

Aleksandra Berkan-Kawińska¹, Anna Piekarska¹, Ewa Koślińska-Berkan¹,
Zbigniew Deroń², Maciej Jabłkowski³, Kamila Wójcik¹

EPIDEMIOLOGY OF HEPATITIS C VIRUS INFECTIONS IN LODZKIE VOIVODESHIP

EPIDEMIOLOGIA ZAKAŻEŃ HCV W WOJEWÓDZTWIE ŁÓDZKIM

¹Medical University of Lodz, Department of Infectious Diseases and Hepatology

²Observation – Infectious and Hepatology Department

³Medical University of Lodz, Department of Infectious and Liver Diseases

¹Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii

²Oddział Obserwacyjno-Zakaźny i Chorób Wątroby

³Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Klinika Chorób Zakaźnych i Chorób Wątroby

ABSTRACT

INTRODUCTION. Epidemiology of HCV subtypes plays an increasing role in treatment decision making in the era of direct acting antivirals. Data on incidence of HCV subtypes in Poland are sparse and equivocal.

AIM OF THE STUDY. The aim of this study was to assess the distribution of HCV subtypes basing on data collected in Lodzkie province in 2015.

MATERIALS AND METHODS. Patients with chronic hepatitis C were evaluated for antiviral treatment in one of the three infectious diseases departments in Lodzkie province in 2015 and had HCV genotype/subtype determined. The exclusion criteria were as follows: HBV and/or HIV coinfection and age under 18 years old.

RESULTS. The study included 555 patients aged from 18 to 87 years. The rate of women was 52.8%, mean age was 47.4 years and treatment-experienced patients comprised 22.7% of study group. Genotypes 1, 3 and 4 were detected in 512 (92.25%), 34 (6.13%) and 7 (1.26%) patients, respectively. Subtype determination was performed in 464 patients infected with HCV genotype 1. The frequency of subtype 1a and 1b was 18.8% and 81%, respectively. Mean age in patients with HCV 1a infection was 28.6 years and was significantly lower than in patients infected with HCV 1b (52.5 years, $p < 0.05$). A significant correlation between age and HCV subtype was observed.

CONCLUSIONS. Prevalence of subtype 1a in patients with chronic hepatitis C in Lodzkie province is high, moreover, this subtype dominates in population of young adults (18-29 years).

Key words: HCV, genotypes, epidemiology, viral hepatitis, subtype 1a

STRESZCZENIE

WSTĘP. W dobie nowych terapii przeciwwirusowych epidemiologia subtypów wirusa HCV może mieć coraz większe znaczenie kliniczne. Informacje na temat częstości występowania poszczególnych subtypów HCV w Polsce są skąpe i nieprecyzyjne.

CEL PRACY. Celem poniższej pracy była ocena rozkładu subtypów HCV w populacji na podstawie danych zebranych w 2015 roku w województwie łódzkim.

MATERIAŁ I METODY. Analizie poddano dane pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C, którzy byli hospitalizowani w 3 oddziałach chorób zakaźnych w województwie łódzkim w 2015 roku. Z badania wykluczono chorych z koinfekcją HIV i/lub HBV oraz osoby w wieku poniżej 18 lat.

WYNIKI. Do badania włączono 555 pacjentów w wieku od 18 do 87 lat. Kobiety stanowiły 52,8% populacji, średnia wieku wyniosła 47,4 roku, a odsetek wcześniej leczonych osób wyniósł 22,7%. Zakażenie genotypem 1, 3 i 4 stwierdzono u odpowiednio 512 (92,25%), 34 (6,13%) i 7 (1,26%) badanych. U 464 spośród 512 chorych zakażonych genotypem 1 określono subtyp wirusa. Subtypy 1a i 1b stwierdzono u odpowiednio 87 (18,8%)

i 376 (81%) pacjentów zakażonych HCV 1. Średnia wieku wśród pacjentów z HCV 1a wyniosła 28,6 roku i była istotnie niższa, niż wśród pacjentów z HCV 1b (52,5 roku). Stwierdzono istotną korelację pomiędzy wiekiem a subtypem wirusa HCV.

PODSUMOWANIE I WNIOSKI. W populacji pacjentów z wzv c w województwie łódzkim subtyp 1a występuje często, co więcej, zakażenie to dominuje wśród pacjentów w wieku 18-29 lat.

Słowa kluczowe: *HCV, genotypy, epidemiologia, wirusowe zapalenie wątroby, podtyp 1a*

INTRODUCTION

Chronic hepatitis C caused by hepatitis C virus (HCV) continues to be an important epidemiologic issue worldwide despite increasing access to effective antiviral therapies. It is estimated that every year 3-4 million people get infected with HCV and approximately 350 000 die due to hepatitis C complications (1). Meta-analysis published in 2013 demonstrated an increase of global antibody to HCV (anti-HCV) seroprevalence from 2.3% to 2.8% over last 15 years, which means an increase in number of people with anti-HCV positive from over 122 million to over 185 million (1). Although prevalence of hepatitis C in developed countries in the future is predicted to decline, number of patients suffering from its complications, as well as financial investment necessary to overcome epidemics, may continue to rise (2).

Isolated in 1989, HCV is an enveloped single-stranded RNA virus of the family *Flaviviridae* (3). The 1994 classification system was based on differences in nucleotide sequence of non-structural protein NS-5 encoding gene and proposed 6 main HCV genotypes: 1, 2, 3, 4, 5 and 6 (4). It has been thus proven that identical nucleotide sequences comprise only approximately 70% of the whole HCV genome, moreover, differences in genomic composition within one genotype may reach up to 20% (5). This became the basis of further division of HCV into subtypes. Eventually number of genotypes has expanded to 7 and 67 confirmed subtypes have been distinguished (6).

