UAB
Universitat Autònoma de Barcelona

Micro-eliminació de les hepatitis B i C en col·lectius vulnerables a través de noves estratègies d'educació, cribratge i tractament

Anna Not Garí

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  https://creativecommons.org/licenses/?lang=es

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  https://creativecommons.org/licenses/?lang=en

Micro-eliminació de les hepatitis B i C en col·lectius vulnerables a través de noves estratègies d'educació, cribratge i tractament



Anna Not Garí

Tesis doctoral, 2024

Directora:

Dra. Elisa Martró Català

UAB
Universitat Autònoma de Barcelona

UAB
Universitat Autònoma
de Barcelona

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

Programa de Doctorat en Microbiologia

Departament de Genètica i Microbiologia

Facultat de Biociències

Micro-eliminació de les hepatitis B i C en col·lectius vulnerables a través de noves estratègies d'educació, cribratge i tractament

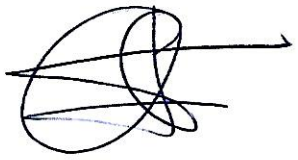
Memòria presentada per Anna Not per optar al grau de Doctora en Microbiologia per la Universitat Autònoma de Barcelona

Vistiplau de la Directora i tutora



Dra. Elisa Martró Català

Doctoranda



Anna Not Garí

Badalona, 2024

Als meus pares i germà, Carme, Salvador i Pau

A la meva parella, Sergi

"*Be the change that you want to see in the world*"

Mahatma Gandhi

(1869-1948)

Aquesta tesi ha estat finançada amb una ajuda de Contratos predoctorales de formación en investigación en salud (PFIS 2020, FI20/00211) de l'Instituto Carlos III (ISCIII) cofinançada amb el Fons Social Europeu (FSE), associada al projecte HepBClink (PI19/00568), finançat per l'ISCIII i cofinançat per la Unió Europea (FEDER) "Una manera de fer Europa".

Imatge de la portada extreta de IStock by Getty Images

Índex

Abreviacions 12
Resum 14
Resumen 19
Abstract 24
1. Introducció 36
1.1. Hepatitis B i C 36
1.2. L'hepatitis B 37
1.2.1. Descobriment i origen del virus 37
1.2.2. Estructura i organització genòmica del virus 40
1.2.3. Vies de transmissió 43
1.2.4. Prevalença i distribució de la infecció 45
1.2.5. Història natural de la infecció i malaltia 46
1.2.5.1. Infecció aguda 50
1.2.5.2. Infecció crònica 51
1.2.6. Diagnòstic serològic i virològic 55
1.2.7. Tractament 57
1.2.8. Vacunació 59
1.3. L'hepatitis C 60
1.3.1. Descobriment i origen del virus 60
1.3.2. Classificació taxonòmica, estructura i organització genòmica del virus 62
1.3.3. Vies de transmissió 65
1.3.4. Prevalença i distribució de la infecció 68
1.3.5. Història natural de la infecció i la malaltia 69
1.3.6. Diagnòstic serològic i virològic 71
1.3.7. Genotipat del VHC 75
1.3.8. Tractament 76
1.4. Estratègies d'eliminació 78
1.4.1. Estratègies de cribratge 78
1.4.2. Models d'atenció 82
1.4.3. Mostres alternatives per al diagnòstic 89
1.4.4. Proves alternatives per al diagnòstic 94
1.5. Hepatitis B i C en poblacions vulnerables 100
1.5.1. Persones que s'injecten drogues (PQID) 101
1.5.2. Les persones treballadores del sexe 107

1.5.3. Migrants 109
2. Hipòtesis 115
3. Objectius 119
3.1. Justificació de la unitat temàtica de la Tesi Doctoral 119
3. Mètodes 127
3.1. Estudi CHIME de diagnòstic i tractament descentralitzat en PQID que acudeixen al centre de reducció de dany, REDAN la Mina 127
3.1.1. Reclutament dels participants i disseny de l'estudi 127
3.1.2. Cribratge de l'ARN en el punt d'atenció (CRD REDAN la Mina) 128
3.1.3. Recol·lecció de les mostres de sang seca i emmagatzematge 128
3.1.4. Detecció de l'ARN-VHC a partir de mostres de sang seca mitjançant l'assaig casolà 129
3.1.5. Quantificació de l'ARN-VHC a partir de mostres de sang seca mitjançant l'assaig comercial 129
3.1.6. Genotipat del VHC a partir de mostres de DBS 130
3.1.7. Anàlisi de les dades 131
3.2. Estudi SexCohort de cribratge integrat d'ITS en dones trans i homes treballadors del sexe en ONGs 131
3.2.1. Disseny d'estudi 131
3.2.2. Reclutament dels participants 132
3.2.3. Recol·lecció de les mostres biològiques i cribratge de les ITS 133
3.2.4. Anàlisi de les dades 134
3.3. Estudi HepBC*link* d'educació, cribratge i tractament de les hepatitis B i C en migrants de països endèmics 135
3.3.1. Disseny d'estudi 135
3.3.2. Acció comunitària 136
3.3.4. Cribratge del VHB i VHC 137
3.3.5. Unió al sistema sanitari i accés al tractament 138
3.3.6. Seguiment dels participants 139
3.3.7. Anàlisi de les dades 139
3.3.8. Preparació de les mostres de DBS i determinació del límit inferior de detecció de l'assaig d'ADN-VHB 141
3.3.9. Processament de les mostres de DBS dels participants d'HepBC*link* per a la detecció de l'ADN-VHB 141
4. Resultats i discussió 145
4.1. Avaluació de la utilitat de les mostres de sang seca per a la monitorització del tractament de l'hepatitis C i la reinfecció en persones que s'injecten drogues, dins d'un programa de cribratge i tractament descentralitzat en un CRD (Article I, annex 1) 145

4.1.1. Avaluació del rendiment clínic de l'assaig de detecció de l'ARN-VHC en mostres de sang seca per a l'avaluació de la curació (resposta virològica sostinguda) i la detecció de la virèmia recurrent després del tractament, en comparació amb la prova Xpert VL FS..... 148

4.1.2. Avaluació de la viabilitat de l'ús de mostres de sang seca per a diferenciar reinfecció de fracàs terapèutic mitjançant el genotipat de les mostres basals i de seguiment (FU)..... 153

4.1.3. Avaluació de l'assaig de detecció d'ARN-VHC comercial amb marcatge CE-IVD en mostres de sang seca per a l'avaluació de la curació i la detecció de la virèmia recurrent després del tractament, en comparació amb la prova en el punt d'atenció Xpert VL FS. 158

4.2. Avaluació de la prevalença del virus de l'hepatitis B i les necessitats de vacunació entre les dones transgènere treballadores del sexe i els homes treballadors del sexe que acudeixen a ONGs de Barcelona (Article II)..... 161

4.2.1. Caracterització de la prevalença de la infecció activa pel VHB i l'exposició prèvia..... 163

4.2.2. Caracterització dels factors de risc associats a l'exposició al VHB..... 166

4.2.3. Avaluació de l'estat de vacunació i els determinants de no vacunació prèvia. 168

4.2.4. Caracterització de la prevalença d'infecció activa pel VHC..... 172

4.3. Implementació i avaluació d'una estratègia de micro-eliminació basada en una acció comunitària que reuneix educació sobre el VHB i el VHC, cribratge i accés simplificat a l'atenció i el tractament en migrants procedents de països endèmics que viuen a la província de Barcelona (Manuscrit I)..... 174

4.3.1. Avaluació de la viabilitat i acceptabilitat de la intervenció comunitària per cada un dels països..... 179

4.3.2. Caracterització de la prevalença d'infecció activa pel VHB i VHC per a cada país d'origen, així com el seguiment, tractament i curació dels participants virèmics..... 182

4.3.3. Avaluació de l'ús de mostres de sang seca per a la detecció de la infecció virèmica pel virus de l'hepatitis B..... 191

Valoració global, futures consideracions i implicacions per a la salut pública..... 197

5. Conclusions..... 203

Bibliografia..... 209

Annex 1..... 226

Annex 2..... 284

Agraïments

En primer lloc agrair a l'Elisa i a la Vero l'oportunitat de realitzar el doctorat en el seu grup, però especialment a l'Elisa la meva directora de tesi que m'ha ensenyat a ser més crítica i a fer els primers passos dins de la carrera investigadora. Elisa, moltes gràcies, per donar-me l'espai i temps dins del grup, un grup que quan vaig començar la tesi era petitó i que arran de la pandèmia ha crescut molt ràpidament amb tot l'esforç i dedicació que hi cal per a tirar-lo endavant. Espero que hagi valgut la pena l'esforç, he tingut molta sort de formar part d'aquest grup i poder aprendre i créixer al teu costat.

Vero, moltes gràcies, per tot el que m'has ensenyat. També, gràcies, per acollir-me tant bé, i haver compartit el passadís estiu i hivern amb el desinfectant per si un cas.

Als meus companys de grup, així com a les tècniques de laboratori que m'han acompanyat al llarg de tota la tesi. De tots he aprés tant en l'àmbit professional com en el personal. Però especialment, moltes gràcies a la Laia (la nostra Kardashian) per aguantar-me cada dia fins i tot en els pitjors dies de tot el recorregut de la tesi i als capuccinos d'avellana que m'han salvat el pitjor dia de la setmana, els dilluns, perdó si algun cop té respost malament; al Toni (el nostre diccionari català), moltes gràcies per ajudar-me en tot el que he necessitat, sobretot en la part estadística, i per deixar-me compartir les meves penes a l'hora de dinar; a la Sara, Sarita, moltes gràcies per explicar les teves aventures pel món, ha estat un plaer compartir amb tu aquest temps, finalment a l'Oriol que tot i haver estat de les últimes incorporacions del grup has fet amena la meva estança.

A tots els professionals dels centres de reduccions de danys, ONGs, de la Unitat de Salut Internacional de Drassanes, CEEISCAT i Agència de Salud Pública de Catalunya implicats en la recerca duta a terme durant els estudis que formen part d'aquesta tesi, i per la feina tant necessària que realitzeu cada dia al servei de la societat.

També agrair a totes aquells companys que han passat pel grup al llarg de tot el temps que ha durat la tesi, Laura, Maria, Gemma, Andreu i Sandra, aquells esmorzars no els oblidaré mai. Sandra, “senyora”, moltíssimes gràcies per tots els riures i per ajudar-me en tot durant la tesi, has estat un gran recolzament.

A les meves amigues, Helena, Andrea i Noemí, heu estat un pilar molt important en tota la tesi. Moltes gràcies per les petites escapades que hem pogut fer juntes, m’han donat aire per a poder seguir endavant. Moltíssimes gràcies per tot el recolzament que m’heu donat al llarg de tots els anys. Queda pendent el gran viatge dels 30!

A la meva sogra, Carme, gràcies per recolzar-me al llarg de la tesi i preocupar-te tant. Gràcies per acollir-me tant bé a la família.

Als meus pares i al meu germà, Carme, Salvador i Pau, moltes gràcies per donar-m’ho tot. Sóc qui sóc i estic on estic gràcies a vosaltres. Moltíssimes gràcies per recolzar-me durant tot aquest camí que malgrat tots els entrebancs heu estat allà per ajudar-me cada cop que ho he necessitat, i els valors que m’heu inculcat. Pauet, germà petit, que t’hauria de dir, ja ets el mimat de la casa, moltes gràcies, per ser allà sempre. I a l’última integrant de la família, Fiona, gràcies per la teva bogeria. Us estimo.

A la meva parella, en Sergi, moltes gràcies per acompanyar-me al llarg de tot aquest camí, la tesi, que malgrat no saber ni si tindria la beca per poder-la fer vas apostar per lo nostre i vas venir a viure a Badalona amb la Nala. Moltíssimes gràcies per aguantar-me cada dia amb tots els canvis d’humor que has hagut de patir al llarg d’aquests cinc anys. Has estat i ets un gran pilar per a mi, gràcies per tot. T’estimo.

Abreviacions

VHB → Virus de l'hepatitis B

VHC → Virus de l'hepatitis C

HSH →Homes que tenen sexe amb homes

PQID → Persones que s'injecten drogues

AAD → Antivírics d'acció directa

AgAu → Antigen d'Austràlia

Anti-HBc → Anticòs enfront a l'antigen *core* del virus de l'hepatitis B

AgHBc → Antigen *core* del virus de l'hepatitis B

AgHBs → Antigen de superfície del virus de l'hepatitis B

AgHBe → Antigen e del virus de l'hepatitis B

Anti-HBs → Anticòs enfront a l'antigen de superfície del virus de l'hepatitis B

Anti-HBe → Anticòs enfront a l'antigen e del virus de l'hepatitis B

OMS → Organització Mundial de la Salut

ECDC →Centre Europeu per a la Prevenció i Control de les Malalties

ALT → Alanina amino transferasa

AST → Aspartat amino transferasa

LAMP → Amplificació isotèrmica mediada per bucle

TMA → Amplificació mediada per transcripció

ITS → Infecció de transmissió sexual

PrEP → Tractament de profilaxi pre-exposició al VIH

Anti-VHC → Anticòs enfront al VHC

EIA → Tècnica d'immunoassaig enzimàtic

PCR → Reacció en cadena de la polimerasa

RVS → Resposta virològica sostinguda

EASL → Associació Europea per l'estudi del fetge

PSC → Targetes separadores de plasma (*plasma separation card* en anglès)

VIH → Virus de la immunodeficiència humana

DBS → Mostra de sang seca (*dried blood spots* en anglès)

TTS → Dones transgènere treballadores del sexe

HTS → Homes treballadors del sexe

USI → Unitat de Salut Internacional

FU → Seguiment (*follow up* en anglès)

NG → *Neisseria gonorrhoeae*

CT → *Chlamydia trachomatis*

ORa → Raó de probabilitat ajustada

VHD → Virus de l'hepatitis D

LOD → Límit inferior de detecció (*lower limit of detection* en anglès)

CRD → Centre de reducció de danys

Resum

Globalment, s'estima que les infeccions degudes als virus de l'hepatitis B (VHB) i de l'hepatitis C (VHC) causen 1,3 milions de morts anualment, derivades de la malaltia hepàtica crònica, que en fases avançades pot desembocar en cirrosi i càncer hepatocel·lular. Malgrat l'estratègia de l'Organització Mundial de la Salut (OMS) per a l'eliminació de les hepatitis víriques pel 2030 com a problema de salut pública, a finals de l'any 2022 només el 13% i el 36% de les persones amb infecció crònica pel VHB i el VHC, respectivament, havien estat diagnosticades.

La present tesi doctoral es centra en diferents estratègies de diagnòstic descentralitzat en diversos centres comunitaris, del VHB i VHC en poblacions vulnerables (com són les persones que s'injecten drogues –PQID–, les persones treballadores del sexe i les persones migrants), així com l'avaluació de la curació i la detecció de la reinfecció després del tractament descentralitzat en PQID en un centre de reducció de danys (CRD). Tots tres col·lectius són vulnerables a l'estigma social, pobresa i problemes de salut mental, a més d'experimentar múltiples barreres (socials, administratives i/o sanitàries) que els dificulta l'accés al sistema sanitari convencional. Cal tenir en compte, a més, que sovint aquestes tres poblacions es solapen entre elles, el qual provoca que el risc de presentar una infecció pel VHB i/o el VHC sigui superior al de la població general. Els models d'atenció descentralitzats, com els desenvolupats en la present tesi, duts a terme per treballadors comunitaris, o bé per infermeres comunitàries, així com la participació de líders comunitaris i persones en una situació similar, han demostrat ser claus per a poder augmentar la cobertura i l'impacte dels programes de cribratge.

Pel que fa a les PQID, s'estima que un terç presenta una infecció virèmica pel VHC, a més de baixes taxes de diagnòstic i tractament. En el grup de PQID en consum actiu, l'adherència al tractament pot ser baixa, i el consum continuat de drogues fa que després del tractament estiguin a risc de reinfectar-se. Per tant, cal fer un seguiment post-tractament per a la

confirmació de la curació i el diagnòstic precoç de la reinfecció. El nostre grup, prèviament, va validar l'ús de mostres de sang seca (*dried blood spots*, DBS en anglès) per al diagnòstic descentralitzat de la infecció virèmica pel VHC en PQID que acudien a CRDs, com a estratègia alternativa al diagnòstic clàssic (estudi HepC*detect* II, 2016-2018). Anant un pas més enllà, també es va implementar i avaluar en el CRD Redan La Mina el diagnòstic totalment descentralitzat de la virèmia, mitjançant la detecció de l'ARN-VHC en sang capil·lar fresca amb el nou assaig molecular en el punt d'atenció Xpert HCV VL Fingerstick (Cepheid); es va demostrar un excel·lent rendiment diagnòstic i la viabilitat d'entrega de resultats el mateix dia, permetent iniciar el tractament antivíric immediatament. Finalment, des de 2019, hem col·laborat en l'estudi pilot CHIME de cribratge i tractament descentralitzats (*test-and-treat program*, en anglès) en PQID que acudeixen a aquest mateix CRD. En el context d'aquest darrer estudi, en l'**Article I** d'aquesta tesi doctoral hem avaluat la utilitat de les mostres de DBS per a la confirmació de la curació (resposta virològica sostinguda, RVS) 12 setmanes després del tractament, així com per a la identificació precoç de la reinfecció pel VHC. Els casos que presentaven virèmia després del tractament, hem avaluat la utilitat del genotipat del VHC a partir de mostres de DBS recollides abans i després del tractament per a determinar si es tractava d'una reinfecció o un fracàs terapèutic, per tal d'escollir el règim de retractament adequat en cada cas.

Un total de 193 mostres de DBS corresponents als diferents punts de seguiment (FU12, FU36 i FU60, que corresponen a la setmana 12, 36 i 60 després de tractament, respectivament) van ser avaluades en comparació amb la tècnica de referència (Xpert HCV VL Fingerstick). L'assaig en DBS va mostrar una especificitat del 100%, i una sensibilitat d'entre el 84,4% i el 96,1% d'acord amb els diferents llindars marcats per les guies actuals (des de detectable a 3.000 UI/mL). Si ens centrem exclusivament en l'avaluació de la resposta virològica sostinguda (FU12), la sensibilitat va variar entre el 85,1% i el 97,4%. A més, el 10,9% dels pacients amb virèmia recurrent presentaven càrregues víriques baixes (≤1.000 UI/mL). Pel que fa a l'ús de mostres de DBS per a

diferenciació entre reinfecció i fracàs terapèutic, el 73,5% dels casos amb virèmia recurrents van poder ser classificats, majoritàriament van ser deguts a reinfecció.

En conclusió, les mostres de DBS han demostrat ser útils per a la confirmació de la curació, així com per a la diferenciació entre reinfecció i fracàs terapèutic, facilitant la descentralització del tractament i seguiment post-tractament en PQID.

Per altra banda, les dones transgènere treballadores del sexe i els homes treballadors del sexe, també estan a risc d'infectar-se pel VHB i el VHC. Degut a les pràctiques sexuals no segures i la baixa taxa de vacunació enfront al VHB, les guies nacionals i internacionals les descrigui com una població clau per a cribrar. A Catalunya, diferents ONGs ofereixen el servei de la prova ràpida del VIH a aquesta població. A més, l'estudi previ Sweetie va demostrar la viabilitat i l'èxit d'un estudi pilot de cribratge de diverses ITS en ONGs mitjançant la descentralització de la recollida de diferents mostres biològiques. Així doncs, seguint la línia de millorar i descentralitzar l'accés al diagnòstic de les hepatitis víriques en poblacions vulnerables, en l'estudi SexCohort (2019-2021) es va oferir el cribratge i monitorització d'ITS víriques i bacterianes (incloent la determinació de marcadors serològics i moleculars del VHB i VHC), en dones transgènere treballadores del sexe (TTS) i homes treballadors del sexe (HTS), que acudien a dos ONGs de Barcelona. Donada l'elevada transmissibilitat del VHB per via sexual, així com l'elevada proporció de població migrada entre les persones participants, en el **Manuscrit I** d'aquesta tesi doctoral**,** ens vam plantejar caracteritzar la prevalença d'exposició al VHB i els seus determinants, així com avaluar les necessitats de vacunació en aquesta població, per tal de poder dissenyar, en el futur, estratègies de cribratge i prevenció més dirigides.

Un total de 271 TTS i HTS van participar a l'estudi (el 93% dels quals eren migrants), presentant una prevalença d'infecció activa (AgHBs positiu) de l'1,9%, i d'exposició prèvia del 31,8% (essent significativament superior en TTS que en HTS; 38,5% *vs.* 20,8%, *p*=0,002). Els factors de risc associats a exposició al VHB van ser: treballar en el sexe des de fa més 5 anys (ORa=9,35, IC 95%:

3,57-26,96), exposició prèvia a *Treponema pallidum* (ORa=3,49, IC 95%:1,42-9,01)) i estar en tractament amb ansiolítics (ORa=3,23, IC 95%: 1,21-9,38). Pel que fa a la vacunació, el 33,7% dels participants presentaven anticossos postvacunals (anti-HBs), essent aquesta proporció significativament superior en HTS que en TTS (38,6% *vs.* 30,8%, *p*<0,001). Un 34,4% dels participants es van classificar com a candidats a vacunació (negatius per a tots els marcadors), essent també significativament superior aquesta proporció entre els HTS (40,6% *vs.* 30,8%, *p*<0,001). Els determinants de no haver estat vacunat enfront el VHB van ser no estar en PrEP pel VIH (OR: 4,23, IC 95%: 1,27-19,20; *p*=0,042) i ser migrant (OR: 5,00, IC 95%: 1,25-33,3; *p*=0,043). Finalment, la prevalença pel VHC va ser del 0,7% (n=2), sent un participant TTS positiu i un HTS.

Així doncs, l'elevada proporció de participants no vacunats enfront el VHB, així com l'elevat número de participants amb infecció prèvia pel VHB indiquen la importància de reforçar programes de cribratge i vacunació dirigits a aquesta població en els centres comunitaris on solen acudir.

Finalment, pel que fa a la població migrant provinent de països endèmics pel VHB i/o VHC resident a Catalunya poden presentar prevalences per aquests virus superiors a la població general, reflectint les prevalences del seu país d'origen. Prèviament el grup havia desenvolupat i pilotat un nou model d'atenció basat en una acció comunitària. L'estudi HepC*link* (2019-2020) va demostrar la viabilitat del cribratge descentralitzat del VHC en població pakistanesa a l'àrea metropolitana de Barcelona mitjançant una prova ràpida d'anticossos pel VHC i la confirmació de la virèmia en mostres de DBS, així com el tractament antivíric descentralitzat en la Unitat de Salut Internacional Vall Hebrón-Drassanes. En aquesta línia, vam voler ampliar aquest model d'atenció basat en una acció comunitària que reuneix educació, cribratge i accés simplificat al tractament tant per al VHB com per al VHC en poblacions migrants de Romania, Senegal i

Pakistan que vivien a l'àrea metropolitana de Barcelona (estudi HepBC*link,* 2020-23), amb l'objectiu d'avaluar la seva viabilitat i resultats (**Manuscrit II**).

Van participar un total de 768 persones migrants, 346 de Pakistan, 304 de Senegal i 136 de Romania. Del total de participants, només el 8% i el 7,7% havien estat cribats prèviament pel VHB i VHC, respectivament. La prevalença d'AgHBs va ser del 0,9% pels participants pakistanesos, 8,2% pels senegalesos i 1,4% pels romanesos. En total, 30 participants van ser AgHBs positius, dels quals 23 van ser nous diagnòstics (76,7%). D'entre els nous diagnòstics, el 69,6% (n=16) van assistir a la primera visita a la Unitat de Salut Internacional, essent tots positius per l'ADN-VHB, i d'aquests 56,3% (n=9) van assistir a la visita amb l'hepatòleg però cap va complir els criteris de tractament. La seroprevalença del VHC va ser del 3,5%, 0,7% i 1,4% pels migrants procedents de Pakistan, Senegal i Romania, respectivament, i la prevalença de infecció activa (ARN-VHC positiu) va ser del 0,9% pels pakistanesos, 0,3% pels senegalesos i 0,7% pels romanesos. Un total de 6 participants van ser virèmics pel VHC (tots nous diagnòstics), el 66,6% (n=4) van ser vinculats al sistema sanitari i dos es van curar.

Les prevalences observades en aquestes poblacions (superiors a la població general), així com el desconeixement del seu estat enfront al VHB i VHC, justifiquen el cribratge del VHB i VHC en aquests grups poblacionals. A més, aquesta acció comunitària descentralitzada que inclou educació, cribratge i accés simplificat al sistema sanitari ha demostrat ser altament útil i viable en població migrant en situació de vulnerabilitat, inclús durant la pandèmia de COVID-19.

Resumen

Globalmente, se estima que las infecciones debidas a los virus de la hepatitis B (VHB) y de la hepatitis C (VHC) causan 1,3 millones de muertos anualmente, derivadas de la enfermedad hepática crónica, que en fases avanzadas puede desembocar en cirrosis y cáncer hepatocelular. A pesar de la estrategia de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la eliminación de las hepatitis víricas para el 2030 como problema de salud pública, a finales del año 2022 solo el 13% y el 36% de las personas con infección crónica por el VHB y lo VHC, respectivamente, habían sido diagnosticadas.

La presente tesis doctoral se centra en diferentes estrategias de diagnóstico descentralizado en varios centros comunitarios, del VHB y VHC en poblaciones vulnerables (como son las personas que se inyectan drogas -PQID-, las personas trabajadoras del sexo y las personas migrantes), así como la evaluación de la curación y la detección de la reinfección después del tratamiento descentralizado en PQID en un centro de reducción de daños (CRD). Los tres colectivos son vulnerables al estigma social, pobreza y problemas de salud mental, además de experimentar múltiples barreras (sociales, administrativas y/o sanitarias) que le dificulta el acceso al sistema sanitario convencional. Hay que tener en cuenta, además, que a menudo estas tres poblaciones se solapan entre ellas, lo que provoca que el riesgo de presentar una infección por el VHB y/o el VHC sea superior al de la población general. Los modelos de atención descentralizados, como los desarrollados en la presente tesis, llevados a cabo por trabajadores comunitarios, o bien por enfermeras comunitarias, así como la participación de líderes comunitarios y personas en una situación similar, han demostrado ser claves para poder aumentar la cobertura y el impacto de los programas de cribado.

En cuanto a las PQID, se estima que un tercio presenta una infección viremica por el VHC, además de bajas tasas de diagnóstico y tratamiento. En el grupo de PQID en consumo activo, la adherencia al tratamiento puede ser baja, y el consumo continuado de drogas hace que después

del tratamiento sigan a riesgo de reinfectarse. Por lo tanto, hay que hacer un seguimiento post-tratamiento para la confirmación de la curación y el diagnóstico precoz de la reinfección. Nuestro grupo, previamente, validó el uso de muestras de sangre seca (*dried blood spots*, DBS en inglés) para el diagnóstico descentralizado de la infección viremica por el VHC en PQID que acudían a CRDs, como estrategia alternativa al diagnóstico clásico (estudio HepC*detect* II, 2016-2018). Yendo un paso más allá, también se implementó y evaluó en el CRD Redan La Mina el diagnóstico totalmente descentralizado de la viremia, mediante la detección del ARN-VHC en sangre capilar fresca con el nuevo ensayo molecular en el punto de atención Xpert HCV VL Fingerstick (Cepheid); se demostró un excelente rendimiento diagnóstico y la viabilidad de entrega de resultados el mismo día, permitiendo iniciar el tratamiento antiviral inmediatamente. Finalmente, desde 2019, hemos colaborado en el estudio piloto CHIME de cribado y tratamiento descentralizados (*test-and-treat program*, en inglés) en PQID que acuden a este mismo CRD. En el contexto de este último estudio, en el Artículo I de esta tesis doctoral hemos evaluado la utilidad de las muestras de DBS para la confirmación de la curación (respuesta viral sostenida, RVS) 12 semanas después del tratamiento, así como para la identificación precoz de la reinfección por el VHC. Los casos que presentaban viremia después del tratamiento, hemos evaluado la utilidad del genotipado del VHC a partir de muestras de DBS recogidas antes y después del tratamiento para determinar si se trataba de una reinfección o de un fracaso terapéutico, para escoger el régimen de retratamiento adecuado en cada caso.

Un total de 193 muestras de DBS correspondientes a los diferentes puntos de seguimiento (FU12, FU36 y FU60, que corresponden a la semana 12, 36 y 60 después de tratamiento, respectivamente) fueron evaluadas en comparación con la técnica de referencia (Xpert HCV VL Fingerstick). El ensayo en DBS mostró una especificidad del 100%, y una sensibilidad de entre el 84,4% y el 96,1% de acuerdo con los diferentes umbrales marcados por las guías actuales (desde detectable a 3.000 UI/ml). Si nos centramos exclusivamente en la evaluación de la respuesta viral sostenida (FU12), la sensibilidad varió entre el 85,1% y el 97,4%. Además, el 10,9% de los

pacientes con viremia recurrente presentaban cargas virales bajas (≤1.000 UI/ml). En cuanto al uso de muestras de DBS para la diferenciación entre reinfección y fracaso terapéutico, el 73,5% de los casos con viremia recurrente pudieron ser clasificados, mayoritariamente reinfección.

En conclusión, las muestras de DBS han demostrado ser útiles para la confirmación de la curación, así como para la diferenciación entre reinfección y fracaso terapéutico, facilitando la descentralización del tratamiento y seguimiento post-tratamiento en PQID.

Por otro lado, las mujeres transgénero trabajadoras del sexo y los hombres trabajadores del sexo, también están a riesgo de infectarse por el VHB y lo VHC. Debido a las prácticas sexuales no seguras y la baja tasa de vacunación frente al VHB, las guías nacionales e internacionales los describe como una población clave para cribar. En Cataluña, diferentes ONGs ofrecen el servicio de la prueba rápida del VIH en esta población. Además, el estudio previo Sweetie demostró la viabilidad y el éxito de un estudio piloto de cribado de varias ITS en ONGs mediante la descentralización de la recogida de diferentes muestras biológicas. Así pues, siguiendo la línea de mejorar y descentralizar el acceso al diagnóstico de las hepatitis víricas en poblaciones vulnerables, en el estudio SexCohort (2019-2021) se ofreció el cribado y monitorización de ITS víricas y bacterianas (incluyendo la determinación de marcadores serológicos y moleculares del VHB y VHC), en mujeres transgénero trabajadoras del sexo (TTS) y hombres trabajadores del sexo(HTS), que acudían a dos ONGs de Barcelona. Dada la elevada transmisibilidad del VHB por vía sexual, así como la elevada proporción de población migrante entre las personas participantes, en el Manuscrito I de esta tesis doctoral, nos planteamos caracterizar la prevalencia de exposición al VHB y sus determinantes, así como evaluar las necesidades de vacunación en esta población, para poder diseñar, en el futuro, estrategias de cribado y prevención más dirigidas.

Un total de 271 TTS y HTS participaron en el estudio (el 93% de los cuales eran migrantes), presentando una prevalencia de infección activa (AgHBs positivo) del 1,9%, y de exposición

previa del 31,8% (siendo significativamente superior en TTS que en HTS; 38,5% vs. 20,8%, *p*=0,002). Los factores de riesgo asociados a exposición al VHB fueron: trabajar en el sexo desde hace más 5 años (ORa=9,35, IC 95%: 3,57-26,96), exposición previa a *Treponema pallidum* (ORa=3,49, IC 95%:1,42-9,01)) y estar en tratamiento con ansiolíticos (ORa=3,23, IC 95%: 1,21-9,38). En cuanto a la vacunación, el 33,7% de los participantes presentaban anticuerpos postvacunales (anti-HBs), siendo esta proporción significativamente superior en HTS que en TTS (38,6% vs. 30,8%, *p*<0,001). Un 34,4% de los participantes se clasificaron como candidatos a vacunación (negativos para todos los marcadores), siendo también significativamente superior entre los HTS (40,6% vs. 30,8%, *p*<0,001). Los determinantes de no haber sido vacunado frente al VHB fueron no estar en PrEP por el VIH (OR: 4,23, IC 95%: 1,27-19,20; *p*=0,042) y ser migrante (OR: 5,00, IC 95%: 1,25-33,3; *p*=0,043). Finalmente, la prevalencia por el VHC fue del 0,7% (n=2), siendo un participante TTS positivo y un HTS.

Así pues, la elevada proporción de participantes no vacunados frente al VHB, así como el elevado número de participantes con infección previa por el VHB indican la importancia de reforzar programas de cribado y vacunación dirigidos a esta población en los centros comunitarios donde suelen acudir.

Finalmente, en cuanto a la población migrante proveniente de países endémicos por el VHB y/o VHC residente en Cataluña pueden presentar prevalencias por estos virus superiores a la población general, reflejando las prevalencias de su país de origen. Previamente el grupo había desarrollado y pilotado un nuevo modelo de atención basado en una acción comunitaria. El estudio Hep*Clink* (2019-2020) demostró la viabilidad del cribado descentralizado del VHC en población paquistaní del área metropolitana de Barcelona mediante una prueba rápida de anticuerpos por el VHC y la confirmación de la viremia en muestras de DBS, así como el tratamiento antiviral descentralizado en la Unidad de Salud Internacional Vall Hebrón-Drassanes. En esta línea, quisimos ampliar este modelo de atención basado en una acción comunitaria que

reúne educación, cribado y acceso simplificado al tratamiento tanto para el VHB como para el VHC en poblaciones migrantes de Rumanía, Senegal y Pakistán que vivían en el área metropolitana de Barcelona (estudio HepBC*link*, 2020-23), con el objetivo de evaluar su viabilidad y los resultados (Manuscrito II).

Participaron un total de 768 personas migrantes, 346 de Pakistán, 304 de Senegal y 136 de Rumanía. Del total de participantes, solo el 8% y el 7,7% habían estado cribados previamente por el VHB y VHC, respectivamente. La prevalencia de AgHBs fue del 0,9% por los participantes paquistaníes, 8,2% por los senegaleses y 1,4% por los rumanos. En total, 30 participantes fueron AgHBs positivos, de los cuales 23 fueron nuevos diagnósticos (76,7%). De entre los nuevos diagnósticos, el 69,6% (n=16) asistieron a la primera visita a la Unidad de Salud Internacional, siendo todos positivos por el ADN-VHB, y de estos 56,3% (n=9) asistieron a la visita con el hepatólogo pero ninguno cumplió los criterios de tratamiento. La seroprevalencia del VHC fue del 3,5%, 0,7% y 1,4% por los migrantes procedentes de Pakistán, Senegal y Rumanía, respectivamente, y la prevalencia de infección activa (ARN-VHC positivo) fue del 0,9% por los pakistaníes, 0,3% por los senegaleses y 0,7% por los rumanos. Un total de 6 participantes fueron viremicos para el VHC (todos nuevos diagnósticos), el 66,6% (n=4) fueron vinculados al sistema sanitario y dos se curaron.

Las prevalencias observadas en estas poblaciones (superiores en la población general), así como el desconocimiento de su estado frente al VHB y VHC, justifican el cribado del VHB y VHC en estos grupos poblacionales. Además, esta acción comunitaria descentralizada que incluye educación, criba y acceso simplificado en el sistema sanitario ha demostrado ser altamente útil y viable en población migrante en situación de vulnerabilidad, incluso durante la pandemia de COVID-19.

Abstract

Globally, it is estimated that infections caused by hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) result in 1.3 million deaths annually due to chronic liver disease, which in advanced stages can lead to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Despite the World Health Organization (WHO) strategy to eliminate viral hepatitis as a public health problem by 2030, by the end of 2022, only 13% and 36% of people with chronic HBV and HCV infections, respectively, had been diagnosed.

