



Distribución de los genotipos del virus C en la población de hemodiálisis de la provincia de Alicante

M. D. Arenas¹, C. Muñoz², J. Sánchez-Payá³, R. Jover, J. J. Egea¹, M. T. Gil¹, F. Martín¹, F. Sarró¹, A. Soriano¹, A. Luna⁴, J. Olivares⁴, A. Reyes⁵, E. Muñoz del Bustillo⁶, C. del Pozo⁷, V. Valverde⁸, M. Perdiguero⁹ y A. Araque¹⁰

Servicio de Nefrología del Sanatorio Perpetuo Socorro¹, Unidad de Inmunología² y Servicio de Medicina Preventiva³ del Hospital General Universitario de Alicante. Centros participantes: HGU de Alicante⁴, H. Elche⁵, Clínica Vistahermosa⁶, H. Alcoy⁷, H. Elda⁸, H. Vilajoyosa⁹ y Centro de ASHDO (Orihuela)¹⁰.

RESUMEN

Los genotipos del virus de la hepatitis C (VHC) se distribuyen irregularmente según las áreas geográficas y los diferentes grupos de riesgo.

Objetivo: Conocer la prevalencia y distribución de los genotipos y subtipos del VHC en los pacientes de hemodiálisis (HD) de la provincia de Alicante, analizando la distribución por áreas y su asociación con algunas características como la edad y el tiempo en hemodiálisis.

Métodos: Se estudiaron 640 pacientes en HD y se determinó el RNA-VHC y sus genotipos en los 120 pacientes con anticuerpos frente al VHC (Ac-VHC) positivos. Se comparó con un grupo control de 1.355 pacientes de otros grupos de riesgo de la misma área geográfica.

Resultados: La prevalencia del VHC en HD fue del 20%. En el 15% (18/120) de los pacientes en HD con Ac-VHC no se detectó el RNA-VHC en suero. Los genotipos de los 102 pacientes con RNA viral positivo (85%) mostraron las siguientes prevalencias: 1b: 56,8% (58/102), 1a: 19,6% (20/102), 3: 17% (17/102), 2a-2c: 1,9% (2/102), 2b: 0,9% (1/102), 4: 2,9% (3/102), 5: 0,9% (1/102).

Conclusiones: Los genotipos más frecuentes en hemodiálisis en la provincia de Alicante fueron el 1b, 1a y 3. La distribución de los genotipos del VHC en HD no fue uniforme en las distintas áreas geográficas de la provincia y se comportó básicamente igual que la población de otros grupos de riesgo de la misma área geográfica.

Palabras clave: **Genotipos VHC. Hemodiálisis.**

HEPATITIS C VIRUS GENOTYPE DISTRIBUTION IN THE HEMODIALYSIS POPULATION FROM ALICANTE

SUMMARY

Hepatitis C virus (HCV) genotypes are irregularly distributed among the different geographic area and groups at risk.

Recibido: 24-V-2001.

En versión definitiva: 18-IX-2001.

Aceptado: 18-IX-2001.

Correspondencia: Dra. M.^a Dolores Arenas Jiménez
Servicio de Nefrología. Hemodiálisis
Sanatorio Perpetuo Socorro
Plaza Dr. Gómez Ulla, 15
03013 Alicante

Objective: To study the different HCV genotypes and subtypes of hemodialyzed patients from Alicante.

Methods: We studied 640 patients on haemodialysis (HD) and we determined the RNA-HCV and the genotypes in the 120 patients with antibodies against HCV (HCV-Ab). We compared the results with the genotypes of 1,370 patients from other groups at risk in the same geographic area.

Results: RNA-HCV was not found in the serum in 15% (18/120) of the patients on HD who were HCV-Ab positive. Prevalence of the different genotypes in the 102 patients with positive viral RNA was the following: 1b: 56.8% (58/102), 1a: 19.6% (20/102), 3: 17% (17/102), 2a-2c: 1.9 (2/102), 2b: 0.9% (1/102) 4: 2.9 (3/102), 5: 0.9% (1/102). In conclusion, the genotype 1b was the most frequent in the patients studied in all these areas, and was the same as in the rest of the country. This genotype has been associated with the most severe hepatic disease and poor response to treatment, affecting the prognosis of these patients. The most frequent genotypes in HD in Alicante were 1b, 3 and 1a. HCV genotypes distribution among the HD units was not uniform in the different geographic areas. HCV genotypes distribution in the HD population is similar to other groups at risk from the same geographic area.