Data on incidence of HCV subtypes in Poland are sparse and equivocal. It may be due to the fact that until recently subtype assessment was not performed on a daily basis, as it was believed not to have significant influence on selection and efficacy of interferon treatment – evaluation of HCV genotype was sufficient for decision making. However, recent reports suggest that treatment efficacy of some new direct-acting antivirals (DAA) may be determined by the presence of specific mutations in viral genome called resistance-associated variants (RAVs). The incidence of these mutations is different in patients infected with HCV 1a and HCV 1b (7). In consequence, HCV subtypes epidemiology may play an increasing role in treatment decision mak-

WSTĘP

Pomimo coraz większej dostępności skutecznych terapii przeciwwirusowych przewlekłe zapalenie wątroby typu C wywołane wirusem HCV (*hepatitis C virus*) nadal stanowi poważny problem epidemiologiczny na całym świecie. Szacuje się, iż co roku zakażeniu HCV ulega od trzech do czterech milionów ludzi, a około 350 000 pacjentów umiera z powodu przyczyn związanych z tą chorobą (1). W metaanalizie opublikowanej w 2013 roku wykazano wzrost globalnego odsetka dodatnich wyników oznaczeń przeciwciał anti-HCV w ciągu ostatnich 15 lat z 2,3% do 2,8%, co może odpowiadać zwiększeniu liczby zakażonych z ponad 122 milionów do ponad 185 milionów (1). Jednak chociaż w krajach rozwiniętych częstość występowania przewlekłego zapalenia wątroby typu C wydaje się maleć, liczba chorych, którzy będą doświadczali jego powikłań, jak również nakłady finansowe konieczne do opanowania epidemii, mogą w przyszłości nadal rosnąć (2).

Wirus HCV, wyizolowany po raz pierwszy w 1989 roku, jest otoczkowym ssRNA-wirusem z rodziny *Flaviviridae* (3). Obowiązująca od 1994 roku klasyfikacja, oparta na różnicach w sekwencji nukleotydów we fragmencie genu kodującym niestrukturalne białko NS-5, wyróżniała 6 podstawowych genotypów wirusa HCV: 1, 2, 3, 4, 5 oraz 6 (4). Obecnie wyodrębnia się jeszcze genotyp 7, jak również 67 odrębnych subtypów wirusa (5). Okazuje się bowiem, iż wspólnie dla wszystkich genotypów sekwencje nukleotydowe stanowią jedynie ok. 70% całego genomu wirusa; co więcej, różnice w obrębie tego samego genotypu mogą sięgać 20% sekwencji nukleotydowej, co jest podstawą dalszego podziału genotypów na subtypy (6).

Informacje dotyczące występowania poszczególnych subtypów HCV w Polsce są skąpe i niejednoznaczne. Może wynikać to z faktu, iż do niedawna ocena subtypów nie była wykonywana rutynowo, ponieważ nie wydawała się mieć istotnego wpływu na wybór i skuteczność leczenia interferonowego – decyzje terapeutyczne opierały się jedynie na oznaczeniu genotypu. Najnowsze obserwacje sugerują jednak, że w przypadku terapii wykorzystujących niektóre leki bezpośrednio działające na wirusa (*direct-acting anti-*

ing. The aim of this study was to assess the prevalence of HCV subtypes basing on data collected in Lodzkie province in 2015.

MATERIALS AND METHODS

The study group included patients with chronic hepatitis C who were evaluated for antiviral treatment in one of the three infectious diseases departments in Lodzkie province from 1st of January 2015 to 31st of December 2015 and who had HCV genotype/subtype determined. The exclusion criteria were as follows: HBV and/or HIV coinfection and age under 18 years old. Genotype and subtype assessment was performed with the use of Versant HCV Genotype Assay (LiPA) 2.0 test. In patients with HCV genotype 1 infection who underwent subtype assessment further analysis of differences in age (age intervals: 18-29 years, 30-49 years, 50-69 years and over 70 years), sex and previous antiviral treatment between subtype 1a and 1b was performed. Statistical calculations were performed with statistic system R (8). Chi-square test and U-Mann Whitney test were used for analysis of differences between groups with different subtypes. The *p* value <0.05 was considered significant.

RESULTS

The study included 555 patients aged from 18 to 87 years: 293 women (52.8%) and 262 men (47.2%). Mean age in the study population was 47.4 years. One hundred twenty six patients were treatment-experienced (22.7%). In 488 patients (87.9%) the evaluation of HCV subtype was performed.

Distribution of HCV genotypes and subtypes is presented in Table I. Genotype 1 constituted the majority of HCV infections and was detected in 512 patients (92.25%). Next most common genotypes were genotype 3 (34/555 patients, 6.13%) and genotype 4 (7/555 patients, 1.26%). No HCV genotype 2.5 or 6 infections were detected. Three patients (0.54%) had mixed HCV infection (genotype 1a/1b, 1b/2 and 1b/4).

Subtype determination was performed in 464 out of 512 patients infected with HCV genotype 1. The frequency of subtype 1a and 1b was 18.8% (87/464) and 81% (376/464), respectively. Mean age in patients with HCV 1a infection was 28,6 years and was significantly lower than in patients infected with HCV 1b (52.5 years, *p*<0.05). Moreover, a significant correlation between age and HCV subtype was observed. Patients aged 18-29 years comprised the majority of group infected with HCV 1a (71/87 patients, 81.6%) and only 8.0% of group infected with HCV 1b (30/376 patients). HCV 1b infection was most prevalent in patients aged 50-69 years (174/376, 46.3%) and 30-49

virals, DAA) efekty leczenia mogą zależeć od obecności w genomie wirusa mutacji nazwanych wariantami związanymi z opornością (*resistance-associated variants*, RAVs). Mutacje te występują z różną częstością na przykład u pacjentów zakażonych HCV 1a i 1b (7). W efekcie w przyszłości epidemiologia subtypów wirusa HCV może mieć coraz większe znaczenie kliniczne. Celem poniższej pracy była ocena częstości występowania poszczególnych subtypów HCV w populacji na podstawie danych zebranych w 2015 roku w województwie łódzkim.