This doctoral thesis focuses on various decentralized diagnostic strategies in multiple community centers for HBV and HCV in vulnerable populations (such as people who inject drugs – PWID –, sex workers, and migrants) and the evaluation of cure and detection of reinfection after decentralized treatment in PWID at a harm reduction center (HRC). These three groups are vulnerable to social stigma, poverty, and mental health issues, and they experience multiple barriers (social, administrative, and/or health-related) that hinder their access to the conventional healthcare system. Additionally, these three populations often overlap, resulting in a higher risk of HBV and/or HCV infection compared to the general population. Decentralized care models, like those developed in this thesis, implemented by community workers or nurses, along with the participation of community leaders and peers, have proven crucial in increasing the coverage and impact of screening programs.

Among PWID, it is estimated that one-third have viremic HCV infection, with low diagnosis and treatment rates. In active PWID, treatment adherence may be low, and continued drug use poses a risk of reinfection post-treatment. Therefore, post-treatment follow-up is necessary to confirm cure and early diagnose reinfection. Our group previously validated the use of dried blood spot (DBS) samples for decentralized diagnosis of viremic HCV infection in PWID attending HRCs as an alternative to classic diagnosis (HepC*detect* II study, 2016-2018). Taking a step

further, we also implemented and evaluated at the Redan La Mina HRC the fully decentralized diagnosis of viremia using fresh capillary blood and the new Xpert HCV VL Fingerstick point-of-care molecular assay (Cepheid); this showed excellent diagnostic performance and feasibility of same-day results delivery, allowing immediate antiviral treatment initiation. Since 2019, we have collaborated on the CHIME pilot study of decentralized screening and treatment (test-and-treat program) in PWID attending the same HRC. In the context of this study, in Article I of this doctoral thesis, we evaluated the utility of DBS samples for confirming cure (sustained virologic response, SVR) 12 weeks post-treatment and for early identification of HCV reinfection. For cases with post-treatment viremia, we evaluated the utility of HCV genotyping from DBS samples collected before and after treatment to distinguish between reinfection and therapeutic failure, to select the appropriate retreatment regimen.

A total of 193 DBS samples at different follow-up points (FU12, FU36, and FU60, corresponding to weeks 12, 36, and 60 post-treatment, respectively) were evaluated compared to the reference technique (Xpert HCV VL Fingerstick). The DBS assay showed 100% specificity and sensitivity between 84.4% and 96.1% according to different thresholds set by current guidelines (from detectable to 3,000 IU/ml). Focusing exclusively on evaluating SVR (FU12), sensitivity ranged from 85.1% to 97.4%. Additionally, 10.9% of patients with recurrent viremia had low viral loads (≤1,000 IU/ml). For differentiating reinfection from therapeutic failure using DBS samples, 73.5% of cases with recurrent viremia could be classified, mostly as reinfection.

In conclusion, DBS samples have proven useful for confirming cure and differentiating between reinfection and therapeutic failure, facilitating decentralized treatment and post-treatment follow-up in PWID.

Transgender women sex workers and male sex workers are also at risk of HBV and HCV infection. Due to unsafe sexual practices and low HBV vaccination rates, national and international guidelines identify them as key populations for screening. In Catalonia, different NGOs offer

rapid HIV testing services to this population. Additionally, the previous Sweetie study demonstrated the feasibility and success of a pilot study screening multiple STIs in NGOs through decentralized collection of various biological samples. Thus, in line with improving and decentralizing viral hepatitis diagnosis access in vulnerable populations, the SexCohort study (2019-2021) offered screening and monitoring of viral and bacterial STIs (including serological and molecular markers for HBV and HCV) in transgender women sex workers (TWSW) and male sex workers (MSW) attending two NGOs in Barcelona. Given the high transmissibility of HBV through sexual contact and the high proportion of migrant participants, in Manuscript I of this doctoral thesis, we aimed to characterize the prevalence of HBV exposure and its determinants, and assess vaccination needs in this population to design more targeted screening and prevention strategies in the future.

A total of 271 TWSW and MSW participated in the study (93% of whom were migrants), presenting a 1.9% prevalence of active infection (HBsAg positive) and a 31.8% prevalence of previous exposure (significantly higher in TWSW than in MSW; 38.5% vs. 20.8%, *p*=0.002). Risk factors associated with HBV exposure were: working in sex work for over 5 years (aOa=9.35, 95% CI: 3.57-26.96), previous exposure to *Treponema pallidum* (aOR=3.49, 95% CI: 1.42-9.01), and being in treatment with anxiolytics (aOR=3.23, 95% CI: 1.21-9.38). Regarding vaccination, 33.7% of participants had post-vaccination antibodies (anti-HBs), with a significantly higher proportion in MSW than in TWSW (38.6% vs. 30.8%, *p*<0.001). A total of 34.4% of participants were classified as candidates for vaccination (negative for all markers), significantly higher among MSW (40.6% vs. 30.8%, *p*<0.001). Determinants of not being vaccinated against HBV were not being on HIV PrEP (OR: 4.23, 95% CI: 1.27-19.20; p=0.042) and being a migrant (OR: 5.00, 95% CI: 1.25-33.3; p=0.043). Finally, the HCV prevalence was 0.7% (n=2), with one positive TWSW and one MSW.

Thus, the high proportion of unvaccinated participants and the significant number of participants with previous HBV infection indicate the importance of reinforcing targeted screening and vaccination programs for this population at community centers they frequent.

Finally, migrant populations from HBV and/or HCV endemic countries residing in Catalonia may have higher prevalence rates for these viruses compared to the general population, reflecting their country of origin's prevalence. Previously, our group developed and piloted a new model of care based on community action. The HepC*link* study (2019-2020) demonstrated the feasibility of decentralized HCV screening in the Pakistani population in the Barcelona metropolitan area using a rapid HCV antibody test and viremia confirmation in DBS samples, along with decentralized antiviral treatment at the Vall Hebron-Drassanes International Health Unit. Building on this, we aimed to expand this community action-based model of care, integrating education, screening, and simplified treatment access for both HBV and HCV in migrant populations from Romania, Senegal, and Pakistan living in the Barcelona metropolitan area (HepBC*link* study, 2020-2023), to evaluate its feasibility and outcomes (Manuscript II).

A total of 768 migrants participated, 346 from Pakistan, 304 from Senegal, and 136 from Romania. Only 8% and 7.7% had previously been screened for HBV and HCV, respectively. The HBsAg prevalence was 0.9% among Pakistani participants, 8.2% among Senegalese, and 1.4% among Romanian. In total, 30 participants were HBsAg positive, of whom 23 were new diagnoses (76.7%). Among the new diagnoses, 69.6% (n=16) attended their first visit at the International Health Unit, all were HBV DNA positive, and 56.3% (n=9) attended the hepatologist visit, but none met treatment criteria. The HCV seroprevalence was 3.5%, 0.7%, and 1.4% among Pakistani, Senegalese, and Romanian migrants, respectively, and the prevalence of active infection (HCV RNA positive) was 0.9% for Pakistani, 0.3% for Senegalese, and 0.7% for Romanian. A total of 6 participants were viremic for HCV (all new diagnoses), 66.6% (n=4) were linked to the healthcare system, and two were cured.

The observed prevalence in these populations, higher than in the general population, and the lack of awareness of their HBV and HCV status justify screening these groups for HBV and HCV. Additionally, this decentralized community action, including education, screening, and simplified healthcare access, has proven highly useful and feasible for vulnerable migrant populations, even during the COVID-19 pandemic.



Introducció

1. Introducció

1.1. Hepatitis B i C

Globalment, s'estima que les infeccions degudes al virus de l'hepatitis B (VHB) i al virus de l'hepatitis C (VHC) causen 1,3 milions de morts anualment, degut a la malaltia hepàtica avançada i al càncer hepatocel·lular, a més, és una de les malalties comunicables en la qual el número de morts està augmentant. El nombre estimat de persones que viuen amb la infecció crònica pel VHB és de 254 milions, mentre que pel VHC s'estima que 110 milions de persones són positives a l'anticòs enfront el VHC (infecció virèmica passada o actual) i 50 milions de persones presenten una infecció virèmica activa[1,2]. Anualment, aproximadament 60.000 morts són atribuïdes al càncer hepàtic causat per les infeccions del VHB i VHC[3].

La distribució global dels dos virus no és igualitària, sinó que en països de renta baixa i mitja són els més afectats (descrits com a països d'endemicitat mitja i alta). Aproximadament, el 60% de la població infectada pel virus del VHB es troba a Àsia i Àfrica, mentre que pel VHC les infeccions es donen en totes les àrees geogràfiques, però especialment en la regió mediterrània est i europea les quals representen el 20% de les persones infectades crònicament pel virus globalment[3]. Tot i que, Europa no és un país considerat d'alta endemicitat, sí que subpoblacions europees presenten altes prevalences per als dos virus, especialment homes que tenen sexe amb homes (HSH), persones que s'injecten drogues (PQID), migrants, presoners i persones VIH positives[2]. En la major part dels casos, les persones infectades són desconeixedores de la malaltia fins estadis avançats, quan la infecció va acompanyada de simptomatologia. Actualment, la mesura més eficaç per evitar les noves infeccions i disminuir la prevalença per al virus del VHB és la vacunació, ja que el tractament amb antivírics com el Tenofovir o Entecavir aconsegueix una curació funcional (inhibició de la replicació del virus), però no una eliminació completa del virus. En canvi, pel virus VHC, actualment no existeix una vacuna, però els nous tractaments amb antivírics d'acció directa (AAD) aconsegueixen l'eliminació completa del virus,

amb els mínims efectes secundaris i amb unes taxes de curació superiors al 97%[4,5]. Tot i existir mesures efectives per al control d'aquestes dues infeccions, cal conscienciar especialment a les poblacions de risc sobre aquestes infeccions i donar a conèixer quines són les mesures preventives per a evitar nous contagis.

1.2. L'hepatitis B

1.2.1. Descobriment i origen del virus

Al llarg de la història s'han descrit diferents indicis de la infecció del VHB, tot i que encara es desconeixia el virus. Els primers casos de VHB es podrien haver detectat en gravats de l'època de la Babilònia, i en l'antic testament on hi ha escrits que expliquen la detecció d'icterícia entre la població. Més tard, Hipòcrates va descriure nombrosos casos d'icterícia, proposant diferents causes i tractaments. Hipòcrates per a descriure aquests casos va usar els termes *ikteros* i *kirros* en les seves descripcions, creient que el canvi en la coloració de la pell era degut a un desajust humoral[6]. Durant els dos mil·lennis següents, brots de malalties amb icterícia van ser freqüents, sense trobar un agent etiològic clar que expliqués l'aparició d'aquest símptoma. Però, en aquella època, es sospitava que l'origen d'aquesta simptomatologia i de la malaltia raïa en l'aigua impura (transmissió fecal-oral) i en llocs bruts (transmissió aèria). L'any 1865, Rudolf Virchow va elucubrar sobre la causa de la icterícia, anomenant aquests casos com a "*catarrhal jaundince*"[6], però en cap moment va associar-la a una causa d'origen infecciós. No va ser fins 20 anys més tard, l'any 1885, després de dos brots ocorreguts a Alemanya, arran d'una campanya de vacunació enfront de la verola, en el qual la vacuna va ser formulada a partir de limfa humana possiblement amb VHB, que Lürmann va reconèixer per primer cop la naturalesa de la infecció en els primers dies de la microbiologia mèdica. A més, moltes vacunes de l'època usaven el sèrum humà com estabilitzador[7], per tant, durant els següents anys, es van anar produint brots similars, produint-se l'any 1942 un brot molt gran entre el personal de l'armada dels Estats Units d'Amèrica, arrel de la vacunació enfront la febre groga[6,7]. Retrospectivament, s'ha comprovat

que efectivament el brot va ser causat pel sèrum usat en la formulació de la vacuna, i es calcula que aproximadament 280.000 persones van ser vacunades amb aquest lot i per tant infectades amb el VHB[5]. A partir d'aquest fet, nombrosos estudis es van dur a terme en voluntaris sans arreu del món, podent-se establir, cap al final de la segona guerra mundial, que els brots ocorreguts els anys anteriors eren deguts a un agent infecciós present en el sèrum usat per a la producció de vacunes[7].

Però, no va ser fins als anys 20 que es van classificar les hepatitis en dos tipus, una de curta incubació o "infecciosa", i una de llarga incubació o "sèrica". Aquesta classificació es va fer basant-se en la ruta d'exposició i el període d'incubació de l'agent infecciós[6]. Uns anys més tard, l'any 1947, gràcies a les observacions epidemiològiques fetes fins llavors, es va distingir entre hepatitis A i B, dos tipus de patògens subcel·lulars diferents[6]. Per una banda el tipus A, afectava sobretot nens i es transmetia per aliments i aigua contaminada per femtes portadores del virus, i la malaltia no cronificava. Per altre banda, el tipus B es transmetia en intervencions quirúrgiques, procediments amb sang (transfusions sanguínies, extraccions de dents, entre altres), sèrum humà contaminat (degut a la falta d'esterilització), per injecció accidental o inoculació, i que a més, la malaltia cronificava. El principal mètode de transmissió del tipus B era les transfusions sanguínies provinents d'un donant de sang aparentment sa, ja que no patia icterícia, però que presentava infecció pel VHB[6,7].

La primera fita important en el descobriment del VHB arribà els anys 50 i 60 amb l'estudi dels marcadors genètics de susceptibilitat del càncer de mà de Baruch S. Blumberg. Blumberg va postular que les persones que rebien productes sanguinis d'un gran nombre de donants desenvolupaven anticossos enfront proteïnes "polimòrfiques" sèriques, aquest fet el va estudiar a partir d'una aproximació immunològica. Harvey Alter, company de Blumberg, va descobrir un nou antigen present en moltes de les mostres estudiades, però sobretot estava present en sang provinent d'aborígens australians. Així doncs, aquest nou antigen el van anomenar antigen

d'Austràlia (AgAu)[6,7]. Paral·lelament, Alfred Prince, l'any 1968 va descriure l'antigen sèric de l'hepatitis (SH) present en sang de pacients amb VHB. Aquest antigen es tractava de l'AgAu descobert per Blumberg i els seus companys, essent confirmat posteriorment per varis grups. L'AgAu va ser descrit com el marcador d'hepatitis B aguda i crònica[7]. El descobriment de l'AgAu l'any 1963 per Baruch S. Blumberg va ser guardonat l'any 1976 amb el premi Nobel de Medicina[8].

Arran d'aquest descobriment, la sang dels donants va ser cribrada pel VHB amb la tècnica de difusió doble en agar gel per l'AuAg. Aquest fet però, no va impedir que encara es donessin infeccions pel VHB. L'any 1972, Abbott Laboratories va desenvolupar el primer mètode de detecció pel VHB d'alta sensibilitat. Es tractava d'un radioimmunoassaig tipus sandvitx en fase sòlida per a la detecció d'antígens i anticossos enfront el VHB, anomenat *Àustria 125*[7].

Malgrat tots els avenços realitzats fins aquell moment, encara no estava clar quin paper jugava l'AgAu en la infecció pel VHB. La primera pista va arribar l'any 1971 quan Le Bouvier va descobrir que hi havia diferents subtipus d'aquest antigen. Una mica més tard, Bancroft també va identificar diferents subtipus de l'antigen a través de la microscòpia electrònica. Segons el descobriment de Blumberg, l'AgAu tenia una aparença de petita partícula esfèrica, d'uns 17-25 nm, sense material genètic en el seu interior. L'any 1972, June Almeida va aconseguir alliberar les partícules del nucli del VHB, anomenades "partícules Dane", mitjançant un tractament amb un detergent suau. A més, va demostrar que els pacients infectats pel VHB formaven anticossos (anti-HBc) enfront l'AgAu del nucli (AgHBc). Aquest fet suggeria que les partícules Dane eren de fet el virus del VHB, i, l'AgAu, descobert anteriorment, era l'antigen de superfície de l'embolcall del virus, anomenant-se a partir d'aquest moment antigen de superfície (AgHBs)[7]. Més tard, l'any 1973, William S. Robinson, descobrí l'ADN polimerasa i l'any 1974, l'ADN víric. L'any 1978 a mans de Pierre Tiollais, William Rutter i Kenneth Murray, tres pioners de la biologia molecular, van reportar simultàniament el clonatge i seqüenciació de l'ADN del VHB. Gràcies a la clonació duta a terme, es va identificar que el material genètic del VHB està format per un ADN circular,

que codifica els gens AgHBs, AgHBc, l'ADN polimerasa i un gen inesperat X. Finalment, un experiment conduït per Friedrich Deinhardt, Heinz Schaller i els seus col·laboradors va demostrar que la partícula Dane es tractava del virus pròpiament dit, tal com s'havia suposat anteriorment **(Figura 1)**. Aquest descobriment va ser publicat a la revista Nature[7].

Year	Observation/event	Reference
1800–400 BCE	Descriptions of jaundice in Babylonian clay tablets and writings of Hippocrates.	(Papaevangelou et al., 1983)
1600–1900s	Outbreaks of jaundice common in urban populations and armies on campaign.	
1865	Virchow explains etiology of "catarrhal jaundice" as duodenal edema obstructing the ampulla of Vater.	(Virchow, 1865)
1885	Two outbreaks of catarrhal jaundice in Germany following smallpox vaccination.	(Lurman, 1885; Jehn, 1885)
1900–40s	Outbreaks of jaundice associated with i.v. salvarsan inoculation and blood testing in diabetes clinics.	(Stokes et al., 1920; Flaum et al., 1926)
1930s	Liver biopsies detect hepatic inflammation in patients with jaundice, casting doubt on "catarrhal" origin.	(Roholm and Iversen, 1939)
1930–1940s	Outbreaks of jaundice linked to injection of measles and mumps convalescent plasma.	(Propert, 1938; MacNalty, 1938; Beeson et al., 1944)
1930–40s	First "liver function tests" introduced into clinical practice.	(Maclagan, 1947)
1930s	Yellow fever vaccine containing human serum causes cases of jaundice in Brazil and the UK.	(Findlay and MacCallum, 1938; Soper and Smith, 1938; Fox et al., 1942)
1942	Yellow fever vaccine containing human serum causes massive outbreak of hepatitis B in US Army.	(Sawyer et al., 1944; Turner et al., 1944)
1937–40s	Recognition of chronic hepatitis in patients with previous catarrhal jaundice.	(Polack, 1937; Kornberg, 1941)
1944	Serum and infectious hepatitis shown to be caused by distinct filterable agents in volunteer studies.	(MacCallum, 1945; MacCallum and Bradley, 1944; MacCallum, 1944)
1947	"Infectious hepatitis" renamed hepatitis A, "serum hepatitis" renamed hepatitis B.	(Anonymous, 1947)
1950s	Chronic viral carriers identified in human volunteer studies.	(Neefe et al., 1954; Murray et al., 1954)
1965	"Australia antigen" detected in serum of an Australian aborigine and some American leukemia patients.	(Blumberg et al., 1965; Alter and Blumberg, 1966)
1967	Australia antigen associated with hepatitis B.	(Sutnick et al., 1968; Blumberg et al., 1968; Blumberg et al., 1969)
1972–73	Hepatitis B transmitted to chimpanzees.	(Barker et al., 1973; Maynard et al., 1972)
1969–72	Chronic hepatitis B linked to the development of liver cancer.	(Smith and Blumberg, 1969; Sutnick et al., 1972)
1972	First testing of donor blood for Australia antigen.	(Alter et al., 1970)
1972	First vaccine to protect against hepatitis B.	(Blumberg and Millman, 1972)
1973	Hepatitis A virus identified by immuno-EM in stool specimens.	(Feinstone et al., 1973)
1977	Discovery of delta antigen leads to identification of HDV.	(Rizzetto et al., 1977)
1978	Non-A, non-B hepatitis virus hypothesized to exist.	(Alter et al., 1978)
1983	Hepatitis E identified.	(Balayan et al., 1983)
1986	First clinical trial of interferon-α therapy of chronic hepatitis B.	(Hoofnagle et al., 1986)
1989	Hepatitis C virus cloned from human serum.	(Choo et al., 1989)
1998	First direct-acting antiviral (lamivudine) for chronic hepatitis B approved by FDA.	(Lai et al., 1998)

Figura 1. Taula resum de les fites més important del descobriment del VHB. Font: Timothy M. Block et al., BMC Public Health, 2016[6].

1.2.2. Estructura i organització genòmica del virus

El VHB és un virus ADN petit embolcallat de doble cadena, similar als retrovirus, que pot integrar-se dins del genoma de l'hepatòcit. Està classificat dins del gènere *Orthohepadnavirus*, família *Hepdnaviridae*[9]. Mitjançant microscòpia electrònica, s'han identificat tres tipus de partícules víriques presents en el sèrum de pacients infectats: i) dues d'elles tenen una estructura esfèrica petita d'uns 20 nm de diàmetre embolcallat amb filaments de diferents longituds i de 22 nm de gruix, sense àcids nucleics en el seu interior i envoltades per l'AgHBs i lípids derivats, i ii) la partícula vírica restant, es tracta del virus (partícula Dane) que presenta una estructura esfèrica

de 42 nm de diàmetre amb dues zones ben delimitades, una interna anomenada nucli o *core*, on es troba la proteïna *core* del VHB, la polimerasa i el genoma del virus, i una més externa de composició lipoproteica i on es troba l'AgHBs. El genoma del VHB està format per una cadena parcialment doble d'ADN de 3.200 parells de bases, amb una cadena negativa completa i una positiva incompleta, amb la polimerasa vírica unida covalentment a l'extrem 5'[10,11] (**Figura 2**). A més actualment, es coneix que la infecció pel VHB produeix altres partícules no infeccioses, com són: les partícules amb embolcall sense genoma víric, les que contenen ARN víric, i les partícules sense embolcall[12].

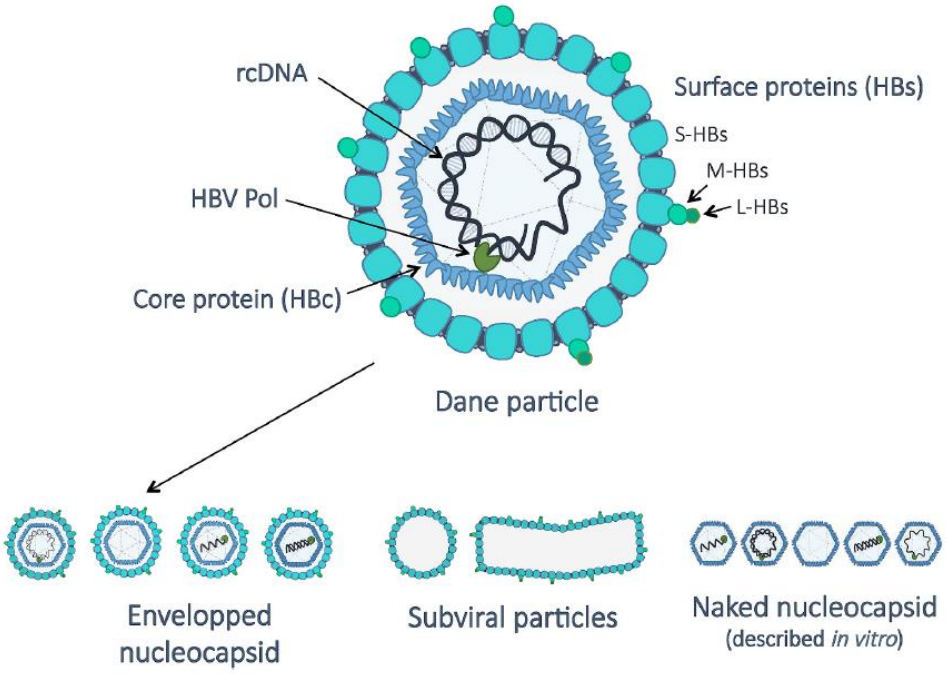


Figura 2. Estructura del virus de l'hepatitis B. Font: Senko Tsukuda et al., Antiviral Research, 2020 [13].

El genoma víric codifica per quatre marcs oberts de lectura (ORFs): S, C, P, i X. El gen ORF-S codifica la proteïna de superfície (AgHBs), que es pot dividir estructuralment i funcionalment en tres regions: pre-S1, pre-S2 i la S. **(Figura 3)**. El gen *core* o ORF-C està format per les regions *precore* i *core* que codifiquen l'antigen de la nucleocàpside AgHBc (proteïna de 22 kDa) o l'antigen e del VHB (AgHBe) depenent de l'inici de transcripció de les regions *core* o *precore*. La

proteïna *core* presenta la propietat intrínseca d'auto-assemblatge en una estructura similar a una càpsida, mentre que la proteïna *precore* codifica un pèptid que en el reticle endoplasmàtic és processat i secretat en forma de AgHBe. La funció de l'AgHBe encara és desconeguda, però es coneix que pot actuar com a tolerogen, promovent la infecció persistent[9]. El gen ORF-P codifica la polimerasa vírica, la qual està dividida funcionalment en tres dominis: el terminal, que és el responsable de l'encapsidació i de l'inici de la síntesi de la cadena negativa; la transcriptasa inversa, que catalitza la síntesis del genoma; i la ribonucleasa H, que degrada l'ARN pregenòmic i facilita la replicació. El gen ORF-P produeix els tres tipus d'antígens de superfície: L-HBs, M-HBs i S-HBs (llarga, mitja i petita, respectivament). Finalment, el gen ORF-X codifica l'AgHBx responsable de la senyal de traducció, activació transcripcional, reparació de l'ADN, i inhibició de la degradació proteica. Tot i que, l'AgHBx és necessari per a la infecció del VHB *in vivo* i contribueix al potencial oncogènic del virus, el seu paper biològic dins del cicle víric és encara desconegut[9].

L'ADN víric es converteix en ADN circular tancat covalentment (ADNccc) en les cèl·lules infectades. L'ADNccc produeix, a partir de diferents transcrits dels diferents promotors del genoma del VHB, vàries longituds d'ARN del VHB (principalment 3,5 Kb, 2,4 Kb, 2,1 Kb i 0,7Kb). L'ARN de 3,5 Kb produeix el producte proteic de C i P; l'ARN de 2,4 Kb es tradueix en la L-HBs i un ARN de 2,1 Kb que sintetitza els antígens de superfície M-HBs i S-HBs; l'ARN de 0,7 Kb produeix l'HBx. A més, l'ADN-VHB pot integrar-se afavorint la persistència de la infecció vírica a llarg terme. La integració del VHB pot produir-se en llocs aleatoris del genoma de l'hoste i s'ha detectat en un gran número de gens. S'ha demostrat que el VHB s'integra en fases precoces de la infecció, el que pot culminar amb el desenvolupament de carcinoma hepàtic després d'anys d'infecció productiva o oculta[14].

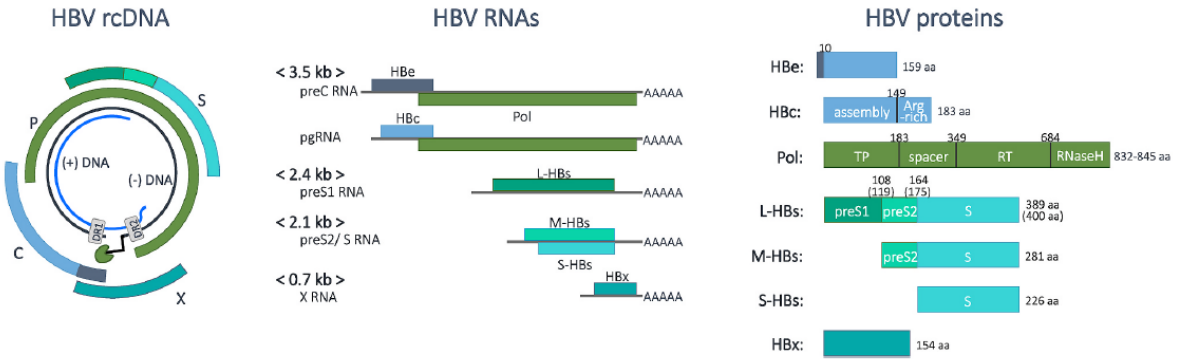


Figura 3. Representació esquemàtica de l'estructura de l'ADN-VHB genòmic, l'ARN i les proteïnes. A l'esquerra l'ADN-VHB genòmic i els ORFs, al mig l'ARN-VHB produït per la transcripció de l'ADNccc; a la dreta les estructures i els dominis de les proteïnes del VHB. Font: Senko Tsukuda et al., Antiviral Research, 2020 [13].

1.2.3. **Vies de transmissió**

La transmissió del VHB es produeix pel contacte directe amb sang d'una persona infectada o fluids corporals (ex. semen, fluid vaginal o en menor mesura saliva) pel virus. La transmissió es pot donar de mare a nadó durant l'embaràs o en el moment del part (transmissió vertical), entre nens o familiars (transmissió horitzontal), per contacte sexual desprotegit amb una parella infectada (sobretot en treballadors sexuals, HSH o heterosexuals amb múltiples parelles no vacunades), pel consum de drogues per via injectada (compartir agulles, xeringues i material per a la preparació de les drogues), exposició accidental a agulles o instruments afilats contaminats, o per compartir materials com maquinetes d'afaitar, raspall de dents entre d'altres objectes quotidians que poden trencar les membranes mucoses i la pell. També es pot produir per falta de bones pràctiques en el sistema sanitari (ex. unitats de diàlisi, donacions de sang, unitats de diabetis) i per falta d'esterilització dels materials usats en tatuatges, pírcings i acupuntura, essent aquestes formes de transmissió baixes en països de renta alta, però encara prou freqüent en països de renta baixa i mitja[2,11].

Més concretament, la transmissió vertical del virus s'ha vist reduïda globalment fins a un 1,3% en les noves infeccions, gràcies als programes de vacunació enfront el VHB. Aquesta ruta, però, segueix essent la predominant en menors de 5 anys. A la regió africana, la prevalença de infecció

degut a la transmissió vertical arriba fins al 3%[1]. En mares AgHBs i AgHBe positives, la transmissió vertical està entre el 70-100% dels casos a Àsia i un 40% a Àfrica. Per contra, si les mares són positives únicament a l'AgHBs la transmissió vertical disminueix fins al 5-30% de les infeccions adquirides en nadons a Àsia i un 5% a Àfrica. Per això, la vacunació amb la primera dosi durant les primeres 24 hores després del naixement és clau per a la reducció de les noves infeccions en nadons[1].

A Europa, els casos d'infecció aguda pel VHB es donen sobretot per transmissió heterosexual (20%), entre HSH (16%) i per transmissió nosocomial (15%). En canvi, pel que fa a la infecció crònica, la majoria dels casos es produeix per transmissió vertical (41%). Però el 94% dels casos de transmissió vertical són deguts a infeccions importades d'Àsia (51% dels casos) i d'Àfrica (29% dels casos). **(Figura 4)**. El 38% del total de casos reportats es tracta de casos importats [15].

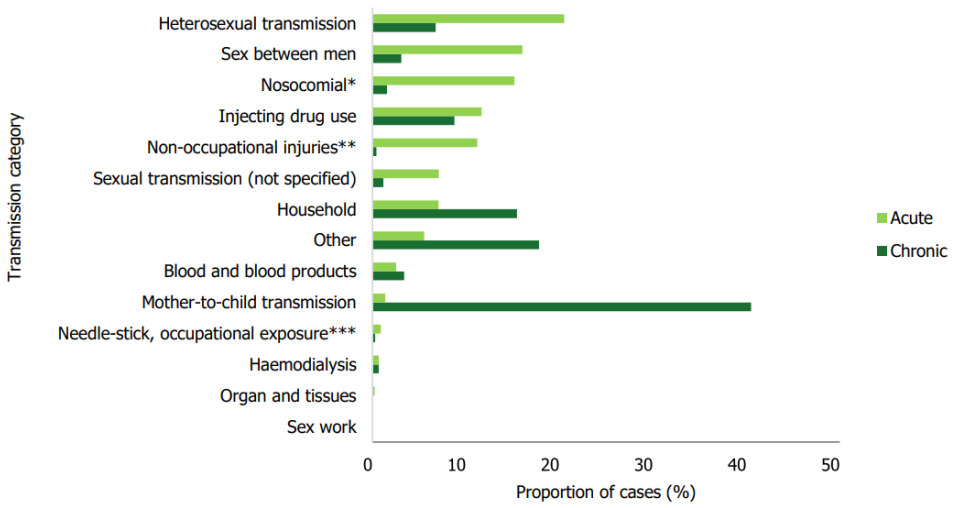


Figura 4. Vies de transmissió del VHB a Europa. Font: ECDC, 2022 [15].

A Espanya, la transmissió per via sexual és la més freqüent, representant el 41% de les infeccions, afectant sobretot als col·lectius de HSH i heterosexuals amb pràctiques de risc, com són múltiples parelles, i sexe sense protecció, entre altres[16]. Seguidament, afecta a les persones que consumeixen drogues per via injectada, les qual presenten un risc més elevat d'adquirir la infecció[17]. El número de infeccions produïdes a través de la transmissió vertical és baixa, degut l'administració d'immunoprofixalis en les mares portadores durant l'embaràs i la vacunació dels

nounats durant les primeres 24 hores. Finalment, la prevalença d'infecció és superior en homes respecte a les dones en la població general a España, amb una raó home/dona de 2,01[18].

1.2.4. Prevalença i distribució de la infecció

L'any 2022, l'Organització Mundial de la Salut (OMS) estimava que 254 milions de persones viuen amb una infecció crònica pel VHB, produint-se 1,2 milions de noves infeccions cada any, i atribuint-se 1,1 milions de morts, la majoria degudes a cirrosi i carcinoma hepatocel·lular[3]. S'estima que 2 bilions de persones han passat o estan infectades pel VHB[1], i d'aquests el 68% es troben en països d'Àfrica i del Pacífic Oest. Així doncs, la prevalença per l'AgHBs varia geogràficament, països com Àfrica Subsahariana, Est d'Àsia, Illes del Pacífic, Conca de l'Amazones (Sud Amèrica) i algunes regions dels Balcans, presenten una alta endemicitat pel VHB (prevalença de l'AgHBs > 5%), mentre que països d'Amèrica Central, Nord Amèrica i Europa Occidental presenten una prevalença inferior al 2% **(Figura 5)**[1,2].

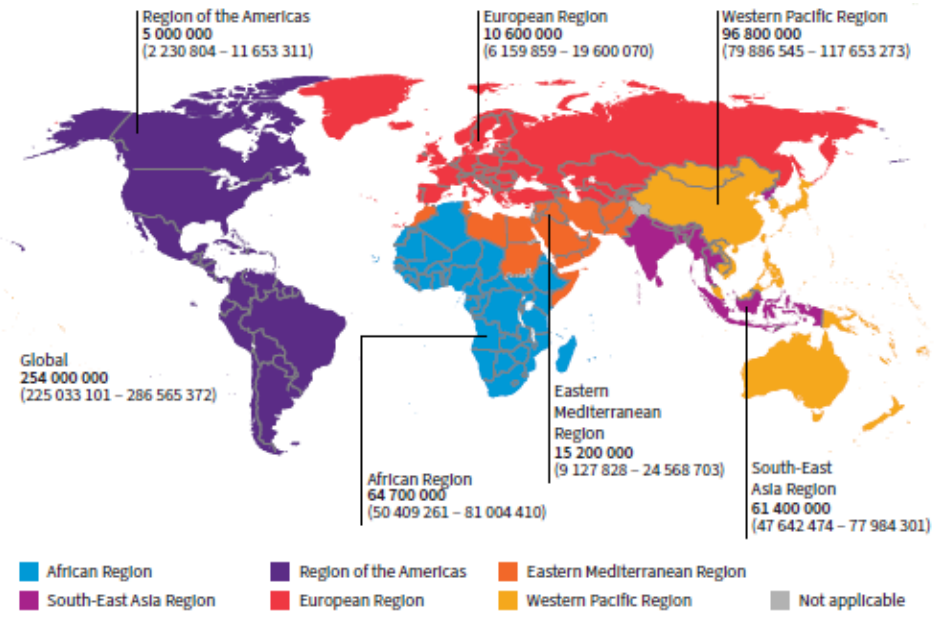


Figura 5. Mapa de la distribució global de la prevalença d'hepatitis B crònica. Font: OMS, 2024[3].