Key words: **HCV genotypes. Haemodialysis.**

INTRODUCCIÓN

El virus de la hepatitis C (VHC) es un virus ARN que comparte la organización genómica con la familia de los flavivirus. Posee una alta frecuencia de mutación y la heterogeneidad genómica (diferencias en la secuenciación de nucleótidos) es una de sus principales características biológicas¹. El análisis comparativo de la secuencia de nucleótidos de los virus aislados en diferentes partes del mundo, ha permitido identificar más de 6 genotipos mayores y numerosos subtipos y ha mostrado la existencia de grandes diferencias entre regiones geográficas². Los genotipos tienen un considerable interés epidemiológico, y su prevalencia varía notablemente en las diversas áreas del mundo³⁻⁶. La distribución de los genotipos es diferente según la edad⁵ y el grupo de riesgo⁶, y está sujeta a cambios relativamente rápidos⁷, como se ha puesto de manifiesto con la reciente introducción del genotipo 4 entre los adictos a drogas por vía parenteral en el sur de España⁸. La severidad de la enfermedad, la concentración viral y la respuesta al tratamiento también varían de unos genotipos a otros^{6,9-12}.

Se dispone de poca información acerca de la distribución geográfica de los genotipos en los pacientes en hemodiálisis en España y los datos que se conocen se refieren a grupos muy pequeños, en áreas geográficas muy concretas y poco representativos de la población en hemodiálisis¹³.

El objetivo del estudio fue conocer la distribución de los genotipos y subtipos del VHC en la pobla-

ción de hemodiálisis de la provincia de Alicante y compararla con un grupo control de pacientes de la provincia que no estuvieran en hemodiálisis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Estudio descriptivo en un corte transversal de la población en hemodiálisis perteneciente a 10 centros distribuidos por toda la provincia de Alicante realizado en mayo de 2000. Se ha estudiado la prevalencia de la infección por el VHC en esta población, analizando la distribución por áreas de sus genotipos y la asociación de estos con algunas características como la edad y el tiempo en hemodiálisis y se ha comparado con un grupo control formado por pacientes VHC positivos de la misma área geográfica, de otros grupos de riesgo distintos a hemodiálisis.

Pacientes en hemodiálisis

Se ha determinado el RNA viral del VHC en suero y sus genotipos en los 120 pacientes que presentaban anticuerpos frente al VHC (Ac-VHC) de un total de 640 pacientes en hemodiálisis en ese momento (tabla I). Los centros estudiados se distribuían a lo largo de toda la provincia, excepto el área de Denia

Tabla I. Relación de pacientes en hemodiálisis por áreas y por centros

	Total Pac. Hemodiálisis	N.º VHC Hemodiálisis	Prevalencia VHC (%)	N.º Centros Hemodiálisis
Alicante	290	56	19,3	3
Elche	75	20	26,6	2
Elda	95	11	11,5	2
Villajoyosa	32	7	21,8	1
Orihuela	70	4	5,7	1
Alcoy	78	22	28,2	1
Total	640	120	18,75	10

y Torrevieja. Seis de los centros realizaban aislamiento en salas independientes y 4 realizaban aislamiento en monitores específicos dentro de la misma sala de hemodiálisis.

Grupo control

Se ha utilizado como grupo control todos los pacientes incluidos en la base de datos de la Unidad de Inmunología del Hospital General Universitario de Alicante a los que se les había determinado los genotipos desde 1995 hasta la fecha del estudio (1.355 pacientes). La unidad de inmunología centraliza la determinación de los genotipos de las muestras procedentes de los hospitales y centros de atención primaria y de especialidades de las áreas de Salud de Alcoy (483 pacientes), Elda (41 pacientes), Alicante (712 pacientes) y Villajoyosa (117 pacientes). No se disponía de datos sobre pacientes que no estuvieran en hemodiálisis de las áreas de Elche ni Orihuela. Estos pacientes procedían principalmente de los servicios de atención primaria, medicina interna y digestivo e incluían pacientes de otros grupos de riesgo diferentes hemodiálisis (126 de los pacientes estudiados eran ADVP).

