

Grupo de Estudio de Hepatitis. GEHEP

Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

PROYECTO DE INVESTIGACION GEHEP

1. Datos del proyecto

Título del proyecto:

Epidemiología molecular del VHB en España: Situación actual (Proyecto GEHEP).

Investigadores principales:

Antonio Aguilera (Coordinador), Federico García (Coordinador).

Personal participante en el proyecto:

Abierto a todos los centros hospitalarios del SNS preferentemente miembros de GEHEP.

2. Resumen del proyecto

Objetivos:

Analizar la prevalencia y distribución de los genotipos y subgenotipos del VHB en España y su asociación con la evolución de la infección crónica durante el periodo 2000-2016, en base a datos reales de pacientes procedentes de diferentes centros hospitalarios distribuidos por todo el país. Es intención de los promotores del estudio el recopilar el mayor número posible de datos de genotipado del VHB con independencia del método utilizado.

Metodología:

Se realizará un estudio retrospectivo en diferentes centros hospitalarios de tercer nivel procedentes de distintas comunidades autónomas (Andalucía, Cataluña, Galicia, y Madrid). El estudio, que estará abierto a todos los centros hospitalarios integrantes de GEHEP, que se quieran adherir, se realizará principalmente a partir de los datos

virológicos (carga viral, mutaciones genómicas y genotipo y subgenotipo), clínicos (fase de la historia natural, progresión de la enfermedad hepática, tratamiento y el tipo de respuesta a este ya sea serológica, virológica y de eliminación del HBsAg), y epidemiológicos (demográficos, geográficos y vías de transmisión) contenidos en las historias clínicas y procedentes de todos los pacientes infectados crónicamente por el VHB (incluyendo todas las fases de la historia natural de la hepatitis crónica B) y genotipados para este virus en dichos centros durante el periodo 2000-2016. El estudio epidemiológico se realizará conforme a criterios de anonimato, confidencialidad y desestructuración conforme a indicaciones de los correspondientes comités éticos. Los datos obtenidos finalmente se analizarán estadísticamente en busca de las correspondientes asociaciones.

Limitaciones: La principal limitación sin duda será el método de genotipado utilizado, ya que la información proporcionada por la secuenciación directa del gen S es superior en seguridad y precisión de cara al genotipado y subgenotipado que la aportada por los otros métodos moleculares utilizados, en este sentido los centros comprometidos en inicio poseen datos de secuenciación. También se puede considerar como limitación la correspondiente a la técnica de secuenciación directa poblacional que nos impide caracterizar con mayor exactitud la presencia de las infecciones mixtas.

3. Memoria del proyecto

Justificación:

En el mundo, alrededor de 240 millones de personas presentan infección crónica por el virus de la hepatitis B (VHB). La infección crónica por el VHB presenta un amplio espectro de enfermedades hepáticas: hepatitis aguda, hepatitis fulminante, hepatitis crónica, cirrosis o hepatocarcinoma. La mortalidad anual asociada a la infección

crónica por el VHB es de 1.3 millones de personas. A pesar de que hay una vacuna segura y eficaz conocida desde hace más de 20 años, la infección por el VHB se sigue considerando un problema de salud mundial (1, 2). Según se puede consultar en la web de Center for Disease Control and Prevention (CDC: <http://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2016/infectious-diseases-related-to-travel/hepatitis-b>, consultada el 01/03/2016) actualmente en España la prevalencia de infección crónica por el VHB se encuentra por debajo del 2%, prevalencia baja. Según los datos del Instituto Nacional de Estadística en España hay 46.449.565 habitantes, es decir habría hasta algo más de 900.000 personas con infección crónica por VHB (http://www.ine.es/inebaseDYN/cp30321/cp_inicio.htm, consultada el 01/03/2016). El genoma del VHB está constituido por una molécula de ADN circular, parcialmente de doble cadena, que consta de una cadena larga de unas 3.200 bases, cadena negativa o complementaria al ARN mensajero viral, y una cadena corta, o positiva, de longitud variable, de 1.700 a 2.800 nucleótidos (3, 4).

