica de la infección por el VHC cuando tiene un resultado positivo de screening anti-VHC y éste además es confirmado por otro test adicional, usando ya sea un ensayo inmunoblot recombinante (RIBA: recombinant immunoblot assay) o por un test de ácidos nucleicos (NAT: nucleic acid test) para detectar ARN del VHC.³⁰⁴

1.7.1 Métodos indirectos

Detectan la presencia de anticuerpos específicos contra el VHC. Son pruebas que se utilizan para el diagnóstico y confirmación de la infección por el VHC. No obstante, estos métodos no pueden diferenciar entre infección activa o resuelta, ya que los anticuerpos permanecen detectables durante toda la vida. Para ello se deben emplear métodos directos como la detección del antígeno C o del ARN viral, que tienen la desventaja de su elevado coste, lo que ha potenciado que se investigue en el desarrollo de otro tipo de pruebas serológicas más asequibles para poder discriminar entre infección activa o resuelta.

Los inmunoensayos de tercera generación son los empleados actualmente como pruebas de cribado. Usan un formato multiantígeno e incluyen antígenos de las regiones C, NS3, NS4 y NS5.³⁰⁵ Permiten detectar los anticuerpos frente al VHC, como mínimo a las 10 semanas tras de la exposición. La especificidad de estos ensayos de tercera generación es superior al 99%.³⁰⁶

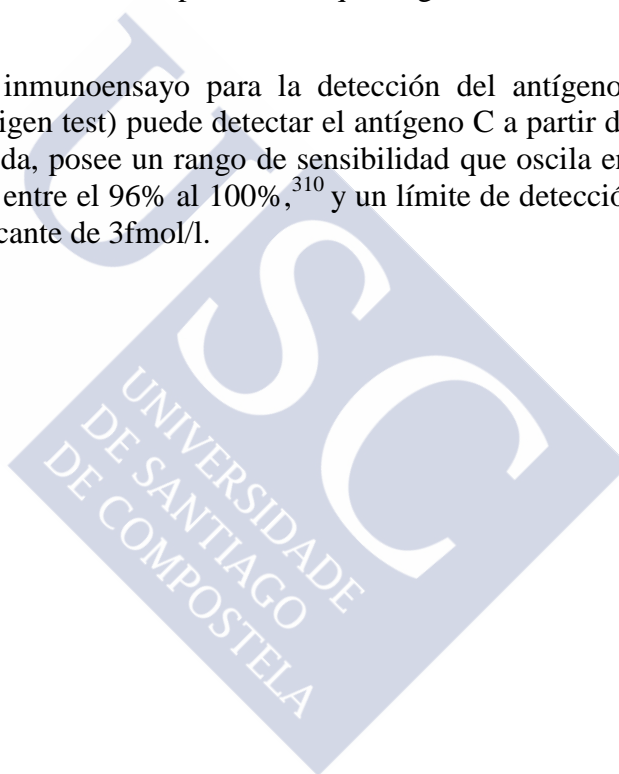
Los ensayos inmunoblot recombinantes se utilizan como método de confirmación, tienen una menor sensibilidad pero su especificidad es mayor en cuanto a la detección de anticuerpos de clase IgG anti-VHC en suero o plasma y se emplean para el uso adicional confirmatorio. La detección de anti-VHC por RIBA se basa en la inmovilización, como bandas individuales en una membrana, de antígenos recombinantes del VHC y péptidos sintéticos de las proteínas C1, C2, E2, NS3, NS4 y NS5.

Por último, las pruebas rápidas poseen un formato que no requiere instrumentación complicada ni personal técnico cualificado. Permiten tener resultados en menos de una hora desde la recogida de la muestra y se pueden emplear en puntos de atención sanitaria. Esas pruebas están basadas en antígenos recombinantes derivados de la proteína C, NS3, NS4 y NS5 en un formato de inmunocromatografía. Muestran una alta especificidad de más del 99%, con una sensibilidad entre 86% a 99%.^{307, 308}

1.7.2 Métodos directos

La detección del ARN del VHC es posible como mínimo 1 semana después de la exposición al virus y por ello se considera como el marcador más fiable y el *gold standard* para diagnosticar la infección activa por el VHC.³⁰⁹ Existen ensayos de detección del ARN del VHC cualitativos y cuantitativos, algunas de ellas con un límite de detección de 15 UI/ml. Todas las NAT muestran una alta especificidad que llega a ser del 99% en todos los genotipos del VHC.

Por otra parte, el inmunoensayo para la detección del antígeno C del VHC (ARCHITECT HCV Core antigen test) puede detectar el antígeno C a partir de las primeras dos semanas de infección aguda, posee un rango de sensibilidad que oscila entre el 80% al 99%, una especificidad ronda entre el 96% al 100%,³¹⁰ y un límite de detección, de acuerdo con las instrucciones del fabricante de 3fmol/l.



1.8 TRATAMIENTO

1.8.1 Indicaciones para tratar a un individuo con hepatitis C crónica

Según la Asociación Europea para el Estudio del Hígado²⁶⁵ cuyos criterios son similares a los de la Asociación Americana para el Estudio de las Enfermedades del Hígado,³¹¹ las actuales indicaciones para tratar a un paciente con hepatitis C crónica son:

Tabla 2. Indicaciones de tratamiento.

Prioridad del tratamiento.	Grupo de paciente.
El tratamiento está indicado.	Todos los pacientes naïve y pacientes tratados previamente con enfermedad hepática compensada y descompensada.
El tratamiento debería priorizarse.	Pacientes con fibrosis significativa (F3) o cirrosis (F4), incluyendo cirrosis descompensada.
	Pacientes coinfectados con el VIH.
	Pacientes coinfectados con el VHB.
	Pacientes con indicación de trasplante hepático.
	Pacientes con recurrencia del VHC tras el trasplante hepático.
	Pacientes con manifestaciones clínicas extrahepáticas*.
	Pacientes con fatiga debilitante.
El tratamiento está justificado.	Individuos con riesgo de transmitir el VHC: UDVPs, hombres que tienen sexo con otros hombres (HSH), mujeres en edad fértil que quieren quedarse embarazadas, pacientes de hemodiálisis e individuos encarcelados.
El tratamiento puede ser aplazado.	Pacientes con fibrosis moderada (F2).
El tratamiento puede ser aplazado.	Pacientes con ninguna o poca enfermedad (F0-F1) y sin ninguna de las anteriormente mencionadas manifestaciones extrahepáticas.
El tratamiento no está recomendado.	Pacientes con expectativa de vida limitada debida a comorbilidades no relacionadas con el hígado.

Modificado de del EASL 2015. *Manifestaciones extrahepáticas: Insuficiencia renal grave, púrpura palpable, enfermedad renal, enfermedad neurológica, reducción de los niveles del complemento (AASLD 2015).^{265, 311}

1.8.2 Perspectivas históricas y terapia estándar

El primer tratamiento que apareció frente al VHC fue la monoterapia con IFN, que se administraba diariamente. Poco después se descubrió que añadiendo RBV se aumentaba de una forma significativa la sensibilidad viral.⁵ A finales de los años 90 llegó la forma pegilada de IFN que supuso un avance significativo, ya que permitía la inyección semanal con niveles en suero mantenidos y una disminución de los efectos adversos. Estudios a principios de los años 2000 demostraron la eficacia de PIFN- α 2a y PIFN- α 2b cuando se coadministraban con RBV, y esta terapia dual se convirtió en la estándar.^{6, 7, 8} Mientras pacientes con genotipo 1 y 4 requerían 48 semanas de tratamiento con una RVS esperada de alrededor el 40%, pacientes con genotipos 2 y 3 sólo necesitaban 24 semanas y una dosis fija de RBV (800 mg al día) con una RVS esperada de 65-80%.³⁵³ El concepto de respuesta virológica temprana (RVT) a la semana 12 fue establecida como un estándar sustituto para predecir la tasa de RVS eventual, de tal manera que sin una caída de 2 logaritmos en la carga de ARN del VHC en este momento del transcurso del tratamiento, se podría recomendar la interrupción de la terapia anti-VHC debido a su inutilidad.

Los principales efectos adversos más comunes de la terapia combinada eran la anemia producida por RBV y un amplio espectro de problemas provocados por el PIFN (mal tolerado, sobre todo en pacientes de edad avanzada y en cirróticos, y se relaciona con fiebre, taquicardia, dolor de cabeza, dolor en las articulaciones o músculos, fatiga, lesiones en la piel, depresión y efectos neuropsiquiátricos).³⁵⁴ Estos efectos adversos fueron los mayores impedimentos para que el paciente tuviera una buena adherencia a la terapia con PIFN+RBV. Además, incluso con una estrecha adherencia, las tasas globales de RVS para el genotipo 1 después de 48 semanas con PIFN y 1000 a 1200 mg diarios de RBV fueron de sólo el 40-50%. Por ello, se desarrollaron nuevos fármacos con actividad directa sobre diferentes moléculas del virus.

1.8.3 Factores que predisponen a la respuesta al tratamiento

Con las actuales terapias libres de IFN, los factores de predisposición a la respuesta en la terapia con IFN/PIFN+RBV ya no son útiles. Estos eran:

1.8.3.1 Factores predictivos de la RVS en los tratamientos con IFN

A. Genotipo: en la era de los tratamientos basados en el IFN era el principal factor predictivo, pero en la actualidad, debido a las terapias con AAD el genotipo ha disminuido su poder predictivo, aunque todavía sigue siendo necesaria su identificación previa al tratamiento ya que determina su duración, las tasas de curación y la necesidad de incorporar RBV.^{7, 265, 312-320}

B. Carga viral basal: en los tratamientos con IFN, fue también uno de los de mayor importancia. En los primeros ensayos clínicos con IFN+RBV, el nivel de CV basal por encima de 800000 UI/ml se asoció con un 9% menos de probabilidad de cura. En siguientes estudios se encontró que los pacientes con altos niveles de CV tenían un 15% menos de probabilidad de lograr una RVS, posteriormente se propuso el límite de 400000 UI/ml como un mejor punto de corte discriminante.^{321,322} En la actual era de los AAD, la CV basal tiene poco impacto sobre la probabilidad de lograr una RVS, aunque se requiere su realización previa a la administración de la terapia para poder hacer un seguimiento de la respuesta del paciente al tratamiento.^{7, 265,312-320}

C. Fibrosis: en los tratamientos con IFN fue también uno de los de mayor importancia. Un estadio más avanzado se relacionaba con una menor tasa de RVS.^{7, 312-320}

D. Locus de la *IL28B*: empezó a cobrar importancia en el manejo de los pacientes infectados con el VHC a partir de varios estudios realizados en 2009, que informaron que aquellos pacientes que se encontraban infectados con el subtipo 1b y que además presentaban una variante común en el locus de la *IL28B* (rs12979860 CC o rs8099917 TT) respondían con una probabilidad significativamente mayor a la terapia combinada de PIFN+RBV que aquellos pacientes con otras variantes de *IL28B*.³²³⁻³²⁵ Además quienes presentaban el rs12979860 CC o rs8099917 TT también tenían más probabilidades de que la infección aguda por el VHC se resolviera espontáneamente sin tomar tratamiento.^{7, 272, 312-320} Sin embargo con la llegada de los nuevos regímenes de tratamiento libres de IFN, el genotipado de la *IL28B* ha perdido parte de su valor predictivo. Por lo tanto, en la actualidad el genotipado de la *IL28B* tiene una mayor utilidad en contextos donde solamente se pueda emplear PIFN+RBV.^{7, 265, 312-320}

La citoquina IL-28B también conocida como IFN- λ 3 es, junto con las citoquinas IL-29 (IFN- λ 1) e IL-28A (IFN- λ 2), un miembro de la familia IFN- λ tipo III.^{7, 312-320}

Los genes *IL28A*, *IL28B* y la *IL29* están localizados en un cluster sobre el cromosoma 19 (Figura 7).³²⁶⁻³²⁸ Al igual que ocurre con IFN- α , estos tres IFN- λ también pueden ser desencadenados por una infección viral e inducen actividad antiviral y antitumoral por medio de las vías del sistema inmune innato y adaptativo.^{329, 330} Las citoquinas IFN- λ se unen al heterodímero de los receptores de IL-10 e IL-28 (IL10R e IL28R respectivamente),³²⁷ el último de los cuales solamente se expresa en algunos tipos celulares, como hepatocitos, células epiteliales y células dendríticas.^{7, 312-320, 331}

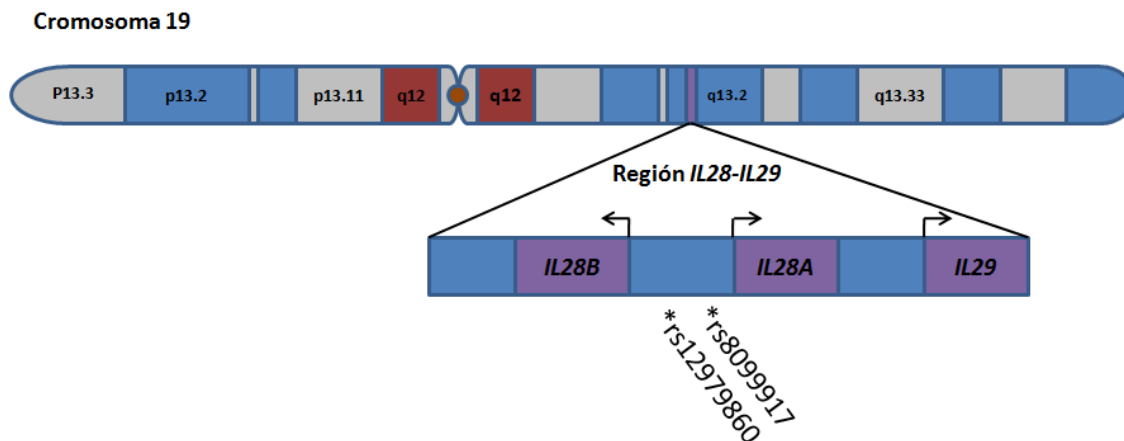


Figura 7. El locus *IL28-IL29* en el cromosoma 19.

Los genes codifican los 3 miembros de la familia interferón- λ , *IL28A* (interferón- λ 2), *IL28B* (interferón- λ 3) e *IL29* (interferón- λ 1), se agrupan juntos en el cromosoma 19. Los SNPs más importantes y validados con respecto a la respuesta a la terapia con interferón- α , rs12979860 y rs8099917, están corriente arriba tanto de *IL28B* como *IL28A* (debido a su orientación antiparalela), pero físicamente están más cerca de *IL28B*. Modificado de Hayes CN *et al.*, 2012.³³²

Ambos tipos de IFN van a inducir la expresión de muchos de los mismos genes, el cambio en la expresión de genes estimulados por IFN (ISG: interferon stimulated genes) en respuesta a IFN- λ tiende a ser más débil en general que el que provoca IFN- α , pero aumenta de manera constante en el tiempo.³³³

El gran efecto independiente que tienen los polimorfismos de *IL28B* hace pensar que poseen un papel relevante en la regulación de la defensa antiviral contra el VHC. Los efectos de estos polimorfismos de la *IL28B* han sido investigados en diversos aspectos, como la terapia combinada de PIFN+RBV (donde homocigotos para el principal alelo, con el llamado genotipo favorable, rs12979860 CC, son dos veces más propensos a lograr una RVS tras la administración de la terapia combinada que aquellos con el alelo desfavorable, rs12979860 TT o CT),²⁹³ la eliminación natural del virus,^{272,323, 334-337} el cambio en la carga viral,^{338, 339} la expresión de ISGs y la replicación viral,^{340, 341} y por último en los cambios bioquímicos y en la esteatosis hepática.^{342, 343}

E.Otros factores predictivos de RVS de menor importancia en los tratamientos con IFN.

El sexo, la edad, la raza, el índice de masa corporal, la resistencia a insulina, la concentración de proteínas totales, la esteatosis hepática, factores de comportamiento como el consumo excesivo de alcohol o dietas con exceso de ácidos grasos.^{7, 312-319, 344-352}

1.8.3.2 Factores predictivos de la RVS en los tratamientos libres de interferón

Uno de los mayores factores predictivos de RVS en los actuales tratamientos con AAD, es la buena adherencia al tratamiento. La adherencia completa a todos los fármacos se asocia con altas tasas de RVS, una exposición subóptima a la terapia se relaciona con rebrotes virales o recaídas post tratamiento y la aparición de variantes asociadas a resistencia (RAVs: resistance-associated variants), especialmente en la fase inicial del tratamiento. Antes de iniciarla terapia antiviral, los pacientes deben ser instruidos acerca de la programación diaria de dosis y los posibles efectos secundarios, así como de medidas preventivas y terapéuticas para disminuir dichos efectos secundarios (uso de antipiréticos, analgésicos etc.). Se deben programar visitas regulares al hospital para controlar el progreso y gestionar los efectos secundarios anteriormente citados o recuperación de pacientes que pierdan citas.²⁶⁵

Aunque no existe consenso, el EASL 2015 en sus recomendaciones de análisis preterapéutico no aconseja la detección de resistencias antes de administrar la terapia de primera línea, ya que la presencia de variantes asociadas a resistencias pueden preexistir y no influir en el tratamiento, a excepción del SNP Q80K en pacientes que vayan a recibir tratamiento con PIFN+RBV+SIM.²⁶⁵

1.8.4 Antivirales de acción directa aprobados por la Agencia Europea del Medicamento (EMA: European Medicines Agency)

1.8.4.1 Inhibidores de la proteasa NS3/NS4A

1.8.4.1.1 Primera oleada de inhibidores de la proteasa de primera generación

Los inhibidores de la proteasa (IP) son los primeros AAD aprobados por la EMA, imitan la región carboxilo terminal de la serín proteasa NS3/4A del VHC.³⁵⁵ La focalización sobre NS3/4A evita la escisión de las proteínas NS e inhibe la capacidad del virus para evadir la respuesta inmune.³⁵⁶⁻³⁵⁸

1. Triple terapia con boceprevir: fue aprobado solamente frente al genotipo 1, antes de administrar boceprevir era necesario una fase *lead-in* (conductora de entrada) de PIFN+RBV durante 4 semanas, esto deprimía los niveles de ARN del VHC antes de administrar el AAD para así disminuir el riesgo de aparición de resistencias a boceprevir y el posterior rebrote viral.³⁵⁹

2. Triple terapia con telaprevir: aprobado solamente frente al genotipo 1, no se necesitaba emplear la fase de *lead-in* debido a que poseía una mayor potencia frente al VHC.

1.8.4.1.2 Segunda oleada de inhibidores de la proteasa de primera generación

El objetivo para su desarrollo fue proporcionar actividad pangenotípica frente a todos los genotipos del VHC y evadir las mutaciones de resistencia que afectan a los IP de primera oleada de la primera generación.

1. Simeprevir: posee actividad frente a los genotipos 1y 4.³⁶⁰
2. Paritaprevir: se administra junto a ritonavir, posee actividad frente a los genotipos 1 y 4.

1.8.4.2 Inhibidores de la NS5B

Existen dos tipos de inhibidores de la polimerasa: inhibidores nucleosídicos (IN) e inhibidores no nucleosídicos (INN).

1.8.4.2.1 Inhibidores nucleosídicos

Son similares a los nucleótidos de origen natural, pero cuando se incorporan durante el proceso de elongación de la secuencia del ARN van a provocar la inhibición del centro activo de la RdRp, dando como resultado la terminación de la cadena.³⁶¹ Los IN se administran como prodrogas y tienen que ser fosforilados para llegar a ser un nucleósido trifosfato activo. Poseen la mayor barrera de resistencia de todos los AAD aprobados en la actualidad, debido a la fuerte conservación que existe en todos los genotipos del VHC del centro activo de la RdRp y la mala viabilidad que tienen las variantes resistentes.^{361,362} Sofosbuvir es el único de esta familia aprobado hasta la fecha, posee actividad frente a los genotipos del 1 al 6.

1.8.4.2.2 Inhibidores no nucleosídicos

Mientras que los IN interfieren directamente con el centro activo de la RdRp, los INN lo que hacen es suprimir la actividad de la RdRp por unión a sitios alostéricos. Los INN son solamente activos frente al genotipo 1 y tienen una menor potencia antiviral y una menor barrera genética, ya que en este caso las mutaciones de resistencia que puedan aparecer no van a poner necesariamente en peligro la viabilidad viral. Existen dos tipos, clasificados según los sitios alostéricos a los que se unen: los inhibidores en pulgar I/II y los inhibidores en palma I/II. Pueden dar una protección complementaria si se coadministran con otro AAD que posea una diana diferente. Dasabuvir es de tipo palma I, es el único INN aprobado hasta la fecha, posee actividad frente al genotipo 1.

1.8.4.3 Inhibidores de NS5A

Como se comentó anteriormente, la NS5A es una proteína no estructural, componente imprescindible del CR,²⁶ tiene un papel pleiotrópico en el establecimiento del CR (se une al ARN e interactúa directamente con la NS5B),³⁶³ en el ensamblaje viral y en la inhibición de la apoptosis. Los inhibidores de NS5A se unen a su dominio 1 y evitan la unión de esta con el ARN, sin afectar a la dimerización de la NS5A.³⁶⁴ A pesar de que los inhibidores de la NS5A están entre las moléculas antivirales más potentes conocidas, existe el problema de que preexisten variantes resistentes, probablemente a baja frecuencia, en pacientes que fueron previamente expuestos a este tipo de fármacos, debido a la naturaleza que tiene el virus de presentar cuasiespecies. Por tanto, los inhibidores de NS5A se usan en combinación con fármacos con perfiles de resistencia que no se superpongan. Los inhibidores de NS5A de primera generación aprobados son: daclatasvir, ledipasvir y ombitasvir.



1.8.5 Actuales terapias recomendadas

Con este arsenal de fármacos se han establecido una serie de pautas recomendadas de tratamiento (Tablas3-5):²⁶⁵

Tabla 3. Recomendaciones de tratamiento para pacientes mono infectados por VHC y coinfectados VHC/VIH con hepatitis C crónica sin cirrosis, incluyendo pacientes naïve para tratamiento y aquellos que fracasaron a terapias basadas en PIFN y RBV.

Patients	PegIFN- α , RBV and sofosbuvir	PegIFN- α , RBV and simeprevir	Sofosbuvir and RBV	Sofosbuvir and ledipasvir	Ritonavir-boosted paritaprevir, ombitasvir and dasabuvir	Ritonavir-boosted paritaprevir, and ombitasvir	Sofosbuvir and simeprevir	Sofosbuvir and daclatasvir
Genotype 1a		12 wk, then PegIFN- α and RBV 12 wk (treatment-naïve or relapsers) or 36 wk (partial or null responders)	No	8-12 wk, without RBV	12 wk with RBV	No	12 wk without RBV	12 wk without RBV
Genotype 1b	12 wk				12 wk without RBV			
Genotype 2	12 wk	No	12 wk	No	No	No	No	12 wk without RBV
Genotype 3	12 wk	No	24 wk	No	No	No	No	12 wk without RBV
Genotype 4	12 wk	12 wk, then PegIFN- α and RBV 12 wk (treatment-naïve or relapsers) or 36 wk (partial or null responders)	No	12 wk without RBV	No	12 wk with RBV	12 wk without RBV	12 wk without RBV
Genotype 5 or 6	12 wk	No	No	12 wk without RBV	No	No	No	12 weeks without RBV

Tabla de EASL 2015: recomendaciones sobre el tratamiento de la hepatitis C.²⁶⁵

Tabla 4. Recomendaciones de tratamiento para pacientes mono infectados por VHC y coinfectados VHC/VIH con hepatitis C crónica con cirrosis compensada (Child-Pugh A), incluyendo pacientes naïve para tratamiento y aquellos que fracasaron a terapias basadas en PIFN y RBV.

Patients	PegIFN- α , RBV and sofosbuvir	PegIFN- α , RBV and simeprevir	Sofosbuvir and RBV	Sofosbuvir and ledipasvir	Ritonavir-boosted paritaprevir, ombitasvir and dasabuvir	Ritonavir-boosted paritaprevir, and ombitasvir	Sofosbuvir and simeprevir	Sofosbuvir and daclatasvir
Genotype 1a		12 wk (treatment-naïve or relapsers) or 24 wk (partial or null responders)	No	12 wk with RBV, or 24 wk without RBV, or 24 wk with RBV if negative predictors of response	24 wk with RBV	No	12 wk with RBV, or 24 wk without RBV	12 wk with RBV, or 24 wk without RBV
Genotype 1b	12 wk				12 wk with RBV			
Genotype 2	12 wk	No	16-20 wk	No	No	No	No	12 wk without RBV
Genotype 3	12 wk	No	No	No	No	No	No	24 wk with RBV
Genotype 4	12 wk	12 wk (treatment-naïve or relapsers) or 24 wk (partial or null responders)	No	12 wk with RBV, or 24 wk without RBV, or 24 wk with RBV if negative predictors of response	No	24 wk with RBV	12 wk with RBV, or 24 wk without RBV	12 wk with RBV, or 24 wk without RBV
Genotype 5 or 6	12 wk	No	No	12 wk with RBV, or 24 wk without RBV, or 24 wk with RBV if negative predictors of response	No	No	No	12 wk with RBV, or 24 wk without RBV

Tabla de EASL 2015: recomendaciones sobre el tratamiento de la hepatitis C.²⁶⁵

Tabla 5. Recomendaciones de tratamiento para pacientes mono infectados por VHC y coinfectados VHC/VIH con hepatitis C crónica que no lograron alcanzar la RVS en una terapia antiviral previa que contenía uno o varios AAD.

Failed treatment	Genotype	Sofosbuvir and ledipasvir	Ritonavir-boosted paritaprevir, ombitasvir and dasabuvir	Ritonavir-boosted paritaprevir, and ombitasvir	Sofosbuvir and simeprevir	Sofosbuvir and daclatasvir	
PegIFN-α, RBV and either telaprevir or boceprevir	Genotype 1	12 wk with RBV	No	No	No	12 wk with RBV	
	Sofosbuvir alone, in combination with RBV or in combination with PegIFN-α and RBV	Genotype 1	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	No	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis
		Genotype 2 or 3	No	No	No	No	12 weeks with RBV or 24 weeks with RBV if F3 or cirrhosis
		Genotype 4	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	No	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis
PegIFN-α, RBV and simeprevir	Genotype 5 or 6	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	No	No	No	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	
	Genotype 1 or 4	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	No	No	No	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	
PegIFN-α, RBV and daclatasvir	Genotype 1	No	No	No	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	No	
	Genotype 2 or 3	No	No	No	No	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	
	Genotype 4	No	No	No	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	No	
	Genotype 5 or 6	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	No	No	No	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	
Sofosbuvir and simeprevir	Genotype 1 or 4	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	No	No	No	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	

Tabla de EASL 2015: recomendaciones sobre el tratamiento de la hepatitis C. ²⁶⁵

Tabla 5 (continuación). Recomendaciones de tratamiento para pacientes mono infectados por VHC y coinfectados VHC/VIH con hepatitis C crónica que no lograron alcanzar la RVS en una terapia antiviral previa que contenía uno o varios AAD.

Failed treatment	Genotype	Sofosbuvir and ledipasvir	Ritonavir-boosted paritaprevir, ombitasvir and dasabuvir	Ritonavir-boosted paritaprevir, and ombitasvir	Sofosbuvir and simeprevir	Sofosbuvir and daclatasvir
Sofosbuvir and daclatasvir or Sofosbuvir and ledipasvir	Genotype 1	No	No	No	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	No
	Genotype 2 or 3	No	No	No	No	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis
	Genotype 4	No	No	No	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	No
	Genotype 5 or 6	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	No	No	No	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis
Ritonavir-boosted paritaprevir, ombitasvir and dasabuvir	Genotype 1	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	No	No	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis
Ritonavir-boosted paritaprevir and ombitasvir	Genotype 4	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	No	No	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis	12 wk with RBV or 24 wk with RBV if F3 or cirrhosis

Tabla de EASL 2015: recomendaciones sobre el tratamiento de la hepatitis C. ²⁶⁵

1.8.6 Causas de fracaso a las nuevas terapias con antivirales de acción directa

1.8.6.1 Mala adherencia a la terapia

La adherencia completa a todos los fármacos administrados en la terapia se asocia con altas tasas de RVS. Por el contrario, una exposición subóptima a la terapia se asocia con rebrotes virales o recaídas post tratamiento y la aparición de variantes resistentes, especialmente en la fase inicial de la terapia.²⁶⁵

1.8.6.2 Presencia de variantes asociadas a resistencia

La elevada especificidad de los AAD contra sus dianas virales los hacen sensibles a pequeños cambios en la secuencia de péptidos, dando como resultado la aparición de resistencias y por consiguiente el fracaso a la terapia. Cada familia de AAD tiene un perfil de resistencia diferente que además puede variar entre los distintos genotipos y subtipos. La polimerasa del virus genera de forma rutinaria, debido a su baja fidelidad, mutaciones individuales y mutaciones dobles, además la elevada tasa de replicación permite a esas variantes aumentar rápidamente su presencia bajo la presión de los AAD. Estas mutaciones pueden surgir antes o durante la terapia. La mayoría de variantes no son capaces de competir frente al tipo salvaje y se pierden rápidamente, pero en muchos casos la aparición de mutaciones secundarias, provocan la compensación de esa baja competitividad, lo que permite a la variante permanecer incluso en ausencia del AAD. La resistencia cruzada entre AAD es elevada, a menudo la aparición de resistencia a un AAD confiere resistencia parcial a otros AAD de la misma familia.³⁶⁵

Las principales sustituciones asociadas a resistencia detectadas frente a los AAD actualmente aprobados son:

A. Principales sustituciones asociadas a resistencia frente a inhibidores de NS3/NS4A.

- Boceprevir: las principales sustituciones observadas en pacientes infectados con el subtipo 1a que no alcanzaron la RVS son V36M, T54S y R155K., mientras que para el subtipo 1b son T54A/S, V55A, A156S y V170A.^{366, 367}
- Telaprevir: las principales sustituciones observadas en pacientes infectados con el subtipo 1a que no alcanzaron la RVS son V36M y R155K, mientras que para el subtipo 1b son V36A, T54A y A156S.^{368, 369}
- Simeprevir: las principales sustituciones observadas en pacientes infectados con el subtipo 1a que no alcanzaron la RVS son R155K y D168E/V, mientras que en el subtipo 1b son Q80R y D168E/V. Las sustituciones que afectan a ambos subtipos son Q80K/R, S122A/G/I/T, R155Q y D168F.^{370, 371}

- Paritaprevir: las principales sustituciones observadas en pacientes infectados con el subtipo 1a que no alcanzaron la RVS es la D168A/V/Y mientras que para el subtipo 1b son Y56H y D168V. Por otro lado, en el subtipo 4d es D168V.^{372, 373, 374}

B. Principales sustituciones asociadas a resistencia frente a inhibidores de NS5A.

Ciertas sustituciones como Y93H son detectadas como polimorfismos naturales en algunos pacientes.^{375, 376}

- Daclatasvir: las principales sustituciones observadas en pacientes infectados con el subtipo 1a que no alcanzaron la RVS son M28T, Q30E/H/R, L31M, H58D y Y93H/N, mientras que en el subtipo 1b son L31M/V y Y93H, y en el genotipo 4 es Q30H/S.^{377, 378}
- Ledipasvir: las principales sustituciones observadas en pacientes infectados con el subtipo 1a que no alcanzaron la RVS son Q30E/R, L31M y Y93C/H/N, mientras que en el subtipo 1b es Y93H.^{379, 380}
- Ombitasvir: las principales sustituciones observadas en pacientes infectados con el subtipo 1a que no alcanzaron la RVS son M28T y Q30R, mientras que en el subtipo 1b es Y93H, y en el subtipo 4d es L28V.^{373, 374, 381}

C. Principales sustituciones asociadas a resistencia frente a inhibidores de NS5B.

1) Inhibidores nucleosídicos: frente a sofosbuvir, las principales sustituciones que se han documentado confieren resistencia en pacientes infectados con en el genotipo 2 (S282T),³⁸² genotipo 3 (L159F y V321A),^{383, 384} y en los subtipos 1a y 1b (C316N/H/F).³⁸⁵

2) Inhibidores no nucleosídicos: frente a dasabuvir las sustituciones más comúnmente observadas en pacientes infectados con el subtipo 1a que no alcanzaron la RVS fueron M414T y S556G, mientras que en aquellos infectados con el subtipo 1b fue S556G.^{373, 386}



2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS





La epidemiología molecular y más concretamente la prevalencia y distribución de los genotipos y subtipos del VHC en Galicia adolece de datos actuales, que además pueden haberse modificado por diversos motivos, como por ejemplo los cambios experimentados en las vías de transmisión o en menor medida por las migraciones poblacionales, conocer estos datos es nuestro principal objetivo.

En este contexto y dado que la duración del tratamiento, las tasas de curación y la necesidad de incorporar RBV en algunas de las pautas con los nuevos AAD dependen en parte del genotipo y subtipo del VHC, surge esta Tesis Doctoral, que en base a datos reales de pacientes procedentes de nuestras consultas de Digestivo, Hepatología y Enfermedades Infecciosas del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (CHUS) propone analizar la prevalencia y distribución de los genotipos y subtipos del VHC en nuestro área sanitaria (AS) y su asociación con otros factores epidemiológicos, clínicos y virológicos, como: vías de transmisión, respuesta al tratamiento, características demográficas, diferencias geográficas, tendencias en la prevalencia y coinfecciones con otros virus que comparten vías de transmisión.

Teniendo en cuenta el objetivo principal, previamente comentado, los objetivos específicos que se plantean en esta Tesis Doctoral son los siguientes:

1. Conocer la asociación de los genotipos y subtipos del VHC con las diferentes variables epidemiológicas: género, edad, vía de transmisión y su distribución geográfica en las diferentes localidades y comarcas.
2. Determinar la distribución de genotipos y subtipos del VHC en la población no coinfectada, en la coinfectada con el VHB y en la coinfectada con el VIH.
3. Determinar el estadio hepático en el que se encuentran los pacientes infectados con cada genotipo y subtipo del VHC, así como el desarrollo de CHC y la influencia que tienen las diferentes variables epidemiológicas y clínicas sobre su evolución.
4. Conocer la respuesta de cada genotipo y subtipo del VHC a los diferentes tratamientos, así como estudiar la influencia de los principales biomarcadores e identificar las mutaciones de resistencia en pacientes que han fracasado con las nuevas terapias con AAD.
5. Determinar las variantes filogenéticas del subtipo 1 presentes en nuestro AS.



3. MATERIAL Y MÉTODOS





3.1 TIPO DE DISEÑO, POBLACIÓN Y ENTORNO

Los pacientes incluidos en este estudio pertenecen a las consultas externas de Digestivo, Hepatología y Enfermedades Infecciosas del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (CHUS). Por lo que se trata de un estudio unicéntrico.

El ámbito de estudio son los pacientes con infección crónica por el VHC diagnosticados y/o seguidos en el CHUS entre el 1 de enero de 2000 y el 31 de diciembre de 2015.

Los criterios de inclusión: pacientes con infección crónica por el VHC, diagnosticados y/o seguidos en el CHUS y que habían sido genotipados para el VHC.

Los criterios de exclusión: pacientes con infección crónica por el VHC que no han sido genotipados.

El total de pacientes incluidos en el estudio fue de 1815 de los cuales 1583 residían en localidades pertenecientes al área sanitaria de Santiago de Compostela.

En este trabajo se ha utilizado esta población para valorar diferentes parámetros tanto del hospedador como del propio virus. Para analizar estos datos se diseñó un estudio epidemiológico, observacional, analítico, longitudinal, retrospectivo. La información de los datos epidemiológicos y clínicos se obtuvieron a partir de la revisión de las historias clínicas de cada uno de los pacientes almacenados en IANUS (plataforma de integración de sistemas y registro de información clínica, Indra), una vez obtenido el permiso por parte del Comité de Ética de Investigación de Santiago-Lugo (CEI-SL) en la reunión del 17 de marzo del 2015 con código de registro 2015/191 (Anexo), se recopilaron y codificaron los datos clínicos en el Cuaderno de Recogida de Datos (CRD) específico del estudio, protegiendo la identidad de cada paciente. Sólo el equipo investigador y las autoridades sanitarias, que tienen el deber de guardar la confidencialidad, tuvieron acceso a todos los datos recogidos para el estudio. Sólo se podía transmitir información a terceros que no pudiera ser identificada. Una vez terminado el estudio los datos fueron anonimizados.

El desarrollo del proyecto se realizó respetando la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial de 1964 y ratificaciones de las asambleas siguientes (Tokio, Venecia, Hong Kong y Sudáfrica) sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, la Orden SCO/256/2007, de 5 de febrero, por la que se establecen los principios y las directrices detalladas de Buena Práctica Clínica y el Convenio relativo a los derechos humanos y la biomedicina, hecho en Oviedo el 4 de abril de 1997 y sucesivas actualizaciones.

Todo dato clínico recogido de los sujetos a estudio fue separado de los datos de identificación personal de tal modo que se aseguró el anonimato del paciente, respetando la Ley de Protección de Datos de Carácter Personal (Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre), el RD 1720/2007 de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, la Ley 41/2002, de 14 de noviembre (básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de

información y documentación clínica), así como la Ley 3/2001, de 28 de mayo, (reguladora del consentimiento informado y de la historia clínica de los pacientes), la Ley 3/2005, de 7 de marzo, de modificación de la Ley 3/2001 y el Decreto 29/2009 de 5 de febrero, por el que se regula el acceso a la historia clínica electrónica. Respecto al cuestionario informativo (CI), se solicitó al CEI-SL la exención de presentar el CI a los pacientes, ya que debido al gran tamaño muestral estudiado (pacientes ilocalizables), así como a la patología (algunos pacientes fallecieron), era necesario un gran esfuerzo y medios técnicos del que no se disponía.

3.2 METODOLOGÍA

3.2.1 Variables de estudio

Las variables analizadas en el conjunto de pacientes a estudio se agruparon en: variables epidemiológicas, clínicas y terapéuticas. Estas características se recogieron de la historia clínica de cada paciente y fueron actualizadas en las sucesivas visitas que realizaron a las respectivas consultas externas desde el 1 de enero de 2000 hasta 31 de diciembre de 2015.

3.2.1.1 Variables epidemiológicas

Para el estudio de las variables epidemiológicas se excluyeron aquellos pacientes diagnosticados y/o seguidos por infección crónica del VHC que no fueran residentes en localidades del AS (232), quedando un tamaño muestral de 1583.

3.2.1.1.1 Sexo al nacer

- A. Hombre.
- B. Mujer.

3.2.1.1.2 País de nacimiento

Mediante la revisión de las historias clínicas se anotó el país de nacimiento del paciente.

3.2.1.1.3 Edad

Mediante la revisión de las historias clínicas se recogió la fecha de nacimiento de cada paciente y se calculó la edad a 31 de diciembre de 2015.

Con el fin de estudiar la evolución temporal de la distribución de genotipos en el total de la población del AS, según las recomendaciones del CDC, la población fue dividida en tres grupos de edad:³⁰⁴

- A.** Nacidos antes de 1945: grupo principalmente afectado por el factor de riesgo transfusiones contaminadas.
- B.** Nacidos entre 1945 y 1965: donde el CDC estima que se encuentra la mayoría de infectados (75%), afectados tanto por los factores de riesgo transfusional como también UDVP.
- C.** Nacidos después de 1965: afectados principalmente por el UDVP.

3.2.1.1.4 Vías de transmisión

Mediante la revisión de las historias clínicas se anotó el factor de riesgo relacionado con la infección por el VHC y la fecha del suceso, con el fin de estudiar la asociación de cada genotipo con dicho factor en el total de la población del AS. Los factores de riesgo se agruparon en:

A. Parenteral.

Dentro del cual se diferenciaron tres variantes:

- 1) Nosocomial: agrupaba las transmisiones por transfusiones sanguíneas contaminadas, derivados hemáticos contaminados, cirugías, trasplante de órgano infectado, transmisión paciente a paciente (por endoscopios o hemodiálisis) y pinchazos accidentales en trabajadores sanitarios.
- 2) UDVP.
- 3) Tatuajes/piercing.

B. Factor de riesgo sexual.

En la mayoría de casos no se pudo diferenciar entre heterosexual y homosexual, al no haberse especificado el tipo de conducta en muchas de las historias clínicas.

C. Factor de riesgo vertical.

D. Factor de riesgo desconocido.

3.2.1.1.5 Coinfección con otros virus que comparten vías de transmisión

A. Coinfección con el VHB.

B. Coinfección con el VIH.

C. No coinfección.

La coinfección con el virus de la hepatitis D (VHD) no fue analizada debido al escaso número de pacientes coinfectados (sólo 3 casos).

3.2.1.1.6 Áreas sanitarias y localidades

De los 1815 pacientes diagnosticados y/o seguidos en las consultas externas de Digestivo, Hepatología y Enfermedades Infecciosas, sólo 1583 residían en localidades pertenecientes al AS, la cual fue dividida en tres subregiones: área metropolitana (AM), área costera (AC) y área rural (AR) (Figura 8); de acuerdo a la estructura organizativa del área sanitaria obtenida a partir del Decreto 168/2010, de 7 de octubre, por el que se regula la estructura organizativa de gestión integrada del Servicio Gallego de Salud (DOG del 15), anexo II.³⁸⁷ Los municipios pertenecientes al AM: Ames, Boqueixón, Brión, Oroso, O Pino, Santiago de Compostela, Teo, Touro, Trazo, Val do Dubra y Vedra; al AC: Boiro, Carnota, A Pobra do Caramiñal, Muros, Noia, Outes, Porto do Son, Rianxo y Ribeira; al AR: A Baña, A Estrada, A Golada, Arzúa, Boimorto, Dodro, Dozón, Frades, Lalín, Lousame, Mazaricos, Melide, Mesía, Negreira, Ordes, Padrón, Pontecesures, Rois, Rodeiro, Santa Comba, Santiso, Silleda, Toques, Tordoia, Valga y Vila de Cruces.

Los datos de población en cada localidad se obtuvieron a partir del Instituto Galego de Estadística:³⁸⁸

- Población censada a 01/01/2015 en el AS:³⁸⁸ 458.126 habitantes.
- Población censada a 01/01/2015 en las diferentes áreas:³⁸⁸ AM (183.425 habitantes), AC (113.867 habitantes), AR (160.834 habitantes).