Técnicas de laboratorio

La determinación de anticuerpos frente al VHC se realizó mediante la técnica de ELISA de tercera generación (Ortho Diagnostic Systems) que detecta anticuerpos IgG frente a proteínas derivadas de tres regiones distintas del genoma viral (c22-3, c-200). Todos los test positivos para ELISA se confirmaron mediante la técnica RIBA. Los resultados de RIBA VHC 3.0 se interpretaron siguiendo estrictamente las instrucciones del fabricante.

El RNA-VHC se detectó en suero mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (Amplificador HCV PCR), que combina la transcripción in-

versa con una reacción de amplificación, seguida de hibridación no isotópica. Los genotipos del VHC en suero se analizaron mediante una técnica de hibridación diferencial a sondas específicas de genotipo (INNO-LIPA).

Análisis estadístico

La asociación entre variables cualitativas se realizó mediante el test estadístico Chi cuadrado y para cuantificar la magnitud de esta asociación se utilizó la razón de prevalencia con sus intervalos de confianza al 95%. Para el estudio de comparación de medias entre grupos se ha utilizado la *t* de Student o el análisis de la varianza según fueran dos o más grupos, respectivamente. El nivel de significación estadística utilizado en los contrastes de hipótesis ha sido un valor de $p < 0,05$. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS para Windows.

RESULTADOS

Población de hemodiálisis

La prevalencia global de infección por VHC en la población estudiada fue del 18,75% (120/640). Los pacientes con Ac-VHC tenían una edad media de $59,4 \pm 15$ años y su tiempo medio de permanencia en hemodiálisis fue de $13 \pm 6,6$ años.

El 15% (18/102) de los pacientes en hemodiálisis con Ac-VHC no mostró RNA-VHC detectable en suero de forma repetida. Se determinaron los genotipos en los 102 pacientes en los que se detectó el virus en sangre (85%), los cuales mostraron las siguientes prevalencias: 1b: 56,8% (58/102), 1a: 19,6% (20/102), 3: 17% (17/102), 2a-2c: 1,9% (2/102), 2b: 0,9% (1/102), 4: 2,9% (3/102), 5: 0,9% (1/102) (tabla II). Los genotipos más prevalentes en la población de hemodiálisis fueron los genotipos 1b, 1a y 3. Sólo aparecieron 2 casos del genotipo

Tabla II. Distribución de los genotipos VHC por áreas geográficas en hemodiálisis

Genotipos	N	1a	%	1b	%	2	%	3	%	4	%	5	%
Alicante	46	12	26	24	52	1	2,1	8	17	1	2,1	0	0
Elche	19	6	31,5	10	52,6	0	0	3	16	0	0	0	0
Elda	9	0	0	4	44	1	11	3	33	1	11	0	0
Villajoyosa	7	0	0	6	86	0	0	0	0	1	14	0	0
Orihuela	3	1	25	2	50	0	0	0	0	0	0	0	0
Alcoy	18	1	5,5	12	67	1	5,5	3	17	0	0	1	5,5
Total	102	20	19,6	58	56,8	3	2,9	17	17	3	2,9	1	0,9

2, 3 casos del genotipo 4 y 1 paciente era del genotipo 5.

Se analizó la influencia de la edad, el tiempo de permanencia en hemodiálisis y la distribución comarcal en la aparición de los distintos genotipos del VHC. La edad no se comportó como un factor determinante en la aparición de ninguno de los genotipos del VHC en la población de hemodiálisis (genotipo 1a (20 pacientes) $54,7 \pm 14,5$ años, 1b (58 pacientes) $62,2 \pm 13,9$ años, 2 (3 pacientes) 59 años, 3 (17 pacientes) $57,3 \pm 20,9$ años, 4 (3 pacientes) 62 ± 5 años, 5 (1 paciente) 79 ± 0 años; $p > 0,05$).

El genotipo 1a fue predominante en los pacientes que llevaban un mayor tiempo en hemodiálisis ($18,6 \pm 13,9$ años frente a $12,2 \pm 6,8$ años) ($p < 0,01$) y el genotipo 1b fue significativamente más frecuente en los pacientes que llevaban menos tiempo en hemodiálisis ($10,8 \pm 6,7$ años frente a $15,8 \pm 9,8$ años) ($p < 0,01$). El resto de genotipos no mostró asociación con el tiempo de permanencia en hemodiálisis.