Los hepadnavirus como el VHB, aunque clasificados como virus ADN, requieren un paso de retrotranscripción, un ARN intermedio, para la replicación del ADN viral. Durante este proceso se cometen errores de manera que la velocidad de mutación del VHB (2×10^{-5} sustituciones/ sitio año) es mayor que para los virus ADN convencionales y del mismo orden que algunos virus ARN. La retrotranscripción la realiza una polimerasa del VHB que no tiene capacidad correctora de errores. (5). Por otro lado, la recombinación, intercambio de ADN o entrecruce de partes de una secuencia genética que ocurre entre 2 virus diferentes, puede ser otro mecanismo potencial para el desarrollo de diferentes cepas divergentes del VHB (6).

El VHB se clasifica filogenéticamente sobre una divergencia de al menos el 8% en la secuencia completa de su genoma, o en más del 4% de su gen S (7, 8), en 9 genotipos, A-I, y un posible décimo genotipo J (9). A su vez, los genotipos se dividen en subgenotipos cuando las diferencias en el genoma completo del VHB se encuentran entre el 4 y el 8%. Se han descrito numerosos subgenotipos (10). Tanto los genotipos como los subgenotipos tienen una distribución geográfica característica (11). Con el aumento de los viajes y las migraciones se está produciendo una pérdida de la distinción en la distribución de los genotipos dentro y entre los países (8).

Además del interés epidemiológico, los genotipos del VHB se asocian con la severidad de la enfermedad, mayor riesgo para el genotipo C, con la seroconversión HBeAg, la aparición de mutaciones en el promotor y región precore/core (12) o la respuesta al interferón (13, 14), los genotipos A y B responden mejor al interferón que los genotipos C y D. No obstante, todos los genotipos del VHB pueden conducir a las fases finales de la enfermedad hepática, cirrosis y hepatocarcinoma. Por estos motivos, las guías internacionales para el tratamiento de la infección por VHB recomiendan la determinación del genotipo del VHB (15). Cada vez se tienen mayores evidencias de que el genotipo del VHB juega un papel importante para predecir la respuesta al tratamiento. Sin embargo, las diferencias en el huésped y los factores ambientales hacen difícil extrapolar las conclusiones obtenidas en un área geográfica a otra (16). El análisis de subgenotipos del VHB se ha usado para investigar movimientos poblacionales y también en estudios étnicos y epidemiológicos (17). Al igual que para los genotipos, para los subgenotipos también se ha descrito que se relacionan con el

desarrollo clínico, el pronóstico y la respuesta al tratamiento (18). Tanto los clínicos como las administraciones sanitarias correspondientes van a necesitar disponer de los datos virológicos y epidemiológicos más reales posibles para evaluar el uso más eficiente de los tratamientos actuales

Estudios sobre la prevalencia y distribución de los genotipos y subgenotipos del VHB se han realizado por todo el mundo. Sin embargo el número de estos estudios realizados en España es escaso (19, 20). En una publicación reciente (21), y aunque los datos no son del todo concluyentes, los autores señalan al subgenotipo D4 como el más frecuente dentro del genotipo D cuando otros autores consideran este subgenotipo como relativamente raro (17). Por lo tanto, en estos últimos años la prevalencia de los genotipos y subgenotipos del VHB y su tendencia, así como la información sobre su distribución en relación con los datos demográficos, con la respuesta a los tratamientos administrados, con su asociación a las distintas vías de transmisión, así como con otras coinfecciones virales, no han sido bien examinados y precisan del correspondiente estudio.