A Europa, aproximadament 15 milions de persones estan infectades crònicament pel VHB (1,1% en població general)[19]. D'acord amb la memòria epidemiològica anual elaborada pel Centre Europeu per la Prevenció i el Control de les Malalties (European Centre for Disease prevention and Control, ECDC), l'any 2022 es van reportar 28.855 nous casos d'infecció pel VHB, que correspon a una taxa d'incidència de 8,5 casos per 100.000 habitants. El 7% del total de casos reportats van ser infeccions agudes, el 40% cròniques, el 47% desconegudes i el 6% no es van poder classificar, ja que presentaven dades contradictòries que impedien diferenciar si era una infecció aguda o crònica. La prevalença d'infecció pel VHB va ser superior en homes, amb una proporció de 1,4:1 d'homes respecte a dones[15].

A Espanya, la prevalença de l'AgHBs en la població general és baixa, del 0,22% l'any 2020, i amb una taxa de mortalitat de 2,07 per cada 100.000 habitants[20]. Més concretament, a Catalunya l'any 2020, la prevalença d'AgHBs es va estimar en un 0,51%, essent el 53% de les infeccions de migrants provinents de països d'alta i mitja endemicitat com són Romania, Àfrica, Sud-Amèrica, Xina i Pakistan[21].

1.2.5. Història natural de la infecció i malaltia

La infecció pel VHB pot causar hepatitis aguda (en alguns casos fins i tot pot ser fulminant), o bé pot progressar a hepatitis crònica, la qual s'associa a cirrosis, i carcinoma hepatocel·lular[2,9]. La infecció aguda pot cursar asimptomàtica o presentar símptomes inespecífics com icterícia, cansament o febre[2,22].

L'hepatitis B aguda normalment cursa com una malaltia limitada, caracteritzada per la inflamació aguda i la necrosi hepatocel·lular. En canvi, l'hepatitis B crònica presenta un ampli espectre de manifestacions clíniques, que poden anar acompanyades o no de simptomatologia. L'hepatitis B crònica es defineix com la infecció persistent pel VHB, amb o sense replicació vírica, inflamació hepàtica i dany hepàtic. El risc de presentar una infecció crònica pel VHB va associada

a l'edat d'adquisició del virus. El 90% dels nounats infectats pel VHB a partir de mares AgHBe positives cronifiquen la infecció, en infants menors de 5 anys el 20-60% de les infeccions agudes progressen a cròniques, mentre que en l'edat adulta menys del 5% de les infeccions es converteixen en cròniques **(Figura 6)**[2,22]. El 20% de les persones amb infecció crònica pel VHB progressen a cirrosi hepàtica, definida com la condició on la regeneració dels nòduls hepàtics i la fibrosi coexisteix, causant un dany hepàtic sever, resultant en una hipertensió portal i una insuficiència hepàtica[22].

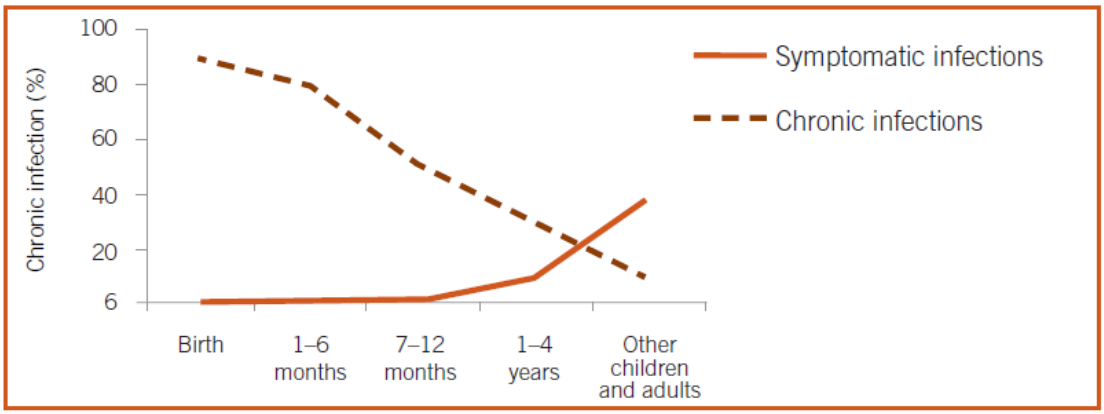


Figura 6. Progressió de la infecció pel virus de l'hepatitis B depenent de l'edat d'adquisició. Font: OMS, 2015 [2].

La història natural de l'hepatitis B crònica és dinàmica i complexa, no té una progressió lineal i les diferents fases de la infecció presenten duracions variables i no són necessàriament seqüencials. El diagnòstic de la infecció pel VHB i l'estadiatge de la malaltia es basa en diferents paràmetres clínics, bioquímics, histològics i serològics. La identificació dels diferents marcadors serològics del VHB (antígens i anticossos) en sèrum són essencials per a la correcta classificació de la malaltia, així com la valoració de la necessitat de tractament, valoració de la progressió de la malaltia o de la necessitat de immunització o re-immunització **(Figura 7)**[2,9].

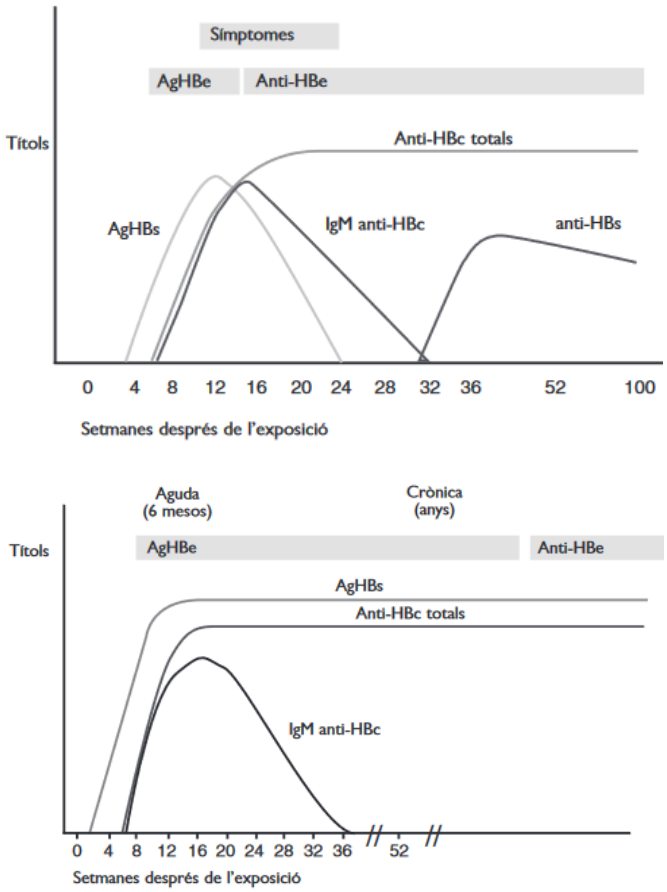


Figura 7. Detecció dels diferents marcadors serològics del VHB per a la determinació de la progressió de la infecció pel virus de l'hepatitis B (VHB) aguda (a dalt) i crònica (a baix). Font: Documents de vigilància epidemiològica, 2005 [23].

Els diferents marcadors serològics usats per a la caracterització de la infecció pel VHB són: AgHBs, anti-HBc total i IgM anti-HBc, AgHBe, anti-HBe i anti-HBs (anticossos enfront l'AgHBe i l'AgHBs), i la detecció o quantificació d'ADN-VHB **(Figura 7)**. La interpretació conjunta dels diferents marcadors permeten identificar quin és l'estat serològic enfront al VHB[2]:

- **AgHBs:** és el primer marcador serològic que apareix després de la infecció pel VHB, amb un període finestra d'uns 38 dies (esdevé detectable entre la primera o segona setmana post-infecció i 11-12 setmanes després). La quantificació d'aquest marcador és una bona alternativa per monitoritzar la resposta al tractament. La persistència d'aquest marcador indica cronificació. En alguns casos, fora del període finestra, aquest marcador no es detecta, però si es detecta l'ADN del virus; aquests casos s'identifiquen com infecció oculta per VHB.

- **Anti-HBc total**: marcador constant d'infecció, apareix al voltant dels 3 mesos després de la infecció pel VHB. En pacients immunodeprimits, la detecció de l'anti-HBc pot indicar reactivació del virus. La detecció d'aquest marcador juntament amb l'anti-HBs indica infecció resolta.
- **IgM anti-HBc**: durant la infecció aguda es presenta alts nivells d'aquest marcador i es manté detectable durant els primers 6 mesos de la infecció. Serveix per diferenciar infecció aguda de crònica, tot i que durant la infecció crònica poden reaparèixer pics.
- **AgHBe**: la seva detecció indica replicació activa del virus. S'associa a alts nivells de virèmia i progressió de la malaltia hepàtica. És un marcador d'alta infectivitat.
- **Anti-HBe**: indica la resposta de l'hoste l'AgHBe, indicant una disminució de l'ADN-VHB i per tant, de la infectivitat. La detecció d'aquest marcador durant la fase aguda és indicatiu de recuperació. Tant l'AgHBe com l'anti-HBe poden coexistir durant el període de seroconversió que es pot produir espontàniament o com a resultat del tractament. Aquest marcador es troba present durant la fase de control immunitari i les fases d'escapament immunitari. Es tracta d'un anticòs no protector.
- **Anti-HBs**: anticòs neutralitzant que confereix protecció enfront a la infecció, ja sigui per la immunitat adquirida a través de la vacunació, com per infecció resolta. Juga un paper important en la monitorització de la resposta del sistema immunitari post-immunització. Al voltant del 10-15% dels pacients amb infecció pel VHB resolta no desenvolupen anticossos anti-HBs, sinó que presenten la presència aïllada de l'anti-HBc (en anglès anti-HBc *alone,* marcador de infecció prèvia). En alguns casos, aquest marcador es pot detectar al mateix temps que l'AgHBs, fet que no exclouria que hi hagués una infecció activa.
- **ADN-VHB**: marcador de replicació activa del virus i de progressió de la malaltia. S'usa per determinar la necessitat de tractament juntament amb els nivells de transaminases i del grau de fibrosi hepàtica, així com pel monitoratge del tractament. Davant una

infecció recent és el primer marcador que es pot detectar. També es detecta en aquells casos d'infecció oculta, on l'AgHBs no és detectable.

La interpretació conjunta dels diferents marcadors serològics pel VHB, permeten classificar els pacients en: infecció aguda, infecció crònica, infecció resolta, immunitzat per vacunació prèvia, susceptible (candidat a vacunació) o anti-HBc aïllat positiu (**Figura 8**). La següent figura resumeix quin són els marcadors serològics positius i negatius per a cada una de les classificacions, i les accions que se n'haurien de derivar[24] .

TABLE 1. Interpretation of screening test results for hepatitis B virus infection and recommended actions

Clinical state	HBsAg	Anti-HBs	Total anti-HBc*	IgM anti-HBc	Action†
Acute infection	Positive	Negative	Positive	Positive	Link to HBV infection care
Chronic infection	Positive	Negative	Positive	Negative§	Link to HBV infection care
Resolved infection	Negative	Positive	Positive	Negative	Counsel about HBV infection reactivation risk
Immune (immunity inferred from receipt of previous vaccination)	Negative	Positive¶	Negative	Negative	Reassure if history of HepB vaccine series completion; if partially vaccinated, complete vaccine series per ACIP recommendations
Susceptible, never infected	Negative	Negative**	Negative	Negative	Offer HepB vaccine per ACIP recommendations
Isolated core antibody positive††	Negative	Negative	Positive	Negative	Depends on cause of positive result

Abbreviations: ACIP = Advisory Committee on Immunization Practices; anti-HBs = antibody to hepatitis B surface antigen; HBcAg = hepatitis B core antigen; HBsAg = hepatitis B surface antigen; HBV = hepatitis B virus; HepB = hepatitis B; IgG = immunoglobulin G; IgM anti-HBc = immunoglobulin M antibodies to hepatitis B core antigen; total anti-HBc = total antibody to hepatitis B core antigen.

* Total anti-HBc is a measure of both IgM and IgG antibodies to HBcAg.

† **Source:** Abara WE, Qaseem A, Schillie S, et al. Hepatitis B vaccination, screening, and linkage to care: best practice advice from the American College of Physicians and the Centers for Disease Control and Prevention. Ann Intern Med 2017;167:794–804.

§ IgM anti-HBc also might be positive in persons with chronic infection during severe HBV infection flares or reactivation.

¶ Immune if anti-HBs concentration is ≥10 mIU/mL after vaccine series completion.

** Anti-HBs concentrations might wane over time among vaccine responders (**Source:** Schillie S, Vellozzi C, Reingold A, et al. Prevention of hepatitis B virus infection in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. MMWR Recomm Rep 2018;67[No. RR-1]:1–31).

†† Can be the result of a past infection when anti-HBs levels have waned, occult infection, passive transfer of anti-HBc to an infant born to an HBsAg-positive gestational parent, a false positive, or mutant HBsAg strain that is not detectable by laboratory assay.

Figura 8. Interpretació dels resultats de cribratge pel VHB i les accions recomanades. Font: CDC, 2023 [24].

1.2.5.1. Infecció aguda

La infecció aguda pel VHB en dos terceres parts dels pacients cursa asimptomàtica o de manera subclínica, molts cops no detectada. El terç restant desenvolupa símptomes clínics inespecífics (fatiga i nàusees), o símptomes més marcats (icterícia), molt rarament cursa insuficiència hepàtica[9].

El període d'incubació del virus varia entre 2 i 3 mesos a partir de l'exposició (amb un rang variable d'entre 1 a 6 mesos). Aquest període va seguit d'un període curt, preictèric, on es presenten símptomes com febre, cansament, anorèxia, nàusees, i dolors corporals inespecífics.

També es produeix un increment de l'alanina aminotransaminasa (ALT) i es detecten alts nivells d'AgHBs i d'ADN-VHB (la càrrega vírica varia entre 10^9 i 10^{10} en la majoria dels casos)[9,22]. Al final d'aquest període, apareix icterícia i orina fosca (colúria). Seguidament, es produeix el període ictèric (entre 1-2 setmanes) on els nivells d'AgHBs i d'ADN-VHB disminueixen, degut a la resposta immunitària de l'hoste[22], i la icterícia es resol[9].

El diagnòstic de la fase aguda es realitza a partir de la detecció de l'IgM anti-HBc en sèrum. Sovint, aquest serà l'únic marcador que es podrà detectar, ja que en molts casos es produeix un aclariment de l'AgHBs. L'avaluació dels nivells d'ADN-VHB pot ajudar a la valoració del pronòstic i la necessitat de tractament antivíric[9]. En infeccions agudes autolimitades, definides per la desaparició dels antígens vírics i l'aparició de l'anti-HBs, els nivells baixos d'ADN del virus poden persistir durant anys en el pacient. L'ADN detectat en aquests pacients no es sap del cert si es tracta del genoma sencer del VHB, o bé són virions; sí que s'ha demostrat que aquestes partícules d'ADN no són infectives, ja que es van inocular ximpanzés i no van desenvolupar la infecció[22].

Finalment, aproximadament, en l'1% dels pacients amb infecció aguda es desencadena una hepatitis fulminant, marcada per l'aparició sobtada de febre, dolor abdominal, vòmits i icterícia, seguit de desorientació, confusió i coma. Aquests pacients necessiten un monitoratge ràpid de la malaltia i en alguns casos trasplantament hepàtic. Amb l'aparició de la insuficiència hepàtica, els nivells d'AgHBs i d'ADN-VHB disminueixen ràpidament[9].

1.2.5.2. Infecció crònica

L'hepatitis crònica presenta un curs variable i dinàmic de la malaltia. S'estima que el 20% de les persones amb hepatitis crònica desenvoluparà cirrosi o carcinoma hepatocel·lular. A més, en el 50% dels casos amb hepatitis crònica severa i cirrosi, la taxa de supervivència és de 5 anys[9]. La variabilitat de la progressió de la malaltia depèn del virus (càrrega vírica i genotip) i de l'hoste (edat, gènere, genètica i del sistema immunitari)[9].

La infecció crònica pel VHB es caracteritza per una resposta immunitària adaptativa que en rars cops produeix l'eliminació del virus. Aquest fracàs pot ser degut, en part, a les propietats tolerogèniques del fetge, les quals són capaces de suprimir les respostes immunitàries antivíriques; i a una resposta de cèl·lules T específiques pel VHB alterada i anòmala, degut a la producció de nivells extremadament alts d'AgHBs i d'AgHBe, sobretot en la fase inicial de la infecció[14].

La majoria de pacients amb hepatitis crònica sense afectació hepàtica són asimptomàtics o presenten una clínica inespecífica. Mentre que els pacients amb una malaltia més avançada amb afectació hepàtica o cirrosi presenten símptomes com icterícia i anorèxia; finalment, pacients amb una cirrosi avançada poden presentar ascites, edema perifèric, encefalopatia i sagnats gastrointestinals. Els nivells d'ALT i AST sovint es troben elevats, però no es correlacionen amb la severitat de la malaltia. Durant la infecció primerenca, els nivells d'AgHBe, d'AgHBs i d'ADN-VHB es mantenen alts (càrrega vírica de 10^7 i 10^9)[22], amb elevacions lleus o moderades de les aminotransferases. Amb el temps, tot i els alts nivells d'AgHBe i d'ADN-VHB, la malaltia pot entrar en una fase 1 (antigament anomenada fase d'immunotolerància), en la qual la infecció es pot resoldre, o bé es pot perdre el marcador d'AgHBe i els nivells d'ADN-VHB decauen fins a nivells indetectables (fase 3, antigament anomenat estat de portador inactiu)[9]. Al llarg dels anys, amb la progressió de la malaltia crònica, el marcador d'AgHBe es tendeix a perdre i es desenvolupa l'anticòs (anti-HBe) (hepatitis crònica AgHBe negativa)[9]. La desaparició de l'AgHBe sovint va acompanyada d'un augment transitori de l'ALT i l'AST. Aquesta progressió ocorre en un 5-10% de les persones infectades crònicament cada any[22]. Els pacients AgHBe negatius tendeixen a presentar baixos nivells d'ADN (generalment inferiors a 2.000 UI/mL), nivells normals de les transaminases i un bon pronòstic de la malaltia[25]. Cal puntualitzar però, que diversos estudis en pacients AgHBe negatius del sud d'Europa i d'Àsia han reportat nivells elevats d'ALT en el 15-20% dels pacients[22].

El 2-5,5% dels pacients positius a l'AgHBe progressen a cirrosi, i a més presenten un risc més elevat (de fins a 100 vegades superior) de patir hepatocarcinoma, en comparació amb els pacients AgHBe negatius[22].

Finalment, la infecció del VHB pot cursar de forma oculta o latent, poden ser: pacients AgHBs negatius, o bé negatius a tots els marcadors serològics o bé positius a anti-HBc i/o anti-HBs, i que la majoria presenten nivells d'ADN-VHB detectable[16].

En resum, la infecció pel VHB crònica es pot classificar en diferents fases segons les guies de l'EASL (**Figura 9**)[26]:

- **Fase 1:** infecció crònica pel VHB AgHBe positiva, caracteritzada per la presència d'AgHBe en sèrum, alts nivells d'ADN-VHB i nivells d'ALT normals. En el fetge no hi ha necroinflamació o fibrosis, o si n'hi ha és minsa, però sí que hi ha un alt nivell d'integració del virus. Aquesta fase es dona sobretot en pacients infectats en l'etapa perinatal. La probabilitat de pèrdua espontània d'AgHBe és molt baixa. Els pacients que es troben en aquesta fase són altament infecciosos degut als alts nivells d'ADN-VHB. Antigament aquesta fase s'anomenava fase immunotolerant.
- **Fase 2:** hepatitis B VHB crònica AgHBe positiva, caracteritzada per la presència d'AgHBe en sèrum, alts nivells d'ADN-VHB i elevació d'ALT. En el fetge hi ha necroinflamació moderada o severa, i progressió de la fibrosi. Aquesta fase ocorre després de molts anys de la fase 1, i és més freqüent i ràpidament assolida en persones infectades en l'edat adulta. La majoria dels pacients progressaran cap a la supressió de l'ADN-VHB i la seroconversió enfront l'AgHBe, entrant en la fase de infecció crònica pel VHB (AgHBe negativa). Aquells que no entrin en aquesta fase, entraran en la fase 4 (hepatitis B crònica AgHBe negatiu). Antigament aquesta fase s'anomenava fase d'aclariment immunitari.

- **Fase 3:** infecció crònica VHB AgHBe negativa, caracteritzada per la presència d'anti-HBe, nivells indetectables o baixos d'ADN-VHB (<2.000 UI/mL) i nivells normals d'ALT. Alguns pacients, en canvi, en aquesta fase poden presentar nivells d'ADN-VHB superiors a 2.000 UI/mL (fins a càrregues víriques de 20.000 UI/mL) amb nivells normals d'ALT i nivells baixos de necroinflamació i de fibrosis en el fetge. Els pacients en aquesta fase tenen baixa probabilitat de progressar a cirrosi o carcinoma hepàtic, però poden progressar a hepatitis B crònica (sobretot els AgHBe negatius). La pèrdua i/o seroconversió de l'AgHBs pot produir-se espontàniament entre l'1% i el 3% dels casos a l'any. Típicament, aquests pacients solen tenir nivells baixos d'AgHBs en sèrum (<1.000 UI/mL). Antigament, aquests pacients s'anomenaven portadors inactius.
- **Fase 4:** hepatitis B VHB crònica AgHBe negatiu, caracteritzada per l'absència d'AgHBe i la presència d'anti-HBe en sèrum, i nivells persistents o fluctuants d'ADN-VHB (moderats o alts), al igual que ocorre amb els nivells d'ALT (poden ser fluctuants o persistentment alts). El fetge presenta necroinflamació i fibrosi. La majoria d'aquests pacients presenten variants del VHB en les regions *precore* i/o del promotor del *core* que perjudiquen o anul·len l'expressió de l'AgHBe. Aquesta fase s'associa a baixes taxes de remissió espontània de la malaltia. Antigament s'anomenava fase de reactivació.
- **Fase 5:** infecció per VHB resolta, caracteritzada per la no detecció de l'AgHBs i la detecció d'anti-HBc en sèrum, amb o sense detecció d'anti-HBs. Aquesta fase també s'anomena infecció oculta pel VHB. En rars casos, l'absència de l'AgHBs podria estar relacionada amb la sensibilitat de l'assaig usat per a la seva detecció. Els pacients en aquesta fase presenten nivells normals d'ALT, i càrrega vírica indetectable o molt baixa (<10 UI/mL). Però, l'ADNccc pot detectar-se en el fetge. La pèrdua de l'AgHBs abans de l'aparició de la cirrosi s'associa a un risc mínim de patir cirrosis, descompensació hepàtica, i carcinoma hepàtic. En canvi, si la cirrosis s'ha desenvolupat abans de la pèrdua de l'AgHBs, els pacients segueixen presentant risc de patir carcinoma hepàtic, pel que cal

seguir realitzant un seguiment d'aquests pacients. Els pacients immunodeprimits poden patir una reactivació del virus, ja que l'ADNccc encara pot estar present en el fetge. Antigament s'anomenava immunitat natural pel virus.

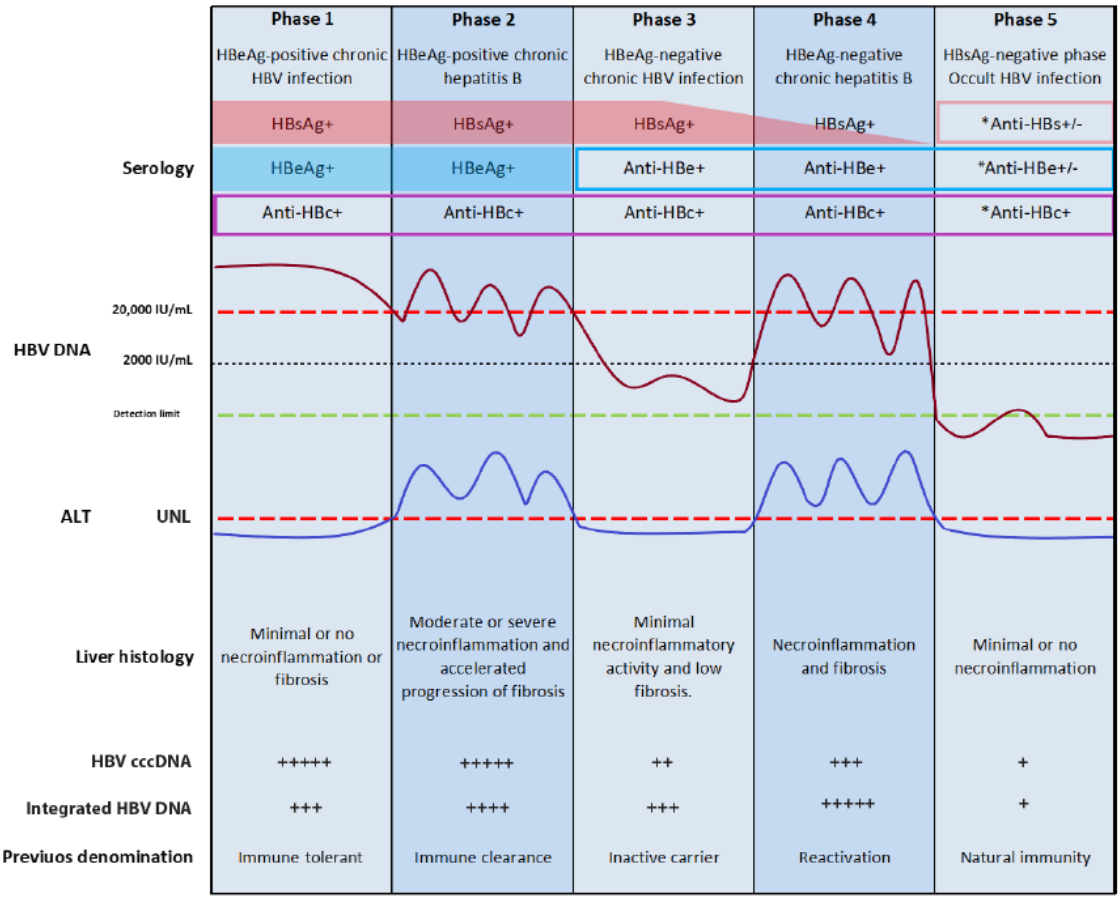


Figura 9. Classificació de la infecció crònica pel VHB dividida en cinc fases clíniques o virològiques d'acord amb les guies de l'EASL. Font: Pollicino T, 2021 [14].

El diagnòstic de la infecció pel VHB requereix de l'avaluació de la història clínica completa, exàmens físics, avaluació de la malaltia hepàtica i detecció dels marcadors de la infecció esmentats anteriorment.

1.2.6. Diagnòstic serològic i virològic

Les proves que es realitzen en el laboratori per al diagnòstic del VHB es poden classificar: proves serològiques per a la detecció dels marcadors clàssics i les proves moleculars per a la detecció de l'ADN-VHB.

La millora en les proves serològiques dels últims anys han permès la quantificació de l'AgHBs, així com la millora en la sensibilitat i especificitat de les tècniques emprades i la seva automatització. La detecció de l'AgHBs es pot dur a terme de forma qualitativa, la més utilitzada en la pràctica clínica, o bé de forma quantitativa, permetent la predicció de la resposta al tractament, monitorització de la progressió de la malaltia i la identificació dels portadors inactius. Les proves serològiques comercials per la detecció de l'AgHBs es basen en la detecció de l'epítop de la proteïna S, però no de la pre-S1 i de la pre-S2. Pel que fa a la detecció de l'anti-HBs, les proves comercials actuals detecten principalment els subtipus anti-ad i anti-ay (aquests són els subtipus clàssics de l'AgHBs i predominants a Europa, Nord-Amèrica, Àfrica, Sud-est asiàtic, Xina, Japó, Orient Mitjà, Índia i Sud-Amèrica[16]. Finalment, per a la detecció de l'AgHBc, les tècniques actuals requereixen d'un tractament previ per eliminar l'AgHBs, ja que sinó no es detectat.

A excepció de l'antigen del *core*, la resta de marcadors serològics del VHB mencionats anteriorment es poden detectar mitjançant assajos comercials. Els principals assajos usats són d'Abbott (immunoassaig (CLIA) Architect), Siemens (format ELISA per BEP III i BEP 2000 Advance i format CLIA per Advia Centaur XP), DiaSorin-Murex (ELISA i immunoassaig (CLIA), Liaison®), BioRad (format ELISA, Monolisa TM), Ortho (CLIA, Vitros Eci Immunodiagnostics System), BioMérieux (ELISA en format monotest, VIDAS) i Roche (CLIA, Elecsys®)[27].

Actualment, també existeixen en el mercat multitud de proves ràpides, la majoria basades en immunocromatografia per a detectar l'AgHBs en sèrum, plasma, sang total o capil·lar, amb una elevada especificitat i sensibilitat, però menor a la que donen els immunoassajos enzimàtics, de fluorescència o de quimioluminescència usats en el laboratori. Un exemple és el Determine HBsAg 2 (Abbott) amb una elevada sensibilitat analítica (0,1 UI/mL) i una especificitat del 99,6%. Els resultats s'obtenen al cap de 15 min, i es pot realitzar a partir de mostra de sèrum, plasma,

sang total obtinguda per punció dactilar, o sang total obtinguda per venipunció. A més, compta amb el marcatge CE i compleix els requeriments de l'OMS[28].

Pel que fa a la càrrega vírica del VHB es pot determinar mitjançant tècniques de PCR a temps real, PCR digital, amplificació isotèrmica mitjançada per bucle (LAMP), amplificació mitjançada per transcripció (TMA), amplificació basada en seqüències d'àcids nucleics (NASBA), entre altres[2,11,29]. Tot i la gran quantitat de tècniques disponibles per a la detecció de la virèmia, la més utilitzada en la pràctica clínica dels laboratoris de microbiologia és la PCR a temps real. Les guies de l'EASL recomanen que el límit de detecció d'aquesta tècnica sigui de 10 UI/mL, ja que la monitorització de la càrrega vírica és clau per a poder avaluar la necessitat de tractament antivíric, així com la monitorització de la resposta al tractament i la progressió de la malaltia[26,30]. Els principals assajos comercials basats en PCR a temps real per a la quantificació del VHB en sèrum o plasma són: Versant HBV DNA 1.0 Assay (Siemens Medical Solutions Diagnostics) amb límit inferior de detecció (LOD) de 64 UI/mL, Cobas Ampliprep /Cobas TaqMan HBV v2.0 (Roche Diagnostics) amb LOD de 20 UI/mL, Abbott RealTime HBV (Abbott Molecular) i Artus HBV QS-RGD Kit (QIAGEN Diagnostics) ambdós amb un LOD de 10 UI/mL, també hi ha altres assajos comercials com VERIS MDx HBV (Beckman Coulter), HBV Cobas 6.800/8.800 (Roche) o Xpert HBV (Cepheid)[27]. Finalment també hi ha comercialitzat APTIMA HBV Quantitative Assay (Gen-Probe) basat en tecnologia TMA amb un LOD en plasma de 4,8 UI/mL.

1.2.7. Tractament

El tractament del VHB es basa en aconseguir una cura funcional, això vol dir que el virus no s'elimina completament del pacient, sinó que s'intenta aconseguir l'eliminació del marcador l'AgHBs, així com aconseguir nivells indetectables d'ADN-VHB de forma sostinguda en el temps, impedint que la malaltia hepàtica progressi. Avui dia, al no existir una curació pel VHB, és molt important la vacunació en tots els grups d'edat, però sobretot en edats primerenques i en grups de risc, ja que és la forma de prevenció més eficaç de la malaltia. Recentment, l'OMS ha tret

unes noves guies on recomana tractar: i) totes aquelles persones amb fibrosi, independentment dels nivells d'ADN-VHB (ja que en molts països de renta baixa i mitja, la determinació de l'ADN-VHB és una barrera, degut a l'alt cost de la prova) i d'ALT; ii) a les persones amb càrrega vírica superior a 2.000 UI/mL i nivells elevats d'ALT; iii) a les persones que presenten co-infecció amb el VIH, VHD o VHC; i també a aquells pacients amb història familiar de càncer hepàtic o fibrosi, immunodeprimits, amb comorbiditats (diabetis, esteatosi hepàtica, entre altres) i manifestacions extrahepàtiques, independentment dels nivells d'ADN-VHB i d'ALT; i iv) tractar a tots els pacients amb hepatocarcinoma cel·lular amb nivells d'ALT anormals[31]. Aquestes modificacions augmentaran el número de pacients positius a AgHBs candidats a tractament, passant d'actualment el 8-15% dels pacients eren candidats a tractar fins al 50% amb les noves recomanacions. A més, permetrà disminuir la transmissió del virus.

Els agents antivírics més utilitzats en monoteràpia actualment pel control de la infecció són el Tenofovir disoproxil fumarat (TDF), Tenofovir alafenamida (TNF) i l'Entecavir. Ambdós són tractament basats en anàlegs de nucleòsids/nucleòtids, que actuen eficaçment suprimint la replicació del virus i tenen una elevada barrera a les resistències, per tant, impedeixen el progrés de la malaltia hepàtica cap a cirrosi, i en conseqüència, redueixen el risc de càncer hepàtic i les morts degudes a la malaltia hepàtica[2]. La duració del tractament en molts casos és llarga, però la possibilitat de desenvolupar resistència als antivírics és baixa.

Actualment, s'estan realitzant investigacions per a poder aconseguir un tractament que aconsegueixi la curació del virus. Aquests tractaments es basen en eliminar totes les formes replicatives del virus, incloent l'ADNccc. Les investigacions actuals més avançades en aquest camp es basen en inhibidors de l'entrada del virus, ARN d'interferència i agents inhibidors d'assemblatge de l'AgHBs, que actuen com a immunomoduladors i moduladors de l'assemblatge del virus[31].

1.2.8. Vacunació

Les primeres vacunes enfront al VHB, derivades del plasma humà, es van comercialitzar l'any 1982, però van ser substituïdes l'any 1986 per les vacunes genèticament modificades desenvolupades a partir d'AgHBs recombinant. Les vacunes actuals disponibles estan preparades amb l'AgHBs del VHB obtingut mitjançant tècniques de recombinació genètica a partir del llevat comú (*Saccharomyces cerevisiae*), que expressa de manera recombinant l'AgHBs, i no contenen material genètic del VHB. Hi ha vàries vacunes comercials disponibles[32]. Les vacunes recombinants enfront el VHB són molt immunogèniques, tot i que alguns factors com l'edat avançada, el tabaquisme, factors genètics o malalties cròniques poden donar menors taxes de resposta

Globalment, l'any 2022 es va estimar que el 45% dels infants havien rebut la primera dosi de la vacuna enfront al VHB durant les primeres 24 hores, però varia geogràficament: la regió africana el 18% dels nounats són vacunats enfront al VHB, mentre que la regió del Pacífic Oest ho són el 80%. La cobertura vacunal mundial en nens amb les tres dosis enfront al VHB s'estima que és del 84%[31]. Actualment, gairebé tots els països han inclòs la vacunació enfront el VHB en el calendari vacunal(**Figura 10**).