El genotipo 1b fue el genotipo más ampliamente distribuido en los pacientes en hemodiálisis tanto a nivel global como en cada una de las comarcas estudiadas, mostrando prevalencias superiores al 40% en todas las áreas. El genotipo 1a fue el segundo genotipo en frecuencia a nivel global y en las zonas de Alicante (26%) y Elche (31,5%). Sin embargo fue muy poco prevalente en el resto de las áreas (inexistente

en Elda y Villajoyosa, y en el área de Alcoy alcanzó sólo una prevalencia del 5,5%). El genotipo 3 fue el tercero en frecuencia en las zonas de Alicante y Elche (17,3 y 15,7% respectivamente) y el segundo en Elda y Alcoy (33% y 17%) y no apareció ningún caso en Villajoyosa ni en Orihuela. Los genotipos 2, 4 y 5 fueron muy poco frecuentes a nivel global en la población de hemodiálisis. No se encontraron diferencias significativas en la distribución de los genotipos del VHC en hemodiálisis entre las distintas áreas geográficas estudiadas. El único caso de genotipo 5 apareció en el área de Alcoy (tabla III).

La población en hemodiálisis de las áreas del Sudeste de la provincia (Alicante, Elche y Orihuela) mostró un mayor riesgo de infección por el genotipo 1a (27,9%) (razón de prevalencia: 7,5; IC: 1,06-53,60, $p < 0,01$) que los pacientes en hemodiálisis del interior de la provincia (Elda y Alcoy) (3,7%). Los genotipos 2, 4 y 5 mostraron una distribución inversa en dichas áreas (14,8% y 2,9 respectivamente) (razón de prevalencia: 0,20; IC: 0,04-1,02, X_2 : 4,56, $p < 0,05$). La distribución de los genotipos 1b y 3 fue similar en ambas zonas. La edad de los pacientes del sudeste de la provincia fue significativamente superior ($57,3 \pm 15,3$ años) a los del interior ($65 \pm 12,9$ años) ($p = 0,01$) y no existían diferencias significativas en el tiempo de hemodiálisis entre ambas áreas ($170,2 \pm 115,3$ meses frente a 138 ± 77 meses) ($p = 0,13$).

Tabla III. Comparación de los genotipos entre pacientes en hemodiálisis y de otros grupos de riesgo a nivel global

Global	HD	Población general	RP-IC 95%	p
Genotipo 5	1,25% (1/80)	5,5% (75/1.355)	0,24 (0,03-1,70)	0,18
Genotipo 4	3,75% (3/80)	3,4% (47/1.355)	1,14 (0,36-3,60)	0,74
Genotipo 3	17,5% (14/80)	11,8% (161/1.355)	1,56 (0,95-2,57)	0,12
Genotipo 2	3,75% (3/80)	0,8% (11/1.355)	4,86 (1,39-17,19)	0,03
Genotipo 1b	57,5% (46/80)	58% (835/1.355)	0,99 (0,81-1,20)	0,99
Genotipo 1a	16,25% (13/80)	16,6% (226/1.355)	1,03 (0,62-1,72)	0,96

Población de otros grupos de riesgo distintos a hemodiálisis

La distribución de los genotipos del VHC en la población del área estudiada mostró una distribución similar a la encontrada en hemodiálisis a nivel global. El genotipo 1b fue el más frecuente: 58% (835/1.355), segundo del 1a: 16,6% (226/1.355) y del 3: 11,8% (161/1.355). Los genotipos 2, 4 y 5 mostraron prevalencia menores (0,8%, 3,4% y 5,5%, respectivamente).

Todos los casos de infección por el genotipo 5 aparecieron en el área de Alcoy, siendo inexistente este genotipo en el resto de las áreas geográficas analizadas (razón de prevalencia indefinida, X_2 : 144,32, $p < 0,0001$).

En el grupo de riesgo de riesgo de ADVP los genotipos más frecuentes fueron el 1b y el 1a con una frecuencia similar (31%) seguidos del genotipo 3.

Comparación de genotipos entre los pacientes VHC de hemodiálisis y otros grupos de riesgo

Al comparar los genotipos del VHC de la población de hemodiálisis de Alicante, Elda, Villajoyosa y Alcoy con los genotipos del VHC de los pacientes de otros grupos de riesgo de las mismas áreas geográficas se observó que ambos grupos seguían un patrón de distribución de genotipos similar, excepto el genotipo 2 que era más prevalente en la población de hemodiálisis que en el resto de la población (tabla III).