MATERIAŁ I METODY

Analizie poddano dane pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C, którzy byli hospitalizowani w 3 oddziałach chorób zakaźnych w województwie łódzkim w okresie od 1 stycznia 2015 do 31 grudnia 2015 i którzy mieli wykonane oznaczenie genotypu lub subtypu wirusa HCV. Z badania wykluczono pacjentów ze współzakażeniem HIV i/lub HBV oraz osoby w wieku poniżej 18 lat. Badanie genotypu oraz subtypu wykonano za pomocą testu Versant HCV Genotype Assay (LiPA) 2.0. W grupie pacjentów zakażonych genotypem 1, u których wykonano oznaczenie subtypu, przeanalizowano różnice w częstości występowania subtypu 1a i 1b w zależności od grupy wiekowej (18-29 lat, 30-49 lat, 50-69 lat, > 70 lat), płci i wcześniejszego leczenia przeciwwirusowego. Zebrane dane zostały opracowane z wykorzystaniem programu statystycznego R (8). W analizie statystycznej wykorzystano testy zgodności chi-kwadrat oraz test U-Manna Whitneya. Wartość przyjętego poziomu istotności wyniosła < 0,05.

WYNIKI

Do badania włączono 555 pacjentów w wieku od 18 do 87 lat: 293 kobiety (52,8%) i 262 mężczyzn (47,2%). Średnia wieku w badanej grupie wyniosła 47,4 roku. Spośród wszystkich chorych 126 osób było wcześniej co najmniej raz leczonych przeciwwirusowo (126/555, 22,7%). U 488 pacjentów (87,9%) określono subtyp wirusa HCV.

Częstość występowania poszczególnych genotypów z podziałem na subtypy została przedstawiona w tabeli I. Zakażenie genotypem 1 stwierdzono u 512 spośród 555 badanych (92,25%). Kolejnymi najczęściej występującymi genotypami były genotyp 3 (34/555, 6,13%) i genotyp 4 (7/555, 1,26%). W badanej populacji nie stwierdzono żadnego przypadku zakażenia 2, 5 ani 6 genotypem wirusa HCV. U trzech pacjentów (0,54%) wykryto zakażenie mieszane (genotyp 1a/1b, 1b/2 i 1b/4).

years (117/376, 31.1%). Adults over 70 years old constituted 14.6% of patients infected with HCV 1b and only 1.1% of patients infected with HCV 1a.

Most of the patients infected with HCV 1a were men (46/87, 52.9%), while in the group of patients infected with HCV 1b we observed slight predominance of women (211/376, 56.1%). However, differences in sex distribution between both groups were not statistically significant. The rate of treatment-experienced patients (in whom previous interferon+ribavirin or interferon+ribavirin+telaprevir/boceprevir therapy failed) was lower in the group of patients infected with HCV 1a than in patients infected with HCV 1b (18.4% versus 27.1%, respectively; $p = 0.1127$). Comprehensive characteristics of patients infected with subtype 1a and 1b is presented in Table II.

The second most prevalent genotype in the study population was genotype 3 (6.13%). Mean age of the patients infected with genotype 3 was 41.1 year (Table III). In this group we observed predominance of people aged 30-49 years (19/34, 55.9%). The youngest patients (18-29 years) constituted second most prevalent age group (7/34, 20.6%). Infection with genotype 3 was the least frequent in patients over 70 years old (2/34, 5.9%). In the population of patients infected with HCV 3 the rate of men was higher than of women (64.7% versus 35.3%). When the history of previous treatment was assessed, we observed that most of the patients were treatment-naïve (31/34, 91.2%). Subtype determination was performed in 19 patients (55.9%) – 3a was detected in all cases.

Genotype 4 infection was detected only in 7 out of 555 patients (1.26%). Mean age in this group was 43.1 years, and most of the patients were aged 30-49 years (6/7, 85.7%). The group consisted of 4 women and 3 men. Only 1 patient was treatment-experienced. Three patients had their subtype assessed (4a/4c/4d), but the method used did not allow to distinguish between subtypes 4a, 4c and 4d.

DISCUSSION

Genotype 1 is the most prevalent HCV genotype in adult patients with chronic hepatitis C in Poland and occurs in 79.4-83.9% of cases (9,10). The results of our study confirm this predominance, which, in our case, was even more pronounced (92.25% of the study population). Very low prevalence of other genotypes – genotype 3 and 4 – is also worth noting (6.13% and 1.26%, respectively). These observations are consistent with results of the study conducted in 2012 by *Panasiuk et al.*, who reported that the highest rate of genotype 1 infections was in Lodzkie province (89.2%); similarly, the incidence of genotype 3 and 4 was lower than in other provinces (9.0% and 1.8% versus global rate for Poland of 13.8% and 4.9%, respectively) (9). However, increase in genotype 1 prevalence may not

Table I. Prevalence of HCV genotypes in Lodzkie province. Tabela I. Częstość występowania poszczególnych genotypów HCV w województwie łódzkim.

Genotype	Number of patients, (% of the study group)
1	512 (92.25%)
1a	87 (15.68%)
1b	376 (67.75%)
1a/1b	1 (0.18%)
NA	48 (8.65%)
2	0
3	34 (6.13%)
3a	19 (3.42%)
NA	15 (2.70%)
4	7 (1.26%)
4a/4c/4d	3 (0.54%)
NA	4 (0.72%)
5	0
6	0
1b/2	1 (0.18%)
1b/4	1 (0.18%)
Suma	555

NA: not available.