1. Shi YH. Correlation between hepatitis B virus genotypes and clinical outcomes. *Jpn J Infect Dis.* 2012;65:476-82.
2. Lai CL, Ratziu V, Yuen MF, Poynard T. Viral hepatitis B. *Lancet.* 2003; 362: 2089-94
3. Sattler F, Robinson WS. Hepatitis B viral DNA molecules have cohesive ends. *J Virol.* 1979; 32: 226-33..
4. Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, Sastrosoewignjo RI, Imai M, Miyakawa Y, Mayumi M. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J Gen Virol.* 1988; 69: 2575-83.
5. Brunetto MR, Rodriguez UA, Bonino F. Hepatitis B virus mutants. *Intervirology.* 1999; 42: 69-80
6. Croagh CM1, Desmond PV1, Bell SJ1. Genotypes and viral variants in chronic hepatitis B: A review of epidemiology and clinical relevance. *World J Hepatol.* 2015;7:289-303
7. Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, Sastrosoewignjo RI, Imai M, Miyakawa Y, Mayumi M. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J Gen Virol.* 1988;69: 2575-83.
8. Kramvis A, Kew M, François G. Hepatitis B virus genotypes. *Vaccine.* 2005;23(19):2409-23.
9. Kramvis A. Genotypes and genetic variability of hepatitis B virus. *Intervirology.* 2014;57(3-4):141-50

10. Shi YH. Correlation between hepatitis B virus genotypes and clinical outcomes. *Jpn J Infect Dis.* 2012;65(6):476-82
11. Lin CL, Kao JH. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011;26 Suppl 1:123-30.
12. Locarnini S, Littlejohn M, Aziz MN, Yuen L. Possible origins and evolution of the hepatitis B virus (HBV). *Semin Cancer Biol.* 2013;23(6PtB):561-75.
13. Lau GK, Piratvisuth T, Luo KX, et al. Peginterferon Alfa-2a, lamivudine, and the combination for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Engl J Med.* 2000;352:2682-95.
14. Buster EH, Hansen BE, Lau GK, Piratvisuth T, Zeuzem S, Steyerberg EW, Janssen HL. Factors that predict response of patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B to peginterferon-alfa. *Gastroenterology.* 2009;137:2002-9.
15. European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol.* 2012;57:167-85.
16. Kramvis A1, Kew MC. Relationship of genotypes of hepatitis B virus to mutations, disease progression and response to antiviral therapy. *J Viral Hepat.* 2005;12:456-64.
17. Ozaras R, Inanc Balkan I, Yemisen M, Tabak F. Epidemiology of HBV subgenotypes D. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2015;39:28-37.
18. Cao GW. Clinical relevance and public health significance of hepatitis B virus genomic variations. *World J Gastroenterol.* 2009;15:5761-9.
19. Rodríguez-Frias F, Jardi R, Buti M, Schaper M, Hermosilla E, Valdes A, et al. Hepatitis B virus genotypes and G1896A precore mutation in 486 Spanish patients with acute and chronic HBV infection. *J Viral Hepat.* 2006 May;13(5):343-50.
20. Echevarría JM, Avellón A, Magnius LO. Molecular epidemiology of hepatitis B virus in Spain: identification of viral genotypes and prediction of antigenic subtypes by limited sequencing. *J Med Virol.* 2005 Jun;76(2):176-84.
21. Costa JJ, Rodríguez J, Alba J, Rivadulla I, Pérez-Del-Molino ML, Aguilera A. Prevalencia y distribución del genotipo D del virus de la hepatitis B en Galicia (noroeste de España): influencia de la edad, el sexo y la procedencia. *Rev Esp Quimioter.* 2016 Jul 19. pii: costa19jul2016

Hipótesis del estudio:

La epidemiología molecular del VHB en España adolece de datos actuales, que además pueden haberse modificado por distintos motivos como los cambios