DISCUSIÓN

La distribución de los genotipos del VHC es irregular a nivel mundial y la frecuencia relativa de cada uno de ellos varía entre los diferentes países, e incluso dentro del mismo país puede variar entre diferentes regiones geográficas. Algunos genotipos como el 1a, 1b, 2a y 2b se encuentran ampliamente distribuidos por todo el mundo, mientras otros están circunscritos a determinadas zonas como sucede con el genotipo 5 en el sur de África, el genotipo 4 en Oriente Medio y Norte de África o el genotipo 6 en la India y Sudeste Asiático^{2-4,14,15}. Los genotipos predominantes en EE.UU., Japón y oeste de Europa son el 1a, 1b, 2a y 3a, en Norteamérica y norte de Europa es el genotipo 1a, y el genotipo 1b es el más frecuente en el sur y este de Europa. El genotipo 1 se puede considerar el genotipo del VHC más frecuente en casi todo el mundo y en Europa predomina en su variante 1b¹⁶. Varios estudios

de diferentes provincias españolas han mostrado como genotipo predominante el 1b, seguido del genotipo 1a o el genotipo 3, según las zonas^{6,10,17}. Los genotipos no se distribuyen de forma y constante, sino que su distribución puede variar en la misma región geográfica en relación a cambios en las circunstancias epidemiológicas que afecten a la diseminación de la infección^{5,8}.

En nuestra población en hemodiálisis hemos encontrado una gran variedad de subtipos (1a, 1b, 2a-2c, 2b, 3, 4 y 5) aunque los genotipos más frecuentes han sido el 1b (56,8%), el 1a (19,6%) y el 3 (17%). El genotipo predominante en los pacientes de hemodiálisis de nuestra área ha sido el genotipo 1 (75%), como ya han referido otros autores en estudios similares^{13,18}. La distribución a nivel global de los genotipos tanto en hemodiálisis como en la población de otros grupos de riesgo en la provincia de Alicante, ha sido similar a la reflejada por León y cols.¹⁷ sobre una muestra de 441 donantes sanos españoles representativos de 15 comunidades españolas, a excepción de Valencia y Castilla-La Mancha. En este estudio el genotipo 1 (1a y 1b) representó el 86% de los genotipos estudiados, seguido de los genotipos 3 (4,4%), 2 (4%), 4 (3,4%) y 5 (0,5%) y, cabe pues suponer, que refleje la distribución de los genotipos del VHC en la población general española.

Otros estudios realizados en pacientes en hemodiálisis de otros países muestran una distribución de genotipos diferente a la encontrada en nuestra población: en Lombardía (al norte de Italia) el genotipo 2a fue el predominante (57%) seguido del 1b (37%)¹⁹ y en China fue el genotipo 1a²⁰. En otros estudios realizados en Francia y Corea el genotipo más frecuente fue el 1b^{21,22}. En la serie estudiada en el oeste de Andalucía ningún paciente presentó infección por el genotipo 3, que era el tercero en frecuencia en nuestro estudio¹³. De todos estos datos y de nuestro estudio se desprende que el patrón de distribución de los genotipos del VHC en HD se correlaciona en cierta medida con los genotipos predominantes en el área geográfica estudiada, y no parece mostrar una distribución específica como grupo de riesgo independiente, aunque algunos genotipos se magnifican en la población de hemodiálisis, probablemente por transmisión nosocomial dentro de las mismas unidades.

El tiempo de permanencia en hemodiálisis ha influido en la aparición de determinados genotipos, lo que sugiere que con el tiempo puede variar el perfil de los genotipos de un área geográfica determinada como ya sugieren otros autores⁵.

Ninguno de los pacientes estudiados presentó tipificaciones mixtas por diferentes genotipos del

VHC, que sugeriría la transmisión conjunta de dos o más tipos de reinfecciones sucesivas por distintos tipos, lo que hace pensar que la frecuencia de coinfección por más de un tipo de VHC es muy baja, incluso en grupos de alto riesgo, como ya ha sido publicado previamente^{17,23}. Habría que realizar un estudio filogenético como secuenciación de nucleótidos para detectar posibles infecciones por diferentes secuencias del mismo genotipo.