La prevalencia de infectados crónicos (IC) de hepatitis C se calculó por cada 1000 habitantes para el AS, AM, AC, AR y para cada una de las localidades.

$$\text{Prevalencia IC} = \frac{\text{número IC}}{\text{población}} \times 1.000$$

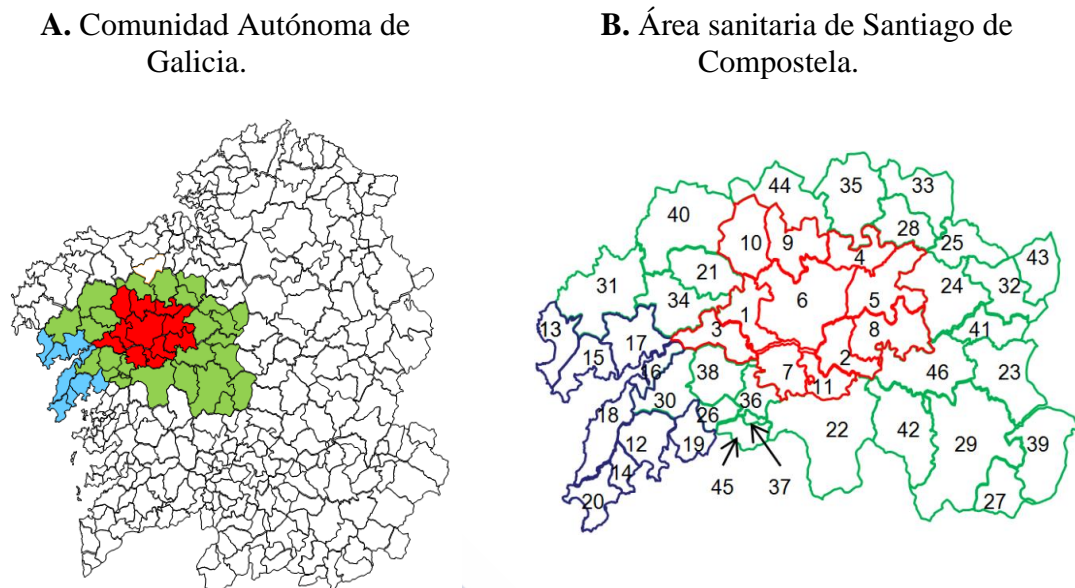


Figura 8. Mapa del área sanitaria de Santiago de Compostela.

a) Localización del AS en la Comunidad Autónoma de Galicia (España). **b)** Zonas del AS: de color rojo los municipios pertenecientes al AM: 1 Ames, 2 Boqueixón, 3 Brión, 4 Oroso, 5 O Pino, 6 Santiago de Compostela, 7 Teo, 8 Touro, 9 Trazo, 10 Val do Dubra y 11 Vedra. En azul los municipios pertenecientes al AC: 12 Boiro, 13 Carnota, 14 A Pobra do Caramiñal, 15 Muros, 16 Noia, 17 Outes, 18 Porto do Son, 19 Rianxo y 20 Ribeira. En verde los municipios pertenecientes al AR: 21 A Baña, 22 A Estrada, 23 A Golada, 24 Arzúa, 25 Boimorto, 26 Dodro, 27 Dozón, 28 Frades, 29 Lalín, 30 Lousame, 31 Mazaricos, 32 Melide, 33 Mesía, 34 Negreira, 35 Ordes, 36 Padrón, 37 Pontecesures, 38 Rois, 39 Rodeiro, 40 Santa Comba, 41 Santiso, 42 Silleda, 43 Toques, 44 Tordoia, 45 Valga y 46 Vila de Cruces. Estructura organizativa del área sanitaria obtenida a partir del Decreto 168/2010, de 7 de octubre, por el que se regula la estructura organizativa de gestión integrada del servicio gallego de salud (DOG del 15), anexo II.³⁸⁷

3.2.1.1.7 Variantes filogenéticas del subtipo 1a

A. Clado I.

B. Clado II.

3.2.1.2 Variables clínicas

Para el estudio de las variables clínicas se incluyeron el total de pacientes del estudio (1815).

3.2.1.2.1 Asociación de los diferentes genotipos con la progresión de la enfermedad

Los pacientes se clasificaron según su estadio hepático empleando la escala METAVIR a partir de biopsia hepática o por elastografía transitoria (Fibroscan® Echosens, Creteil, France.), en: estadio F0 con ausencia de fibrosis, estadio F1 con fibrosis portal, estadio F2 con fibrosis periportal, estadio F3 con fibrosis en puentes y estadio F4 que representa la cirrosis hepática, y que también podía ser identificado mediante diagnóstico

ecográfico. Los valores del Fibroscan® se relacionan con los grados de fibrosis de la escala METAVIR de la siguiente manera: F0-F1 < 7,6 kPa, F2= 7,7 - 9,4 kPa, F3= 9,5 - 14 kPa, F4 >14 kPa.³⁸⁹

No empleamos la variable transaminasas por no existir una clara correlación entre sus niveles y la histología hepática.²⁶³⁻²⁶⁵

Con el fin de estudiar la relación de cada genotipo con la progresión de la enfermedad en los 1815 infectados de hepatitis C crónica que han sido diagnosticados y/o seguidos en las consultas externas de Digestivo, Hepatología y Enfermedades Infecciosas del CHUS, analizamos a aquellos pacientes en los que se conocía su estadio hepático, incluidos pacientes trasplantados (teniendo en cuenta el estadio previo al trasplante) y pacientes curados (considerando el estadio previo al tratamiento curativo), y excluyendo a los recaedores en las diversas terapias (ya que en ellos se podría haber producido una reversión del estadio hepático durante el periodo en el que el tratamiento pudiera disminuir temporalmente los niveles de la CV), quedando un tamaño muestral de 1569 pacientes. Solamente en 415 se pudo conocer además el momento de infección, permitiéndonos determinar la progresión a cirrosis según los años de infección transcurridos. Tras anotar los diferentes factores que pueden influir sobre la progresión a cirrosis: obesidad, diabetes, consumo de tabaco, consumo de drogas, trasplante renal, periodo de tiempo infectado, sexo y consumo excesivo de alcohol (más de 40 mg/día y más de 20 g/día en hombres y mujeres respectivamente)^{7, 275, 279-281,283,291,292,312-319,344-352, 390} únicamente estos tres últimos parecían influir en la progresión a cirrosis, por ello la población fue dividida en infectados crónicos tras 10-19 años, 20-29 años y más de 29 años,^{290,291} en consumidores y no consumidores excesivos de alcohol²⁸³ y por sexos.²⁷⁵

Se realizó cribado citohistológico de carcinoma hepatocelular (CHC) en aquellos pacientes con sospecha y estudiamos, en los que se encontraban en estadio hepático avanzado (F3 y F4), la asociación de cada genotipo con su desarrollo tras 10-19 años, 20-29 años y más de 29 años, en consumidores y no consumidores excesivos de alcohol y por sexos.²⁹⁵

Se recogieron los datos de aquellos pacientes trasplantados o en lista de espera para recibir trasplante hepático y estudiamos la asociación de cada genotipo con la necesidad de su realización tras 10-19 años, 20-29 años y más de 29 años, en consumidores y no consumidores excesivos de alcohol y por sexos.

3.2.1.3 Variables terapéuticas

Para el estudio de las variables terapéuticas se incluyó al total de pacientes del estudio (1815).

Según los criterios de 2015 de la EASL (comunes a los de la AASLD), se considera como punto final de la terapia a la RVS, definida como ARN del VHC indetectable a las 12 semanas (RVS12) o a las 24 semanas (RVS24) después de haber finalizado el tratamiento. La CV debe de ser evaluada mediante un método molecular sensible, con un límite inferior de detección ≤ 15 IU/ml.²⁶⁵

Separamos a los pacientes en tres grupos: pacientes naïve, pacientes anteriormente recaedores con terapias previas y pacientes previamente no respondedores a terapias previas.

3.2.1.3.1 Carga viral

- A. Detectable.
- B. No detectable.

3.2.1.3.2 Tipo de terapia administrada

Se tuvieron en cuenta todos los tratamientos frente al VHC administrados en cada paciente a lo largo de su vida. En la Tabla 6 aparecen reflejadas las diferentes terapias.

Tabla 6. Terapias administradas en infectados crónicos de hepatitis C en el AS.

A. Tratamientos con IFN

IFN
 IFN+RBV
 IFN+RBV+BOC
 IFN+RBV+TEL
 IFN+RBV+SIM
 IFN+RBV+DAC

B. Tratamientos libres IFN

SOF+RBV
 SOF+SIM±RBV
 SOF+DAC±RBV
 SOF+LED±RBV
 OMB+PARI/rito±RBV
 OMB+PARI/rito+DAS±RBV

IFN (interferón o peginterferón), RBV (ribavirina), BOC (boceprevir), TEL (telaprevir), SIM (simeprevir), DAC (daclatasvir), LED (ledipasvir), OMB (ombistasvir), PAR (paritaprevir), rito (ritonavir), SOF (sofosbuvir), DAS (dasabuvir).

3.2.1.3.3 Determinación del SNP: rs12979860 del gen de la *IL28B*

- A. CC.
- B. CT.
- C. TT.

3.2.1.3.4 Detección del SNP Q80K de la región NS3 del VHC

- A. Presencia.
- B. Ausencia.

3.2.1.3.5 Detección de mutaciones de resistencia a ADD en los pacientes que han fracasado

- A. Detección de mutaciones de resistencia en NS3.
- B. Detección de mutaciones de resistencia en NS5A.
- C. Detección de mutaciones de resistencia en NS5B.

3.2.2 Determinaciones

3.2.2.1 Determinaciones serológicas

Detección de anticuerpos frente al VHC, VHB y VIH:

Se emplearon muestras de suero obtenidas a partir de sangre extraída de los pacientes en seguimiento de las consultas de Digestivo, Hepatología y Enfermedades Infecciosas. Se realizó una centrifugación a 800g durante 10 minutos, a continuación las muestras de suero fueron almacenadas a 4°C en alícuotas de 1,5 ml hasta su utilización.

La técnica empleada para la detección fue ARCHITECT® i2000 Abbott, IL, USA y ADVIA Centaur® CP Immunoassay System, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Germany. Todas las muestras positivas se reanalizaban por los dos procedimientos.

- A. Se consideró evidencia serológica frente al VHC, la detección en ambas técnicas de anticuerpos específicos contra el VHC y su posterior confirmación por INNO-LIA® HCV Score, Fujirebio Europe NV. Belgium.
- B. Se consideró coinfección con el VHB (en estos infectados crónicos de hepatitis C) la presencia en suero de antígeno de superficie del VHB (HBsAg) y/o anticuerpos frente al antígeno core del VHB (anti-HBc) y/o detección de ADN del VHB.
- C. Se consideró coinfección con el VIH (en estos infectados crónicos de hepatitis C) la presencia en suero mediante ambas técnicas de anticuerpos frente VIH-1/2 y/o antígeno p24 y su posterior confirmación mediante INNO-LIA® HIV I/II Score, Fujirebio Europe NV. Belgium y/o la detección de ARN del VIH.

3.2.2.2 Determinaciones moleculares

3.2.2.2.1 Determinación de la carga viral plasmática del VHC

Para determinar la carga viral plasmática se emplearon muestras de plasma obtenidas a partir de la sangre extraída de los pacientes en seguimiento de la consultas de Digestivo, Hepatología y Enfermedades Infecciosas. El plasma libre de células fue aislado por centrifugación a 800 g durante 10 minutos. A continuación, las muestras de plasma fueron almacenadas a -20°C en alícuotas de 1,5 ml hasta su utilización.

La cuantificación de la CV del VHC en UI/ml se realizó mediante PCR, empleando para ello los métodos comerciales disponibles:

En un primer momento se utilizó COBAS® AMPLICOR® HCV test versión 2.0 Roche Molecular Diagnostics Inc. Pleasanton CA, siguiendo las instrucciones del fabricante. Posteriormente el COBAS® TaqMan® HCV test, v2.0 Roche Molecular Diagnostics Inc. Pleasanton CA, siguiendo las instrucciones del fabricante. En la actualidad la técnica empleada es el COBAS AmpliPrep/COBAS® TAQMAN HCV Quantitative test, Roche Molecular Diagnostics Inc. Pleasanton CA, que presenta un límite inferior de detección de 15 UI/ml y un límite superior de 100.000.000 UI/ml.

3.2.2.2.2 Extracción de ácidos nucleicos

A. ARN del VHC.

La extracción se realizó a partir de las muestras de plasma obtenidas y procesadas como se comentó en el apartado anterior, desde 2005 se ha empleado kit de aislamiento de ácidos nucleicos totales (TNAI kit: total nucleic acid isolation kit) para COBAS® AmpliPrep, Roche Molecular Diagnostics Inc. Pleasanton, CA, siguiendo las instrucciones del fabricante y los eluidos fueron conservados a -20°C hasta su utilización. Antes de 2005 se realizaba la extracción del ARN del VHC de forma manual, empleando tiocianato de guanidina.

B. ADN humano.

A partir de las muestras de plasma obtenidas y procesadas como se comentó en el apartado anterior, se realizó una extracción de ácidos nucleicos con el kit MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I Roche Molecular Diagnostics Inc. Pleasanton, CA, siguiendo las instrucciones del fabricante y el eluido fue almacenado a -20°C hasta su utilización.

3.2.2.2.3 Determinación del genotipo y subtipo del VHC

A partir del eludido obtenido de la extracción se realizó un ensayo de hibridación reversa en línea:

A. Desde 2000 a 2005 se utilizó el Versant HCV Genotype assay (INNO-LiPA HCV 1.0) Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Germany. Siguiendo las instrucciones del fabricante.

B. Desde 2006 a 2015 se ha utilizado el Versant HCV Genotype assay (INNO-LiPA HCV 2.0) Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Germany. Siguiendo las instrucciones del fabricante.

Para determinar el genotipo y subtipo del VHC de cada paciente. Los resultados que se podían obtener con INNO-LiPA HCV 2.0 eran los siguientes:

A. Genotipo 1.

1. Subtipo 1a.
2. Subtipo 1b.
3. Subtipo 1a/1b.
4. Genotipo 1 no subtipado.

B. Genotipo 2.

1. Subtipo 2a/2c.
2. Subtipo 2b.
- 3 Genotipo 2 no subtipado.

C. Genotipo 3.

1. Subtipo 3a.
2. Subtipo 3b.
3. Subtipo 3c.
4. Genotipo 3 no subtipado.

D. Genotipo 4.

1. Subtipo 4a/4c/4d.
2. Subtipo 4b.
3. Subtipo 4e.
4. Subtipo 4f.
5. Subtipo 4h.
6. Genotipo 4 no subtipado.

E. Genotipo 5.

1. Subtipo 5a.

F. Genotipo 6.

1. Subtipo 6a/6b.

Para la recogida de datos y para simplificar su posterior análisis únicamente se tuvo en cuenta el genotipo obtenido y en el caso del genotipo 1 también el subtipo.

3.2.2.2.4 Secuenciación

A. Secuenciación de la región C/E1.

La secuencia de esta región fue analizada para la validación del método de genotipado empleado: Versant HCV Genotype assay (INNO-LiPA HCV 2.0) Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Germany. Tras la extracción, las condiciones y primers utilizados en la RT-PCR y en la nested PCR fueron las previamente informadas por Avó AP *et al.*³⁹¹

B. Secuenciación de la región NS3.

El análisis de esta secuencia se empleó para la validación del método de genotipado, determinación del clado del subtipo 1a, detección del SNP Q80K y detección de resistencias a inhibidores de la proteasa. Tras la extracción, las condiciones y primers utilizados en la RT-PCR y en la nested PCR fueron las previamente informadas por Paolucci S *et al.*³⁹²

C. Secuenciación de la región NS5A.

La secuencia de esta región fue analizada para la detección de posibles resistencias a inhibidores de la NS5A. Tras la extracción, las condiciones y primers utilizados en la RT-PCR y en la nested PCR fueron las previamente informadas por Paolucci S *et al.*³⁹³

D. Secuenciación de las regiones NS5B.

La secuencia de esta región fue analizada para la detección de resistencias a inhibidores de la polimerasa y para la validación del método de genotipado empleado: Versant HCV Genotype assay (INNO-LiPA HCV 2.0) Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Germany. Tras la extracción, las condiciones y primers utilizados en la RT-PCR y en la nested PCR fueron las previamente informadas por Avó AP *et al.*³⁹¹

La secuenciación de todas las regiones fue realizada en Beckman CEQ 8000, Beckman Coulter, Inc. Fullerton, California, siguiendo las indicaciones del fabricante y posteriormente se analizaron en geno2pheno_{HCV} (<http://hcv.geno2pheno.org/>) para las regiones C/E1, NS5A y NS5B o bien en BLAST (http://hcv.lanl.gov/content/sequence/BASIC_BLAST/basic_blast.html) donde además también se podía analizar la región C/E1.

3.2.2.2.5 Determinación del polimorfismo: rs12979860 de gen de la *IL28B*

A partir del eluido obtenido de la extracción de ácidos nucleicos humanos con el kit MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I Roche Molecular Diagnostics Inc. Pleasanton, CA, se realizó una PCR a tiempo real (según las indicaciones del fabricante) en el termociclador LightCycler® 2.0 Instrument, Roche Molecular Diagnostics Inc. Pleasanton, CA, los primers empleados fueron los de LightMix® kit IL28B rs12979860 (TIB-MOLBIOL, Berlín), comercializado por Roche Molecular Diagnostics Inc. Pleasanton, CA.

Se analizaron los fragmentos específicos de 139 pb obtenidos de la PCR, mediante un análisis de curvas de temperaturas de fusión (melting temperature, T_m), empleando para ello una sonda específica para el alelo correspondiente a la región 3176 (rs12979860). El alelo de tipo salvaje T presenta una T_m entre 51°C-53°C, mientras que la variante C muestra una temperatura 8°C superior, alrededor de los 60°C. Por lo que un pico a una $T_m=51^\circ\text{C}\pm 2,5^\circ\text{C}$ y otro próximo a los 60°C ($59^\circ\text{C}\pm 2,5^\circ\text{C}$), implicaría un genotipo heterocigoto T/C, un sólo pico con $T_m= 51^\circ\pm 2,5^\circ\text{C}$ correspondería a un genotipo homocigoto T/T y un solo pico con $T_m=59^\circ\pm 2,5^\circ\text{C}$, correspondería a un genotipo homocigoto C/C.

3.2.3 Validación del método de genotipado

Para la validación del método de genotipado empleado, Versant HCV Genotype assay (INNO-LiPA HCV 2.0), se reclutaron un total de 169 muestras genotipadas y subtipadas con esta técnica escogidas al azar y se compararon con los resultados obtenidos por secuenciación de C/E1, NS3 y NS5B. Las discordancias fueron clasificadas como *importantes* (definidas como diferencias en el genotipo identificado) y *leves* (cuando se observaron diferencias a nivel de subtipo).

3.2.4 Determinación de variantes filogenéticas del subtipo 1a y detección del polimorfismo Q80K

Fueron reclutados un total de 73 pacientes con subtipo 1a en los que se había solicitado la detección del polimorfismo Q80K. Mediante la secuenciación de NS3 (anteriormente comentada) se determinó el clado (I ó II) y se analizó la presencia del SNP Q80K.

3.3 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Para analizar los datos recogidos en este trabajo, en primer lugar se procedió a la realización de un análisis descriptivo de las variables obtenidas de las historias clínicas de los pacientes, en el que se estudiaron las características epidemiológicas, clínicas y terapéuticas desde el diagnóstico de la infección. Las variables continuas (cuantitativas) se expresaron como mediana con su rango intercuartílico (RIC), mientras que las variables categóricas (cualitativas) se resumieron con porcentajes.

Previo a la realización de cualquier test estadístico y al ser el tamaño de la muestra mayor o igual a 50, se aplicó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para así determinar si los parámetros analizados se ajustaban a una distribución normal. Para evaluar la comparabilidad de los grupos se utilizó el test de Levene de homogeneidad de varianzas. En ambos casos los resultados se consideraron positivos si p -valor $>0,05$.

En estos grupos generados se evaluó la influencia de los genotipos y subtipos del virus en la progresión de la enfermedad y su distribución en relación a las variables anteriormente citadas. Para ello se realizó un test de comparación bivalente para estudiar el efecto de cada genotipo y subtipo de virus en dichas variables mediante test Chi-cuadrado (χ^2).

Todos los análisis se llevaron a cabo mediante el paquete estadístico SPSS v20.0 (IBM Corp. Armonk, NY: IBM Corp) y en todos los casos se consideraron estadísticamente significativos los valores de p por debajo de 0,05 (p -valor $<0,05$).





4. RESULTADOS



4.1 VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE GENOTIPADO EMPLEADO

Los resultados obtenidos al comparar la identificación del genotipo mediante Versant HCV Genotype assay (INNO-LiPA HCV 2.0) Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Germany, con la secuenciación de C/E1, NS3 y NS5B, vienen representados en la Tabla 7.

Tabla 7. Comparación de genotipos y subtipos obtenidos por LiPA2.0 y secuenciación de C/E1,NS3 y NS5B.

LiPA 2.0	Gen./Sub.	Secuenciación C/E1, NS3, NS5B												
		1	1a	1b	1g	2a	2c	2i	3	3a	4	4a	4c	4d
	1		11	5	1									
	1a		94	1										
	1b		7	23										
	2a/2c						3	1						
	3									2				
	3a									12				
	4											5		1
	4a/4c/4d												1	2

Gen. (genotipo), Sub. (subtipo). Color negro: concordancias, color rojo: discordancias.

En las 196 muestras empleadas, se obtuvo un 100% de concordancia a nivel de genotipo y un 94,7% a nivel de subtipo.

4.2 DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS Y FACTORES DE RIESGO EN EL ÁREA SANITARIA

4.2.1 Distribución de genotipos y factores de riesgo en cada sexo y en el total de infectados crónicos por el VHC en el área sanitaria

De los 1815 pacientes diagnosticados y/o seguidos por infección crónica por el VHC en el CHUS (consultas externas de Digestivo, Hepatología y Enfermedades Infecciosas), 1583 eran residentes en localidades pertenecientes al AS de Santiago de Compostela, de los que el 98,2% había nacido en España y un 9,3% falleció durante el periodo de estudio.

Para la variable edad de la población aplicamos la prueba de Kolmogorov-Smirnov, obteniendo un p -valor $< 0,001$, por lo que dicha variable no seguía una distribución normal. La mediana de edad de la población infectada crónicamente en el AS fue de 50 años (RIC, 57-45). La distribución de genotipos y factores de riesgo viene representado en la Tabla 8. Con respecto a las características epidemiológicas, un 72,5% de los infectados crónicos por el VHC eran hombres, cuya mediana de edad fue de 48 años (RIC, 55-45) y de 53 años (RIC, 66-44) en mujeres.

Se observaron diferencias significativas en la distribución de genotipos entre sexos, el subtipo 1a y el genotipo 3 fueron significativamente más prevalentes en hombres con un $p=0,006$ y $p=0,020$ respectivamente y 1b en mujeres con un $p<0,001$. El sexo masculino se asoció de forma significativa con el UDVP y el sexo femenino con el factor de riesgo nosocomial.

Tabla 8. Distribución de genotipos y factores de riesgo en el total de infectados crónicos por el VHC y en cada sexo en el AS.

A. Distribución de genotipos en el total de la población del AS y por sexos.

Geno.	Total	Hombres	Mujeres	p-valor
1	61,7	60,0	66,3	0,021
1a	28,2	30,1	23,2	0,006
1b	32,8	29,2	42,2	<0,001
2	3,2	2,7	4,4	
3	20,3	21,8	16,5	0,020
4	14,7	15,4	12,6	
Total	1583	1147	436	

B. Distribución de factores de riesgo en el total de la población y por sexos.

Factor de riesgo	Total	Hombres	Mujeres	p-valor
Parenteral	86,3	87,3	83,9	
Nosocomial	29,4	22,1	48,6	<0,001
UDVP	56,0	64,2	34,6	<0,001
T/P	0,9	1,0	0,7	
Sexual	1,5	1,1	2,3	
Vertical	0,2	0,2	0,2	
Desconocido	12,0	11,4	13,5	
Total	1583	1147	436	

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes. T/P (tatuaje/piercing). p-valor calculado entre sexos

Con el fin de establecer la asociación de cada genotipo con los diferentes factores de riesgo, estudiamos la distribución de estos en cada uno de los factores (Tabla 9).

Observamos como dentro de la transmisión parenteral el subtipo1b ($p<0,001$) y el genotipo 2 ($p=0,001$) se asocian de forma significativa con el factor de riesgo nosocomial, además el subtipo 1b también lo hizo con la transmisión de origen desconocido ($p<0,001$). Por otro lado, también dentro de la transmisión parenteral, el subtipo 1a ($p<0,001$) y los genotipos 3 ($p<0,001$) y 4 ($p<0,001$) se asociaron de forma significativa con el factor de riesgo UDVP. Al comparar géneros, sólo se observaron diferencias significativas en el grupo de UDVP, donde obtuvimos resultados inesperados, al ser el subtipo 1b significativamente más prevalente en UDVPs hombres ($p=0,028$) y el genotipo 4 en UDVPs mujeres ($p=0,009$).

Tabla 9. Distribución de genotipos por vía de transmisión en el AS y en cada sexo.

A. Total.

Geno.	Parenteral %	Nosoc. %	UDVP %	T/P %	Sexual %	Vertical %	Desc. %	p-valor
1	60,7	82,2	49,8	40,0	65,2	33,3	68,9	<0,001
1a	28,2	14,8	35,2	26,7	34,8	33,3	27,4	<0,001
1b	32,2	66,9	14,3	13,3	30,4	0,0	37,9	<0,001
2	2,6	5,4	1,0	6,7	0,0	0,0	7,9	0,001
3	20,8	8,0	27,4	33,3	8,7	33,3	17,9	<0,001
4	15,7	4,1	21,8	20,0	26,1	33,3	5,3	<0,001
Total	1367	465	887	15	23	3	190	

B. Hombres.

Geno.	Parenteral	Nosoc	UDVP %	T/P	Sexual	Vertical	Desc.	p-valor
1	58,8	81,4	51,5	33,3	61,5	0,0	69,5	<0,001
1a	30,2	14,2	35,7	25,0	38,5	0,0	29,0	<0,001
1b	28,4	66,8	15,5	8,3	23,1	0,0	36,6	<0,001
2	2,0	4,0	1,2	8,3	0,0	0,0	8,4	
3	22,6	8,3	27,2	41,7	15,4	50,0	16,0	<0,001
4	16,5	5,9	20,1	16,7	23,1	50,0	6,1	<0,001
Total	1001	253	736	12	13	2	131	

C. Mujeres.

Genotipo	Parenteral	Nosoc	UDVP	T/P %	Sexual	Vertical	Desc.	p-valor
1	65,8	83,0	41,7	66,7	70,0	100	67,8	<0,001
1a	22,7	15,6	32,5	33,3	30,0	100	23,7	0,001
1b	42,6	67,0	8,6	33,3	40,0	0,0	40,7	<0,001
2	4,1	7,1	0,0	0,0	0,0	0,0	6,8	0,007
3	16,1	7,5	28,5	0,0	0,0	0,0	22,0	<0,001
4	13,7	1,9	29,8	33,3	30,0	0,0	3,4	<0,001
Total	366	212	151	3	10	1	59	

Nosoc. (nosocomial), T/P (tatuaje/piercing) y desc. (desconocido). Valores representados en porcentajes. El factor de riesgo parenteral se encuentra subdividido en sus 3 tipos mayoritarios: nosocomial (principalmente transfusiones, cirugías, pacientes dializados y accidentes sanitarios), usuarios de drogas por vía parenteral y tatuajes y/o piercings. Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. *p*-valor calculado entre los dos principales factores de riesgo (Nosoc. y UDVP).

4.2.2 Distribución de genotipos y factores de riesgo en las diferentes áreas

Estudiamos la prevalencia de cada genotipo y factor de riesgo en las diferentes zonas que componen el AS (Tabla 10).

Con respecto a las características epidemiológicas:

A. Área metropolitana: un 44,8% de la población infectada con el VHC del AS residía en el AM, lo que supone una prevalencia de infectados crónicos diagnosticados del 3,86%. La mediana de edad fue de 51 años (RIC, 58-45). Un 68,5% eran hombres, con una mediana de edad de 50 años (RIC, 56-48) y de 53 años (RIC, 67-44) en mujeres.

B. Área costera: un 35,8% de la población infectada con el VHC del AS residía en el AC, lo que supone una prevalencia de infectados crónicos diagnosticados del 4,97%, siendo la significativamente más elevada ($p<0,001$) de todo el AS. La mediana de edad fue la más baja de todas las áreas con 49 años (RIC, 54-45). Aquí se observó la mayor diferencia en la prevalencia de infectados por sexos, donde los hombres suponen el 80,0%, y siendo también el único área donde la mediana de edad en ambos géneros fue la misma, en hombres de 49 años (RIC, 53-45) y en mujeres también de 49 años (RIC, 58-44).

C. Área rural: un 19,5% de la población infectada con el VHC del AS residía en el AR, lo que supone una prevalencia de infectados crónicos diagnosticados del 1,91%. La mediana de edad fue la más alta de todas las zonas con 51 años (RIC, 63-44). Un 67,5% eran hombres, con una mediana de edad de 50 años (RIC, 59-43) y de 54 años (RIC, 71-45) en mujeres.

Se observaron diferencias en la distribución de genotipos al comparar las distintas áreas. El AR presentó una distribución significativamente diferente al resto de zonas, donde el subtipo 1b fue de forma significativa el más prevalente ($p<0,001$), a diferencia del subtipo 1a ($p=0,005$) y del genotipo 3 ($p=0,007$) que lo fueron menos. También se observaron diferencias significativas al comparar los factores de riesgo entre áreas, dentro de la transmisión parenteral el factor de riesgo nosocomial estuvo significativamente asociado con el AR ($p<0,001$) y el UDVP con el AC ($p<0,001$) donde además observamos una significativa menor asociación con el factor de riesgo desconocido ($p=0,037$).

Tabla 10. Distribución de genotipos y factores de riesgo en las diferentes áreas.

A. Distribución total de genotipos en las diferentes áreas.

Genotipo	AM	AC	AR	p-valor
1	61,6	57,8	69,2	0,003
1a	28,6	31,1	21,8	0,005
1b	31,9	26,3	46,8	<0,001
2	3,7	2,1	3,9	
3	20,3	24,0	13,6	0,007
4	14,2	16,1	13,0	
Total	709	566	308	

B. Distribución de factores de riesgo en las diferentes áreas.

Factor de riesgo	AM	AC	AR	p-valor
Parenteral	85,6	89,1	83,1	
Nosocomial	29,6	19,6	46,8	<0,001
UDVP	55,0	68,4	35,7	<0,001
T/P	1,0	1,1	0,6	
Sexual	1,6	0,9	2,3	
Vertical	0,1	0,4	0,0	
Desconocido	12,7	9,7	14,6	0,037
Total	709	566	308	

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes. T/P (tatuaje/piercing). p-valor calculado entre AC y AR.

4.2.3 Distribución de genotipos y factores de riesgo en grupos de coinfectados con el VHB y con el VIH

Estudiamos la distribución de genotipos y factores de riesgo en los diferentes grupos de coinfectados: no coinfectados, coinfectados con el VHB y coinfectados con el VIH (Tabla 11).

4.2.3.1 Total

A. Población no coinfectada total: un 54,8% de infectados crónicos por el VHC del AS eran pacientes no coinfectados. La mediana de edad de esta población fue de 50 años (RIC, 59-43).

B. Población coinfectada con el VHB total: un 39,6% de infectados crónicos por el VHC del AS eran pacientes coinfectados con el VHB. La mediana de edad de esta población fue de 51 años (RIC, 55-47).

C. Población coinfectada con el VIH total: un 16,6% de infectados crónicos por el VHC del AS eran pacientes coinfectados con el VIH. Fue el grupo de pacientes más joven, su mediana de edad fue de 49 años (RIC, 53-45).

El subtipo 1b fue significativamente más prevalente en no coinfectados ($p < 0,001$) y el subtipo 1a y el genotipo 4 lo fueron en coinfectados con el VIH ($p < 0,001$). Los factores de riesgo nosocomial y desconocido se asociaron de forma significativa con el grupo de no coinfectados ($p < 0,001$) y el UDVP con los coinfectados con el VHB y también con el VIH ($p < 0,001$).

Tabla 11. Distribución de genotipos y factores de riesgo en grupos de coinfectados.

A. Distribución de genotipos por grupos de coinfectados.

Genotipo	No	VHB	VIH	<i>p</i> -valor
1	66,9	53,7	52,3	<0,001
1a	26,0	28,7	35,1	<0,001
1b	40,2	24,2	16,8	<0,001
2	3,1	3,2	1,9	
3	19,0	23,4	21,0	
4	10,7	19,6	24,8	<0,001
Total	868	616	262	

B. Distribución de factores de riesgo por grupos de coinfectados.

Factor de riesgo	No	VHB	VIH	<i>p</i> -valor
Parenteral	84,0	89,2	97,7	
Nosocomial	39,5	17,7	2,7	<0,001
UDVP	43,3	70,9	95,0	<0,001
T/P	1,2	0,6	0,0	
Sexual	1,7	1,1	1,9	
Vertical	0,3	0,0	0,0	
Desconocido	13,9	9,6	0,4	<0,001
Total	868	616	262	

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes. T/P (tatuaje/piercing). *p*-valor calculado entre no coinfectados y coinfectados con VHB y/o VIH.

4.2.3.2 Sexos

Estudiamos la distribución de genotipos y factores de riesgo en cada grupo de coinfectados según el género (Tabla 12). Con respecto a las características epidemiológicas:

A. No coinfectados

De los 868 pacientes no coinfectados, un 68,2% eran hombres, cuya mediana de edad fue de 49 años (RIC, 56-43) y de 52 años (RIC, 68-42) en mujeres, observándose la mayor diferencia de edades entre géneros de todos los grupos.

El subtipo 1a ($p=0,003$) y el genotipo 3 ($p=0,012$) fueron significativamente más prevalentes en hombres y el subtipo 1b en mujeres ($p<0,001$). El factor de riesgo UDVP se asoció de forma significativa con el sexo masculino ($p<0,001$) y el factor de riesgo nosocomial con el sexo femenino ($p<0,001$).

B. Coinfectados con el VHB.

De los 616 pacientes coinfectados con el VHB, un 78,4% fueron hombres, cuya mediana de edad era de 50 años (RIC, 54-46) y de 52 años (RIC, 63-47) en mujeres.

No se observaron diferencias significativas en la distribución de genotipos entre géneros, pero sí en la asociación del factor de riesgo UDVP con el sexo masculino ($p<0,001$) y el factor de riesgo nosocomial con el sexo femenino ($p<0,001$).

C. Coinfectados con el VIH.

En esta población de 262 pacientes coinfectados con el VIH un 79,4% eran hombres, siendo el grupo donde se apreció una mayor diferencia de infectados entre géneros. La mediana de edad fue idéntica en ambos sexos, en hombres fue de 49 años (RIC, 53-45), al igual que en mujeres donde también fue de 49 años (RIC, 53-45). Por lo que se refiere a la distribución de genotipos, únicamente se observaron diferencias significativas entre sexos en el subtipo 1b, que inesperadamente fue significativamente menos prevalente en mujeres ($p=0,038$). Por otra parte, no se observaron diferencias significativas en la asociación de factores de riesgo entre géneros.

Tabla 12. Distribución de genotipos y factores de riesgo por sexos y por grupo de coinfectados en el AS.

A. Distribución de genotipos por sexo en cada grupo de coinfectados.

Geno.	No			VHB			VIH		
	H	M	p-valor	H	M	p-valor	H	M	p-valor
1	64,9	71,4		52,8	57,1		53,4	48,1	
1a	29,1	19,6	0,003	29,6	25,6		33,7	40,7	
1b	35,1	51,1	<0,001	22,6	30,1		19,2	7,4	0,038
2	2,7	4,0		3,1	3,8		2,4	0,0	
3	21,3	14,1	0,012	23,6	22,6		19,7	25,9	
4	11,0	10,1		20,5	16,5		24,5	25,9	
Total	592	276		483	133		208	54	

B. Distribución de factores de riesgo por sexo en cada grupo de coinfectados.

Factor de riesgo	No			VHB			VIH		
	H	M	p-valor	H	M	p-valor	H	M	p-valor
Parenteral	84,1	83,7		90,9	83,4		97,1	100	
Nosocomial	30,2	59,4	<0,001	14,1	30,8	<0,001	2,4	3,7	
UDVP	52,7	23,2	<0,001	76,0	52,6	<0,001	94,7	96,3	
T/P	1,2	1,1		0,8	0,0		0,0	0,0	
Sexual	1,2	2,9		1,0	1,5		2,4	0,0	
Vertical	0,3	0,4		0,0	0,0		0,0	0,0	
Desconocido	14,4	14,4		8,1	15,0		0,5	0,0	
Total	592	276		483	133		208	54	

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes. T/P (tatuaje/piercing).

4.2.3.3 Áreas

Estudiamos la distribución de genotipos y factores de riesgo en cada grupo de coinfectados en las diferentes áreas (Tabla 13).

Con respecto a las características epidemiológicas:

A. No coinfectados.

De los 868 pacientes no coinfectados, un 44,9% residía en el AM, cuya mediana de edad fue de 51 años (RIC, 62-42), un 30,6% en el AC, cuya mediana de edad fue de 48 años (RIC, 54-43) y el 24,4% de la población restante en el AR, siendo su mediana de edad de 51 años (RIC, 65-43).

El subtipo 1a se asoció de forma significativa con el AC ($p=0,013$) y 1b con el AR ($p<0,001$), donde además el genotipo 3 fue significativamente menos prevalente ($p=0,002$). El factor de riesgo nosocomial se asoció de forma significativa con el AM y AR ($p<0,001$) y el UDVP con el AC ($p<0,001$).

B. Coinfectados con el VHB.

De los 616 pacientes coinfectados con el VHB, un 42,2% residía en el AM, cuya mediana de edad fue de 52 años (RIC, 56-47), en el AC residía la mayoría de coinfectados con el VHB (44,2%), cuya mediana de edad fue de 50 años (RIC, 54-46) y el 13,6% de la población restante residía en el AR, siendo su mediana de edad de 52 años (RIC, 63-46).

El subtipo 1b se asoció de forma significativa con el AR ($p=0,008$), el subtipo 1a con el AM y AC ($p=0,018$) y el genotipo 3 con el AC ($p=0,017$). El factor de riesgo nosocomial se asoció de forma significativa con el AR ($p<0,001$) y el UDVP con el AM y AC ($p<0,001$).

C. Coinfectados con el VIH.

De los 262 pacientes coinfectados con el VIH, un 50,0% residía en el AM, cuya mediana de edad fue de 49 años (RIC, 53-45), en el AC residía un 41,6% de los coinfectados con el VIH cuya mediana de edad fue de 49 años (RIC, 52-45) y el 8,4% de la población restante residía en el AR, con una mediana de edad de 49 años (RIC, 54-43), este grupo fue el único donde se observó la misma mediana de edad en todas las zonas.

No se observaron diferencias significativas en la distribución de genotipos en coinfectados con VIH entre las tres zonas. En el AR, el factor de riesgo sexual fue significativamente más prevalente que en el resto de áreas con el 9,1% ($p=0,010$).

Tabla 13. Distribución de genotipos y factores de riesgo por área y por grupo de coinfectados en el AS.

A. Distribución de genotipos por área en cada grupo de coinfectados.

Geno.	No				VHB				VIH			
	AM	AC	AR	p-valor	AM	AC	AR	p-valor	AM	AC	AR	p-valor
1	63,3	65,8	75,0	0,004	58,5	49,3	53,6	0,048	55,0	49,5	50,0	
1a	24,6	31,6	21,7	0,013	31,2	29,8	17,9	0,018	38,9	31,2	31,8	
1b	38,2	33,5	52,4	<0,001	25,4	19,5	35,7	0,008	15,3	18,3	18,2	
2	3,6	2,6	2,8		3,8	1,8	6,0		3,8	0,0	0,0	
3	22,1	20,3	11,8	0,002	20,0	27,9	19,0	0,017	18,3	24,8	18,2	
4	10,8	11,3	9,9		17,7	21,0	21,4		22,9	25,7	31,8	
Total	390	266	212		260	272	84		131	109	22	

B. Distribución de factores de riesgo por área en cada grupo de coinfectados.

Factor de riesgo	No				VHB				VIH			
	AM	AC	AR	p-valor	AM	AC	AR	p-valor	AM	AC	AR	p-valor
Parenteral	82,8	85,7	84,0		89,6	91,2	82,1		98,5	99,1	86,4	
Nosocomial	40,0	27,8	53,3	<0,001	16,9	12,9	35,7	<0,001	3,8	1,8	0,0	
UDVP	41,8	56,0	30,2	<0,001	71,9	77,9	45,2	<0,001	94,7	97,2	86,4	
T/P	1,0	1,9	0,5		0,8	0,4	1,2		0,0	0,0	0,0	
Sexual	2,1	1,1	1,9		0,8	0,7	3,6		1,5	0,9	9,1	0,010
Vertical	0,3	0,8	0,0		0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	
Desc.	14,9	12,4	14,2		9,6	8,1	14,3		0,0	0,0	4,5	
Total	390	266	212		260	272	84		131	109	22	

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes. T/P (tatuaje/piercing), Desc. (desconocido). AM (área metropolitana). AC (área costera). AR (área rural). p-valor calculado entre AC y AR.

4.3 DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS Y FACTORES DE RIESGO POR EDADES EN EL ÁREA SANITARIA

Estudiamos la distribución de genotipos y factores de riesgo por edades, para ello dividimos la población según las recomendaciones del CDC³⁰⁴ en tres grupos: pacientes menores de 50 años, pacientes con edades comprendidas entre 50-69 años y pacientes mayores de 69 años.

4.3.1 Distribución de genotipos y factores de riesgo por edades en el total de la población

En el total de la población crónicamente infectada con el VHC residente en localidades del AS (1583 pacientes), la distribución de edades fue la siguiente: el 11,1% tenía >69 años, el 41,5% se encontraba entre 50-69 y el 47,4% eran <50 años. La distribución de genotipos en cada grupo de edad viene representada en la Tabla 14. Al comparar el grupo de >69 años y el de 50-69, se observó una disminución significativa en la prevalencia del subtipo 1b ($p<0,001$) y del genotipo 2 ($p<0,001$) y un aumento significativo del subtipo 1a ($p<0,001$) y de los genotipos 3 ($p<0,001$) y 4 ($p<0,001$). En el siguiente grupo (<50 años) solamente se observó esa tendencia en el subtipo 1b que siguió disminuyendo significativamente ($p<0,001$) y 1a que fue el único que siguió aumentando, haciéndolo también de forma significativa ($p<0,001$). El resto de genotipos disminuyó en este último periodo, siendo el genotipo 3 el que más lo hizo.

Con respecto a la evolución de los factores de riesgo asociados a la infección con el VHC, el factor de riesgo parenteral fue el principal factor asociado en todos los grupos de edad, con más del 80,0% de los casos, es en los dos principales tipos de transmisión parenteral donde se apreció un cambio de tendencia: el factor de riesgo nosocomial experimentó una disminución significativa a lo largo del tiempo ($p<0,001$), en favor de un aumento significativo de UDVP ($p<0,001$), haciendo que en pacientes menores de 70 años, el UDVP represente principal factor de riesgo (52,2% en pacientes entre 50-69 años y 71,6% en pacientes <50 años).

Tabla 14. Distribución de genotipos y factores de riesgo por edades en el total de la población.

A. Distribución de genotipos por edades en el AS.

Genotipo	>69 años	50-69 años	<50 años	p-valor
1	83,0	56,0	61,7	<0,001
1a	8,5	22,7	37,6	<0,001
1b	73,3	32,6	23,5	<0,001
2	8,0	3,2	2,0	<0,001
3	6,8	24,0	20,3	<0,001
4	1,7	16,7	15,9	<0,001
Total	176	657	750	

B. Distribución factores de riesgo por edades en el AS.

Factor de riesgo	>69 años	50-69 años	<50 años	p-valor
Parenteral	85,2	84,6	88,1	
Nosocomial	81,2	31,2	15,6	<0,001
UDVP	4,0	52,2	71,6	<0,001
T/P	0,0	1,2	0,9	
Sexual	0,6	1,5	1,6	
Vertical	0,0	0,0	0,4	
Desconocido	14,2	13,9	9,9	
Total	176	657	750	

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes. T/P (tatuaje/piercing). p-valor calculado entre >69 años y <50 años

4.3.2 Distribución de genotipos y factores de riesgo por edades en cada género

Analizamos si la distribución de genotipos y factores de riesgo dentro de cada grupo de edad, variaba en cada sexo:

En los 1147 hombres: el 8,1% tenía >69 años, el 42,3% se encontraba 50-69 años y el 49,6% eran <50 años. En las 436 mujeres: el 19,0% tenía >69 años, el 39,4% se encontraba entre 50-69 años y el 41,5% eran <50 años.

