



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original breve

Baja prevalencia de resistencias primarias frente al virus de la hepatitis B en el sur de España

Marta Álvarez Estévez*, Natalia Chueca-Porcuna, Vicente Guillot-Suay, Alejandro Peña-Monje, Fernando García-García y Federico García-García

Servicio de Microbiología, Hospital San Cecilio, Granada, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 19 de junio de 2012

Aceptado el 25 de febrero de 2013

On-line el 18 de abril de 2013

Palabras clave:

Virus de la hepatitis B

Resistencias primarias

Secuenciación

RESUMEN

Introducción: Para decidir si es necesario investigar resistencias primarias en pacientes naïve con hepatitis B crónica es necesario conocer su prevalencia.

Pacientes y métodos: Hemos analizado la secuencia genética de la polimerasa en 105 pacientes naïve.

Resultados: En 2 pacientes (1,9%) detectamos el cambio rtV173L, mutación compensatoria para lamivudina, en un caso la mutación rtI233V y en otro la «mutación de escape» sG145R.

Conclusión: Nuestro estudio demuestra que, por el momento, no está justificado realizar estudio de resistencias frente al VHB en pacientes naïve.

© 2012 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Low prevalence of hepatitis B virus primary drug resistance in Southern Spain

ABSTRACT

Introduction: To know the prevalence of primary resistance in chronic hepatitis B naïve patients is essential to decide on the need of routine laboratory testing.

Patients and methods: The genetic sequence of the HBV polymerase from 105 naïve patients was analysed.

Results: rtV173L, a lamivudine compensatory mutation, was detected in two patients (1.9%), rtI233V in one patient, and another one carried the sG145R vaccine escape mutation.

Conclusion: Our study shows that studying HBV resistance in naïve patients should not be recommended in the routine laboratory setting, for the time being

© 2012 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

El interferón convencional, y más tarde su forma pegilada, fueron los primeros tratamientos disponibles frente al virus de la hepatitis B (VHB), pero solo uno de cada 3 pacientes mostraba respuesta virológica. Hoy día, como alternativas de tratamiento se emplean los análogos de nucleósidos/nucleótidos (NUC), entre los que se encuentran los L-nucleósidos (lamivudina [LMV], telbivudina [LdT] y emtricitabina [FTC]), los análogos de deoxiguanosina (entecavir [ETV]) y los fosfonatos acíclicos (adefovir [ADV] y tenofovir [TDF]). Las mutaciones de resistencia a los fármacos frente al VHB se desarrollan en el *motif* tirosina-metionina-aspartato-aspartato (YMDD) del dominio C de la ADN polimerasa dependiente del ARN y explican el fracaso terapéutico¹. La tasa de resistencias

a LMV se estima entre el 14 y el 32% tras el primer año de tratamiento y del 80% después del cuarto², para LdT es del 3,6% al primer año y del 14,8% al segundo, y para ADV en torno al 3% a los 2 años y al 30% a los 5. El tratamiento con ETV apenas genera resistencias (<2%) tras años de tratamiento, siempre y cuando no exista experiencia previa con LMV, en cuyo caso alcanza el 57% a los 6 años. Hasta la fecha, las resistencias descritas frente a TDF son anecdóticas. A pesar de que ya existe amplia experiencia de tratamiento con algunos de estos fármacos, la transmisión de cepas de VHB resistentes a partir de un paciente tratado entre los pacientes que nunca han recibido tratamiento con antivirales activos frente a VHB es un evento poco frecuente³⁻⁵. Por ello, el estudio genotípico de los cambios asociados a resistencia al tratamiento frente al VHB en pacientes naïve al tratamiento no se recomienda desde las actuales guías clínicas, aunque se hacen necesarios estudios de vigilancia para conocer si la incidencia de resistencias primarias puede estar cambiando en diferentes áreas geográficas.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: martaalvest@yahoo.es (M. Álvarez Estévez).

Pacientes y métodos

Durante el periodo 2007-2010 hemos realizado un estudio prospectivo de casos de nuevos diagnósticos de infección por VHB, AgHBs-positivo y que nunca han recibido tratamiento antiviral directo. El protocolo del estudio fue aprobado por el comité ético de nuestro centro, y los pacientes otorgaron un consentimiento informado para participar.

Se determinaron los niveles de ADN del VHB (Cobas Ampli-cor HBV Monitor, Roche Diagnostics) y se secuenció el genoma utilizando el Trugene HBV genotyping kit (Siemens, Barcelona, España), estudiando un fragmento de 720 pb de ADN del antígeno de superficie y de los dominios B a E de la retrotranscriptasa (RT) del VHB. Las secuencias se analizaron con geno2pheno[hbv] (<http://hbv.bioinf.mpi-inf.mpg.de/index.php>), que permite la determinación de genotipo y subgenotipo, además del estudio de las mutaciones de resistencia en los codones 173, 180, 181, 184, 194, 204, 207, 233, 236 y 250, asociadas con resistencia a NUC. Recogimos los datos demográficos, serológicos y de secuenciación (mutaciones y genotipo/subgenotipo) (tabla 1).

Resultados

Se han seleccionado un total de 105 pacientes naïve frente a VHB. La mediana de edad fue de 40 años, el 61% fueron hombres y el 37,2% eran antígeno HBe negativo (tabla 1). La mediana de la carga viral fue de 238.000 [105-110.000.000] UI/ml, siendo en 32 pacientes superior al límite de detección de la técnica. También se muestra el análisis de los genotipos y subgenotipos.

Ninguno de los 105 pacientes naïve al tratamiento tenía, en la RT del VHB, mutaciones primarias asociadas con resistencia antiviral, mientras que 2 (1,9%) de ellos tenían la mutación compensatoria rtV173L. El primero de los pacientes con esta mutación es un varón español de 40 años con un subgenotipo D3 y una carga viral de 66.200.000 UI/ml, anticuerpo HBe negativo, el cual recibe tratamiento con TDF del que todavía no ha completado el año de seguimiento, consiguiendo a los 9 meses un descenso de la carga viral de más de 5 logaritmos. El segundo caso corresponde a una mujer española de 39 años con subgenotipo D3 y carga viral de 4.659 UI/ml, anticuerpo HBe positivo; recibe tratamiento con TDF, con el que ha conseguido una supresión viral mantenida.

Tabla 1
Características basales y mutaciones detectadas

Variable	
<i>n</i>	105
Género, <i>n</i> (% de hombres)	64 (61)
Mediana de la edad (IQR)	40,07 [3,43-80,10]
País de origen, <i>n</i> (%) (subgenotipo)	
España	74 (70,5%) (1 A1, 9 A2, 3 D1, 21 D2, 23 D3, 16 D4, 1 F1)
Francia	1 (0,9) (A2)
Italia	1 (0,9) (D3)
Ucrania	1 (0,9) (A2)
Rumanía	5 (4,8) (1 A2, 3 D1, 1 D2)
Rusia	1 (0,9) (D1)
África subsahariana	9 (8,6) (2 A1, 1 A2, 6 E)
Marruecos	4 (3,8) (3 D4, 1 D1)
América Latina	5 (4,8) (1 A1, 2 A2, 1 D1, 1 D2)
China	4 (3,8) (1 B2, 3 C1)
Mediana VHB-DNA (IQR)	238.000 [105-110.000.000] UI/ml
HBeAg negativo, % pacientes	37,2
Mutaciones de VHB	
V173L	2
I233V	1
G145R	1

Hemos hallado un caso con la mutación rtI233V en un paciente que recibe tratamiento con ADV, y si bien consigue una reducción de la carga viral de 5 logaritmos, no consigue indetectabilidad en 3 años hasta que se cambia el tratamiento a TDF. El paciente es un varón de 12 años originario de Angola, con un subgenotipo A2 y una carga viral de 238.000 UI/ml, anticuerpo HBe positivo.

Finalmente, hemos detectado un caso con la mutación sG145R, conocida como «mutación de escape», en un varón de 51 años procedente de Rumanía que posee un subgenotipo A2, una carga viral > 110.000.000 UI/ml y anticuerpo HBe negativo.

Discusión

Desde la introducción de los análogos de NUC en la terapia anti-VHB en la década de los ochenta, las resistencias a estos fármacos, principalmente a LMV, han ido incrementando en la población tratada en los que el tratamiento no ha sido eficaz². Por ello, es de esperar que algunas de estas mutaciones, en especial las que no comprometen la capacidad replicativa del virus, puedan transmitirse y mantenerse detectables en los pacientes sin tratamiento.

En nuestro estudio hemos detectado 2 pacientes naïve a tratamiento con la mutación compensatoria rtV173L. Esta mutación, al igual que la rtL180M, introduce una serie de cambios conformacionales en la polimerasa del VHB que permite recuperar su capacidad replicativa, y por ello se designa como una mutación compensatoria¹. Otra de las mutaciones detectada fue la rtI233V, que inicialmente se sugirió que reducía la sensibilidad a ADV, hecho que no ha sido confirmado en estudios más recientes⁶, en los que se propone que es un polimorfismo natural presente previamente al tratamiento con ADV y que además no es seleccionada por este. La mutación de escape sG145R, que detectamos en un paciente, ocasiona una mutación en el gen de la envoltura del VHB en la posición 587, causando una alteración en la estructura del determinante antigénico «a» del AgHBs, permitiéndole escapar de los anticuerpos inducidos por la vacuna⁷.