La influencia del genotipo del virus sobre la severidad de la enfermedad es controvertido. Aunque podemos encontrar enfermedad hepática de distinta severidad en todos los genotipos del VHC, hay estudios que apoyan que el daño hepático en pacientes con VHC parece estar directamente influenciado por los subtipos de éste. La infección por el subtipo 1b se ha relacionado con una histología hepática más severa y peor respuesta al tratamiento^{6,10,11}. Sin embargo esta relación entre la severidad de la enfermedad y el genotipo viral no ha sido confirmada por otros autores^{24,25}. Igualmente, también se ha demostrado que el genotipo del VHC se comporta como factor predictivo independiente de respuesta al tratamiento con interferón sólo o asociado a ribavirina, siendo la respuesta más favorable en los pacientes infectados con los genotipos 2 ó 3 que en los pacientes infectados con el genotipo 1^{6,13}. El 75% de la población en hemodiálisis infectada por el VHC de nuestra área geográfica tenía un genotipo 1, y más de la mitad presentaba el genotipo 1b, lo cual podría implicar un peor pronóstico en la evolución de la hepatopatía en estos pacientes, sobre todo teniendo en cuenta la limitación que existe en el momento actual en el tratamiento de la hepatopatía en estos pacientes. El tratamiento estándar de la infección por el VHC en la población general es una combinación de interferón-alfa y ribavirina. Por razones farmacocinéticas (acumulación de los metabolitos de la ribavirina en los eritrocitos) la ribavirina está contraindicada en hemodiálisis por el riesgo de anemia hemolítica, de manera que en la actualidad el interferón-alfa debe ser usado en monoterapia en los pacientes con insuficiencia renal²⁶.

En nuestro estudio, un elevado número de pacientes portadores de anticuerpos frente al VHC no mostró el RNA viral en sangre. Esta situación puede ser debida a que los pacientes hayan sido infectados con el virus, pero no recientemente, persistiendo los ac-VHC incluso después de que el RNA del virus haya desaparecido, al secuestro del VHC en otros lugares distintos a la sangre, como el hígado o las células sanguíneas mononucleares, a la existencia de una viremia intermitente o a que el número de copias de RNA-VHC sea inferior a su límite de detección²⁷.

En conclusión, el genotipo 1b ha sido el más frecuente en los pacientes estudiados en todas las áreas, al igual que en el resto de España. Este genotipo es el que se ha asociado con enfermedad hepática más severa y peor respuesta al tratamiento con interferón, lo que podría tener consecuencias pronósticas en la evolución posterior de estos pacientes. Los genotipos más frecuentes en hemodiálisis en la provincia de Alicante fueron el 1b, 3 y 1a. La distribución de los genotipos del VHC en las unidades de hemodiálisis no fue uniforme en las distintas áreas geográficas de la provincia y se comportó básicamente igual que la población de otros grupos de riesgo de la misma zona.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bukh J, Miller RH, Purcell RH: Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin Liver Dis* 15: 41-63, 1995.
2. Davidson F, Simmonds P, Ferguson JC y cols.: Survey of major genotypes and subtypes of hepatitis C virus using RFLP of sequences amplified from the 5' non-coding region. *J Gen Virol* 76: 1197-1204, 1995.
3. Sherlock S: VI International Symposium on viral hepatitis: summary. *J Hepatol* 22 (Supl. 1): 160-164, 1995.
4. Mellor J, Holmes EC, Jarvis LM, Yap PL, Simmonds P and the International HCV Collaborative Study Group: Investigation of the pattern of hepatitis C virus sequence diversity in different geographical regions: implications for virus classification. *J Gen Virol* 76: 2493-2507, 1995.
5. Cilla G, García-Bengoechea M, Pérez-Trallero E, Montalvo I, Vicente D, Arenas JI: Genotyping of hepatitis C virus isolates from Basque Country, Spain. *Epidemiol Infect* 117 (3): 533-536, 1996.
6. Alonso P, Orduña A, San Miguel A, Domínguez E, Gutiérrez P, Lorenzo B, Zarzosa P, Bratos MA, Rodríguez Torres A: Genotipos del virus de la hepatitis C: su relación con factores de riesgo, severidad de la enfermedad y respuesta serológica. *Med Clin (Barc)* 110 (18): 681-686, 1998.
7. Pujol FH, Devesa M, Loureiro CL, Capriles F, Liprandi F. *Arch Virol* 143 (4): 823-827, 1998.
8. Sánchez-Quijano A, Abad MA, Torronteras R, Rey C, Pineda JA, Leal M, Macías J, Lissen E: Unexpected high prevalence of hepatitis C virus genotype 4 in southern Spain. *J Hepatol* 27 (1): 25-29, 1997.
9. Mondelli MU, Sillini E: Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *J Hepatol* 31 (Supl. 1): 65-70, 2000.
10. García-Samaniego J, Soriano V, Castilla J, Bravo R, Moreno A, Carbo J, Íñiguez A, González J, Muñoz F: Influence of hepatitis C virus genotypes and HIV infection on histological severity of chronic hepatitis C. The hepatitis/HIV Spanish Study Group. *Am J Gastroenterol* 92 (7): 1130-1134, 1997.
11. Silini EM, Bono F, Cividina A y cols.: Differential distribution of hepatitis C genotypes in patients with and without function abnormalities. *Hepatology* 21: 285-290, 1995.
12. Davis GL, Lau JYN: Factors predictive of beneficial response to therapy of hepatitis C. *Hepatology* 26 (Supl. 1): 12S-27S, 1997.
13. Vallejo F, Lozano A, Rodríguez M, Fernández E: Prevalencia de los distintos genotipos del virus de la hepatitis C en hemodiálisis. *Nefrología* 17 (4): 430-341, 1997.