La distribución de genotipos en cada sexo dentro de los diferentes grupos de edad viene representada en la Tabla 15. El único grupo donde se observaron diferencias significativas en la distribución de genotipos entre sexos fue en los pacientes entre 50-69 años, donde el subtipo 1b fue significativamente más prevalente en mujeres ($p=0,008$) y el genotipo 3 lo fue en hombres ($p=0,043$).

Con respecto a la evolución de los factores de riesgo asociados a la infección con el VHC en cada género, el factor de riesgo parenteral fue el más prevalente en todos los grupos de edad en ambos sexos con más del 83,0% de los casos, se apreciaron diferencias significativas en los pacientes con edades comprendidas entre 50-69 años y también en <50 años, estando el factor de riesgo nosocomial significativamente más asociado con el sexo femenino ($p<0,001$) y UDVP con el sexo masculino ($p<0,001$).

Tabla 15. Distribución de genotipos y factores de riesgo por edades en cada género.

A. Distribución de genotipos por edades en hombres y mujeres.

Genotipo	>69 años			50-69 años			<50 años		
	H	M	p-valor	H	M	p-valor	H	M	p-valor
1	80,6	85,5		54,0	61,6		61,7	61,9	
1a	8,6	8,4		23,3	20,9		39,4	32,0	
1b	72,0	74,7		29,7	40,7	0,008	21,8	28,7	
2	7,5	8,4		2,5	5,2		2,1	1,7	
3	8,6	4,8		25,6	19,8	0,043	20,7	18,8	
4	2,2	1,2		17,9	13,4		15,5	17,1	
Total	93	83		485	172		569	181	

B. Distribución de factores de riesgo por edades en hombres y mujeres.

Factor de riesgo	>69 años			50-69 años			<50 años		
	H	M	p-valor	H	M	p-valor	H	M	p-valor
Parenteral	84,9	85,5		85,1	83,1		89,4	84,0	
Nosocomial	80,6	81,9		23,5	52,9	<0,001	11,2	29,3	<0,001
UDVP	4,3	3,6		60,0	30,2	<0,001	77,5	53,0	<0,001
T/P	0,0	0,0		1,6	0,0		0,7	1,7	
Sexual	1,1	0,0		1,0	2,9		1,2	2,8	
Vertical	0,0	0,0		0,0	0,0		0,4	0,6	
Desconocido	14,0	14,5		13,8	14,0		9,0	12,7	
Total	93	83		485	172		569	181	

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes. T/P (tatuaje/piercing).

4.3.3 Distribución de genotipos y factores de riesgo por edades en cada área

Analizamos si la distribución de genotipos y factores de riesgo dentro de cada grupo de edad variaba geográficamente:

En los 709 pacientes del AM el 10,7% tenía >69 años, el 46,0% se encontraba entre 50-69 años y el 43,3% eran <50 años. En los 566 pacientes del AC el 7,1% tenía >69 años, el 39,6% se encontraba entre 50-69 años y el 53,4% eran <50 años, siendo esta la zona con mayor porcentaje de infectados crónicos jóvenes. En los 308 pacientes del AR el 19,5% tenía >69 años, el 34,7% se encontraba entre 50-69 años y el 45,8% eran <50 años.

La distribución de genotipos en cada área y grupo de edad viene representada en la Tabla 16. En pacientes >69 años solamente se observaron diferencias significativas en la distribución de genotipos en el AC, donde el subtipo 1b ($p=0,010$) fue significativamente menos prevalente que en el resto de áreas, observándose esto también en el siguiente grupo de edad (50-69 años) con un $p=0,003$, grupo en el que además el genotipo 3 fue significativamente más prevalente ($p=0,004$), en <50 años no se observaron diferencias significativas en las distintas áreas al igual que ocurría al comparar la distribución entre sexos.

Con respecto a la evolución de los factores de riesgo asociados a la infección con el VHC en cada región: el factor de riesgo parenteral fue el que más asociado en todas las áreas y en cualquier grupo de edad con más del 80,0% de los casos, las diferencias significativas se apreciaron en pacientes con edades comprendidas entre 50-69 años y en

<50 años, observando como el factor de riesgo nosocomial estuvo significativamente más asociado con el AR ($p<0,001$) y el UDVP con el AM y AC ($p<0,001$).

Tabla 16. Distribución de genotipos y factores de riesgo por edades en cada área.

A. Distribución de genotipos por edades en las diferentes áreas.

Genotipo	>69 años %				50-69 años %				<50 años %			
	AM	AC	AR	p-valor	AM	AC	AR	p-valor	AM	AC	AR	p-valor
1	82,9	75,0	88,3		57,7	50,0	63,6		60,6	61,3	65,2	
1a	9,2	10,0	6,7		23,6	23,2	18,7		38,8	39,7	30,5	
1b	71,1	65,0	81,7	0,010	33,1	25,9	44,9	0,003	20,8	21,5	33,3	
2	5,3	15,0	6,7		4,6	1,3	2,8		2,3	1,0	3,5	
3	9,2	7,5	3,3		21,8	30,8	16,8	0,004	21,5	21,2	15,6	
4	2,6	2,5	0,0		16,0	17,9	16,8		15,3	16,6	15,6	
Total	76	40	60		326	224	107		307	302	141	

B. Distribución de factores de riesgo por edades en las diferentes áreas.

Factor riesgo	>69 años %				50-69 años %				<50 años %			
	AM	AC	AR	p-valor	AM	AC	AR	p-valor	AM	AC	AR	p-valor
Parent.	88,2	80,0	85,0		83,1	88,0	82,2		87,6	91,1	83,0	
Nosoc.	81,6	77,5	83,3		31,9	21,9	48,6	<0,001	14,3	10,3	29,8	<0,001
UDVP	6,6	2,5	1,7		50,3	64,3	32,7	<0,001	72,0	80,1	52,5	<0,001
T/P	0,0	0,0	0,0		0,9	1,8	0,9		1,3	0,7	0,7	
Sex.	0,0	0,0	1,7		1,5	1,3	1,9		2,0	0,7	2,8	
Vert.	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0		0,3	0,7	0,0	
Desc.	11,8	14,5	13,3		15,3	10,7	15,9		10,1	7,6	14,2	
Total	76	40	60		326	224	107		307	302	141	

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Parent. (parenteral), Nosoc. (nosocomial), T/P (tatuaje/piercing), Sex. (sexual), Vert. (vertical) y desc. (desconocido). Valores representados en porcentajes. p -valor calculado entre AC y AR.

4.3.4 Distribución de genotipos y factores de riesgo por edades en los diferentes grupos de coinfectados

Analizamos si la distribución de genotipos y factores de riesgo dentro de cada rango de edad, variaba en los distintos grupos de coinfectados con el VHB y con el VIH:

En los 868 pacientes no coinfectados: el 13,6% tenía >69 años, el 36,9% se encontraba 50-69 años y el 49,5% eran <50 años. En los 616 pacientes coinfectados con el VHB: el 8,6% tenía >69 años, el 48,5% se encontraba entre 50-69 años y el 42,9% eran <50 años, siendo el único grupo donde el mayor número de coinfectados se encontraba en individuos con edades comprendidas entre 50-69 años. En los 262 pacientes coinfectados con el VIH: el 0,4% tenía >69 años, el 47,7% se encontraba entre 50-69 años y el 51,9% eran <50 años.

La distribución de genotipos observada en cada área y grupo de edad viene representada en la Tabla 17.

En pacientes >69 años solamente se observó un caso de coinfección con el VIH, en este mismo grupo de edad no se apreciaron diferencias significativas en la distribución de genotipos entre no coinfectados y coinfectados con el VHB. Las diferencias significativas observadas en la distribución de genotipos entre los grupos de coinfectados se observan por primera vez en pacientes con edades comprendidas entre 50-69 años, donde el subtipo 1a ($p<0,036$) y el genotipo 4 ($p<0,001$) fueron significativamente más prevalentes en pacientes coinfectados con el VIH y el subtipo 1b lo fue en los no coinfectados ($p<0,001$). En <50 años solamente el genotipo 4 ($p<0,001$) fue significativamente más prevalente en coinfectados con el VIH, inesperadamente el subtipo 1a ya no se relacionaba con la coinfección con el VIH en este grupo de edad, mientras que el subtipo 1b siguió siendo significativamente más prevalente en no coinfectados ($p<0,001$).

Con respecto a la evolución temporal de los factores de riesgo asociados a la infección con el VHC en cada grupo de coinfectados, el principal factor de riesgo en cualquier grupo de edad fue el parenteral, estando en todos ellos por encima del 80,0% de los casos. Se apreciaron diferencias significativas entre grupos de coinfección en la población con edades comprendidas entre 50-69 años y también en los <50 años, estando el factor de riesgo nosocomial significativamente más asociado con los no coinfectados ($p<0,001$) y el UDVP con la coinfección con el VHB y con el VIH ($p<0,001$). El factor de riesgo desconocido en >69 años estuvo asociado de forma significativa con la coinfección con el VHB ($p<0,001$) y en <69 años con la no coinfección ($p<0,001$).

Tabla 17. Distribución de genotipos y factores de riesgo por edades en los diferentes grupos de coinfectados.

A. Distribución de genotipos por edades en los diferentes grupos de coinfectados.

Geno	>69 años				50-69 años				<50 años			
	No	VHB	VIH	p-valor	No	VHB	VIH	p-valor	No	VHB	VIH	p-valor
1	84,7	81,1	100		61,6	48,5	48,8	<0,001	66,0	54,2	55,1	0,001
1a	6,8	11,3	100		19,4	22,7	29,6	0,036	36,3	39,0	39,7	
1b	77,1	67,9	0		41,6	25,1	19,2	<0,001	29,1	14,4	14,7	<0,001
2	5,9	11,3	0,0		2,8	3,3	3,2		2,6	1,5	0,7	
3	7,6	5,7	0,0		22,8	27,1	22,4		19,3	22,7	19,9	
4	0,8	1,9	0,0		12,8	21,1	25,6	0,001	11,9	21,6	24,3	<0,001
Total	118	53	1		320	299	125		430	264	136	

B. Distribución factores de riesgo por edades en los diferentes grupos de coinfectados

Factor riesgo	>69 años				50-69 años				<50 años			
	No	VHB	VIH	p-valor	No	VHB	VIH	p-valor	No	VHB	VIH	p-valor
Parent.	89,0	81,1	0,0		80,6	88,0	99,2		85,1	92,4	97,1	
Nosoc.	83,9	79,2	0,0		44,7	18,1	3,2	<0,001	23,5	4,9	2,2	<0,001
UDVP	5,1	1,9	0,0		34,7	68,9	96,0	<0,001	60,2	87,1	94,9	<0,001
T/P	0,0	0,0	0,0		1,2	1,0	0,0		1,4	0,4	0,0	
Sex.	0,0	1,9	100		1,9	1,3	0,8		2,1	0,8	2,2	
Vert.	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0		0,7	0,0	0,0	
Desc.	11,0	17,0	0,0	<0,001	17,5	10,7	0,0	<0,001	12,1	6,8	0,7	<0,001
Total	118	53	1		320	299	125		430	264	136	

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Parent. (parenteral), Nosoc. (nosocomial), T/P (tatuaje/piercing), Sex. (sexual), Vert. (vertical) y desc. (desconocido). Valores representados en porcentajes. p-valor calculado entre no coinfectados y coinfectados.

4.4 DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS EN LA POBLACIÓN VIRÉMICA CIRCULANTE

La distribución de genotipos en el total de la población crónicamente infectada comentada en apartados anteriores incluye pacientes curados y fallecidos, por lo que epidemiológicamente puede ser más interesante conocer la distribución de genotipos en la población viva actualmente infectada (bien por no haber recibido tratamiento o por no haber respondido a las diferentes terapias) y cuyos individuos son el reservorio para los nuevos casos de infección (Tablas 18 y 19). Por ello consideramos su cálculo importante ya que tendrá consecuencias en la futura distribución de genotipos.

El 51,5% de la población de infectados crónicos de hepatitis C del AS seguía presentando CV detectable a 31 de diciembre de 2015.

Tabla 18. Comparación entre la distribución de genotipos en el total de pacientes diagnosticados de infección crónica por el VHC en el AS y la distribución de genotipos en la población virémica circulante.

Geno.	Total	Con CV detectable	p-valor
1	61,7	66,8	
1a	28,2	32,7	
1b	32,8	33,1	
2	3,2	2,1	
3	20,3	14,7	<0,001
4	14,7	16,2	
Total	1583	816	

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes. CV detectable: carga viral detectable.

Tabla 19. Comparación entre la distribución de genotipos en el total de pacientes diagnosticados de infección crónica por el VHC en cada área y la distribución de genotipos en la población virémica circulante.

Geno.	AM total	AM con CV detectable	p-valor	AC total	AC con CV detectable	p-valor	AR total	AR con CV detectable	p-valor
1	61,6	69,0		57,8	61,0		69,2	71,9	
1a	28,6	33,5		31,1	35,5		21,8	26,3	
1b	31,9	34,1		26,3	25,1		46,8	44,4	
2	3,7	1,7		2,1	1,7		3,9	3,5	
3	20,3	12,6	0,002	24,0	19,5		13,6	11,1	
4	14,2	16,5		16,1	17,8		13,0	12,9	
Total	709	358		566	287		308	171	

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes. CV detectable: carga viral detectable.

Se observa como el genotipo 3 disminuye significativamente en todo el AS, ocurriendo dicho descenso en las tres regiones que la componen.

4.5 PREVALENCIA DE INFECTADOS CRÓNICOS

La prevalencia de infectados crónicos por cada mil habitantes en el AS, en sus distintas zonas y en cada localidad aparece representada en la Tablas 20, 21, 22 y 23; y en la Figura 9.

4.5.1 Prevalencia de infectados crónicos en cada área

La prevalencia de infectados crónicos en el AS fue del 3,45%. Con respecto a las diferentes zonas que la componen, fue el AC donde se observó una significativa ($p < 0,001$) mayor prevalencia de infectados crónicos (4,97%), seguida de AM (3,86%) y AR (1,91%). El AC fue la única donde se pudo observar una mayor prevalencia de población coinfectada con el VHB (2,40%) y con el VIH (0,95%) estando por tanto, 2/3 partes de sus infectados crónicos de hepatitis C coinfectados con uno o ambos virus. En todas las localidades del AS residían pacientes infectados crónicos por el VHC.

Tabla 20. Prevalencia de infectados crónicos por cada mil habitantes en el AM, AC, AR y AS total.

Áreas	Población censada	Cró. total	Prev. total	Cró. no coinf.	Prev. no coinf.	Cró. coinf. VHB	Prev. coinf. VHB	Cró. coinf. VIH	Prev. coinf. VIH
AM	183.425	709	3,86	390	2,12	260	1,41	131	0,71
AC	113.867	566	4,97	266	2,33	272	2,40	109	0,95
AR	160.834	308	1,91	212	1,32	84	0,52	22	0,14
AS	458.126	1.583	3,45	868	1,90	616	1,34	262	0,57

AM: área metropolitana, AC: área costera, AR: área rural, AS: área sanitaria total. Tasa de prevalencia calculada por cada 1000 habitantes. Datos de población obtenidos a través del Instituto Galego de Estadística. Estructura organizativa del área sanitaria obtenida a partir del Decreto 168/2010, de 7 de octubre, por el que se regula la estructura organizativa de gestión integrada del servicio gallego de salud (DOG del 15), anexo II.³⁸⁷ Cró. total (pacientes crónicos totales), Cró. no coinf. (pacientes crónicos no coinfectados), Cró. coinf. VHB (pacientes crónicos coinfectados con VHB), Cró. coinf. VIH (pacientes crónicos coinfectados con VIH), Prev. total (prevalencia calculada para el total de pacientes crónicos) Prev. no coinf. (prevalencia calculada para pacientes crónicos no coinfectados), Prev. coinf. VHB (prevalencia calculada para pacientes crónicos coinfectados con VHB), Prev. coinf. VIH (prevalencia calculada para pacientes crónicos coinfectados con VIH). Valores representados en porcentajes.

4.5.2 Prevalencia de infectados crónicos en cada localidad del AM

Santiago de Compostela fue la localidad del AM con una mayor prevalencia de infectados crónicos (5,01%), seguida de Teo (4,11%) y Ames (3,33%). Las localidades del AM más alejadas o peor comunicadas con Santiago de Compostela tuvieron una significativa menor prevalencia ($p < 0,001$), siendo similar a la observada en las localidades del AR.

Tabla 21. Prevalencia de infectados crónicos por cada mil habitantes en cada una de las localidades del AM.

Localidades	Población censada	Cró. total	Prev. total	Cró. no coinf.	Prev. no coinf.	Cró. coinf. VHB	Prev. coinf. VHB	Cró. coinf. VIH	Prev. coinf. VIH
Ames	29.106	97	3,33	53	1,82	36	1,24	15	0,51
Boqueixón	4.411	1	0,22	1	0,22	0	0	0	0
Brión	7.373	17	2,30	9	1,22	8	1,10	1	0,13
Oroso	7.269	18	2,47	8	1,10	8	1,10	8	1,10
O Pino	4.711	4	0,84	2	0,42	1	0,21	1	0,21
Santiago	95.397	478	5,01	265	2,77	177	1,86	90	0,94
Teo	18.472	76	4,11	40	2,16	26	1,41	14	0,76
Touro	4.028	7	1,73	4	0,99	1	0,25	2	0,50
Trazo	3.407	2	0,58	1	0,29	1	0,29	0	0
Val do Dubra	4.221	3	0,71	2	0,47	1	0,24	0	0
Vedra	5.030	5	1,00	4	0,79	1	0,20	0	0

Tasa de prevalencia calculada por cada 1000 habitantes. Datos de población obtenidos a través del Instituto Galego de Estadística.³⁸⁸ Estructura organizativa del área sanitaria obtenida a partir del Decreto 168/2010, de 7 de octubre, por el que se regula la estructura organizativa de gestión integrada del servicio gallego de salud (DOG del 15), anexo II.³⁸⁷ Cró. total (pacientes crónicos totales), Cró. no coinf. (pacientes crónicos no coinfectados), Cró. coinf. VHB (pacientes crónicos coinfectados con VHB), Cró. coinf. VIH (pacientes crónicos coinfectados con VIH), Prev. total (prevalencia calculada para el total de pacientes crónicos) Prev. no coinf. (prevalencia calculada para pacientes crónicos no coinfectados), Prev. coinf. VHB (prevalencia calculada para pacientes crónicos coinfectados con VHB), Prev. coinf. VIH (prevalencia calculada para pacientes crónicos coinfectados con VIH). Valores representados en porcentajes.

4.5.3 Prevalencia de infectados crónicos en cada localidad del AC

En el AC se encontraron las localidades con mayor prevalencia de infectados crónicos de todo el AS: A Pobra do Caramiñal (8,71‰), Ribeira (6,81‰) y Noia (6,17‰). Por otro lado, A Pobra do Caramiñal fue la localidad del AS con la de mayor prevalencia de coinfectados con el VIH (2,08‰).

Tabla 22. Prevalencia de infectados crónicos por cada mil habitantes en cada una de las localidades del AC.

Localidades	Población censada	Cró. total	Prev. total	Cró. no coinf.	Prev. no coinf.	Cró. coinf. VHB	Prev. coinf. VHB	Cró. coinf. VIH	Prev. coinf. VIH
Boiro	19.088	66	3,45	37	1,94	25	1,31	13	0,68
Carnota	4.626	11	2,37	9	1,95	2	0,43	0	0
A Pobra do Caramiñal	9.637	84	8,71	25	2,59	53	5,50	20	2,08
Muros	9.445	41	4,34	18	1,91	21	2,22	5	0,53
Noia	14.751	91	6,17	42	2,85	47	3,20	16	1,10
Outes	7.177	12	1,67	9	1,25	1	0,14	1	0,14
Porto do Son	9.695	29	3,00	16	1,65	10	1,03	4	0,41
Rianxo	11.706	43	3,67	23	1,96	20	1,71	5	0,42
Ribeira	27.742	189	6,81	87	3,14	93	3,35	45	1,62

Tasa de prevalencia calculada por cada 1000 habitantes. Datos de población obtenidos a través del Instituto Galego de Estadística³⁸⁸. Estructura organizativa del área sanitaria obtenida a partir del Decreto 168/2010, de 7 de octubre, por el que se regula la estructura organizativa de gestión integrada del servicio gallego de salud (DOG del 15), anexo II.³⁸⁷ Cró. total (pacientes crónicos totales), Cró. no coinf. (pacientes crónicos no coinfectados), Cró. coinf. VHB (pacientes crónicos coinfectados con VHB), Cró. coinf. VIH (pacientes crónicos coinfectados con VIH), Prev. total (prevalencia calculada para el total de pacientes crónicos) Prev. no coinf. (prevalencia calculada para pacientes crónicos no coinfectados), Prev. coinf. VHB (prevalencia calculada para pacientes crónicos coinfectados con VHB), Prev. coinf. VIH (prevalencia calculada para pacientes crónicos coinfectados con VIH). Valores representados en porcentajes.

4.5.4 Prevalencia de infectados crónicos en cada localidad del AR

En el AR se encontraron las localidades con menor prevalencia de infectados crónicos de todo el AS. Aquellas situadas entre el AC y Santiago de Compostela, fueron las que registraron una mayor prevalencia, siendo en Pontecesures y en Dodro del 5,10‰ y 4,35‰ respectivamente. Las localidades más alejadas de importantes centros urbanos presentaron la menor prevalencia. Por otro lado, Dodro fue la localidad con la mayor prevalencia de infectados crónicos coinfectados con VHB de todo el AS (3,35‰).

Tabla 23. Prevalencia de infectados crónicos por cada mil habitantes en cada una de las localidades del AR.

Localidades	Población censada	Cró. total	Prev. total	Cró. no coinf.	Prev. no coinf.	Cró. coinf. VHB	Prev. coinf. VHB	Cró. coinf. VIH	Prev. coinf. VIH
A Baña	3.972	5	1,25	4	1,01	1	0,25	0	0
A Estrada	21.626	44	2,03	31	1,43	12	5,55	2	0,09
A Golada	2.773	5	1,80	4	1,44	1	0,36	0	0
Arzúa	6.304	14	2,22	5	0,79	8	1,27	1	0,16
Boimorto	2.199	2	0,90	2	0,91	0	0	0	0
Dodro	2.987	13	4,35	10	3,35	2	0,67	0	0
Dozón	1.271	2	1,57	2	1,57	0	0	0	0
Frades	2.578	5	1,93	4	1,55	1	0,78	0	0
Lalín	20.326	52	2,55	36	1,77	16	0,79	4	0,20
Lousame	3.634	6	1,65	4	1,10	2	0,55	0	0
Mazaricos	4.558	5	1,09	3	0,66	1	0,22	1	0,22
Melide	7.466	12	1,60	6	0,80	5	0,67	2	0,27
Mesía	2.874	1	0,34	1	0,34	0	0	0	0
Negreira	7.074	4	0,56	2	0,28	2	0,28	0	0
Ordes	12.945	29	2,24	23	0,77	6	0,46	1	0,08
Padrón	8.904	29	3,25	20	2,25	9	1,01	2	0,22
Pontecesures	3.132	16	5,10	9	2,87	4	1,28	3	0,96
Rois	4.876	6	1,23	5	1,02	0	0	1	0,21
Rodeiro	2.920	2	0,68	2	0,68	0	0	0	0
Santa Comba	10.076	9	0,89	4	0,40	5	0,50	2	0,20
Santiso	1.847	1	0,54	1	0,54	0	0	0	0
Silleda	9.108	21	2,30	16	1,76	4	0,44	1	0,11
Toques	1.309	2	1,52	0	0	1	0,76	1	0,76
Tordoia	3.951	2	0,50	1	0,25	0	0	1	0,25
Valga	6.051	12	1,98	9	1,49	3	0,50	0	0
Vila de Cruces	6.073	9	1,48	8	1,32	1	0,16	0	0

Tasa de prevalencia calculada por cada 1000 habitantes. Datos de población obtenidos a través del Instituto Galego de Estadística³⁸⁸. Estructura organizativa del área sanitaria obtenida a partir del Decreto 168/2010, de 7 de octubre, por el que se regula la estructura organizativa de gestión integrada del servicio gallego de salud (DOG del 15), anexo II.³⁸⁷ Cró. total (pacientes crónicos totales), Cró. no coinf. (pacientes crónicos no coinfectados), Cró. coinf. VHB (pacientes crónicos coinfectados con VHB), Cró. coinf. VIH (pacientes crónicos coinfectados con VIH), Prev. total (prevalencia calculada para el total de pacientes crónicos) Prev. no coinf. (prevalencia calculada para pacientes crónicos no coinfectados), Prev. coinf. VHB (prevalencia calculada para pacientes crónicos coinfectados con VHB), Prev. coinf. VIH (prevalencia calculada para pacientes crónicos coinfectados con VIH). Valores representados en porcentajes.

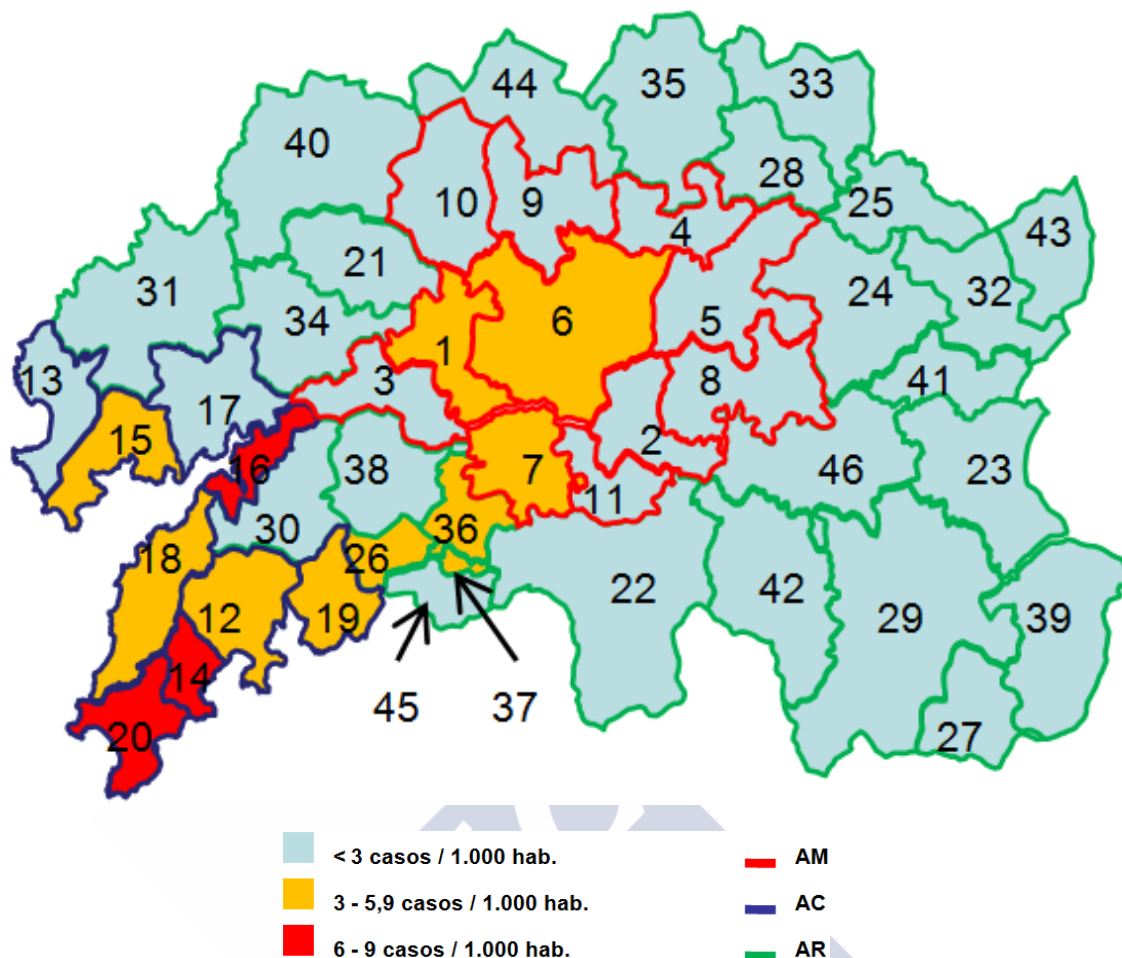


Figura 9. Prevalencia de infectados crónicos totales por VHC en el AS.

En líneas rojas aparecen englobados los municipios pertenecientes al AM: 1 Ames, 2 Boqueixón, 3 Brión, 4 Oroso, 5 O Pino, 6 Santiago de Compostela, 7 Teo, 8 Touro, 9 Trazo, 10 Val do Dubra y 11 Vedra. En líneas azules los municipios pertenecientes al AC: 12 Boiro, 13 Carnota, 14 A Pobra do Caramiñal, 15 Muros, 16 Noia, 17 Outes, 18 Porto do Son, 19 Rianxo y 20 Ribeira. En líneas verdes los municipios pertenecientes al AR: 21 A Baña, 22 A Estrada, 23 A Golada, 24 Arzúa, 25 Boimorto, 26 Dodro, 27 Dozón, 28 Frades, 29 Lalín, 30 Lousame, 31 Mazaricos, 32 Melide, 33 Mesía, 34 Negreira, 35 Ordes, 36 Padrón, 37 Pontecesures, 38 Rois, 39 Rodeiro, 40 Santa Comba, 41 Santiso, 42 Silleda, 43 Toques, 44 Tordoia, 45 Valga y 46 Vila de Cruces. Tasa de prevalencia calculada por cada 1000 habitantes. En fondo celeste aquellos municipios donde la prevalencia de infectados crónicos de VHC es menor de 3 casos por 1.000 habitantes. En fondo amarillo aquellos donde la prevalencia de infectados crónicos de VHC se encuentra entre 3 y 5,9. En fondo fucsia aquellos donde la prevalencia de infectados crónicos de VHC se encuentra entre 6 y 8,9. Datos de población obtenidos a través del Instituto Galego de Estadística³⁸⁸. Estructura organizativa del área sanitaria obtenida a partir del Decreto 168/2010, de 7 de octubre, por el que se regula la estructura organizativa de gestión integrada del servicio gallego de salud (DOG del 15), anexo II.³⁸⁷

4.6 ASOCIACIÓN DE LOS DIFERENTES GENOTIPOS CON LA PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD

4.6.1 Asociación de los diferentes genotipos con la progresión a cirrosis

De los 1569 pacientes donde se pudo conocer su estadio hepático. Un 22,5% se encontraba en cirrosis, apreciándose una mayor asociación con el sexo masculino y de forma significativa con la edad avanzada y el consumo excesivo de alcohol (Tabla 24).

La distribución de genotipos observada en estos pacientes fue la siguiente: el genotipo 1 fue el más prevalente (68,8%), donde el subtipo 1b representó el 47,0% y el 1a el 21,2%, le siguió el genotipo 3 (17,3%), el genotipo 4 (11,6%) y el genotipo 2 (2,3%).

Para ver si esta distribución se debía a una mayor asociación del subtipo 1b con dicha progresión o era ocasionada por la influencia de los otros factores, solamente escogimos a aquellos pacientes donde se conocía el periodo de tiempo transcurrido desde la primoinfección (415) y dividimos la población por tiempo transcurrido de infección (10-19 años, 20 a 29 años y tras >29 años), sexo y consumo de alcohol. En las Tablas 25 a 27 se observa cómo no existen diferencias significativas entre los diferentes genotipos en cada grupo.

Tabla 24. Progresión a cirrosis por edad, sexo y consumo de alcohol en el total de pacientes donde se conocía su estadio hepático.

	Edad (años)				Sexo			Consumo de alcohol		
	>69	50-69	<50	p-valor	H	M	p-valor	No exceso	Exceso	p-valor
F4	48,5	26,2	11,5	<0,001	23,5	19,8	0,133	20,2	33,5	<0,001
Total	198	676	695		1320	495		1021	384	

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes. En la variable Edad p-valor calculado entre >69 años y <50 años

4.6.1.1 Tras 10-19 años de infección.

Tabla 25. Asociación de cada genotipo con la progresión a cirrosis entre 10 y 19 años de infección crónica en pacientes no alcohólicos.

1) En pacientes no alcohólicos.

A. Total.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	51,6	40,0	62,5	100	87,5	57,1	59,6
F2	32,3	46,7	18,8	0,0	0,0	0,0	21,3
F3	9,7	13,3	6,2	0,0	0,0	14,3	8,5
F4	6,5	0,0	12,5	0,0	12,5	28,6	10,6
Total	31	15	16	1	8	7	47

B. Hombres.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	50,0	36,4	63,6	100	100	60,0	60,6
F2	31,8	45,5	18,2	0,0	0,0	0,0	21,2
F3	13,6	18,2	9,1	0,0	0,0	20,0	12,1
F4	4,5	0,0	9,1	0,0	0,0	20,0	6,1
Total	22	11	11	1	5	5	33

C. Mujeres.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	55,6	50,0	60,0	-	66,7	50,0	57,1
F2	33,3	50,0	20,0	-	0,0	0,0	21,4
F3	0,0	0,0	0,0	-	0,0	0,0	0,0
F4	11,1	0,0	20,0	-	33,3	50,0	21,4
Total	9	4	5	0	3	2	14

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes.

2) En pacientes alcohólicos.

A. Total.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	20,0	50,0	0,0	-	33,3	50,0	33,3
F2	60,0	50,0	66,7	-	33,3	50,0	46,7
F3	20,0	0,0	33,3	-	0,0	0,0	6,7
F4	0,0	0,0	0,0	-	33,3	0,0	13,3
Total	5	2	3	0	6	4	15

B. Hombres.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	20,0	50,0	0,0	-	40,0	33,3	30,8
F2	60,0	50,0	66,7	-	20,0	66,7	46,2
F3	20,0	0,0	33,3	-	0,0	0,0	7,7
F4	0,0	0,0	0,0	-	40,0	0,0	15,4
Total	5	2	3	-	5	3	13

C. Mujeres.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	-	-	-	-	0,0	100	50,0
F2	-	-	-	-	100	0,0	50,0
F3	-	-	-	-	0,0	0,0	0,0
F4	-	-	-	-	0,0	0,0	0,0
Total	0	0	0	0	1	1	2

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes.

4.6.1.2 Tras 20-29 años de infección

Tabla 26. Asociación de cada genotipo con la progresión a cirrosis e 20 a 29 años de infección crónica.

1) En pacientes no alcohólicos.

A. Total.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	49,3	58,1	41,2	100	46,2	50,0	50,0
F2	10,4	9,7	11,8	0,0	15,4	21,4	12,5
F3	22,4	16,1	26,5	0,0	15,4	21,4	20,8
F4	17,9	16,1	20,6	0,0	23,1	7,1	16,7
Total	67	31	34	2	13	14	96

B. Hombres.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	41,0	47,6	35,3	-	40,0	37,5	40,4
F2	12,8	14,3	11,8	-	20,0	25,0	15,8
F3	25,6	19,0	29,4	-	20,0	25,0	24,6
F4	20,5	19,0	23,5	-	20,0	12,5	19,3
Total	39	21	17	0	10	8	57

C. Mujeres.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	60,7	80,0	47,1	100	66,7	66,7	64,1
F2	7,1	0,0	11,8	0,0	0,0	16,7	7,7
F3	17,9	10,0	23,5	0,0	0,0	16,7	15,4
F4	14,3	10,0	17,6	0,0	33,3	0,0	12,8
Total	28	10	17	2	3	6	39

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes.

2) En pacientes alcohólicos.

A. Total.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	35,5	36,4	33,3	-	14,3	40,0	32,6
F2	19,4	27,3	0,0	-	28,6	20,0	20,9
F3	9,7	4,5	22,2	-	14,3	0,0	9,3
F4	35,5	31,8	44,4	-	42,9	40,0	37,2
Total	31	22	9	0	7	5	43

B. Hombres.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	40,7	42,1	37,5	-	16,7	50,0	37,8
F2	18,5	26,3	0,0	-	16,7	25,0	18,9
F3	11,1	5,3	25,0	-	16,7	0,0	10,8
F4	29,6	26,3	37,5	-	50,0	25,0	32,4
Total	27	19	8	0	6	4	37

C. Mujeres.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	0,0	0,0	0,0	-	0,0	0,0	0,0
F2	25,0	33,3	0,0	-	100	0,0	33,3
F3	0,0	0,0	0,0	-	0,0	0,0	0,0
F4	75,0	66,7	100	-	0,0	100	66,7
Total	4	3	1	0	1	1	6

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes.

4.6.1.3 Tras más de 29 años de infección

Tabla 27. Asociación de cada genotipo con la progresión a cirrosis tras más de 29 años de infección crónica.

1) En pacientes no alcohólicos.

A. Total.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	41,8	42,1	41,7	16,7	23,1	12,5	36,4
F2	13,9	26,3	10,0	16,7	15,4	25,0	15,0
F3	13,9	10,5	15,0	16,7	23,1	12,5	15,0
F4	30,4	21,1	33,3	50,0	38,5	50,0	33,6
Total	79	19	60	6	13	8	107

B. Hombres.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	37,8	27,3	42,3	0,0	37,5	20,0	36,5
F2	13,5	27,3	7,7	0,0	12,5	20,0	13,5
F3	16,2	18,2	15,4	0,0	12,5	20,0	15,4
F4	32,4	27,3	34,6	100	37,5	40,0	34,6
Total	37	11	26	1	8	5	52

C. Mujeres.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	45,2	62,5	41,2	20,0	0,0	0,0	36,4
F2	14,3	25,0	11,8	20,0	20,0	33,3	16,4
F3	11,9	0,0	14,7	20,0	40,0	0,0	14,5
F4	28,6	12,5	32,4	40,0	40,0	66,7	32,7
Total	42	8	34	5	5	3	55

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes.

2) En pacientes alcohólicos.

A. Total.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	21,7	36,4	8,3	-	41,7	37,5	30,2
F2	13,0	9,1	16,7	-	25,0	25,0	18,6
F3	13,0	9,1	16,7	-	16,7	37,5	18,6
F4	52,2	45,5	58,3	-	16,7	0,0	32,6
Total	23	11	12	0	12	8	43

B. Hombres.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	14,3	30,0	0,0	-	45,5	37,5	27,5
F2	14,3	10,0	18,2	-	27,3	25,0	20,0
F3	14,3	10,0	18,2	-	18,2	37,5	20,0
F4	57,1	50,0	63,6	-	9,1	0,0	32,5
Total	21	10	11	0	11	8	40

C. Mujeres.

Estadio	1	1a	1b	2	3	4	Total
F0,1	100	100	100	-	0,0	-	66,7
F2	0,0	0,0	0,0	-	0,0	-	0,0
F3	0,0	0,0	0,0	-	0,0	-	0,0
F4	0,0	0,0	0,0	-	100	-	33,3
Total	2	1	1	0	1	0	3

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes.

4.6.2 Asociación de los diferentes genotipos con el desarrollo de carcinoma hepatocelular

De los 1569 pacientes donde se pudo conocer su estadio hepático observamos una mayor asociación con el sexo masculino y de forma significativa de la edad avanzada y el consumo excesivo de alcohol con el desarrollo de CHC (Tabla 28). Un total de 96 pacientes (6,1%) fueron diagnosticados de CHC, donde el 91,6% se encontraban en F4, un 6,3% en F3 y un 2,1% en F1-F2.

La distribución de genotipos en estos pacientes fue la siguiente: el genotipo 1 era el más prevalente (81,3%), donde el subtipo 1b representó el 72,9% y el 1a el 7,3%, le siguió el genotipo 3 (13,5%), el genotipo 4 (5,2%) y no se observó ningún caso en pacientes infectados con el genotipo 2.

Para ver si dicha distribución se debía a una mayor asociación del subtipo 1b con el desarrollo de CHC o era ocasionada por la influencia de los otros factores, dividimos la población por tiempo transcurrido de infección (10-19 años, 20 a 29 años y tras >29 años), sexo y consumo de alcohol. En las Tablas 29 a 31 se puede observar como existe una asociación significativa ($p < 0,001$) del subtipo 1b con el desarrollo de CHC, favorecida por el tiempo de infección transcurrido, el sexo masculino y el consumo excesivo de alcohol.

Tabla 28. Desarrollo de CHC por edad, sexo y consumo de alcohol en el total de la población donde se conocía su estadio hepático.

	Edad (años)				Sexo			Consumo de alcohol		
	>69	50-69	<50	<i>p</i> -valor	H	M	<i>p</i> -valor	No exceso	Exceso	<i>p</i> -valor
CHC	24,9	6,7	0,3	<0,001	6,8	4,4	0,062	5,5	8,2	0,083
Total	167	675	695		1139	428		922	342	

Valores representados en porcentajes. En la variable Edad *p*-valor calculado entre >69 años y <50 años

4.6.2.1 Tras 10-19 años de infección crónica

Tabla 29. Asociación de cada genotipo con la aparición de CHC tras 10 a 19 años de infección crónica en F3 y F4

1) En pacientes no alcohólicos.

A. Total.

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	0,0	0,0	0,0	-	0,0	0,0	0,0
Total	5	2	3	0	1	3	9

B. Hombres.

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	0,0	0,0	0,0	-	-	0,0	0,0
Total	4	2	2	0	0	2	6

C. Mujeres.

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	0,0	-	0,0	-	0,0	0,0	0,0
Total	1	0	1	0	1	1	3

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes.

2) En pacientes alcohólicos.

A. Total.

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Total	1	0	1	0	2	0	3

B. Hombres.

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	0,0	-	0,0	-	0,0	-	0,0
Total	1	0	1	0	2	0	3

C. Mujeres.

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	-	-	-	-	-	-	-
Total	0	0	0	0	0	0	0

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes.

4.6.2.2 Tras 20-29 años de infección crónica

Tabla 30. Asociación de cada genotipo con la aparición de CHC tras 20 a 29 años de infección crónica en F3 y F4.

1) En pacientes no alcohólicos.

A. Total.

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	3,7	0,0	6,2	-	0,0	0,0	2,8
Total	27	10	16	0	5	4	36

B. Hombres.

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	5,6	0,0	11,1	-	0,0	0,0	4,0
Total	18	8	9	0	4	3	25

C. Mujeres.

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	0,0	0,0	0,0	-	0,0	0,0	0,0
Total	0	2	7	0	1	1	11

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes.

2) En pacientes alcohólicos.

A. Total

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	14,3	12,5	16,7	-	0,0	0,0	10,0
Total	14	8	6	0	4	2	20

B. Hombres

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	18,2	16,7	20,0	-	0,0	0,0	12,5
Total	11	6	5	0	4	1	16

C. Mujeres

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	0,0	0,0	0,0	-	-	0,0	0,0
Total	3	2	1	0	0	1	4

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes.

4.6.2.3 En pacientes con más de 29 años de infección crónica

Tabla 31. Asociación de cada genotipo con la aparición de CHC tras más de 29 años de infección crónica en F3 y F4.