Como en nuestro estudio, diversos grupos han registrado casos con mutaciones de resistencia frente al VHB en pacientes que nunca habían recibido terapia anti-VHB, pero siempre con bajos porcentajes de detección^{4,8,9}. En nuestro país se ha realizado un estudio con 73 pacientes coinfectados con VIH que nunca han recibido ART¹⁰, detectando mutaciones compensatorias en 4 de ellos (5,5%). En estos estudios donde se analizan casos con pacientes naïve siempre hemos de considerar el posible consumo subrepticio de antivirales, sobre todo LMV, en los pacientes que proceden de otros países y de los que no tengamos un seguimiento estrecho de su historia clínica. En otro trabajo realizado con 29 pacientes inmigrantes atendidos en Madrid³ se presentan 2 casos (6,9%) de resistencias a LMV, planteando que el África subsahariana puede ser el origen de la transmisión de resistencias primarias frente a VHB por su alta incidencia en pacientes coinfectados por VIH y tratados con LMV. Sin embargo, en nuestra serie, entre los 9 pacientes cuyo origen era precisamente esa área geográfica, solamente hubo un caso con la mutación I233V. La escasa detección de mutaciones primarias en pacientes con hepatitis B crónica, sobre todo en los últimos años, podría explicarse por el comienzo del uso de fármacos anti-VHB más potentes y con una mayor barrera genética, disminuyendo el número de fracasos terapéuticos debidos al desarrollo de resistencia a dichos fármacos, y por tanto, también los potenciales transmisores del virus.

Una de las limitaciones de nuestro estudio puede ser haber empleado la técnica de secuenciación de poblaciones para la caracterización genotípica de la resistencia frente a VHB, lo que ha podido infravalorar aquellas mutaciones que se encuentren como mutaciones minoritarias, por debajo del 20%¹¹. Como en el resto de estudios en pacientes naïve, no podemos descartar que si empleáramos métodos más sensibles, tales como los ensayos

de PCR alelo-específicos o la pirosecuenciación, no detectaríamos más casos con mutaciones primarias.

Conclusiones

Nuestros hallazgos confirman la baja incidencia de transmisión de cepas resistentes a VHB en la población naïve en nuestra área geográfica, lo que refuerza las recomendaciones actuales de no realizar el estudio sistemático de mutaciones de resistencias mediante secuenciación poblacional frente a los NUCs anti-VHB en pacientes que no han recibido tratamiento antiviral.

Conflicto de intereses

Federico García declara haber recibido honorarios por consultoría de AbbVie, Gilead y ViiV. El resto de los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Durantel D, Brunelle MN, Gros E, Carrouée-Durantel S, Pichoud C, Villet S, et al. Resistance of human hepatitis B virus to reverse transcriptase inhibitors: From genotypic to phenotypic testing. *J Clin Virol.* 2005;34 Suppl 1:S34–43.
2. Zoulim F, Locarnini S. Hepatitis B virus resistance to nucleos(t)ide analogues. *Gastroenterology.* 2009;137:1593–608.
3. Bottecchia M, Madejon A, Puente S, García-Samaniego J, Rivas P, Herrero D, et al. Detection of hepatitis B virus genotype A3 and primary drug resistance mutations in African immigrants with chronic hepatitis B in Spain. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66:641–4.
4. Mirandola S, Campagnolo D, Bortoletto G, Franceschini L, Marcolongo M, Alberti A. Large-scale survey of naturally occurring HBV polymerase mutations associated with anti-HBV drug resistance in untreated patients with chronic hepatitis B. *J Viral Hepatitis.* 2011;18:e212–6.
5. Salpini R, Svicher V, Cento V, Gori C, Bertoli A, Scopelliti F, et al. Characterization of drug-resistance mutations in HBV D-genotype chronically infected patients, naïve to antiviral drugs. *Antiviral Res.* 2011;92:382–5.
6. Curtis M, Zhu Y, Borroto-Esoda K. Hepatitis B virus containing the I233V mutation in the polymerase reverse-transcriptase domain remains sensitive to inhibition by adefovir. *JID.* 2007;196:1483–6.
7. Torresi J, Earnest-Silveira L, Deliyannis G, Edgtton K, Zhuang H, Locarnini SA, et al. Reduced antigenicity of the hepatitis B virus HBsAg protein arising as a consequence of sequence changes in the overlapping polymerase gene that are selected by lamivudine therapy. *Virology.* 2002;293:305–13.
8. Pastor R, Habersetzer F, Fafi-Kremer S, Doffoël M, Baumert TF, Gut JP, et al. Hepatitis B virus mutations potentially conferring adefovir/tenofovir resistance in treatment-naïve patients. *World J Gastroenterol.* 2009;15:753–5.
9. Pollicino T, Isgro G, di Stefano R, Ferraro D, Maimone S, Brancatelli S, et al. Variability of reverse transcriptase and overlapping S gene in hepatitis B virus isolates from untreated and lamivudine-resistant chronic hepatitis B patients. *Antivir Ther.* 2009;14:649–54.
10. Tuma P, Pineda JA, Labarga P, Vidal F, Rodriguez C, Poveda E, et al., CoRIS Study Group. HBV primary drug resistance in newly diagnosed HIV-HBV-coinfected individuals in Spain. *Antiviral Ther.* 2011;16:585–9.
11. Nguyen M, Trinh H, García R. Prevalence of HBV DNA polymerase (B-DNA Pol) mutations in 345 patients with treatment-naïve chronic hepatitis B (CHB). *Gastroenterology.* 2008;134:A310.