

Distribution of HCV genotypes in the metropolitan area of Naples

**Giuseppe Sodano, Nunzia Cuomo, Giuseppe Di Nicuolo, Erasmo Falco,
Maria Grimaldi, Francesco Labonia, Adriana Raddi, Riccardo Smeraglia**

Microbiologia e Virologia, AORN DEI COLLI (Monaldi-Cotugno-CTO), Napoli

Key words: Hepatitis C, Genotype, Distribution

Distribuzione dei genotipi di HCV nell'area di Napoli

SUMMARY

The Hepatitis C virus is characterized by high genomic variability that leads to the identification of six different genotypes and many subtypes. In this work, we show the prevalence of genotypes in patients living in the metropolitan area of Naples collected in one year, analyzing differences in the distribution depending on sex and age groups.

INTRODUZIONE

Il virus dell'epatite C (HCV) è la causa principale di epatite cronica progressiva, cirrosi e carcinoma epatocellulare (5).

L'HCV è caratterizzato da estrema variabilità genomica che ha portato alla distinzione di 6 diversi genotipi, all'interno dei quali si identificano vari sottotipi.

Il sottotipo 1b è osservato in tutto il mondo, mentre i sottotipi 1a e 3a sono distribuiti in Europa e in Nord America, il genotipo 2 nell'area mediterranea, nell'Estremo Oriente e nell'Africa occidentale. Il genotipo 4 è endemico del Medio Oriente e dell'Africa centrale, il genotipo 5 del Sud Africa, il genotipo 6 del Sud-Est asiatico (10).

Tra i paesi europei, l'Italia ha la più alta prevalenza di infezioni da HCV (3-26%) e il più alto tasso di osserva nel Sud-Italia (1, 8).

La conoscenza del genotipo è predittiva della progressione della malattia e della risposta al trattamento (4, 6, 9). Da qui l'importanza del dato di prevalenza dei genotipi circolanti.

L'obiettivo di questo studio è stato quello di fornire informazioni sulla distribuzione dei genotipi di HCV nell'area metropolitana di Napoli mediante un'indagine retrospettiva sui pazienti che nell'arco di un anno sono pervenuti presso la struttura sanitaria dell'Ospedale Cotugno per la determinazione del genotipo.

MATERIALI E METODI

Nel periodo 01/07/2011-30/06/2012 sono stati raccolti i campioni di 667 pazienti HCV RNA positivi pervenuti presso l'Ospedale Cotugno di Napoli per la determinazione del genotipo, dei

quali 647 nativi e 20 immigrati. Il genotipo di HCV è stato ottenuto in 661 pazienti, il sottotipo in 640. 441 erano maschi e 220 femmine con un'età media di 54.7 anni (range 2-89 anni). L'HCV-RNA è stato estratto con il kit QIAmp Viral RNA mini kit - Qiagen e retrotrascritto e amplificato con il kit "VERSANT® HCV Amplification 2.0 (LiPA) - Siemens" (11).

Il prodotto PCR di DNA biotinilato è stato genotipizzato mediante l'utilizzo del kit "VERSANT HCV Genotype 2.0 (LiPA) - Siemens" che si basa sul principio dell'ibridazione inversa. In breve tale metodica prevede l'uso di sonde oligonucleotidiche immobilizzate su una striscia di nitrocellulosa mediante una coda poli (dT), la determinazione dei genotipi mediante allineamento delle strisce di dosaggio con una scheda di lettura e la comparazione delle tipologie di linee con quelle riportate sul grafico di interpretazione. Per i genotipi 1 e 6 vengono valutate le regioni 5'UTR e core, per i genotipi da 2 a 5 la sola regione 5'UTR (2).

L'analisi statistica è stata effettuata con il Fisher's exact test. Valori di $p < 0.01$ sono stati considerati statisticamente significativi.

RISULTATI

La distribuzione dei genotipi di HCV nei 661 pazienti arruolati presso il Laboratorio di Microbiologia e Virologia dell'Ospedale Cotugno di Napoli tra il 01/07/2011 ed il 30/06/2012 è riportata nella tabella 1.

Il genotipo 1 è risultato il più frequente (60.66%) seguito dal genotipo 2 (20.27%), genotipo 3 (14.67%) e genotipo 4 (4.38%). In nessun caso è stato identificato il genotipo 5 e 6. La distribuzio-

Corresponding author: Giuseppe Sodano

A.O.R.N. "AZIENDA OSPEDALIERA DEI COLLI" Monaldi-Cotugno-CTO

Via Quagliariello, 54 - 80131 Napoli

Telefono/ Fax: 081 7067319

ne dei sottotipi stratificata per genere è riportata nella tabella 2.

Il sottotipo 1b è risultato il più frequente (42.81%) e ha mostrato una prevalenza statisticamente significativa nelle femmine rispetto ai maschi ($p < 0.01$). Il secondo sottotipo più frequente è risultato 2a/2c (18.00%) senza una differenza significativa tra maschi e femmine.

Il terzo sottotipo più frequente è risultato 1a (16.19%) con una prevalenza significativa nei maschi rispetto alle femmine ($p < 0.01$). Infine il sottotipo 3a ha mostrato una frequenza del 14.52%, il sottotipo 4cd del 4.08% e il sottotipo 1a/1b del 1.21% senza differenza significativa tra maschi e femmine.

Dei 661 pazienti esaminati, 115 avevano età compresa tra 2 e 40 anni, 294 tra 41 e 60 anni e

252 > 60 anni.

La distribuzione dei genotipi di HCV nelle diverse fasce di età, è riportata nella tabella 3.