experimentados durante estos últimos años en la transmisión, donde predomina la vía sexual asociada principalmente al genotipo A y G o con las migraciones poblacionales que están introduciendo en nuestro país genotipos no habituales para nuestra área geográfica (B, C, E y F principalmente). Además de este interés epidemiológico relacionado con las migraciones humanas, también está el interés, por la ausencia de datos nacionales al respecto, de conocer la prevalencia de genotipos y subgenotipos del VHB y su asociación con los principales parámetros virológicos, clínicos y epidemiológicos que se utilizan en el manejo de la hepatitis crónica B. El conocimiento, no sólo de la prevalencia y distribución geográfica de genotipos y subgenotipos, sino de su asociación con: 1) parámetros virológicos, como la carga viral, seroconversión del HBeAg, los niveles de HBsAg y las mutaciones en PC/C, 2) parámetros clínicos como la progresión a formas avanzadas de la enfermedad, el tipo de tratamiento y su respuesta ya sea serológica, virológica o de eliminación del HBsAg y también su fase en la historia natural, y por último, 3) parámetros epidemiológicos, por lo que a su vía de transmisión, edades y tendencias en el tiempo a partir del diagnóstico se refiere. Estos datos podrían permitir conocer mejor la influencia del genotipo y subgenotipo viral en cuanto a progresión y pronóstico, si es que la tienen, y quizás también valorar la relación genotipo/subgenotipo con el tipo de respuesta al tratamiento y con el desarrollo de la enfermedad.

Finalmente, numerosos estudios han demostrado que los diferentes genotipos y subgenotipos presentan diferentes características clínicas, virológicas y epidemiológicas y constituyen por tanto un elemento clave en la epidemiología molecular de la infección por el VHB y es nuestro objetivo confirmarlo en este estudio y demostrar si el genotipo es una variable que potencialmente puede influir en el resultado de la HCB por lo que se refiere a su progresión y pronóstico y también en el éxito de la terapia antiviral, debido a sus diferentes propiedades biológicas.

Pensamos además, a pesar de las evidencias publicadas en la literatura y de las tímidas recomendaciones aparecidas en las últimas guías, que se necesitan datos adicionales, antes de poder recomendar definitivamente su determinación en la práctica clínica. En la base de poder acumular líneas de evidencia, en función de los resultados de este estudio colaborativo de GEHEP, se podrá definitivamente contestar a esta pregunta, y todo ello permitirá al clínico un mejor conocimiento de la realidad de esta enfermedad en nuestro país.

Objetivos principales del estudio:

1º Analizar la prevalencia y distribución de los genotipos y subgenotipos del VHB en España y su asociación con la evolución de la infección en base al mayor número de datos reales de genotipado del VHB en pacientes procedentes de diferentes centros hospitalarios distribuidos por toda España. Hasta el momento en

que se presenta este proyecto a su aprobación por el Comité Ético de Galicia, existe el compromiso para participar de centros de Andalucía, Cataluña, Galicia y Madrid. Se intentará como prioridad incorporar al mayor número posible de centros hospitalarios para incrementar la robustez del estudio

2º Estudiar la metodología utilizada para el genotipado y subgenotipado viral y los diferentes parámetros virológicos, clínicos y epidemiológicos, mencionados en la metodología, en relación con los genotipos y subgenotipos: Tendencia en la prevalencia (2000-2016), historia natural de la HCB, tratamiento y su respuesta, progresión clínica, diferencias geográficas, vías de transmisión, demografía y procedencia, carga Viral y mutaciones y finalmente las coinfecciones con otros virus hepatotropos (VHD y VHC) y retrovirus.

3º Sentar las bases, en función de los resultados obtenidos, para poder realizar un estudio prospectivo de la evolución y progresión de los pacientes infectados por el VHB en nuestro país en función del genotipo, donde se reunirían los mayores criterios de uniformidad.

4. Financiación del proyecto (concedida o prevista solicitar)

Prevista solicitar a GEHEP y a la industria farmacéutica y de diagnóstico microbiológico

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

Si ☐

No ☒

5. Producción científica esperada

Comunicación a Congreso ☒

Artículo científico ☒

Tesis Doctoral ☐

Otros (especificar) ☐

6. Firma de los investigadores		
Coordinador		
Nombre y apellidos: Antonio Aguilera Guirao	Centro de trabajo: XXI de Santiago de Compostela	Firma:
Nombre y apellidos Federico García García	Centro de trabajo Hospital San Cecilio de Granada	Firma
Nombre y apellidos	Centro de trabajo	Firma

Grupo de Estudio de Hepatitis. GEHEP

Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica