SOLICITUD DE PROYECTO DE INVESTIGACION

1. Datos del proyecto

Título del proyecto: Determinación del genotipo-subtipo del VHC. Evaluación de los diferentes ensayos comerciales disponibles.

Investigador coordinador: Natalia Chueca (HU San Cecilio)

Investigadores principales: Gabriel Reina (Clínica Universitaria de Navarra), Antonio Aguilera (CHUS Santiago), Juan Carlos Galán (Hospital Ramón y Cajal), Juan Córdoba (Hospital La Fé)

Personal participante en el proyecto: Natalia Chueca, Marta Álvarez, Miriam Fernández Alonso

2. Resumen del proyecto

Objetivo
Valorar la correcta asignación del genotipo/subtipo del virus de la hepatitis C mediante las diferentes plataformas comerciales, empleando como técnica de referencia la secuenciación en NS5b.
Metodología
En el laboratorio del Dr. Reina, se preparará un "profficiency panel" con distintas muestras control con resultados previos de genotipado utilizando NS5b, que se repartirá, junto con el protocolo y reactivos a utilizar, a los laboratorios participantes. Este panel servirá de control de calidad para asegurar uniformidad en la secuenciación in house de NS5b. A continuación se evaluará la concordancia con NS5b de Muestras de genotipo 1 (50 1a/50 1b), 50 de genotipo 3 y otras 50 del resto de genotipos de la seroteca de los laboratorios participantes, con resultados previos obtenidos mediante: a) Versant Inno-Lipa, (Dr. Aguilera y Dr Córdoba); b) Trugene HCV genotyping Kit, en el laboratorio del Dr. García; c) Abbot Real Time, en el laboratorio del Dr. Juan Carlos Galán, Dr Córdoba).

3. Memoria del proyecto

Justificación:

El VHC es un virus ARN con una elevada variabilidad genética, lo que hace que según su organización genómica se definan, en función al grado de homología distintos genotipos y subgenotipos (Garcia F, 2002), siendo los más prevalentes en nuestra área los genotipos 1a, 1b y 3a. Sin embargo, la homología de secuencia a nivel de subtipo no va más allá del 77-80%, lo que establece importantes diferencias a nivel genómico incluso dentro de un mismo subtipo.

En los últimos años, aprovechando el conocimiento del ciclo de replicación del VHC y el desarrollo de dianas terapéuticas en la infección por VIH, se han desarrollado los agentes antivirales de acción directa (DAAs-Direct Antiviral Agents) frente al VHC (Patlowtsky JM, 2007 y 2011; Keefe, 2007). En la actualidad ya

se han comercializado dos inhibidores de la proteasa viral (NS3/4A), Boceprevir y Telaprevir. Simprevir un inhibidor de la proteasa de segunda generación, con menos efectos adversos, y Sofosbuvir, un inhibidor de NS5b de elevada potencia antiviral y actividad pangenotípica, se aprobarán en España a lo largo de 2014.

La seguridad y certeza en la determinación correcta del subtipo es realmente limitada para algunos ensayos comerciales (Chevaliez, 2009), llegando algunos de ellos a clasificar erróneamente hasta el 25% de los subtipos 1a y hasta el 15% de los subtipos 1b. Este dato, de escasa trascendencia para el tratamiento de la hepatitis crónica C con PegInterferon y Ribavirina, adquiere una especial transcendencia para el tratamiento con los nuevos agentes antivirales de acción directa. La actividad antiviral de Boceprevir y Telaprevir, y el desarrollo, e incluso la posterior desaparición o "lavado" de las mutaciones de resistencia, es diferente entre los genotipos 1a y 1b. Para Simeprevir, ya existen estudios que demuestran la falta de eficacia de este fármaco en subtipos 1a, en los que se detecta basalmente el cambio Q80K, lo que ocurre hasta en un 40% de estos aislados (Poveda E, 2012). En este mismo sentido, se pueden aportar evidencias para el resto de las dianas terapéuticas en desarrollo: a) en la polimerasa viral (NS5b), los dos no nucleósidos de Abbott (ABT-333 y ABT-072) no tienen actividad si el VHC presenta la mutación C316Y/N; de nuevo esta mutación está presente en el 36% de los subtipos 1b; b) en el complejo de replicación NS5a, Daclastavir no tiene actividad si el VHC presenta la mutación Q30R; al igual que en los ejemplos anteriores, esta mutación está presente en el 51% de los genotipos 4. Es fácil comprender, que en ausencia de métodos que nos permitan determinar estos polimorfismos, una correcta determinación del subtipo será fundamental para poder iniciar tratamiento con estos fármacos.

Recientemente, el control de calidad de la SEIMC ha comunicado como utilizando un control de un genotipo 1a (analizado mediante Real Time Abbott), casi la mitad de un total de 79 laboratorios nacionales adscritos a este control no fueron capaces de emitir un resultado correcto.