U 464 spośród 512 chorych zakażonych HCV 1 oznaczono dodatkowo subtyp wirusa. Subtypy 1a i 1b stwierdzono u odpowiednio 18,8% (87/464) i 81% (376/464) pacjentów. Średnia wieku w grupie pacjentów zakażonych HCV 1a wyniosła 28,6 roku i była istotnie statystycznie niższa, niż w grupie pacjentów zakażonych HCV 1b (52,5 roku; $p < 0,05$). Co więcej, stwierdzono istotną korelację pomiędzy wiekiem a subtypem wirusa HCV ($p < 0,05$). W grupie zakażonych HCV 1a obserwowano zdecydowaną przewagę pacjentów w wieku 18-29 lat (71/87, 81,6%), podczas gdy w grupie chorych zakażonych HCV 1b stanowili oni zaledwie 8,0% (30/376). Zakażenie HCV 1b stwierdzano najczęściej u pacjentów w wieku 50-69 lat (174/376, 46,3%) oraz 30-49 lat (117/376, 31,1%). Chorzy powyżej 70. roku życia stanowili natomiast 14,6% wszystkich pacjentów zakażonych HCV 1b i tylko 1,1% pacjentów zakażonych HCV 1a.

Większość pacjentów zakażonych HCV 1a stanowili mężczyźni (46/87, 52,9%). Dla porównania w grupie chorych zakażonych HCV 1b dominowała płć żeńska (211/376, 56,1%). Różnice rozkładu płci w obu grupach pacjentów nie okazały się jednak istotne statystycznie. Pacjenci uprzednio leczeni (po nieskutecznych terapiach dwu- lub trójlekowych) stanowili w grupie chorych zakażonych HCV 1a nieco mniejszy odsetek, niż w grupie pacjentów zakażonych HCV 1b (odpowiednio 18,4% [16/87] i 27,1% [102/376], $p = 0,1127$), różnica ta nie okazała się jednak istotna statystycznie. Charakterystyka pacjentów zakażonych genotypem 1a i 1b została przedstawiona w Tabeli II.

Table II. Characteristics of patients infected with HCV genotype 1 who underwent subtype assessment (n = 463)*.

Tabela II. Charakterystyka populacji pacjentów zakażonych genotypem 1, u których wykonano oznaczenie subtypu wirusa (n = 463)*.

Characteristics	Genotype, n (%)		P
	1a	1b	
Total number of patients	87	376	
Age			
Mean	28.6	52.5	p < 0.05
Range	19-71	19-86	
Age Intervals			
18-29	71 (81.6%)	30 (8.0%)	p < 0.05
30-49	10 (11.5%)	117 (31.1%)	
50-69	5 (5.8%)	174 (46.3%)	
> 70 years	1 (1.1%)	55 (14.6%)	
Sex			
Female	41 (47.1%)	211 (56.1%)	p = 0.1621
Male	46 (52.9%)	165 (43.9%)	
Treatment			
Naive	16 (18.4%)	102 (27.1%)	p = 0.1127
Experienced	71 (81.6%)	271 (72.1%)	
NA	0 (0.0%)	3 (0.8%)	

* One patient infected with genotype 1a/1b (mixed infection) was not included in the analysis.

NA: not available.

only be characteristic for Lodzkie province, but represent a phenomenon occurring nationally – *Panasiuk et al.* observed that prevalence of genotype 1 in Polish population increased from 72% in 2003-2004 to 85,6% in 2011-2013 (9). One of the theories explaining this tendency claims that as response to antiviral treatment in patients infected with HCV genotype 1 used to be worse than in patients infected with HCV genotype 3, elimination of genotype 3 from the population occurred faster. In the era of interferon-free therapies with efficacy particularly for genotype 1 this trend may be reversed.

In our study not only genotype 1 prevalence is higher than previously reported, but also distribution of genotype 1 subtypes is different. Basing on the estimates from older reports it was suggested that prevalence of subtypes 1a and 1b among patients infected with HCV genotype 1 in Poland was 4,3% and 95,5%, respectively (11). In a study conducted in 2008 subtype 1a was detected only in 3 out of 103 patients infected with HCV genotype 1 (12). More recent report from 2016 indicated that frequency of subtype 1a may be higher - it was detected in 101/1159 patients (8,7%) (10). In our analysis the prevalence of subtype 1a was even more prominent and reached 15,68% of the whole study population and 18,8% of patients infected with HCV genotype 1, who had their subtype determined. As a result, frequency of subtype 1a exceeded the frequency of subtype 3a, so far believed to be the second most common HCV genotype.

Table III. Characteristics of patients infected with HCV genotype 3.

Tabela III. Charakterystyka pacjentów zakażonych genotypem 3.

Characteristics	Number of patients (%)
Total number of patients	34
Subtype	
3a	19 (55.9%)
NA	15 (44.1%)
Age	
Mean	41.1
Range	19-75
Gender	
Female	12 (35.3%)
Male	22 (64.7%)
Treatment	
Experienced	2 (5.9%)
Naive	31 (91.2%)
NA	1 (2.9%)
Age Intervals	
18-29	7 (20.6%)
30-49	19 (55.9%)
50-69	6 (17.6%)
> 70 years	2 (5.9%)

NA: not available.

One of the possible explanations for changes in the distribution of HCV genotypes in the population is that some genotypes respond to treatment worse than others. Theory claiming that prevalence of subtype 1a may increase as a result of this phenomenon is not confirmed by our observations – the rate of treatment-naïve patients was slightly higher in the group infected with HCV 1a than in the group infected with HCV 1b (81,6% versus 72,1%, respectively), however, the difference was not statistically significant.

