PROYECTO DE INVESTIGACION GEHEP

1. Datos del proyecto

Título del proyecto:
Hepatitis E en pacientes inmunodeprimidos y trasplantados de órgano sólido: Situación actual de la infección en España

Investigadores principales:
Antonio Aguilera Guirao (Coordinador e IP), Investigadores Colaboradores: Antonio Rivero Juárez, Alfredo Pérez Revilla, Juan Carlos Alados Arboledas, Gabriel Reina González y Manuel Rodríguez Iglesias.

Personal participante en el proyecto:
Estudio multicéntrico abierto a todos los centros hospitalarios del SNS y cuyos participantes serán preferentemente miembros de GEHEP.

2. Resumen del proyecto

Objetivos:
Es conocido que la infección por el virus de la Hepatitis E (VHE) presenta un peor pronóstico en pacientes inmunodeprimidos, condicionando la aparición de efectos deletéreos asociados a la propia infección y al origen de la inmunosupresión. Por este motivo pretendemos como objetivos analizar la prevalencia e incidencia de la infección por VHE entre los pacientes inmunodeprimidos y trasplantados de órgano sólido en el SNS español en base a datos procedentes de diferentes centros hospitalarios distribuidos por todo el país. Para ello pretendemos como ***Objetivo primario:*** Evaluar la prevalencia de infección por el VHE en pacientes inmunodeprimidos, y como ***Objetivo secundario:*** evaluar el desarrollo de infección crónica del VHE en pacientes inmunodeprimidos.

Metodología:
Se realizará un estudio prospectivo en diferentes centros hospitalarios de tercer nivel procedentes de distintas comunidades autónomas (Andalucia, Galicia, Madrid y Navarra). El estudio, que también queda abierto a todos los centros hospitalarios integrantes de GEHEP, que se quieran adherir, consta de la siguiente metodología: ***Diseño:*** Estudio longitudinal prospectivo. ***Ámbito:*** Unidades de Microbiología, en

colaboración con Enfermedades Infecciosas, Aparto Digestivo, Nefrología, Reumatología y Hematología de los Centros participantes. ***Pacientes:*** Se incluirán en el estudio pacientes inmunodeprimidos en seguimiento entre los meses de enero 2020 y diciembre 2022. Los pacientes inmunodeprimidos serán incluidos por cada uno de los servicios participantes incluyendo: inmunodeprimidos por infección por el VIH con recuentos inferiores a 200 CD4/mL, trasplantados de órgano sólido (hígado y riñón) y también pacientes en tratamiento inmunosupresor.

Variable desenlace: infección por el VHE, definida como presencia de ARN viral en sangre periférica. ***Variable desenlace secundaria:*** infección crónica por el VHE, definida como persistencia de ARN viral en sangre periférica durante más de 3 meses, infección reciente definida por la presencia de anticuerpos específicos de tipo IgM e IgG previa ausencia de los mismos e infección resuelta presencia aislada de anticuerpos de tipo IgG previa ausencia de los mismos y de transfusiones recientes. ***Intervención:*** realización de PCR y anticuerpos específicos de tipo IgG e IgM frente al VHE anual en todos los pacientes incluidos en el estudio. ***Análisis:*** se realizará análisis de prevalencia (basal) e incidencia (anual y al final del estudio) de la infección por el VHE en el total de la población y en cada subpoblación de pacientes. Se evaluará la tasa de cronificación de la infección por el VHE en el total de la población y en cada una de las subpoblaciones de pacientes.

Evaluación de la presencia de anticuerpos específicos de tipo IgG e IgM frente al VHE mediante inmunoensayo enzimático o quimiolumiscente: La determinación de anticuerpos específicos de tipo IgM e IgG frente al VHE se realizará mediante los diferentes inmunoensayos comerciales enzimáticos (Wantai, Mikrogen) o quimioluminiscentes (Vircell) utilizados en la rutina diagnóstica de los diferentes centros participantes.