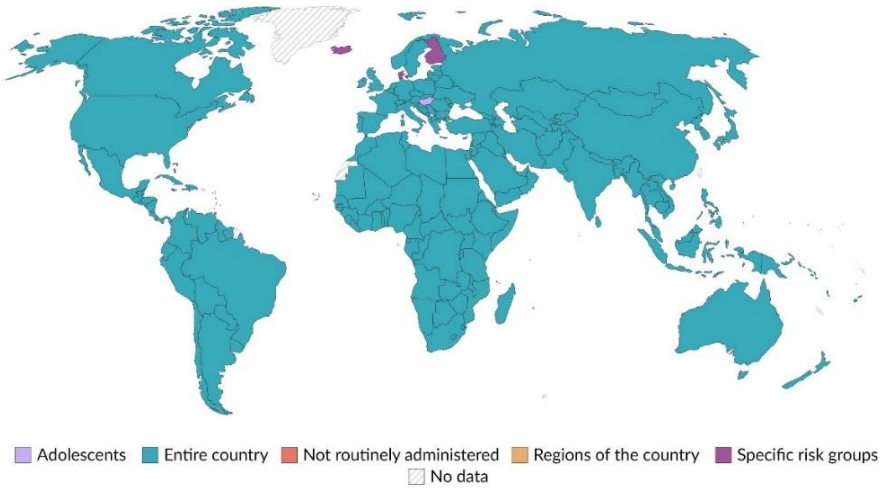


Figura 10. Països que inclouen la vacuna enfront el VHB en el calendari vacunal. Font: WHO i UNICEF, 2021[33].

La vacunació enfront el VHB a Espanya va començar l'any 1984 en grups de risc i nounats de mares AgHBs positives amb la vacuna formulada a partir del plasma. Amb l'arribada de les noves vacunes recombinants, l'any 1996 es va introduir en el Calendari de Vacunació Recomanat a Espanya la vacunació a tots els joves d'entre 10 i 14 anys[34]. Aquesta vacunació, però, es va implementar en diferents moments a les diferents comunitats autònomes; a Catalunya es va introduir l'any 1991.

Actualment, la vacunació sistemàtica s'aplica als 2, 4 i 11 mesos d'edat, juntament amb la vacuna combinada hexavalent. A més, es realitza una vacunació selectiva a les persones que presenten més riscos de ser infectades pel VHB o de patir complicacions per aquesta infecció, com són: persones treballadores del sexe, HSH, usuaris de drogues per via parenteral i no parenteral, persones amb múltiples parelles, entre d'altres[32]. A Espanya, la cobertura de vacunació entre els nadons en el primer any de vida és de més del 95%[34].

1.3. L'hepatitis C

1.3.1. Descobriment i origen del virus

L'origen del VHC segons noves evidències científiques es remunta a fa 450.000 anys[35]. L'existència d'un nou tipus d'hepatitis ja va ser sospitada l'any 1969 quan va ser anomenada hepatitis associada a transfusió, degut a que es van produir molts casos d'icterícia desconeguda (no causada pel virus de l'hepatitis A ni el de la B) en pacients que havien rebut una transfusió de sang[36]. L'any 1974 ja va ser anomenada com a hepatitis C[37].

Però, no va ser fins el 1989 que es va descobrir el virus que la causava; Harvey J. Alter, Michael Houghton i Charles M. Rice van fer descobriments fonamentals que van portar a la identificació d'un nou virus, el VHC. Harvey Alter estudiava l'aparició de l'hepatitis en pacients que havien rebut una transfusió de sang. Tot i que el VHB s'havia descobert recentment i el número de casos d'hepatitis relacionada amb les transfusions va disminuir, encara hi havia un número preocupant

de casos. També per aquella època es van desenvolupar proves per a la detecció del virus de l'hepatitis A, podent-se descartar que els casos fossin degut a aquest virus. Alter va demostrar que la sang d'aquests pacients podia transmetre la malaltia a ximpanzés. Estudis posteriors van demostrar que l'agent infecciós tenia característiques de virus. Alter gràcies a les seves investigacions va descobrir una forma nova d'hepatitis vírica crònica, coneguda com a hepatitis "no-A, no-B". Michael Houghton, després de fer servir totes les tècniques disponibles de l'època (com ara, microscòpia electrònica, cultius cel·lulars i ELISA, entre altres) per a la identificació de l'agent causal de l'hepatitis no-A no-B sense obtenir resultats, va desenvolupar una nova estratègia basada en la combinació de mètodes de biologia molecular (clonatge i seqüenciació) i d'estudi de transmissió en animals, que li va permetre crear una col·lecció de fragments d'ADN a partir dels àcids nucleics trobats en la sang del ximpanzé infectat. La majoria dels fragments provenien del propi genoma del ximpanzé però, van predir que alguns dels fragments trobats serien del virus. Per això, van utilitzar els anticossos dels pacients amb hepatitis per a identificar quins dels fragments clonats corresponien a l'ADNc víric que codificava per les proteïnes víriques. Després d'una recerca exhaustiva van trobar un clon d'origen víric. Treballs posteriors van demostrar que aquest clon es derivava d'un nou virus d'ARN pertanyent a la família *Flaviviridae* i es va anomenar virus de l'hepatitis C. Charles Rice, finalment, va observar una regió del genoma del virus no caracteritzada, la qual van sospitar que seria important per la replicació del virus. Mitjançant enginyeria genètica, va generar una variant de l'ARN-VHC, que va injectar en el fetge del ximpanzé, el qual va produir canvis patològics similars al dels humans amb la malaltia crònica. Aquesta va ser la prova definitiva de que el VHC podia causar hepatitis[38]. El descobriment del VHC va ser guardonat recentment, l'any 2020, amb el premi Nobel de Medicina[39]. Aquest gran descobriment va fer possible desenvolupar assaigs diagnòstics per poder detectar el VHC en sang per evitar la seva transmissió, i el desenvolupament dels nous antivírics específicament dissenyats enfront el VHC (antivírics d'acció directa, AAD), que han salvat milions de vides.

La història del VHC és única, ja que, tot i que el seu descobriment es va produir no fa gaires anys, ja existeix una estratègia d'eliminació. En resum, el descobriment del VHC ha estat un procés de 39 anys d'investigacions, des del moment en el qual es va anomenar com a virus de l'hepatitis no-A no-B, 14 anys més fins a descobrir l'estructura i caracterització del virus, i 25 anys des del descobriment el 1989 fins a l'aprovació del primer AAD que esdevindria el principal fàrmac dels règims combinats lliures d'interferó (Sofosbuvir, inhibidor de la polimerasa) l'any 2013[36]. La caracterització de l'estructura del virus i del seu cicle de replicació va ser complicada degut a la dificultat de la realització de models *in vivo*[40,41], i especialment *in vitro*[42,43], necessaris per al desenvolupament dels AAD. Actualment, la investigació en el VHC continua per a poder desenvolupar una vacuna[44].

1.3.2. Classificació taxonòmica, estructura i organització genòmica del virus

El VHC és un virus ARN del gènere *Hepacivirus*, de la família *Flaviviridae*. Es tracta d'un virus petit embolcallat d'uns 50 nm de diàmetre. Els primers anàlisis de microscòpia electrònica van mostrar unes partícules d'entre 33-70 nm de mida presents en mostres de sèrum i fetge dels pacients[45]. En estudis posteriors, gràcies al cultiu cel·lular del VHC, es van visualitzar dos tipus de partícules víriques, les nucleocàpsides de 30-35 nm de diàmetre i els virions infecciosos (embolcallats) d'entre 50-60 nm[46]. A més, estudis han suggerit que el VHC presenta una estructura pleomòrfica, amb una capa lipídica i una nucleocàpsida. La capa lipídica conté les glucoproteïnes E1 i E2, implicades en l'entrada del virus a l'hepatòcit i diana dels anticossos neutralitzants produïts per l'hoste; i la nucleocàpsida està composta per múltiples còpies de la proteïna Core que rodeja el material genètic i es troba per sota de la capa lipídica [46].

El genoma del VHC està format per una única molècula d'ARN lineal de cadena simple, de polaritat positiva i d'aproximadament unes 9,5 quilobases[47], amb un marc de lectura obert d'uns 9.000 nucleòtids de longitud, flanquejat per dues regions no traduïdes altament conservades als extrems 5' (5' *unstranslated region*, UTR) i 3' (3' *untranslated region*, UTR)[48]. A la regió 5'UTR es

troba una regió de 341 nucleòtids altament conservada que actua com a lloc d'entrada al ribosoma (*internal ribosome entry site*, IRES), i permet la unió directa amb la subunitat ribosòmica 40S per a iniciar la síntesi proteica. L'extrem 3'UTR consta d'aproximadament 225 nucleòtids i està dividida en 3 parts, una primera d'uns 30-40 nucleòtids, una cua de poli-U/UC i una seqüència terminal de 98 nucleòtids, essencials per a la replicació del virus[49].

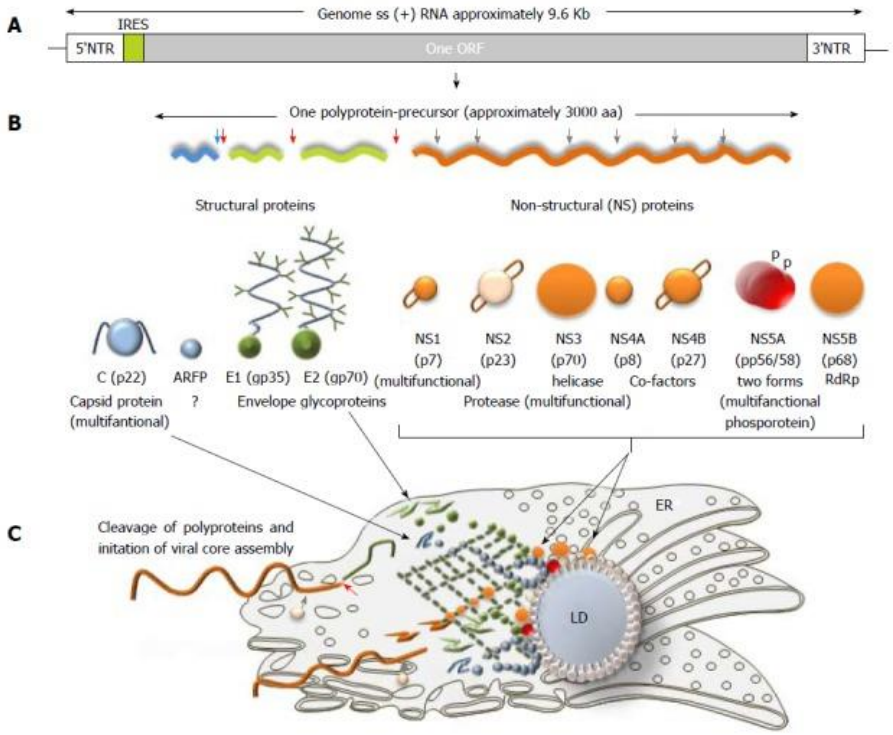


Figura 11. Genoma del virus de l'hepatitis C i proteïnes derivades. Font: Morozov V et al., World Journal of Hepatology, 2018 [50].

La traducció del marc obert de lectura dona lloc a una poliproteïna d'uns 3.000 aminoàcids, la qual després del processament dut a terme per proteases víriques i cel·lulars resulta en tres proteïnes estructurals (Core, E1 i E2) i set no estructurals (p7, NS2, NS3, NS4B, NS4B, NS5A, NS5B) implicades en el processament víric, la replicació i l'assemblatge del virus[49] (**Figura 11**). La proteïna p7 és un polipèptid hidròfob que funciona com a canal iònic i està implicat en la producció de partícules infeccioses *in vivo*. La NS2 està implicada en processos d'assemblatge, formació de l'embolcall, maduració i alliberació del virus. La proteïna NS3 és una proteïna multifuncional amb activitat serin-proteasa, tant en proteïnes víriques com de l'hoste, i està implicada en l'evasió del sistema immunitari innat. El cofactor de la serin-proteasa NS3A és la

NS4A. La NS4B intervé en la formació del complex de replicació del virus, en l'assemblatge del virus i en la modulació del sistema immunitari de l'hoste. La NS5A està involucrada en la replicació del virus, la formació de virions, la modulació de les vies de senyalització cel·lular, la propagació del virus i la resposta a l'interferó alfa (IFN-α). Finalment, la proteïna NS5B codifica per la ARN polimerasa – ARN dependent vírica[49].

El VHC, com altres virus ARN, està sotmesa a un conjunt de processos dinàmics que determinaran la seva diversitat genètica. L'elevada taxa de substitució nucleotídica al llarg del genoma (s'estima que és al voltant de 1,5-2,5 x 10^{-3} substitucions per posició nucleotídica i any)[49] es deu principalment a la falta d'activitat reparadora d'errors de l'enzim ARN polimerasa – ARN dependent i a l'elevada taxa de replicació del virus (producció diària de 10^{10} – 10^{12} virions). Un altre factor rellevant, tot i que menys freqüent, és la recombinació genètica que pot tenir lloc durant l'elongació de l'ARN en la replicació[51]. A nivell individual (diversitat intra-hoste), el virus presenta una distribució en quasiespècies, terme que fa referència al conjunt de variants víriques estretament relacionades entre elles (>98% d'homologia a nivell de seqüència genòmica) que circula en cada individu infectat.

Comparant els aïllats que circulen a nivell global, el VHC es pot classificar filogenèticament en 8 genotips i fins a 93 subtipus denominats amb una lletra[52]. A nivell global, els genotips majoritaris són el genotip 1 (44% del total de les infeccions), seguit del genotip 3 (36%) i del genotip 4 (15%). El genotip 1 es troba majoritàriament en països d'Europa, Amèrica, Àsia, i nord d'Àfrica; el genotip 3 en països d'Àsia i Austràlia; i el genotip 4 en el centre i est de l'Àfrica Subsahariana. El genotip 5 està més present en països del sud d'Àfrica i el genotip 6 al sud-est asiàtic[53]. Finalment, els genotips 7 i 8 identificats més recentment, s'han detectat en persones procedents de República Democràtica del Congo[54] i de la regió de Punjab, l'Índia[55], respectivament (**Figura 12**).

El genotipat del VHC té rellevància a nivell epidemiològic, ja que certs genotips i subtipus s'associen a diferents vies de transmissió. A nivell espanyol, un estudi realitzat entre el 2000 i

2015 va observar un predomini dels genotips 1a i 1b, seguit del 3 i 4. Els genotips 1a i 3 s'han identificat principalment en PQID, mentre que el genotip 1b s'ha associat a l'exposició nosocomial (transfusions i diàlisi) en pacients nascuts abans de 1945 i que van rebre transfusions de sang abans del 1992, quan es va començar a cribrar pel VHC[56].

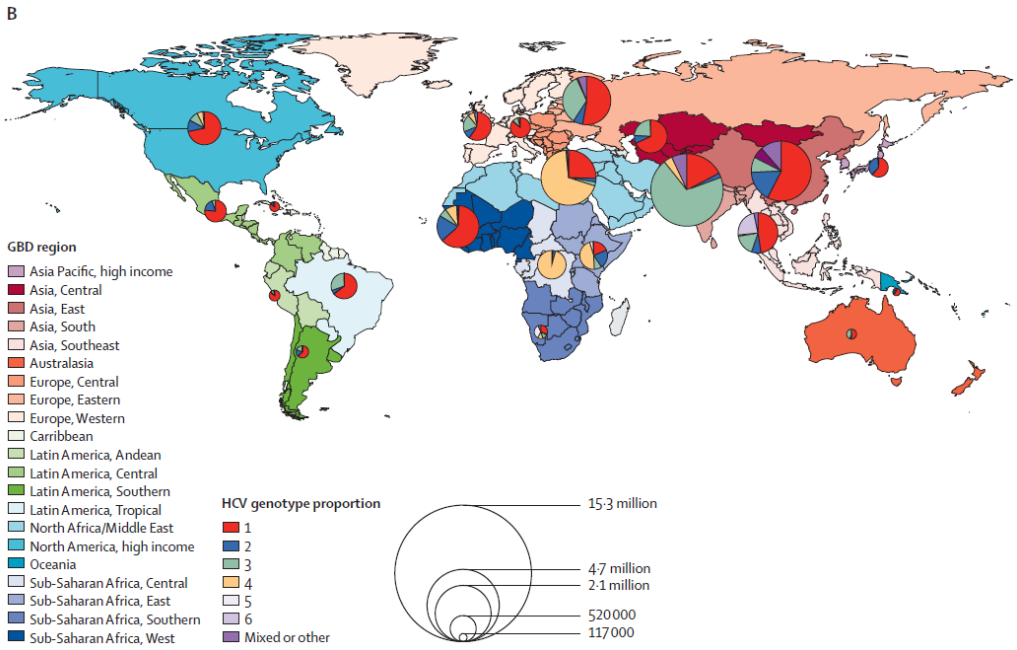


Figura 12. Distribució global dels genotips del virus de l'hepatitis C. Font: The Polaris Observatory, The Lancet, 2015 [53].

A Espanya, l'estudi de la prevalença de la infecció pel VHC en la població general a Espanya entre el 2017 i 2018 va reportar que el genotip més freqüent és l'1b (41,18%), seguit de l'1a (23,53%), el 3a (11,76%), i en menor proporció pel 2c i el 4a[57].

1.3.3. Vies de transmissió

El VHC es transmet principalment per via parenteral. El principal factor de risc de transmissió del virus en països de renta baixa i mitja són les pràctiques mèdiques no segures, mentre que en països de renta alta, és l'ús de drogues per via injectada[1].

En països del Sud-est Asiàtic i del Mediterrani Oriental, les pràctiques mèdiques no segures són la principal via de transmissió del VHC, s'estima que el 14% del material injectable usat en les

pràctiques clíniques no és esterilitzat, (**Figura 13**). Les transfusions de sang no segures encara avui en dia són causants de noves infeccions pel VHC en aquests països, tot i que, en els últims anys ha disminuït gràcies al cribratge de la sang del donant[1]. També, persones en hemodiàlisi, trastorns hemorràgics hereditaris i professional sanitaris, presenten un major risc d'adquirir la infecció[58].

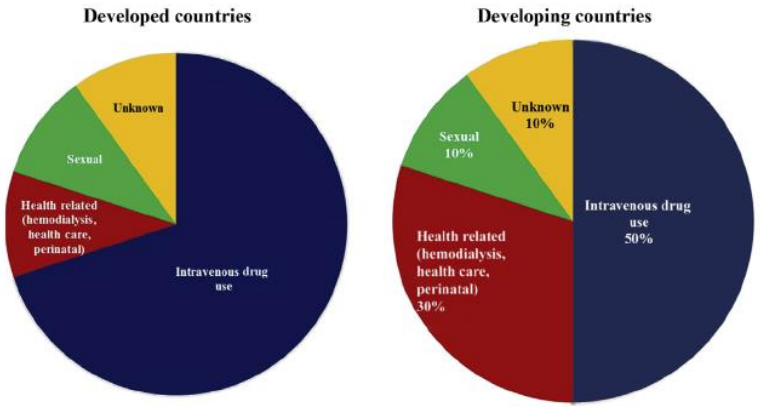


Figura 13. Vies de transmissió del virus de l'hepatitis C. Font: Kamal S et al., Elsevier, 2018 [59].

En països de renta alta, les PQID constitueixen el nucli de l'epidèmia del VHC (**Figura 13**). Globalment, s'estima que 5,8 milions de PQID viuen amb el VHC[60]. A Europa es calcula que al voltant del 44% de les noves infeccions es donen en PQID[61].

La transmissió per via sexual, poc freqüent en parelles heterosexuals o HSH VIH negatius, ha augmentat en el col·lectiu d'HSH VIH positius des de finals dels anys 90. L'augment de les infeccions del VHC en aquest col·lectiu ha aparegut degut a l'augment de les conductes sexuals de risc i de les infeccions de transmissió sexual (ITS), arrel de la disminució de la por a l'adquisició del VIH amb la incorporació dels nous tractaments antiretrovirals d'alta efectivitat i del tractament de profilaxi pre-exposició al VIH (PrEP). El sexe anal sense protecció, la presència de lesions ulceratives causades per les ITS, l'ús de joguines sexuals, traumes durant l'acte sexual o l'ús de drogues en el pràctica sexual (Chemsex) s'han associat a una major probabilitat de contraure el virus[62].

Finalment, la transmissió vertical es dona en el 5-15% dels casos, presentant major risc les dones amb co-infecció amb el VIH o amb càrregues víriques elevades[63,64].

A Europa, la transmissió del VHC es produeix principalment pel consum de drogues per via injectada. El percentatge atribuïble a aquesta ruta de transmissió és del 61% dels casos amb infecció aguda i del 70% en casos crònics. La segona ruta de transmissió més comuna d'infecció aguda es dona en HSH (13%) (**Figura 14**)[65].

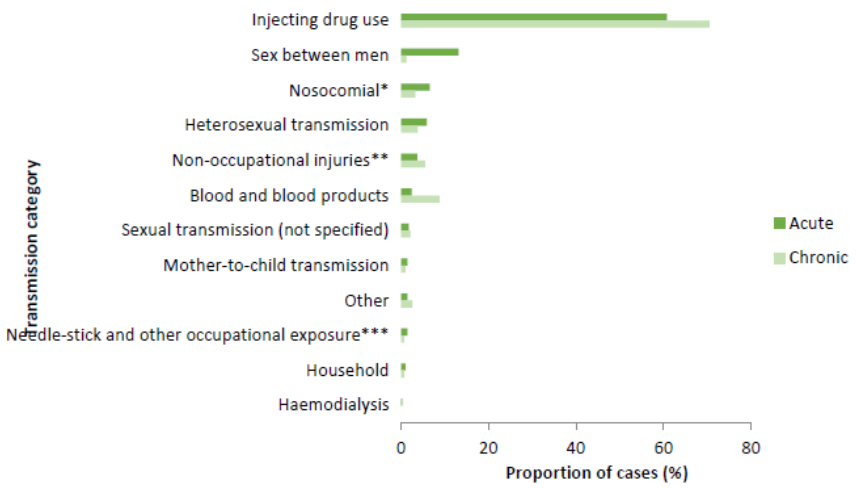


Figura 14. Vies de transmissió del virus de l'hepatitis C a Europa. Font: ECDC, 2021 [65].

A Espanya i Catalunya, les principals vies de transmissió són dues, per injecció de drogues o per via sexual. La transmissió del VHC es va produir sobretot durant la dècada dels anys 80 per l'ús de material d'injecció compartit. Tot i que al llarg dels anys 90 el consum de drogues per via injectada va disminuir, aquesta segueix essent una de les principals vies de transmissió de la infecció. També s'ha vist que compartir material de drogues esnifades comporta un major risc de contraure el VHC. Pel que fa a l'altra via de transmissió, la sexual, és degut sobretot a les pràctiques de risc sexuals que es duen a terme sobretot entre el col·lectiu d'HSH, com ara el Chemsex, "*slamming*" o el "*fisting*". També, estar infectat amb el VIH, o estar infectat o haver passat una ITS són factors de risc enfront al VHC[66].

1.3.4. Prevalença i distribució de la infecció

L'últim report de l'OMS estima que l'any 2022 50 milions de persones estan infectades pel VHC, de les quals 1 milió són noves infeccions (**Figura 15**). A més, s'estima que el 36% de les persones infectades han estat diagnosticades, i el 20% de les diagnosticades han començat tractament (12,5 milions de persones)[3]. En global, s'estima que el 36% de les persones infectades pel VHC són coneixedores del seu estat i el 20% ha rebut tractament antivíric[3].

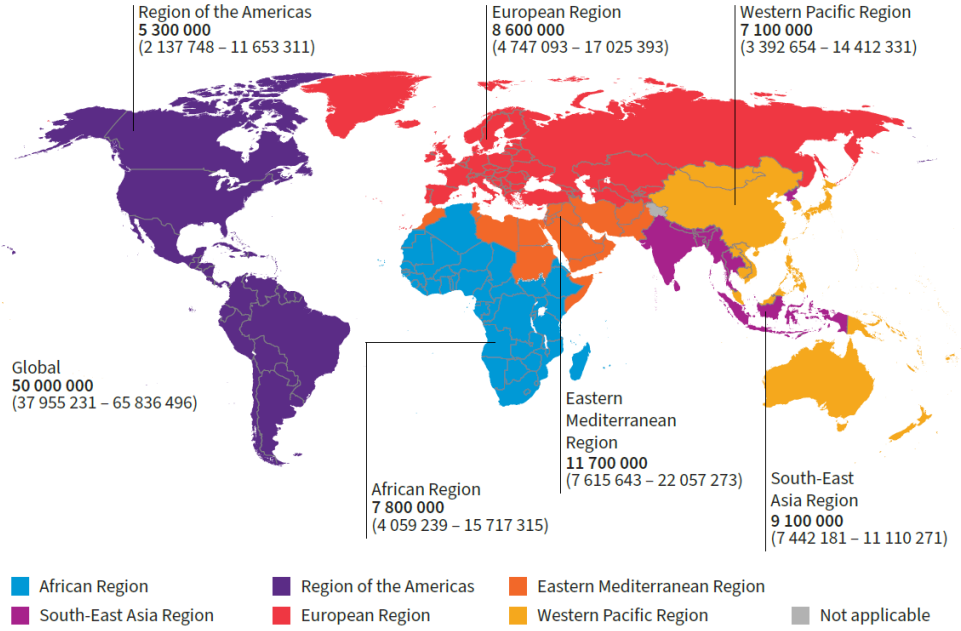


Figura 15. Prevalença global de la infecció crònica pel l virus de l'hepatitis C l'any 2022. Font: WHO, 2024 [3].

A nivell europeu, la prevalença d'infecció és menor, s'estima que al voltant de 1,8 milions (0,5%) de persones presenten infecció crònica pel VHC[67]. D'acord amb la memòria epidemiològica anual elaborada l'any 2022 per l'ECDC, es van notificar 23.273 casos de VHC, que correspon a 6,2 casos per 100.000 persones[67], el 6% van ser infeccions agudes, 34% cròniques i el 57% no es van poder classificar. La seroprevalença estimada en població general varia segons el país, des del 0,04% al 2,26%[67].

A Espanya, l'últim estudi de vigilància epidemiològica l'any 2020, va determinar una seroprevalença del 0,85% i una prevalença d'infecció activa de 0,22%. Es van notificar 819 nous

diagnòstics per VHC (taxa d'incidència de 2,36 casos per 100.000 habitants). Del total de casos diagnosticats, 64 (7,8%) corresponien a infeccions agudes, mentre que 461 (56,3%) es tractaven d'infeccions cròniques, els casos restants, 294 (35,9%), no van ser classificats per falta de informació (classificant-los dins de la infecció no aguda)[68]. La proporció de persones infectades pel VHC és superior en homes respecte a les dones tant en els casos aguts com no aguts (67,2% en els casos aguts i 63,3% en els casos no aguts són homes); les infeccions agudes es van donar entre població més jove (mitjana d'edat de 47 anys), mentre que les cròniques en població més gran (mitjana d'edat de 54 anys). En el cas dels casos d'infecció crònica, el 6,1% eren importats, majoritàriament d'Europa Occidental (41,3%), seguit d'Europa Central (19,6%) i Europa de l'Est (17,4%)[68].

A Catalunya, unes 65.000 persones presenten anticossos positius per VHC, poc més del 1% de la població major de 19 anys; d'aquestes la meitat (0,49%) són virèmics, segons el Departament de Salut l'any 2022. S'estima que el 20% de persones infectades pel VHC desconeix el seu estat enfront al VHC[69].

1.3.5. Història natural de la infecció i la malaltia

La infecció pel VHC pot causar una hepatitis aguda que pot ser resolta espontàniament, o tractada i curada, o bé pot progressar cap a hepatitis crònica, cirrosi i carcinoma hepatocel·lular. La infecció aguda definida com la infecció produïda per un contacte recent, en la majoria dels casos cursa asimptomàtica. Durant els primers 6 mesos després de la infecció, el 15-45% dels casos resolen espontàniament la infecció[68]. Aquells que no resolen espontàniament o no són tractats i curats durant els primers 6 mesos, desenvolupen una hepatitis crònica amb un curs impredictible de la infecció. Tot i això, s'estima que aproximadament, entre el 20-30% de les persones amb una infecció crònica progressen a cirrosi, en un període d'entre 25 i 30 anys des de l'adquisició de la infecció[70].

El període d'incubació del VHC oscil·la entre 2 i 12 setmanes post-infecció. L'hepatitis C aguda (els primer 6 mesos de la infecció) cursa de manera asimptomàtica o amb manifestacions clíniques lleus, el 20-30% dels casos desenvolupen símptomes inespecífics com febre, fatiga, molèsties abdominals, pèrdua de gana, orines fosques (colúria), femtes clares, dolors articulars, icterícia i elevació de les transaminases, i en menys de l'1% cursa una hepatitis fulminant[68]. Durant la fase d'hepatitis C aguda, l'aparició d'icterícia es manifesta en un 20% dels casos simptomàtics. A més, es pot produir un augment en el nivell d'ALT que pot arribar a ser de fins a 10-30 vegades superior als nivells normals. Aquest pic es produeix entre la vuitena i desena setmana després de l'adquisició de la infecció[70]. La detecció de l'ARN-VHC es dona a partir de les dues setmanes després de l'exposició al virus, i els nivells d'ARN-VHC poden fluctuar al llarg de la fase aguda, podent arribar a ser indetectables durant breus períodes, seguits d'un augment dràstic de la càrrega vírica. Aquest fet és característic de la fase aguda de la infecció. Els anticossos (anti-VHC) no apareixen fins la sisena setmana i la dotzena setmana post-infecció, que s'anomena període finestra ja que els anticossos no són encara detectables. Posteriorment, els anticossos es mantenen detectables durant tota la vida en la majoria de persones que han passat una infecció o estan infectades. El període finestra dels anticossos, suposa una limitació en el diagnòstic de la malaltia virèmica si no hi ha una sospita clínica d'infecció aguda, ja que l'algoritme convencional usat pel diagnòstic del VHC es basa primerament en la detecció dels anticossos, i en el cas que sigui positiu, confirmació de la virèmia amb la detecció de l'ARN-VHC[70].

Tal com s'ha mencionat anteriorment, entre un 15% i 25% de les persones infectades eliminen el virus de manera espontània durant els primers sis mesos de la infecció, augmentant-se fins al 45% en persones que presenten icterícia, nens o dones joves[68,70]. La presència de certs polimorfismes com el gen humà de la interleuquina 28B i l'al·lel DQB1*0301 del complex major de histocompatibilitat de classe II afavoreixen la resolució espontània del virus[70,71]. L'aclariment espontani es produeix habitualment durant els tres primers mesos de la infecció, però hi ha una gran variabilitat inter-individual, ja que s'han descrit casos de resolució espontània de fins a un

any després de la infecció. Tot i això, existeix un consens generalitzat que defineix la infecció aguda dins dels sis primers mesos de la infecció[70,71].

La infecció crònica s'estableix en aquelles persones les quals la infecció persisteix més enllà dels sis primers mesos. Aquesta fase es caracteritza per una persistència de la inflamació hepàtica que donarà lloc a la fibrosi hepàtica, i que en fases més avançades progressarà a cirrosi en un 10-30% dels casos en un termini de 20 anys[68,70,71]. Un cop establerta la fase de cirrosi, el risc de desenvolupar carcinoma hepatocel·lular anualment és del 1-5% i del 3-6% en pacients amb descompensació hepàtica (amb forma d'ascites, peritonitis bacterianes espontànies, varius esofàgiques hemorràgiques o encefalopatia hepàtica, entre d'altres) (**Figura 16**). Després d'un episodi de descompensació hepàtica, el risc de mort és d'entre 15 i 20% al següent any. Factors com l'edat avançada, l'esteatosi hepàtica, el gènere masculí, la presència de certs polimorfismes genètics, l'alcoholisme, l'obesitat, la resistència a la insulina, la co-infecció amb el VHB i el VIH, o la teràpia immunosupressora, s'han associat a un augment en el risc de progressió hepàtica[70,71].

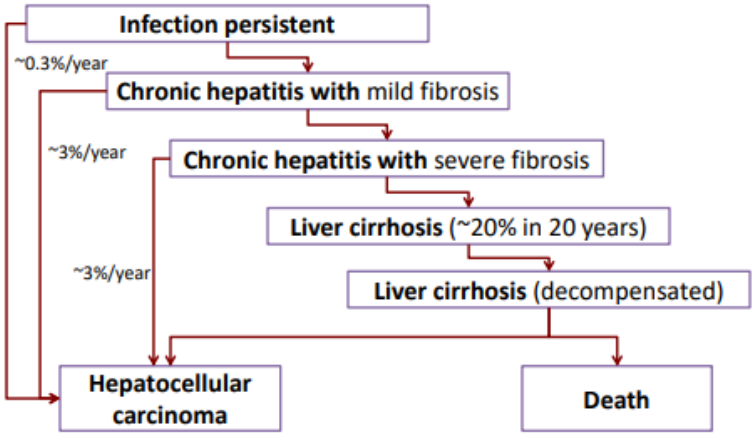


Figura 16. Progressió de la infecció pel virus de l'hepatitis C. Font: OMS, 2020[72].

1.3.6. Diagnòstic serològic i virològic

El diagnòstic del VHC s'ha dut a terme tradicionalment amb un algoritme basat en la combinació de dues proves: una prova serològica per a la detecció dels anticossos enfront el VHC (anti-VHC),

que informa sobre l'exposició prèvia al VHC, seguida de la detecció directa del virus en sèrum o plasma per a la confirmació de la infecció virèmica o activa, ja sigui a través de les tècniques moleculars (com la PCR) o bé per tècniques serològiques com la detecció de l'antigen Core del VHC (Ag Core)[73].

En la pràctica clínica habitual, el primer pas pel diagnòstic del VHC es basa en la detecció dels anti-VHC a partir de tècniques d'enzimoimmunoanàlisi (EIA) comercials. Amb el desenvolupament dels EIAs de tercera generació, la detecció dels anticossos és possible entre la quarta i la sisena setmana post-infecció, amb una sensibilitat de més del 99%[74]. L'especificitat, però, és difícil de determinar degut a la falta d'un apropiat mètode de referència (*gold standard* en anglès*)*. No obstant, en pacients amb malalties autoimmunitàries s'han observat reaccions creuades amb el factor reumatoide, donant falsos positius per l'anti-VHC. Mentre que en pacients amb immunodepressió severa (pacients VIH amb infecció avançada o pacients receptors de trasplant d'òrgan sòlid), en hemodiàlisi o en el període finestra pels anti-VHC (aproximadament els 2 primers mesos) poden ocorre falsos negatius[75]. En poblacions d'alt risc pel VHC cal tenir en compte el període finestra, i repetir la prova passats uns mesos per a confirmar que es tracta d'un negatiu veritable o fer la detecció directa de l'ARN-VHC si hi ha sospita d'infecció aguda. Actualment, la detecció dels anticossos també es pot dur a terme de forma descentralitzada gràcies a les proves de detecció ràpida en el punt d'atenció (*point-of-care tests,* PoCT*,* en anglès) basats immunocromatografia[76].