Moreover, results of our study suggest that high frequency of subtype 1a is associated with its predominance in young adults – it was detected in 70,3% of patients with genotype 1 aged 18-29 years who had their subtype determined. Mean age in patients infected with subtype 1a was 28,6 years compared with 52,5 and 41,1 years in patients infected with HCV 1b and HCV 3, respectively. Similar average age of patients with HCV 1a infection was reported in another Polish analysis (10). Results of epidemiological studies conducted in children with chronic hepatitis C may explain predominance of subtype 1a in population of young adults (13). Distribution of HCV genotypes in people under 18 years old is different than in adults; prevalence of subtypes 1a, 1b and 3a reaches 51,7%, 45% and 3,3%, respectively (14). In a study by *Prusinowska* HCV 1a infection was diagnosed in 62% of children with chronic hepatitis C (15). Increase in the frequency of HCV 1a in adults may possibly be a result of reaching by the part of paediatric population the age of maturity. It can be thus presumed that the prevalence of subtype 1a in adults will continue to rise.

The question arises as to what is the cause of predominance of subtype 1a in patients born in the 1980s and 1990s. High prevalence of chronic HCV 1a infections in adults aged 18-29 years may be associated with spread of this disease in the last 20-25 years. Similar pattern of hepatitis C transmission (20-40 years ago) is observed in United States of America, where subtype 1a is also the most prevalent (16). Different HCV epidemiology is described for instance for Japan, where the majority of population with chronic hepatitis C is over 50 years old, and most transmissions occurred 40-60 years ago; moreover, the dominant HCV genotype in Japan is genotype 1b (16). This is consistent with our results, which demonstrated that 60,9% of all patients infected with HCV 1b are over 50 years old.

Phylogenetic analyses confirm that HCV 1a infection occurred at a low rate from the beginning of 20th century until the 1960s, when there was an increase in its transmission rates; on contrary, dynamic transmission of HCV 1b infections started in 1940s and preceded epidemics of subtype 1a by at least 16 years (17). This epidemiological pattern is usually explained by differences in hepatitis C transmission – initial spread

Drugim najczęstszym genotypem w badanej populacji był genotyp 3 (6,13%). W grupie pacjentów zakażonych genotypem 3 średnia wieku wyniosła 41,1 roku (Tabela III). Dominowali w niej pacjenci w wieku 30-49 lat (19/34, 55,9%). Drugą w kolejności najczęstszą grupę wiekową stanowili najmłodszy pacjenci (18-29 lat; 7/34, 20,6%). Najrzadziej zakażenie genotypem 3 stwierdzano u chorych, którzy przekroczyli 70 lat (2/34, 5,9%). Ponadto wśród chorych zakażonych genotypem 3 stwierdzono dominację płci męskiej (22/34, 64,7%). Gdy pod uwagę wzięto wcześniejsze leczenie przeciwwirusowe, okazało się, iż zdecydowaną większość pacjentów zakażonych genotypem 3 stanowią chorzy dotychczas nieleczeni przeciwwirusowo (31/34, 91,2%). Oznaczenie subtypu wykonano u 19 chorych (55,9%) – we wszystkich przypadkach stwierdzono subtyp 3a.

Zakażenie genotypem 4 stwierdzono jedynie u 7 spośród 555 pacjentów objętych analizą (1,26%). Średnia wieku wyniosła 43,1 roku, a większość pacjentów stanowili chorzy w wieku 30-49 lat (6/7, 85,7%). W badanej grupie znalazły się 4 kobiety i 3 mężczyzn. Spośród 7 osób zakażonych genotypem 4 tylko 1 pacjent był w przeszłości nieskutecznie leczony. U 3 chorych wykonano oznaczenie subtypu (4a/4c/4d), jednak zastosowana metoda nie pozwoliła na odróżnienie subtypów 4a, 4c i 4d.

DYSKUSJA

W Polsce najczęściej występującym genotypem jest genotyp 1, który stwierdza się u 79,4-83,9% pacjentów (9, 10). Wyniki naszej pracy potwierdzają dominację genotypu 1, która w zbadanej przez nas populacji okazała się jeszcze wyraźniejsza (92,25% populacji). Zwraca również uwagę bardzo niska częstość występowania zakażeń innymi genotypami HCV – genotypem 3 i 4 (odpowiednio 6,13% i 1,26%). Należy przy tym zauważyć, iż w przeprowadzonym w 2012 roku badaniu *Panasiuka* i wsp., po uwzględnieniu podziału na województwa, najwyższy odsetek zakażeń genotypem 1 stwierdzono właśnie w województwie łódzkim (89,2%), podobnie jak niższy, niż w innych regionach kraju odsetek zakażeń genotypem 3 i 4 (9,0% i 1,8% w porównaniu do 13,8% i 4,9%) (9). Wzrost częstości występowania genotypu 1 może być jednak nie tylko specyfiką regionalną, ale zjawiskiem występującym w Polsce powszechnie – *Panasiuk* i wsp. zauważyli, że odsetek osób zakażonych genotypem 1 wzrasta z 72% w latach 2003-2004 do 85,6% w latach 2011-2013 (9). Jedną z teorii tłumaczących to zjawisko jest gorsza odpowiedź na stosowane dotychczas terapie genotypu 1 niż 3, a w konsekwencji szybsza eliminacja zakażenia genotypem 3. Obecnie jednak, w dobie terapii bezinterferonowych, tendencja ta może się odwrócić z uwagi na większą skuteczność nowych leków wobec genotypu 1.

Genotyp 1 wirusa HCV nie tylko występuje częściej, niż przypuszczano, ale i rozkład jego subtypów jest odmienny od dotychczas opisywanego. Opierając się na

of surgical procedures and blood transfusions followed by popularization of illicit intravenous drugs use (IDU) in the second half of 20th century. Genotypes 1a, 3a and 4 are believed to be associated with IDU, while genotypes 1b and 2 rather with transfusions and medical procedures (18,19,20). This assumption is used to explain increasing prevalence of subtypes 1a and 3a particularly in young adults (19,21). However, in our study data collected from patients aged 18-29 years do not provide any evidence for IDU as a possible route of HCV transmission. Moreover, *Woźniakowska-Gęsińska et al.* reported that infections with HCV genotype 1a in children are predominantly iatrogenic and associated with surgical procedures or blood and blood-derived products transfusions (22). It is worth noting that the results of analysis of distribution of HCV genotypes in Poland published in 1999 demonstrated that prevalence of HCV 1a in blood samples from Polish Mother's Memorial Hospital- Research Institute in Lodz was significantly higher than general prevalence observed in the study (22/40, 55%) (23).