1) En pacientes no alcohólicos.

A. Total

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	20,0	0,0	24,1	0,0	12,5	20,0	17,3
Total	35	6	29	4	8	5	52

B. Hombres

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	16,7	0,0	23,1	0,0	0,0	33,3	15,4
Total	18	5	13	1	4	3	26

C. Mujeres

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	23,5	0,0	25,0	0,0	25,0	0,0	19,2
Total	17	1	16	3	4	2	26

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes.

2) En pacientes alcohólicos.

A. Total.

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	13,3	0,0	22,2	-	0,0	0,0	9,1
Total	15	6	9	0	4	3	22

B. Hombres.

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	13,3	0,0	22,2	-	0,0	0,0	9,5
Total	15	6	9	0	3	3	21

C. Mujeres.

CHC	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	-	-	-	-	0,0	-	0,0
Total	0	0	0	0	1	0	1

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes.

4.6.3 Asociación de los diferentes genotipos con la necesidad de trasplante hepático

De los 1569 pacientes donde se pudo conocer su estadio hepático observamos una mayor asociación del consumo excesivo de alcohol y de forma significativa del sexo masculino y de la edad avanzada con la necesidad de realización de trasplante hepático (Tabla 32). Un total de 121 pacientes (7,7%) fueron trasplantados o se encontraban en lista de espera para un trasplante.

La distribución de genotipos en estos pacientes fue la siguiente: el genotipo 1 era el más prevalente (76,9%), donde el subtipo 1b representó el 64,5% y el 1a el 12,4%, le siguió el genotipo 3 (4,0%), el genotipo 4 (8,3%) y el genotipo 2 (0,8%).

Para ver si dicha distribución se debía a una mayor asociación del subtipo 1b con la necesidad de realizar trasplante hepático o era ocasionada por la influencia de los otros factores, dividimos la población por tiempo transcurrido de infección (10-19 años, 20 a 29 años y tras >29 años), sexo y consumo de alcohol. En las Tablas 33 a 35 se observa una mayor asociación del subtipo 1b con la necesidad de realizar trasplante hepático, aunque no observamos diferencias significativas, posiblemente debido al reducido número de pacientes.

Tabla 32. Necesidad de trasplante hepático por edad, sexo y consumo de alcohol en el total de la población donde se conocía su estadio hepático.

	Edad (años)				Sexo			Consumo de alcohol		
	>69	50-69	<50	p-valor	H	M	p-valor	No exceso	Exceso	p-valor
Trasp.	19,0	10,1	2,3	<0,001	8,7	5,2	0,038	7,5	9,4	0,269
Total	195	673	687		1132	423		912	342	

Valores representados en porcentajes. Trasp (pacientes con trasplante hepático y pacientes en lista de espera para su realización). En la variable Edad p-valor calculado entre >69 años y <50 años

4.6.3.1 Tras 10-19 años de infección crónica

Tabla 33. Asociación de cada genotipo con la necesidad de realizar trasplante hepático tras 10 a 19 años de infección crónica**1) En pacientes no alcohólicos.****A. Total.**

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Total	31	15	16	1	8	7	47

B. Hombres.

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Total	22	11	11	1	5	5	23

C. Mujeres.

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	0,0	0,0	0,0	-	0,0	0,0	0,0
Total	9	4	5	0	3	2	14

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes. Trasp (pacientes con trasplante hepático y pacientes en lista de espera para su realización)

2) En pacientes alcohólicos.**A. Total.**

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	0,0	0,0	0,0	-	0,0	0,0	0,0
Total	5	2	3	0	6	4	15

B. Hombres.

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	0,0	0,0	0,0	-	0,0	0,0	0,0
Total	5	2	3	0	5	3	

C. Mujeres.

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	-	-	-	-	0,0	0,0	0,0
Total	0	0	0	0	1	1	2

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes. Trasp (pacientes con trasplante hepático y pacientes en lista de espera para su realización)

4.6.3.2 Tras 20-29 años de infección crónica

Tabla 34. Asociación de cada genotipo con la necesidad de realizar trasplante hepático tras 20 a 29 años de infección crónica.

1) En pacientes no alcohólicos.

A. Total.

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	1,5	3,2	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1
Total	65	31	34	2	13	14	94

B. Hombres.

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	2,6	4,8	0,0	-	0,0	0,0	1,8
Total	38	21	17	0	10	8	56

C. Mujeres.

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Total	27	10	17	2	3	6	38

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes. Trasp (pacientes con trasplante hepático y pacientes en lista de espera para su realización)

2) En pacientes alcohólicos.

A. Total

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	6,5	4,5	11,1	-	0,0	0,0	4,7
Total	31	22	9	0	7	5	43

B. Hombres

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	7,4	5,3	12,5	-	0,0	0,0	5,4
Total	27	19	8	0	6	4	37

C. Mujeres

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	0,0	0,0	0,0	-	0,0	0,0	0,0
Total	4	3	1	0	1	1	6

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes. Trasp (pacientes con trasplante hepático y pacientes en lista de espera para su realización)

4.6.3.3 En pacientes con más de 29 años de infección crónica

Tabla 35. Asociación de cada genotipo con la necesidad de realizar trasplante hepático tras más de 29 años de infección crónica

1) En pacientes no alcohólicos.

A. Total

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	5,1	5,3	5,1	0,0	0,0	12,5	4,8
Total	78	19	59	6	13	8	105

B. Hombres

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	8,1	9,1	7,7	0,0	0,0	25,0	7,8
Total	37	11	26	1	8	5	51

C. Mujeres

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	2,4	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0	1,9
Total	41	8	33	5	5	3	54

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes. Trasp (pacientes con trasplante hepático y pacientes en lista de espera para su realización)

2) En pacientes alcohólicos.

A. Total.

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	8,7	0,0	16,7	-	0,0	12,5	7,1
Total	23	11	12	0	11	8	42

B. Hombres.

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	9,5	0,0	18,2	-	0,0	12,5	7,7
Total	21	10	11	0	10	8	39

C. Mujeres.

Trasp.	1	1a	1b	2	3	4	Total
Sí	0,0	0,0	0,0	-	0,0	-	0,0
Total	2	1	1	0	1	0	3

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes. Trasp (pacientes con trasplante hepático y pacientes en lista de espera para su realización)

4.7 ASOCIACIÓN DE LOS GENOTIPOS CON LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO

A 31 diciembre del 2015, recibieron tratamiento el 48,3% del total de pacientes crónicamente infectados que han sido diagnosticados y/o seguidos en las consultas externas de Digestivo, Hepatología y Enfermedades Infecciosas. Con respecto a los residentes en localidades del AS fueron tratados el 49,8%, siendo en el AC fue donde una mayor proporción recibió terapias frente al VHC (51,9%), este porcentaje fue inferior, aunque sin observar diferencias significativas, en el AM y en el AR, donde fueron tratados el 48,9% y 47,7% respectivamente.

En el total de pacientes tratados, se logró la RVS en el 74,1%. No observamos diferencias significativas en la RVS entre sexos (74,3% en mujeres y 74,0% en hombres).

4.7.1 Terapias basadas en interferón

Un 46,1% de los pacientes crónicamente infectados recibieron terapias que contenían IFN. Se logró la RVS en el 63,1%.

4.7.1.1 Monoterapia con interferón/peginterferón

Un total de 106 pacientes recibieron monoterapia con IFN/PIFN durante el periodo de estudio (Tabla 36), con una RVS global del 11,3%. El genotipo 4 fue inesperadamente el que presentó una mayor RVS a este tratamiento con un 20,0%, seguido del subtipo 1a con el 14,7%, genotipo 3 con el 9,1% y subtipo 1b con el 2,6%; solamente un paciente infectado con genotipo 2 recibió esta terapia, logrando la RVS.

Tabla 36. Respuesta al tratamiento con IFN/PIFN.

A. Total.

	1	1a	1b	2	3	4	Total
RVS	8,1	14,7	2,6	100	9,1	20,0	11,3
Total	74	34	38	1	11	20	106

B. Hombres.

	1	1a	1b	2	3	4	Total
RVS	8,9	12,9	4,3	-	10,0	22,2	11,9
Total	56	31	23	0	10	18	84

C. Mujeres.

	1	1a	1b	2	3	4	Total
RVS	5,6	33,3	0,0	100	0,0	0,0	9,1
Total	18	3	15	1	1	2	22

Genotipo 1 no subtipado no representado. Valores representados en porcentajes.

4.7.1.2 Interferón/peginterferón y ribavirina

Un total de 669 pacientes recibieron IFN/PIFN+RBV durante el periodo de estudio. El genotipo 2 presentó la RVS más elevada (85,2%), seguido del genotipo 3 (77,9%), genotipo 4 (51,3%) y genotipo 1 (44,8%) donde el subtipo 1a presentó una RVS superior al subtipo 1b (48,8% y 42,2% respectivamente).

Los pacientes fueron separados en tres grupos: pacientes naïve, pacientes previamente recaedores con IFN/PIFN en monoterapia y pacientes previamente no respondedores a IFN/PIFN en monoterapia (Tabla 37).

- En pacientes naïve: un total de 621 recibieron IFN/PIFN+RBV durante el periodo de estudio, la RVS global fue del 58,0%. El genotipo que presentó la mayor RVS fue el genotipo 2 (85,2%), seguido de genotipo 3 (77,6%), genotipo 4 (50,7%), subtipo 1a (49,3%) y subtipo 1b (46,4%). Con respecto a la respuesta al tratamiento entre géneros, solamente en el genotipo 4 se observaron diferencias significativas, presentando una mayor RVS en mujeres ($p=0,020$).

Todos los genotipos mostraron un aumento significativo de la RVS a IFN/PIFN+RBV respecto a la obtenida con IFN/PIFN en monoterapia ($p<0,001$).

- En la respuesta a IFN/PIFN+RBV de los pacientes recaedores (9 pacientes) y no respondedores (39 pacientes) a la monoterapia con IFN/PIFN, observamos como únicamente el subtipo 1b mostró una disminución significativa de la RVS ($p=0,001$).



Tabla 37. Respuesta al tratamiento con IFN/PIFN+RBV.

1) En pacientes naïve.

A. Total.

	1	1a	1b	2	3	4	Total
RVS	47,6	49,3	46,4	85,2	77,6	50,7	58,0
Total	347	146	196	27	174	73	621

B. Hombres.

	1	1a	1b	2	3	4	Total
RVS	46,6	47,9	44,9	84,2	76,9	42,6	56,6
Total	247	117	127	19	134	54	454

C. Mujeres.

	1	1a	1b	2	3	4	Total
RVS	50,0	55,2	49,3	87,5	80,0	73,7	61,7
Total	100	29	69	8	40	19	167

Genotipo 1 no subtipado no representado. Valores representados en porcentajes.

2) En pacientes recaedores a IFN/PIFN en monoterapia.

A. Total.

	1	1a	1b	2	3	4	Total
RVS	16,7	50,0	0,0	-	66,7	-	33,3
Total	6	2	4	0	3	0	9

B. Hombres.

	1	1a	1b	2	3	4	Total
RVS	33,3	100	0,0	-	100	-	60,0
Total	3	1	2	0	2	0	5

C. Mujeres.

	1	1a	1b	2	3	4	Total
RVS	0,0	0,0	0,0	-	0,0	-	0,0
Total	3	1	2	0	1	0	4

Genotipo 1 no subtipado no representado. Valores representados en porcentajes.

3) En pacientes no respondedores a IFN/PIFN en monoterapia.

A. Total.

	1	1a	1b	2	3	4	Total
RVS	19,4	41,7	5,6	-	100	60,0	30,8
Total	31	12	18	0	3	5	39

B. Hombres.

	1	1a	1b	2	3	4	Total
RVS	21,7	41,7	0,0	-	100	75,0	36,7
Total	23	12	10	0	3	4	30

C. Mujeres.

	1	1a	1b	2	3	4	Total
RVS	12,5	-	12,5	-	-	0,0	11,1
Total	8	0	8	0	0	1	9

Genotipo 1 no subtipado no representado. Valores representados en porcentajes.

4.7.1.3 Peginterferón, ribavirina y antivirales de acción directa

Un total de 162 pacientes recibieron PIFN+RBV+AAD (BOC, TEL, SIM, DAC) durante el periodo de estudio. La RVS observada en el genotipo 1 fue del 59,6%, siendo más elevada en el subtipo 1b que en el 1a (67,0% y 48,3% respectivamente), por otro lado, la RVS obtenida en el genotipo 4 fue del 55,6%.

4.7.1.3.1 Peginterferón, ribavirina y boceprevir

Para el estudio de la RVS a este tratamiento en cada subtipo, separamos a los pacientes en tres grupos: pacientes naïve, pacientes previamente recaedores a IFN/PIFN+RBV y pacientes previamente no respondedores a IFN/PIFN+RBV (Tabla 38).

- **Pacientes naïve:** un total de 11 pacientes con el subtipo 1a y 12 pacientes con el subtipo 1b recibieron tratamiento con la triple terapia con BOC durante el periodo de estudio. Los subtipos 1a y 1b mostraron una RVS del 63,6% y 50,0% respectivamente. Aunque la RVS fue más elevada con esta terapia, no se observaron diferencias significativas en comparación con la obtenida con IFN/PIFN+RBV.
- **Pacientes recaedores a IFN/PIFN+RBV:** el número de pacientes fue reducido (10 pacientes), presentaron una RVS en los subtipos 1a y 1b del 50,0% y 87,5% respectivamente.
- **Pacientes no respondedores a IFN/PIFN+RBV:** el número de pacientes fue también reducido (16 pacientes), ambos subtipos presentaron una menor RVS que la observada en los pacientes naïve, en el subtipo 1a fue del 20,0% y en el subtipo 1b del 36,4%.

Tabla 38. Respuesta al tratamiento con PIFN+RBV+BOC.

1) En pacientes naïve.

A. Total.

	1	1a	1b
RVS	56,5	63,6	50,0
Total	23	11	12

B. Hombres.

	1	1a	1b
RVS	58,8	50,0	66,7
Total	17	8	9

C. Mujeres.

	1	1a	1b
RVS	50,0	100	0,0
Total	6	3	3

Genotipo 1 no subtipado no representado. Valores representados en porcentajes.

2) En pacientes recaedores a IFN/PIFN+RBV.

A. Total.

	1	1a	1b
RVS	80,0	50	87,5
Total	10	2	8

B. Hombres.

	1	1a	1b
RVS	80,0	50,0	87,5
Total	10	2	8

C. Mujeres.

	1	1a	1b
RVS	-	-	-
Total	0	0	0

Genotipo 1 no subtipado no representado. Valores representados en porcentajes.

3) En pacientes no respondedores a IFN/PIFN+RBV.

A. Total.

	1	1a	1b
RVS	31,2	20,0	36,4
Total	16	5	11

B. Hombres.

	1	1a	1b
RVS	33,3	20,0	40,0
Total	15	5	10

C. Mujeres.

	1	1a	1b
RVS	0,0	-	0,0
Total	1	0	1

Genotipo 1 no subtipado no representado. Valores representados en porcentajes.

4.7.1.3.2 Peginterferón, ribavirina y telaprevir

Para el estudio de la RVS a este tratamiento en cada subtipo, separamos a los pacientes en tres grupos: pacientes naïve, pacientes previamente recaedores a IFN/PIFN+RBV y pacientes previamente no respondedores a IFN/PIFN+RBV (Tabla 39).

- Pacientes naïve: un total de 15 pacientes con el subtipo 1a y 24 con el subtipo 1b recibieron tratamiento con la triple terapia con TEL durante el periodo de estudio. El subtipo 1a mostró una RVS del 66,7% (similar a la observada con BOC), siendo en el subtipo 1b del 83,3%, significativamente superior ($p=0,035$) a la obtenida en el mismo grupo de pacientes tratados con BOC.
- Pacientes recaedores a IFN/PIFN+RBV: la RVS en ambos subtipos fue menor, aunque sin mostrar diferencias significativas, a la observada en pacientes naïve: en 1a fue del 61,5% y en 1b del 56,2 %.
- Pacientes no respondedores a IFN/PIFN+RBV: la RVS observada en el subtipo 1a fue del 16,7%, significativamente menor ($p=0,022$) a la obtenida en pacientes recaedores, en cuanto al subtipo 1b, mostró una RVS similar al grupo de recaedores (69,2%).

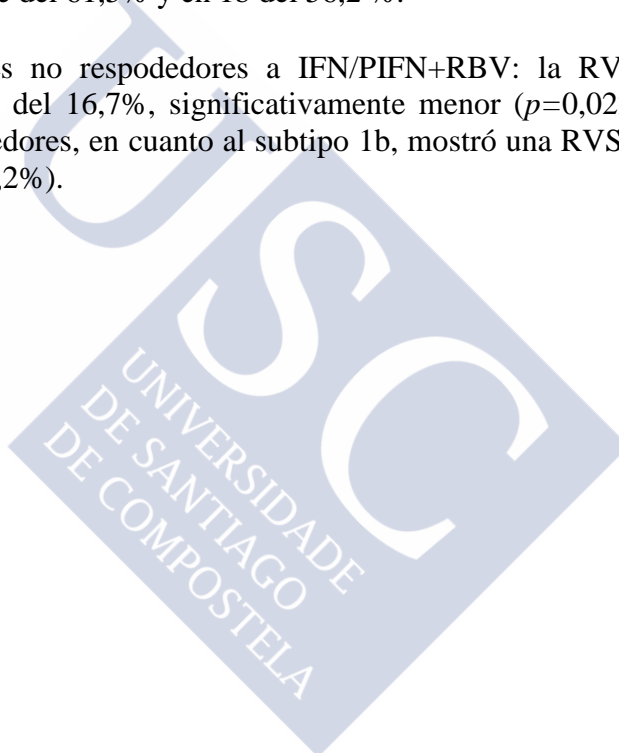


Tabla 39. Respuesta al tratamiento con PIFN+RBV+TEL.

1) En pacientes naïve.

A Total.

	1	1a	1b
RVS	76,9	66,7	83,3
Total	39	15	24

B Hombres.

	1	1a	1b
RVS	82,1	80,0	83,3
Total	28	10	18

C Mujeres.

	1	1a	1b
RVS	63,6	40,0	83,3
Total	11	5	6

Genotipo 1 no subtipado no representado. Valores representados en porcentajes.

2) En pacientes recaedores a IFN/PIFN+RBV.

A. Total.

	1	1a	1b
RVS	58,6	61,5	56,2
Total	29	13	16

B. Hombres.

	1	1a	1b
RVS	62,5	60,0	66,7
Total	16	10	6

C. Mujeres.

	1	1a	1b
RVS	53,8	66,7	50,0
Total	13	3	10

Genotipo 1 no subtipado no representado. Valores representados en porcentajes.

3) En pacientes no respondedores a IFN/PIFN+RBV.

A. Total.

	1	1a	1b
RVS	44,0	16,7	69,2
Total	25	12	13

B. Hombres.

	1	1a	1b
RVS	44,4	18,2	85,7
Total	18	11	7

C. Mujeres.

	1	1a	1b
RVS	42,9	0,0	50,0
Total	7	1	6

Genotipo 1 no subtipado no representado. Valores representados en porcentajes.

4.7.1.3.3 Peginterferón, ribavirina y simeprevir

Para el estudio de la RVS a este tratamiento en cada genotipo, separamos a los pacientes en tres grupos: pacientes naïve, pacientes previamente recaedores a IFN/PIFN+RBV y pacientes previamente no respondedores a IFN/PIFN+RBV (Tabla 40), pero debido a su reducido número (6 pacientes), no pudimos observar diferencias significativas respecto a otras terapias.

La RVS observada es similar a la obtenida con BOC y TEL.

Tabla 40. Respuesta al tratamiento con PIFN+RBV+SIM.

1) En pacientes naïve.

A. Total.

	1	1a	1b	4	Total
RVS	66,7	-	66,7	33,3	50,0
Total	3	0	3	3	6

B. Hombres.

	1	1a	1b	4	Total
RVS	50,0	-	50,0	33,3	40,0
Total	2	0	2	3	5

C. Mujeres.

	1	1a	1b	4	Total
RVS	100	-	100	-	100
Total	1	0	1	0	1

Genotipo 1 no subtipado no representado. Valores representados en porcentajes.

2) En pacientes recaedores a IFN/PIFN+RBV.

A. Total.

	1	1a	1b	4	Total
RVS	50,0	0,0	100	0,0	40,0
Total	4	2	2	1	5

B. Hombres.

	1	1a	1b	4	Total
RVS	33,3	0,0	100	0,0	25,0
Total	3	2	1	1	4

C. Mujeres.

	1	1a	1b	4	Total
RVS	100	-	100	-	100
Total	1	0	1	0	1

Genotipo 1 no subtipado no representado. Valores representados en porcentajes.

3) En pacientes no respondedores a IFN/PIFN+RBV.

A. Total.

	1	1a	1b	4	Total
RVS	100	-	100	0,0	66,7
Total	2	0	2	1	3

B. Hombres.

	1	1a	1b	4	Total
RVS	-	-	-	-	-
Total	0	0	0	0	0

C. Mujeres.

	1	1a	1b	4	Total
RVS	100	-	100	-	100
Total	2	0	2	0	2

Genotipo 1 no subtipado no representado. Valores representados en porcentajes.

4.7.1.3.4 Peginterferón, ribavirina y daclatasvir

Un total de 6 hombres con genotipo 4 fueron tratados con triple terapia con DAC durante el periodo de estudio, todos ellos eran naïve. La tasa de RVS fue del 66,7% (Tabla 41), superior a la obtenida con IFN/PIFN+RBV, pero posiblemente debido al escaso número de pacientes no observamos diferencias significativas.

Tabla 41. Respuesta al tratamiento con PIFN+RBV+DAC.

A. Total.

	4
RVS	66,7
Total	6

B. Hombres.

	4
RVS	66,7
Total	6

C. Mujeres.

	4
RVS	-
Total	0

Genotipo 1 no subtipado no representado. Valores representados en porcentajes.

4.7.1.4 Papel de los polimorfismos de *IL28B* en el tratamiento

Durante el periodo de estudio, analizamos el polimorfismo de la *IL28B* en un total de 592 pacientes (177 mujeres y 415 hombres), incluyendo pacientes naïve, recaedores y no respondedores a terapias previas. La distribución total de genotipos que puede apreciarse en la Tabla 42 se encuentra sesgada, ya que muchos de estos análisis se realizaron tras fracasos a terapias previas. El 52,2% de la población estudiada presentaba el genotipo CT, el 31,1% CC y el 16,7% TT.

Tabla 42. Distribución de genotipos de la *IL28B*.

<i>IL28B</i>	Hombres	Mujeres	General
CC	29,6	34,5	31,1
CT	51,8	53,1	52,2
TT	18,6	12,4	16,7
Total	415	177	592

Valores representados en porcentajes.

4.7.1.4.1 Papel de los polimorfismos de la *IL28B* en la terapia con peginterferón y ribavirina

Se analizó el polimorfismo de la *IL28B* en un total de 183 pacientes tratados con PIFN+RBV con genotipo 1 (Tabla 43). Para estudiar la RVS obtenida con este tratamiento en pacientes con los diferentes polimorfismos de la *IL28B*, separamos la población en tres grupos: pacientes naïve, pacientes previamente recaedores con IFN/PIFN en monoterapia y pacientes previamente no respondedores a IFN/PIFN en monoterapia.

La RVS obtenida en pacientes naïve con genotipo CC fue significativamente superior en ambos subtipos, tanto en 1a ($p<0,001$) como en 1b ($p=0,004$).

Tabla 43. Respuesta al tratamiento con PIFN+RBV en los diferentes polimorfismos de la *IL28B* en pacientes naïve, recaedores y no respondedores.

	Naïve			Recaedores			No respondedores			
	1	1a	1b	1	1a	1b	1	1a	1b	
CC	RVS	41,7	60,0	29,6	0,0	-	0,0	57,1	100	33,3
	Total	48	20	27	2	0	2	7	3	3
CT	RVS	4,5	2,7	5,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Total	89	37	51	2	1	1	13	3	10
TT	RVS	5,9	9,1	0,0	-	-	-	0,0	0,0	0,0
	Total	17	11	5	0	0	0	5	1	4

Genotipo 1 no subtipado no representado. Valores representados en porcentajes

4.7.1.4.2 Papel de los polimorfismos de la *IL28B* en la terapia con peginterferón, ribavirina y boceprevir

Se analizó el polimorfismo de la *IL28B* en un total de 39 pacientes tratados con PIFN+RBV+BOC con genotipo 1 (Tabla 44). Para el estudio de la RVS obtenida con este tratamiento en pacientes con los diferentes polimorfismos de la *IL28B*, separamos la población en tres grupos: pacientes naïve, pacientes previamente recaedores con IFN/PIFN+RBV y pacientes previamente no respondedores a IFN/PIFN+RBV. En todos ellos se observó una mayor RVS en individuos con el genotipo CC, aunque debido al escaso número de pacientes no se pudieron observar diferencias significativas.

Tabla 44. Respuesta al tratamiento con PIFN+RBV+BOC en los diferentes polimorfismos de la *IL28B* en pacientes naïve, recaedores y no respondedores.

	Naïve			Recaedores			No respondedores					
	1	1a	1b	1	1a	1b	1	1a	1b			
CC	RVS	66,7	100	50,0	RVS	100	-	100	RVS	50,0	-	50,0
	Total	3	1	2	Total	4	0	4	Total	2	0	2
CT	RVS	75,0	66,7	80,0	RVS	60,0	50,0	66,7	RVS	20,0	0,0	25,0
	Total	8	3	5	Total	5	2	3	Total	5	1	4
TT	RVS	50,0	60,0	33,3	RVS	100	-	100	RVS	40,0	50,0	33,3
	Total	8	5	3	Total	1	0	1	Total	5	2	3

Genotipo 1 no subtipado no representado. Valores representados en porcentajes

4.7.1.4.3 Papel de los polimorfismos de la *IL28B* en la terapia con peginterferón, ribavirina y telaprevir

Se analizó el polimorfismo de la *IL28B* en un total de 86 pacientes tratados con PIFN+RBV+TEL con genotipo 1 (Tabla 45). Para el estudio de la RVS obtenida con este tratamiento en pacientes con los diferentes polimorfismos de la *IL28B*, separamos la población en tres grupos: pacientes naïve, pacientes previamente recaedores con IFN/PIFN+RBV y pacientes previamente no respondedores a IFN/PIFN+RBV. En todos ellos se observa una mayor RVS en aquellos con el genotipo CC, aunque debido al escaso número de pacientes no se pudieron observar diferencias significativas.

Tabla 45. Respuesta al tratamiento con PIFN+RBV+TEL en los diferentes polimorfismos de la *IL28B* en pacientes naïve, recaedores y no respondedores.

	Naïve			Recaedores			No respondedores					
	1	1a	1b	1	1a	1b	1	1a	1b			
CC	RVS	88,9	100	66,7	RVS	100	100	100	RVS	66,7	50,0	100
	Total	9	6	3	Total	5	2	3	Total	2	1	3
CT	RVS	73,9	42,9	87,5	RVS	46,2	40,0	50,0	RVS	47,4	12,5	72,7
	Total	23	7	16	Total	13	5	8	Total	19	8	11
TT	RVS	71,4	50,0	80,0	RVS	57,1	60,0	50,0	RVS	100	100	-
	Total	7	2	5	Total	7	5	2	Total	1	1	0

Genotipo 1 no subtipado no representado. Valores representados en porcentajes

4.7.2 Terapias libres de interferón

Un total de 147 pacientes recibieron terapias libres de IFN. Las diferentes combinaciones de tratamientos fueron agrupadas debido a la elevada RVS observada en todos los genotipos, siendo esta del 97,3% para el total de pacientes tratados. La mediana de edad de la población que recibió estas terapias fue de 52 años (RIC, 56-47). El 75,5% de los pacientes tratados eran hombres, cuya mediana de edad fue de 51 años (RIC, 55-47) y de 58 años (RIC, 67-48) en mujeres. El 38,1% estaban coinfectados con el VHB y el 15,6% con el VIH. El 10,9% se encontraban en F1, el 23,8% en F2, el 19,0% en F3 y el 45,6% en F4. 4 Pacientes estaban diagnosticados de CHC. El 50,3% eran pacientes naïve, el 35,4% habían fracasado previamente con IFN/PIFN+RBV y el 19,7% lo habían hecho con PIFN+RBV+IP (BOC, TEL o SIM). Las terapias libres de IFN empleadas y los genotipos identificados en cada paciente vienen reflejados en la Tabla 46. La RVS de cada genotipo a las diferentes combinaciones de tratamientos aparece en la Tabla 47.

Se produjeron 4 fracasos, lo que representó un 2,7% del total (las características de cada uno aparecen en la Tabla 48). Ocurrieron en los subtipos 1a y 1b, y en los genotipos 3 y 4. Todos en pacientes en fase avanzada de fibrosis: tres en F4 y uno de ellos en F3 (dicha medida se obtuvo con elastografía transitoria realizada en una sola ocasión).

Tabla 46. Terapias libres de IFN administradas en cada genotipo.

	1a	1b	2	3	4	% de pacientes en cada terapia
RBV+SOF			2	1		2,0
SOF+SIM±RBV	9	10			7	17,7
SOF+DAC±RBV	3			25		19,0
SOF+LED±RBV	24	23			3	34,0
OMB+PARI/rito±RBV					10	6,8
OMB+PARI/rito+DAS±RBV	12	18				20,4
% distribución genotipos tratados	32,7	34,7	1,4	17,7	13,6	100

Valores representados en porcentajes.

Tabla 47. RVS a terapias libres de IFN, con o sin RBV.

a) Total

	1	1a	1b	2	3	4	Total
RVS	98,0	97,9	98,0	100	96,2	95,0	97,3
Total	99	48	51	2	26	20	147

b) Hombres

	1	1a	1b	2	3	4	Total
RVS	97,4	97,6	97,3	100	94,4	100	97,3
Total	78	41	37	1	18	14	111

c) Mujeres

	1	1a	1b	2	3	4	Total
RVS	100	100	100	100	100	83,3	97,2
Total	21	7	14	1	8	6	36

Genotipo 1 no subtipado y genotipo 5 no representados. Valores representados en porcentajes.

Tabla 48. Características de los fracasos a terapias libres de IFN.

A. Primera parte.

Genotipo	Sexo	Edad	Factor de riesgo	Estadio	CHC	Coinfección	CEAP
1a	H	49	UDVP	F3	No	No	No
1b	H	56	UDVP	F4	No	VIH	No
3	H	48	UDVP	F4	No	No	Sí
4	M	48	UDVP	F4	No	VIH	No

B. Continuación.

Genotipo	IL28B	Terapia previa con IFN	Terapia AAD	Sustituciones asociadas a resistencia	Tipo de fracaso
1a	CT	PIFN+RBV PIFN+RBV+TEL	SOF+LED+RBV	NS5A: M28A y Q30R NS5B: no detectadas	Rebote
1b	CC	PIFN+RBV+TEL	SOF+SIM	*	Recaída
3	-	PIFN+RBV	SOF+RBV	*	Recaída
4	CT	Naïve	SOF+SIM	NS3: D168V NS5B: no detectadas	Rebote

Estadio (estadio hepático justo antes de comenzar la terapia libre de IFN), CEAP (consumo excesivo de alcohol previo al inicio de la terapia libre de IFN), * (Debido a la baja CV, no se pudo estudiar la presencia de mutaciones de resistencia).

4.8 VARIANTES FILOGENÉTICAS DEL SUBTIPO 1a Y DETECCIÓN DEL POLIMORFISMO Q80K

4.8.1 Variantes filogenéticas

En los 73 pacientes con subtipo 1a analizados, la distribución filogenética fue la siguiente:

- a) Clado I: 30,1%.
- b) Clado II: 69,9%.

4.8.2 Polimorfismo Q80K

El polimorfismo Q80K fue detectado en 4 de los 22 pacientes con clado I y en ninguno de los 51 pacientes con clado II.

- a) SNP Q80K en clado I: 18,2%.
- b) SNP Q80K en clado II: 0%.

4.9 SUMARIO

Genotipo 1

- Genotipo más prevalente en el AS con el 61,7%.
- La mediana de edad de la población con este genotipo fue de 51 años (RIC, 63-45), siendo menor en hombres que en mujeres: 50 años (RIC, 58-45) y 57 años (RIC, 71-45) respectivamente.
- Genotipo más prevalente en ambos sexos, siéndolo significativamente más en mujeres donde representó el 66,3% ($p=0,021$).
- Principal genotipo en todas las vías de transmisión, siendo en la nosocomial significativamente más prevalente con el 82,2% ($p<0,001$).
- Genotipo más prevalente en todas las zonas del AS, siéndolo significativamente más en el AR donde representó el 69,2% ($p=0,003$).

- Principal genotipo en todos los grupos de coinfección (coinfectados con el VHB, con el VIH y no coinfectados), observándose de forma significativa, una mayor prevalencia en el grupo de no coinfectados donde representó el 66,9% ($p < 0,001$).
- Genotipo más prevalente en todos los grupos de edad, siéndolo significativamente más en mayores de 69 años, donde representó el 83,0% ($p < 0,001$).

Subtipo 1a

- Fue el segundo subtipo del genotipo 1 más prevalente en el AS, tras el 1b, con el 28,2% (lo que supone un 45,6% de los pacientes infectados con el genotipo 1).
- La mediana de edad de la población con este subtipo fue la más baja con 48 años (RIC, 53-43), siendo igual en hombres que en mujeres: 48 años (RIC, 52-44) y 48 años (RIC, 54-42) respectivamente.
- Fue el más prevalente en hombres con el 30,1%.
- Se asocia de forma significativa con el UDVP, siendo en este grupo el subtipo más prevalente (35,2%).
- Fue el más prevalente en la transmisión sexual (34,8%).
- Fue el más prevalente en el AC con el 31,1%.
- Fue el significativamente más prevalente ($p < 0,001$) en pacientes coinfectados, tanto con el VHB (28,7%), como con el VIH (35,1%).
- Fue el más prevalente en < 50 años (37,6%), siendo además el único que aumenta su prevalencia en este grupo de edad.
- Es el genotipo menos relacionado con el desarrollo de cirrosis tras 20 y 30 años de infección crónica (18,0% y 21,1% respectivamente). Tras el genotipo 2 es el menos asociado con el desarrollo de CHC.
- El clado II del subtipo 1a fue el más prevalente en nuestra AS con el 69,9%.
- El polimorfismo Q80K se detectó en el 18,2% de los infectados con clado I y en no se detectó en ningún caso de clado II.

Subtipo 1b

- Fue el subtipo del genotipo 1 más prevalente en el AS con el 32,8% (lo que supone un 53,1% de los pacientes infectados con el genotipo 1).
- La mediana de edad de la población con este subtipo fue de 58 años (RIC, 71-47), siendo menor en hombres que en mujeres: 55 años (RIC, 68-46) y 65 años (RIC, 74-49) respectivamente.
- Este subtipo se asoció de forma significativa con el sexo femenino ($p<0,001$) donde era el más prevalente (42,2%), excepto en mujeres UDVP donde fue significativamente menos prevalente que en hombres ($p=0,038$).
- El subtipo 1b se asoció de forma significativa ($p<0,001$) con la transmisión nosocomial, donde supuso el 66,9% y también con la vía de transmisión desconocida ($p<0,001$) donde representó el 37,9%.
- Fue el más prevalente en el AM (31,9%) y en el AR (46,8%).
- Fue el más prevalente en pacientes no coinfectados (40,2%). Sin embargo, en el caso de coinfectados con el VHB únicamente lo fue en aquellos que residían en el AR (35,7%).
- Sorprendentemente fue, de forma significativa, menos prevalente ($p=0,038$) en mujeres coinfectadas con el VIH (7,4%) que en hombres coinfectados con el VIH (19,2%).
- Fue el más prevalente en pacientes >69 años (73,3%) y también en pacientes con edades comprendidas entre 50-69 años (32,6%). Se observó una disminución significativa de su prevalencia a lo largo del tiempo ($p<0,001$). Sin embargo, en el caso de pacientes <50 años, fue el más prevalente en aquellos que residían en el AR.
- Fue el significativamente más relacionado con el desarrollo de CHC y con la necesidad de realizar trasplante hepático.
- Presentó la menor RVS al tratamiento con IFN/PIFN en monoterapia y también a IFN/PIFN+RBV (2,6% y 42,2% respectivamente), aunque en las pautas de tratamiento con PIFN+RBV+IP tuvo una RVS más elevada que el subtipo 1a. Fue el único que presentó una RVS significativamente menor en la terapia IFN/PIFN+RBV en pacientes que fueron previamente no respondedores o recaedores a IFN en monoterapia ($p=0,001$).

Genotipo 2

- Tras el genotipo 5 (0,1% de prevalencia), fue el menos predominante del AS (3,2%).
- La mediana de edad de la población fue igual a la observada en el subtipo 1b: 58 años (RIC, 73-47), siendo mayor en hombres que en mujeres, donde es de 53 años (RIC, 70-47) y 67 años (RIC, 74-54) respectivamente.
- Se asoció, aunque sin mostrar diferencias significativas, con el sexo femenino, la no coinfección y las AR y AM.
- Se asoció de forma significativa con la vía de transmisión nosocomial ($p < 0,001$).
- Fue el segundo genotipo más prevalente en pacientes >69 años con el 8,0%. Se observó una disminución significativa de su prevalencia a lo largo del tiempo ($p < 0,001$).
- Ningún paciente infectado con este genotipo desarrolló CHC tras más de 30 años de infección.
- Presentó la RVS más elevada a IFN/PIFN+RBV y a las terapias libres de IFN (85,2% y 100% respectivamente)

Genotipo 3

- Fue el segundo genotipo más prevalente en el AS (20,3%).
- La mediana de edad de la población con este genotipo fue de 50 años (RIC, 54-45), siendo igual en hombres que en mujeres: 50 años (RIC, 54-45) y 50 años (RIC, 54-43) respectivamente.
- Se asoció de forma significativa con el sexo masculino ($p = 0,020$).
- Fue el genotipo más prevalente en el grupo de transmisión por tatuajes/piercing (33,3%) y tras el subtipo 1a, fue el más prevalente en el grupo de UDVP (27,4%), asociándose de forma significativa con esta vía ($p < 0,001$).
- Fue significativamente más prevalente en el AC con el 24,0% ($p = 0,007$).
- Tras el subtipo 1a, fue el genotipo más prevalente en pacientes entre 50-69 años (24,0%). Llegando a representar en este grupo de edad en el AC el 30,8%.

- Sorprendentemente no estuvo asociado con la coinfección con el VHB y/o el VIH.
- Tras el genotipo 2, presentó la mayor RVS a IFN/PIFN+RBV (77,9%).
- Fue el único genotipo que experimentó una disminución significativa de su prevalencia en la población virémica circulante.

Genotipo 4

- Fue el tercer genotipo más prevalente en el AS (14,7%).
- La mediana de edad de la población con este genotipo fue de 49 años (RIC, 53-45), siendo igual en hombres, en mujeres y en coinfectados con VIH: 49 años (RIC, 53-45).
- Se asoció de forma significativa con el UDVP ($p < 0,001$).
- Sorprendentemente, no presentó asociación significativa con ningún género, ni tampoco con ningún área concreta.
- Fue significativamente más prevalente en coinfectados con el VHB y con el VIH ($p < 0,001$), sobretodo en pacientes coinfectados con éste último, donde representó el 24,8%.
- Fue más prevalente en pacientes con edades comprendidas entre 50-69 años (16,7%).
- Tras el subtipo 1b, fue el más relacionado con el desarrollo de CHC.
- De manera inesperada fue el genotipo que presentó la mayor RVS a la monoterapia con IFN/PIFN (20,0%). Además fue el único que mostró diferencias significativas en la RVS ($p = 0,020$) entre hombres y mujeres en algún tratamiento, concretamente en pacientes naïve tratados con IFN/PIFN, donde la RVS en hombres fue del 42,6% y en mujeres del 73,7% ($p = 0,020$).

Genotipo 5

- Fue el genotipo menos prevalente en el AS con sólo 2 casos (0,1%), sin ninguna vinculación entre ellos.



5. DISCUSIÓN





La muestra descrita en esta Tesis Doctoral, se corresponde a la de una población no seleccionada, se trata de un estudio realizado sobre la población general de infectados crónicos, formada por el total de pacientes diagnosticados y/o seguidos de infección crónica por el VHC en las consultas externas de Digestivo, Hepatología y Enfermedades Infecciosas del CHUS desde el 1 de enero del 2000 hasta el 31 de diciembre de 2015. La población está constituida por un total de 1815 pacientes, en su mayoría residentes en el AS de Santiago de Compostela, lo que nos proporciona en primer lugar, una imagen real de la historia de la infección crónica por el VHC en nuestro AS, circunstancia sin duda de gran relevancia de cara a la ejecución de medidas correctoras por parte de las autoridades sanitarias.

Además de lo señalado, este trabajo se caracteriza por distintos aspectos de gran importancia como: el gran número de pacientes reclutados, la homogeneidad de la población, el amplio seguimiento realizado en estos pacientes, que comprende un periodo de tiempo de 15 años durante el cual se recogieron retrospectivamente una gran variedad de datos epidemiológicos, clínicos y terapéuticos a partir de la principal base de datos del hospital (IANUS) y por último, la realización del seguimiento en un único centro, que nos permitió recabar información de una forma sistemática y precisa.

5.1 VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE GENOTIPADO EMPLEADO

Un aspecto preliminar de nuestro estudio ha sido la validación del método de genotipado empleado al ser nuestra principal herramienta de trabajo utilizada. Para ello hemos comparado los resultados obtenidos para la identificación de genotipos con esta técnica de hibridación reversa (INNO-LiPA HCV 1.0 y 2.0) con el método de referencia, basado en la secuenciación de las regiones C/E1, NS3 y NS5B, en 169 pacientes escogidos al azar. Al igual que otros autores,^{391, 394, 395} encontramos que la hibridación reversa es un método fiable de genotipado para los principales genotipos presentes en nuestro estudio (1, 2, 3 y 4) al obtener un 100% de concordancia a nivel de genotipo y un 94,7% a nivel de subtipo.

5.2 DISTRIBUCIÓN DE GENOTIPOS EN EL ÁREA SANITARIA

5.2.1 Características de la población de estudio

De los 1815 pacientes con infección crónica por el VHC estudiados, 1583 residen en el AS, en los que se observa una mediana de edad de 50 años (RIC 57-45), al igual que lo descrito en estudios recientes en España,¹⁵⁶ y superior a lo observado en estudios realizados en la pasada década en Galicia.^{193, 194}

En cuanto a la distribución por géneros, en nuestro AS el 72,5% de la población crónicamente infectada por el VHC está compuesta por hombres, porcentaje superior a lo previamente descrito a nivel nacional, donde en ninguno de los estudios el sexo masculino llega a superar el 68,0%.^{156, 187} Existiendo, por tanto, en nuestro AS una mayor proporción de infectados del sexo masculino que la que se observa en el resto del país.

El 1,8% de la población es inmigrante, porcentaje inferior al 3,3% observado en otros trabajos,¹⁸⁸ lo que permite estudiar de una forma más homogénea el papel de cada genotipo en el cambio epidemiológico ocurrido en la población nativa de nuestro AS a lo largo del tiempo.