Posteriorment a la detecció d'anticossos enfront el VHC, cal la confirmació de la infecció virèmica mitjançant la detecció del genoma, l'ARN-VHC. També és necessària la detecció de l'ARN-VHC per a l'avaluació de la curació després del tractament amb AAD. Els primers assajos de detecció de l'ARN-VHC en plataformes automatitzades es basaven en anàlisis qualitatius, els quals eren més sensibles que les tècniques quantitatives usades llavors. Però, la necessitat d'una major sensibilitat per a la determinació de la càrrega vírica del VHC per a valorar l'eficàcia del

tractament, va donar pas a l'expansió dels assajos quantitatius utilitzats avui en dia en la gran majoria de laboratoris de referència. Des de llavors, múltiples assajos principalment basats en l'amplificació d'àcids nucleics per PCR a temps real s'han comercialitzat com són: Cobas HCV (assaig quantitatiu de detecció de l'ARN-VHC per a les plataformes 5800/6800/8800, Roche Molecular Systems), Alinity m HCV (Abbott Molecular) i Abbot RealTime™ HCV test per a la plataforma m2000 (Abbott Diagnostics). Més recentment, s'ha aprovat un nou assaig basat en l'amplificació mitjançada per la transcripció (TMA), assaig Aptima HCV Quant Dx (Hologic), que permet la detecció qualitativa i quantitativa de l'ARN-VHC amb una elevada concordança amb els assajos basats en la PCR a temps real[77]. Mentre que les tècniques descrites anteriorment requereixen grans equips i mostres de plasma o sèrum, també es disposa del petit equip GeneXpert (Cepheid) de PCR en temps real, que treballa amb cartutxos individuals per a cada mostra i requereix una mínima manipulació. Primer es va desenvolupar l'assaig Xpert HCV Viral Load (Cepheid) que requereix mostra de plasma i genera resultats en 108 minuts, i el 2019 es va comercialitzar l'assaig Xpert HCV VL Fingerstick (Cepheid) que utilitza sang capil·lar fresca i genera els resultats en només 58 min, convertint-se en el primer assaig PoCT molecular per al VHC[78]. Actualment, la detecció de l'ARN-VHC també es possible realitzar-la a partir de mostres de DBS, amb el recent marcatge CE-IVD obtingut a mitjans del 2020 en la plataforma m2000 Abbott Real*Time* System, que permet la recollida descentralitzada de la mostra, i l'enviament al laboratori mitjançant correu postal[79].

Els algoritmes actuals pel diagnòstic de la infecció en múltiples països es realitzen en un sol pas, anomenat algoritme reflex. Aquest algoritme es basa en la detecció dels anticossos i de l'ARN-VHC a partir de la mateixa mostra, sense necessitat d'una segona visita i d'una nova venipunció per a l'obtenció de nova mostra, com antigament, quan la prova de l'ARN-VHC l'havia de sol·licitar un metge especialista i no des d'atenció primària. A Espanya, des de 2019, el 80% dels laboratoris de centres hospitalaris han incorporat aquest algoritme en la seva rutina, prèvia

avaluació per les guies de cribratge espanyoles[80–82]. La incorporació d'aquest algoritme ha millorat la vinculació a l'assistència sanitària i al tractament dels pacients[83].

Una tècnica alternativa a la confirmació d'infecció activa de l'ARN-VHC és la detecció de l'Ag Core. L'assaig es basa en la detecció d'un marcador subrogat de la replicació del virus, la proteïna p22 de la nucleocàpsida del VHC que és alliberada per les cèl·lules infectades pel virus. Es tracta d'una proteïna altament conservada entre tots els genotips i detectable entre 12 i 15 dies després de la infecció[80,84]. Un metaanàlisi va comparar la detecció de l'Ag Core amb la detecció de l'ARN-VHC mitjançant una PCR a temps real demostrant una sensibilitat i especificitat del 93% i 98%, respectivament[85]. A més, un estudi francès realitzat al Camerun ha demostrat la seva fiabilitat en pacients amb co-infecció amb el VHB i VIH[86]. La plataforma Abbott ARCHITECT HCV Ag test (Abbott Diagnostics) permet la detecció de l'Ag Core[80]. Aquesta plataforma presenta una bona correlació de resultats amb mostres que presenten càrregues víriques per sobre de 3.000 UI/mL. El límit inferior de detecció de l'assaig es troba entre 500 i 3.000 UI/mL, en funció del genotip, el que permet detectar la majoria dels pacients amb hepatitis C crònica[84]. Els avantatges d'aquest assaig són un menor cost en comparació amb les tècniques moleculars, la curta durada de l'assaig (40 min) i un maneig més senzill de la plataforma[87]. No obstant, aquesta plataforma igual que les moleculars requereix de la infraestructura d'un laboratori per a la seva realització. Actualment s'estan realitzant estudis d'efectivitat i cost-efectivitat d'una prova ràpida per a la detecció de l'Ag Core amb resultats fins al moment bastant prometedors[88].

Tot i això, el diagnòstic de la infecció aguda és complicat, degut a l'absència de simptomatologia en molts casos, l'absència de marcadors serològics específics i el període finestra, on els anticossos no són detectables. Per això, en casos on la sospita d'infecció pel VHC és alta, cal realitzar directament la prova de l'ARN-VHC (càrrega vírica) independentment del resultat dels anticossos. També és essencial, l'avaluació periòdica de la càrrega vírica després de la curació, sobretot en poblacions d'alt risc, per tal de detectar possibles reinfeccions [77,89].

1.3.7. Genotipat del VHC

Abans de l'aparició del AAD, el genotip era un factor predictiu de la resposta al tractament basat en IFN-α, i havia de ser determinat per a l'elecció de la pauta terapèutica més adequada en els primers règims AAD[90]. Tot i que les guies actuals proposen un tractament simplificat amb AAD pangenotípics, sense necessitat de determinar el genotip i subtipus, el genotipat segueix essent rellevant per a l'optimització del tractament, així com a nivell epidemiològic[91,92].

El mètode de referència pel genotipat del VHC es basa en la seqüenciació Sanger i l'anàlisi filogenètic dels amplicons de les regions NS5B i/o Core/E. No obstant, no tots els laboratoris poden realitzar aquesta tècnica degut a la seva complexitat i laboriositat[93,94]. Per això, en els últims anys s'han comercialitzat assajos que permeten l'automatització i processament de les mostres basats en tecnologies de PCR a temps real o d'hibridació inversa amb sondes específiques que detecten les regions 5'UTR i la NS5B i/o Core del virus. L'assaig HCV Genotype II d'Abbott és una PCR a temps real amb sondes específiques marcades amb diferents fluorocroms per a la regió 5'UTR pel genotipat i la NS5B per a l'assignació dels subtipus 1a/1b. Aquesta tècnica ha demostrat una fiabilitat excel·lent per a determinar el genotip. No obstant, un estudi realitzat a l'Hospital Germans Trias i Pujol va determinar que entre el 5-12% de les mostres amb genotip 1 no van ser subtipades, i a més, van trobar una taxa d'indeterminats del 8% en mostres amb genotip 3[95,96]. Per altra banda, la determinació del genotip 6 en alguns casos pot fallar, ja que pot donar un resultat de genotip 1 sense subtipar[97].

Altres assajos comercials pel genotipat del VHC són el Versant VHC Genotype 2.0 System (LiPA) de Siemens[98], basat en una hibridació inversa, i el Cobas® HCV GT per a la plataforma Cobas 4800 de Roche[99] basat en una PCR a temps real per a les regions 5'UTR, Core i NS5B.

Finalment, l'aparició de les noves tecnologies de seqüenciació massiva han permès generar genomes complets d'una manera més ràpida que la seqüenciació Sanger, facilitant així la

caracterització de nous genotipus i subtipus, incloent formes recombinants[100]. També s'ha aplicat la seqüenciació massiva per al subtipat d'alta resolució basat en determinades regions del genoma, mitjançant assaigs casolans[101]. Una de les avantatges enfront la seqüenciació Sanger, és que la seqüenciació massiva permet la identificació d'infeccions mixtes per més d'un genotip o subtipus.

1.3.8. Tractament

El tractament del VHC es basa en la curació de la infecció, per tal de prevenir i disminuir la probabilitat de patir cirrosi, descompensació hepàtica, carcinoma hepatocel·lular i trasplant hepàtic[92]. La resposta virològica sostinguda (RVS) és l'indicador de curació de la infecció, i es defineix com la no detecció l'ARN-VHC en plasma o sèrum a les 12 setmanes després de la finalització del tractament. Estudis recents estan barallant la possibilitat d'avaluar la RVS a la quarta setmana post-tractament o a la vuitena, sobretot en poblacions vulnerables, les quals experimenten pèrdues de seguiment més freqüentment[102]. Un cop assolida la RVS, les recidives posteriors són molt poc freqüents, donant-se en el 0,2% dels casos[92].

Previ al tractament, cal la valoració de la fibrosi hepàtica, necessària per a la identificació dels pacients amb fibrosi avançada, és important ja que si hi ha fibrosi avançada, tot i que es curi del VHC, cal seguir amb el cribratge per carcinoma hepatocel·lular[92]. Aquesta valoració es pot realitzar per tècniques no invasives com el FibroScan o bé amb índex serològics. Per exemple, l'índex FIB-4, es calcula a partir de les transaminases, el recompte de plaquetes i l'edat del pacient[77,103]. També, és rellevant tant a nivell epidemiològic com clínic la identificació del genotip i subtipus del VHC, per a poder distingir reinfeccions de recidives en el cas de no aconseguir-se la curació; en aquests casos es recomana fer el genotipat per seqüenciació i anàlisi filogenètic tant a partir de la mostra basal com de la mostra post-tractament [5].

Tot i que actualment, els tractaments amb els AAD són pangenotípics i les taxes de curació són de més del 97% dels casos, els tractaments anteriors usats no eren tan eficaços[5,92]. El primer tractament per al VHC es va es va aprovar l'any 1991, basat en la monoteràpia amb interferó alfa (IFN-α), amb una taxa de curació del 16% dels pacients. Posteriorment, es va addicionar la Ribavirina, un antivíric d'ampli espectre, administrant-se l'IFN-α pegilat en combinació amb la Ribavirina, augmentant-se les taxes de RVS fins aproximadament un 60% dels casos. No obstant, els tractaments eren llargs, d'entre 6 i 12 (i fins 18 mesos en pacients co-infectats amb el VIH i el genotip 1 i 4 del VHC), amb freqüents efectes adversos i administrats per via injectada. La taxa de curació, a més, es veia influenciada per factors virològics i de l'hoste, essent més favorable en persones d'edat jove, el sexe femení, l'herència no afroamericana, els nivells baixos de fibrosi, els genotips 2 i 3, càrregues víriques baixes o la presència de polimorfismes específics del gen de la interleucina 28B (interferó λ tipus III)[104].

Gràcies al coneixement del cicle de replicació del VHC s'han pogut identificar noves dianes terapèutiques, tals com els inhibidors de la proteasa NS3-4A, inhibidors de la polimerasa NS5B i inhibidors de la NS5A. Els primers AAD aprovats l'any 2011 van ser els inhibidors de la proteasa NS3-4A (Telaprevir i Boceprevir), i s'administraven en combinació amb el IFN-α i la Ribavirina en règims llargs i complexos. Posteriorment, per primera vegada van aparèixer els règims lliure d'interferó, basats en combinacions de dos o tres famílies d'antivírics (inhibidor de la proteasa, inhibidor de la polimerasa i inhibidor del NS5A) que van permetre règims de tractament més curts (4-12 setmanes, o fins a 24 setmanes en alguns casos), administrats per via oral, amb molts menys efectes adversos i amb elevades taxes de curació. Els AAD comercialitzats amb activitat inhibidora de l'ARN polimerasa ARN-dependent NS5B van ser Sofosvubir i Dasabuvir, els inhibidors de la NS5A, Daclatasvir, Elbasvir, Ledipasvir, Ombitasvir, Pribrentasvir, Velpatasvir, i les noves generacions d'inhibidors de la proteasa NS3-4A, Glecaprevir, Grazoprevir, Paritaprevir, Simeprevir, Voxilaprevir, amb un perfil de seguretat i eficàcia més elevats, permetent aconseguir taxes de RVS superiors al 97%[5]. Els tractament amb règims pangenotípics, inclosos

Sofosbuvir/Velpatasvir o Glecaprevir/Pibrentasvir, poden iniciar-se sense conèixer el genotip i subtipus amb una elevada probabilitat d'èxit. No obstant, la determinació del genotip i subtipus del VHC segueix essent útil per adaptar millor el tractament i per tal d'evitar el fracàs[92], sobretot en migrants procedents de països on la prevalença dels subtipus del VHC varia, i hi trobem alguns subtipus menys susceptibles al tractament. En aquests casos, la determinació del genotip i subtipus es realitza mitjançant la seqüenciació poblacional o profunda del NS5B o una altre regió codificant, seguida d'una anàlisi filogenètica, per a identificar els subtipus resistents a inhibidors del NS5A, com són els subtipus 1l, 4r, 3b, 3g, 6u, 6v i altres subtipus que poden donar un resultat indeterminats amb tècniques de genotipat comercials[92].

Actualment, els tractaments amb AAD són pangenotípics, fet que ha permès canviar el paradigma d'abordatge de l'hepatitis C des d'un punt de vista de salut pública, simplificant el tractament i canviant el paradigma de l'abordatge del VHC. Les PQID, abans de l'aparició dels AAD, per poder rebre tractament havien d'estar entre 6-12 mesos sense consumir drogues o en teràpia agonista d'opiacis, per tant no hi havia una recomanació general pel tractament de les PQID amb consum actiu[105]. El 2015 les guies de l'EASL[106] va situar per primer cop les PQID com un grup prioritari a tractar, i el mateix any aquesta recomanació va ser adoptada pel Grup d'Estudi de les Hepatitis Víriques (GEHEP)[107]. No obstant, donat l'elevat cost dels nous AAD, inicialment es va restringir el seu ús en els pacients amb malaltia hepàtica avançada, i no va ser fins el 2017 quan va poder obrir-se la possibilitat de tractament a totes les persones infectades[108].

1.4. Estratègies d'eliminació

1.4.1. Estratègies de cribratge

A la fi d'aconseguir l'objectiu de l'OMS marcat pel 2030 per a l'eliminació de les hepatitis víriques calen intervencions efectives que englobin el conjunt de serveis necessaris per frenar la transmissió, des de la identificació de nous casos (cribratge) al tractament, seguint el model de

"cascada de curació" (*cascade of care* en anglès) (**Figura 17**)[109], en el qual els serveis s'han d'organitzar de manera que es promogui la participació precoç en l'atenció i, maximitzin la retenció i adherència al tractament. Per a poder-lo assolir cal primerament identificar les poblacions a risc, per a poder implementar estratègies de prevenció, cribratge i tractament adequades per a cada població, sobretot en les poblacions amb més risc pel VHB i VHC, com són les PQID, HSH, persones que conviuen amb el VIH, persones privades de llibertat i migrants provinents de països endèmics, les quals a més solen presentar barreres d'accés al sistema sanitari[2]. Seguidament, cal vincular-los al sistema sanitari per a poder-los oferir el seguiment de la infecció i malaltia, i el tractament dels pacients que siguin candidats a la teràpia antivírica, així com proporcionar una vinculació amb les intervencions preventives per a reduir la transmissió dels virus (vacunació, programes d'agulles i xeringues, etc.). Finalment, cal monitoritzar la resposta al tractament antivíric, en el cas del VHC per a la confirmació de la curació, i en el cas del VHB per a determinar la replicació o no del virus per aconseguir una curació funcional[110]. A més, és important realitzar el cribratge periòdic en poblacions a risc de reinfectar-se pel VHC, per poder administrar un règim de retractament de manera precoç.

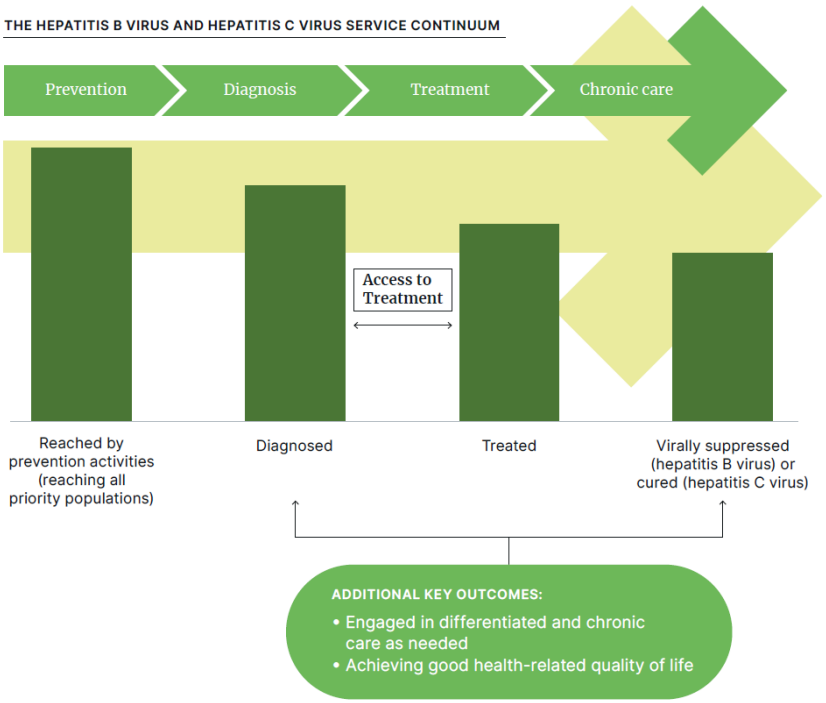


Figura 17. Cascada de curació pel VHB i VHC. Font: WHO, 2022[110].

L'any 2011, l'OMS va reconèixer les hepatitis víriques com un problema de salut pública. Però no va ser fins l'octubre de 2015, quan es va fer oficialment la primera estratègia de control de les hepatitis víriques, amb l'objectiu de reduir considerablement la morbi-mortalitat de les persones que viuen amb la infecció pel VHB crònica i pel VHC crònica per l'any 2023[109].

Al maig de 2016, l'Assemblea Mundial de la Salut va aprovar la primera Estratègia Mundial del Sector Sanitari (GHSS) contra les hepatitis víriques 2016-2021[109]. La GHSS va fer una crida a l'eliminació de les hepatitis víriques pel 2030. La GHSS basa l'estratègia en cinc orientacions: i) informació per una acció focalitzada, ii) intervencions per aconseguir l'impacte, iii) prestació dels serveis per a l'equitat, iv) finançament per a la sostenibilitat i v) innovació per l'acceleració. Aquesta fita tant ambiciosa va ser firmada pels 194 Estats Membres de l'OMS; que es van comprometre a la reducció de la incidència de les hepatitis víriques en un 90%, augmentar el tractament un 80% en els pacients que compleixen els criteris, i reducció de la mortalitat en un 65% pel 2030[1,25].

Per aconseguir l'eliminació cal donar resposta a cinc àrees d'intervenció: i) immunització contra el VHB, ii) prevenció de la transmissió del VHB materno-infantil, iii) injeccions, transfusions de sang i intervencions quirúrgiques segures, iv) prevenció de la transmissió de les hepatitis víriques entre PQID mitjançant els centres de reducció de danys, i v) tractament[1,25].

A Europa, l'any 2017, l'OMS va avalar el primer Pla d'Acció per a les hepatitis víriques a la regió europea, que adaptava l'estratègia mundial al context d'aquesta regió. El pla proposava set objectius regionals pel 2020[111]:

1. 95% de persones amb les tres dosis de la vacuna enfront el VHB en els països que apliquen la cobertura vacunal infantil universal.

2. 90% de cobertura en les intervencions per prevenir la transmissió del VHB de mare a fill (vacunació enfront el VHB al néixer i tractament en mares a partir del tercer trimestre d'embaràs i durant la lactància).
3. 100% del cribratge pel VHB i el VHC en donacions de sang amb mètodes de qualitat garantits.
4. 50% de les injeccions administrades amb dispositius de injecció de segura, integrada dins d'un sistema de prevenció i control de les infeccions.
5. Distribució d'almenys 200 kits de material d'injecció estèril per persona i any, per a usuaris de drogues, com part d'un paquet integrat de serveis de reducció de danys.
6. Taxa de diagnòstic del 50% entre les persones que viuen amb una infecció crònica pel VHB o el VHC.
7. 75% de cobertura per les persones candidates a tractament i diagnosticades amb infeccions pel VHB i el VHC.

A Espanya, des de l'any 2015 té un pla estratègic per a l'abordatge de l'hepatitis C en el sistema nacional de salut. L'any 2020 es va publicar la primera guia de cribratge per a la infecció del VHC, en la qual s'establia la necessitat de cribrar, almenys una vegada a la vida a les persones que mantenen exposicions i situacions de risc enfront al VHC i cada 6-12 mesos si l'exposició és continuada[66]. Més concretament, Catalunya, des de l'any 2019, també compta amb un pla de prevenció i control pel VHC. Ambdues guies recomanen el cribratge del VHC en persones que s'exposen a situacions de risc com són el consum de droga per via injectada i/o inhalada, mantenir relacions sexuals de risc, parella sexual amb VHC activa o consum actiu de drogues, migrants procedents de països amb prevalença pel VHC mitja o alta, entre altres (**Figura 18**).

Exposiciones de riesgo para la infección por el VHC
Consumo de drogas por vía inyectada y/o inhalada
Relación sexual de riesgo[a]
Pareja sexual con infección activa por el VHC o con consumo activo de drogas inyectadas
Co-infección por el VIH y/o VHB
Tatuajes y/o procedimientos estéticos y similares realizados con instrumental punzante sin las debidas precauciones de seguridad
Exposición laboral al VHC[b]
Ingreso en unidades de hemodiálisis crónica
Intervenciones sanitarias invasivas realizadas en lugares sin las medidas de seguridad adecuadas, como intervenciones quirúrgicas con material no esterilizado antes de 1975 o la recepción de productos sanguíneos o hemoderivados antes de 1990
Recién nacidos/as de madres con infección por el VHC
Situaciones de riesgo para la infección por el VHC
Ingreso en centros penitenciarios
Procedencia de países con prevalencia de infección por el VHC media o alta[c]

Figura 18. Exposicions i situacions de risc per la infecció del VHC en les que està indicat el cribratge del VHC. Font: Guía española de cribado de la infección por el VHC, 2020[66].

En contra, actualment a Espanya no existeix una guia de cribratge o un pla estratègic per a l'eliminació del VHB. Si bé, la vacuna es va introduir entre els anys 1991 i 1996 com part de la immunització sistemàtica en adolescents, i actualment, s'administra durant el primer any de vida en totes les comunitats autònomes, essent la primera dosi administrada als 2 mesos d'edat, des de 2018[112]. L'any 2020, la cobertura de primovacunació a Espanya pel virus de l'hepatitis B era de 97,9%[113].

Catalunya l'any 2005 va redactar un protocol de prevenció i control de l'hepatitis B, però des de llavors no s'ha redactat un nou protocol o pla. Actualment, però, des de l'Agència Catalana de Salut Pública s'està redactant una guia de cribratge del VHB en entitats comunitàries, que estarà disponible en els següents mesos, i està treballant en l'actualització del Pla de Prevenció i Control de l'Hepatitis C, per tal que inclogui també l'hepatitis B.

1.4.2. Models d'atenció

Tradicionalment, el cribratge i diagnòstic de les hepatitis víriques s'ha dut a terme en l'àmbit hospitalari, en centres d'atenció primària, hospitals, ASSIRS i altres centres. Però per tal de poder arribar a l'objectiu de l'OMS de l'eliminació de les hepatitis víriques pel 2030 en països

desenvolupats on la prevalença pel VHB i VHC és baixa, calen models d'atenció descentralitzats per a poder arribar a les poblacions de major risc, sovint poblacions vulnerables i de difícil accés com són les PQID, els migrants, les persones treballadores del sexe, entre altres.

En els darrers anys s'han descrit nombrosos models d'atenció descentralitzats per al cribratge, diagnòstic i tractament de les hepatitis víriques, que han demostrat una elevada eficàcia sobretot en col·lectius amb més vulnerabilitat. L'OMS en la guia de 2017 proposa varis models d'atenció que es poden dividir principalment en dos blocs, per una banda models d'atenció integrats a centres sanitaris o a centres on s'ofereixen el cribratge d'altres infeccions com són el VIH i les ITS i, per altra banda, models d'atenció comunitaris[2].

Models d'atenció integrats en centres sanitaris i centres de cribratge d'altres infeccions

- **Centres d'atenció i cribratge pel VIH.** Els centres que ofereixen la prova del VIH, així com la PrEP, ofereixen una oportunitat de cribratge de les hepatitis víriques. A aquests centres acudeixen persones d'alt risc que en molts casos no assisteixen al sistema sanitari per por a l'estigma. Estudis han demostrat que la prevalença del VIH, VHC i VHB en aquests grups és alta i en conseqüència també les co-infeccions.
- **Centres d'atenció i cribratge de les ITS.** L'hepatitis B, i en menor grau el VHC, també són infeccions transmeses sexualment. Així doncs, els serveis que proporcionen cribratge per a les ITS poden ser llocs clau per a la prevenció i tractament de les hepatitis víriques. L'augment del número d'infeccions per gonorrea i sífilis, indiquen que l'ús de preservatiu durant les relacions sexuals ha disminuït en els últims anys i, per tant, podria haver-hi també un augment en el número de casos de VHB i VHC. Les guies de l'OMS recomanen el cribratge del VHB i VHC en aquelles persones que han estat diagnosticades d'una ITS[2].
- **Centres de reducció de danys i centres de tractament de la drogodependència.** Molts models innovadors d'atenció integrats en serveis comunitaris pel cribratge de les

hepatitis víriques en PQID s'han desenvolupat i aplicat eficaçment en centres de reducció de danys i centres d'atenció i seguiment de les drogodependències, sobretot, en països de renta alta. Durant aquestes intervencions, a més, en molts casos s'integra l'educació per a la reducció de danys, serveis de salut mental i altres serveis mèdics generals, per poder sensibilitzar a la població i reduir les noves infeccions, així com serveis socials. A més, algunes estratègies realitzen una derivació directa dels pacients a l'especialista per a subministrar el tractament, i reduir al mínim les pèrdues durant el seguiment. En altres models més innovadors, el tractament s'ofereix de forma descentralitzada en el mateix centre, els quals reporten taxes de curació similars a les aconseguides en el sistema sanitari[114].

- **Centres d'atenció primària.** Els centres d'atenció primària són més accessibles i menys estigmatitzants que els hospitals, sobretot per a poblacions vulnerables, degut a l'atenció integral. La cerca selectiva de casos amb antecedent de consum de drogues per via injectada a través de la història clínica, pot contribuir a augmentar el número de persones a les que oferir el cribratge del VHB i VHC[115]. Estudis previs demostren que l'oferiment d'una atenció multidisciplinària, amb la integració de serveis psiquiàtrics i grups de recolzament de drogues i alcohol dins de l'entorn de l'atenció primària són especialment eficaços per a grups poblacionals de risc, que en molts casos, presenten múltiples problemes de salut. Models de recolzament o models en els quals hi ha persones en situació similar (*peer workers* en anglès) poden ser claus per permetre la integració dels serveis de cribratge en PQID[116,117].
- **Cribratge rutinari prenatal.** Durant el consell prenatal, l'oferiment del cribratge és una oportunitat clau per a reduir la prevalença global del VHB. El cribratge de l'AgHBs en dones embarassades permet conèixer el seu estat enfront al VHB, i poder-se beneficiar de programes preventius com la vacunació del VHB en infants (actualment, la majoria de països tenen la vacunació universal de tots els nounats), l'ús de la globulina, o el

tractament antivíric de la mare. Tot i que es recomana el cribratge rutinari, la proporció de dones embarassades cribrades segueix essent baixa en països de renta baixa. Addicionalment, també es recomana el cribratge del VHC i VIH en dones embarassades[2]. A Catalunya el cribratge del VHB es realitza en totes les dones embarassades que no acrediten l'estat vacunal o que presenten risc d'estar infectades[118].

- **Telemedicina.** La telemedicina ofereix l'oportunitat d'eliminar les dificultats i barreres amb les quals es troben els diferents grups de risc en l'accés a l'hospital pel diagnòstic, tractament i seguiment. Aquest tipus d'aproximació s'ha fet servir a Espanya per al seguiment del tractament amb AAD en 66 pacients en la presó de Dueso, aconseguint una RVS del 96,9%[119]. També, una revisió sistemàtica recull els bons resultats obtinguts amb aquesta aproximació per a l'optimització de la cascada de curació en PQID[120].

<u>Programes de cribratge basats en intervencions comunitàries</u>

Els models d'atenció comunitaris poden complementar el cribratge realitzat en l'entorn sanitari, sobretot en poblacions que presenten barreres d'accés al sistema sanitari degut a l'estigma, discriminació, o sancions legals, entre altres. Estudis realitzats evidencien que oferir el cribratge de les hepatitis víriques en llocs comunitaris augmenta l'acceptació de testar-se, podent realitzar un diagnòstic més precoç[115]. Aquestes estratègies poden presentar problemes similars als que ens trobem en l'atenció sanitària, a l'hora de realitzar el seguiment i vinculació dels pacients al sistema sanitari, per això es tendeix a descentralitzar també el tractament, tot i que a Espanya el tractament del VHB i VHC només el pot prescriure un metge especialista en malalties infeccioses o hepatologia, amb l'excepció del programa de tractament del VHC a les presons catalanes.

- **Unitats mòbils i llocs comunitaris.** Es tracta d'oferir el cribratge en unitats mòbils (furgonetes), llocs comunitaris com esglésies o mesquites, en bars i clubs, llocs on es realitza *cruising (*terme anglès que defineix l'activitat sexual en llocs públics, com parcs, platges o descampats*)*, i festes especials com festivals o dies nacionals del país. Estudis

realitzats a EEUU, Dinamarca i Espanya han avaluat aquesta aproximació en treballadors sexuals i usuaris de drogues, obtenint unes altes taxes de cribratge, inici del tractament i retenció en el sistema sanitari, demostrant doncs la utilitat i la viabilitat d'aquesta aproximació en poblacions vulnerables[121–123]. El projecte Sweetie dut a terme en centres on s'oferia el cribratge del VIH és un bon exemple de la integració del cribratge de les hepatitis víriques, amb una bona acceptació per part dels participants, i trobant una prevalença pel VHB del 34,2% i una seroprevalença pel VHC del 2,4% [124].

- **Cribratge porta a porta.** Es duu a terme en llars, a través de dos models: i) el cribratge s'ofereix porta a porta o via telefònica i tota la unitat familiar accepta que es dugui a terme la intervenció, ii) per pacient índex, en aquest cas una persona de la família coneix la seva infecció i accepta que es dugui a terme el cribratge a la família[2].
- **Campanyes nacionals de cribratge.** Cribratge a escala nacional en països amb prevalença pel VHB i/o VHC mitja i/o alta, per a augmentar l'accés a les proves i per tant el diagnòstic. Alguns països han centrat els esforços en la realització del cribratge en centres comunitaris, mentre que altres han combinat l'aproximació comunitària i sanitària. Aquest tipus d'aproximació permet cribrar a tota la població. No obstant, en alguns països on la prevalença no és elevada pot no ser cost-efectiva. Un exemple d'aquest tipus d'aproximació és la duta a terme per Egipte, que l'any 2018 va elaborar en coordinació amb l'administració, les institucions sanitàries i els pacients una estratègia a nivell nacional de cribratge a totes les persones d'entre 18 i 59 anys. Egipte presentava la seroprevalença més alta de VHC a nivell global, al voltant del 15%, a causa de la utilització de material no estèril en campanyes de vacunació antiparasitàries entre els anys 1950 i 1980. El pla es va dur a terme a través de campanyes educatives de promoció de la salut, i amb la realització del diagnòstic del VHC en un sol dia: primerament realitzaven la detecció de l'anti-VHC i, en el cas que el resultat fos positiu, duien a terme la detecció de l'ARN-VHC en diferents entorns clínics i comunitaris (per

exemple, unitats mòbils), sense cost per al pacient. En menys d'un any, el programa d'eliminació del VHC va cribrar a 49,6 milions de persones, resultant en la identificació de 1,15 milions de persones virèmiques pel VHC. D'aquestes, el 92% va iniciar el tractament amb AAD, i el 98% va aconseguir una RVS negativa[125]. L'octubre de 2023, Egipte va ser el primer país en aconseguir els objectius marcats per l'OMS de l'eliminació del VHC[126]. Un altre exemple és el d'Escòcia, qui va ser pioner en la creació d'un Pla Nacional d'Eliminació per al VHC l'any 2008. El Pla Nacional escocès és un exemple de coordinació a nivell nacional i local mitjançant un enfocament multidisciplinari (institucions, agències de salut i autoritats locals) per tal de poder arribar a totes les àrees geogràfiques i englobar en una intervenció la prevenció, el diagnòstic, l'atenció i el tractament dels pacients tant en entorns comunitaris com en els serveis de salut. L'epidèmia del VHC a Escòcia és deguda principalment a l'alta prevalença en PQID, per això, gran part dels recursos van ser destinats a aquest col·lectiu, mitjançant la implementació d'estratègies com la utilització de mostres de DBS o la incorporació de farmacèutics comunitaris al circuit d'atenció. Escòcia s'ha marcat la meta d'assolir l'eliminació del VHC pel 2024[127], i la regió escocesa de Tayside ha estat la primera en assolir aquests objectius, mostrant l'eficàcia de les estratègies comunitàries en una àrea geogràfica concreta[128].

- **Mitjans de comunicació i xarxes socials.** El coneixement sobre les hepatitis víriques i les opcions de cribratge i tractament en molts països i poblacions és limitat. Per tant, campanyes de promoció del cribratge i de conscienciació de les hepatitis víriques en la població general poden ser d'ajut per a augmentar la taxa de diagnòstic. Alguns països promouen el cribratge de les hepatitis víriques i el seu coneixement en mitjans de comunicació com ara la ràdio, la televisió, per internet i en xarxes socials. Amsterdam va fer una campanya de cribratge a través d'una pàgina web per a identificar de forma anònima les persones que presentaven un major risc d'infecció pel VHC. Aquelles

persones que van considerar que presentaven un major risc d'infecció, se'ls va oferir la prova de detecció del VHC. El 28% de les persones candidates es van realitzar la prova, i van trobar una seroprevalença pel VHC del 3,6%[129]. Un altre exemple és el del Regne Unit amb l'oferiment online del cribratge pel VHB i VHC. El 16% de les persones que van demanar el kit el van retornar, trobant una prevalença d'infecció pel VHB de 1,4% i del 0,3% pel VHC. Tots els nous diagnòstics van ser vinculats al sistema sanitari, demostrant així l'eficàcia d'aquest programa[130]. A Catalunya, també s'han dut a terme iniciatives amb aquesta aproximació, com el projecte Téstate, entre els HSH, en el qual a través d'una pàgina web s'oferia el cribratge del VIH, ITS i VHC a partir d'una mostra recollida pels mateixos usuaris, i "Disfruta sin C" que és una plataforma educativa dirigida a la comunitat d'HSH que practica *Chemsex* per a la promoció del diagnòstic del VHC[131,132].