Determining the most up-to-date HCV epidemiology in Polish population is of significant clinical importance, as HCV subtype may determine course of the disease and efficacy of antiviral treatment. For instance it has been observed that HCV 1b infection dominates in countries with high prevalence of hepatocellular carcinoma (HCC) – Japan, Italy and Spain (24). However, this may be explained by the aforementioned theory of HCV 1b spread preceding HCV 1a epidemics and, consequently, longer time of exposition to harmful viral activity as well as inflammatory process (25). Subtype evaluation may also have an important impact on antiviral treatment. Detection of RAVs in protease NS5A encoding gene leads to significant reduction in the efficacy of some DAAs in patients with HCV 1a infection (26), whereas RAVs to protease NS5B inhibitors are very common in patients infected with HCV 1b (27). Finally, Q80K mutation is associated with lower response rates to polymerase NS3 inhibitors (simeprevir and asunaprevir) and occurs in 34,7% HCV 1a-infected patients versus only 2,1% HCV 1b-infected patients (27). For these reasons American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) recommends testing for presence of RAVs prior to starting treatment with NS5A inhibitors (28). Precise evaluation of subtypes epidemiology in Polish population may thus have a strong impact on planning future antiviral treatment schedules in Poland.

One of the limitations of our study is the fact that study included only local population and our results may not be representative for the whole country. In the era of widespread subtype determination, multicentre analysis of HCV subtypes prevalence would be worth performing. Such study could help answer the question

starszych doniesieniach szacowano, iż częstość występowania subtypów 1a i 1b wśród pacjentów zakażonych genotypem 1 wynosi odpowiednio ok. 4,3% i 95,5% (11). W badaniu przeprowadzonym w 2008 roku na grupie 103 pacjentów zakażonych genotypem 1 subtyp 1a stwierdzono u zaledwie 3 z nich (12). Doniesienia z 2016 roku wskazują już na to, że genotyp 1a może występować częściej – stwierdzono go u 101/1159 pacjentów (8,7%) (10). W przeprowadzonej przez nas analizie częstość występowania subtypu 1a jest jednak jeszcze wyższa – wystąpił on u 15,68% całej badanej populacji i aż u 18,8% pacjentów zakażonych genotypem 1, u których oznaczono subtyp wirusa. Tym samym subtyp 1a okazał się w badanej populacji częstszy, niż uważany do tej pory za drugi co do częstości, po subtypie 1b, subtyp 3a.

Zmiana dystrybucji poszczególnych genotypów w populacji bywa niekiedy tłumaczona gorszą odpowiedzią części pacjentów na leczenie. Koncepcja mówiąca o tym, że częstość występowania genotypu 1a może wzrastać właśnie z tego powodu, nie znajduje jednak potwierdzenia w naszych obserwacjach – odsetek pacjentów zakażonych HCV 1a, którzy nie byli dotychczas leczeni, był nieco większy, niż w grupie chorych zakażonych HCV 1b (odpowiednio 81,6% w porównaniu do 72,1%), różnica ta nie okazała się jednak istotna statystycznie.

Co więcej, wyniki naszej pracy pokazują, że wysoka częstość występowania subtypu 1a jest związana przede wszystkim z jego dominacją w populacji młodych dorosłych (70,3% chorych w wieku 18-29 lat). Średnia wieku chorych zakażonych HCV 1a wyniosła 28,6 roku i była znacznie niższa, niż w grupie chorych zakażonych genotypem 1b oraz 3 (odpowiednio 52,5 i 41,1 roku). Podobnie niską średnią wieku (28 lat) u chorych zakażonych genotypem 1a obserwowano również w innej polskiej pracy (10). Wyniki badań epidemiologicznych przeprowadzanych wśród osób poniżej 18 roku życia zakażonych HCV zdają się tłumaczyć dostrzeżoną przez nas dominację zakażeń HCV 1a w populacji młodych dorosłych (13). Występowanie poszczególnych genotypów wirusa HCV wśród dzieci znacząco różni się bowiem od rozkładu obserwowanego u dorosłych i wynosi dla subtypów 1a, 1b i 3a odpowiednio 51,7%, 45%, i 3,3% (14). W pracy *Prusinowskiej* zakażenie HCV 1a stwierdzono u nawet 62% badanych dzieci (15). Niewykluczone więc, że obserwowany obecnie wzrost częstości występowania zakażeń HCV 1a wśród dorosłych jest wynikiem wchodzenia populacji pediatrycznej w wiek pełnoletni. Można przypuszczać, że skala tego zjawiska będzie narastać i że w przyszłości częstość zakażeń HCV 1a w populacji pacjentów dorosłych okaże się istotnie wyższa.

Pojawia się jednak pytanie o przyczynę tak powszechnego występowania genotypu 1a przede wszystkim u osób urodzonych w latach 80.- 90. XX wieku. Wysoka częstość

whether high incidence of HCV 1a subtype reported in our study is strictly local preserve or does it reflect the national trend.

CONCLUSIONS

Genotype 1b remains the most prevalent HCV genotype in patients with chronic hepatitis C in Lodzkie province. However, the prevalence of subtype 1a is higher than previously reported, moreover, this subtype dominates in population of young adults (aged 18-29 years). It can be thus presumed that future epidemiology of HCV infections will be a subject to dynamic changes.