14. Chamberlain RW, Adams N, Saeed AA, Simmonds P, Elliot RM: Complete nucleotide sequence of a type 4 hepatitis C virus variant, the predominant genotype in the Middle East. *J Gen Virol* 78: 1341-1347, 1997.
15. Songsivilai S, Kanistanon D, Dharakul T: A serotyping assay for hepatitis C virus in Southeast Asia. *Clin Diagn Lab Immunol* 5 (7): 737-739, 1998.
16. Rodrés J, Sánchez-Tapas JM: Hepatitis C. *Nephrol Dial Transplant* 15 (Supl. 8): 2-11, 2000.
17. León P, López JA, Amela C, Elola C, Echevarría JM y el Grupo Español de estudio de Donantes de Sangre en Riesgo de Transmisión del VHC: Prevalencia de tipos del virus de la hepatitis C en donantes de sangre españoles: resultados de un estudio multicéntrico de ámbito estatal. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 17 (9): 448-453, 1999.
18. García-Valdecasas J, Bernal MC, García F, Cerezo S: Virus de la hepatitis C: estado actual. Avances y problemas en el diagnóstico. Transmisión en hemodiálisis. *Nefrología* 16 (2): 128-137, 1996.
19. Fabrizi F, Lunghi G, Pagliari B, Mangano S, Faranna P, Pagano A, Locatelli F: Molecular epidemiology of hepatitis C virus infection in dialysis patients. *Nephron* 77: 190-196, 1997.
20. Hadiwandowo S, Tsuda F, Okamoto H, Wang Y, Tanaka T, Miayakama Y, Mayumi M: Hepatitis virus subtypes and hepatitis C virus genotypes in patients with chronic liver disease or in maintenance hemodialysis in Indonesia. *J Med Virol* 43: 182-186, 1994.
21. Bouchardea F, Chaveau P, Courouce AM, Poignet JL: Genotype distribution and transmission of hepatitis C virus (HCV) in French hemodialysed patients. *Nephrol Dial Transplant* 10: 2250-2252, 1995.
22. Lee DS, Sung YC, Whang YS: Distribution of HCV genotypes among blood donors, patients with chronic liver disease, hepatocellular carcinoma and patients in maintenance hemodialysis in Korea. *J Med Virol* 49: 55-60, 1996.
23. Viazoc S, Widell A, Nordenfelt E: Mixed infection with two types of hepatitis C virus is probably a rare event. *Infection* 28 (1): 21-25, 2000.
24. López-Labrador FX, Ampudarnés S, Fornés X y cols.: Hepatitis C virus (HCV) genotypes in Spanish patients with HCV infection: relationship between HCV genotype 1b, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 27: 959-965, 1997.
25. Nousbaum JB, Pol S, Nalpas B y cols.: Hepatitis C virus tipo II (1b) infection in France and Italy. *Ann Intern Med* 122: 161-168, 1995.
26. Pol S: Treatment of hepatitis C virus infection in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 15 (Supl. 8): 46-48, 2000.
27. Arenas MD, Sarró F, Gil MT, Martín F, Muñoz C: Seroconversión tardía por el virus de la hepatitis C en un paciente