Evaluación de la presencia de VHE mediante PCR: La determinación de PCR del VHE se realizará mediante diferentes técnicas de PCR a tiempo Real comerciales (Roche, Altona) utilizados en la rutina diagnóstica de los diferentes centros participantes o por la técnica desarrollada por el grupo de investigación del INIBIC como resultado de un proyecto de innovación de la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía (PIN-0477-2017) y registrado en la Oficina de Transferencia de Tecnología (P201831080). Todas las técnicas se basan en una PCR a tiempo real con capacidad para detectar todos los genotipos incluidos en el género Orthohepevirus con capacidad

infectiva al ser humano.

Genotipado de la cadena viral: El genotipado del virus se realizará mediante la amplificación y secuenciación de la región ORF2 del genoma viral. Para establecer el genotipo, se utilizará la plataforma de genotipado desarrollada por el Consorcio Europeo HEVnet (https://www.rivm.nl/mpf/typingtool/hev/). Adicionalmente, se realizará secuenciación de la cadena completa siguiendo protocolo establecido por Muñoz-Chimeno et al (J Virol Methods 2016).

Variables recogidas: Se recogerán las siguientes variables de cada uno de los pacientes incluidos en el estudio:

- Variables del paciente: sexo, edad, peso, altura, íy lugar de residencia (registrado como código postal).
- Variables clínicas: causa de inmunodepresión (infección por el VIH, paciente trasplantado, paciente en tratamiento con terapias biológicas, otras causas) manifestaciones clínicas asociadas a la infección por el VHE, comorbilidades del paciente y gravedad medida por índice de comorbilidad de Charlson, desenlace clínico.
- Variables analíticas: ALT, AST, GGT, recuento total de plaquetas, triglicéridos, colesterol total, LDL y HDL, creatinina, bilirrubina total, directa e indirecta, albumina, neutrófilos, linfocitos totales y coagulación.
- Variables epidemiológicas: en todos los casos en los que se diagnostique infección por el VHE, se realizará un estudio epidemiológico en el que se recogerán potenciales variables asociadas.

Seguimiento de los pacientes: además de los marcadores de cribado de la infección por VHE (anticuerpos específicos de tipo IgM e IgG frente al VHE, en todos los pacientes incluidos se realizará una PCR anual frente al VHE. En el caso de que se diagnostique infección por el VHE, se realizará una determinación de PCR del VHE a los tres meses para establecer aclaramiento espontáneo o infección crónica. Adicionalmente, se realizarán las determinaciones que el responsable clínico del paciente considere oportuno dentro del manejo de su dolencia. En los pacientes con infección crónica por el VHE será el responsable clínico el encargado de implementar tratamiento siguiendo las recomendaciones establecidas por las guías de práctica clínica nacionales y europeas.

Análisis estadístico:

Estimación del tamaño muestral: Actualmente, están en seguimiento en las unidades participantes aproximadamente: 160 pacientes infectados por el VIH con recuento de linfocitos de CD4+ inferior a 200 células/mL, 500 pacientes trasplantados de hígado, y 900 pacientes en tratamiento con tratamientos biológicos. En total, la población del estudio estará formada por unos 1.560 pacientes. La prevalencia de infección por el VHE (detección de carga viral en sangre periférica) en esta población se estima en 0,05% (Rivero-Juarez et al Frontiers in Microbiology 2019). Por lo tanto, se estima que se diagnosticarán unos 78 casos de infección por el VHE en la primera anualidad. Además, dada la incidencia de infección por el VHE en nuestro medio (5 casos/100 pacientes año; Rivero-Juarez et al Zoonoses and Public Health 2018), se estima que se diagnosticarán unos 35 pacientes en las dos siguientes anualidades (total 70 pacientes durante la totalidad del proyecto).

Análisis de los datos: En primer lugar, se efectuará una depuración de un análisis descriptivo de los datos usando técnicas de exploración y de análisis de frecuencias. Las variables continuas se expresarán como mediana (rango intercuartílico) o media (desviación típica), y las variables categóricas como casos (porcentaje). El análisis de los resultados se realizará con la población total incluida en estudio (casos incluidos). Se reportará la prevalencia de infección por el VHE mediante la fórmula casos diagnosticados / total de la población. Adicionalmente, se realizará el cálculo de prevalencia en cada una de las poblaciones incluidas en el estudio: i) pacientes trasplantados de órgano sólido, ii) pacientes infectados por el VIH, y iii) pacientes en tratamiento inmunosupresor por procesos reumatológicos. Se calculará el intervalo de confianza para cada una de las prevalencias. La incidencia de infección por VHE se calculará en número de casos/personas y año de seguimiento. Para el cálculo de la incidencia de infección por VHE se considerarán como nuevas infecciones toda presencia de ARN viral en pacientes con determinación previa negativa.

El análisis filogenético se realizará de las cepas virales identificadas se realizará mediante alineamiento usando softwares específicos. Las distancias genéticas se estimarán mediante modelo de Kimura de dos parámetros y se construirán árboles filogenéticos mediante método de máxima probabilidad basado en el modelo de Kimura.

3. Memoria del proyecto

Justificación:

Importancia de la infección por el virus de la Hepatitis E en pacientes inmunodeprimidos

Es bien conocido que la inmunodepresión puede modificar el curso de la infección por el VHE. En este sentido, la infección por el VHE puede evolucionar a formas crónicas, caracterizado por una rápida progresión de la fibrosis hepática y desarrollo de cirrosis y enfermedad hepática terminal [1-4]. Los pacientes con mayor riesgo de desarrollo de infección crónica por el VHE son los pacientes trasplantados de órgano sólido, pacientes infectados por el VIH con un recuento de linfocitos CD4+ inferior a 200, pacientes oncológicos diagnosticados de linfoma o leucemia en tratamiento con rituximab, y pacientes en tratamiento con fármacos anti TNF [5-10]. En estos pacientes, el sistema inmunológico es incapaz de aclarar el VHE, por lo que es necesario la implementación de tratamiento con ribavirina [11,12]. En estos pacientes, la producción de anticuerpos específicos del VHE (IgG o IgM) puede estar ausente o presentar retraso en la detectibilidad, por lo que no son herramientas útiles para establecer el diagnóstico [11]. Por ello, las guías de práctica clínica recomiendan la realización de una técnica directa, como la detección de ARN viral mediante técnicas de PCR como cribado en esta población. Además, dada la alta prevalencia reportada en nuestro medio, estas guías recomiendan la realización de una determinación anual en estos pacientes con el objetivo de identificar infecciones ocultas por el VHE [11].

Actualmente, no se está aplicando esta recomendación en nuestro medio, de manera que se desconoce la magnitud y el impacto clínico que esta enfermedad puede tener en este grupo de pacientes. Estudios realizados por nuestro grupo de investigación, han

demostrado una prevalencia del 0,5% y una incidencia de 5 casos por cada 100 pacientes año de infección por el VHE en pacientes infectados por el VIH [13, 14]. Del mismo modo, en un estudio retrospectivo realizado por nuestro grupo en pacientes trasplantados de hígado, la prevalencia de infección por el VHE fue del 0,9% [15]. Por último, en otro estudio prospectivo realizado por nuestro grupo en pacientes en diálisis la prevalencia de infección por el VHE fue del 2,2%, y una incidencia acumulada tras el trasplante del 6% [16]. Sin embargo, ninguno de estos estudios estuvo diseñado para evaluar el impacto clínico de la infección por el VHE ni la tasa de cronificación de la infección.

Bibliografía:

[1] Kuniholm MH, Ong E, Hogema BM, Koppelman M, et al. Acute and Chronic Hepatitis E Virus Infection in Human
Immunodeficiency Virus-Infected U.S. Women. Hepatology. 2016; 63: 712-20.

[2] Perrin HP, Blasco-Baque V, Abravanel F, et al. Autochthonous hepatitis E: a new risk factor for cirrosis
decompensation. EASL The International Liver Congress 2016. Barcelona, 13-17 Abril 2016. THU-123.

[3] Krain LJ, Nelson KE, Labrique AB. Host immune status and response to hepatitis E virus infection. Clin Microbiol Rev 2014; 27:139-65.

[4] Neukam K, Barreiro P, Macias J, et al. Chronic hepatitis E in HIV patients: rapid progression to cirrhosis and response to oral ribavirin. Clin Infect Dis 2013; 57:465-468

[5] Ollier L, Tieulie N, Sanderson F, et al. Chronic hepatitis after hepatitis E virus infection in a patient with non-Hodgkin lymphoma taking rituximab. Ann Intern Med. 2009 17; 150:430-1.