Por otra parte, un 39,6% de la población se encuentra coinfectada con el VHB, porcentaje significativamente superior a lo observado en estudios recientes a nivel nacional¹⁵⁶ y un 16,6% lo está con el VIH, resultados similares a los publicados en otras investigaciones realizadas en nuestro país en la pasada década,^{187,188} sin embargo es significativamente inferior a lo descrito en estudios recientes realizados en España, donde se estimó un 19,1%.¹⁵⁶

5.2.2 Distribución actual de genotipos en el área sanitaria y su asociación con los diferentes factores de riesgo

5.2.2.1 Distribución total de genotipos

Como se comentó en la introducción, la distribución de genotipos es muy diversa entre los distintos países a nivel europeo y mundial, existiendo en cada uno diferencias intrínsecas en la epidemiología local.⁷⁰

Respecto a la distribución total de genotipos, al igual que en otros estudios realizados en España sobre la población general de infectados crónicos con el VHC,¹⁸⁵⁻¹⁸⁷ no pudimos confirmar ninguno de los tres casos de sospecha de coinfección obtenidos mediante INNO-LiPA 2.0. De este modo, la distribución observada en el AS queda de la siguiente manera:

- Genotipo 1: es el genotipo más prevalente con el 61,7%. Esta prevalencia es significativamente menor a la informada en otros estudios realizados en España^{156, 185-189} y Galicia.^{193, 194} Además este genotipo es el más prevalente en todos los grupos de pacientes en los que fue dividido el estudio y al igual que lo informado en anteriores publicaciones,^{156, 185, 186, 189, 193, 194, 377} se asocia de forma significativa con el sexo femenino, la vía de transmisión nosocomial, la no coinfección con el VHB y/o el VIH, la edad >69 años y la residencia en el AR.

- Subtipo 1a: es el segundo subtipo del genotipo 1 más prevalente con el 28,2% (lo que supone un 45,6% de los pacientes infectados con el genotipo 1). Esta prevalencia supera de forma significativa a la observada en la mayoría de investigaciones realizadas en España^{156, 185-189} y Galicia.^{193, 194} Al igual que describieron otros autores, en este estudio el subtipo 1a se asocia de forma significativa con el sexo masculino,^{172, 185, 187,}

^{188, 191, 194} el UDVP,^{185, 187, 188, 193, 194, 381} la transmisión sexual, la coinfección con el VHB,^{156, 188} con el VIH,^{156, 188, 194} con la edad <50 años^{156, 185, 193, 377} y con la residencia en el AC.

Respecto a la distribución de los clados, en nuestro AS el clado II es el más prevalente con el 69,9%, siendo menor a lo descrito en el resto de España por Vázquez-Morón S *et al.*,⁴⁶ que observaron a nivel nacional una prevalencia de este clado del 76,4%, y por Chueca N *et al.*,⁴⁷ que informaron de una prevalencia del 80,0% en un estudio realizado en la provincia de Granada. En contraste de lo que ocurre en España, en otros países como EEUU, el clado I es el más prevalente (75,7%), mientras que en países europeos como Italia ambos clados tienen una prevalencia similar (50,7% clado II).⁴⁵ El clado II se originó en regiones europeas entre 1961 y 1989, aproximadamente una década después del clado I y se caracteriza por presentar una dinámica de propagación ligeramente más lenta.⁴⁵ Esto contrasta con su elevada prevalencia en nuestro AS, que puede deberse a una diferente dinámica de propagación del subtipo 1a a partir de su transmisión asociada principalmente al UDVP.

Por su parte, el polimorfismo Q80K muestra una asociación significativa con el clado I.⁴⁵ En España Vázquez-Morón S *et al.*,⁴⁶ lo observaron en el 42,0% de los clados I y en el 1,8% de los clados II, al igual que Chueca N *et al.*,⁴⁷ quienes lo detectaron en el 30,1% de los clados I y el 1,9% de los clados II. A diferencia de lo descrito por estos autores, en nuestro estudio este polimorfismo únicamente ha sido hallado en el clado I, observándose solamente en el 18,2%, siendo por tanto menos prevalente que en otras zonas del país.

Esta menor prevalencia del clado I y del polimorfismo Q80K en nuestro AS, nos hace considerar bajo este punto de vista, que las terapias que se ven afectadas por la presencia de este polimorfismo, pueden ser una buena opción de tratamiento para un porcentaje mayoritario de pacientes infectados por el subtipo 1a.

○ Subtipo 1b: es el subtipo más prevalente con el 32,8% (lo que supone un 53,1% de los pacientes infectados con el genotipo 1). Esta prevalencia es significativamente menor a la observada en el resto de investigaciones realizadas sobre la población general de infectados con el VHC en España^{112,156, 185-189} y en Galicia.^{193,194} Al igual que se informó en anteriores publicaciones, el subtipo 1b muestra en nuestro AS una asociación significativa con el sexo femenino,^{185,194} los factores de riesgo nosocomial^{185, 193, 194} y desconocido,^{187, 188} la no coinfección con el VHB y/o VIH,^{192, 187} la edad >50 años^{156, 187, 188, 193, 194} y la residencia en el AM y en el AR.

• Genotipo 2: es uno de los genotipos menos prevalentes con el 3,2%, cifra similar a la descrita en otras publicaciones realizadas sobre la población general de infectados crónicos con el VHC en España^{156, 186, 188,189} aunque superior a la informada por Pena MJ *et al.*¹⁸⁵ y Rodríguez JC *et al.*¹⁸⁷ que estimaron un 1,6% y 1,8% respectivamente. Esta prevalencia es significativamente mayor a la publicada en Galicia por Alonso P *et al.*¹⁹³ y Touceda S *et al.*¹⁹⁴ quienes estimaron un 0,0% y

1,0% respectivamente. Al igual que se observó en anteriores estudios, el genotipo 2 se asocia de forma significativa con el factor de riesgo nosocomial,^{156, 188} la edad >69 años^{156, 188} y también, aunque sin mostrar diferencias significativas debido posiblemente al reducido número de pacientes, con el sexo femenino,¹⁵⁶ la no coinfección con el VHB y/o VIH¹⁵⁶ y la residencia en el AR y en el AM.

- El genotipo 3: es el segundo genotipo más predominante con el 20,3%, siendo su prevalencia similar a la observada en estudios realizados sobre la población general de infectados crónicos con el VHC en España,^{156, 186-188} aunque muy superior a la descrita por Buti M *et al.*¹⁸⁹ y Pena MJ *et al.*¹⁸⁵ quienes describieron una prevalencia de sólo el 12,3% y el 4,4% respectivamente. Con respecto a Galicia la prevalencia de este genotipo supera de forma significativa a la observada por Alonso P *et al.*¹⁹³ y Touceda S *et al.*¹⁹⁴ quienes estimaron un 11,1% y un 12,9% respectivamente. Al igual que lo descrito por otros autores, el genotipo 3 en nuestro AS se asocia de forma significativa con el sexo masculino^{185, 187, 194} el UDVP,^{185, 187, 188, 193, 194} la residencia en el AC y con edades comprendidas entre 50-69 años. Sorprendentemente, a diferencia de lo anteriormente publicado, no se observa asociación de este genotipo con la coinfección con el VHB¹⁹⁴ ni tampoco con el VIH.^{156, 188}

- Genotipo 4: es el tercer genotipo más prevalente con el 14,7%, siendo significativamente superior a lo observado en cualquier otro estudio a nivel nacional.^{156, 185-188, 192} A este respecto, son llamativamente discrepantes los resultados publicados por Buti M *et al.*¹⁸⁹ y Pena MJ *et al.*¹⁸⁵ quienes informaron una prevalencia de sólo el 7,4% y 3,8% respectivamente en la población general. En cuanto a Galicia, la prevalencia de este genotipo también es significativamente superior a la observada en estudios previos,¹⁹³⁻¹⁹⁵ particularmente respecto a los resultados publicados por Alonso P *et al.*¹⁹³ que informaron de una prevalencia del 3,7%. Como también fue descrito previamente, el genotipo 4 se asocia de forma significativa con el UDVP^{187, 193, 194} siendo en nuestro AS el más vinculado a este factor de riesgo con un 83,2% frente al 70,0% y 75,5% del subtipo 1a y del genotipo 3 respectivamente. Por otra parte, al igual que informaron otros autores, en nuestra AS es el genotipo más asociado con la coinfección con el VHB y con el VIH,^{156, 192} es más prevalente en pacientes con edades comprendidas entre 50-69 años, muestra asociación con la transmisión sexual, posiblemente debido al grupo de HSH, como ha sido previamente descrito en otros trabajos,³⁹⁶ aunque como ya comentamos anteriormente, no pudimos confirmarlo debido a que el tipo de conducta sexual no fue especificada en la mayoría de historias clínicas de los pacientes con sospecha de infección por esta vía. De forma inesperada, a diferencia de lo que ocurre con el resto de genotipos asociados al UDVP, no se encuentra asociado con ningún género ni área en particular.

- Genotipo 5: es el menos prevalente en nuestro AS con sólo dos casos, sin ninguna vinculación, lo que representa una prevalencia del 0,1%, datos similares fueron obtenidos por otros autores a nivel de España.^{156, 186, 188, 189}

5.2.2.2 Distribución de genotipos en función de las vías de transmisión

Con respecto a las vías de transmisión, a diferencia de lo descrito en otras investigaciones realizadas sobre la población general de infectados por el VHC en España^{156, 185, 188} y Galicia,^{193, 194} donde el principal factor de riesgo es el desconocido, en nuestro estudio la vía más común de infección es la parenteral con el 86,3%, por lo que la distribución de genotipos que se observa en este factor de riesgo es muy similar al de la población total. Dentro de la transmisión parenteral, la mayoría de casos se relacionan con el UDVP (56,0% del total), seguido del factor de riesgo nosocomial (29,4% del total) y de tatuajes/piercing (0,9% del total). En el factor de riesgo UDVP se aprecia una mayor prevalencia del subtipo 1a (35,2%) y de los genotipos 3 (27,4%) y 4 (21,8%). Respecto al factor de riesgo nosocomial, se observa una mayor prevalencia del genotipo 1 (82,2%) donde el subtipo 1b representa el 66,9%, así como del genotipo 2 (5,4%). El factor de riesgo tatuajes/piercing presenta una distribución de genotipos similar a la observada en UDVPs.

Tras el factor de riesgo parenteral, se encuentra el factor de riesgo desconocido que se asocia con el 12,0% de las infecciones. Esta prevalencia es significativamente inferior a la informada en otros estudios en España^{156, 185, 188} y Galicia,^{193, 194} debido principalmente a que el seguimiento se ha realizado en un único centro (CHUS), permitiendo una mayor precisión y homogeneidad previa a la elaboración de las historias clínicas y sus variables. La distribución de genotipos asociada a este factor de riesgo es similar a la observada en el factor de riesgo nosocomial, pero con una significativa menor prevalencia del genotipo 4, que tan sólo representa el 5,3% de los casos, debido a que es el genotipo más asociado con los UDVPs, población consciente de la causa de infección.

La vía de transmisión sexual, al igual que lo observado en otros estudios¹⁵⁶ sólo representa el 1,5% de los casos, con una elevada prevalencia del subtipo 1a y del genotipo 4, posiblemente vinculado a HSH, como ya describieron otros autores.³⁹⁶ Por último, el factor de riesgo vertical fue el menos común con sólo 3 casos (0,2%) resultados similares fueron observados en otros trabajos.¹⁵⁶

Al igual que describieron Esteban JI *et al.*,⁷⁰ en nuestro estudio observamos como cada uno de los principales factores de riesgo se encuentra asociado de forma significativa con un tipo de población. El UDVP se asocia con el sexo masculino, la coinfección con el VHB y/o el VIH y la residencia en el AC, mientras que los factores de riesgo nosocomial y desconocido se asocian con el sexo femenino, la no coinfección con el VHB y/o VIH y la residencia en el AR.

5.2.3 Prevalencia de infectados crónicos en el área sanitaria

La prevalencia de infectados crónicos en el AS posiblemente se encuentre subestimada al no poderse incorporar en nuestro estudio a los individuos crónicamente infectados por el VHC que aun no han sido diagnosticados.

A pesar de estas limitaciones, observamos como todas las localidades del AS presentan infectados crónicos por el VHC. La prevalencia en nuestro AS es del 3,45%, observándose diferencias entre áreas causadas principalmente por la distinta asociación de su población con el UDVP, lo que repercute a su vez en la distribución de genotipos y en la prevalencia de coinfectados con el VHB y/o con el VIH.

- Área costera: tiene la proporción de infectados crónicos más elevada con el 4,97‰, llegando en Noia, Ribeira y A Pobra do Caramiñal al 6,17‰, 6,81‰ y 8,71‰ respectivamente. Este elevado porcentaje se debe a la significativa mayor asociación de su población con el UDVP (68,4%), observándose una alta prevalencia del subtipo 1a (31,1%) y del genotipo 3 (24,4%), genotipos tradicionalmente asociados con esta vía de transmisión, así como una mayor coinfección con el VHB (48,1%) y el VIH (19,3%), estando por tanto 2/3 partes de la población de infectados crónicos de hepatitis C coinfectados con otros virus.

- Área rural: hay una significativa menor prevalencia de infectados crónicos, con sólo el 1,32‰, debido principalmente a la menor asociación de su población con el UDVP (35,7%). En este área el factor de riesgo nosocomial es, de forma significativa, el más asociado con la infección con el VHC (46,8%), por lo se observa una menor prevalencia del subtipo 1a (21,8%) y del genotipo 3 (13,6%), así como de coinfectados con el VHB (27,3%) y/o el VIH (7,1%).

- Área metropolitana: presenta unas características intermedias entre AC y AR, la prevalencia de infectados crónicos es del 3,86‰. Al comparar con el AC, su asociación con el UDVP es inferior (55,0%), observándose una menor prevalencia del subtipo 1a (28,6%) y del genotipo 3 (20,3%), así como de coinfectados con el VHB (36,7%) y/o el VIH (18,5%). Estas características intermedias se deben a que muchas de las localidades del AM se pueden considerar zonas rurales al tener una población pequeña (inferior a 7500 habitantes), dispersa y más aislada de la capital, las cuales presentan características similares a las descritas en el AR. Sólo Santiago de Compostela (5,01‰), Teo (4,11‰) y Ames (3,33‰) pueden considerarse metropolitanas, observándose en ellas unas propiedades similares a las descritas en el AC.

5.2.4 Distribución de genotipos por edades

Diferentes trabajos^{114, 188, 397, 398} han demostrado que los distintos genotipos del VHC muestran patrones de prevalencia asociados a la edad, permitiendo ver su evolución a lo largo del tiempo.

En nuestro estudio hemos observado que la prevalencia del subtipo 1a y de los genotipos 3 y 4 (asociados al factor de riesgo UDVP), y la del subtipo 1b y del genotipo 2 (asociados al factor de riesgo nosocomial) se ve influida por la edad y la distribución geográfica, como ya se ha comentado. El cambio en la prevalencia de cada genotipo no sólo se ve afectado por el impacto que tenga el factor de riesgo al que se asocia, sino que también influyen como veremos más adelante, y al igual que describieron previamente otros autores, diversas características históricas, epidemiológicas, clínicas y terapéuticas de cada uno de ellos,^{7, 114, 188, 278-283, 312-316, 318, 319, 345-353, 359-362, 383, 398} por lo que la distribución actual de genotipos comentada anteriormente, es el resultado de la interacción a lo largo del tiempo de estos factores.

Pacientes mayores de 69 años: al comparar las características epidemiológicas entre sexos y áreas, no se observan diferencias significativas en la distribución de genotipos, factores de riesgo, ni tampoco en la prevalencia de infectados crónicos. Esto se debe a que en este grupo de edad el principal factor de riesgo es el nosocomial (81,2%), lo que explica que el subtipo 1b (73,3%) y el genotipo 2 (8,0%) sean tan prevalentes. El UDVP sólo representa el 4,0% de los casos de infección, observándose una baja prevalencia del subtipo 1a y de los genotipos 3 y 4. A pesar de ello, estos tres genotipos no presentan la misma distribución, ya que el subtipo 1a con un 8,5% y el genotipo 3 con un 6,8% fueron introducidos una década antes que el genotipo 4¹⁵⁵ (en torno a 1970)^{129-131, 136-138} justificando que éste sólo represente el 1,7% en mayores de 69 años (Figura 10).

Pacientes con edades comprendidas entre 50-69 años: al comparar sexos y áreas, se aprecian diferencias significativas en la prevalencia de infectados crónicos, distribución de genotipos, distribución de factores de riesgo y prevalencia de coinfección con el VHB y/o con el VIH, debido a que en este grupo de edad se observa una disminución significativa del factor de riesgo nosocomial, como consecuencia de la implementación de las medidas de control y prevención sanitarias que se establecieron a partir de 1990 tras el descubrimiento del virus.^{93, 101, 116-127} Además, en el caso concreto del genotipo 2, su disminución se ve acentuada por su elevada RVS a la terapia con IFN/PIFN+RBV (85,2%), que condiciona su viremia circulante.

El número de infecciones asociadas al factor de riesgo nosocomial es similar en ambos sexos y en todas las áreas, por lo que las diferencias observadas se deben al aumento significativo del factor de riesgo UDVP. Este factor se encuentra asociado con el sexo masculino y con las áreas costera y metropolitana, apreciándose una mayor prevalencia del subtipo 1a y del genotipo 3, y de coinfectados con el VHB y/o con el VIH. El menor aumento de la prevalencia de UDVPs en el AR puede explicarse por el mayor aislamiento respecto a los centros de distribución de estupefacientes (principalmente en localidades del AC y AM) de la población residente en estas localidades antes de 1980, año a partir del cual se produjo un incremento en la movilidad de la población debido a la mejora significativa en las vías de comunicación entre las diferentes localidades del AS,^{399, 400} favoreciendo la dispersión de los UDVPs. Fue también a partir de 1980 cuando se introdujo el genotipo 4 en nuestra población,¹⁵⁵ lo que justifica que muestre una prevalencia similar en todas las áreas. Este genotipo también presenta una prevalencia semejante en ambos sexos (a diferencia del subtipo 1a y del genotipo 3), causado por una mayor incorporación de las mujeres a partir de 1980 en el UDVP,¹²⁹ explicando la significativa menor prevalencia del subtipo 1b en la población femenina de UDVPs al compararlas con los hombres UDVPs.

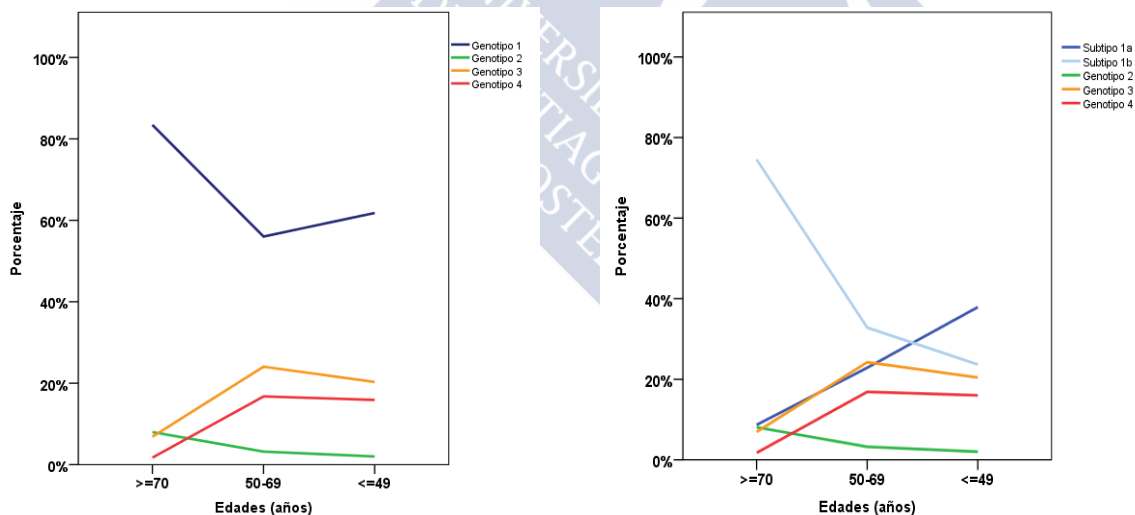
Pacientes menores de 50 años: también se observa, por las causas previamente comentadas, una disminución significativa del factor de riesgo nosocomial y con ello del subtipo 1b y del genotipo 2. Por otra parte, se aprecia a diferencia de lo que ocurre en el grupo anterior, un incremento proporcional de infectados crónicos asociados al UDVP en las tres áreas y en ambos sexos,^{129, 130} por lo que la distribución de genotipos es similar en todos ellos.^{129, 130} Sin embargo este aumento de UDVPs no se refleja en un incremento homogéneo de los genotipos asociados (1a, 3 y 4), siendo el subtipo 1a el único que sigue creciendo, convirtiéndose en menores de 50 años, en el más prevalente en ambos sexos y en todo el AS (Figura 10B).

El aumento de la prevalencia del subtipo 1a^{188, 191} es causada por su mayor transmisibilidad, ya que a diferencia del genotipo 3 (genotipo con una distribución histórica similar)^{353, 359} presenta, una RVS significativamente menor a cualquiera de las terapias con IFN³⁵³ (siendo más prevalente en la población virémica circulante), una menor progresión de la enfermedad (haciendo que los pacientes con este subtipo tengan una mayor esperanza de vida)⁴⁰¹ y por último, se encuentra asociado con la transmisión sexual, posiblemente HSH (grupo vinculado a una mayor transmisibilidad).³⁹⁶

El genotipo 3, por las causas previamente comentadas, experimenta en este grupo de pacientes <50 años, una disminución (Figura 10) como también observaron Ramos B *et al.*¹⁹² y al contrario de lo publicado por Echevarría JM *et al.*,¹⁸⁸ que llega a ser significativa en la población virémica circulante.

Finalmente, la disminución de la prevalencia del genotipo 4 (Figura 10), que también ha sido observado por otros autores,^{187, 188} se debe a causas diferentes a las que afectan al genotipo 3. El genotipo 4 a pesar de presentar una RVS a IFN/PIFN+RBV similar a la del subtipo 1a,⁴⁰²⁻⁴⁰⁵ es el genotipo más asociado a la coinfección con el VIH (28,0%), como también ha sido recogido en la literatura,¹⁵⁵ lo que puede favorecer un mayor uso de medidas preventivas y con ello, una reducción del número de nuevos contagios.

Por tanto, en nuestra población se observa un aumento significativo de la prevalencia del subtipo 1a y una disminución significativa del subtipo 1b y del genotipo 2, los genotipos 3 y 4 son más prevalentes en pacientes con edades comprendidas entre 50-69 años (Figura 10).



A. Genotipos 1, 2, 3 y 4

B. Subtipos a y b del genotipo 1 y genotipos 2, 3 y 4

Figura 10. Tendencias en el tiempo de la distribución de genotipos en el AS.

Genotipo 5 no representado. Genotipo 1 no subtipado no representado en Figura 10B.

5.3 ASOCIACIÓN DE LOS GENOTIPOS CON LA PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD

5.3.1 Asociación de los genotipos con la progresión a cirrosis

La distribución de genotipos observada en el total de pacientes cirróticos muestra una mayor prevalencia del genotipo 1 que la que se aprecia en la población general de infectados crónicos (68,8%), donde el subtipo 1b es significativamente más prevalente con el 47,0%, como también observaron otros autores.^{39, 40, 390, 406-408} Por otra parte, el subtipo 1a representa el 21,2%, seguido de los genotipos 3 (17,3%), 4 (11,6%) y 2 (2,3%).

Al igual que lo descrito en anteriores publicaciones⁴⁰⁹ confirmamos en nuestro trabajo que el sexo masculino^{21, 22, 29, 39, 410-414} y de forma significativa el tiempo de infección transcurrido^{37, 415-418} y el consumo excesivo de alcohol^{21, 22, 29, 39, 411-414, 419-420} favorecen la progresión a cirrosis. No se observaron diferencias significativas entre los distintos genotipos, como también informaron otros autores^{37, 415-418} y a diferencia de lo publicado por Bouchud PY *et al.*⁴⁰¹

La elevada prevalencia del subtipo 1b en este grupo se debe a su mayor asociación con pacientes de avanzada edad, como también observaron López-Labrador FX *et al.*,³⁹⁰ principalmente mayores de 69 años, quienes en su mayoría han estado infectados durante un periodo de tiempo más prolongado.

5.3.2 Asociación de los genotipos con el desarrollo de carcinoma hepatocelular

El 91,6% de los pacientes que han desarrollado CHC se encuentran en F4, un 6,3% en F3 y sólo un 2,1% en F1-F2. En la distribución de genotipos, es el genotipo 1 el más predominante con el 81,3%, donde el subtipo 1b representa el 72,9%, siendo significativamente más prevalente que en la población general de infectados crónicos, como ya se informó en anteriores publicaciones.^{390, 421-424} Por otra parte, el subtipo 1a supone el 7,3%, por detrás se encuentran los genotipos 3 (13,5%) y 4 (5,2%).

Observamos como el tiempo transcurrido, el sexo masculino y el consumo excesivo de alcohol favorecen el desarrollo de CHC,⁴²⁵ pero el principal factor asociado con su aparición es la infección con el subtipo 1b, al igual que se describió en otros trabajos,^{406,424} ya que tiene un efecto oncogénico directo.⁴²⁶⁻⁴³¹ Por otro lado, no hemos detectado casos de CHC en pacientes crónicamente infectados con el genotipo 2, confirmando la baja asociación de este genotipo con su desarrollo, como también se informó en anteriores publicaciones.⁴⁰⁶

5.3.3 Asociación de los genotipos con la necesidad de trasplante hepático

El 7,7% de los pacientes crónicamente infectados necesitaron someterse a trasplante hepático (pacientes trasplantados o en lista de espera para su realización). En la distribución de genotipos, el genotipo 1 es el predominante con el 76,9%, donde el subtipo 1b representa el 64,5%, siendo significativamente más prevalente que en la población general de infectados crónicos. Por otra parte, el subtipo 1a supone el 12,4%, por detrás se

encuentran los genotipos 4 (8,3%), 3 (4,0%) y 2 (0,8%). Resultados similares fueron obtenidos en otros trabajos.⁴³²

El consumo excesivo de alcohol y de forma significativa el sexo masculino y el tiempo de infección transcurrido se relacionan con la necesidad de realizar trasplante hepático. Con respecto a la asociación de los distintos genotipos, parece haber una mayor relación del subtipo 1b (aunque sin observar diferencias significativas, posiblemente por el reducido número de pacientes), que puede ser debida a su mayor prevalencia en pacientes de avanzada edad, como también informaron otros autores³⁹⁰ y a su significativa asociación con el desarrollo de CHC, al igual que se observó en anteriores investigaciones.⁴³²

5.4 ASOCIACIÓN DE LOS GENOTIPOS CON LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO

A 31 de diciembre del 2015, el 48,3% de los 1815 pacientes infectados de forma crónica por el VHC seguidos en las consultas externas de Digestivo, Hepatología y Enfermedades Infecciosas, han recibido tratamiento. Se ha logrado la RVS en el 74,1% y no se han observado diferencias significativas en la RVS entre sexos (74,3% en mujeres y 74,0% en hombres).

5.4.1 Terapias con interferón

El porcentaje global de curación obtenido con los diferentes tratamientos que contienen IFN es del 63,1%.

Tras estudiar la RVS de los distintos genotipos a las diferentes terapias con IFN, observamos como los pacientes no respondedores y los pacientes recaedores a terapias previas, presentan en general una RVS significativamente menor que la que se puede apreciar en pacientes naïve. Con respecto a la influencia de los polimorfismos de la *IL28B* sobre la RVS a PFIN+RBV y PIFN+RBV+IP, los pacientes con el genotipo CC muestran una RVS significativamente mayor que aquellos con el genotipo CT o TT.

La monoterapia con IFN/PIFN es el tratamiento con una menor RVS (11,3% para el total de genotipos), como ya ha sido descrito en la bibliografía,⁴³³⁻⁴³⁶ el subtipo 1b es el que presenta la menor tasa de respuesta con sólo un 2,6% y sorprendentemente, a diferencia de lo observado en trabajos,⁴³⁵ en nuestro estudio es el genotipo 4 el que tiene la mayor RVS con un 20,0%.

En la terapia combinada con IFN/PIFN+RBV, se aprecia en pacientes naïve, una RVS global significativamente más elevada (58,0%) que la observada en la monoterapia con IFN/PIFN, siendo el subtipo 1b, al igual que informaron otros investigadores,^{437, 438} el que presenta la menor RVS (46,4%). Los genotipos que mejor responden a esta terapia en pacientes naïve son, como ya se ha descrito en anteriores publicaciones, el genotipo 2 (85,2%)⁴³⁸⁻⁴⁴⁰ y el genotipo 3 (77,6%).^{354, 437} El genotipo 4 presenta una RVS del 50,7%, porcentaje inferior a lo publicado en otros trabajos, donde observaron una RVS que ronda el 60,0%.^{404, 405} La causa posiblemente sea debida a la mala adherencia del sexo masculino al cumplimiento de la pauta de tratamiento, ya que la RVS en hombres es del 42,6% y en

mujeres es del 73,7% (significativamente superior), a lo que hay que añadir el tipo de población al que se asocia este genotipo (principalmente UDVPs).

En los pacientes infectados con los subtipos 1a, 1b y el genotipo 4 que han sido tratados con PIFN+RBV+AAD (BOC, TEL, SIM y DAC) se alcanza una RVS del 67,6%, significativamente más elevada ($p<0,001$) que la obtenida en el mismo grupo de pacientes con IFN/PIFN+RBV (48,5%).

5.4.2. Terapias libres de interferón

En nuestro estudio, con los datos procedentes de las terapias libres de IFN, se alcanza con las diferentes combinaciones de tratamientos, una RVS del 97,3% en el total de pacientes, datos similares a los observados en ensayos clínicos.²⁶⁵

Ni el genotipo ni tampoco los fracasos previos a otras terapias influyen en dicha respuesta. Ya que el 35,4% de los pacientes habían fracasado previamente con IFN/PIFN+RBV y el 19,7% lo habían hecho con PIFN+RBV+AAD.

Sólo se han producido 4 fracasos, ocurridos en pacientes con los subtipos 1a y 1b, y con los genotipos 3 y 4. Todos ellos en pacientes con avanzado estado de fibrosis. Todas las sustituciones asociadas a resistencia identificadas habían sido descritas previamente en la bibliografía.⁴⁴¹

Para finalizar, es bien sabido que la importancia del genotipo y subtipo viral en la infección por el VHC se pone de manifiesto en la duración del tratamiento, las tasas de curación y la necesidad de incorporar RBV con los nuevos AAD.

A este respecto, este trabajo de Tesis contiene los datos más recientes sobre la epidemiología molecular del VHC en Galicia, en especial en lo referente a prevalencia y distribución de genotipos. Este estudio confirma que en el área sanitaria de Santiago de Compostela, la distribución de genotipos varía con la edad, el sexo, la coinfección con el VHB y el VIH y también dentro de las diferentes áreas geográficas consideradas y grupos epidemiológicos.

Por otra parte en esta Tesis se aportan además otros muchos datos como la tasa de virus circulante, la prevalencia de infección crónica entre las diferentes áreas, etc. Datos que deben de alumbrar en las autoridades sanitarias la necesidad de estudios de vigilancia epidemiológica de mayor envergadura que permitan cuantificar, por primera vez, la carga de la enfermedad ocasionada por el VHC de una manera más segura, para desarrollar estrategias de control y eliminación de la infección además de disponer de las herramientas necesarias.⁴⁴²⁻⁴⁴⁶



6. CONCLUSIONES





A continuación se presentan las conclusiones más relevantes de los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral:

1. Por lo que se refiere a la prevalencia y distribución de genotipos del VHC en nuestra área sanitaria, el genotipo 1 (61,7%) es el predominante, seguido del genotipo 3 (20,3%), 4 (14,7%), 2 (3,2%) y 5 (0,1%). Dentro del genotipo 1, el subtipo 1b (32,8%) supera al 1a (28,2%). Con respecto a los clados del subtipo 1a, el clado II es el más prevalente (69,9%).
2. Dentro de las características poblacionales de los pacientes infectados crónicamente por el VHC en nuestra área sanitaria, el 72,5% son hombres, con una mediana de edad significativamente inferior a la de las mujeres. Los genotipos 1b y 2 son más prevalentes en las mujeres, mientras que los genotipos 1a, 3 y 4 lo son en los hombres. Por otra parte, la prevalencia en los genotipos se ve influida por la edad de los pacientes, de manera directamente proporcional en el caso del subtipo 1b y del genotipo 2 e inversamente en el el subtipo 1a.
3. La vía de transmisión más frecuente en nuestro AS es la parenteral (86,3%), seguida de la de origen desconocido (12,0%), la sexual (1,5%) y la vertical (0,2%). Dentro de la vía de transmisión parenteral, predomina el genotipo 1b (32,2%), seguido de cerca del 1a (28,2%) y a continuación el 3 (20,8%), 4 (15,7%) y el 2 (2,6%). Sin embargo, estas prevalencias y distribución de genotipos cambian en los distintos subgrupos de esta vía. En aquellos pacientes cuya vía de transmisión se desconoce el genotipo 1b es el mayoritario (37,9%), mientras que en la transmisión sexual lo es el genotipo 1a (34,8%), donde destaca la elevada prevalencia del genotipo 4 (26,1%).
4. En pacientes coinfectados con el VIH (en nuestra área un 16,6%), la prevalencia de los genotipos 1a y 4 es significativamente mayor a la observada en pacientes no coinfectados, mientras que en el caso del genotipo 1b es significativamente menor. Con respecto a la coinfección con el VHB (en nuestra área un 39,6%) la prevalencia y distribución de los distintos genotipos es muy similar a la de los pacientes coinfectados con el VIH. Inesperadamente el genotipo 3 no se asocia con la coinfección con el VHB ni tampoco con el VIH.
5. En este estudio se aprecian distintos patrones de distribución de los genotipos del VHC entre las diferentes áreas geográficas consideradas (AM, AC y AR), donde se aprecian importantes diferencias en cuanto a tasas de enfermedad crónica por VHC y características epidemiológicas (coinfecciones virales y predominio de vías de transmisión). El patrón observado en el AM muestra unas características intermedias entre el AC, donde hay una mayor prevalencia del genotipo 1a (31,1%) y del genotipo 3 (24,0%), y el AR que presenta una elevada proporción del genotipo 1b (46,8%). Sorprendentemente el genotipo 4 tiene una prevalencia similar en todas las áreas.

6. No se aprecian diferencias significativas en la progresión a cirrosis entre los distintos genotipos, pero sí se observa una asociación significativa del genotipo 1b con el desarrollo de CHC y el trasplante hepático.
7. Con respecto al total de pacientes tratados con las distintas terapias que contienen interferón, se alcanza una RVS que va desde el 55,0% del genotipo 1a al 86,7% del genotipo 2, y que establecen una tasa global de curación del 63,1%. Finalmente, en las terapias libres de interferón, se obtiene una RVS del 97,3% con independencia del genotipo y de los fracasos a los tratamientos previos. Todos los fracasos a los tratamientos libres de interferón se produjeron en pacientes con avanzado estado de fibrosis.
8. En el patrón actual de genotipos circulantes se observa un incremento de la prevalencia de los genotipos 1a, 1b y 4, y una disminución del genotipo 2 y de forma significativa del genotipo 3, como consecuencia de los efectos del tratamiento. Por tanto, en nuestro AS el tratamiento en cierta medida está afectando a la prevalencia y patrones de distribución de los genotipos, tanto o más que los cambios producidos en las vías de transmisión.
9. Por último, presentamos los datos más recientes de prevalencia y distribución de los genotipos del VHC en el área sanitaria de Santiago de Compostela. Este estudio, confirma que dicha distribución varía con la edad, el sexo, con las coinfecciones con otros virus que comparten las mismas vías de transmisión (VHB y VIH) y también dentro de las diferentes áreas geográficas y grupos epidemiológicos. Estos datos deben de alumbrar en las autoridades sanitarias la necesidad de estudios de vigilancia epidemiológica de mayor envergadura que permitan cuantificar, por primera vez, la carga de la enfermedad ocasionada por el VHC de una manera más segura, para desarrollar estrategias de control y eliminación de la infección al disponer ya de las herramientas necesarias.

7. BIBLIOGRAFÍA





1. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, Alter HJ, Holland PV. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med.* 1975 Apr 10;292(15):767-70.
2. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science.* 1989 Apr 21;244(4902):359-62.
3. Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int.* 2009 Jan;29 Suppl 1:74-81.
4. Lavanchy D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clin Microbiol Infect.* 2011 Feb;17(2):107-15.
5. Chemello L, Bonetti P, Cavalletto L, Talato F, Donadon V, Casarin P, Belussi F, Frezza M, Noventa F, Pontisso P, *et al.* Randomized trial comparing three different regimens of alpha-2a-interferon in chronic hepatitis C. The TriVeneto Viral Hepatitis Group. *Hepatology.* 1995 Sep;22(3):700-6.
6. Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; American Association for Study of Liver Diseases. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2011 Oct;54(4):1433-44.
7. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Gonçales FL Jr, Häussinger D, Diago M, Carosi G, Dhumeaux D, Craxi A, Lin A, Hoffman J, Yu J. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002 Sep 26;347(13):975-82.
8. Davis GL, Wong JB, McHutchison JG, Manns MP, Harvey J, Albrecht J. Early virologic response to treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2003 Sep;38(3):645-52.
9. Ait-Goughoulte M, Hourieux C, Patient R, Trassard S, Brand D, Roingeard P. Core protein cleavage by signal peptide peptidase is required for hepatitis C virus-like particle assembly. *J Gen Virol.* 2006 Apr;87(Pt 4):855-60.
10. Targett-Adams P, Hope G, Boulant S, McLauchlan J. Maturation of hepatitis C virus core protein by signal peptide peptidase is required for virus production. *J Biol Chem.* 2008 Jun 13;283(24):16850-9.
11. Pileri P, Uematsu Y, Campagnoli S, Galli G, Falugi F, Petracca R, Weiner AJ, Houghton M, Rosa D, Grandi G, Abrignani S. Binding of hepatitis C virus to CD81. *Science.* 1998 Oct 30;282(5390):938-41.
12. Scarselli E, Ansuini H, Cerino R, Roccasecca RM, Acali S, Filocamo G, Traboni C, Nicosia A, Cortese R, Vitelli A. The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus. *EMBO J.* 2002 Oct 1;21(19):5017-25.

13. Sakai A, Claire MS, Faulk K, Govindarajan S, Emerson SU, Purcell RH, Bukh J. The p7 polypeptide of hepatitis C virus is critical for infectivity and contains functionally important genotype-specific sequences. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Sep 30;100(20):11646-51.
14. Jones CT, Murray CL, Eastman DK, Tassello J, Rice CM. Hepatitis C virus p7 and NS2 proteins are essential for production of infectious virus. *J Virol*. 2007 Aug;81(16):8374-83.
15. Steinmann E, Penin F, Kallis S, Patel AH, Bartenschlager R, Pietschmann T. Hepatitis C virus p7 protein is crucial for assembly and release of infectious virions. *PLoS Pathog*. 2007 Jul;3(7):e103.
16. Grakoui A, McCourt DW, Wychowski C, Feinstone SM, Rice CM. A second hepatitis C virus-encoded proteinase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993 Nov 15;90(22):10583-7.
17. Hijikata M, Mizushima H, Akagi T, Mori S, Kakiuchi N, Kato N, Tanaka T, Kimura K, Shimotohno K. Two distinct proteinase activities required for the processing of a putative nonstructural precursor protein of hepatitis C virus. *J Virol*. 1993 Aug;67(8):4665-75.
18. Kolykhalov AA, Mihalik K, Feinstone SM, Rice CM. Hepatitis C virus-encoded enzymatic activities and conserved RNA elements in the 3' nontranslated region are essential for virus replication in vivo. *J Virol*. 2000 Feb;74(4):2046-51.
19. Lam AM, Frick DN. Hepatitis C virus subgenomic replicon requires an active NS3 RNA helicase. *J Virol*. 2006 Jan;80(1):404-11.
20. Egger D, Wölk B, Gosert R, Bianchi L, Blum HE, Moradpour D, Bienz K. Expression of hepatitis C virus proteins induces distinct membrane alterations including a candidate viral replication complex. *J Virol*. 2002 Jun;76(12):5974-84.
21. Tellinghuisen TL, Marcotrigiano J, Rice CM. Structure of the zinc-binding domain of an essential component of the hepatitis C virus replicase. *Nature*. 2005 May 19;435(7040):374-9.
22. Huang L, Hwang J, Sharma SD, Hargittai MR, Chen Y, Arnold JJ, Raney KD, Cameron CE. Hepatitis C virus nonstructural protein 5A (NS5A) is an RNA-binding protein. *J Biol Chem*. 2005 Oct 28;280(43):36417-28.
23. Zhong W, Uss AS, Ferrari E, Lau JY, Hong Z. De novo initiation of RNA synthesis by hepatitis C virus nonstructural protein 5B polymerase. *J Virol*. 2000 Feb;74(4):2017-22.
24. Ranjith-Kumar CT, Kim YC, Gutshall L, Silverman C, Khandekar S, Sarisky RT, Kao CC. Mechanism of de novo initiation by the hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase: role of divalent metals. *J Virol*. 2002 Dec;76(24):12513-25.
25. Cocquerel L, Voisset C, Dubuisson J. Hepatitis C virus entry: potential receptors and their biological functions. *J Gen Virol*. 2006 May;87(Pt 5):1075-84.
26. Moradpour D, Penin F, Rice CM. Replication of hepatitis C virus. *Nat Rev Microbiol*. 2007 Jun;5(6):453-63.

27. Tang H, Grisé H. Cellular and molecular biology of HCV infection and hepatitis. *Clin Sci (Lond)*. 2009 Jun 15;117(2):49-65.
28. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, Kaslow RA, Margolis HS. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med*. 1999 Aug 19;341(8):556-62.
29. Spahn CM, Kieft JS, Grassucci RA, Penczek PA, Zhou K, Doudna JA, Frank J. Hepatitis C virus IRES RNA-induced changes in the conformation of the 40s ribosomal subunit. *Science*. 2001 Mar 9;291(5510):1959-62.
30. Boehringer D, Thermann R, Ostareck-Lederer A, Lewis JD, Stark H. Structure of the hepatitis C virus IRES bound to the human 80S ribosome: remodeling of the HCV IRES. *Structure*. 2005 Nov;13(11):1695-706.
31. Siridechadilok B, Fraser CS, Hall RJ, Doudna JA, Nogales E. Structural roles for human translation factor eIF3 in initiation of protein synthesis. *Science*. 2005 Dec 2;310(5753):1513-5.
32. Ahlquist P, Noueir AO, Lee WM, Kushner DB, Dye BT. Host factors in positive-strand RNA virus genome replication. *J Virol*. 2003 Aug;77(15):8181-6.
33. Gosert R, Egger D, Lohmann V, Bartenschlager R, Blum HE, Bienz K, Moradpour D. Identification of the hepatitis C virus RNA replication complex in Huh-7 cells harboring subgenomic replicons. *J Virol*. 2003 May;77(9):5487-92.
34. Quinkert D, Bartenschlager R, Lohmann V. Quantitative analysis of the hepatitis C virus replication complex. *J Virol*. 2005 Nov;79(21):13594-605.
35. Schwartz M, Chen J, Janda M, Sullivan M, den Boon J, Ahlquist P. A positive-strand RNA virus replication complex parallels form and function of retrovirus capsids. *Mol Cell*. 2002 Mar;9(3):505-14.
36. Miyanari Y, Hijikata M, Yamaji M, Hosaka M, Takahashi H, Shimotohno K. Hepatitis C virus non-structural proteins in the probable membranous compartment function in viral genome replication. *J Biol Chem*. 2003 Dec 12;278(50):50301-8.
37. Murayama A, Date T, Morikawa K, Akazawa D, Miyamoto M, Kaga M, Ishii K, Suzuki T, Kato T, Mizokami M, Wakita T. The NS3 helicase and NS5B-to-3'X regions are important for efficient hepatitis C virus strain JFH-1 replication in Huh7 cells. *J Virol*. 2007 Aug;81(15):8030-40.
38. Ma Y, Yates J, Liang Y, Lemon SM, Yi M. NS3 helicase domains involved in infectious intracellular hepatitis C virus particle assembly. *J Virol*. 2008 Aug;82(15):7624-39.
39. Tellinghuisen TL, Foss KL, Treadaway JC, Rice CM. Identification of residues required for RNA replication in domains II and III of the hepatitis C virus NS5A protein. *J Virol*. 2008 Feb;82(3):1073-83.