Nella fascia di età compresa tra 2 e 40 anni il sottotipo 3a è risultato il più frequente (36.04%), seguito dal sottotipo 1a (25.23%), mentre nella fascia di età compresa tra 41 e 60 anni è risultato più frequente il sottotipo 1b (34.25%), seguito dall'1a (23.81%) e dal 3a (19.05%) e nella fascia di età maggiore dei 60 anni il sottotipo 1b è risultato il più frequente (63.89%) seguito dal 2a/2c (29.37%).

I sottotipi 1a, 3a e 4cd hanno mostrato una prevalenza statisticamente significativa nei pazienti di età ≤ 40 anni, mentre i sottotipi 1b e 2a/2c hanno mostrato una prevalenza statisticamente significativa nei pazienti di età > 40 anni ($p < 0.01$).

Tabella 1. Distribuzione dei genotipi di HCV nella popolazione studiata (n. 661).

Genotipo	N.	%	Genere				Età media
			M	%	F	%	
1	401	60.66	266	60.31	135	61.36	50.6 (2-89)
2	134	20.27	74	16.78	60	27.27	61.2 (21-83)
3	97	14.67	76	17.23	21	9.54	43.8 (23-79)
4	29	4.38	25	5.66	4	1.81	46.0 (23-59)

Tabella 2. Distribuzione dei sottotipi di HCV nella popolazione studiata stratificata per genere.

Sottotipi	N.	%	M		F	
			N.	%	N.	%
1a	107	16.19	91	20.63	16	7.27
1b	283	42.81	166	37.64	117	53.18
1a/1b	8	1.21	6	1.36	2	0.91
1*	3	0.45	3	0.68	0	0.00
2a/2c	119	18.00	66	14.97	53	24.09
2*	15	2.27	8	1.81	7	3.18
3a	96	14.52	75	17.01	21	9.55
3*	1	0.15	1	0.23	0	0.0
4cd	27	4.08	23	5.22	4	1.82
4*	2	0.30	2	0.45	0	0.0

*Altri casi non sottotipizzati.

Tabella 3. Distribuzione dei sottotipi di HCV nelle differenti classi di età.

Sottotipo	Fasce di età (anni)					
	2-40		41-60		>60	
	N.	%	N.	%	N.	%
1a	29	25.23	70	23.81	8	3.17
1b	21	17.12	101	34.25	161	63.89
1a/1b	1	0.90	7	2.38	0	0.00
1*	1	0.90	1	0.34	1	0.40
2a/2c	8	6.31	37	12.59	74	29.37
2*	1	0.90	6	2.04	8	3.17
3a	40	36.04	56	19.05	0	0.00
3*	0	0.0	1	0.34	0	0.00
4cd	13	11.71	14	4.76	0	0.00
4*	1	0.90	1	0.34	0	0.00

*Altri casi non sottotipizzati.

DISCUSSIONE

La distribuzione dei genotipi di HCV osservata nel nostro studio è simile a quella presente in letteratura. È confermata complessivamente la predominanza del genotipo 1 ed in particolare del sottotipo 1b, seguito dal genotipo 2, quasi completamente rappresentato dal sottotipo 2a/2c.

I nostri dati mostrano che la prevalenza di tali sottotipi decresce nei pazienti più giovani, in accordo con i dati europei, a favore dei sottotipi 1a, 3a e 4cd.

Recentemente è stata osservata una variazione nel profilo epidemiologico in Europa, così come in Italia; tale cambiamento sembra essere dovuto principalmente ad una modifica dei fattori di rischio (3).

In accordo con un recente studio, in cui il genotipo 4 mostrava un sostanziale incremento (7), abbiamo osservato una prevalenza statisticamente significativa dei genotipi 4cd nei pazienti di età ≤ 40 anni rispetto a quelli di età più elevata.

BIBLIOGRAFIA

1. Ansaldi F, Bruzzone B, Salmaso S, et al. Different seroprevalence and molecular epidemiology patterns of hepatitis C virus infection in Italy. *J Med Virol.* 2005; 76(3): 327-32.
2. 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; 40: 3127-34.
3. European Association for the study of the Liver, EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *Journal of Hepatology.* 2011; 55: 245-64.
4. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: An update. *Hepatology.* 2009; 49: 1335-74.
5. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C Virus Infection. *New England Journal of Medicine* 2001; 345: 41-52.
6. Lee SS, Heathcote EJ, Reddy KR, et al. Prognostic factors and early predictability of sustained viral response with peginterferon alfa-2a (40KD). *J Hepatol.* 2002; 37: 500-6.
7. Matera G, Lamberti A, Quirino A, et al. Changes in the prevalence of hepatitis C virus (HCV) genotype 4 in Clabria, Southern Italy. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* 2002; 42(3): 169-73.
8. Mele A, Tosti ME, Spada E, et al. Epidemiology of acute viral hepatitis: twenty years of surveillance through SEIEVA in Italy and a review of the literature. *Rapporti ISTISAN* 2006; 12: 1-30.
9. Nguyen MH, Keeffe EB. Prevalence and treatment of hepatitis C virus genotypes 4, 5, and 6. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2005;10:S97-S101.
10. Simmonds P, Bukh J, Combert C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005; 42: 962-73.
11. Smith ES, Li AK, Wang AM, Gelfand DH, Myers TM. Amplification of RNA: high-temperature reverse transcription and DNA amplification with a magnesium-activated thermostable DNA Polymerase. In *PCR Primer: A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Dieffenbach C.W. and Dveksler G.S., Eds. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2003; 211-9.