[6] Behrendt P, Lüth S, Dammermann W, et al. Exacerbation of hepatitis E virus infection during anti-TNFα treatment. Joint Bone Spine 2017; 84:217-19.

[7] Kamar N, Garrouste C, Haagsma EB, et al. Factors associated with chronic hepatitis in patients with hepatitis E virus infection who have received solid organ transplants. Gastroenterology 2011; 140: 1481-9.

[8] Unzueta A, Rakela J. Hepatitis E infection in liver transplant recipients. Liver Transpl 2014; 20: 15-24.

[9] Giordani MT, Fabris P, Brunetti E, Goblirsch S, Romano L. Hepatitis E and lymphocytic leukemia in Man, Italy. Emerg Infect Dis 2013; 19: 2054-6.

[10] Versluis J, Pas SD, Agteresch HJ, et al. Hepatitis E virus: an underestimated

opportunistic pathogen in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Blood 2013; 122: 1079-86.

[11] Rivero-Juárez A, Aguilera A, Avellón A, et al. Executive summary: Consensus document of the diagnosis, management and prevention of infection with the hepatitis E virus: Study Group for Viral Hepatitis (GEHEP) of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology (SEIMC). Enferm Infecc Microbiol Clin. 2018 doi: 10.1016/j.eimc.2018.06.014. [Epub ahead of print]

[12] EASL Clinical Practice Guidelines on hepatitis E virus infection. J Hepatol 2018; 68(6): 1256-1271.

[13] Rivero-Juarez A, Martinez-Dueñas L, Martinez-Peinado A, et al. High hepatitis E virus seroprevalence with absence of chronic infection in HIV-infected patients. J Infect 2015; 70(6):624-30.

[14] Rivero-Juarez A, Cuenca-Lopez F, Martinez-Peinado A, et al. Rural habitat as risk factor for hepatitis E virus seroconversion in HIV-infected patients: A prospective longitudinal study. Zoonoses Public Health. 2017; 64(7):e60-e64.

[15] Rivero-Juarez A, Aguado R, Lopez-Lopez P, et al. Prevalence of hepatitis E virus infection in liver donors in Spain. Clin Microbiol Infect 2018; 24(11):1218-1219.

[16] Lopez-Lopez P, Aguado R, Frias M, et al. Prevalencia e incidencia de la infección por el virus de la Hepatitis E en pacientes con fallo renal crónico en diálisis. XIX Congreso de SAEI, Granada. 14 al 16 de diciembre de 2017.

Hipótesis del estudio:

La infección por el VHE en pacientes inmunodeprimidos de órgano sólido es frecuente y puede condicionar la presencia de efectos muy graves en el curso de la enfermedad base.

Objetivos principales del estudio:

Primario:

- Evaluar la prevalencia e incidencia de la infección por el VHE en pacientes inmunodeprimidos por cualquier causa.

Secundarios

- Evaluar la tasa de cronificación de la infección por el VHE en pacientes inmunodeprimidos
- Comparar las prevalencias e incidencias de infección por el VHE en pacientes inmunodeprimidos en función de la causa de inmunosupresión.
- Evaluar y caracterizar las cepas virales causantes de infección aguda e infección crónica en pacientes inmunodeprimidos

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** [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: **Antonio Aguilera Guirao**	**Centro de trabajo:** **XXI de Santiago de Compostela**	AGUILERA GUIRAO ANTONIO - 22459415F **Firma:** Firmado digitalmente por AGUILERA GUIRAO ANTONIO - 22459415F Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, serialNumber=IDCES-22459415F, givenName=ANTONIO, sn=AGUILERA GUIRAO, cn=AGUILERA GUIRAO ANTONIO - 22459415F Fecha: 2019.10.07 19:47:00 +02'00'
Nombre y apellidos	**Centro de Trabajo**	**Firma** ……
Nombre y apellidos	**Centro de trabajo**	**Firma** ……
Nombre y apellidos	**Centro de trabajo**	**Firma** ……