REFERENCES

1. Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD et al. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology* 2013 Apr;57(4):1333-42.
2. Razavi H, ElKhoury A, Elbasha E et al. Chronic Hepatitis C Virus (HCV) Disease Burden and Cost in the United States. *Hepatology* 2013 Jun; 57(6): 2164–2170.
3. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ et al. 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.
4. Simmonds P, Holmes EC, Cha TA et al. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. *J Gen Virol* 1993 Nov;74 (Pt 11):2391-9.
5. Simmonds P. Variability of hepatitis C virus. *Hepatology* 1995 21, 570-573
6. Smith DB, Bukh J, Kuiken C et al. 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.
7. Zhi-wei Chen, Hu Li, Hong Ren et al. Global prevalence of pre-existing HCV variants resistant to direct-acting antiviral agents (DAAs): mining the GenBank HCV genome data. *Sci Rep* 2016; 6: 20310.
8. R Development Core Team (2010). A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>
9. Panasiuk A, Flisiak R, Mozer-Lisewska et al. Distribution of HCV genotypes in Poland. *Przegl Epidemiol* 2013; 67, 1: 11–16.
10. Gowin E, Bereszyńska I, Adamek A et al. The prevalence of mixed genotype infections in Polish patients with hepatitis C. *Int J Infect Dis* 2016 Feb;43:13-6.

występowania zakażenia HCV 1a w populacji pacjentów w wieku 18-29 lat sugeruje, iż transmisja tego zakażenia mogła mieć miejsce głównie w ciągu ostatnich 20-25 lat. Na podobny okres (20-40 lat wstecz) przypada szczyt zachorowalności na HCV w Stanach Zjednoczonych, gdzie w ogólnej populacji dominuje właśnie genotyp 1a (16). Natomiast zupełnie odmienna epidemiologia zakażeń HCV jest obserwowana na przykład w Japonii, w której większość zakażonych pacjentów stanowią chorzy w wieku powyżej 50 lat, a częstość zakażeń HCV była najwyższa 40-60 lat temu. Dominującym genotypem w Japonii jest genotyp 1b (16). W naszym badaniu wśród chorych zakażonych genotypem 1b także przeważały osoby w wieku przekraczającym 50 lat, które stanowiły 60,9% wszystkich chorych zakażonych genotypem 1b.

Badania filogenetyczne potwierdzają, że częstość zakażeń genotypem 1a utrzymywała się na stałym, niskim poziomie od roku 1906 do lat 60. XX. wieku, ale w latach 80. obserwowano jego znaczną ekspansję, z kolei najszybsze rozprzestrzenianie się zakażeń HCV 1b miało miejsce począwszy od lat 40. XX. wieku i poprzedziło o około 16 lat epidemię zakażeń HCV 1a (17). Taką epidemiologię zakażeń HCV tłumaczy się najczęściej zróżnicowaniem dróg jego transmisji – początkowym rozpowszechnieniem procedur chirurgicznych i transfuzji preparatów krwiopochodnych, a następnie, w drugiej połowie XX. wieku, dożylnych substancji odurzających. Uważa się bowiem, że zakażenia HCV 1a, 3a i 4 są związane głównie ze stosowaniem narkotyków dożylnych, a zakażenia HCV 1b oraz 2 z przetaczaniem składników krwi i zabiegami medycznymi (18,19,20). W ten sposób najczęściej interpretowany jest wspomniany trend polegający na zwiększającej się częstości występowania genotypów 1a i 3a, zwłaszcza wśród młodych ludzi (19,21). Należy jednak zauważyć, że z wywiadów chorobowych przeprowadzonych wśród badanych przez nas pacjentów w wieku 18-29 lat w żaden sposób nie wynika, aby możliwą drogą zakażenia było w ich przypadku stosowanie narkotyków dożylnych. Potwierdzeniem tej obserwacji są wyniki badania *Woźniakowskiej-Gęsickiej* i wsp., którzy ustalili, że zakażenia genotypem 1a u dzieci są najczęściej związane z zabiegami operacyjnymi oraz przetoczeniami krwi i preparatów krwiopochodnych (22). Co ciekawe, w jednym z opracowań z 1999 roku oceniających rozkład genotypów HCV w Polsce okazało się, że zdecydowanie większa niż przeciętna (22/40, 55%) częstość występowania subtypu 1a stwierdzana była w próbkach pochodzących z Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi (23).

Ustalenie rzeczywistej epidemiologii zakażeń HCV w Polsce ma istotne znaczenie kliniczne, uważa się bowiem, że subtyp wirusa HCV może determinować przebieg choroby oraz skuteczność leczenia przeciwwirusowego. Zaobserwowano na przykład, że zakażenie HCV 1b dominuje w krajach, w których częstość występowania raka wątrobowokomórkowego (*hepatocellular carci-*