40. Appel N, Zayas M, Miller S, Krijnse-Locker J, Schaller T, Friebe P, Kallis S, Engel U, Bartenschlager R. Essential role of domain III of nonstructural protein 5A for hepatitis C virus infectious particle assembly. *PLoS Pathog.* 2008 Mar 28;4(3):e1000035.
41. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, Muerhoff AS, Rice CM, Stapleton JT, Simmonds P. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology.* 2014 Jan;59(1):318-27.
42. Robertson B, Myers G, Howard C, Brettin T, Bukh J, Gaschen B, Gojobori T, Maertens G, Mizokami M, Nainan O, Netesov S, Nishioka K, Shin i T, Simmonds P, Smith D, Stuyver L, Weiner A. Classification, nomenclature, and database development for hepatitis C virus (HCV) and related viruses: proposals for standardization. *International Committee on Virus Taxonomy. Arch Virol.* 1998;143(12):2493-503.
43. Simmonds P, Smith DB, McOmish F, Yap PL, Kolberg J, Urdea MS, Holmes EC. Identification of genotypes of hepatitis C virus by sequence comparisons in the core, E1 and NS-5 regions. *J Gen Virol.* 1994 May;75 (Pt 5):1053-61.
44. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol* 2011;28:1530-1534.
45. De Luca A, Di Giambenedetto S, Lo Presti A, Sierra S, Prospero M, Cella E, Giovanetti M, Torti C, Caudai C, Vicenti I, Saladini F, Almi P, Grima P, Blanc P, Fabbiani M, Rossetti B, Gagliardini R, Kaiser R, Ciccozzi M, Zazzi M. Two Distinct Hepatitis C Virus Genotype 1a Clades Have Different Geographical Distribution and Association With Natural Resistance to NS3 Protease Inhibitors. *Open Forum Infect Dis.* 2015 Mar 31;2(2):ofv043.
46. Vázquez-Morón S, Jiménez Sousa MA, Gutiérrez Rivas M, García Álvarez M, Pineda-Tenor D, Briz Sebastián V, Sánchez Carrillo M, Álvarez Ferrero A, Resino García S. Prevalence of the hepatitis C virus (HCV) polymorfism Q80K in HCV infected patients with genotype 1a in Spain. *AIDS Reviews* 2015. Volume 17- suplement 1: 7-8.
47. Chueca N, Rivadulla I, Lovatti R, Álvarez M, Fernández-Alonso M, Blanco A, Cardeñoso L, Reina G, Aguilera A, Galán JC, García F. Using NS5b sequencing for hepatitis C virus Genotyping reveals discordances with commercial platforms. The GEHEP-007 study. *AIDS Reviews* 2015. Volume 17- suplement 1: 7-8.
48. Weiner AJ, Brauer MJ, Rosenblatt J, Richman KH, Tung J, Crawford K, Bonino F, Saracco G, Choo QL, Houghton M, *et al.* Variable and hypervariable domains are found in the regions of HCV corresponding to the flavivirus envelope and NS1 proteins and the pestivirus envelope glycoproteins. *Virology.* 1991 Feb;180(2):842-8.
49. Kato N, Ootsuyama Y, Ohkoshi S, Nakazawa T, Sekiya H, Hijikata M, Shimotohno K. Characterization of hypervariable regions in the putative envelope protein of hepatitis C virus. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992 Nov 30;189(1):119-27.
50. Kumar U, Brown J, Monjardino J, Thomas HC. Sequence variation in the large envelope glycoprotein (E2/NS1) of hepatitis C virus during chronic infection. *J Infect Dis.* 1993 Mar;167(3):726-30.

51. Weiner AJ, Geysen HM, Christopherson C, Hall JE, Mason TJ, Saracco G, Bonino F, Crawford K, Marion CD, Crawford KA, *et al.* Evidence for immune selection of hepatitis C virus (HCV) putative envelope glycoprotein variants: potential role in chronic HCV infections. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992 Apr 15;89(8):3468-72.
52. Farci P, Shimoda A, Coiana A, Diaz G, Peddis G, Melpolder JC, Strazzera A, Chien DY, Munoz SJ, Balestrieri A, Purcell RH, Alter HJ. The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies. *Science.* 2000 Apr 14;288(5464):339-44.
53. Kantzanou M, Lucas M, Barnes E, Komatsu H, Dusheiko G, Ward S, Harcourt G, Klenerman P. Viral escape and T cell exhaustion in hepatitis C virus infection analysed using Class I peptide tetramers. *Immunol Lett.* 2003 Jan 22;85(2):165-71.
54. Penin F, Combet C, Germanidis G, Frainais PO, Deléage G, Pawlotsky JM. Conservation of the conformation and positive charges of hepatitis C virus E2 envelope glycoprotein hypervariable region 1 points to a role in cell attachment. *J Virol.* 2001 Jun;75(12):5703-10.
55. Kalinina O, Norder H, Mukomolov S, Magnus LO. A natural intergenotypic recombinant of hepatitis C virus identified in St. Petersburg. *J Virol.* 2002 Apr;76(8):4034-43.
56. Kalinina O, Norder H, Magnus LO. Full-length open reading frame of a recombinant hepatitis C virus strain from St Petersburg: proposed mechanism for its formation. *J Gen Virol.* 2004 Jul;85(Pt 7):1853-7.
57. Ross RS, Viazov SO, Holtzer CD, Beyou A, Monnet A, Mazure C, Roggendorf M. Genotyping of hepatitis C virus isolates using CLIP sequencing. *J Clin Microbiol.* 2000 Oct;38(10):3581-4.
58. McOmish F, Chan SW, Dow BC, Gillon J, Frame WD, Crawford RJ, Yap PL, Follett EA, Simmonds P. Detection of three types of hepatitis C virus in blood donors: investigation of type-specific differences in serologic reactivity and rate of alanine aminotransferase abnormalities. *Transfusion.* 1993 Jan;33(1):7-13.
59. Davidson F, Simmonds P. Determination of HCV Genotypes by RFLP. *Methods Mol Med.* 1999;19:175-81.
60. Stuyver L, Fretz C, Esquivel C, Boudifa A, Jaulmes D, Azar N, Lunel F, Leroux-Roels G, Maertens G, Fournel JJ. Hepatitis C virus (HCV) genotype analysis in apparently healthy anti-HCV-positive Parisian blood donors. *Transfusion.* 1996 Jun;36(6):552-8.
61. Chinchai T, Labout J, Noppornpanth S, Theamboonlers A, Haagmans BL, Osterhaus AD, Poovorawan Y. Comparative study of different methods to genotype hepatitis C virus type 6 variants. *J Virol Methods.* 2003 May;109(2):195-201.
62. Smith DB, Mellor J, Jarvis LM, Davidson F, Kolberg J, Urdea M, Yap PL, Simmonds P. Variation of the hepatitis C virus 5' non-coding region: implications for secondary structure, virus detection and typing. The International HCV Collaborative Study Group. *J Gen Virol.* 1995 Jul;76 (Pt 7):1749-61.

63. Chen Z, Weck KE. Hepatitis C virus genotyping: interrogation of the 5' untranslated region cannot accurately distinguish genotypes 1a and 1b. *J Clin Microbiol.* 2002 Sep;40(9):3127-34.
64. Stuyver L, Rossau R, Wyseur A, Duhamel M, Vanderborght B, Van Heuverswyn H, Maertens G. Typing of hepatitis C virus isolates and characterization of new subtypes using a line probe assay. *J Gen Virol.* 1993 Jun;74 (Pt 6):1093-102.
65. Maertens G, Stuyver L. HCV Genotyping by the Line Probe Assay INNO-LiPA HCV II. *Methods Mol Med.* 1999;19:183-98.
66. Genotype Assay (LiPA). HCV Genotype 2.0 Assay (LiPA). 26017 Rev. 2012-08.
67. Nerrienet E, Pouillot R, Lachenal G, Njouom R, Mfoupouendoun J, Bilong C, Maucelere P, Pasquier C, Ayoub A. Hepatitis C virus infection in cameroon: A cohort-effect. *J Med Virol.* 2005 Jun;76(2):208-14.
68. Guerra J, Garenne M, Mohamed MK, Fontanet A. HCV burden of infection in Egypt: results from a nationwide survey. *J Viral Hepat.* 2012 Aug;19(8):560-7.
69. Duberg A, Janzon R, Bäck E, Ekdahl K, Blaxhult A. The epidemiology of hepatitis C virus infection in Sweden. *Euro Surveill.* 2008 May 22;13(21). pii: 18882.
70. Esteban JI, Saucedo S, Quer J. The changing epidemiology of hepatitis C virus infection in Europe. *J Hepatol.* 2008 Jan;48(1):148-62.
71. Kaba S, Dutta U, Byth K, Crewe EB, Khan MH, Coverdale SA, Lin R, Liddle C, Farrell GC. Molecular epidemiology of hepatitis C in Australia. *J Gastroenterol Hepatol.* 1998 Sep;13(9):914-20.
72. Ohno O, Mizokami M, Wu RR, Saleh MG, Ohba K, Orito E, Mukaide M, Williams R, Lau JY. New hepatitis C virus (HCV) genotyping system that allows for identification of HCV genotypes 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4, 5a, and 6a. *J Clin Microbiol.* 1997 Jan;35(1):201-7.
73. Kamal SM, Nasser IA. Hepatitis C genotype 4: What we know and what we don't yet know. *Hepatology.* 2008 Apr;47(4):1371-83.
74. Shobokshi OA, Serebour FE, Skakni L, Al-Saffy YH, Ahdal MN. Hepatitis C genotypes and subtypes in Saudi Arabia. *J Med Virol.* 1999 May;58(1):44-8.
75. Antaki N, Haddad M, Kebbewar K, Abdelwahab J, Hamed O, Aaraj R, Alhaj N, Haffar S, Assil M, Ftayeh M, Assaad F, Doghman D, Ali T, Nassereldine M, Ali A, Antaki F; Syrian Working Group for the Study of Viral Hepatitis. The unexpected discovery of a focus of hepatitis C virus genotype 5 in a Syrian province. *Epidemiol Infect.* 2009 Jan;137(1):79-84.
76. Murphy DG, Willems B, Vincelette J, Bernier L, Côté J, Delage G. Biological and clinicopathological features associated with hepatitis C virus type 5 infections. *J Hepatol.* 1996 Jan;24(1):109-13.

77. Pham DA, Leuangwutiwong P, Jittmittraphap A, Luplertlop N, Bach HK, Akkarathamrongsin S, Theamboonlers A, Poovorawan Y. High prevalence of Hepatitis C virus genotype 6 in Vietnam. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2009 Jun-Sep;27(2-3):153-60.
78. Li CS, Chan PK, Tang JW. Molecular epidemiology of hepatitis C genotype 6a from patients with chronic hepatitis C from Hong Kong. *J Med Virol*. 2009 Apr;81(4):628-33.
79. Yan Z, Fan K, Wang Y, Fan Y, Tan Z, Deng G. Changing pattern of clinical epidemiology on hepatitis C virus infection in southwest china. *Hepat Mon*. 2012 Mar;12(3):196-204.
80. Mühlberger N, Schwarzer R, Lettmeier B, Sroczynski G, Zeuzem S, Siebert U. HCV-related burden of disease in Europe: a systematic assessment of incidence, prevalence, morbidity, and mortality. *BMC Public Health*. 2009 Jan 22;9:34.
81. Gheorghe L, Iacob S, Csiki IE. Prevalence of hepatitis C in Romania: different from European rates? *J Hepatol*. 2008 Oct;49(4):661-2; author reply 663.
82. Lvov DK, Samokhvalov EI, Tsuda F, Selivanov NA, Okamoto H, Stakhanova VM, Stakhgildyan IV, Doroshenko NV, Yashina TL, Kuzin SN, Suetina IA, Deryabin PG, Ruzaeva LA, Bezgodov VN, Firsova LA, Sorinson SN, Mishiro S. Prevalence of hepatitis C virus and distribution of its genotypes in Northern Eurasia. *Arch Virol*. 1996;141(9):1613-22.
83. Ansaldi 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 Jul;76(3):327-32.
84. Vriend HJ, Van Veen MG, Prins M, Urbanus AT, Boot HJ, Op De Coul EL. Hepatitis C virus prevalence in The Netherlands: migrants account for most infections. *Epidemiol Infect*. 2013 Jun;141(6):1310-7.
85. Harris RJ, Ramsay M, Hope VD, Brant L, Hickman M, Foster GR, De Angelis D. Hepatitis C prevalence in England remains low and varies by ethnicity: an updated evidence synthesis. *Eur J Public Health*. 2012 Apr;22(2):187-92.
86. Dalgard O, Jeansson S, Skaug K, Raknerud N, Bell H. Hepatitis C in the general adult population of Oslo: prevalence and clinical spectrum. *Scand J Gastroenterol*. 2003 Aug;38(8):864-70.
87. Rantala M, van de Laar MJ. Surveillance and epidemiology of hepatitis B and C in Europe - a review. *Euro Surveill*. 2008 May 22;13(21). pii: 18880.
88. Defossez G, Verneau A, Ingrand I, Silvain C, Ingrand P, Beauchant M; Poitou-Charentes Hepatitis C Network. Evaluation of the French national plan to promote screening and early management of viral hepatitis C, between 1997 and 2003: a comparative cross-sectional study in Poitou-Charentes region. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2008 May;20(5):367-72.

89. Delarocque-Astagneau E, Meffre C, Dubois F, Pioche C, Le Strat Y, Roudot-Thoraval F, Hillon P, Silvain C, Dhumeaux D, Desenclos JC; Hepatitis C Surveillance System Committee; Scientific Committee for the National Prevalence Survey of Hepatitis B and C Markers. The impact of the prevention programme of hepatitis C over more than a decade: the French experience. *J Viral Hepat.* 2010 Jun;17(6):435-43.
90. Naoumov NV. Hepatitis C virus infection in Eastern Europe. *J Hepatol.* 1999;31 Suppl 1:84-7.
91. Wasley A, Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Semin Liver Dis.* 2000;20(1):1-16.
92. Trépo C, Pradat P. Hepatitis C virus infection in Western Europe. *J Hepatol.* 1999;31 Suppl 1:80-3. Review.
93. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis.* 2005 Sep;5(9):558-67.
94. Buckton AJ, Ngui SL, Arnold C, Boast K, Kovacs J, Klapper PE, Patel B, Ibrahim I, Rangarajan S, Ramsay ME, Teo CG. Multitypic hepatitis C virus infection identified by real-time nucleotide sequencing of minority genotypes. *J Clin Microbiol.* 2006 Aug;44(8):2779-84.
95. Bird SM, Goldberg DJ, Hutchinson SJ. Projecting severe sequelae of injection-related hepatitis C virus epidemic in the UK. Part 2: Preliminary UK estimates of prevalent injection-related hepatitis C carriers, and derivation of progression rates to liver cirrhosis by gender and age at hepatitis C virus infection. *J Epidemiol Biostat.* 2001;6(3):267-77; discussion 279-85.
96. Health Protection Agency. Shooting Up: infections among injecting drug users in the United Kingdom 2005. An update: October 2006. London: Health Protection Agency, 2006. Health Protection Scotland, National Public Health Service for Wales, CDSC Northern Ireland, CDRHB and the UASSG 2006.
97. Touzet S, Kraemer L, Colin C, Pradat P, Lanoir D, Bailly F, Coppola RC, Sauleda S, Thursz MR, Tillmann H, Alberti A, Braconier JH, Esteban JI, Hadziyannis SJ, Manns MP, Saracco G, Thomas HC, Trépo C. Epidemiology of hepatitis C virus infection in seven European Union countries: a critical analysis of the literature. HENCORE Group. (Hepatitis C European Network for Co-operative Research. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2000 Jun;12(6):667-78.
98. Van Damme P, Thyssen A, Van Loock F. Epidemiology of hepatitis C in Belgium: present and future. *Acta Gastroenterol Belg.* 2002 Apr-Jun;65(2):78-9.
99. Grob PJ, Negro F, Renner EL. Hepatitis C virus infection. Overview. SEVHEP (Swiss Experts on Viral Hepatitis). *Praxis (Bern 1994).* 2000 Oct 5;89(40):1587-604.
100. Domínguez A, Bruguera M, Vidal J, Plans P, Salleras L. Community-based seroepidemiological survey of HCV infection in Catalonia, Spain. *J Med Virol.* 2001 Dec;65(4):688-93.

101. Colombo M, Oldani S, Donato MF, Borzio M, Santese R, Roffi L, Viganó P, Cargnel A. A multicenter, prospective study of posttransfusion hepatitis in Milan. *Hepatology*. 1987 Jul-Aug;7(4):709-12.
102. Guadagnino V, Stroffolini T, Rapicetta M, Costantino A, Kondili LA, Menniti-Ippolito F, Caroleo B, Costa C, Griffo G, Loiacono L, Pisani V, Focà A, Piazza M. Prevalence, risk factors, and genotype distribution of hepatitis C virus infection in the general population: a community-based survey in southern Italy. *Hepatology*. 1997 Oct;26(4):1006-11.
103. Koulentaki M, Ergazaki M, Moschandrea J, Spanoudakis S, Tzagarakis N, Drandakis PE, Spandidos DA, Kouroumalis EA. Prevalence of hepatitis B and C markers in high-risk hospitalised patients in Crete: a five-year observational study. *BMC Public Health*. 2001;1:17.
104. Goritsas C, Plerou I, Agaliotis S, Spinthaki R, Mimidis K, Velissaris D, Lazarou N, Labropoulou-Karatzas C. HCV infection in the general population of a Greek island: prevalence and risk factors. *Hepatology*. 2000 May-Jun;47(33):782-5.
105. Lionis C, Koulentaki M, Biziagos E, Kouroumalis E. Current prevalence of hepatitis A, B and C in a well-defined area in rural Crete, Greece. *J Viral Hepat*. 1997 Jan;4(1):55-61.
106. Raffaele A, Valenti M, Iovenitti M, Matani A, Bruno ML, Altobelli E, D'Alessandro A, Barnabei R, Leonardi B, Taglieri G. High prevalence of HCV infection among the general population in a rural area of central Italy. *Eur J Epidemiol*. 2001;17(1):41-6.
107. Maio G, d'Argenio P, Stroffolini T, Bozza A, Sacco L, Tosti ME, Intorcia M, Fossi E, d'Alessio G, Kondili LA, Rapicetta M, Mele A. Hepatitis C virus infection and alanine transaminase levels in the general population: a survey in a southern Italian town. *J Hepatol*. 2000 Jul;33(1):116-20.
108. Stroffolini T, Menchinelli M, Taliani G, Dambruoso V, Poliandri G, Bozza A, Lecce R, Clementi C, Ippolito FM, Compagnoni A, *et al*. High prevalence of hepatitis C virus infection in a small central Italian town: lack of evidence of parenteral exposure. *Ital J Gastroenterol*. 1995 Jun;27(5):235-8.
109. Osella AR, Misciagna G, Leone A, Di Leo A, Fiore G. Epidemiology of hepatitis C virus infection in an area of Southern Italy. *J Hepatol*. 1997 Jul;27(1):30-5.
110. Pawlotsky JM, Tsakiris L, Roudot-Thoraval F, Pellet C, Stuyver L, Duval J, Dhumeaux D. Relationship between hepatitis C virus genotypes and sources of infection in patients with chronic hepatitis C. *J Infect Dis*. 1995 Jun;171(6):1607-10.
111. Roffi L, Ricci A, Ogliari C, Scalori A, Minola E, Colloredo G, Donada C, Ceriani R, Rinaldi G, Paris B, Fornaciari G, Morales R, Del Poggio P, Sangiovanni A, Buonocore M, Bellia V, Riboli P, Nava MC, Panizzuti F, Piperno A, Pozzi M, Pioltelli P, Mancina G. HCV genotypes in Northern Italy: a survey of 1368 histologically proven chronic hepatitis C patients. *J Hepatol*. 1998 Nov;29(5):701-6.

112. León P, López JA, Amela C, Elola C, Echevarría JM. Prevalence of types of hepatitis C virus in Spanish blood donors: results of a state-based multicenter study. Spanish Group for the Study of Blood Donors with Risk of HCV Transmission. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 1999 Nov;17(9):448-53.
113. Rubio M, Rubio C, Nogués A, Manonelles A. Hepatitis C virus genotypes. Study of 302 patients coinfecting by the human immunodeficiency virus. *Med Clin (Barc)*. 2001 May 12;116(17):650-1.
114. Sánchez-Quijano A, Abad MA, Torronteras R, Rey C, Pineda JA, Leal M, Macias J, Lissen E. Unexpected high prevalence of hepatitis C virus genotype 4 in Southern Spain. *J Hepatol*. 1997 Jul;27(1):25-9.
115. McOmish F, Yap PL, Dow BC, Follett EA, Seed C, Keller AJ, Cobain TJ, Krusius T, Kolho E, Naukkarinen R, *et al*. Geographical distribution of hepatitis C virus genotypes in blood donors: an international collaborative survey. *J Clin Microbiol*. 1994 Apr;32(4):884-92.
116. Prati D. Transmission of hepatitis C virus by blood transfusions and other medical procedures: a global review. *J Hepatol*. 2006 Oct;45(4):607-16.
117. Esteban JI, González A, Hernández JM, Viladomiu L, Sánchez C, López-Talavera JC, Lucea D, Martín-Vega C, Vidal X, Esteban R, *et al*. Evaluation of antibodies to hepatitis C virus in a study of transfusion-associated hepatitis. *N Engl J Med*. 1990 Oct 18;323(16):1107-12.
118. Alter HJ, Purcell RH, Holland PV, Alling DW, Koziol DE. Donor transaminase and recipient hepatitis. Impact on blood transfusion services. *JAMA*. 1981 Aug 7;246(6):630-4.
119. Esteban JI, Esteban R, Viladomiu L, López-Talavera JC, González A, Hernández JM, Roget M, Vargas V, Genescà J, Buti M, *et al*. Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Spain. *Lancet*. 1989 Aug 5;2(8658):294-7.
120. Mannucci PM, Tuddenham EG. The hemophilias--from royal genes to gene therapy. *N Engl J Med*. 2001 Jun 7;344(23):1773-9.
121. González A, Esteban JI, Madoz P, Viladomiu L, Genesca J, Muñoz E, Enríquez J, Torras X, Hernández JM, Quer J, *et al*. Efficacy of screening donors for antibodies to the hepatitis C virus to prevent transfusion-associated hepatitis: final report of a prospective trial. *Hepatology*. 1995 Aug;22(2):439-45.
122. Alter HJ, Conry-Cantilena C, Melpolder J, Tan D, Van Raden M, Herion D, Lau D, Hoofnagle JH. Hepatitis C in asymptomatic blood donors. *Hepatology*. 1997 Sep;26(3 Suppl 1):29S-33S.
123. Busch MP. Closing the windows on viral transmission by blood transfusion. In: Stramer SL, editor. *Blood safety in the new millennium*. Bethesda: American Association of Blood Banks; 2001. p. 33-54.

124. MMWR. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm Rep. 1998 Oct 16;47(RR-19):1-39.
125. MMWR. Recommendations for preventing transmission of infections among chronic hemodialysis patients. MMWR Recomm Rep. 2001 Apr 27;50(RR-5):1-43.
126. WHO. Global surveillance and control of hepatitis C. Report of a WHO Consultation organized in collaboration with the Viral Hepatitis Prevention Board, Antwerp, Belgium. J Viral Hepat. 1999 Jan;6(1):35-47.
127. NIH. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Management of hepatitis C 2002 (June 10-12, 2002). Gastroenterology. 2002 Dec;123(6):2082-99. Review.
128. Sy T, Jamal MM. Epidemiology of hepatitis C virus (HCV) infection. Int J Med Sci. 2006;3(2):41-6.
129. EMCDDA 2006. www.emcdda.europa.eu/
130. Wiessing L. European drugs agency highlights trends in drug use and problems affecting drug users. Euro Surveill. 2005 Dec 15;10(12):E051215.3.
131. Sutton AJ, Edmunds WJ, Gill ON. Estimating the cost-effectiveness of detecting cases of chronic hepatitis C infection on reception into prison. BMC Public Health. 2006 Jun 27;6:170.
132. van de Laar TJ, Langendam MW, Bruisten SM, Welp EA, Verhaest I, van Ameijden EJ, Coutinho RA, Prins M. Changes in risk behavior and dynamics of hepatitis C virus infections among young drug users in Amsterdam, the Netherlands. J Med Virol. 2005 Dec;77(4):509-18.
133. Jauffret-Roustide M, Emmanuelli J, Quaglia M, Barin F, Arduin P, Laporte A, Desenclos JC. Impact of a harm-reduction policy on HIV and hepatitis C virus transmission among drug users: recent French data--the ANRS-Coquelicot Study. Subst Use Misuse. 2006;41(10-12):1603-21.
134. Abdala N, Carney JM, Durante AJ, Klimov N, Ostrovski D, Somlai AM, Kozlov A, Heimer R. Estimating the prevalence of syringe-borne and sexually transmitted diseases among injection drug users in St Petersburg, Russia. Int J STD AIDS. 2003 Oct;14(10):697-703.
135. CEEHRN. Hepatitis C among drug users in the new EU member states and neighbourhood: Recommendations for action. Central and Eastern European Harm Reduction Network. CEEHRN 2006; Available from:<www.ceehrn.org>.
136. Hickman M, Hope V, Brady T, Madden P, Jones S, Honor S, Holloway G, Ncube F, Parry J. Hepatitis C virus (HCV) prevalence, and injecting risk behaviour in multiple sites in England in 2004. J Viral Hepat. 2007 Sep;14(9):645-52.

137. Lucidarme D, Bruandet A, Ilef D, Harbonnier J, Jacob C, Decoster A, Delamare C, Cyran C, Van Hoenacker AF, Frémaux D, Josse P, Emmanuelli J, Le Strat Y, Desenclos JC, Filoche B. Incidence and risk factors of HCV and HIV infections in a cohort of intravenous drug users in the North and East of France. *Epidemiol Infect.* 2004 Aug;132(4):699-708.
138. Judd A, Hickman M, Jones S, McDonald T, Parry JV, Stimson GV, Hall AJ. Incidence of hepatitis C virus and HIV among new injecting drug users in London: prospective cohort study. *BMJ.* 2005 Jan 1;330(7481):24-5.
139. Kalinina O, Norder H, Vetrov T, Zhdanov K, Barzunova M, Plotnikova V, Mukomolov S, Magnus LO. Shift in predominating subtype of HCV from 1b to 3a in St. Petersburg mediated by increase in injecting drug use. *J Med Virol.* 2001 Nov;65(3):517-24.
140. Ostrovskii DV. A strategy for the control of HIV infection and viral hepatitis against the background of the narcotic abuse epidemic. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol.* 2000 Jul-Aug;(4):71-3.
141. Tallo T, Norder H, Tefanova V, Krispin T, Schmidt J, Ilmoja M, Orgulas K, Pruunsild K, Priimägi L, Magnus LO. Genetic characterization of hepatitis C virus strains in Estonia: fluctuations in the predominating subtype with time. *J Med Virol.* 2007 Apr;79(4):374-82.
142. Mendeleevich V. Drug addiction treatment in Russia: no substitution therapy. *HIV AIDS Policy Law Rev.* 2006 Dec;11(2-3):82-4.
143. Sadikova NV, Shuliak IuA, Zveriaeva IK, Ershova ON, Kuzina LE, Kirillova IL, Kolenova TV, Ust'iantsev NV, Varlamova IA, Litvinenko MO, Kuzin SN, Zverev VV. Prevalence of HBV and HCV markers in patients of specialized medical institutions. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol.* 2006 Nov-Dec;(7):28-33.
144. Krupitsky EM, Zvartau EE, Lioznov DA, Tsoy MV, Egorova VY, Belyaeva TV, Antonova TV, Brazhenko NA, Zagdyn ZM, Verbitskaya EV, Zorina Y, Karandashova GF, Slavina TY, Grinenko AY, Samet JH, Woody GE. Co-morbidity of infectious and addictive diseases in St. Petersburg and the Leningrad Region, Russia. *Eur Addict Res.* 2006;12(1):12-9.
145. Tefanova V, Tallo T, Kutsar K, Priimgi L. Urgent action needed to stop spread of hepatitis B and C in Estonian drug users. *Euro Surveill.* 2006 Jan 26;11(1):E060126.3.
146. Payan C, Roudot-Thoraval F, Marcellin P, Bled N, Duverlie G, Fouchard-Hubert I, Trimoulet P, Couzigou P, Cointe D, Chaput C, Henquell C, Abergel A, Pawlotsky JM, Hezode C, Coudé M, Blanchi A, Alain S, Loustaud-Ratti V, Chevallier P, Trepo C, Gerolami V, Portal I, Halfon P, Bourlière M, Bogard M, Plouvier E, Laffont C, Agius G, Silvain C, Brodard V, Thieffin G, Buffet-Janvresse C, Riachi G, Grattard F, Bourlet T, Stoll-Keller F, Doffoel M, Izopet J, Barange K, Martinot-Peignoux M, Branger M, Rosenberg A, Sogni P, Chaix ML, Pol S, Thibault V, Opolon P, Charrois A, Serfaty L, Fouqueray B, Grange JD, Lefrère JJ, Lunel-Fabiani F. Changing of hepatitis C virus genotype patterns in France at the beginning of the third millenium: The GEMHEP GenoCII Study. *J Viral Hepat.* 2005 Jul;12(4):405-13.

147. Gérard C, Delwaide J, Vaira D, Bastens B, Servais B, Wain E, Bataille C, Daenen G, Belaïche J; GLEVHE. Evolution over a 10 year period of the epidemiological profile of 1,726 newly diagnosed HCV patients in Belgium. *J Med Virol.* 2005 Aug;76(4):503-10.
148. Katsoulidou A, Sypsa V, Tassopoulos NC, Boletis J, Karafoulidou A, Ketikoglou I, Tsantoulas D, Vafiadi I, Hatzis G, Skoutelis A, Akriviadis E, Vasiliadis T, Kitis G, Magiorkinis G, Hatzakis A. Molecular epidemiology of hepatitis C virus (HCV) in Greece: temporal trends in HCV genotype-specific incidence and molecular characterization of genotype 4 isolates. *J Viral Hepat.* 2006 Jan;13(1):19-27.
149. Bourlière M, Barberin JM, Rotily M, Guagliardo V, Portal I, Lecomte L, Benali S, Boustière C, Perrier H, Jullien M, Lambot G, Loyer R, LeBars O, Daniel R, Khiri H, Halfon P. Epidemiological changes in hepatitis C virus genotypes in France: evidence in intravenous drug users. *J Viral Hepat.* 2002 Jan;9(1):62-70.
150. Cantaloube JF, Gallian P, Attoui H, Biagini P, De Micco P, de Lamballerie X. Genotype distribution and molecular epidemiology of hepatitis C virus in blood donors from southeast France. *J Clin Microbiol.* 2005 Aug;43(8):3624-9.
151. Schröter M, Zöllner B, Schäfer P, Reimer A, Müller M, Laufs R, Feucht HH. Epidemiological dynamics of hepatitis C virus among 747 German individuals: new subtypes on the advance. *J Clin Microbiol.* 2002 May;40(5):1866-8.
152. Haushofer AC, Koptý C, Hauer R, Brunner H, Halbmayer WM. HCV genotypes and age distribution in patients of Vienna and surrounding areas. *J Clin Virol.* 2001 Jan;20(1-2):41-7.
153. van de Laar TJ, Koppelman MH, van der Bij AK, Zaaier HL, Cuijpers HT, van der Poel CL, Coutinho RA, Bruisten SM. Diversity and origin of hepatitis C virus infection among unpaid blood donors in the Netherlands. *Transfusion.* 2006 Oct;46(10):1719-28.
154. Martínez-Sierra C, Arizcorreta A, Díaz F, Roldán R, Martín-Herrera L, Pérez-Guzmán E, Girón-González JA. Progression of chronic hepatitis C to liver fibrosis and cirrhosis in patients coinfecting with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis.* 2003 Feb 15;36(4):491-8.
155. van Asten L, Verhaest I, Lamzira S, Hernandez-Aguado I, Zangerle R, Boufassa F, Rezza G, Broers B, Robertson JR, Brettler RP, McMenamin J, Prins M, Cochrane A, Simmonds P, Coutinho RA, Bruisten S; European and Italian Seroconverter Studies. Spread of hepatitis C virus among European injection drug users infected with HIV: a phylogenetic analysis. *J Infect Dis.* 2004 Jan 15;189(2):292-302.
156. Navarro D, Casas P, Nieto L, Viciano I, Martínez-Sapiña AM, Rodríguez MJ, Martró E, Domínguez MC, Coletta E, Cardeñoso L, Suárez A, Trigo M, Rodríguez-Granjer J, Montiel N, Iglesia A, Alados JC, Vegas C, Bernal S, Fernández F, Pena López MJ, Fernández-Alonso M, García-Bujalance S, Echevarría MJ, Benítez L, García F, Aguilera A, On Behalf Of The Gehepseimc Genotyping Platform, GEHEP, SEIMC. *AIDS Reviews* 2015. Volume 17- supplement 1: 7-8.
157. Bielawski K, Wlasiuk M, Truskolawska M, Falkiewicz B. HCV infection in Poland. *Arch Med Res.* 2000 Sep-Oct;31(5):532-5.

158. Ambrozaitis A, Z Agminas KS, Balc Iūnaite G, Widell A. Hepatitis C in Lithuania: incidence, prevalence, risk factors and viral genotypes. *Clin Diagn Virol.* 1995 Dec;4(4):273-84.
159. Viazov S, Zibert A, Ramakrishnan K, Widell A, Cavicchini A, Schreier E, Roggendorf M. Typing of hepatitis C virus isolates by DNA enzyme immunoassay. *J Virol Methods.* 1994 Jun;48(1):81-91.
160. Viazov S, Kuzin S, Paladi N, Tchernovetsky M, Isaeva E, Mazhul L, Vasychova F, Widell A, Roggendorf M. Hepatitis C virus genotypes in different regions of the former Soviet Union (Russia, Belarus, Moldova, and Uzbekistan). *J Med Virol.* 1997 Sep;53(1):36-40.
161. Lvov DK, Samokhvalov EI, Tsuda F, Selivanov NA, Okamoto H, Stakhanova VM, Stakhgildyan IV, Doroshenko NV, Yashina TL, Kuzin SN, Suetina IA, Deryabin PG, Ruzaeva LA, Bezdodov VN, Firsova LA, Sorinson SN, Mishiro S. Prevalence of hepatitis C virus and distribution of its genotypes in Northern Eurasia. *Arch Virol.* 1996;141(9):1613-22.
162. Seme K, Poljak M, Lesnicar G, Brinovec V, Stepec S, Koren S. Distribution of hepatitis C virus genotypes in Slovenia. *Scand J Infect Dis.* 1997;29(1):29-31.
163. Hilleret MN, Zarski JP. Natural course of chronic viral hepatitis C after 22 years of development. *Gastroenterol Clin Biol.* 2002 Mar;26(3):303-4.
164. Quoilin S, Hutse V, Vandenberghe H, Claeys F, Verhaegen E, De Cock L, Van Loock F, Top G, Van Damme P, Vranckx R, Van Oyen H. A population-based prevalence study of hepatitis A, B and C virus using oral fluid in Flanders, Belgium. *Eur J Epidemiol.* 2007;22(3):195-202.
165. Gogos CA, Fouka KP, Nikiforidis G, Avgeridis K, Sakellaropoulos G, Bassaris H, Maniatis A, Skoutelis A. Prevalence of hepatitis B and C virus infection in the general population and selected groups in South-Western Greece. *Eur J Epidemiol.* 2003;18(6):551-7.
166. Dubois F, Desenclos JC, Mariotte N, Goudeau A. Hepatitis C in a French population-based survey, 1994: seroprevalence, frequency of viremia, genotype distribution, and risk factors. The Collaborative Study Group. *Hepatology.* 1997 Jun;25(6):1490-6.
167. Tretskaia TA, Shakhgil'dian IV, Iashina TL, Kravchenko VK, Liubchak VA, Mikhno LA, Grechishkin VS, D'iachenko AI, Favorov MO. The incidence of detecting hepatitis C viral antibodies in different age groups of the population in northeastern Ukraine. *Vopr Virusol.* 1993 May-Jun;38(3):137-8.
168. Stamenkovic G, Zerjav S, Velickovic ZM, Krtolica K, Samardzija VL, Jemuovic L, Nozic D, Dimitrijevic B. Distribution of HCV genotypes among risk groups in Serbia. *Eur J Epidemiol.* 2000;16(10):949-54.
169. Golubić D, Vurusić B, Kessler HH. Prevalence and significance of hepatitis C virus (HCV) genotypes in anti-HCV positive patients in northwest Croatia. *Acta Med Croatica.* 1997;51(2):79-82.

170. Paquet C, Babes VT, Drucker J, Sénémaud B, Dobrescu A. Viral hepatitis in Bucharest. *Bull World Health Organ.* 1993;71(6):781-6.
171. De Vos JY, Elseviers M, Harrington M, Zampieron A, Vlaminc H, Ormandy P, Kafkia T; EDTNA/ERCA Research Board. Infection control practice across Europe: results of the EPD. *EDTNA ERCA J.* 2006 Jan-Mar;32(1):38-41.
172. Niederau C, Kapagiannidis C. Epidemiology of hepatitis C in Germany. *Med Klin (Munich).* 2006 Jun 15;101(6):448-57.
173. Kretzsmar M. Available from: <www.rivm.nl> 2004; 1–13.
174. Bruguera M, Forns X. Hepatitis C in Spain. *Med Clin (Barc).* 2006 Jun 17;127(3):113-7. Review.
175. Dal Molin G, Ansaldi 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 Nov;68(3):352-6.
176. Santantonio T, Medda E, Ferrari C, Fabris P, Cariti G, Massari M, Babudieri S, Toti M, Francavilla R, Ancarani F, Antonucci G, Scotto G, Di Marco V, Pastore G, Stroffolini T. Risk factors and outcome among a large patient cohort with community-acquired acute hepatitis C in Italy. *Clin Infect Dis.* 2006 Nov 1;43(9):1154-9.
177. Westin J, Lindh M, Lagging LM, Norkrans G, Wejstål R. Chronic hepatitis C in Sweden: genotype distribution over time in different epidemiological settings. *Scand J Infect Dis.* 1999;31(4):355-8.
178. Harris KA, Gilham C, Mortimer PP, Teo CG. The most prevalent hepatitis C virus genotypes in England and Wales are 3a and 1a. *J Med Virol.* 1999 Jun;58(2):127-31.
179. Cenci M, Massi M, Alderisio M, De Soccio G, Recchia O. Prevalence of hepatitis C virus (HCV) genotypes and increase of type 4 in central Italy: an update and report of a new method of HCV genotyping. *Anticancer Res.* 2007 Mar-Apr;27(2):1219-22.
180. Corbet S, Bukh J, Heinsen A, Fomsgaard A. Hepatitis C virus subtyping by a core-envelope 1-based reverse transcriptase PCR assay with sequencing and its use in determining subtype distribution among Danish patients. *J Clin Microbiol.* 2003 Mar;41(3):1091-100.
181. de Vries MJ, te Rijdt B, van Nieuwkerk CM. Genotype distribution amongst hepatitis C patients in The Netherlands. *Neth J Med.* 2006 Apr;64(4):109-13.
182. Pohjanpelto P, Lappalainen M, Widell A, Asikainen K, Paunio M. Hepatitis C genotypes in Finland determined by RFLP. *Clin Diagn Virol.* 1996 Oct;7(1):7-16.
183. Bell H, Hellum K, Harthug S, Maeland A, Ritland S, Myrvang B, von der Lippe B, Raknerud N, Skaug K, Prescott L, Simmonds P. Prevalence of hepatitis C genotypes among patients with chronic hepatitis C in Norway. *Construct Group. Scand J Infect Dis.* 1996;28(4):357-9.

184. Hajarizadeh B, Grebely J, Dore GJ. Epidemiology and natural history of HCV infection. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013 Sep;10(9):553-62.
185. Pena MJ, Mosquera MM, Pérez MC, Rodríguez San Román JL, Martín JM, Avalos O, Lafarga B. Prevalence of hepatitis C virus genotypes: epidemiology and histologic characteristics. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 1998 Dec;16(10):456-60.
186. Ramos-Sánchez MC, Torío-Cabezón R, Mazón-Ramos MA, Martín-Gil FJ, del Alamo M. Hepatitis C virus genotype 4 in a North-west Spain district. *J Clin Virol*. 2003 Oct;28(2):223-4.
187. Rodríguez JC, García J, Moya I, Ayelo A, Vázquez N, Sillero C, Royo G. Genetic variability of hepatitis C virus in the health area of Elche (Spain). Correlation between core antigen and viral load. *Gastroenterol Hepatol*. 2003 Aug-Sep;26(7):407-10.
188. Echevarría JM, León P, Pozo F, Avellón A. Follow-up of the prevalence of hepatitis C virus genotypes in Spain during a nine-year period (1996-2004). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2006 Jan;24(1):20-5.
189. Buti M, Franco A, Carmona I, Sánchez-Ruano JJ, Sansó A, Berenguer M, García-Buey L, Hernández-Guerra M, Morillas RM, Ledesma F, Esteban R; disHCovery Study Group. Profiles and clinical management of hepatitis C patients in Spain: disHCovery study. *Rev Esp Quimioter*. 2015 Jun;28(3):145-53.
190. Bravo R, Soriano V, García-Samaniego J, González J, Castro A, Colmenero M, Carballo E, Mas A, González-Lahoz J. Prevalence of the genotypes of the hepatitis C virus in Spanish drug addicts with chronic hepatitis C. Spanish Group for the Study of Viral Hepatitis in HIV Positive Patients. *Rev Clin Esp*. 1996 Oct;196(10):673-7.
191. García F, Roldán C, García F Jr, Hernández J, García-Valdecasas J, Bernal MC, Piédrola G, Maroto MC. Subtype distribution among intravenous drug users with chronic type C hepatitis in southern Spain. *Microbios*. 1998;95(380):15-24.
192. Ramos B, Núñez M, Toro C, Sheldon J, García-Samaniego J, Ríos P, Soriano V. Changes in the distribution of hepatitis C virus (HCV) genotypes over time in Spain according to HIV serostatus: implications for HCV therapy in HCV/HIV-coinfected patients. *J Infect*. 2007 Feb;54(2):173-9.
193. Alonso Alonso P, Orduña A, San Miguel A, Dominguez E, Bratos MA, Gutierrez MP, Eiros JM, Inglada L, Gonzalez Hernandez JM, Rodriguez Torres A. Relation of hepatitis C virus genotypes to risk factors and hepatic disease in Spanish patients. *Clin Microbiol Infect*. 1997 Feb;3(6):647-652.
194. Touceda S, Pereira M, Agulla A. Prevalence of hepatitis C virus genotypes in the area of El Ferrol (La Coruña, Spain). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2002 May;20(5):200-4.
195. Martinez SM, Delgado MB, Castroagudín JF, Aguilera A. High rate of infection with hepatitis C virus genotype 4 in a district of Galicia, Spain. *J Clin Microbiol*. 2005 Oct;43(10):5403-4.