- **Cribratge en escoles i altres llocs educatius.** Faciliten l'accés al cribratge de les persones més joves, al mateix temps que permet oferir educació sexual i consells per a reduir el risc d'infecció. Egipte, dins del Pla Nacional, va establir el cribratge del VHC en escoles preparatòries de primer grau (equivalent a l'educació secundària i batxillerat) i en universitats[133].
- **Cribratge en presons i altres centres correccionals.** Altament efectiu per expandir el cribratge en col·lectius a risc. Molts estudis realitzats en aquest àmbit demostren l'alta efectivitat d'aquests programes de cribratge. A Catalunya, des de l'any 2016 està en marxa un programa d'eliminació del VHC de les presons catalanes, oferint el cribratge sistemàtic a totes les persones que ingressen i accepten fer-se la prova. Les persones que presenten virèmia pel VHC se'ls ofereix el tractament a la presó, i en el cas que es posin en llibertat durant el tractament, es garanteix la vinculació al sistema sanitari i el seguiment del tractament a través d'una infermera d'enllaç[134]. També se'ls ofereix informació i educació al respecte i es faciliten xeringues estèrils i material d'injecció segur a les PQID que estan dins de la presó i declaren la seva drogodependència. Arrel

d'aquest programa, A. Marco estimava que la prevalença de virèmia pel VHC a les presons catalanes l'any 2022 seria entre el 0-0,5%, aconseguint així l'eliminació del virus dins de les presons[135]. L'any 2021, la seroprevalença del VHC en aquest àmbit va ser del 3% i la prevalença de virèmia del 0,8%[134].

L'any 2017, l'Associació Europea per a l'Estudi del Fetge (EASL) va proposar una nova estratègia per a poder assolir els objectius d'eliminació de les hepatitis víriques marcades per l'OMS: la micro-eliminació. La justificació d'aquest enfocament és la realització de diferents estratègies d'eliminació a petita escala, essent un objectiu més tangible i realista, amb la idea que serveixi com a pont per al desenvolupament de programes nacionals, que finalment condueixin a l'eliminació global o a la macro-eliminació. La micro-eliminació basa la seva estratègia en una població específica, que pot referir-se a un entorn específic (ex. persones a la presó o en unitat de diàlisi), un grup amb característiques clíniques concretes (persones que viuen amb el VIH o persones amb trastorns sanguinis), un sistema sanitari específic (com el sistema sanitari destinat als veterans de guerra als Estats Units d'Amèrica), o una àrea geogràfica específica[136–138].

1.4.3. Mostres alternatives per al diagnòstic

Les hepatitis víriques cursen de manera asimptomàtica en la majoria dels casos, tant en la infecció aguda com crònica, fins a arribar a estadis avançats de la malaltia hepàtica on comencen a produir-se els primers símptomes. Aquest fet fa que moltes persones virèmiques no siguin conscients del seu estat enfront a la infecció. A més, la complexitat de l'algoritme diagnòstic convencional que compren tècniques serològiques i moleculars, i de les tècniques diagnòstiques disponibles, fa que sigui necessari un laboratori especialitzat, dificultant així el diagnòstic, especialment en persones vulnerables amb accés limitat al sistema sanitari[139]. Conseqüentment, les taxes de diagnòstic en la població general segueixen essent baixes, inclús en països de renta alta[140]. En aquest sentit, les guies de diagnòstic elaborades per l'OMS l'any 2017 fomentaven l'ús d'algoritmes, mostres i proves diagnòstiques alternatives en llocs on els recursos siguin

limitats o en grups poblacionals de difícil accés, amb la finalitat d'arribar el 90% dels casos diagnosticats el 2030[73,109]; aquestes recomanacions segueixen vigents en les guies publicades l'any 2022 per l'OMS per al cribratge de les hepatitis víriques, VIH i ITS en poblacions clau[141].

Pel diagnòstic de les hepatitis víriques, les **mostres de DBS** representen una alternativa a la mostra de sang obtinguda per venipunció. La sang de les mostres de DBS s'obté a partir de la punció dactilar amb una llanceta, i es recull en unes targetes de paper de filtre especialment preparades per a contenir la sang (tipus Whatman o similar) amb cercles que poden contenir uns 50-70 µl de sang. La sang obtinguda per la punció dactilar pot ser recollida amb una petita pipeta amb anticoagulant EDTA (minivette capil·lar) i després dipositar-la en els cercles de la targeta (50 µl aproximadament), o bé les gotes de sang poden ser directament dipositades sense tocar la targeta amb el dit, deixant caure la sang. Un cop la sang és ben seca (mínim després de 2 hores a temperatura ambient o fins que canvia de vermell a marró), aquestes targetes poden ser enviades al laboratori per correu ordinari i a temperatura ambient dins d'un sobre de plàstic que conté dessecant amb indicador d'humitat. Les mostres de DBS són mostres mínimament invasives i es pot formar a persones amb diferents perfils per a recollir-les. Per tant, poden ser una bona alternativa en poblacions amb difícil accés a l'obtenció de sang per venipunció, com és el cas de les PQID i fora de l'àmbit sanitari, en centres de base comunitària. Aquestes mostres s'han usat durant molts anys en nounats per a la detecció de trastorns metabòlics, així com pel diagnòstic del VIH en adults a Àfrica[142].

La primera aproximació de la detecció de l'ADN-VHB en DBS va ser l'any 1992[143], mentre que per l'ARN-VHC va ser a finals de la dècada dels anys 90 quan les mostres de DBS van ser validades per primera vegada per a la detecció d'anti-VHC[144] i de l'ARN-VHC[145].

La utilització de les mostres de DBS ha demostrat ser eficaç en diferents escenaris i ha estat recomanada per l'OMS[2] degut a (i) fàcil recol·lecció i acceptabilitat, (ii) fàcil transport

(temperatura ambient), i (iii) alta sensibilitat i especificitat dels assajos moleculars per a la detecció de l'ADN-VHB i l'ARN-VHC[73,146].

Les **mostres de DBS** poden ser utilitzades per a tècniques serològiques per a la detecció d'**AgHBs** i **anti-VHC**, tot i que la seva interpretació requereix de l'establiment d'un nou *cut-off* per a la matriu d'eluït de sang seca en lloc de sèrum. Un metaanàlisi realitzat per Lange et al., en que es van avaluar 19 estudis que usaven les mostres de DBS per a la detecció de l'AgHBs i de l'anti-VHC, va obtenir una sensibilitat i especificitat per a l'AgHBs del 98% i 100% respectivament, i per l'anti-VHC, la sensibilitat va ser del 98% i l'especificitat del 99%[147]. Un altre metaanàlisi va avaluar la detecció de l'**ADN-VHB** en 12 estudis i l'**ARN-VHC** en 15 estudis a partir de mostres de DBS. La sensibilitat i especificitat del pool d'estudis analitzats per a la detecció de l'ADN-VHB va ser de 95% i 99% respectivament. Mentre que, per la detecció de l'ARN-VHC, la sensibilitat va ser del 98% i l'especificitat del 98%. Tot i els bons resultats de sensibilitat i especificitat trobats en aquests metaanàlisis, tant per a proves serològiques com moleculars, els assajos realitzats a partir de mostres de DBS presenten algunes limitacions: i) tenen una sensibilitat menor per a la detecció dels àcids nucleics del VHB i del VHC en comparació amb els assajos realitzats en plasma, ii) hi ha variabilitat entre les diferents tècniques usades, per falta d'estandardització de tots els passos, inclosa l'elució de sang, i per tant cal validar la tècnica en cada laboratori, i iii) les condicions en que són emmagatzemades les mostres en països on la temperatura i la humitat són elevades poden afectar a la bona conservació dels diferents analits[148].

El límit de detecció de les tècniques moleculars per a la detecció de l'ADN-VHB en mostres de DBS varia entre 900 UI/mL i 4.000 UI/mL, depenent de l'assaig emprat. Tot i que aquests límits permeten detectar la majoria de les persones candidates a rebre tractament antivíric, no servirien per a la monitorització de la infecció, ja que cal que la tècnica sigui molt més sensible. En menor grau també ocorre amb el límit de detecció dels assajos per a la detecció l'ARN-VHC en mostres de DBS, els quals són majors que els que ens poden oferir els assajos en plasma o

sèrum[146]. Durant anys s'han usat assajos de PCR casolanes (*in-house* en anglès*)* o assajos comercials validats en plasma que s'han validat per a l'ús en mostres de DBS sota les condicions de cada laboratori per a la detecció del VHB i VHC. Finalment, des de juliol de 2020, està disponible el primer assaig quantitatiu de detecció de l'ARN-VHC a partir de mostres de DBS amb marcatge CE-IVD (Abbott Molecular)[79]. Pel que fa la detecció de l'ADN-VHB encara no es disposa de cap assaig de detecció, ni cap assaig serològic pel VHB i VHC aprovat per al diagnòstic in vitro a partir de mostres de DBS[149]. Aquest fet ha limitat l'ús de les mostres DBS per part dels laboratoris de microbiologia clínica, ja que requereix una validació prèvia a cada laboratori per als assajos sense marcatge CE-IVD.

Recentment, Roche ha desenvolupat les **targetes de separació de plasma** (*plasma separation cards* en anglès (PSC)), que permeten separar el plasma de la sang capil·lar. Aquestes targetes compten amb la prequalificació de l'OMS i marcatge CE-IVD per al VIH pel seu ús en el sistema Cobas 6800/8800 (Roche)[150], i estan dissenyades sobretot per l'ús en països amb elevada temperatura i humitat (ex. Àfrica), ja que en aquestes condicions la mostra té una major estabilitat respecte a les mostres de DBS. Els resultats obtinguts en diferents estudis demostren que les mostres de PSC es poden usar tant pel diagnòstic serològic com virològic. Un estudi realitzat a Espanya ha comparat els resultats obtinguts de les mostres de PSC amb els de la venipunció fent servir l'algoritme reflex (primer detecció serològica de l'AgHBs i l'anti-VHC, i en cas positiu la detecció de l'ADN-VHB i l'ARN-VHC). Aquest estudi ha demostrat una bona sensibilitat, del 98,4%, i especificitat, del 96%, per a la detecció de l'AgHBs; i una sensibilitat del 95,9% i una especificitat del 100% per la detecció de l'anti-VHC. Els resultats obtinguts de les mostres de PSC són similars als obtinguts amb les mostres de DBS. Pel que fa a la detecció de l'ADN-VHB, la sensibilitat va ser baixa, del 53,8%, però va augmentar fins al 96% en mostres amb una càrrega vírica superior a 2.000 UI/mL[151], llindar clau per a determinar si una persona és candidata o no a tractament segons les guies actuals. Estudis realitzats en DBS per a la detecció

de l'ADN-VHB obtenen sensibilitats superiors[146]. En canvi, per al VHC la sensibilitat per a la detecció de l'ARN-VHC en PSC va ser del 100%, amb un límit inferior de detecció de 866 UI/mL[152].

Una alternativa a les mostres de DBS i del PSC és la **recollida de sang capil·lar fresca** en un tub de col·lecció amb anticoagulant (200-600 µl de sang capil·lar). Molts d'aquests tubs de col·lecció de sang capil·lar comercials presenten aprovació normativa, alguns exemples són Microtainer Blood Collection Tubes (Becton, Dickinson i Company) i la Microvette Automated Processing Tube (Sarstedt). Aquestes mostres però, presenten una logística més complexa similar a les mostres obtingudes per venipunció, ja que poden estar a temperatura ambient durant un màxim de 4 hores, i després s'han de mantenir en fred. Un estudi realitzat a Myanmar ha demostrat la viabilitat de l'ús d'aquestes mostres, utilitzant la tecnologia Xpert per a la detecció de la virèmia. També el Regne Unit ha començat recentment una iniciativa nacional d'auto-mostra usant aquest mètode de recollida de sang sense resultats encara publicats[153].

Finalment, el **fluid oral** també pot ser una mostra alternativa per al cribratge serològic i virològic tant del VHB com del VHC. La mostra de fluid oral es tracta de transsudat de plasma, obtingut a partir de la combinació de saliva amb fluid gingivo-crevicular, és la mostra que es recull amb l'OraQuick, i és preferible a la saliva perquè té una concentració més elevada d'anticossos. Per a la recollida d'aquesta mostra no és necessària la punció, fet que fa que sigui més barata i senzilla de recollir, a més es pot enviar per correu postal al laboratori i permet l'auto-recollida. En poblacions on l'accés venós es difícil, especialment infants, gent gran, usuaris de drogues i pacients en hemodiàlisi, la mostra de fluid oral potser una alternativa; presentant una acceptació superior per part de la població en comparació amb les mostres que requereixen de punció[154,155]. La mostra de fluid oral es pot recollir en diferents recipients com són el col·lector de Salivette (Sarstedt, Alemanya) el qual s'ha usat per a la detecció serològica del VHB i del VHC[156] i la detecció de l'ADN-VHB[157] amb uns resultats molt bons, o bé el col·lector Oracol (Malvern Medical Developments Ltd, Regne Unit) que presenta pitjors resultats per a la detecció

de la virèmia, però en mostres amb càrregues víriques altes presenta una sensibilitat del 92%[158]. També s'han realitzat estudis per a la detecció d'ADN-VHB, els qual han obtingut resultats preliminars prometedors, ja que s'han detectat la meitat dels casos amb càrrega vírica. El fluid oral presenta una sensibilitat d'entre el 78% i el 100% i una especificat d'entre 87% i el 100% per a la detecció de l'AgHBs. La sensibilitat i especificitat per a la detecció de l'AgHBs varia depenent del sistema de recol·lecció de la mostra utilitzat, la població i els valors de tall utilitzats en els immunoassaigs[159]. Estudis posteriors són necessaris per a poder augmentar la sensibilitat de l'assaig en mostres de fluid oral[160]. Pel que fa al VHC, s'ha desenvolupat una prova ràpida d'anticossos en mostra de fluid oral. La mostra es recull amb un aplicador que es passa per les genives per recollir el fluid gingivo-crevicular (més ric en anticossos que la saliva), i es posa amb un tampó obtenint el resultat al cap de 20 min. Per a que la prova funcioni correctament és molt important que les persones no hagin begut, ni menjat, ni mastegat xiclet durant els 15 min previs a la recollida de mostra, i no hagin usat productes de neteja dental 30 min abans. El preu d'aquesta prova en comparació amb les proves ràpides en sang capil·lar és més elevat. La prova més comercialitzada i usada és l'OraQuick HCV Rapid Antibody Test amb marcatge CE-IVD i amb prequalificació de l'OMS[161]. Un metaanàlisi recent analitza l'acceptabilitat i la utilitat d'aquestes mostres per a un auto-cribratge del VHC, trobant que l'acceptació de l'ús d'aquesta mostra pel cribratge va ser molt bona, obtenint que el 87,2% dels participants van recollir la mostra adequadament i el 86,7% van interpretar els resultats correctament[162]. Recentment, les guies de l'OMS de 2022 recomanen l'autorecollida de mostres pel cribratge del VHC[141].

1.4.4. Proves alternatives per al diagnòstic

Sovint amb diferents d'aquestes mostres alternatives per al diagnòstic del VHB i del VHC, podem emprar proves alternatives com són les proves de detecció ràpida o els assajos de detecció d'àcids nucleics en el punt d'atenció, que permeten la descentralització del diagnòstic. Per una banda, les proves ràpides basades en immunocromatografia no requereixen d'equips sofisticats,

ni d'un processament de les mostres previ a la realització de la prova ni de personal qualificat (cal realitzar un ensenyament previ, i a Espanya actualment ho ha de realitzar personal d'infermeria), a més algunes d'elles tenen un cost reduït en comparació amb els assajos realitzats als laboratoris. El seu ús permet la descentralització de la detecció de marcadors serològics, tant del VHB com del VHC, en escenaris on els recursos són limitats, o en col·lectius de difícil accés al sistema sanitari. Per una altra banda, trobem els assajos de detecció d'àcids nucleics en el punt d'atenció, que permeten fer el diagnòstic de la virèmia de forma completament descentralitzada, però requereixen d'equipament.

Pel que fa al diagnòstic de la infecció pel VHB, actualment es disposa de moltes proves per a la **detecció ràpida de l'AgHBs** en el punt d'atenció, i cada cop més s'usen de forma rutinària en determinats entorns. Les proves ràpides per la detecció de l'AgHBs (basades en la immunocromatografia) poden realitzar-se a partir de mostres de sang total, plasma o sèrum i proporcionen un resultat en menys de 20 minuts. Aquest tipus de proves solen oferir bons resultats en comparació amb les proves serològiques clàssiques realitzades al laboratori en sèrum. De fet, un metaanàlisis, en el qual s'inclouen 30 estudis, va avaluar el rendiment de 33 proves ràpides per a la detecció de l'AgHBs, trobant una sensibilitat del 90% i una especificitat del 99,5%[163]. Avaluacions més recents de proves comercials han mostrat una sensibilitat major, de més del 91%, i una especificitat de més del 94%[159].

A part de les proves ràpides per a la detecció de l'AgHBs per al diagnòstic del VHB. També hi ha altres proves ràpides per a la detecció d'altres marcadors serològics del VHB, per a la detecció de l'AgHBe, l'anti-HBs i l'anti-HBe[161]. Les proves ràpides per a la detecció de l'**AgHBe** disponibles presenten una sensibilitat que oscil·la entre el 29,8% i el 82%. Aquestes proves permetrien la determinació de la infecció crònica pel VHB i l'avaluació del risc de transmissió materno-infantil de forma descentralitzada[164–166]. Les proves ràpides per a la detecció d'**anti-HBs** serveixen per a avaluar la immunitat contra el VHB, ja sigui deguda a la vacunació o a una infecció resolta. La

sensibilitat d'aquestes proves ràpides oscil·len entre el 50,4% i el 69,5%, i l'especificitat entre el 93% i el 98,4%[167–169]. Les proves per a la detecció de l'**anti-HBe** permeten identificar pacients en fase de control immunitari parcial per a la infecció del VHB, però els resultats obtinguts fins al moment mostren una sensibilitat d'entre el 45,2-82,8%[165,168,169]. Totes les proves ràpides mencionades presenten una sensibilitat baixa, per tant fa que no siguin útils per a la pràctica diària. Així doncs, actualment no és possible realitzar el diagnòstic complet de la infecció del VHB de forma descentralitzada.

Actualment, la prova Xpert HBV Viral Load en l'instrument GeneXpert (Cepheid) és la única prova en el punt d'atenció de detecció d'**ADN-VHB** disponible en el mercat amb marcatge CE-IVD. La prova proporciona nivells quantitatius d'ADN-VHB en menys de 60 minuts amb una intervenció mínima de l'usuari, però només es comercialitza per l'ús en mostres de sèrum o plasma. El límit de quantificació de la tècnica és de 10 UI/mL, i els resultats presenten una bona correlació amb els resultats obtinguts dels assajos de PCR quantitatives al laboratori[170,171]. Aquesta prova també s'ha usat en mostres de DBS, proporcionant resultats bons, trobant una correlació del 85,4% dels resultats obtinguts a partir de les mostres de DBS per GeneXpert en comparació amb la PCR a temps real, i un límit de de detecció entre 200 i 400 UI/mL [172,173].

El **diagnòstic** en el punt d'atenció del **VHB** hauria d'anar més enllà, amb el desenvolupament d'assajos per a la detecció de l'ADN-VHB ràpids i compatibles per a ser usades en el punt d'atenció. Fins al moment, s'han desenvolupat varis assajos basats en la tecnologia LAMP. Un metaanàlisis recent reporta que aquesta tècnica pot realitzar-se en menys de 60 minuts, mostrant una sensibilitat del 91% i una especificitat del 97% en comparació amb les proves convencionals basades en la tècnica de PCR[174]. Una altra tecnologia per a la detecció de l'ADN-VHB de forma descentralitzada són els assajos d'amplificació de la recombinasa polimerasa (RPA)[175]. Aquestes proves solen ser més ràpides que les basades en la tecnologia LAMP i el seu límit de detecció oscil·la entre 10-1000 còpies de l'ADN-VHB. Tot i que aquestes tecnologies

estan pensades per a la descentralització del diagnòstic del VHB fora del laboratori, les mostres que utilitzen són de plasma o sèrum, i per tant, cal la realització d'una extracció prèvia dels àcids nucleics, normalment mitjançant kits comercials. Tant el tipus de mostra usada com l'extracció prèvia fa que de moment aquestes tecnologies siguin poc compatibles per ser usades de forma descentralitzada. Alguns estudis han provat a realitzar l'extracció d'àcids nucleics a partir de mostres de plasma o sèrum mitjançant mètodes senzills d'escalfament o de tampó de lisi, però la sensibilitat de l'assaig (tant de la LAMP com la RPA) disminueix. Més concretament, un estudi avaluava l'ús de mètodes senzills d'extracció d'àcids nucleics[176] (per ebullició i centrifugació o per microesferes a partir de mostres de sèrum) obtenint un resultat prometedor, sobretot en mostres amb nivells d'ADN-VHB superiors a 200.000 UI/mL, llindar clínic rellevant pel tractament de la transmissió materno-infantil[2].

Pel que fa al **diagnòstic** del **VHC** a partir de mètodes alternatius que permetin la descentralització del diagnòstic trobem: proves ràpides de detecció (immunocromatografies) per a la detecció de l'anti-VHC en mostres de sèrum, plasma, sang total, sang capil·lar o de fluid oral que permeten la lectura dels resultats en 15-20 minuts, proves ràpides de l'antigen del Core del VHC i assajos de detecció de la càrrega vírica (ARN-VHC) en el punt d'atenció[177].

Les proves ràpides per a la detecció de l'**anti-VHC** en diferents tipus de mostres (sang, sèrum o plasma) sorgides en els últims anys, presenten una sensibilitat superior al 97,4% i una especificitat del 98% en dos metaanàlisi realitzats[178,179]. La detecció de l'anti-VHC en mostres de fluid oral presenta una sensibilitat (d'entre 90-91,8%) inferior a la de la sang, sèrum o plasma[180]. Tot i això, les proves ràpides realitzades a partir de fluid oral són adequades per cribrar poblacions d'alt risc, com usuaris de drogues, que presenten dificultats a l'hora d'obtenir una mostra venosa.

La detecció de l'anti-VHC mitjançant proves ràpides facilita fer el primer pas de l'algoritme tradicional del diagnòstic del VHC, però un resultat positiu no és indicatiu d'una infecció activa.

Així doncs, la disponibilitat d'una prova en el punt d'atenció (PoCT) que permet la detecció de l'**ARN-VHC** en més o menys una hora, ha estat un gran avenç en la cursa per a l'eliminació de les hepatitis víriques. Aquest fet ha augmentat l'acceptabilitat de realitzar-se la prova per part de la població, a més, ha permès el diagnòstic descentralitzat i ha reduït les pèrdues de seguiment[181]. Aquests assajos integren l'extracció dels àcids nucleic, la retro-transcripció, l'amplificació i la detecció de l'ARN-VHC permetent el diagnòstic *in situ* de la virèmia[148]. No obstant, el mercat dels PoCT és reduït, dificultant així la disponibilitat d'una alternativa econòmica als assajos actuals. Entre els assajos disponibles actualment es troba l'assaig Xpert HCV Viral Load, el qual requereix de l'instrument GeneXpert i un ordinador portàtil, amb una precisió diagnòstica molt bona (sensibilitat i especificitat del 100% en mostres amb càrregues víriques per sobre el límit inferior de detecció (40 UI/mL)). Aquest assaig consta amb la prequalificació pel l'OMS com a PoCT i amb marcatge CE-IVD per la detecció de l'ARN-VHC en plasma (105 min) o en sang capil·lar amb el cartutx Xpert VL Fingerstick (58 min)[149]. També es va comercialitzar el PoCT Genedrive HCV ID kit, amb prequalificació de l'OMS i marcatge CE-IVD per la detecció de l'ARN-VHC, el límit inferior de detecció de l'assaig era variable depenent del genotip, des de 1.406 UI/mL pel genotip 6 a 3.203 UI/mL pel genotip 6[182], i ha estat descatalogat. També hi ha el Truenat HCV amb marcatge CE i que utilitza 6 µl de sang capil·lar, plasma o sèrum. Aquests últims dos assajos mencionats requereixen de procediments preanalítics, en el cas del GeneDrive calien 12 passos previs per a posar en marxar l'aparell i l'assaig durava 90 min, mentre que el Truenat requereix de l'extracció de l'ARN-VHC, abans de poder realitzar l'assaig[153,161]. Els PoCT, a més, ens permeten realitzar la confirmació de la curació i la monitorització de la reinfecció en persones tractades, tal com recomanen les guies de l'OMS de 2022[141]. Molts estudis han demostrat l'eficàcia i l'acceptabilitat d'aquests assajos, però en poblacions on la prevalença no és molt elevada (superior al 74%), una aproximació basada exclusivament amb la detecció directa de la virèmia pot no ser cost-efectiva. És per això que moltes aproximacions combinen l'ús de proves ràpides d'anti-VHC amb la detecció de l'ARN-VHC en els PoCT, ja que

les proves ràpides són més barates i els resultats s'obtenen més ràpidament, sense necessitat d'un operador especialitzat. Aquest tipus d'estratègia combinada ha resultat ser cost-efectives en diferents poblacions de risc[183].

A part de la tecnologia PoCT per a la detecció de la virèmia explicada anteriorment, avenços tecnològics recents en les **proves de flux lateral** en el punt d'atenció permeten la detecció de l'anti-VHC en menys d'1 min a partir de sang capil·lar (INSTI HCV Antibody (bioLytical, Canadà))[153]. A més, també s'estan desenvolupant noves tecnologies basades en tècniques de LAMP, RT-PCR basada en sistemes de micro-fluídica i CRISPR que presenten un gran potencial per a facilitar el diagnòstic molecular de malalties infeccioses de forma ràpida. Tal com passa en les noves tecnologies desenvolupades pel diagnòstic del VHB, aquestes tecnologies actualment van lligades a un procés d'extracció d'àcids nucleics que en molts casos és necessari realitzar-lo al laboratori. Els resultats fins ara obtinguts en assajos LAMP a partir d'un mètode basat en Cas12 han estat prometedors, amb una sensibilitat del 96% i una especificitat del 100%, i un temps de resposta d'entre 60-90 min en comparació amb els mètodes tradicionals[184].

L'alternativa a la detecció de l'ARN-VHC per a la confirmació de la virèmia és l'ús de **l'antigen Core**. S'han descrit algunes proves ràpides basades en immunocromatografia en mostres de plasma o sèrum amb un temps de resposta de 15-20 min[185,186]. La principal limitació d'aquestes proves és la sensibilitat, ja que els resultats positius s'han obtingut en pacients amb càrregues víriques superiors a 3.000 UI/mL, fet que limita la detecció de tots els pacients positius i hi ha el risc de falsos negatius[187]. Si la sensibilitat d'aquestes proves millora, la detecció de l'antigen Core seria una molt bona alternativa per al diagnòstic descentralitzat de la virèmia. Tot i que actualment no hi ha cap prova ràpida per a la detecció de l'antigen Core, s'està treballant en el seu desenvolupament[188,189].

A part de tots les proves i assajos mencionats anteriorment, actualment, ja hi ha disponibles proves ràpides per a la detecció de múltiples malalties infeccioses, com poden ser Detect 3

HIV/HCV/HBV (Artron Laboratories, Canadà), Triplex HIV, HCV, HBsAg (Biosynex, França) o HepB, HepC, HIV Combination Rapid Test (Maternova, US), entre altres, però la sensibilitat d'aquestes proves ràpides sol ser pitjor a les proves ràpides que només detecten una infecció. A més, s'estan desenvolupant assajos basats en la tecnologia LAMP múltiplex per a la detecció de vàries malalties infeccioses[190].

1.5. Hepatitis B i C en poblacions vulnerables

Les guies de l'ECDC de 2018 indiquen quines són les poblacions vulnerables per al VHB i VHC, així com la metodologia de cribratge per a cada una de les poblacions[61], segons resumeix la **Taula 1**. En aquesta tesi doctoral ens hem centrat en les PQID, persones treballadores sexuals (dones trans i homes) i els migrants.

Taula 1. Grups poblacionals que haurien de ser considerats per a la realització de proves especifiques del VHB i VHC, i la freqüència de les proves. ECDC 2018[61].

Grup	Justificació	A qui i amb quina freqüència
HSH	Prevalença i incidència. Risc de transmissió sexual (VIH, PrEP, *Chemsex*).	Segons risc i prevalença local. Cada 6-12 mesos.
Persones transgènere	Poques dades epidemiològiques. Més d'un factor de risc.	Tots. Cada 6-12 mesos segons risc i prevalença local.
Persones treballadores del sexe	Poques dades epidemiològiques. Més d'un factor de risc.	Tots. Cada 6-12 mesos segons risc i prevalença local.
PQID	Prevalença. Risc de transmissió parenteral.	Tots. Cada 6 o més freqüent, segons incidència local.
Persones privades de llibertat	Prevalença. Més d'un factor de risc, múltiples vies	Tots. Cada 12 mesos (segons risc).
Migrants	Prevalença. Altres factors de risc.	Tots els països amb endemicitat mitja o alta ≥2% seroprevalença
Sense llar	Poques dades epidemiològiques. Altres factors de risc.	Un cop, segons risc. Repetir si el risc és continuat o per les dades locals.

HSH, homes que tenen sexe amb homes; VIH, virus de la immunodeficiència humana; PrEP, tractament de profilaxi pre-exposició al VIH; PQID, persones que s'injecten drogues.

1.5.1. Persones que s'injecten drogues (PQID)

Les PQID representen el centre de l'epidèmia del VHC en països desenvolupats com Europa i EEUU. En comparació amb la població general, les PQID presenten major risc de persecució policial, empresonament, intercanvi de sexe per menjar, habitatge o diners, i diversos comportaments associats a un risc elevat de transmissió i infecció pel VHC (com compartir material d'injecció)[109]. Per aquest motiu, l'OMS defineix aquest col·lectiu com una població clau per a diagnosticar i tractar, per a assolir els objectius d'eliminació marcats pel 2030.

El consum de drogues d'alt risc es defineix com l'ús reiterat de droga/es que provoquen dependència en la persona causant danys físics, psicològics i socials[191], o que exposa a dita persona a una probabilitat o risc elevat de patir problemes de salut. La prevalença global estimada de VHC és del 67%, essent particularment alta en països i entorns on les PQID són criminalitzades, i no tenen possibilitats accés als serveis de reducció de danys (**Figura 19**). S'ha demostrat que els usuaris de drogues que no utilitzen la via injectada pel seu consum, sinó que la fumen o l'esnifen, també presenten un major risc d'infecció pel VHC[2]. Pel que fa a la prevalença del VHB entre les PQID és baixa. A Europa, la prevalença del VHB en PQID és del 3%[192].

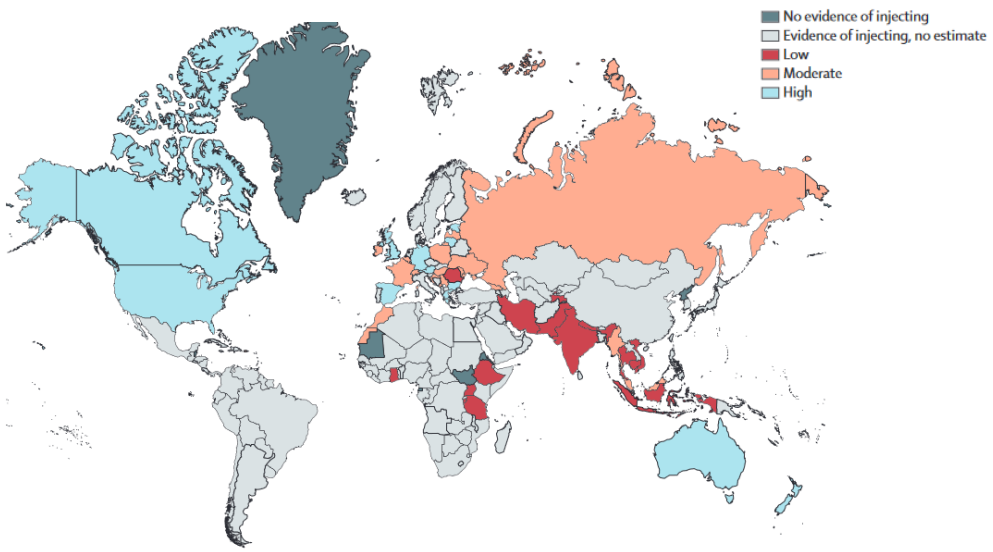


Figura 19. Proporció estimada de PQID que s'han sotmès a proves de detecció d'anti-VHC per país. Baix, indica que menys del 40% de les PQID s'han cribrat; moderat indica que entre el 40-75% de les PQID s'han cribrat; i alt, indica que més del 75% de les PQID s'han cribrat. Hajarizadeh B et al., The Lancet Global Helath, 2023[60].

Actualment a Europa, les pautes de consum de drogues són més complexes degut al consum de certs medicaments, noves substàncies psicoactives i ketamina, així com l'ús de plataformes de venta online[193]. El consum de drogues s'associa a múltiples problemes sanitaris i socials, cada cop més complicats, com són: problemes de salut mental, autolesions, falta de llar, delinqüència juvenil, i explotació de persones[193]. Segons l'Informe Europeu sobre drogues publicat l'any 2022[193], s'estima que el 29% dels adults de la Unió Europea han consumit drogues algun cop a la seva vida. La substància més consumida actualment és el cànnabis, 22 milions d'adults declaren haver consumit aquesta droga en l'últim any, la segona substància més consumida són els estimulants, 3,5 milions de persones van reportar haver consumit cocaïna en l'últim any, 2,6 milions MDMA i 2 milions amfetamines. La reducció del consum d'opiacis en els últims anys és evident, però segueix essent la substància addictiva que provoca més danys a la persona que la consumeix.

A Catalunya, també hi hagut una clara evolució tant en el tipus de droga com en la via de consum, des dels anys setanta a l'actualitat. Actualment, el consum de cocaïna i cànnabis ha augmentat, mentre que el consum d'heroïna, droga per excel·lència dels anys 70, ha disminuït, canviant així les vies d'administració de drogues. El consum per via inhalada o fumada ha augmentat, i s'ha vist una disminució en el consum per via parenteral (l'any 2022, el 27% de les persones consumidores de drogues reportaven que la via injectada era la via de consum més freqüent)[191,194]. A més, l'increment del consum de medicaments opioides entre persones joves ha provocat un augment d'intents suïcides, episodis de sobredosi i una major prevalença del VHC[194].

Tot i la disminució del consum de drogues per via parenteral en els últims anys, aquesta via de consum de substàncies s'associa a pautes de consum més perjudicials i a un major risc de contraure infeccions com el VIH i les hepatitis víriques degut a la pràctica de compartir xeringues, agulles i altre material d'injecció (a Catalunya el 40% reportaven haver compatit material)[194] o

la pràctica del "*front-backloading*", que consisteix en la transferència de restes de droga dissolta d'una xeringa a un altra[193]. Les pràctiques de risc mencionades presenten no només un major risc d'infecció, sinó que si es mantenen en el temps poden presentar un major risc de reinfecció pel VHC en cas de curar-se espontàniament o per tractament. Per això, és necessari una cobertura amplia dels serveis de reducció de danys per a la prevenció de la transmissió, així com models centrats en el pacient que ofereixin el diagnòstic i tractament del VHC de forma integrada amb els serveis de reducció de danys o centres de tractament de les drogodependències[73,109].