11. Sarrazin C, Lathouwers E, Peeters M et al. Prevalence of the Hepatitis C Virus Polymorphism Q80K in a Pooled Analysis of Genotype 1 Patients from Telaprevir and Simeprevir Phase II/III Clinical Trials. 3rd Annual Meeting of the Viral Hepatitis Congress 2014, Frankfurt, Germany, 9–11 October 2014.
12. Chlabicz S, Flisiak R, Kowalczyk O et al. Changing HCV genotypes distribution in Poland--relation to source and time of infection. *J Clin Virol* 2008 Jun;42(2):156-9.
13. Łoś-Rycharska E, Szaflarska-Popławska A, Gronkowska A et al. Relation between genotype of hepatitis C virus with the course of hepatitis in children and teenagers and treatment efficacy. *Pediatr Pol* 2009;5(84):402–411.
14. Woźniakowska-Gęsicka T, Zeman K, Kupś J et al. Analiza częstości występowania HCV-RNA i genotypów wirusa C (HCV) u dzieci chorych na przewlekłe zapalenie wątroby. *Hepatol Pol* 1997; 4:127-31.
15. Prusinowska J. Charakterystyka immunofenotypu oraz funkcji komórek jednojądrzastych odporności wrodzonej u dzieci z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C. Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych, Poznań 2013.
16. Alter M. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* 2007 May 7; 13(17): 2436–2441.
17. Magiorkinis G, Magiorkinis E, Paraskevis D et al. The Global Spread of Hepatitis C Virus 1a and 1b: A Phylodynamic and Phylogeographic Analysis. December 15, 2009 PLOS Medicine.
18. Tyczyno M, Halota W, Nowak W et al. Distribution of HCV genotypes in the populations of inmates in polish prison Potulice and patients hospitalised in Bydgoszcz. *Hepat Mon* 2014 May 3;14(5):e14559.
19. Chlabicz S, Flisiak R, Kowalczyk O et al. Changing HCV genotypes distribution in Poland--relation to source and time of infection. *J Clin Virol* 2008 Jun;42(2):156-9.
20. Chlabicz S, Flisiak R, Kowalczyk O et al. High prevalence of genotype 4 among hepatitis C virus-infected intravenous drug users in north-eastern Poland. *J Med Virol* 2008 Apr;80(4):615-8.
21. Esteban JI, Sauleda S, Quer J. The changing epidemiology of hepatitis C virus infection in Europe. *J Hepatol* 2008 Jan;48(1):148-62.
22. Woźniakowska-Gęsicka T, Wiśniewska-Ligier M, Zeman K et al. Źródła zakażenia a genotypy wirusa C zapalenia wątroby u dzieci. *Pol Mer Lek* 1999; 32: 65-67.
23. Stańczak JJ, Opoka-Kegler J, Czerwionka-Szaflarska M et al. Distribution of hepatitis C virus genotypes in Poland. *J Hepatol* 1999 Sep;31(3):574.
24. Mitra AK. Hepatitis C-related hepatocellular carcinoma: prevalence around the world, factors interacting and role of genotypes. *Epidemiol Rev* 1999 21: 180-187.

noma, HCC) jest wysoka – w Japonii, Włoszech i Hiszpanii (24). Wydaje się jednak, że w świetle wspomnianej teorii mówiącej o rozpowszechnianiu się zakażeń HCV 1b wcześniej, niż zakażeń HCV 1a, wyższą częstość występowania HCC u chorych zakażonych subtypem 1b można tłumaczyć dłuższym czasem ekspozycji na działanie wirusa i toczący się proces zapalny wątroby (25). Określenie subtypu wirusa może mieć również znaczenie terapeutyczne – stwierdzenie RAVs w genie kodującym proteazę NS5A znacząco zmniejsza skuteczność niektórych DAA u pacjentów zakażonych genotypem 1a (26), a RAVs w genie kodującym proteazę NS5B występują istotnie częściej u chorych zakażonych genotypem 1b (27). Wreszcie, ważna z klinicznego punktu widzenia mutacja Q80K związana z gorszą odpowiedzią na inhibitory polimerazy NS3, szczególnie simeprevir i asunaprevir, występuje u 34,7% pacjentów zakażonych HCV 1a i jedynie 2,1% pacjentów zakażonych HCV 1b (27). Między innymi na tej podstawie Amerykańskie Towarzystwo Badań nad Wątrobą (*American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD*) zaleca oznaczanie RAVs NS5A u pacjentów zakażonych subtypem 1a HCV przed włączeniem niektórych rodzajów leczenia (28). Wydaje się więc, iż dokładne poznanie struktury epidemiologicznej polskiej populacji pacjentów zakażonych HCV może mieć znaczenie w planowaniu przyszłych terapii przeciwwirusowych w Polsce.

Jednym z ograniczeń pracy jest jej lokalny charakter – w ocenie uwzględniono przede wszystkim pacjentów zamieszkałych w regionie aglomeracji łódzkiej. W dobie powszechnego oznaczania subtypów warte uwagi byłoby przeprowadzenie wielośrodkowej analizy występowania subtypów HCV w Polsce. Badanie takie mogłoby przynieść odpowiedź na pytanie, czy wysoka częstość występowania subtypu HCV 1a jest charakterystyczna wyłącznie dla województwa łódzkiego, czy też podobną tendencję obserwuje się w całym kraju.

WNIOSKI

W województwie łódzkim w populacji pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu c dominują zakażenia genotypem 1b. Częstość występowania subtypu 1a okazuje się jednak być wyższa, niż do tej pory zakładano. Co więcej, zakażenia genotypem 1a dominują w populacji młodych pacjentów (w wieku 18-29 lat). Można więc przypuszczać, że w przyszłości epidemiologia zakażeń hcv będzie ulegać dynamicznym zmianom.

25. Zein NN. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *Clin Microbiol Rev* 2000 Apr;13(2):223-35.
26. Zeuzem S et al. Grazoprevir-Elbasvir Combination Therapy for Treatment-Naive Cirrhotic and Non-cirrhotic Patients With Chronic Hepatitis C Virus Genotype 1, 4, or 6 Infection: A Randomized Trial. *Ann Intern Med* 2015;163(1):1-13
27. Dietz J, Susser S, Berkowski C et al. Consideration of Viral Resistance for Optimization of Direct Antiviral Therapy of Hepatitis C Virus Genotype 1-Infected Patients. *PLoS One* 2015 Aug 28;10(8):e0134395.
28. Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C. AASLD. <http://www.hcv-guidelines.org/>
- Otrzymano:19.05.2016 r.
Zaakceptowano do druku: 17.10.2016 r.
Received: 19.05.2016
Accepted for publication: 17.10.2016
- Adres do korespondencji:**
Address for correspondence:
Aleksandra Berkan-Kawińska,
Department of Infectious Diseases and Hepatology,
Medical University of Lodz,
Tel.: +48 661 191 396;
e-mail address: aleksandra.berkan@gmail.com
(A. Berkan-Kawińska),
ul. Kniaziewicza 1/5, 91-347 Łódź,
Poland, fax.: +48 42 251 61 80