196. Chen M, Yun ZB, Sällberg M, Schvarcz R, Bergquist I, Berglund HB, Sönerborg A. Detection of hepatitis C virus RNA in the cell fraction of saliva before and after oral surgery. *J J Med Virol.* 1995 Feb;45(2):223-6.
197. Wang JT, Wang TH, Sheu JC, Lin JT, Chen DS. Hepatitis C virus RNA in saliva of patients with posttransfusion hepatitis and low efficiency of transmission among spouses. *J Med Virol.* 1992 Jan;36(1):28-31.
198. Fiore RJ, Potenza D, Monno L, Appice A, DiStefano M, Giannelli A, LaGrasta L, Romanelli C, DiBari C, Pastore G. Detection of HCV RNA in serum and seminal fluid from HIV-1 co-infected intravenous drug addicts. *J Med Virol.* 1995 Aug;46(4):364-7.
199. Mendel I, Muraine M, Riachi G, el Forzli F, Bertin C, Colin R, Brasseur G, Buffet-Janvresse C. Detection and genotyping of the hepatitis C RNA in tear fluid from patients with chronic hepatitis C. *J Med Virol.* 1997 Mar;51(3):231-3.
200. Lerat H, Berby F, Trabaud MA, Vidalin O, Major M, Trépo C, Inchauspé G. Specific detection of hepatitis C virus minus strand RNA in hematopoietic cells. *J Clin Invest.* 1996; *J Clin Invest.* 1996 Feb 1;97(3):845-51.
201. Blanchette V, Walker I, Gill P, Adams M, Roberts R, Inwood M. Hepatitis C infection in patients with hemophilia: results of a national survey. Canadian Hemophilia Clinic Directors Group. *Transfus Med Rev.* 1994 Jul;8(3):210-7.
202. Kinoshita T, Miyake K, Okamoto H, Mishiro S. Imported hepatitis C virus genotypes in Japanese hemophiliacs. *J Infect Dis.* 1993 Jul;168(1):249-50.
203. Morfini M, Mannucci PM, Ciavarella N, Schiavoni M, Gringeri A, Rafanelli D, Di Bona E, Chistolini A, Tagliaferri A, Rodorigo G, *et al.* Prevalence of infection with the hepatitis C virus among Italian hemophiliacs before and after the introduction of virally inactivated clotting factor concentrates: a retrospective evaluation. *Vox Sang.* 1994;67(2):178-82.
204. Yap PL, McOmish F, Webster AD, Hammarstrom L, Smith CI, Bjorkander J, Ochs HD, Fischer SH, Quinti I, Simmonds P. Hepatitis C virus transmission by intravenous immunoglobulin. *J Hepatol.* 1994 Sep;21(3):455-60.
205. Vrieling H, Reésink HW, Zaaijer HL, Scholten E, Kremer LC, Cuypers HT, Lelie PN, van Oers MH, van der Poel CL. Look-back of anti-HCV ELISA-positive, HCV-RNA PCR-negative donors and recipients of their blood products. *Vox Sang.* 1997;72(2):67-70.
206. Esteban JI, López-Talavera JC, Genescà J, Madoz P, Viladomiu L, Muñiz E, Martín-Vega C, Rosell M, Allende H, Vidal X, *et al.* High rate of infectivity and liver disease in blood donors with antibodies to hepatitis C virus. *Ann Intern Med.* 1991 Sep 15;115(6):443-9.
207. Eyster ME, Diamondstone LS, Lien JM, Ehmann WC, Quan S, Goedert JJ. Natural history of hepatitis C virus infection in multitransfused hemophiliacs: effect of coinfection with human immunodeficiency virus. The Multicenter Hemophilia Cohort Study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 1993 Jun;6(6):602-10.

208. Lai ME, Mazzoleni AP, Argioliu F, De Virgilis S, Balestrieri A, Purcell RH, Cao A, Farci P. Hepatitis C virus in multiple episodes of acute hepatitis in polytransfused thalassaemic children. *Lancet*. 1994 Feb 12;343(8894):388-90.
209. de Montalembert M, Costagliola DG, Lefrère JJ, Cornu G, Lombardo T, Cosentino S, Perrimond H, Girot R. Prevalence of markers for human immunodeficiency virus types 1 and 2, human T-lymphotropic virus type I, cytomegalovirus, and hepatitis B and C virus in multiply transfused thalassemia patients. The French Study Group On Thalassaemia. *Transfusion*. 1992 Jul-Aug;32(6):509-12.
210. Brettler DB, Alter HJ, Dienstag JL, Forsberg AD, Levine PH. Prevalence of hepatitis C virus antibody in a cohort of hemophilia patients. *Blood*. 1990 Jul 1;76(1):254-6.
211. Pereira BJ, Milford EL, Kirkman RL, Quan S, Sayre KR, Johnson PJ, Wilber JC, Levey AS. Prevalence of hepatitis C virus RNA in organ donors positive for hepatitis C antibody and in the recipients of their organs. *N Engl J Med*. 1992 Sep 24;327(13):910-5.
212. Terrault NA & Wright TL. Hepatitis C virus in the setting of transplantation. *Semin Liver Dis*. 1995 Feb;15(1):92-100. Review.
213. Pereira BJ, Milford EL, Kirkman RL, Levey AS. Transmission of hepatitis C virus by organ transplantation. *N Engl J Med*. 1991 Aug 15;325(7):454-60.
214. König V, Bauditz J, Lobeck H, Lüsebrink R, Neuhaus P, Blumhardt G, Bechstein WO, Neuhaus R, Steffen R, Hopf U. Hepatitis C virus reinfection in allografts after orthotopic liver transplantation. *Hepatology*. 1992 Nov;16(5):1137-43.
215. Allander T, Gruber A, Naghavi M, Beyene A, Söderström T, Björkholm M, Grillner L, Persson MA. Frequent patient-to-patient transmission of hepatitis C virus in a haematology ward. *Lancet*. 1995 Mar 11;345(8950):603-7.
216. Schvarcz R, Johansson B, Nyström B, Sönnnerborg A. Nosocomial transmission of hepatitis C virus. *Infection*. 1997 Mar-Apr;25(2):74-7.
217. Munro J, Briggs JD, McCrudden EA. Detection of a cluster of hepatitis C infections in a renal transplant unit by analysis of sequence variation of the NS5a gene. *J Infect Dis*. 1996 Jul;174(1):177-80.
218. Kiyosawa K, Sodeyama T, Tanaka E, Nakano Y, Furuta S, Nishioka K, Purcell RH, Alter HJ. Hepatitis C in hospital employees with needlestick injuries *Ann Intern Med*. 1991 Sep 1;115(5):367-9.
219. Ridzon R, Gallagher K, Ciesielski C, Ginsberg MB, Robertson BJ, Luo CC, DeMaria A Jr. Simultaneous transmission of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus from a needle-stick injury. *N Engl J Med*. 1997 Mar 27;336(13):919-22.
220. Mitsui T, Iwano K, Masuko K, Yamazaki C, Okamoto H, Tsuda F, Tanaka T, Mishiro S. Hepatitis C virus infection in medical personnel after needlestick accident. *Hepatology*. 1992 Nov;16(5):1109-14.

221. Esteban JI, Gómez J, Martell M, Cabot B, Quer J, Camps J, González A, Otero T, Moya A, Esteban R, *et al.* Transmission of hepatitis C virus by a cardiac surgeon. *N Engl J Med.* 1996 Feb 29;334(9):555-60..
222. Bolumar F, Hernandez-Aguado I, Ferrer L, Ruiz I, Aviño MJ, Rebagliato M. Prevalence of antibodies to hepatitis C in a population of intravenous drug users in Valencia, Spain, 1990-1992. *Int J Epidemiol.* 1996 Feb;25(1):204-9.
223. Girardi E, Zaccarelli M, Tossini G, Puro V, Narciso P, Visco G. Hepatitis C virus infection in intravenous drug users: prevalence and risk factors. *Scand J Infect Dis.* 1990;22(6):751-2.
224. Bell J, Batey RG, Farrell GC, Crewe EB, Cunningham AL, Byth K. Hepatitis C virus in intravenous drug users. *Med J Aust.* 1990 Sep 3;153(5):274-6.
225. Van Ameijden EJ, Van den Hoek JA, Mientjes GH, Coutinho RA. A longitudinal study on the incidence and transmission patterns of HIV, HBV and HCV infection among drug users in Amsterdam. *Eur J Epidemiol.* 1993 May;9(3):255-62.
226. Patti AM, Santi AL, Pompa MG, Giustini C, Vescia N, Mastroeni I, Fara GM. Viral hepatitis and drugs: a continuing problem. *Int J Epidemiol.* 1993 Feb;22(1):135-9.
227. Sun DX, Zhang FG, Geng YQ, Xi DS. Hepatitis C transmission by cosmetic tattooing in women. *Lancet.* 1996 Feb 24;347(9000):541.
228. Dusheiko GM, Smith M, Scheuer PJ. Hepatitis C virus transmitted by human bite. *Lancet.* 1990 Aug 25;336(8713):503-4.
229. Liou TC, Chang TT, Young KC, Lin XZ, Lin CY, Wu HL. Detection of HCV RNA in saliva, urine, seminal fluid, and ascites. *J Med Virol.* 1992 Jul;37(3):197-202.
230. Thomas DL, Cannon RO, Shapiro CN, Hook EW 3rd, Alter MJ, Quinn TC. Hepatitis C, hepatitis B, and human immunodeficiency virus infections among non-intravenous drug-using patients attending clinics for sexually transmitted diseases. *J Infect Dis.* 1994 May;169(5):990-5.
231. Thomas DL, Zenilman JM, Alter HJ, Shih JW, Galai N, Carella AV, Quinn TC. Sexual transmission of hepatitis C virus among patients attending sexually transmitted diseases clinics in Baltimore--an analysis of 309 sex partnerships. *J Infect Dis.* 1995 Apr;171(4):768-75.
232. Utsumi T, Hashimoto E, Okumura Y, Takayanagi M, Nishikawa H, Kigawa M, Kumakura N, Toyokawa H. Heterosexual activity as a risk factor for the transmission of hepatitis C virus. *J Med Virol.* 1995 Jun;46(2):122-5.
233. Akahane Y, Kojima M, Sugai Y, Sakamoto M, Miyazaki Y, Tanaka T, Tsuda F, Mishiro S, Okamoto H, Miyakawa Y, Mayumi M. Hepatitis C virus infection in spouses of patients with type C chronic liver disease. *Ann Intern Med.* 1994 May 1;120(9):748-52.

234. Chayama K, Kobayashi M, Tsubota A, Koida I, Arase Y, Saitoh S, Ikeda K, Kumada H. Molecular analysis of intraspousal transmission of hepatitis C virus. *J Hepatol.* 1995 Apr;22(4):431-9.
235. Bresters D, Mauser-Bunschoten EP, Reesink HW, Roosendaal G, van der Poel CL, Chamuleau RA, Jansen PL, Weegink CJ, Cuypers HT, Lelie PN, *et al.* Sexual transmission of hepatitis C virus. *Lancet.* 1993 Jul 24;342(8865):210-1.
236. Gordon SC, Patel AH, Kulesza GW, Barnes RE, Silverman AL. Lack of evidence for the heterosexual transmission of hepatitis C. *Am J Gastroenterol.* 1992 Dec;87(12):1849-51.
237. Melbye M, Biggar RJ, Wantzin P, Krogsgaard K, Ebbesen P, Becker NG. Sexual transmission of hepatitis C virus: cohort study (1981-9) among European homosexual men. *BMJ.* 1990 Jul 28;301(6745):210-2.
238. Osmond DH, Charlebois E, Sheppard HW, Page K, Winkelstein W, Moss AR, Reingold A. Comparison of risk factors for hepatitis C and hepatitis B virus infection in homosexual men. *J Infect Dis.* 1993 Jan;167(1):66-71.
239. Bodsworth NJ, Cunningham P, Kaldor J, Donovan B. Hepatitis C virus infection in a large cohort of homosexually active men: independent associations with HIV-1 infection and injecting drug use but not sexual behaviour. *Genitourin Med.* 1996 Apr;72(2):118-22.
240. Donahue JG, Nelson KE, Muñoz A, Vlahov D, Rennie LL, Taylor EL, Saah AJ, Cohn S, Odaka NJ, Farzadegan H. Antibody to hepatitis C virus among cardiac surgery patients, homosexual men, and intravenous drug users in Baltimore, Maryland. *Am J Epidemiol.* 1991 Nov 15;134(10):1206-11.
241. Zaaier HL, Cuypers HT, Reesink HW, Winkel IN, Gerken G, Lelie PN. Reliability of polymerase chain reaction for detection of hepatitis C virus. *Lancet.* 1993 Mar 20;341(8847):722-4.
242. Roudot-Thoraval F, Pawlotsky JM, Thiers V, Deforges L, Girollet PP, Guillot F, Huraux C, Aumont P, Brechot C, Dhumeaux D. Lack of mother-to-infant transmission of hepatitis C virus in human immunodeficiency virus-seronegative women: a prospective study with hepatitis C virus RNA testing. *Hepatology.* 1993 May;17(5):772-7.
243. Resti M, Azzari C, Mannelli F, Moriondo M, Novembre E, de Martino M, Vierucci A. Mother to child transmission of hepatitis C virus: prospective study of risk factors and timing of infection in children born to women seronegative for HIV-1. Tuscany Study Group on Hepatitis C Virus Infection. *BMJ.* 1998 Aug 15;317(7156):437-41.
244. Ogasawara S, Kage M, Kosai K, Shimamatsu K, Kojiro M. Hepatitis C virus RNA in saliva and breastmilk of hepatitis C carrier mothers. *Lancet.* 1993 Feb 27;341(8844):561.

245. Ohto H, Terazawa S, Sasaki N, Sasaki N, Hino K, Ishiwata C, Kako M, Ujiie N, Endo C, Matsui A, *et al.* Transmission of hepatitis C virus from mothers to infants. The Vertical Transmission of Hepatitis C Virus Collaborative Study Group. *N Engl J Med.* 1994 Mar 17;330(11):744-50.
246. Zanetti AR, Tanzi E, Newell ML. Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *J Hepatol.* 1999;31 Suppl 1:96-100.
247. Wejstål R, Widell A, Månsson AS, Hermodsson S, Norkrans G. Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Ann Intern Med.* 1992 Dec 1;117(11):887-90.
248. Resti M, Azzari C, Lega L, Rossi ME, Zammarchi E, Novembre E, Vierucci A. Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Acta Paediatr.* 1995 Mar;84(3):251-5.
249. Kumar RM, Shahul S. Role of breast-feeding in transmission of hepatitis C virus to infants of HCV-infected mothers. *J Hepatol.* 1998 Aug;29(2):191-7.
250. Dore GJ, Kaldor JM, McCaughan GW. Systematic review of role of polymerase chain reaction in defining infectiousness among people infected with hepatitis C virus. *BMJ.* 1997 Aug 9;315(7104):333-7.
251. Thomas DL, Villano SA, Riestler KA, Hershow R, Mofenson LM, Landesman SH, Hollinger FB, Davenny K, Riley L, Diaz C, Tang HB, Quinn TC. Perinatal transmission of hepatitis C virus from human immunodeficiency virus type 1-infected mothers. Women and Infants Transmission Study. *J Infect Dis.* 1998 Jun;177(6):1480-8.
252. Lam JP, McOmish F, Burns SM, Yap PL, Mok JY, Simmonds P. Infrequent vertical transmission of hepatitis C virus. *J Infect Dis.* 1993 Mar;167(3):572-6.
253. Thomas DL, Shih JW, Alter HJ, Vlahov D, Cohn S, Hoover DR, Cheung L, Nelson KE. Effect of human immunodeficiency virus on hepatitis C virus infection among injecting drug users. *J Infect Dis.* 1996 Oct;174(4):690-5.
254. Sherman KE, O'Brien J, Gutierrez AG, Harrison S, Urdea M, Neuwald P, Wilber J. Quantitative evaluation of hepatitis C virus RNA in patients with concurrent human immunodeficiency virus infections. *J Clin Microbiol.* 1993 Oct;31(10):2679-82.
255. Paradis V, Scoazec JY, Köllinger M, Holstege A, Moreau A, Feldmann G, Bedossa P. Cellular and subcellular localization of acetaldehyde-protein adducts in liver biopsies from alcoholic patients. *J Histochem Cytochem.* 1996 Sep;44(9):1051-7.
256. Matsuoka M & Tsukamoto H. Stimulation of hepatic lipocyte collagen production by Kupffer cell-derived transforming growth factor beta: implication for a pathogenetic role in alcoholic liver fibrogenesis. *Hepatology.* 1990 Apr;11(4):599-605.
257. Shi Z, Wakil AE, Rockey DC. Strain-specific differences in mouse hepatic wound healing are mediated by divergent T helper cytokine responses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Sep 30;94(20):10663-8.
258. Orland JR, Wright TL, Cooper S. Acute hepatitis C. *Hepatology.* 2001 Feb;33(2):321-7.

259. Cox AL, Netski DM, Mosbrugger T, Sherman SG, Strathdee S, Ompad D, Vlahov D, Chien D, Shyamala V, Ray SC, Thomas DL. Prospective evaluation of community-acquired acute-phase hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis*. 2005 Apr 1;40(7):951-8.
260. Page-Shafer K, Pappalardo BL, Tobler LH, Phelps BH, Edlin BR, Moss AR, Wright TL, Wright DJ, O'Brien TR, Caglioti S, Busch MP. Testing strategy to identify cases of acute hepatitis C virus (HCV) infection and to project HCV incidence rates. *J Clin Microbiol*. 2008 Feb;46(2):499-506.
261. Glynn SA, Wright DJ, Kleinman SH, Hirschhorn D, Tu Y, Heldebrant C, Smith R, Giachetti C, Gallarda J, Busch MP. Dynamics of viremia in early hepatitis C virus infection. *Transfusion*. 2005 Jun;45(6):994-1002.
262. Mosley JW, Operskalski EA, Tobler LH, Andrews WW, Phelps B, Dockter J, Giachetti C, Busch MP. Viral and host factors in early hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2005 Jul;42(1):86-92.
263. Haber MM, West AB, Haber AD, Reuben A. Relationship of aminotransferases to liver histological status in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 1995 Aug;90(8):1250-7.
264. Shakil AO, Conry-Cantilena C, Alter HJ, Hayashi P, Kleiner DE, Tedeschi V, Krawczynski K, Conjeevaram HS, Sallie R, Di Bisceglie AM. Volunteer blood donors with antibody to hepatitis C virus: clinical, biochemical, virologic, and histologic features. The Hepatitis C Study Group. *Ann Intern Med*. 1995 Sep 1;123(5):330-7.
265. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2015. *Journal of Hepatology* 2015 vol. 63 j 199–236.
266. Micallef JM, Kaldor JM, Dore GJ. Spontaneous viral clearance following acute hepatitis C infection: a systematic review of longitudinal studies. *J Viral Hepat*. 2006 Jan;13(1):34-41.
267. Page K, Hahn JA, Evans J, Shiboski S, Lum P, Delwart E, Tobler L, Andrews W, Avanesyan L, Cooper S, Busch MP. Acute hepatitis C virus infection in young adult injection drug users: a prospective study of incident infection, resolution, and reinfection. *J Infect Dis*. 2009 Oct 15;200(8):1216-26.
268. Lemon SM. Induction and evasion of innate antiviral responses by hepatitis C virus. *J Biol Chem*. 2010 Jul 23;285(30):22741-7.
269. Takaki A, Wiese M, Maertens G, Depla E, Seifert U, Liebetrau A, Miller JL, Manns MP, Rehermann B. Cellular immune responses persist and humoral responses decrease two decades after recovery from a single-source outbreak of hepatitis C. *Nat Med*. 2000 May;6(5):578-82.

270. Tillmann HL, Thompson AJ, Patel K, Wiese M, Tenckhoff H, Nischalke HD, Lokhnygina Y, Kullig U, Göbel U, Capka E, Wiegand J, Schiefke I, Güthoff W, Grüngreiff K, König I, Spengler U, McCarthy J, Shianna KV, Goldstein DB, McHutchison JG, Timm J, Nattermann J; German Anti-D Study Group. A polymorphism near IL28B is associated with spontaneous clearance of acute hepatitis C virus and jaundice. *Gastroenterology*. 2010 Nov;139(5):1586-92, 1592.e1.
271. Grebely J, Petoumenos K, Hellard M, Matthews GV, Suppiah V, Applegate T, Yeung B, Marks P, Rawlinson W, Lloyd AR, Booth D, Kaldor JM, George J, Dore GJ; ATAHc Study Group. Potential role for interleukin-28B genotype in treatment decision-making in recent hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2010 Oct;52(4):1216-24.
272. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, Qi Y, Ge D, O'Huigin C, Kidd J, Kidd K, Khakoo SI, Alexander G, Goedert JJ, Kirk GD, Donfield SM, Rosen HR, Tobler LH, Busch MP, McHutchison JG, Goldstein DB, Carrington M. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature*. 2009 Oct 8;461(7265):798-801.
273. Ray SC, Wang YM, Laeyendecker O, Ticehurst JR, Villano SA, Thomas DL. Acute hepatitis C virus structural gene sequences as predictors of persistent viremia: hypervariable region 1 as a decoy. *J Virol*. 1999 Apr;73(4):2938-46.
274. Harris HE, Eldridge KP, Harbour S, Alexander G, Teo CG, Ramsay ME; HCV National Register Steering Group. Does the clinical outcome of hepatitis C infection vary with the infecting hepatitis C virus type? *J Viral Hepat*. 2007 Mar;14(3):213-20.
275. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet*. 1997 Mar 22;349(9055):825-32.
276. Wiley TE, Brown J, Chan J. Hepatitis C infection in African Americans: its natural history and histological progression. *Am J Gastroenterol*. 2002 Mar;97(3):700-6.
277. Minola E, Prati D, Suter F, Maggiolo F, Caprioli F, Sonzogni A, Fraquelli M, Paggi S, Conte D. Age at infection affects the long-term outcome of transfusion-associated chronic hepatitis C. *Blood*. 2002 Jun 15;99(12):4588-91.
278. Hui JM, Sud A, Farrell GC, Bandara P, Byth K, Kench JG, McCaughan GW, George J. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C virus infection and fibrosis progression. *Gastroenterology*. 2003 Dec;125(6):1695-704.
279. Gaeta GB, Stornaiuolo G, Precone DF, Lobello S, Chiamonte M, Stroffolini T, Colucci G, Rizzetto M. Epidemiological and clinical burden of chronic hepatitis B virus/hepatitis C virus infection. A multicenter Italian study. *J Hepatol*. 2003 Dec;39(6):1036-41.
280. Ratziu V, Munteanu M, Charlotte F, Bonyhay L, Poynard T; LIDO Study Group. Fibrogenic impact of high serum glucose in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2003 Dec;39(6):1049-55.

281. Hourigan LF, Macdonald GA, Purdie D, Whitehall VH, Shorthouse C, Clouston A, Powell EE. Fibrosis in chronic hepatitis C correlates significantly with body mass index and steatosis. *Hepatology*. 1999 Apr;29(4):1215-9.
282. Leandro G, Mangia A, Hui J, Fabris P, Rubbia-Brandt L, Colloredo G, Adinolfi LE, Asselah T, Jonsson JR, Smedile A, Terrault N, Paziienza V, Giordani MT, Giostra E, Sonzogni A, Ruggiero G, Marcellin P, Powell EE, George J, Negro F; HCV Meta-Analysis (on) Individual Patients' Data Study Group. Relationship between steatosis, inflammation, and fibrosis in chronic hepatitis C: a meta-analysis of individual patient data. *Gastroenterology*. 2006 May;130(6):1636-42.
283. Hutchinson SJ, Bird SM, Goldberg DJ. Influence of alcohol on the progression of hepatitis C virus infection: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005 Nov;3(11):1150-9.
284. Garcia-Tsao G, Friedman S, Iredale J, Pinzani M. Now there are many (stages) where before there was one: In search of a pathophysiological classification of cirrhosis. *Hepatology*. 2010 Apr;51(4):1445-9.
285. Bartres C, Lens S. Elastography of the liver (Fibroscan®) in hepatology. *Rev Esp Enferm Dig*. 2013 Apr;105(4):235.
286. European Association for the Study of the Liver & Asociación Latinoamericana para el Estudio del Hígado. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *Journal of Hepatology* 2015 vol. 63 j 237–264
287. Boursier J, Rousselet MC, Aubé C, Calès P. Liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: diagnostic options in clinical practice. *Expert Opin Med Diagn*. 2012 Sep;6(5):381-94.
288. Benvegnù L, Gios M, Boccato S, Alberti A. Natural history of compensated viral cirrhosis: a prospective study on the incidence and hierarchy of major complications. *Gut*. 2004 May;53(5):744-9.
289. D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol*. 2006 Jan;44(1):217-31.
290. Freeman AJ, Dore GJ, Law MG, Thorpe M, Von Overbeck J, Lloyd AR, Marinos G, Kaldor JM. Estimating progression to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2001 Oct;34(4 Pt 1):809-16.
291. Thein HH, Yi Q, Dore GJ, Krahn MD. Estimation of stage-specific fibrosis progression rates in chronic hepatitis C virus infection: a meta-analysis and meta-regression. *Hepatology*. 2008 Aug;48(2):418-31.
292. Grebely J, Dore GJ. What is killing people with hepatitis C virus infection? *Semin Liver Dis*. 2011 Nov;31(4):331-9.

293. El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology*. 2007 Jun;132(7):2557-76.
294. Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology*. 2004 Nov;127(5 Suppl 1):S35-50.
295. Hamada H, Yatsunami H, Yano K, Daikoku M, Arisawa K, Inoue O, Koga M, Nakata K, Eguchi K, Yano M. Impact of aging on the development of hepatocellular carcinoma in patients with posttransfusion chronic hepatitis C. *Cancer*. 2002 Jul 15;95(2):331-9.
296. Raimondi S, Bruno S, Mondelli MU, Maisonneuve P. Hepatitis C virus genotype 1b as a risk factor for hepatocellular carcinoma development: a meta-analysis. *J Hepatol*. 2009 Jun;50(6):1142-54.
297. Johnson RJ, Gretch DR, Yamabe H, Hart J, Bacchi CE, Hartwell P, Couser WG, Corey L, Wener MH, Alpers CE, *et al*. Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 1993 Feb 18;328(7):465-70.
298. Agnello V, Chung RT, Kaplan LM. A role for hepatitis C virus infection in type II cryoglobulinemia. *N Engl J Med*. 1992 Nov 19;327(21):1490-5.
299. Misiani R, Bellavita P, Fenili D, Borelli G, Marchesi D, Massazza M, Vendramin G, Comotti B, Tanzi E, Scudeller G, *et al*. Hepatitis C virus infection in patients with essential mixed cryoglobulinemia. *Ann Intern Med*. 1992 Oct 1;117(7):573-7.
300. Fargion S, Piperno A, Cappellini MD, Sampietro M, Fracanzani AL, Romano R, Caldarelli R, Marcelli R, Vecchi L, Fiorelli G. Hepatitis C virus and porphyria cutanea tarda: evidence of a strong association. *Hepatology*. 1992 Dec;16(6):1322-6.
301. DeCastro M, Sánchez J, Herrera JF, Chaves A, Durán R, García-Buey L, García-Monzón C, Sequí J, Moreno-Otero R. Hepatitis C virus antibodies and liver disease in patients with porphyria cutanea tarda. *Hepatology*. 1993 Apr;17(4):551-7.
302. Gumber SC, Chopra S. Hepatitis C: a multifaceted disease. Review of extrahepatic manifestations. *Ann Intern Med*. 1995 Oct 15;123(8):615-20.
303. Tran A, Quaranta JF, Benzaken S, Thiers V, Chau HT, Hastier P, Regnier D, Dreyfus G, Pradier C, Sadoul JL, *et al*. High prevalence of thyroid autoantibodies in a prospective series of patients with chronic hepatitis C before interferon therapy. *Hepatology*. 1993 Aug;18(2):253-7.
304. CDC. Testing Recommendations for Hepatitis C Virus Infection. October 15, 2015. <http://www.cdc.gov/hepatitis/hcv/guidelinesc.htm>.
305. Barrera JM, Francis B, Ercilla G, Nelles M, Achord D, Darner J, Lee SR. Improved detection of anti-HCV in post-transfusion hepatitis by a third-generation ELISA. *Vox Sang*. 1995;68(1):15-8.
306. Colin C, Lanoir D, Touzet S, Meyaud-Kraemer L, Bailly F, Trepo C; HEPATITIS Group. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature. *J Viral Hepat*. 2001 Mar;8(2):87-95.

307. Smith BD, Drobeniuc J, Jewett A, Branson BM, Garfein RS, Teshale E, Kamili S, Weinbaum CM. Evaluation of three rapid screening assays for detection of antibodies to hepatitis C virus. *J Infect Dis.* 2011 Sep 15;204(6):825-31.
308. Smith BD, Teshale E, Jewett A, Weinbaum CM, Neaigus A, Hagan H, Jenness SM, Melville SK, Burt R, Thiede H, Al-Tayyib A, Pannala PR, Miles IW, Oster AM, Smith A, Finlayson T, Bowles KE, Dinunno EA. Performance of premarket rapid hepatitis C virus antibody assays in 4 national human immunodeficiency virus behavioral surveillance system sites. *Clin Infect Dis.* 2011 Oct;53(8):780-6.
309. Pawlotsky JM. Use and interpretation of hepatitis C virus diagnostic assays. *Clin Liver Dis.* 2003 Feb;7(1):127-37. Review.
310. Hosseini-Moghaddam SM, Iran-Pour E, Rotstein C, Husain S, Lilly L, Renner E, Mazzulli T. Hepatitis C core Ag and its clinical applicability: potential advantages and disadvantages for diagnosis and follow-up? *Rev Med Virol.* 2012 May;22(3):156-65.
311. AASLD 2015. <http://www.aasld.org/publications/practice-guidelines-0>
312. 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 Mar 2;140(5):346-55.
313. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK, Goodman ZD, Ling MH, Cort S, Albrecht JK. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998 Nov 19;339(21):1485-92.
314. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, Niederau C, Minuk GS, Ideo G, Bain V, Heathcote J, Zeuzem S, Trepo C, Albrecht J. Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. International Hepatitis Interventional Therapy Group (IHIT). *Lancet.* 1998 Oct 31;352(9138):1426-32.
315. Manns M, McHutchison JG, Gordorn S, Rustgi V, Lee MV, Ling ML, *et al.* Pegylated interferon alpha 2b (PEG IFN) plus ribavirin (R) for treatment of chronic hepatitis C: Optimization of ribavirin dose. *J Hepatol* 2001;34:236-36.
316. Idrees M, Riazuddin S. A study of best positive predictors for sustained virologic response to interferon alpha plus ribavirin therapy in naive chronic hepatitis C patients. *BMC Gastroenterol.* 2009 Jan 20;9:5.
317. Poynard T, Colombo M, Bruix J, Schiff E, Terg R, Flamm S, Moreno-Otero R, Carrilho F, Schmidt W, Berg T, McGarrity T, Heathcote EJ, Gonçalves F, Diago M, Craxi A, Silva M, Bedossa P, Mukhopadhyay P, Griffel L, Burroughs M, Brass C, Albrecht J; Epic Study Group. Peginterferon alfa-2b and ribavirin: effective in patients with hepatitis C who failed interferon alfa/ribavirin therapy. *Gastroenterology.* 2009 May;136(5):1618-28.e2.

318. Romero-Gómez M, Del Mar Vioria M, Andrade RJ, Salmerón J, Diago M, Fernández-Rodríguez CM, Corpas R, Cruz M, Grande L, Vázquez L, Muñoz-De-Rueda P, López-Serrano P, Gila A, Gutiérrez ML, Pérez C, Ruiz-Extremera A, Suárez E, Castillo J. Insulin resistance impairs sustained response rate to peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology*. 2005 Mar;128(3):636-41.
319. Hoofnagle JH, Wahed AS, Brown RS Jr, Howell CD, Belle SH; Virahep-C Study Group. Early changes in hepatitis C virus (HCV) levels in response to peginterferon and ribavirin treatment in patients with chronic HCV genotype 1 infection. *J Infect Dis*. 2009 Apr 15;199(8):1112-20.
320. Hsu CS, Liu CH, Liu CJ, Chen CL, Lai MY, Chen PJ, Chen DS, Kao JH. Factors affecting early viral load decline of Asian chronic hepatitis C patients receiving pegylated interferon plus ribavirin therapy. *Antivir Ther*. 2009;14(1):45-54.
321. Zeuzem S, Fried MW, Reddy K, *et al*. Improving the clinical relevance of pre-treatment viral load as a predictor of sustained virological response (SVR) in patients infected with hepatitis C genotype 1 treated with peginterferon alfa-2a (40KD) (Pegasys®) plus Ribavirin (Copegus®). 57th Annual meeting of The American Association for the study of Liver Diseases, Boston 2006. *Hepatology* 2006;44:267A-268A.
322. Martinot-Peignoux M, Ripault MP, Maylin S, Boyer N, Giuily N, Castelnau C, *et al*. Optimal pre-treatment viral load cutoff to predict treatment outcome in patients with chronic hepatitis C treated with peginterferon alfa-2b plus ribavirin. 42nd Annual Meeting of the EASL, Barcelona 2007. *J Hepatol* 2007;46:S234.
323. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ, Heinzen EL, Qiu P, Bertelsen AH, Muir AJ, Sulkowski M, McHutchison JG, Goldstein DB. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature*. 2009 Sep 17;461(7262):399-401.
324. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Matsuura K, Sakamoto N, Nakagawa M, Korenaga M, Hino K, Hige S, Ito Y, Mita E, Tanaka E, Mochida S, Murawaki Y, Honda M, Sakai A, Hiasa Y, Nishiguchi S, Koike A, Sakaida I, Imamura M, Ito K, Yano K, Masaki N, Sugauchi F, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet*. 2009 Oct;41(10):1105-9.
325. Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, Berg T, Weltman M, Abate ML, Bassendine M, Spengler U, Dore GJ, Powell E, Riordan S, Sheridan D, Smedile A, Fragomeli V, Müller T, Bahlo M, Stewart GJ, Booth DR, George J. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet*. 2009 Oct;41(10):1100-4.
326. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, Qi Y, Ge D, O'Huigin C, Kidd J, Kidd K, Khakoo SI, Alexander G, Goedert JJ, Kirk GD, Donfield SM, Rosen HR, Tobler LH, Busch MP, McHutchison JG, Goldstein DB, Carrington M. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature*. 2009 Oct 8;461(7265):798-801.

327. Kotenko SV, Gallagher G, Baurin VV, Lewis-Antes A, Shen M, Shah NK, Langer JA, Sheikh F, Dickensheets H, Donnelly RP. IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. *Nat Immunol.* 2003 Jan;4(1):69-77.
328. Sheppard P, Kindsvogel W, Xu W, Henderson K, Schlutsmeyer S, Whitmore TE, Kuestner R, Garrigues U, Birks C, Roraback J, Ostrander C, Dong D, Shin J, Presnell S, Fox B, Haldeman B, Cooper E, Taft D, Gilbert T, Grant FJ, Tackett M, Krivan W, McKnight G, Clegg C, Foster D, Klucher KM. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R. *Nat Immunol.* 2003 Jan;4(1):63-8.
329. Yoshimoto K, Kishida T, Nakano H, Matsui M, Shin-Ya M, Shimada T, Nakai S, Imanishi J, Takeuchi M, Hisa Y, Mazda O. Interleukin-28B acts synergistically with cisplatin to suppress the growth of head and neck squamous cell carcinoma. *J Immunother.* 2011 Mar;34(2):139-48.
330. Morrow MP, Yan J, Pankhong P, Shedlock DJ, Lewis MG, Talbott K, Toporovski R, Khan AS, Sardesai NY, Weiner DB. IL-28B/IFN-lambda 3 drives granzyme B loading and significantly increases CTL killing activity in macaques. *Mol Ther.* 2010 Sep;18(9):1714-23.
331. Sommereyns C, Paul S, Staeheli P, Michiels T. IFN-lambda (IFN-lambda) is expressed in a tissue-dependent fashion and primarily acts on epithelial cells in vivo. *PLoS Pathog.* 2008 Mar 14;4(3):e1000017.
332. Hayes CN, Imamura M, Aikata H, Chayama K. Genetics of IL28B and HCV--response to infection and treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012 May 29;9(7):406-17.
333. Zhou Z, Hamming OJ, Ank N, Paludan SR, Nielsen AL, Hartmann R. Type III interferon (IFN) induces a type I IFN-like response in a restricted subset of cells through signaling pathways involving both the Jak-STAT pathway and the mitogen-activated protein kinases. *J Virol.* 2007 Jul;81(14):7749-58.
334. McCarthy JJ, Li JH, Thompson A, Suchindran S, Lao XQ, Patel K, Tillmann HL, Muir AJ, McHutchison JG. Replicated association between an IL28B gene variant and a sustained response to pegylated interferon and ribavirin. *Gastroenterology.* 2010 Jun;138(7):2307-14.
335. Hayes CN, Kobayashi M, Akuta N, Suzuki F, Kumada H, Abe H, Miki D, Imamura M, Ochi H, Kamatani N, Nakamura Y, Chayama K. HCV substitutions and IL28B polymorphisms on outcome of peg-interferon plus ribavirin combination therapy. *Gut.* 2011 Feb;60(2):261-7.
336. Lindh M, Lagging M, Arnholm B, Eilard A, Nilsson S, Norkrans G, Söderholm J, Wahlberg T, Wejstål R, Westin J, Hellstrand K. IL28B polymorphisms determine early viral kinetics and treatment outcome in patients receiving peginterferon/ribavirin for chronic hepatitis C genotype 1. *J Viral Hepat.* 2011 Jul;18(7):e325-31.

337. Ochi H, Maekawa T, Abe H, Hayashida Y, Nakano R, Imamura M, Hiraga N, Kawakami Y, Aimitsu S, Kao JH, Kubo M, Tsunoda T, Kumada H, Nakamura Y, Hayes CN, Chayama K. IL-28B predicts response to chronic hepatitis C therapy--fine-mapping and replication study in Asian populations. *J Gen Virol*. 2011 May;92(Pt 5):1071-81.
338. Scott J, Holte S, Urban T, Burgess C, Coppel E, Wang C, Corey L, McHutchison J, Goldstein D. IL28B genotype effects during early treatment with peginterferon and ribavirin in difficult-to-treat hepatitis C virus infection. *J Infect Dis*. 2011 Aug 1;204(3):419-25.
339. Hsu CS, Hsu SJ, Chen HC, Tseng TC, Liu CH, Niu WF, Jeng J, Liu CJ, Lai MY, Chen PJ, Kao JH, Chen DS. Association of IL28B gene variations with mathematical modeling of viral kinetics in chronic hepatitis C patients with IFN plus ribavirin therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Mar 1;108(9):3719-24.
340. Honda M, Sakai A, Yamashita T, Nakamoto Y, Mizukoshi E, Sakai Y, Yamashita T, Nakamura M, Shirasaki T, Horimoto K, Tanaka Y, Tokunaga K, Mizokami M, Kaneko S; Hokuriku Liver Study Group. Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in interleukin 28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2010 Aug;139(2):499-509.
341. Sarasin-Filipowicz M, Oakeley EJ, Duong FH, Christen V, Terracciano L, Filipowicz W, Heim MH. Interferon signaling and treatment outcome in chronic hepatitis C. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 May 13;105(19):7034-9.
342. Li JH, Lao XQ, Tillmann HL, Rowell J, Patel K, Thompson A, Suchindran S, Muir AJ, Guyton JR, Gardner SD, McHutchison JG, McCarthy JJ. Interferon-lambda genotype and low serum low-density lipoprotein cholesterol levels in patients with chronic hepatitis C infection. *Hepatology*. 2010 Jun;51(6):1904-11.
343. Tillmann HL, Patel K, Muir AJ, Guy CD, Li JH, Lao XQ, Thompson A, Clark PJ, Gardner SD, McHutchison JG, McCarthy JJ. Beneficial IL28B genotype associated with lower frequency of hepatic steatosis in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2011 Dec;55(6):1195-200.
344. Hosogaya S, Ozaki Y, Enomoto N, Akahane Y. Analysis of prognostic factors in therapeutic responses to interferon in patients with chronic hepatitis C. *Transl Res*. 2006 Aug;148(2):79-86.
345. Soresi M, Tripi S, Franco V, Giannitrapani L, Alessandri A, Rappa F, Vuturo O, Montalto G. Impact of liver steatosis on the antiviral response in the hepatitis C virus-associated chronic hepatitis. *Liver Int*. 2006 Nov;26(9):1119-25.
346. Conjeevaram HS, Kleiner DE, Everhart JE, Hoofnagle JH, Zacks S, Afdhal NH, Wahed AS; Virahep-C Study Group. Race, insulin resistance and hepatic steatosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2007 Jan;45(1):80-7.

347. Chu CJ, Lee SD, Hung TH, Lin HC, Hwang SJ, Lee FY, Lu RH, Yu MI, Chang CY, Yang PL, Lee CY, Chang FY. Insulin resistance is a major determinant of sustained virological response in genotype 1 chronic hepatitis C patients receiving peginterferon alpha-2b plus ribavirin. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009 Jan;29(1):46-54.
348. Dai CY, Huang JF, Hsieh MY, Hou NJ, Lin ZY, Chen SC, Hsieh MY, Wang LY, Chang WY, Chuang WL, Yu ML. Insulin resistance predicts response to peginterferon-alpha/ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol.* 2009 Apr;50(4):712-8.
349. Bressler BL, Guindi M, Tomlinson G, Heathcote J. High body mass index is an independent risk factor for nonresponse to antiviral treatment in chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2003 Sep;38(3):639-44.
350. Jeffers LJ, Cassidy W, Howell CD, Hu S, Reddy KR. Peginterferon alfa-2a (40 kd) and ribavirin for black American patients with chronic HCV genotype 1. *Hepatology.* 2004 Jun;39(6):1702-8.
351. Muir AJ, Bornstein JD, Killenberg PG; Atlantic Coast Hepatitis Treatment Group. Peginterferon alfa-2b and ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C in blacks and non-Hispanic whites. *N Engl J Med.* 2004 May 27;350(22):2265-71.
352. Loguercio C, Federico A, Masarone M, Torella R, Blanco Cdel V, Persico M. The impact of diet on liver fibrosis and on response to interferon therapy in patients with HCV-related chronic hepatitis. *Am J Gastroenterol.* 2008 Dec;103(12):3159-66.
353. Shiffman ML, Suter F, Bacon BR, Nelson D, Harley H, Solá R, Shafran SD, Barange K, Lin A, Soman A, Zeuzem S; ACCELERATE Investigators. Peginterferon alfa-2a and ribavirin for 16 or 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. *N Engl J Med.* 2007 Jul 12;357(2):124-34.
354. Assis D, Lim JK. New pharmacotherapy for hepatitis C. *Clin Pharmacol Ther.* 2012 Sep;92(3):294-305.
355. Perni RB, Almquist SJ, Byrn RA, Chandorkar G, Chaturvedi PR, Courtney LF, Decker CJ, Dinehart K, Gates CA, Harbeson SL, Heiser A, Kalkeri G, Kolaczowski E, Lin K, Luong YP, Rao BG, Taylor WP, Thomson JA, Tung RD, Wei Y, Kwong AD, Lin C. Preclinical profile of VX-950, a potent, selective, and orally bioavailable inhibitor of hepatitis C virus NS3-4A serine protease. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006 Mar;50(3):899-909.
356. Foy E, Li K, Wang C, Sumpter R Jr, Ikeda M, Lemon SM, Gale M Jr. Regulation of interferon regulatory factor-3 by the hepatitis C virus serine protease. *Science.* 2003 May 16;300(5622):1145-8.
357. Reesink HW, Zeuzem S, Weegink CJ, Forestier N, van Vliet A, van de Wetering de Rooij J, McNair L, Purdy S, Kauffman R, Alam J, Jansen PL. Rapid decline of viral RNA in hepatitis C patients treated with VX-950: a phase Ib, placebo-controlled, randomized study. *Gastroenterology.* 2006 Oct;131(4):997-1002.