Els programes d'intercanvi de xeringues (PIX), com les sales de consum supervisat, a través de la provisió d'agulles, xeringues, altre material d'injecció i material per altres vies de consum, i els programes de manteniment de la metadona (PMM), els programes d'intervenció de la sobredosi o els programes de dispensació d'heroïna, constitueixen les principals vies de prevenció primària de les hepatitis víriques en PQID, així com el primer punt de contacte amb els serveis de recolzament pels usuaris[191,195]. Durant l'estat d'alarma de la COVID-19 (entre març i juny de 2020) alguns d'aquests centres van romandre tancats, fet que va poder afectar a l'aprovisionament de material d'injecció segura i a la reducció de les proves de VIH i hepatitis víriques l'any 2020[193]. Un estudi realitzat a Espanya indica que el número d'usuaris que van assistir aquests centres durant l'estat d'alarma va disminuir un 22% i que la distribució mitja d'agulles també va disminuir (un 40%) en comparació amb el 2019[196]. Tot i que, la tendència d'infecció del VIH a Europa en consumidors de drogues ha disminuït, i no sembla de moment afectada per aquest tancament, alguns països com Estònia, Lituània, Polònia i Romania presenten una prevalença d'anticossos enfront el VIH del 20%, indicant que les mesures preventives no són prou eficaces per a poder reduir les infeccions transmeses per via parenteral i per altres vies. Molts cops, aquests programes (PIX i PMM) també serveixen de primer punt de contacte amb els serveis de salut, així com d'altres serveis de recolzament social i psicològic. Els usuaris que assisteixen a centres de reducció de danys es troben en un ambient lliure d'estigma

i discriminació i, per tant, aquests centres representen un espai òptim per a la vinculació a l'atenció sanitària[197]. La implementació d'aquests programes ha estat reconeguda per l'OMS com un objectiu prioritari per a la reducció de riscos associats al consum de drogues. L'any 2020, només República Txeca, Espanya, Luxemburg i Noruega van complir els objectius de l'OMS de proporcionar 200 xeringues per persona que s'injecta drogues a l'any i tenir el 40% de la població de consumidors d'opioides d'alt risc amb tractament de manteniment amb agonistes opiacis[193]. De cara a 2030, l'objectiu de l'OMS és proporcionar 300 xeringues per persona que s'injecta drogues a l'any.

A Catalunya, els serveis de reducció de danys van començar a principis dels anys noranta impulsats pel Departament de Salut, l'Agència de Salut Pública de Barcelona i el Col·legi de Farmacèutics de Barcelona[191]. Actualment, una xarxa de serveis de reducció de danys s'encarreguen de proporcionar material d'injecció segur. Els principals serveis i programes que duen a terme són: el PIX, l'atenció sociosanitària, les sales de consum supervisat i el programa de prevenció de sobredosi. En el programa PIX, a més, s'ofereix educació sanitària, dispensació de materials pel consum injectat i inhalat, i preservatius per a prevenir les infeccions de transmissió sexual. L'any 2020, des de l'Agència de Salut Pública de Catalunya (ASPCAT), es va publicar el "Protocol de diagnòstic i tractament del virus de l'hepatitis C per persones drogodependents", l'objectiu del qual és aconseguir el diagnòstic, el tractament i la curació de tots els pacients infectats pel VHC atesos als centres ambulatoris de drogodependències (CAS) de Catalunya que no han pogut ser tractats fins a l'actualitat[198].

L'any 2022, segons l'informe elaborat per l'ASPACT es van atendre 5.434 persones en els serveis de reducció de danys i es van distribuir 741.646 xeringues arreu del territori[199,200]. En l'aspecte sanitari, es van dur a terme 536 cribratges pel VIH, VHB i/o VHC (anti-VHC), i 29 vacunacions enfront a l'hepatitis A i B[194].

A més, des de l'any 2008 es realitza l'estudi REDAN per a la monitorització bioconductual en PQID que assisteixen a serveis de reducció de danys i està coordinat pel Centre d'Estudis Epidemiològics sobres les Infeccions de Transmissió Sexual i Sida de Catalunya (CEEISCAT). Això ha permès analitzar la tendència del VHC i VIH en aquest col·lectiu[201]. L'anàlisi realitzat el 2019 reporta que el 95,5% dels participants s'havia realitzat una prova per a la detecció d'anti-VHC alguna vegada a la vida. El 76,3% dels participants autorreportaven haver tingut hepatitis C, i d'aquests el 82,5% haver estat en seguiment clínic i el 68,7% haver rebut tractament. La seroprevalença obtinguda en l'estudi va ser del 74% (**Figura 20**), dels qual el 18,5% eren desconeixedors. Pel que fa al VHB, el 14,3% reportava haver estat diagnosticats alguna vegada a la vida, i el 40,8% dels participants entrevistats afirmaven no haver estat vacunats o ho desconeixen. Així doncs, aquestes dades recents demostren que les taxes de diagnòstic i tractament en aquesta població segueix essent baixa, i el desconeixement de l'estat serològic i virològic és alt[202].

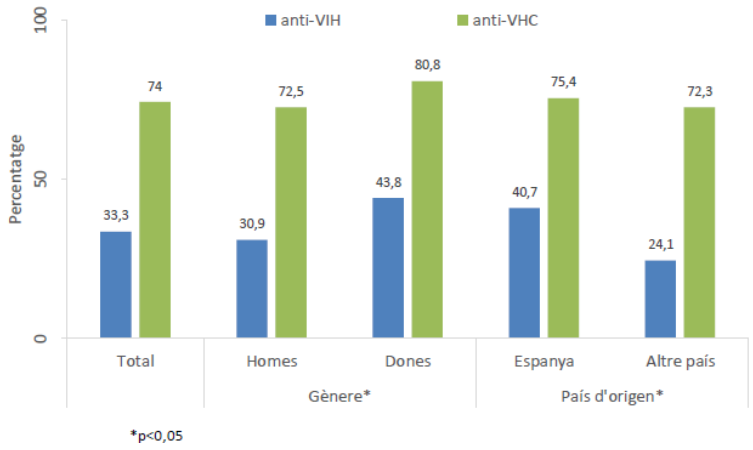


Figura 20. Prevalença d'anticossos enfront el VIH i el VHC segons gènere i país d'origen, estudi REDAN. CEEISCAT i ASPCAT, Estudi REDAN, 2019[202].

També, l'estudi Hep*Cdetect* II realitzat en PQID en un CRD es va realitzar una cascada de curació del VHC calculat a partir dels resultats de les proves del VHC juntament amb les dades autodeclarades dels participants en el qüestionari. En aquest estudi, el 28% dels participants eren migrants; el número de persones cribrades prèviament pel VHC era menor entre els

migrants i a més, el número de persones migrants tractades i curades era menor (**Figura 21**). Aquest estudi mostra que aquells grups més vulnerables tenen un menor accés al diagnòstic i tractament de les hepatitis víriques[203].

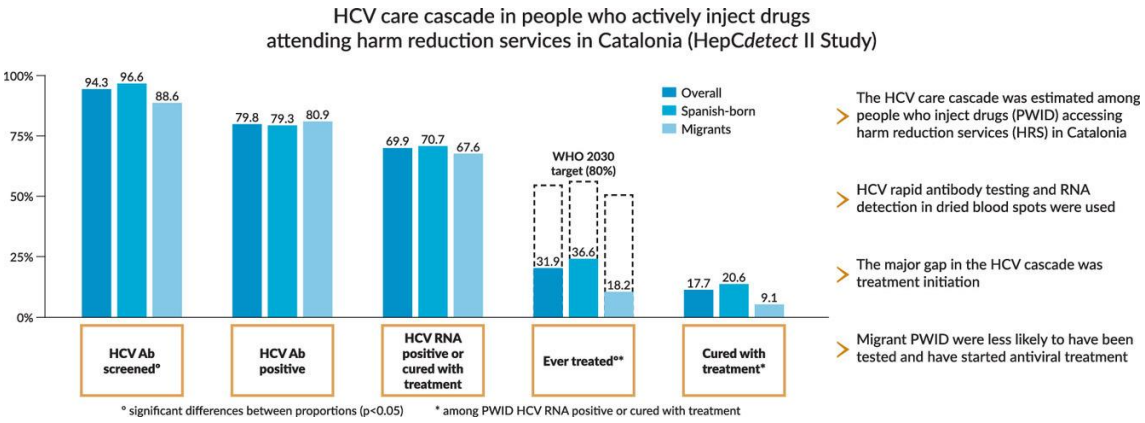


Figura 21. Cascada de curació del VHC en PQID que assisteixen a un CRD de Catalunya (HepC*detect* II). Folch C, et al. International Journal of Drug Policy, 2021[203].

La identificació de la infecció en aquesta població pot veure's obstaculitzada per factors individuals com la reticència a realitzar-se la recollida de mostra per venipunció o por als efectes adversos dels antics tractaments per a la curació del VHC. L'algoritme convencional en dos passos, fa necessària vàries visites als centres sanitaris, fet que provoca moltes pèrdues durant el seguiment[114]. L'aparició dels nous tractaments orals amb AAD, amb pautes curtes i sense contraindicacions, ha obert una oportunitat per l'eliminació del VHC en aquest col·lectiu. No obstant, calen estratègies simples i descentralitzades per implementar el cribratge i tractament en els serveis comunitaris als quals aquestes persones assisteixen habitualment. Un estudi previ realitzat pel nostre grup va avaluar l'ús de l'assaig GeneXpert i l'ús de mostres de DBS per a descentralitzar el diagnòstic en aquest col·lectiu. Primerament, es va avaluar l'ús de mostres de DBS per a la confirmació de virèmia en el laboratori (2016-17), i segonament, es va avaluar l'ús de la plataforma GeneXpert PoCT en mostra de sang capil·lar per a la detecció de virèmia en el centre de reducció de danys, REDAN La Mina (2018-19). Totes dues estratègies de descentralització van demostrar ser molt fiables pel diagnòstic simplificat de la infecció virèmica

del VHC en PQID[181,204]. A més, una revisió sistemàtica demostra que les intervencions en les quals el diagnòstic es realitza de forma descentralitzada en el punt d'atenció augmenta la retenció en el sistema sanitari i per tant, augmenta les taxes de tractament[205].

1.5.2. Les persones treballadores del sexe

Les persones treballadores del sexe són adults (majors 18 anys) de sexe femení, masculí, trans i gènere divers que reben diners o béns a canvi de serveis sexuals, ja sigui de forma regular o ocasional. El treball sexual es definit com el sexe consentit entre adults, que pot variar en el grau en que és més o menys "formal", o organitzat[110]. Els professionals del sexe s'enfronten a desigualtats socials i sanitàries, afavorint el risc d'adquirir infeccions com el VIH, hepatitis víriques i altres infeccions de transmissió sexual i sanguínia. La càrrega desproporcionada d'infeccions a les que s'enfronten les persones treballadores del sexe varia globalment degut als factors socials, polítics, econòmics i culturals. Entre els riscos als qual s'enfronten hi ha els conferits per l'entorn laboral i de vida insegurs, majors índexs de violència estructural (criminalització, actuació policial), inseguretat econòmica, escassa salut sexual i un menor accés als serveis sanitaris[110]. Tot i els esforços per avaluar i abordar les desigualtats en aquest col·lectiu, les persones treballadores del sexe segueixen essent el grup més desatès.

Les persones treballadores del sexe presenten un major risc d'infecció pel VHB per via sexual, degut a l'exposició a múltiples parelles, l'escàs accés a material per a practicar el sexe amb protecció (preservatius), i el consum de drogues o hormones per via injectada. El risc d'infecció pel VHC és baix, però es pot veure augmentat en persones amb múltiples parelles sexuals, que consumeixen drogues, prenen hormones per via injectada i en persones que viuen amb el VIH[2]. Aquest fet, fa que el risc d'infectar-se pel VHB i el VHC de les seves parelles o al revés no pugui ser ignorat. A més, aquest col·lectiu sol presentar factors de risc associats que augmenten el risc de mantenir relacions sexuals sense protecció.

Les dades de prevalença pel VHB i pel VHC en persones treballadores del sexe de les que es disposen en la bibliografia són pocs. La preocupació d'aquestes infeccions dins d'aquest grup és elevada, sobretot per a les persones que viuen amb el VIH, ja que tenen un major risc de contraure el VHB i el VHC[206]. No obstant, el risc de contraure el VHB i el VHC en persones amb VIH és controvertit, ja que hi ha estudis que demostren el contrari, que les persones treballadores del sexe presenten un major risc de monoinfecció per un dels tres virus enfront al risc de presentar una co-infecció[207,208].

Per tot el mencionat, l'OMS inclou a les persones treballadores del sexe, que moltes vegades també són usuàries de drogues per via injectada i trans que usen hormones per via injectada com a població de risc per al VHB i VHC[2,141].

Les prevalences pel VHB i VHC trobades en aquest col·lectiu, en molts casos no són extremadament elevades, sobretot entre persones treballadores del sexe joves. En un estudi realitzat a Brasil l'any 2017, el 1,7% de les dones treballadores del sexe presentaven infecció activa pel VHB, i el 0,7% pel VHC. Però només el 28% d'elles estaven vacunades enfront al VHB[209]. És per això, que tot i que les prevalences d'infecció pel VHB i VHC siguin baixes, són susceptibles d'infectar-se, per tant, calen intervencions preventives de salut sexual, així com de consum de drogues i un reforç de la vacunació enfront el VHB. En aquest sentit, un estudi realitzat l'any 2019 per A. Rajan a Canadà reporta que el 68,3% dels participants havien estat vacunats pel VHB[210]. Aquesta dada és similar a estudis realitzats a Bèlgica (2003), Anglaterra (2006) i Països Baixos (2015). A més, en l'estudi realitzat a Canadà, els participants amb antecedents de consum de drogues per via injectada o que s'havien realitzat proves de cribratge pel VIH i ITS tenien una major probabilitat de vacunació autodeclarada pel VHB[210]. El conjunt d'aquests resultats suggereix que aquest col·lectiu no assisteix al sistema sanitari per por a l'estigma i per dificultat a l'accés al sistema sanitari, ja que en països de renta alta molts cops aquest treball l'exerceixen persones migrants, però que sí que acudeix a centres comunitaris per al cribratge d'altres

infeccions. Per tant, els centres comunitaris juguen un paper clau per a la integració del cribratge, així com l'educació per a la prevenció, diagnòstic i el tractament de les hepatitis víriques. Les actuals guies del VIH, recomanen la vacunació enfront el VHB en aquelles persones que viuen amb el VIH i que són susceptibles a infectar-se[211], indicant la importància d'integrar programes pel VHB en centres de reducció de danys, salut sexual i iniciatives enfront el VIH.

A Catalunya, es va realitzar un estudi en aquest col·lectiu amb resultats similars als esmentats en l'estudi realitzat a Canadà. En l'estudi Hep*Cdetect* (2015-16) es va realitzar el diagnòstic del VHC a partir de mostres de DBS en HSH, dones trans treballadores del sexe (TTS) i homes treballadors del sexe (HTS), sense trobar cap participant virèmic pel VHC. Més tard, es va realitzar l'estudi Sweetie (2017-18), estudi que va donar lloc a l'estudi SexCohort, en el qual es va fer el cribratge integrat d'ITS incloent hepatitis víriques. L'estudi Sweetie es va dur a terme en dos centres comunitaris de Barcelona els qual assistien TTS i HTS. La prevalença d'infecció activa pel VHB trobada va ser del 0,8%, però el 34,2% dels participants havien estat exposats al virus, dels quals el 69% ho desconeixia. Pel VHC, en canvi no es va trobar cap participant virèmic al igual que en l'estudi Hep*Cdetect*, però el 2,4% dels participants presentaven anticossos[124]. La principal via de transmissió del VHC en aquest col·lectiu és per via parenteral[61,212], i el nombre de participants tant del Hep*Cdetect* com del Sweetie usuaris de drogues per aquesta via era baixa fet que podia indicar la baixa seroprevalença i no haver trobat cap infecció activa[124]. Ara bé, els participants van reportar pràctiques sexuals de risc i ús de drogues durant les relacions sexuals, fet que indica que és recomanable un monitoratge periòdic per a les hepatitis víriques en aquest col·lectiu[213].

1.5.3. Migrants

La distribució del VHB i VHC a escala global és desigual afectant sobretot a països de renta baixa i mitja, on les prevalences per aquestes infeccions són altes (**Figura 22**). Aquest fet és degut a la transmissió vertical i horitzontal, sobretot a través de pràctiques mèdiques no segures, ús de

materials tallants (ex. afaitadores) entre diferents persones sense esterilització. És per això que migrants provinents de països amb endemicitat mitja o alta (prevalença del VHB o seroprevalença del VHC en la població general ≥2% i ≥5%, respectivament) presenten un major risc de patir la infecció pel VHB i/o pel VHC. A tot això, es suma que les poblacions de migrants desplaçades, durant la seva ruta migratòria poden ser vulnerables a abusos sexuals i violència augmentant el risc d'adquisició de malalties de transmissió sexual i sanguínia. Per això, l'OMS i l'ECDC recomanen cribrar a les persones migrants provinents de països d'alta o mitja endemicitat[2,211].

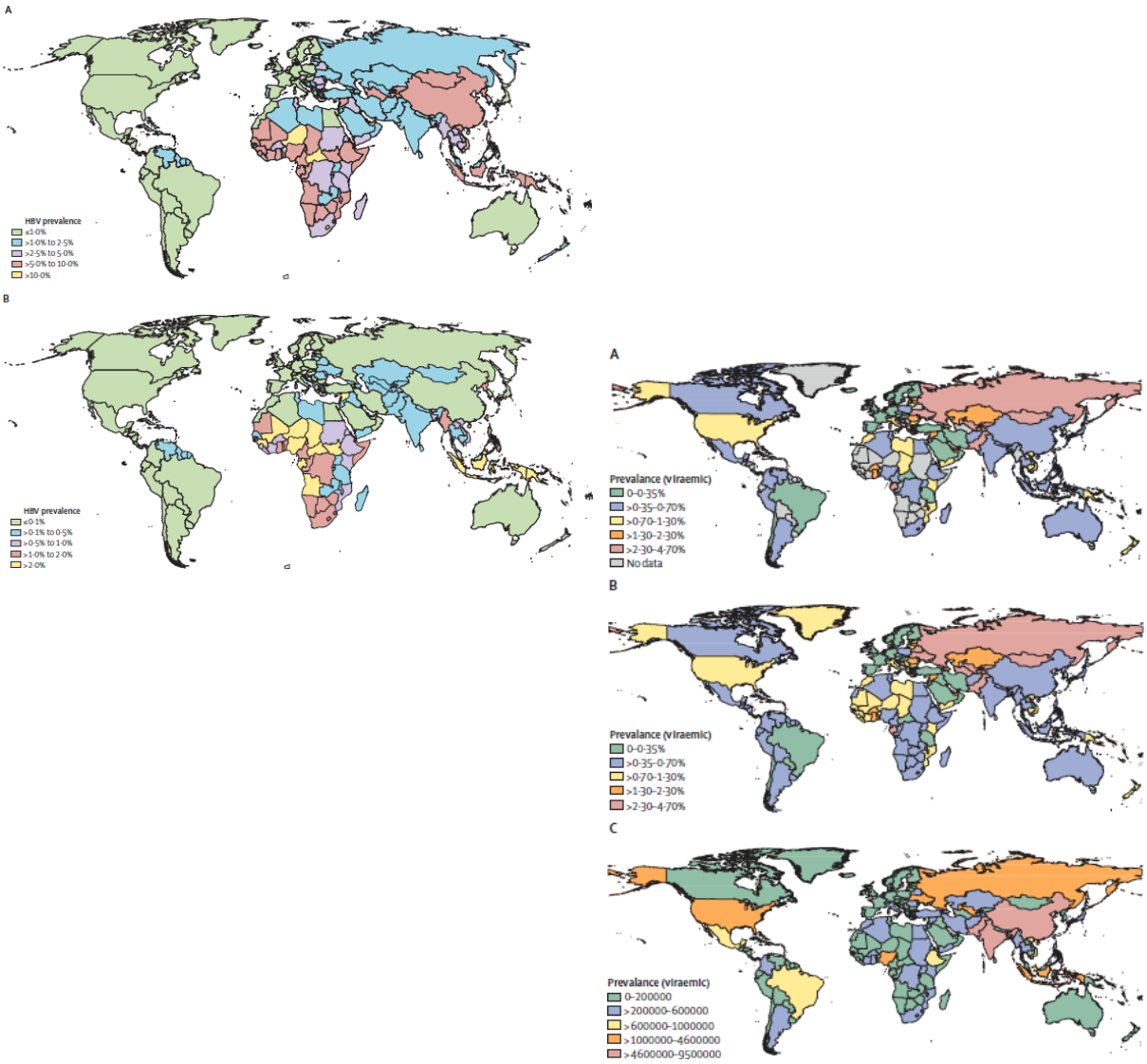


Figura 22. Distribució de la prevalença del VHB (AgHBs positiu) (dalt) i VHC (baix) globalment. Font: The Polaris Observatory Collaborators, The Lancet, 2022 i 2023[214,215].

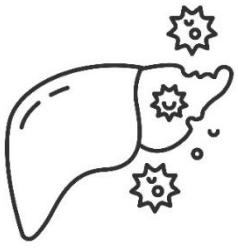
A Europa, a l'igual que a Nord Amèrica i Austràlia, regions amb baixa prevalença pel VHB i VHC, la prevalença d'infecció per les hepatitis víriques entre les persones migrants nascudes en països de mitja o alta endemicitat reflexa sovint la prevalença del país d'origen i no del país receptor[216]. Els migrants poden tenir dificultats per accedir a l'atenció sanitària o als serveis de proves de VIH o d'hepatitis víriques degut a l'estigma, les diferències lingüístiques, discriminació i barreres legals[2,217]. Per tant, estratègies descentralitzades en espais comunitaris per al cribratge de les hepatitis víriques poden facilitar el diagnòstic, augmentant el número de persones cribrades i permetent una unió al sistema sanitari més equitativa[218]. Les guies actuals de l'OMS recomanen la descentralització del cribratge, així com estratègies específiques d'unió al sistema sanitari en persones migrants, per tal d'augmentar el diagnòstic i el tractament en aquesta població[2].

L'any 2023, el 15,4% de la població espanyola era migrant, similar a les xifres de Catalunya (17,2%). Un estudi realitzat l'any 2018 va estimar que 100.000 migrants residents a Espanya són positius a anti-VHC, i 70.000 són virèmics pel VHC[219]. La comunitat autònoma amb el major número absolut de casos estimats pel VHC és Catalunya, seguida de Madrid i la Comunitat Valenciana. Les nacionalitats amb la major contribució de casos estimats segons la prevalença en el país d'origen pel VHC són Romania, Itàlia, Pakistan, Equador, Argentina, Colòmbia, Ucraïna, Senegal, Rússia, Nigèria, Veneçuela, la Xina, Perú i Brasil. Pel que fa al VHB, tot i la introducció de la vacunació universal entre el 1991 i 1996, el número de casos en població migrant no ha disminuït en els últims anys, probablement degut al flux migratori de persones provinents d'àrees endèmiques com Àsia i del Nord d'Àfrica[216]. A més, s'estima que el 38% del total de casos d'hepatitis B crònica i el 12% del total de casos d'hepatitis C crònica a Europa es dona en població migrant[220]. Més concretament, a Catalunya, el 53% dels pacients positius a AgHBs són migrants de regions d'alta endemicitat com són Romania, Àfrica, Sud Amèrica, Xina i Pakistan[221].

El 2019, el nostre grup va dissenyar i pilotar un nou model d'atenció pels migrants, basada en una estratègia innovadora de cribratge descentralitzat en la comunitat i una ruta senzilla de

derivació al sistema sanitari per fomentar l'accés al tractament. L'estudi Hep*Clink* es va dur a terme en població pakistanesa resident a l'àrea metropolitana de Barcelona. El reclutament dels participants es va dur a terme a través d'agents comunitaris de salut paquistanesos (home i dona) que parlaven urdú i una infermera comunitària. Durant la sessió de reclutament en primer lloc es realitzava una sessió educativa amb l'eina HEPARJOC[222], de forma grupal o individual. El reclutament es va realitzar en el consolat, escoles de taxi, en la festa nacional i en mesquites de l'àrea de Barcelona. Aquells participants positius a la prova ràpida d'anticossos pel VHC se'ls recollia directament una mostra de sang seca per a la confirmació de virèmia al laboratori. Els participants virèmics eren vinculats a la Unitat de Salut Internacional de Drassanes Vall d'Hebrón, on podien rebre també el tractament descentralitzat per primera vegada en aquest centre. Aquest estudi va demostrar la viabilitat del cribratge comunitari del VHC, amb un alt grau d'acceptabilitat per part de la població. A més, va demostrar que el 80% dels participants havien accedit al sistema sanitari però només el 9,7% se'ls havia cribrat amb anteriorat[223].

Un altre exemple és l'estudi realitzat a Holanda entre migrants sense papers i residents sense seguretat social els qual es van cribrar pel VHB, VHC i VIH en ONGs. L'estudi va demostrar que la prevalença d'infecció per aquests virus en aquesta població era superior a la de la població holandesa. El reclutament dels participants es va realitzar a la comunitat, a través d'ONGs. La prevalença trobada pel VHB va ser del 2,5%, el 0,7% presentava una infecció crònica pel VHC i del 1,1% pel VIH. Tot i que les prevalences no són extremadament altes, el 30% dels participants havien estat exposats prèviament al VHB[224], indicant que aquesta població és altament susceptible a la infecció pel VHB i en menor grau pel VHC.



Hipòtesis

2. Hipòtesis

1. Les mostres de DBS són una bona mostra alternativa per a la determinació de la curació post-tractament del VHC, així com la detecció de la virèmia recurrent, en persones que s'injecten drogues i acudeixen a centres de reducció de danys.
2. El genotipat del VHC en mostres de DBS permet la diferenciació entre reinfecció i fracàs terapèutic en aquesta mateixa població.
3. Integrar el cribratge del VHB i el VHC, juntament amb altres ITS, en centres comunitaris on accedeixen persones treballadores del sexe, és viable i ben acceptat, i permet la identificació d'individus susceptibles a ser vacunats enfront el VHB.
4. La intervenció comunitària que promou la prevenció, diagnòstic i tractament de les hepatitis B i C és ben acceptada i viable en migrants de Pakistan, Senegal i Romania.
5. La prevalença d'hepatitis B i C en migrants de Pakistan, Senegal i Romania, és similar a l'observada en el país d'origen.



Objectius

3. Objectius

3.1. Justificació de la unitat temàtica de la Tesi Doctoral

Tot i els importants avenços en la millora del diagnòstic i tractament del VHB i del VHC, les hepatitis víriques segueixen essent una de les principals causes de morbi-mortalitat degut a un agent infecciós. Malgrat, l'estratègia de l'OMS d'eliminació de les hepatitis víriques pel 2030 com a problema de salut pública, a finals de l'any 2022, només el 13% i el 36% de les persones amb infecció crònica pel VHB i el VHC, respectivament, havien estat diagnosticades[225].

La present tesi doctoral es centra en diferents aproximacions per al diagnòstic descentralitzat, en diversos centres comunitaris, de les hepatitis víriques B i C en poblacions vulnerables (com són les PQID, les persones treballadores del sexe i les persones migrants), així com l'avaluació de la curació i la detecció de la reinfecció després del tractament descentralitzat en PQID. S'ha demostrat que l'ús de models d'atenció descentralitzats, com els desenvolupats en la present tesi, són claus com a via alternativa per a l'atenció de les hepatitis víriques en poblacions a risc que sovint tenen un menor accés al sistema sanitari formal. A més, les accions comunitàries de cribratge dutes a terme per treballadors comunitaris, o bé per infermeres comunitàries, així com la participació de líders de cada comunitat i persones en situació similar (*peers* en anglès), juguen un paper molt important en l'eliminació de barreres com l'estigma, i donar visibilitat al cribratge d'aquestes infeccions. Així doncs, les accions comunitàries realitzades en CRD, ONGs, llocs de culte, entre altres, permeten augmentar la cobertura i l'impacte de les proves de cribratge. En aquest sentit, aquesta tesi recull tres estratègies de micro-eliminació específicament dissenyades per a tres poblacions vulnerables.

Per una banda, les PQID presenten un elevat risc d'infecció pel VHC, calculant-se que un terç de la població mundial de PQID presenta una infecció virèmica, i a més a més, les taxes de diagnòstic i tractament són baixes, ja que no eren candidates a rebre els tractaments basats en

l'interferó. A més, l'adherència al tractament pot ser baixa, i moltes PQID segueixen consumint drogues a risc de reinfectar-se, per tant, cal fer un seguiment per a la confirmació de la cura i el diagnòstic precoç de la reinfecció, tal com recomana l'EASL[5]. Per altra banda, les persones treballadores del sexe tenen major risc d'infecció pel VHB, degut a les pràctiques sexuals no segures, així com pel VHC, però en menor mesura. Tot i que les prevalences observades en diferents estudis en aquesta població no són extremadament altes, el seu desconeixement, així com la baixa taxa de vacunació enfront el VHB fa que les guies de l'OMS les descrigui com una població clau per a cribrar. Finalment, els migrants de països endèmics per al VHB i VHC poden presentar prevalences per aquestes infeccions similars a la del país origen i no la del país receptor. A més, els tres col·lectius són vulnerables a l'estigma social, pobresa i problemes de salut mental. També presenten múltiples barreres (socials, administratives i/o sanitàries) que els dificulten l'accés al sistema sanitari formal. Cal tenir en compte, a més a més, que sovint aquestes tres poblacions se solapen entre elles; per exemple, el treball sexual es relaciona moltes vegades amb el consum de drogues i la immigració. Per altra banda, les PQID poden practicar conductes sexuals de risc i un percentatge elevat són migrants. Així doncs, els comportaments de risc i la vulnerabilitat d'aquestes tres poblacions fan que presentin sinergies entre elles les quals provoquen que el risc de presentar una infecció per al VHB i VHC sigui superior al de la població general.

Per tant, tant a nivell global com regional, era necessari el desenvolupament de noves estratègies de micro-eliminació, focalitzades en cadascuna d'aquestes tres poblacions, per augmentar la taxa de diagnòstic, i vinculació al sistema sanitari a través de rutes de derivació simplificades per a accedir a l'atenció mèdica i el tractament antivíric, així com caracteritzar l'epidèmia en cadascuna d'elles. En aquest sentit, les guies de cribratge del VHB i VHC descrites per l'OMS recomanen l'ús d'algoritmes diagnòstics simples per al diagnòstic de les hepatitis víriques, incloent l'ús del DBS, i el desenvolupament de proves ràpides i assajos per a la detecció de la virèmia en el punt d'atenció, amb la fi de descentralitzar no només el diagnòstic de les

hepatitis víriques, sinó també el tractament, per a poder arribar a eliminar les hepatitis víriques en poblacions més vulnerables[2].

Els projectes en els quals es basa aquesta tesi deriven de l'experiència prèvia del nostre grup en la validació de noves eines per facilitar el diagnòstic de la infecció virèmica pel VHC en poblacions vulnerables. Pel que fa a PQID, en l'estudi Hep*Cdetect* II (2016-18) en persones que acudien a CRDs es va validar l'ús de mostres de DBS per al diagnòstic de la infecció virèmica pel VHC; en concret, es va avaluar la utilitat de la detecció directa de l'ARN-VHC en mostres de DBS (obtingudes de manera descentralitzada pel personal del CRD formats prèviament), com a estratègia alternativa de diagnòstic en un sol pas, substituint l'estratègia diagnòstica convencional en dos passos (cribratge d'anticossos i confirmació de la virèmia en sang venosa), donada l'elevada seroprevalença del VHC en aquesta població. Anant un pas més enllà, també es va implementar i avaluar el diagnòstic totalment descentralitzat al CRD REDAN La Mina, mitjançant la detecció de l'ARN-VHC en sang capil·lar fresca amb el nou assaig molecular en el punt d'atenció Xpert HCV VL Fingerstick, que requereix l'equip GeneXpert (Cepheid), abans que es comercialitzés (2018-19). Es va demostrar un excel·lent rendiment diagnòstic i la viabilitat de l'entrega de resultats el mateix dia en el 80% dels casos, obrint la nova possibilitat d'iniciar el tractament antivíric sense demores[181]. Finalment, des de 2019, hem col·laborat en l'estudi pilot CHIME de cribratge i tractament descentralitzats (*test-and-treat program*, en anglès) en PQID que acudeixen a aquest mateix CRD. En el context d'aquest darrer estudi, en l'**Article I** (Annex 1) d'aquesta tesi doctoral hem avaluat la utilitat de les mostres de sang seca per a la confirmació de la curació (RVS) després del tractament, així com per a la identificació precoç de la reinfecció com a estratègia alternativa a la prova en el punt d'atenció per a aquells centres que no puguin disposar d'un equip GeneXpert. En els casos que presentaven virèmia després del tractament, hem avaluat la utilitat del genotipat del VHC a partir de mostres de DBS recollides abans i després del tractament per a determinar si es tractava d'una reinfecció o d'un fracàs terapèutic. Aquesta informació és clau a l'hora d'escollir el règim de retractament més adequat en cada cas.

Pel que fa a la població de persones treballadores del sexe, a Catalunya, diferents ONGs ofereixen el servei de prova ràpida del VIH i, en un estudi previ (Sweetie), s'havia pilotat amb èxit el cribratge de diverses ITS mitjançant la descentralització de la recollida de diferents mostres biològiques[124]. Així doncs, seguint la línia de millorar l'accés al diagnòstic de les hepatitis víriques en poblacions vulnerables, en el marc d'un nou estudi de cribratge i monitorització d'ITS víriques i bacterianes en TTS i HTS reclutats en dos ONGs de Barcelona (SexCohort, 2019-2021), vam seguir oferint la determinació dels marcadors serològics i moleculars de la infecció pel VHB i VHC. En aquest cas, donada l'àmplia diversitat de proves a realitzar al laboratori i la disponibilitat d'una infermera finançada per l'estudi, vam treballar amb mostres de sang venosa recollides a les ONGs. Donada l'elevada transmissibilitat del VHB per via sexual, així com l'elevada proporció de població migrada entre les persones participants, en l'**Article II** (Annex 1), ens vam plantejar caracteritzar la prevalença d'exposició al VHB i els seus factors de risc, així com avaluar les necessitats de vacunació en aquesta població i seus determinats, per tal de poder dissenyar, en el futur, estratègies de cribratge i preventives més dirigides i basades en l'evidència.

Finalment, pel que fa a població migrant de països endèmics pel VHB i/o pel VHC resident a Catalunya, prèviament el nostre grup havia desenvolupat i pilotat un nou model d'atenció centrat en el pacient, basat en una acció comunitària. L'estudi HepC*link* (2019-2020) va demostrar la viabilitat del cribratge descentralitzat del VHC en població pakistanesa a l'àrea metropolitana de Barcelona mitjançant una prova ràpida d'anticossos pel VHC i la confirmació de la virèmia en mostres de DBS, oferint el tractament antivíric descentralitzat en la Unitat de Salut Internacional (USI) Vall Hebrón-Drassanes[223]. En l'estudi HepBC*link* (2020-23), vam voler ampliar aquest model d'atenció basat en una acció comunitària que reuneix educació, cribratge i accés simplificat al tractament per al VHB i al VHC en les poblacions migrants de Romania, Senegal i Pakistan que vivien a l'àrea metropolitana de Barcelona, amb l'objectiu d'avaluar la seva viabilitat i prevalença per ambdós virus (**Manuscrit I**, Annex 1). Vam escollir aquests tres

països d'origen perquè presenten prevalences elevades pel VHB i VHC en el país d'origen, i a més, la bibliografia estima que la prevalença del VHB i VHC a Espanya i Catalunya d'aquestes poblacions és més elevada que la prevalença en la població general. Addicionalment, un gran nombre de persones d'aquestes tres nacionalitats viuen a l'àrea metropolitana de Barcelona.