Referencias

Bacon BR. N Engl J Med 2011; 364:1207-1217March 31, 2011
Carrat, F; *JAMA* 2004. **292** (23): 2839 -48
Chueca, N, Enferm Infecc Microbiol Clin. 2013;**31(Supl 1)**:40-47
Chung, RT; *The New England Journal of Medicine. 2004.* **351** (5): 451 -9.
Chevaliez S. PLoS One. 2009, 4(12):e8209.
Di Maio V, 10th European Meeting on HIV & Hepatitis Treatment Strategies &Antiviral Drug Resistance 28-30 March 2012, Barcelona, Spain. Abstract O_11.
Dieterich D, 19th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Opening Session. Abstract 46
Dieterich D, 20th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, March 3-6, 2013; abstract 40LB
Dieterich D, 20th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, March 3-6, 2013; abstract 154LB
Fried M, Hadziyannis S. Semin Liver Dis 2004;24 (suppl 2):47-54.
Gane EJ, 47th Annual Meeting of the EASL, April 18-22, 2012, Barcelona, Spain; abstract 1113
Garcia F, et al. Control de Calidad SEIMC, http://www.seimc.org/control/index.asp. 2002.
Hezode C, N Engl J Med 2009; 360: 1839-50.
Karino Y, 22nd Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL 2012), Taipei International Convention Center, February 16-19, 2012
Keeffe E. Antivir Ther 2007; 12: 1015-25.
Kowdley KV, 47th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, April 18-22, 2012, Barcelona, Spain; abstract 1
Koziel M, N Engl J Med 2007; 356: 1445-54.
Kwo P. *The Lancet* - 28 August 2010 (Vol. 376, Issue 9742, Pages 705-716)
Lawitz E, EASL 47th Annual Meeting April 18th - 22nd 2012, Barcelona, Spain.
McHutchison J, N Engl J Med 2009; 360: 1827-38.
Mederacke I, Curr Opin Investig Drugs 2009;10:181-9.
Neukam K, 18th Conference on Retroviruses and Opportunistics infections. Abstract #945.
Pawlotsky JM, Gastroenterology 2007; 132:1979-98.
Pawlotsky JM, 47th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, April 18-22, 2012,

Barcelona, Spain; LB abstract LB 11
Plaza Z, 10th European Meeting on HIV & Hepatitis Treatment Strategies &Antiviral Drug Resistance 28-30 March 2012, Barcelona, Spain. Abstract O_12.
Poordad F. N Engl J Med 2011; 364:1195-1206March 31, 2011.
Poordad F, 47th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver · Barcelona, Spain · April 18-22, 2012.
Poveda E, Soriano V. Future Virology 2012,7(3); 309-21.
Rivero-Juárez A, J Antimicrob Chemother. 2012; 67(1):202-5.
Sharma P, Lok A. Viral hepatitis and liver transplantation. Semin Liver Dis 2006; 26:285-97.
Sulkowski M, 47th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, April 18-22, 2012, Barcelona, Spain; LB abstract 1422
Sulkowski M, Pol S, Cooper C, et al. 19th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Opening Session. Abstract 47.
Torriani, FJ; *The New England Journal of Medicine, 2004.* **351** (5): 438 -50.
Vicenti I, J Antimicrob Chemother. 2012, 67(4):984-7.
Zeuzem S, 47th EASL, April 18-22, 2012, Barcelona, Spain; abstract 2
Zeuzem S, 47th EASL, April 18-22, 2012, Barcelona, Spain; abstract 101

Hipótesis del estudio:

Los ensayos comerciales no determinan correctamente el genotipo/subtipo del VHC. Conocer el grado de acierto, en relación al "gold standard" secuenciación de NS5b, permitirá alertar a los laboratorios y a los clínicos que tratan la infección de VHC del grado de acierto de la técnica que están utilizando para emitir resultados en la rutina asistencial.

Objetivos principales del estudio:

Valorar la correcta asignación del genotipo/subtipo del virus de la hepatitis C mediante las diferentes plataformas comerciales, empleando como técnica de referencia la secuenciación en NS5b.

4. Financiación del proyecto (concedida o prevista solicitar)

NO se dispone de financiación. Se solicitará a la industria de diagnóstico y a concvocatorias públicas y de GEHEP

¿El proyecto ha pasado el Comité de Ética de la Investigación Clínica?

Si ☐ **No** ☒ X

5. Producción científica esperada

Comunicación a Congreso	☒ X
Artículo científico	☒ X
Tesis Doctoral	☐
Otros (especificar)	☐

6. Firma de los investigadores		
Coordinador		
Nombre y apellidos:	**Centro de trabajo**	**Firma:**
Investigador responsable de otros centros*		
Nombre y apellidos	**Centro de trabajo**	**Firma** ……
Nombre y apellidos	**Centro de trabajo**	**Firma** ……
Nombre y apellidos	**Centro de trabajo**	**Firma** ……

* Un investigador responsable por centro