358. Sarrazin C, Kieffer TL, Bartels D, Hanzelka B, Müh U, Welker M, Wincheringer D, Zhou Y, Chu HM, Lin C, Weegink C, Reesink H, Zeuzem S, Kwong AD. Dynamic hepatitis C virus genotypic and phenotypic changes in patients treated with the protease inhibitor telaprevir. *Gastroenterology*. 2007 May;132(5):1767-77.
359. Kwo PY, Lawitz EJ, McCone J, Schiff ER, Vierling JM, Pound D, Davis MN, Galati JS, Gordon SC, Ravendhran N, Rossaro L, Anderson FH, Jacobson IM, Rubin R, Koury K, Pedicone LD, Brass CA, Chaudhri E, Albrecht JK; SPRINT-1 investigators. Efficacy of boceprevir, an NS3 protease inhibitor, in combination with peginterferon alfa-2b and ribavirin in treatment-naïve patients with genotype 1 hepatitis C infection (SPRINT-1): an open-label, randomised, multicentre phase 2 trial. *Lancet*. 2010 Aug 28;376(9742):705-16.
360. Rosenquist Å, Samuelsson B, Johansson PO, Cummings MD, Lenz O, Raboisson P, Simmen K, Vendeville S, de Kock H, Nilsson M, Horvath A, Kalmeijer R, de la Rosa G, Beumont-Mauviel M. Discovery and development of simeprevir (TMC435), a HCV NS3/4A protease inhibitor. *J Med Chem*. 2014 Mar 13;57(5):1673-93.
361. Gerber L, Welzel TM, Zeuzem S. New therapeutic strategies in HCV: polymerase inhibitors. *Liver Int*. 2013 Feb;33 Suppl 1:85-92.
362. Wendt A, Adhoute X, Castellani P, Oules V, Ansaldi C, Benali S, Bourlière M. Chronic hepatitis C: future treatment. *Clin Pharmacol*. 2014 Jan 8;6:1-17.
363. Quezada EM, Kane CM. The Hepatitis C Virus NS5A Stimulates NS5B During In Vitro RNA Synthesis in a Template Specific Manner. *Open Biochem J*. 2009 Apr 20;3:39-48.
364. Ascher DB, Wielens J, Nero TL, Doughty L, Morton CJ, Parker MW. Potent hepatitis C inhibitors bind directly to NS5A and reduce its affinity for RNA. *Sci Rep*. 2014 Apr 23;4:4765.
365. Chayama K, Hayes CN. Hepatitis C virus: How genetic variability affects pathobiology of disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011 Jan;26 Suppl 1:83-95.
366. Sarrazin C & Zeuzem S. Resistance to direct antiviral agents in patients with hepatitis C virus infection. *Gastroenterology*. 2010 Feb;138(2):447-62.
367. Welsch C, Jesudian A, Zeuzem S, Jacobson I. New direct-acting antiviral agents for the treatment of hepatitis C virus infection and perspectives. *Gut*. 2012 May;61 Suppl 1:i36-46.
368. Kieffer TL, De Meyer S, Bartels DJ, Sullivan JC, Zhang EZ, Tigges A, Dierynck I, Spanks J, Dorrian J, Jiang M, Adiwijaya B, Ghys A, Beumont M, Kauffman RS, Adda N, Jacobson IM, Sherman KE, Zeuzem S, Kwong AD, Picchio G. Hepatitis C viral evolution in genotype 1 treatment-naïve and treatment-experienced patients receiving telaprevir-based therapy in clinical trials. *PLoS One*. 2012;7(4):e34372.
369. Sullivan JC, De Meyer S, Bartels DJ, Dierynck I, Zhang EZ, Spanks J, Tigges AM, Ghys A, Dorrian J, Adda N, Martin EC, Beumont M, Jacobson IM, Sherman KE, Zeuzem S, Picchio G, Kieffer TL. Evolution of treatment-emergent resistant variants in telaprevir phase 3 clinical trials. *Clin Infect Dis*. 2013 Jul;57(2):221-9.

370. Jacobson IM, Dore GJ, Foster GR, Fried MW, Radu M, Rafalsky VV, Moroz L, Craxi A, Peeters M, Lenz O, Ouwerkerk-Mahadevan S, De La Rosa G, Kalmeijer R, Scott J, Sinha R, Beumont-Mauviel M. Simeprevir with pegylated interferon alfa 2a plus ribavirin in treatment-naive patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection (QUEST-1): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2014 Aug 2;384(9941):403-13.
371. Manns M, Marcellin P, Poordad F, de Araujo ES, Buti M, Horsmans Y, Janczewska E, Villamil F, Scott J, Peeters M, Lenz O, Ouwerkerk-Mahadevan S, De La Rosa G, Kalmeijer R, Sinha R, Beumont-Mauviel M. Simeprevir with pegylated interferon alfa 2a or 2b plus ribavirin in treatment-naive patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection (QUEST-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet*. 2014 Aug 2;384(9941):414-26.
372. Pilot-Matias TJ, Tripathi RL, Dekhtyar T, Menon RM, Gaultier IA, Cohen DE, Podsadecki TJ, Bernstein BM, Collins CA Genotypic and phenotypic characterization of NS3 variants selected in HCV-infected patients treated with ABT-450. *EASL 2011 Conference 2011: Abstract 1229*.
373. Poordad F, Hezode C, Trinh R, Kowdley KV, Zeuzem S, Agarwal K, Shiffman ML, Wedemeyer H, Berg T, Yoshida EM, Forns X, Lovell SS, Da Silva-Tillmann B, Collins CA, Campbell AL, Podsadecki T, Bernstein B. ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin for hepatitis C with cirrhosis. *N Engl J Med*. 2014 May 22;370(21):1973-82.
374. Schnell G TR, Beyer J, Reisch T, Krishnan P, Baykal T, Hall C, Vilchez, Pilot-Matias T, Collins C. Identification and treatment of multiple subtypes of HCV genotype 4 in the PEARL-I study with ombitasvir and ABT-450/r6ribavirin. *Hepatology* 2014;60:1146A, Abstract 1954.
375. Gao M. Antiviral activity and resistance of HCV NS5A replication complex inhibitors. *Curr Opin Virol*. 2013 Oct;3(5):514-20.
376. Fridell RA, Wang C, Sun JH, O'Boyle DR 2nd, Nower P, Valera L, Qiu D, Roberts S, Huang X, Kienzle B, Bifano M, Nettles RE, Gao M. Genotypic and phenotypic analysis of variants resistant to hepatitis C virus nonstructural protein 5A replication complex inhibitor BMS-790052 in humans: in vitro and in vivo correlations. *Hepatology*. 2011 Dec;54(6):1924-35.
377. Dore GJ, Lawitz E, Hézode C, Shafran SD, Ramji A, Tatum HA, Taliani G, Tran A, Brunetto MR, Zaltron S, Strasser SI, Weis N, Ghesquiere W, Lee SS, Larrey D, Pol S, Harley H, George J, Fung SK, de Lédighen V, Hagens P, McPhee F, Hernandez D, Cohen D, Cooney E, Noviello S, Hughes EA. Daclatasvir plus peginterferon and ribavirin is noninferior to peginterferon and ribavirin alone, and reduces the duration of treatment for HCV genotype 2 or 3 infection. *Gastroenterology*. 2015 Feb;148(2):355-366.e1.
378. Europeans Medicines Agency. Daklinza European public assessment report. 2014; http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/003768/WC500172848.pdf.

379. Lawitz EJ, Gruener D, Hill JM, Marbury T, Moorehead L, Mathias A, Cheng G, Link JO, Wong KA, Mo H, McHutchison JG, Brainard DM. A phase 1, randomized, placebo-controlled, 3-day, dose-ranging study of GS-5885, an NS5A inhibitor, in patients with genotype 1 hepatitis C. *J Hepatol.* 2012 Jul;57(1):24-31.
380. Afdhal N, Zeuzem S, Kwo P, Chojkier M, Gitlin N, Puoti M, Romero-Gomez M, Zarski JP, Agarwal K, Buggisch P, Foster GR, Bräu N, Buti M, Jacobson IM, Subramanian GM, Ding X, Mo H, Yang JC, Pang PS, Symonds WT, McHutchison JG, Muir AJ, Mangia A, Marcellin P; ION-1 Investigators. Ledipasvir and sofosbuvir for untreated HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med.* 2014 May 15;370(20):1889-98.
381. Krishnan P, Beyer J, Mistry N, Koev G, Reisch T, Mondal R, Liu D, Pratt J, DeGoey, D, Wagner R, Maring C, Kati W, Molla A, Campbell A, Bernstein B, Williams L, Collins C, Pilot-Matias T. Antiviral activity and resistance profiles for ABT-267, a novel HCV NS5A inhibitor, in vitro and during 3-day monotherapy in HCV genotype-1 (GT1)-infected treatment-naïve subjects. AASLD 2012 Conference 2012.
382. Gane EJ, Stedman CA, Hyland RH, Ding X, Svarovskaia E, Symonds WT, Hindes RG, Berrey MM. Nucleotide polymerase inhibitor sofosbuvir plus ribavirin for hepatitis C. *N Engl J Med.* 2013 Jan 3;368(1):34-44.
383. Zeuzem S, Dusheiko GM, Salupere R, Mangia A, Flisiak R, Hyland RH, Illeperuma A, Svarovskaia E, Brainard DM, Symonds WT, Subramanian GM, McHutchison JG, Weiland O, Reesink HW, Ferenci P, Hézode C, Esteban R; VALENCE Investigators. Sofosbuvir and ribavirin in HCV genotypes 2 and 3. *N Engl J Med.* 2014 May 22;370(21):1993-2001.
384. Svarovskaia ES, Dvory-Sobol H, Parkin N, Hebner C, Gontcharova V, Martin R, Ouyang W, Han B, Xu S, Ku K, Chiu S, Gane E, Jacobson IM, Nelson DR, Lawitz E, Wyles DL, Bekele N, Brainard D, Symonds WT, McHutchison JG, Miller MD, Mo H. Infrequent development of resistance in genotype 1-6 hepatitis C virus-infected subjects treated with sofosbuvir in phase 2 and 3 clinical trials. *Clin Infect Dis.* 2014 Dec 15;59(12):1666-74.
385. Donaldson EF, Harrington PR, O'Rear JJ, Naeger LK. Clinical evidence and bioinformatics characterization of potential hepatitis C virus resistance pathways for sofosbuvir. *Hepatology.* 2015 Jan;61(1):56-65.
386. Middleton T, He Y, Beyer J, Menon R, Klein CE, Cohen D, Collins C. Resistance profile of ABT-333 and relationship to viral load decrease in patients treated in combination with peg-interferon and ribavirin for 28 days. EASL 2010 Conference 2010.
387. Estructura organizativa del área sanitaria obtenida a partir del Decreto 168/2010, de 7 de octubre, por el que se regula la estructura organizativa de gestión integrada del servicio gallego de salud (DOG del 15), anexo II.
388. Instituto Galego de Estadística (<http://www.ige.eu/web/index.jsp?idioma=es>).
389. Moreira VF, Garrido E. Elastografía hepática (Fibroscan®) en hepatología. *Revista Española de Enfermedades Digestivas* 2013 Vol. 105. N.º 4, pp. 235.

390. López-Labrador FX, Ampurdanés S, Fornis X, Castells A, Sáiz JC, Costa J, Bruix J, Sánchez Tapias JM, Jiménez de Anta MT, Rodés J. Hepatitis C virus (HCV) genotypes in Spanish patients with HCV infection: relationship between HCV genotype 1b, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 1997 Dec;27(6):959-65.
391. Avó AP, Agua-Doce I, Andrade A, Pádua E. Hepatitis C virus subtyping based on sequencing of the C/E1 and NS5B genomic regions in comparison to a commercially available line probe assay. *J Med Virol.* 2013 May;85(5):815-22.
392. Paolucci S, Fiorina L, Piralla A, Gulminetti R, Novati S, Barbarini G, Sacchi P, Gatti M, Dossena L, Baldanti F. Naturally occurring mutations to HCV protease inhibitors in treatment-naïve patients. *Virology.* 2012 Oct 24;9:245.
393. Paolucci S, Fiorina L, Mariani B, Gulminetti R, Novati S, Barbarini G, Bruno R, Baldanti F. Naturally occurring resistance mutations to inhibitors of HCV NS5A region and NS5B polymerase in DAA treatment-naïve patients. *Virology.* 2013 Dec 17;10:355.
394. Cai Q, Zhao Z, Liu Y, Shao X, Gao Z. Comparison of three different HCV genotyping methods: core, NS5B sequence analysis and line probe assay. *Int J Mol Med.* 2013 Feb;31(2):347-52.
395. Chueca N, Rivadulla I, Lovatti R, Reina G, Blanco A, Fernandez-Caballero JA, Cardeñoso L, Rodriguez-Granjer J, Fernandez-Alonso M, Aguilera A, Alvarez M, Galán JC, García F. Using NS5B Sequencing for Hepatitis C Virus Genotyping Reveals Discordances with Commercial Platforms. *PLoS One.* 2016 Apr 20;11(4):e0153754.
396. Vogel M, van de Laar T, Kupfer B, Stellbrink HJ, Kümmerle T, Mauss S, Knecht G, Berger A, Bruisten S, Rockstroh JK. Phylogenetic analysis of acute hepatitis C virus genotype 4 infections among human immunodeficiency virus-positive men who have sex with men in Germany. *Liver Int.* 2010 Sep;30(8):1169-72.
397. Ramos MC, Torío R, Mazón MA, Martín Gil FJ, Del Álamo M. Hepatitis C virus genotype 4 in a North-west Spain district. *J Clin Virol.* 2003 Oct;28(2):223-4.
398. Marcos F, Albo MI, Arbol F, Gómez-Soto FM, Blanco S, Viana A. Genotipo 4 del virus de la hepatitis C en una población de pacientes con infección por virus de la inmunodeficiencia humana. *Gastroenterol Hepatol.* 2004 Jun-Jul;27(6):388-9.
399. Subdirección General de Explotación y Gestión de Red. D. G. de Carreteras. M^o de Fomento. Consejerías de Comunidades Autónomas y Diputaciones. http://www.fomento.gob.es/MFOM/LANG_CASTELLANO/DIRECCIONES_GENERALES/CARRETERAS/CATYEVO_RED_CARRETERAS/EVOLUCION/
400. García Ruiz JL. La evolución de la industria automovilística española, 1946-1999: una perspectiva comparada. *Revista de Historia Industrial* 19-20. 2001.
401. Bochud PY, Cai T, Overbeck K, Bochud M, Dufour JF, Müllhaupt B, Borovicka J, Heim M, Moradpour D, Cerny A, Malinverni R, Francioli P, Negro F; Swiss Hepatitis C Cohort Study Group. Genotype 3 is associated with accelerated fibrosis progression in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2009 Oct;51(4):655-66.

402. Alfaleh FZ, Hadad Q, Khuroo MS, Aljumah A, Algamedi A, Alashgar H, Al-Ahdal MN, Mayet I, Khan MQ, Kessie G. Peginterferon alpha-2b plus ribavirin compared with interferon alpha-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C in Saudi patients commonly infected with genotype 4. *Liver Int.* 2004 Dec;24(6):568-74.
403. El-Zayadi AR, Attia M, Barakat EM, Badran HM, Hamdy H, El-Tawil A, El-Nakeeb A, Selim O, Saied A. Response of hepatitis C genotype-4 naïve patients to 24 weeks of Peg-interferon-alpha2b/ribavirin or induction-dose interferon-alpha2b/ribavirin/amantadine: a non-randomized controlled study. *Am J Gastroenterol.* 2005 Nov;100(11):2447-52.
404. Kamal SM, El Kamary SS, Shardell MD, Hashem M, Ahmed IN, Muhammadi M, Sayed K, Moustafa A, Hakem SA, Ibrahiem A, Moniem M, Mansour H, Abdelaziz M. Pegylated interferon alpha-2b plus ribavirin in patients with genotype 4 chronic hepatitis C: The role of rapid and early virologic response. *Hepatology.* 2007 Dec;46(6):1732-40.
405. El Makhzangy H, Esmat G, Said M, Elraziky M, Shouman S, Refai R, Rekacewicz C, Gad RR, Vignier N, Abdel-Hamid M, Zalata K, Bedossa P, Pol S, Fontanet A, Mohamed MK. Response to pegylated interferon alfa-2a and ribavirin in chronic hepatitis C genotype 4. *J Med Virol.* 2009 Sep;81(9):1576-83.
406. Roffi L, Redaelli A, Colloredo G, Minola E, Donada C, Picciotto A, Riboli P, Del Poggio P, Rinaldi G, Paris B, Fornaciari G, Giusti M, Marin R, Morales R, Sangiovanni A, Belloni G, Pozzi M, Poli G, Mascoli N, Corradi C, Pioltelli P, Scalori A, Mancina G. Outcome of liver disease in a large cohort of histologically proven chronic hepatitis C: influence of HCV genotype. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2001 May;13(5):501-6.
407. Evans MJ, Rice CM, Goff SP. Phosphorylation of hepatitis C virus nonstructural protein 5A modulates its protein interactions and viral RNA replication. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Aug 31;101(35):13038-43.
408. Appel N, Pietschmann T, Bartenschlager R. Mutational analysis of hepatitis C virus nonstructural protein 5A: potential role of differential phosphorylation in RNA replication and identification of a genetically flexible domain. *J Virol.* 2005 Mar;79(5):3187-94.
409. Serra MA, Rodríguez F, del Olmo JA, Escudero A, Rodrigo JM. Influence of age and date of infection on distribution of hepatitis C virus genotypes and fibrosis stage. *J Viral Hepat.* 2003 May;10(3):183-8.
410. Zhong J, Gastaminza P, Cheng G, Kapadia S, Kato T, Burton DR, Wieland SF, Uprichard SL, Wakita T, Chisari FV. Robust hepatitis C virus infection in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 Jun 28;102(26):9294-9.
411. Pietschmann T, Kaul A, Koutsoudakis G, Shavinskaya A, Kallis S, Steinmann E, Abid K, Negro F, Dreux M, Cosset FL, Bartenschlager R. Construction and characterization of infectious intragenotypic and intergenotypic hepatitis C virus chimeras. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 May 9;103(19):7408-13.

412. Gottwein JM, Scheel TK, Jensen TB, Lademann JB, Prentoe JC, Knudsen ML, Hoegh AM, Bukh J. Development and characterization of hepatitis C virus genotype 1-7 cell culture systems: role of CD81 and scavenger receptor class B type I and effect of antiviral drugs. *Hepatology*. 2009 Feb;49(2):364-77.
413. Moradpour D, Evans MJ, Gosert R, Yuan Z, Blum HE, Goff SP, Lindenbach BD, Rice CM. Insertion of green fluorescent protein into nonstructural protein 5A allows direct visualization of functional hepatitis C virus replication complexes. *J Virol*. 2004 Jul;78(14):7400-9.
414. Wölk B, Büchele B, Moradpour D, Rice CM. A dynamic view of hepatitis C virus replication complexes. *J Virol*. 2008 Nov;82(21):10519-31.
415. Kanda T, Basu A, Steele R, Wakita T, Ryerse JS, Ray R, Ray RB. Generation of infectious hepatitis C virus in immortalized human hepatocytes. *J Virol*. 2006 May;80(9):4633-9.
416. Lindenbach BD, Prágai BM, Montserret R, Beran RK, Pyle AM, Penin F, Rice CM. The C terminus of hepatitis C virus NS4A encodes an electrostatic switch that regulates NS5A hyperphosphorylation and viral replication. *J Virol*. 2007 Sep;81(17):8905-18.
417. Gao M, Fridel R, O'Boyle D, Qiu D, Sun J H, Lemm J, Nower P, Valera L, Voss S, Liu M *et al*. HCV NS5A inhibitor: from screen hit to clinic, 15th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, San Antonio, 5–9 October 2008, abstract 089
418. Gao L, Aizaki H, He JW, Lai MM. Interactions between viral nonstructural proteins and host protein hVAP-33 mediate the formation of hepatitis C virus RNA replication complex on lipid raft. *J Virol*. 2004 Apr;78(7):3480-8.
419. Nelson HB, Tang H. Effect of cell growth on hepatitis C virus (HCV) replication and a mechanism of cell confluence-based inhibition of HCV RNA and protein expression. *J Virol*. 2006 Feb;80(3):1181-90.
420. Kaneko T, Tanji Y, Satoh S, Hijikata M, Asabe S, Kimura K, Shimotohno K. Production of two phosphoproteins from the NS5A region of the hepatitis C viral genome. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994 Nov 30;205(1):320-6.
421. Shim JH, Larson G, Wu JZ, Hong Z. Selection of 3'-template bases and initiating nucleotides by hepatitis C virus NS5B RNA-dependent RNA polymerase. *J Virol*. 2002 Jul;76(14):7030-9.
422. Koch U, Narjes F. Allosteric inhibition of the hepatitis C virus NS5B RNA dependent RNA polymerase. *Infect Disord Drug Targets*. 2006 Mar;6(1):31-41.
423. Robida JM, Nelson HB, Liu Z, Tang H. Characterization of hepatitis C virus subgenomic replicon resistance to cyclosporine in vitro. *J Virol*. 2007 Jun;81(11):5829-40.
424. Moradpour D, Brass V, Bieck E, Friebe P, Gosert R, Blum HE, Bartenschlager R, Penin F, Lohmann V. Membrane association of the RNA-dependent RNA polymerase is essential for hepatitis C virus RNA replication. *J Virol*. 2004 Dec;78(23):13278-84.

425. Takahashi H, Mizuta T, Eguchi Y, Kawaguchi Y, Kuwashiro T, Oeda S, Isoda H, Oza N, Iwane S, Izumi K, Anzai K, Ozaki I, Fujimoto K. Post-challenge hyperglycemia is a significant risk factor for the development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol.* 2011 Jun;46(6):790-8.
426. Frick DN. The hepatitis C virus NS3 protein: a model RNA helicase and potential drug target. *Curr Issues Mol Biol.* 2007 Jan;9(1):1-20.
427. Yang F, Robotham JM, Nelson HB, Irsigler A, Kenworthy R, Tang H. Cyclophilin A is an essential cofactor for hepatitis C virus infection and the principal mediator of cyclosporine resistance in vitro. *J Virol.* 2008 Jun;82(11):5269-78.
428. Watashi K, Ishii N, Hijikata M, Inoue D, Murata T, Miyanari Y, Shimotohno K. Cyclophilin B is a functional regulator of hepatitis C virus RNA polymerase. *Mol Cell.* 2005 Jul 1;19(1):111-22.
429. Bergsma DJ, Eder C, Gross M, Kersten H, Sylvester D, Appelbaum E, Cusimano D, Livi GP, McLaughlin MM, Kasyan K, *et al.* The cyclophilin multigene family of peptidyl-prolyl isomerases. Characterization of three separate human isoforms. *J Biol Chem.* 1991 Dec 5;266(34):23204-14.
430. Munakata T, Nakamura M, Liang Y, Li K, Lemon SM. Down-regulation of the retinoblastoma tumor suppressor by the hepatitis C virus NS5B RNA-dependent RNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 Dec 13;102(50):18159-64.
431. Koutsoudakis G, Kaul A, Steinmann E, Kallis S, Lohmann V, Pietschmann T, Bartenschlager R. Characterization of the early steps of hepatitis C virus infection by using luciferase reporter viruses. *J Virol.* 2006 Jun;80(11):5308-20.
432. Moreno Planas JM, Fernández Ruiz M, Portero Azorin F, Boullosa Graña E, Rubio González E, Martín García S, Martínez Arrieta F, Jiménez Garrido M, Sánchez Turrión V, Cuervas-Mons Martínez V. Prevalence of hepatitis C virus genotypes in a Spanish liver transplant unit. *Transplant Proc.* 2005 Apr;37(3):1486-7.
433. Kanai K, Kako M, Okamoto H. HCV genotypes in chronic hepatitis C and response to interferon. *Lancet.* 1992 Jun 20;339(8808):1543.
434. Yoshioka K, Kakumu S, Wakita T, Ishikawa T, Itoh Y, Takayanagi M, Higashi Y, Shibata M, Morishima T. Detection of hepatitis C virus by polymerase chain reaction and response to interferon-alpha therapy: relationship to genotypes of hepatitis C virus. *Hepatology.* 1992 Aug;16(2):293-9.
435. Chayama K, Tsubota A, Arase Y, Saitoh S, Ikeda K, Matsumoto T, Sakai Y, Kobayashi M, Morinaga T, Kumada H. Effect of lymphoblastoid alfa-interferon in patients with chronic hepatitis C having different genotypic subtype of hepatitis C virus. *Gastroenterol Jpn.* 1993 May;28 Suppl 5:45-7.
436. Tsubota A, Chayama K, Arase Y, Koida I, Saitoh S, Ikeda K, Iwasaki S, Matsumoto T, Kobayashi M, Kumada H. Factors useful in predicting the response to interferon therapy in chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol.* 1993 Nov-Dec;8(6):535-9.

437. McHutchison JG, Lawitz EJ, Shiffman ML, Muir AJ, Galler GW, McCone J, Nyberg LM, Lee WM, Ghalib RH, Schiff ER, Galati JS, Bacon BR, Davis MN, Mukhopadhyay P, Koury K, Noviello S, Pedicone LD, Brass CA, Albrecht JK, Sulkowski MS; IDEAL Study Team. Peginterferon alfa-2b or alfa-2a with ribavirin for treatment of hepatitis C infection. *N Engl J Med*. 2009 Aug 6;361(6):580-93.
438. Rumi MG, Aghemo A, Prati GM, D'Ambrosio R, Donato MF, Soffredini R, Del Ninno E, Russo A, Colombo M. Randomized study of peginterferon-alpha2a plus ribavirin vs peginterferon-alpha2b plus ribavirin in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2010 Jan;138(1):108-15.
439. Yu ML, Dai CY, Huang JF, Hou NJ, Lee LP, Hsieh MY, Chiu CF, Lin ZY, Chen SC, Hsieh MY, Wang LY, Chang WY, Chuang WL. A randomised study of peginterferon and ribavirin for 16 versus 24 weeks in patients with genotype 2 chronic hepatitis C. *Gut*. 2007 Apr;56(4):553-9.
440. Dalgard O, Bjørø K, Ring-Larsen H, Bjornsson E, Holberg-Petersen M, Skovlund E, Reichard O, Myrvang B, Sundelöf B, Ritland S, Hellum K, Frydén A, Florholmen J, Verbaan H; North-C Group. Pegylated interferon alfa and ribavirin for 14 versus 24 weeks in patients with hepatitis C virus genotype 2 or 3 and rapid virological response. *Hepatology*. 2008 Jan;47(1):35-42.
441. Lontok E, Harrington P, Howe A, Kieffer T, Lennerstrand J, Lenz O, McPhee F, Mo H, Parkin N, Pilot-Matias T, Miller V. Hepatitis C virus drug resistance-associated substitutions: State of the art summary. *Hepatology*. 2015 Nov;62(5):1623-32.
442. Go ruggmann P, Berg T, Øvrehus AL, Moreno C, Bra wer E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014 Nov;61(1 Suppl):S45-57.
443. Wedemeyer H, Dore GJ, Ward JW. Estimates on HCV disease burden worldwide - filling the gaps. *J Viral Hepat*. 2015 Jan;22 Suppl 1:1-5.
444. Bruggmann P, Berg T, Øvrehus AL, Moreno C, Brandão Mello CE, Roudot-Thoraval F, Marinho RT, Sherman M, Ryder SD, Sperl J, Akarca U, Balık I, Bihl F, Bilodeau M, Blasco AJ, Buti M, Calinas F, Calleja JL, Cheinquer H, Christensen PB, Clausen M, Coelho HS, Cornberg M, Cramp ME, Dore GJ, Doss W, Duberg AS, El-Sayed MH, Ergör G, Esmat G, Estes C, Falconer K, Félix J, Ferraz ML, Ferreira PR, Frankova S, García-Samaniego J, Gerstoft J, Giria JA, Gonçalves FL Jr, Gower E, Gschwantler M, Guimarães Pessôa M, Hézode C, Hofer H, Husa P, Idilman R, Kåberg M, Kaita KD, Kautz A, Kaymakoglu S, Krajden M, Krarup H, Laleman W, Lavanchy D, Lázaro P, Marotta P, Mauss S, Mendes Correa MC, Müllhaupt B, Myers RP, Negro F, Nemecek V, Örmeci N, Parkes J, Peltekian KM, Ramji A, Razavi H, Reis N, Roberts SK, Rosenberg WM, Sarmiento-Castro R, Sarrazin C, Semela D, Shiha GE, Sievert W, Stärkel P, Stauber RE, Thompson AJ, Urbanek P, van Thiel I, Van Vlierberghe H, Vandijck D, Vogel W, Waked I, Wedemeyer H, Weis N, Wiegand J, Yosry A, Zekry A, Van Damme P, Aleman S, Hindman SJ. Historical epidemiology of hepatitis C virus (HCV) in selected countries. *J Viral Hepat*. 2014 May;21 Suppl 1:5-33.

445. Razavi H, Waked I, Sarrazin C, Myers RP, Idilman R, Calinas F, Vogel W, Mendes Correa MC, Hézode C, Lázaro P, Akarca U, Aleman S, Balık I, Berg T, Bihl F, Bilodeau M, Blasco AJ, Brandão Mello CE, Bruggmann P, Buti M, Calleja JL, Cheinquer H, Christensen PB, Clausen M, Coelho HS, Cramp ME, Dore GJ, Doss W, Duberg AS, El-Sayed MH, Ergör G, Esmat G, Falconer K, Félix J, Ferraz ML, Ferreira PR, Frankova S, García-Samaniego J, Gerstoft J, Giria JA, Gonçalves FL Jr, Gower E, Gschwantler M, Guimarães Pessôa M, Hindman SJ, Hofer H, Husa P, Kåberg M, Kaita KD, Kautz A, Kaymakoglu S, Krajden M, Krarup H, Laleman W, Lavanchy D, Marinho RT, Marotta P, Mauss S, Moreno C, Murphy K, Negro F, Nemecek V, Örmeci N, Øvrehus AL, Parkes J, Pasini K, Peltekian KM, Ramji A, Reis N, Roberts SK, Rosenberg WM, Roudot-Thoraval F, Ryder SD, Sarmento-Castro R, Semela D, Sherman M, Shiha GE, Sievert W, Sperl J, Stärkel P, Stauber RE, Thompson AJ, Urbanek P, Van Damme P, van Thiel I, Van Vlierberghe H, Vandijck D, Wedemeyer H, Weis N, Wiegand J, Yosry A, Zekry A, Cornberg M, Müllhaupt B, Estes C. The present and future disease burden of hepatitis C virus (HCV) infection with today's treatment paradigm. *J Viral Hepat.* 2014 May;21 Suppl 1:34-59.
446. Wedemeyer H, Duberg AS, Buti M, Rosenberg WM, Frankova S, Esmat G, Örmeci N, Van Vlierberghe H, Gschwantler M, Akarca U, Aleman S, Balık I, Berg T, Bihl F, Bilodeau M, Blasco AJ, Brandão Mello CE, Bruggmann P, Calinas F, Calleja JL, Cheinquer H, Christensen PB, Clausen M, Coelho HS, Cornberg M, Cramp ME, Dore GJ, Doss W, El-Sayed MH, Ergör G, Estes C, Falconer K, Félix J, Ferraz ML, Ferreira PR, García-Samaniego J, Gerstoft J, Giria JA, Gonçalves FL Jr, Guimarães Pessôa M, Hézode C, Hindman SJ, Hofer H, Husa P, Idilman R, Kåberg M, Kaita KD, Kautz A, Kaymakoglu S, Krajden M, Krarup H, Laleman W, Lavanchy D, Lázaro P, Marinho RT, Marotta P, Mauss S, Mendes Correa MC, Moreno C, Müllhaupt B, Myers RP, Nemecek V, Øvrehus AL, Parkes J, Peltekian KM, Ramji A, Razavi H, Reis N, Roberts SK, Roudot-Thoraval F, Ryder SD, Sarmento-Castro R, Sarrazin C, Semela D, Sherman M, Shiha GE, Sperl J, Stärkel P, Stauber RE, Thompson AJ, Urbanek P, Van Damme P, van Thiel I, Vandijck D, Vogel W, Waked I, Weis N, Wiegand J, Yosry A, Zekry A, Negro F, Sievert W, Gower E. Strategies to manage hepatitis C virus (HCV) disease burden. *J Viral Hepat.* 2014 May;21 Suppl 1:60-89.





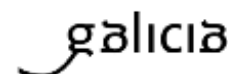
8. ANEXO





XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DE SANIDADE
 Secretaría Xeral Técnica

Secretaría Técnica
 Comité Autonómico de Ética da Investigación de Galicia
 Secretaría Xeral, Consellería de Sanidade
 Edificio Administrativo San Lázaro
 15703 SANTIAGO DE COMPOSTELA
 Tel: 881 546425; celc@sergas.es



DITAME DO COMITÉ DE ÉTICA DA INVESTIGACIÓN DE SANTIAGO-LUGO

Juan Manuel Vázquez Lago, Secretario do Comité de Ética da Investigación de Santiago-Lugo

CERTIFICA:

Que este Comité avaliou na súa reunión do día 17/03/2015 o estudo:

Título: Epidemiología molecular del virus de la hepatitis C en el Noroeste de España y papel de la IL-28B y otros biomarcadores

Promotor: Daniel Navarro de la Cruz

Tipo de estudo: Outros

Versión:

Código do Promotor:

Código de Rexistro: 2015/191

E, tomando en consideración as seguintes cuestións:

- A pertinencia do estudo, tendo en conta o coñecemento dispoñible, así coma os requisitos legais aplicables, e en particular a Lei 14/2007, de investigación biomédica, o Real Decreto 1716/2011, de 18 de novembro, polo que se establecen os requisitos básicos de autorización e funcionamento dos biobancos con fins de investigación biomédica e do tratamento das mostras biolóxicas de orixe humana, e se regula o funcionamento e organización do Rexistro Nacional de Biobancos para investigación biomédica, a ORDE SAS/3470/2009, de 16 de decembro, pola que se publican as Directrices sobre estudos Posautorización de Tipo Observacional para medicamentos de uso humano, e a Circular nº 07/2004, investigacións clínicas con produtos sanitarios.
- A idoneidade do protocolo en relación cos obxectivos do estudo, xustificación dos riscos e molestias previsibles para o suxeito, así coma os beneficios esperados.
- Os principios éticos da Declaración de Helsinki vixente.
- Os Procedementos Normalizados de Traballo do Comité.

Emite un **INFORME FAVORABLE** para a realización do estudo **polo/a investigador/a do centro:**

Centros	Investigadores Principais
C.H.Universitario de Santiago	Daniel Navarro de la Cruz

En Santiago de Compostela, a 17 de marzo de 2015
 O secretario

Juan M. Vázquez Lago





9. ÍNDICES COMPLEMENTARIOS





ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Ciclo viral VHC.....	6
Figura 2.	Ensamblaje y liberación del VHC	7
Figura 3.	Árbol filogenético de 129 secuencias representativas de regiones codificantes completas	8
Figura 4.	Principio de la hibridación reversa	11
Figura 5.	Actual estimación de prevalencia de la infección y distribución estimada de genotipos entre individuos infectados por el VHC en Europa.....	15
Figura 6.	Dinámicas de la infección aguda del VHC durante los dos meses tras la infección, separados por resultados de la infección.....	22
Figura 7.	El locus <i>IL28-IL29</i> en el cromosoma 19.....	30
Figura 8.	Mapa del área sanitaria de Santiago de Compostela.....	49
Figura 9.	Prevalencia de infectados crónicos totales por VHC en el AS.	79
Figura 10.	Tendencias en el tiempo de la distribución de genotipos en el AS.....	120

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Biomarcadores en suero disponibles en la actualidad para la evaluación no invasiva de la fibrosis hepática en la enfermedad hepática crónica.	24
Tabla 2.	Indicaciones de tratamiento.	27
Tabla 3.	Recomendaciones de tratamiento para pacientes mono infectados por VHC y coinfectados VHC/VIH con hepatitis C crónica sin cirrosis, incluyendo pacientes naïve para tratamiento y aquellos que fracasaron a terapias basadas en PIFN y RBV.....	34
Tabla 4.	Recomendaciones de tratamiento para pacientes mono infectados por VHC y coinfectados VHC/VIH con hepatitis C crónica con cirrosis compensada (Child-Pugh A), incluyendo pacientes naïve para tratamiento y aquellos que fracasaron a terapias basadas en PIFN y RBV.....	34
Tabla 5.	Recomendaciones de tratamiento para pacientes mono infectados por VHC y coinfectados VHC/VIH con hepatitis C crónica que no lograron alcanzar la RVS en una terapia antiviral previa que contenía uno o varios AAD.	35
Tabla 6.	Terapias administradas en infectados crónicos de hepatitis C en el AS.....	51
Tabla 7.	Comparación de genotipos y subtipos obtenidos por LiPA2.0 y secuenciación de C/E1, NS3 y NS5B.	61
Tabla 8.	Distribución de genotipos y factores de riesgo en el total de infectados crónicos por el VHC y en cada sexo en el AS.....	62
Tabla 9.	Distribución de genotipos por vía de transmisión en el AS y en cada sexo.	63
Tabla 10.	Distribución de genotipos y factores de riesgo en las diferentes áreas.....	64
Tabla 11.	Distribución de genotipos y factores de riesgo en grupos de coinfectados.	65
Tabla 12.	Distribución de genotipos y factores de riesgo por sexos y por grupo de coinfectados en el AS.....	67
Tabla 13.	Distribución de genotipos y factores de riesgo por área y por grupo de coinfectados en el AS.	68
Tabla 14.	Distribución de genotipos y factores de riesgo por edades en el total de la población.	70
Tabla 15.	Distribución de genotipos y factores de riesgo por edades en cada género.....	71
Tabla 16.	Distribución de genotipos y factores de riesgo por edades en cada área.....	72
Tabla 17.	Distribución de genotipos y factores de riesgo por edades en los diferentes grupos de coinfectados.....	73
Tabla 18.	Comparación entre la distribución de genotipos en el total de pacientes diagnosticados de infección crónica por el VHC en el AS y la distribución de genotipos en la población virémica circulante.	74

Tabla 19. Comparación entre la distribución de genotipos en el total de pacientes diagnosticados de infección crónica por el VHC en cada área y la distribución de genotipos en la población virémica circulante.....	74
Tabla 20. Prevalencia de infectados crónicos por cada mil habitantes en el AM, AC, AR y AS total.....	75
Tabla 21. Prevalencia de infectados crónicos por cada mil habitantes en cada una de las localidades del AM.....	76
Tabla 22. Prevalencia de infectados crónicos por cada mil habitantes en cada una de las localidades del AC.....	77
Tabla 23. Prevalencia de infectados crónicos por cada mil habitantes en cada una de las localidades del AR.....	78
Tabla 24. Progresión a cirrosis por edad, sexo y consumo de alcohol en el total de pacientes donde se conocía su estadio hepático.....	80
Tabla 25. Asociación de cada genotipo con la progresión a cirrosis entre 10 y 19 años de infección crónica en pacientes no alcohólicos.....	81
Tabla 26. Asociación de cada genotipo con la progresión a cirrosis e 20 a 29 años de infección crónica.....	82
Tabla 27. Asociación de cada genotipo con la progresión a cirrosis tras más de 29 años de infección crónica.....	83
Tabla 28. Desarrollo de CHC por edad, sexo y consumo de alcohol en el total de la población donde se conocía su estadio hepático.....	84
Tabla 29. Asociación de cada genotipo con la aparición de CHC tras 10 a 19 años de infección crónica en F3 y F4.....	85
Tabla 30. Asociación de cada genotipo con la aparición de CHC tras 20 a 29 años de infección crónica en F3 y F4.....	86
Tabla 31. Asociación de cada genotipo con la aparición de CHC tras más de 29 años de infección crónica en F3 y F4.....	87
Tabla 32. Necesidad de trasplante hepático por edad, sexo y consumo de alcohol en el total de la población donde se conocía su estadio hepático.....	88
Tabla 33. Asociación de cada genotipo con la necesidad de realizar trasplante hepático tras 10 a 19 años de infección crónica.....	89
Tabla 34. Asociación de cada genotipo con la necesidad de realizar trasplante hepático tras 20 a 29 años de infección crónica.....	90
Tabla 35. Asociación de cada genotipo con la necesidad de realizar trasplante hepático tras más de 29 años de infección crónica.....	91
Tabla 36. Respuesta al tratamiento con IFN/PIFN.....	92
Tabla 37. Respuesta al tratamiento con IFN/PIFN+RBV.....	94
Tabla 38. Respuesta al tratamiento con PIFN+RBV+BOC.....	96
Tabla 39. Respuesta al tratamiento con PIFN+RBV+TEL.....	98
Tabla 40. Respuesta al tratamiento con PIFN+RBV+SIM.....	99
Tabla 41. Respuesta al tratamiento con PIFN+RBV+DAC.....	100
Tabla 42. Distribución de polimorfismos de la <i>IL28B</i>	101
Tabla 43. Respuesta al tratamiento con PIFN+RBV en los diferentes polimorfismos de la <i>IL28B</i> en pacientes naïve, recaedores y no respondedores.....	101
Tabla 44. Respuesta al tratamiento con PIFN+RBV+BOC en los diferentes polimorfismos de la <i>IL28B</i> en pacientes naïve, recaedores y no respondedores.....	102
Tabla 45. Respuesta al tratamiento con PIFN+RBV+TEL en los diferentes polimorfismos de la <i>IL28B</i> en pacientes naïve, recaedores y no respondedores.....	103
Tabla 46. Terapias libres de IFN administradas en cada genotipo.....	103
Tabla 47. RVS a terapias libres de IFN, con o sin RBV.....	104
Tabla 48. Características de los fracasos a terapias libres de IFN.....	104