Objectius plantejats

1. Avaluar la utilitat de les mostres de sang seca per a la monitorització del tractament de l'hepatitis C i la reinfecció en persones que s'injecten drogues, dins d'un programa de cribratge i tractament descentralitzat en un CRD.
   1.1. Avaluar el rendiment clínic d'un assaig casolà de detecció de l'ARN-VHC en mostres de sang seca per a l'avaluació de la curació (resposta virològica sostinguda) i la detecció de la virèmia recurrent després del tractament, en comparació amb la prova en el punt d'atenció Xpert VL FS.
   1.2. En pacients amb virèmia recurrent després del tractament, avaluar la viabilitat de l'ús de mostres de sang seca per a diferenciar la reinfecció del fracàs terapèutic mitjançant el genotipat del VHC en les mostres basals i de seguiment (FU).
   1.3. Avaluar l'assaig de detecció d'ARN-VHC comercial amb marcatge CE-IVD en mostres de sang seca per a l'avaluació de la curació i la detecció de la virèmia recurrent després del tractament, en comparació amb la prova en el punt d'atenció Xpert VL FS.

2. Avaluar la prevalença del VHB i VHC, i les necessitats de vacunació enfront el VHB entre les dones trans treballadores del sexe i homes treballadors dels sexe que acudeixen a ONGs de Barcelona.
   2.1. Caracteritzar la prevalença d'infecció activa pel VHB i d'exposició prèvia.
   2.2. Caracteritzar els factors de risc associats a l'exposició al VHB.
   2.3. Avaluar l'estat de vacunació i els determinants no vacunació prèvia.

2.4. Caracteritzar la prevalença d'infecció activa pel VHC.

3. Implementar i avaluar una estratègia de micro-eliminació basada en una acció comunitària que reuneix educació sobre el VHB i el VHC, cribratge i accés simplificat a l'atenció i el tractament en migrants procedents de països endèmics que viuen a la província de Barcelona.

3.1. Avaluar la viabilitat i acceptabilitat de la intervenció comunitària per part dels migrants de cadascun dels països d'origen.

3.2. Caracteritzar la prevalença de la infecció activa pel VHB i VHC, així com la vinculació al sistema sanitari, el tractament i la curació dels participants positius.

3.3. Avaluar l'ús de mostres de sang seca per a la detecció de la infecció virèmica pel VHB.



Mètodes

3. Mètodes

La present tesi doctoral es basa en tres projectes de recerca de micro-eliminació de les hepatitis víriques en tres poblacions vulnerables, PQID, TTS i HTS, i migrants. A continuació s'explica els mètodes emprats en cada un dels projectes per tal de respondre els objectius plantejats.

3.1. Estudi CHIME de diagnòstic i tractament descentralitzat en PQID que acudeixen al centre de reducció de dany, REDAN la Mina

3.1.1. Reclutament dels participants i disseny de l'estudi

El reclutament dels participants es va dur a terme de forma prospectiva dins d'un estudi pilot de cribratge i tractament en PQID que assisteixen a un CRD de Barcelona, concretament el REDAN La Mina. Els participants d'aquest estudi pilot van rebre el diagnòstic i tractament amb AAD de forma descentralitzada en el CRD sota consentiment informat. Els criteris d'inclusió dels participants a l'estudi van ser: ser major d'edat, presentar virèmia pel VHC en la mostra basal i firmar el consentiment informat.

Tots els pacients candidats a participar se'ls recollia una mostra de DBS en diferents punts de l'estudi; la primera mostra es recollia abans de començar el tractament amb AAD (mostra basal), la segona mostra a la setmana 12 després del tractament (FU12), la tercera mostra a la setmana 36 post-tractament (FU36), i la quarta, a la setmana 60 post-tractament (FU60) (**Figura 23**).

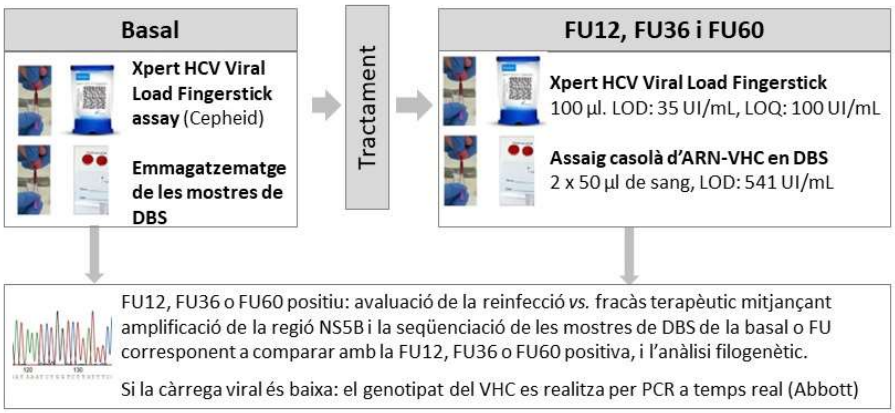


Figura 23. Esquema de l'estudi. LOD, límit inferior de detecció; LOQ, límit inferior de quantificació; DBS, mostres de sang seca; FU12, seguiment a la setmana 12 post-tractament; FU36, seguiment a la setmana 36 post-tractament; FU60, seguiment a la setmana 60 post-tractament; FU, seguiment; VHC, virus de l'hepatitis C.

Les mostres de DBS dels participants analitzades van ser recollides entre gener de 2019 i setembre de 2021. Totes les mostres de DBS de seguiment disponibles per cada un dels participants va ser incloses dins de l'estudi. Alguns participants presentaven més d'un seguiment a la setmana 12 post-tractament degut a les reinfeccions, en funció del número de tractaments rebuts. Els participants amb virèmia post-tractament van ser retractats amb el règim indicat segons els resultats de genotipat del VHC i anàlisi filogenètic, així com la informació recollida de la durada del tractament previ i de l'adherència. Així, si hi havia indicis de reinfecció del pacient podia tornar a rebre el mateix règim de tractament, i si era un fracàs terapèutic s'usava el regim recomanat per les guies (SOF/VEL/VOX).

Els participants van ser identificats amb codis únics que vinculaven les mostres biològiques amb les enquestes. L'estudi va ser aprovat per el Comitè Ètic de l'Hospital Clínic, Barcelona (HCB/ 2018/0755 i HCB/2019/0783).

3.1.2. Cribratge de l'ARN en el punt d'atenció (CRD REDAN la Mina)

La càrrega vírica dels participants va ser avaluada abans del tractament (basal) i en els diferents punts de seguiment (FU12, FU36 i FU60) per la infermera del CRD. La detecció de la virèmia es va realitzar amb 100 µl de sang capil·lar amb l'assaig Xpert HCV Viral Load Fingerstick (PoCT Xpert HCV VL FS) i l'equip GeneXpert System (Cepheid), amb un límit inferior de detecció de 35 UI/mL i un límit inferior de quantificació de 100 UI/mL.

3.1.3. Recol·lecció de les mostres de sang seca i emmagatzematge

Les mostres de DBS es van realitzar a partir de 200 µl de sang capil·lar obtinguda per punció dactilar amb una llanceta (Super Safety-Lancet Super; Sarstedt AG & Co. KG) i recollida amb una minipipeta amb anticoagulant (EDTA coated Minivette, Sarstedt). La sang recollida amb la minipipeta va ser dipositada en la targeta de recol·lecció CF12 (GE Healthcare Europe GmbH) omplint els 4 cercles de 12 mm (50 µl per cada cercle). Un cop recollida la sang en les targetes,

aquestes es van deixar assecar a l'aire durant al menys una hora o fins que visualment es veiés el cercle sec (viratge de color de vermell a marró). Un cop seca la sang es van emmagatzemar dins d'una bossa tipus "zip" amb dos dessecants amb indicador de la humitat (viren de color per la humitat) (GE Healthcare Europe GmbH).

Les mostres de DBS van ser emmagatzemades a temperatura ambient (aproximadament entre 20-25ºC) fins a un màxim d'un mes abans d'enviar-les al laboratori. Un cop al laboratori les mostres de seguiment van ser processades pel diagnòstic de la virèmia, mentre que les mostres basals van ser guardades a -80ºC, i es van analitzar en el cas que els participants presentessin virèmia recurrent en algun punt de seguiment. Segons estudis realitzats en el nostre entorn, l'estabilitat de l'ARN-VHC en mostres de DBS emmagatzemades a temperatura ambient i que presenten càrregues víriques baixes (<1000 UI/mL) és d'almenys 67 dies[213].

3.1.4. Detecció de l'ARN-VHC a partir de mostres de sang seca mitjançant l'assaig casolà

L'extracció dels àcids nucleics de les mostres de DBS es va realitzar a partir de dos cercles amb la plataforma EasyMag (bioMérieux) fins al juny de 2020, i a partir de llavors, també es va realitzar amb la plataforma Abbott m2000sp (Abbott Molecular Inc.). La detecció de l'ARN-VHC es va realitzar mitjançant una reacció de PCR a temps real casolana desenvolupada prèviament pel nostre grup, amb un límit inferior de detecció de 541 UI/mL[213]. Per a poder garantir els controls de qualitat de cada extracció realitzada, a cada mostra se li afegia un control intern d'ARN sintètic, i a més s'incloïa un control positiu i un de negatiu en cada tanda de mostres.

3.1.5. Quantificació de l'ARN-VHC a partir de mostres de sang seca mitjançant l'assaig comercial

L'extracció dels àcids nucleics de les mostres de DBS i la detecció de l'ARN-VHC es va realitzar segons les especificacions de la casa comercial[79]. L'extracció dels àcids nucleics es va realitzar a partir d'un cercle de la targeta de DBS amb la plataforma Abbott m2000sp (Abbott Molecular

Inc.). La detecció de l'ARN-VHC es va realitzar mitjançant la PCR a temps real comercial amb un límit inferior de detecció de 462 UI/mL[213]. Per a poder garantir els controls de qualitat de cada extracció realitzada, a cada mostra se li afegia un control intern d'ARN sintètic, i a més s'incloïa un control positiu i un negatiu en cada tanda. La realització del diagnòstic de l'ARN-VHC en DBS mitjançant l'assaig comercial es va començar a fer a partir de novembre de 2021. Aquesta anàlisi inclou mostres de DBS recollides entre novembre de 2021 i juliol de 2023.

3.1.6. Genotipat del VHC a partir de mostres de DBS

El genotipat del VHC es va realitzar en aquells participants que van presentar virèmia recurrent per tal de poder diferenciar si era una reinfecció o un fracàs terapèutic. Per això, es va seqüenciar el VHC a partir de la mostra de DBS basal i de seguiment corresponent[226].

Per a poder realitzar la seqüenciació del VHC, primerament es va realitzar l'extracció dels àcids nucleics amb les dues plataformes prèviament descrites; seguidament, es va realitzar la retrotranscripció i l'amplificació de la regió NS5B mitjançant una PCR semi-aniuada[181]. Per electroforesi capil·lar (QIAxcel, Qiagen) es va confirmar l'amplificació d'un segment NS5B d'uns 450 pb. Seguidament es va purificar amb boletes magnètiques (Clean NGS, Clean NA), quantificar al Nanodrop (Thermo Fisher Scientific) i seqüenciar bidireccionalment per la tècnica Sanger[227].

Les seqüències *forward* i *reverse* es van editar amb el programa Gap 5 per a obtenir les seqüències consens. Les seqüències consens obtingudes van ser alineades conjuntament amb les seqüències de referència per cada genotip i subtipus amb el programa Mega 6. Finalment, es va obtenir un arbre filogenètic de màxima versemblança, mitjançant el model de temps general reversible (GTR +G+ I) i amb un *bootstrap* de 500 rèpliques realitzat també amb Mega 6.

Aquelles mostres que no es van poder genotipar per seqüenciació Sanger, ja fos per presència d'infecció mixta o bé per càrrega vírica baixa, es van genotipar a partir d'una RT-PCR a temps

real comercial (RT-PCR assay Abbott Real*Time* HCV Genotype II (Abbott Laboratories; Abbott Park)) amb un límit inferior de detecció de 500 UI/mL. Aquest assaig comercial només dona el subtipus en el genotip 1 (1a o 1b).

3.1.7. Anàlisi de les dades

La sensibilitat, l'especificitat i la precisió diagnòstica de l'assaig basat en mostres de DBS es van avaluar en comparació amb els resultats obtinguts pel mètode de referència (PoCT Xpert HCV VL FS), tenint en compte tots els resultats positius per sobre del seu límit inferior de detecció, quantificables o no (llindar detectable). La sensibilitat també es va avaluar mitjançant tres llindars addicionals de càrrega vírica: quantificable ≥100 UI/mL (càrrega vírica igual o superior a la límit inferior de quantificació del mètode de referència), quantificable ≥1000 UI/mL (segons les recomanacions de l'EASL[92]), i quantificable ≥3000 UI/mL (segons les directrius de l'OMS[2]). L'interval de confiança al 95% es va calcular mitjançant el mètode de puntuació de Wilson amb el programari OpenEpi (v3.01)[228]

Les càrregues víriques inicials i de la FU es van comparar mitjançant la prova *t* de Student per a mostres aparellades, amb el programari RStudio (v1.4.1717).

3.2. Estudi SexCohort de cribratge integrat d'ITS en dones trans i homes treballadors del sexe en ONGs

3.2.1. Disseny d'estudi

L'estudi SexCohort es va dur a terme en una cohort prospectiva i oberta de TTS i HTS reclutada en dos centres comunitaris de Barcelona (ONGs) que oferien assessorament i proves gratuïtes, anònimes, voluntàries i confidencials per a les hepatitis víriques, VIH i altres ITS, amb l'objectiu de descriure la seva prevalença i els seus determinants[229]. El número de participants a reclutar es va calcular a partir del número de persones estimat de TTS i HTS a Barcelona, que era d'aproximadament 350 individus. En aquesta estimació es van considerar tant els TTS i HTS que

accedien a centres comunitaris com els que no estaven vinculats a cap centre. A més, es va tenir en compte que el 14% d'aquesta població no acceptaria participar en l'estudi, resultant així una N total a reclutar de 300 participants.

3.2.2. Reclutament dels participants

El reclutament dels participants es va realitzar entre maig de 2019 i juliol de 2021 mitjançant un mostreig de conveniència, per derivació de la xarxa de contactes i coneguts de les persones participants que acudien als dos centres comunitaris de Barcelona, amb la fi de poder convidar a altres participants que complien els criteris d'inclusió de l'estudi. A més, es va distribuir material informatiu específic, inclòs un full informatiu i un tríptic explicatiu, a través d'altres centres comunitaris de Barcelona. També es va publicar en llocs webs específics d'aquest camp, com són Pasión, Telechapero, Sexchapero i HUNQZ.

Els criteris d'inclusió van ser: ser major d'edat, haver treballat en el treball sexual en els tres mesos anteriors (definit com les persones que intercanvien sexe, regular o ocasional, per diners), viure a Espanya (tant si tenien permís de residència com no, també si estaven pendents de la sol·licitud del permís de residència o es trobaven en situació irregular), signar el formulari de consentiment informat i acceptar assistir a les visites de seguiment. Les persones que van acceptar participar se'ls va compensar amb 10€ i van respondre a una enquesta anònima, administrada pel personal format del centre comunitari. A l'enquesta se'ls va preguntar per dades sociodemogràfiques, dades específiques sobre el treball sexual, consum de drogues i alcohol, si havien sofert discriminació en diferents entorns socials, realització prèvia de proves, diagnòstic i tractament per a les hepatitis víriques, VIH i ITS (autodeclarades), vacunació enfront al VHB i ús de la PrEP pel VIH. Les preguntes relacionades amb si havien sofert discriminació es van formular amb una escala adaptada utilitzada en estudis anteriors en la població trans[230].

Els participants van ser identificats amb codis únics que vinculaven les mostres biològiques amb les enquestes. L'estudi es va dur a terme d'acord amb els principis de la Declaració de Hèlsinki i va ser aprovat pel Comitè Ètic de l'Hospital Universitari Germans Trias i Pujol de Badalona (PI-18-248). La informació detallada de l'estudi i les característiques dels participants va ser descrita prèviament[229].

3.2.3. Recol·lecció de les mostres biològiques i cribratge de les ITS

Es va recollir una mostra de sang venosa per al cribratge del VHB, VHC, VIH i sífilis, una mostra d'orina, i frotis faringi i anal pel diagnòstic de *Neisseria gonorrhoeae* (NG) i *Chlamydia trachomatis* (CT). Les mostres es van enviar al laboratori refrigerades. Les proves que es van realitzar pel diagnòstic de les diferents infeccions van ser:

1. **NG i CT:** la detecció de l'ADN d'aquestes dues infeccions es va dur a terme mitjançant una PCR a temps real de la plataforma BD MAX CT/GC assay (Beckton Dickinson).
2. ***Treponema pallidum:*** es va realitzar la detecció dels anticossos de *T. pallidum* amb la plataforma VITROS® Chemistry System (Ortho Clinical Diagnostics). Aquells participants amb un resultat positiu, se'ls va confirmar el diagnòstic de sífilis activa per hemaglutinació (TPHA, Bio-Rad Laboratories).
3. **VHC:** es va realitzar la detecció dels anticossos enfront el VHC en plasma amb la plataforma HCV VITROS® System. Aquells participants amb un resultat positiu a anti-VHC, se'ls va confirmar la virèmia mitjançant la quantificació de la càrrega vírica del VHC amb l'assaig Abbott Real*Time* HCV assay (Abbott Molecular).
4. **VHB:** la detecció de l'AgHBs, de l'anti-HBc i de l'anti-HBs es va realitzar amb la plataforma VITROS® System en plasma. Aquells participants amb un resultat positiu a l'AgHBs o anti-HBc en absència d'anti-HBs (els anomenats "HBcAc alone") se'ls va realitzar la quantificació de la càrrega vírica amb l'assaig Abbott Real*Time* HBV assay (Abbott Molecular).

5. **VIH:** es va realitzar el diagnòstic del VIH en el centre comunitari mitjançant una prova de detecció ràpida d'anticossos (Determine HIV-1/2, Abbott). Aquells participants amb un resultat positiu per a la prova ràpida, se'ls va quantificar la càrrega vírica en plasma amb l'assaig Abbott Real*Time* HIV-1 assay (Abbott Molecular).

Els participants de l'estudi es van categoritzar segons el seu estat serològic, d'acord amb la classificació de les guies de la Centre pel Control i Prevenció de Malalties (CDC)[24]: infecció pel VHB (AgHBs positiu), immunitat adquirida per infecció prèvia pel VHB (anti-HBc positiu i anti-HBs positiu), immunitat adquirida per vacunació (només positiu al marcador anti-HBs), i candidats a vacunar-se (susceptibles a infecció, tots els marcadors serològics negatius).

3.2.4. Anàlisi de les dades

En primer lloc, es va realitzar l'anàlisi descriptiva de les característiques sociodemogràfiques, el perfil de comportament, i el diagnòstic i tractament previ d'hepatitis víriques/VIH/ITS. Per a les variables diagnòstiques obtingudes al laboratori (sífilis, NG i CT), en el cas que tinguessin una de les tres mostres analitzades positives (orina, faríngia o anal) es va considerar que eren positius.

En segon lloc, es van realitzar models de regressió logística per estimar les raons de probabilitats brutes (odds ratio en anglès, OR) i ajustades (ORa) juntament amb els seus respectius intervals de confiança del 95% (IC 95%), per tal de poder avaluar els factors de risc d'exposició al VHB (positiu a anti-HBc). Els participants es van classificar com a participants prèviament exposats (positius a anti-HBc) o susceptibles a la infecció pel VHB (negatius a tots els marcadors serològics del VHB). Els participants vacunats (anti-HBs positius i anti-HBc negatius) van ser exclosos d'aquesta anàlisi. En l'anàlisi es van incorporar aquelles variables considerades com a factors de risc potencials, ja descrits en literatura existent; aquelles variables amb una *p*-valor <0,10 en el model de regressió cru es van incloure a l'anàlisi ajustada (ORa i IC al 95%).

Finalment, es va realitzar una anàlisi per investigar els determinants de no vacunació prèvia. Es van considerar dos grups: els participants amb anticossos post-vacunació (vacunats enfront el VHB; positius per a anti-HBs i negatius a anti-HBc) i els participants susceptibles a la infecció pel VHB (negatius a tots els marcadors serològics del VHB). Els participants infectats (positius a anti-HBc) van ser exclosos d'aquesta anàlisi. Per a l'anàlisi es va utilitzar la prova de χ^2 i la U de Mann-Whitney per a comparar les proporcions, i es va establir un tall de significació estadística del 95% (*p*-valor<0,05). Es va utilitzar un model de regressió logística per estimar les raons probabilitats brutes (OR) juntament amb els seus respectius intervals de confiança del 95% (IC del 95%). Dins de l'anàlisi, no es van incloure els valors "*missing*". Les anàlisis van ser realitzades amb R 4.3.1 "Beagle Scouts".

3.3. Estudi HepBC*link* d'educació, cribratge i tractament de les hepatitis B i C en migrants de països endèmics

3.3.1. Disseny d'estudi

L'estudi HepBC*link* va ser un estudi prospectiu d'educació, cribratge i accés simplificat al tractament, basat en una acció comunitària, en migrants procedents de Pakistan, Senegal i Romania, que vivien a l'àrea metropolitana de Barcelona. El reclutament dels participants es va dur a terme entre el març de 2021 i el gener de 2023, durant la pandèmia de la COVID-19. Els criteris d'inclusió a l'estudi van ser: haver nascut en un dels tres països (Pakistan, Senegal o Romania), ser major d'edat, acceptar participar en l'estudi i haver signat el consentiment informat. El número total de participants a reclutar va ser de 300 participants per cada un dels països.

Els participants van ser identificats amb codis únics que vinculaven les mostres biològiques amb les enquestes. L'estudi va ser aprovat pel Comitè Ètic de l'Hospital Universitari Germans Trias i Pujol de Badalona i l'Hospital Vall d'Hebrón de Barcelona.

3.3.2. Acció comunitària

L'acció comunitària va incloure en una sola intervenció reclutament, educació i cribratge (**Figura 24**). Les intervencions comunitàries van ser coordinades des del Grup de Salut Pública i Comunitària de l'USI de Drassanes Vall d'Hebron. El grup va estar format per un doctor en salut pública, una infermera comunitària i dos agents de salut comunitaris per cada un dels països de reclutament. Els agents comunitaris eren del país d'origen dels participants o bé parlaven l'idioma del país (per Pakistan urdú; per Senegal, wòlof i francès; i romanès per Romania). Els agents comunitaris van rebre formació sobre com realitzar les proves ràpides pel VHB i pel VHC, així com per la recollida de les mostres de DBS, i el consell pre- i post- prova.

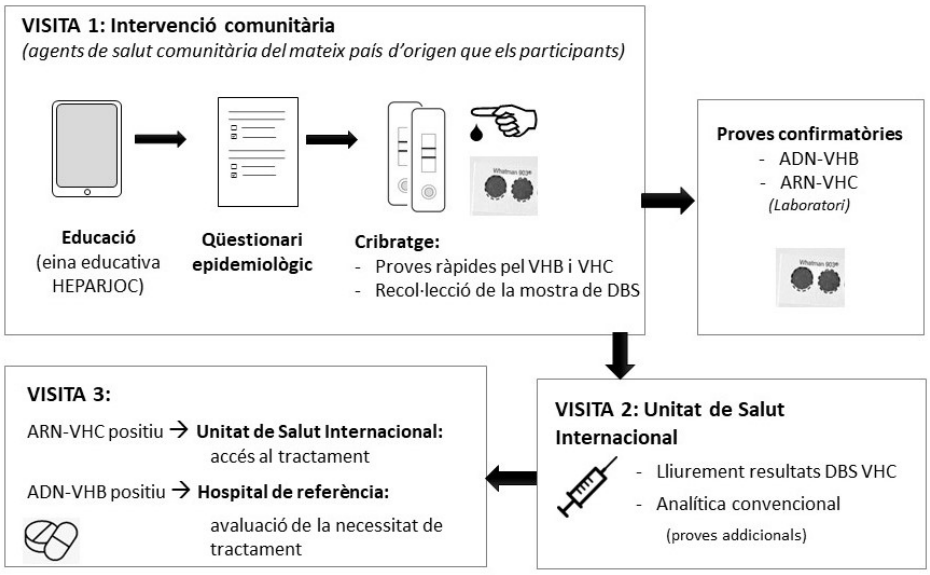


Figura 24. Disseny d'estudi de l'HepBC*link*. VHB, virus de l'hepatitis B; VHC, virus de l'hepatitis C; DBS, mostres de sang seca.

Inicialment, les accions comunitàries es van planificar per poder dur-les a terme de forma individual i grupal, basant-nos en el pilot previ en la població migrant pakistanesa[223]. Però degut a les restriccions de la pandèmia de la COVID-19, les accions es van realitzar principalment de forma individual.

Durant la intervenció comunitària, els participants van visualitzar un vídeo en suport tauleta de l'eina educativa HEPARJOC, en el qual se'ls explicava coneixements bàsics sobre les hepatitis víriques (què són, vies de transmissió, etc.). Aquest vídeo va ser traduït als diferents idiomes parlats pels migrants de l'estudi. A més, els participants van complimentar un qüestionari epidemiològic i se'ls va oferir la prova ràpida de detecció de l'AgHBs pel VHB i de l'anti-VHC pel VHC. Si van ser positius a alguna de les proves ràpides, se'ls va recollir directament una mostra de DBS per a la detecció de la virèmia en el laboratori.

3.3.3. Qüestionari epidemiològic

Els participants van complimentar per ells mateixos el qüestionari de preguntes tancades en espanyol, en el qual se'ls va preguntar per: aspectes sociodemogràfics (edat, sexe, any d'arribada a Espanya, entre altres), cribratge i tractament previ per al VHB i VHC, vacunació enfront al VHB, i el grau d'acceptació i de satisfacció amb l'acció comunitària. Els participants van ser acompanyats pels agents comunitaris durant el qüestionari epidemiològic.

Aquells migrants que van refusar participar en l'estudi se'ls va demanar informació demogràfica bàsica, així com saber quin era el motiu per no voler participar i si eren positius pel VHB i/o VHC.

3.3.4. Cribratge del VHB i VHC

Els participants van ser cribrats per al VHB i VHC mitjançant proves ràpides a partir de mostra de sang capil·lar. Pel VHB, la prova ràpida usada va ser el DETERMINE™ HBsAg (Abbott Molecular; amb una sensibilitat analítica de 0,1 UI/mL) amb marcatge CE-IVD, i per l'anti-VHC, la prova ràpida de Turklab amb marcatge CE-IVD (Tibbi Malzemeler San. Ve TIC. A.S.). El temps d'espera per a l'obtenció del resultat en ambdós tests és de 15 min. Si algun dels dos testos era reactiu, se'ls va recollir una mostra de DBS. La sang capil·lar va ser obtinguda per punció dactilar amb una llanceta, la sang es va recollir en una Minivette d'EDTA de 200 µl i es va dipositar la sang en la targeta omplint els 4 cercles (50 µl per cada un) (tal com s'ha explicat anteriorment

pel projecte Chime en PQID). Les mostres de DBS van ser enviades al laboratori a temperatura ambient per a la detecció de la virèmia pel VHB i VHC.

L'extracció dels àcids nucleics i la detecció de l'ARN a partir de mostres de DBS es va realitzar amb l'assaig d'Abbott amb marcatge CE-IVD. L'extracció es va realitzar amb un cercle de DBS que va ser eluït en 1,3 mL del tampó de lisis de la casa comercial d'Abbott, mitjançant l'extractor automàtic m2000sp. Posteriorment, es va realitzar la detecció de l'ARN-VHC amb l'assaig Abbott Real*Time* HCV (Abbott Molecular, plataforma m2000) amb un límit inferior de detecció de l'assaig de 462 UI/mL[79].

La detecció de l'ADN-VHB a partir de mostres de DBS es va posar a punt durant aquest estudi i, per tant, els resultats no van ser entregats als participants. L'extracció de l'ADN-VHB, amplificació i detecció es va realitzar amb l'assaig Alinity m HBV (Abbott Molecular) (explicat en l'apartat de mètodes 4.3.9).

3.3.5. Unió al sistema sanitari i accés al tractament

Els participants amb un resultat positiu a la prova ràpida del VHB o VHC se'ls va contactar per donar-los una cita a l'USI. Els positius per anti-VHC se'ls va entregar el resultat de l'ARN-VHC en DBS. A tots els participants positius per VHB o VHC se'ls va realitzar una analítica de rutina (anàlisi bioquímic, serològic i virològic), tant als participants positius a VHB com a VHC i se'ls va avaluar el grau de fibrosi hepàtica a partir de marcadors en sèrum no invasius (índex FIB-4, basat en les transaminases, les plaquetes i l'edat)[103].

Els participants amb infecció activa pel VHC que no presentaven malaltia hepàtica avançada se'ls va dispensar el tractament amb AAD a l'USI després d'haver estat prescrit des d'hepatologia a l'Hospital Vall d'Hebrón. Per contra, aquells participants que van presentar malaltia hepàtica avançada (FIB-4 >3,25 kPa) van ser derivats a l'hospital, on se'ls va subministrar el tractament

amb AAD. Tots els participants positius a VHB van ser derivats a l'hospital per a l'avaluació de la necessitat de tractament per part de l'hepatòleg.

3.3.6. Seguiment dels participants

Els agents comunitaris van contactar per telèfon amb tots els participants que van tenir un resultat positiu a la prova ràpida pel VHB o pel VHC per donar-los una cita a l'USI (primera visita, vinculació al sistema sanitari). Els participants van ser seguits durant 6 mesos en el cas dels positius a VHB i fins a la RVS en el cas dels positius a VHC a través de la història clínica electrònica. Durant el seguiment dels participants es van registrar les següents variables: i) l'assistència dels participants positius tant pel VHB com pel VHC a l'USI per a rebre els resultats de l'ARN-VHC en mostres de DBS i realitzar-se l'analítica de rutina, i ii) l'assistència dels participants positius per l'ADN-VHB a l'hospital per a l'avaluació de la necessitat de tractament, o l'inici de tractament dels participants ARN-VHC positius i seguiment fins a la RVS (12 setmanes post-tractament). Els participants virèmics que no assistien a les diferents visites programades, després d'haver realitzat cinc trucades per part dels agents comunitaris per vincular-los de nou a l'assistència sanitària van ser considerats com a perduts durant el seguiment.

Els pacients positius pel VHB, dels quals teníem la informació dels marcadors serològics, càrrega vírica i característiques bioquímiques i histològiques de la infecció, van ser categoritzats d'acord amb les guies de tractament actuals[24]. Aquells participants que presentaven una malaltia hepàtica avançada tant pel VHB com pel VHC en el moment del diagnòstic (FIB-4 >3,25 o una rigidesa hepàtica > 9,5 kPa) van ser categoritzats com a diagnòstic tardà segons la definició proposada per Mauss et al[77].

3.3.7. Anàlisi de les dades

Per a avaluar la qualitat de l'acció comunitària i poder-la comparar amb altres estratègies de cribratge es van calcular una sèrie d'indicadors:

- **Indicadors d'efectivitat:** número de persones que assistien a les sessions educatives, número de persones cribrades, percentatge de persones que reportaven haver estat cribrades prèviament, percentatge de persones amb un resultat previ positiu a AgHBs o anti-VHC, percentatge de persones que van rebre els resultats de les proves ràpides (cribratge complet), percentatge de persones que van ser positives per l'AgHBs o positives per l'anti-VHC que van assistir a la visita a l'USI (vinculació al sistema sanitari), i percentatge de persones positives per l'ADN-VHB que van assistir a la visita amb l'hepatòleg o ARN-VHC positives que van iniciar tractament (retenció al sistema sanitari).
- **Indicador d'impacte:** percentatge de persones que eren positives a VHB o VHC i que van presentar un diagnòstic tardà, d'acord amb la definició de Mauss et al[77].

Addicionalment, vam mesurar l'**acceptabilitat** i **satisfacció** preguntant fins a quin punt la nova intervenció va ser percebuda com a adequada i satisfactòria: "estàs d'acord en la realització del cribratge pel VHB i VHC en intervencions comunitàries?" i "estàs satisfet amb el cribratge del VHB i VHC durant aquesta intervenció", mesurat segons l'escala de Likert (de l'1 al 5).

A més, també es va analitzar el número de participants positius per l'AgHBs o l'anti-VHC, així com positius per l'ADN-VHB i a l'ARN-VHC, quants van ser nous diagnòstics tant pel VHB com pel VHC, i el número de persones a cribrar per a detectar un nou diagnòstic tant pel VHB com pel VHC i per a cada un dels països.

L'anàlisi de freqüències es va realitzar de forma descriptiva i estratificada per sexe, i, es van comparar les medianes amb la prova de U de Mann-Whitney. Les dades categòriques es van comparar amb la prova de χ^2. També es va calcular la prevalença i es va estimar l'IC del 95% amb el mètode exacte de Clopper-Pearson. L'anàlisi es va realitzar amb el programa R, versió 4.0.3. L'autoconeixement de l'estat d'infecció pel VHB i el VHC es va avaluar comparant els resultats de les proves amb les dades autodeclarades.

3.3.8. Preparació de les mostres de DBS i determinació del límit inferior de detecció de l'assaig d'ADN-VHB

Per a la determinació del límit inferior de detecció de l'assaig d'ADN-VHB amb la plataforma Alinity m (Abbott) es van realitzar dilucions seriades amb sang negativa i un control de VHB de càrrega vírica coneguda (6,29 Log UI/mL, d'Abbott). Per a cada una de les dilucions es van realitzar 10 rèpliques, amb valors de càrrega vírica de 20.000, 10.000, 5.000, 2.500, 1.000, 500, 250, 125, 62,5 i 31,3 UI/mL de sang. Les mostres de DBS es van preparar dipositant 50 µl de cada una de les dilucions i rèpliques dins de cada cercle de la targeta, i es van deixar assecar a temperatura ambient un mínim de dues hores. Després, es van guardar en una bossa tipus "zip" amb dessecant a temperatura ambient i es van processar el dia següent.

Per a l'extracció dels àcids nucleics, un cercle de la mostra de DBS es va eluir amb 1,3 mL de tampó lisi de la casa comercial i es va incubar a 65ºC durant 30 min. Un cop incubades es va traspassar l'eluït amb una pipeta a un nou tub per a eliminar possibles restes de la targeta, i seguidament es van processar les mostres en l'Alinity m (Abbott Molecular).

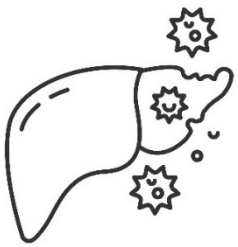
Els resultats de les mostres de DBS van ser analitzades qualitativament (positiu o negatiu) en funció de la presència o absència de corba d'amplificació. L'anàlisi de LOD (95%) es va realitzar per regressió probit amb la funció glm del paquet stats en RStudio (v.4.1.0).

3.3.9. Processament de les mostres de DBS dels participants d'HepBC*link* per a la detecció de l'ADN-VHB

Les mostres de DBS dels participants positius a AgHBs van ser emmagatzemades a -80ºC fins el dia en que es va realitzar la detecció de l'ADN-VHB.

Per a l'extracció dels àcids nucleics, les mostres de DBS van ser descongelades, eluïdes en 1,3 mL del tampó de lisi de la casa comercial i incubades a 65ºC durant 30 min. Seguidament es va traspassar l'eluït amb una pipeta en un tub nou i es van processar a l'Alinity m.

Els resultats de les mostres de DBS van ser interpretades qualitativament (positiu o negatiu). Els resultats en DBS es van comparar amb els obtinguts pel mètode de referencia (analítica per venipunció i assaig Roche). Cal tenir en compte que la mostra de DBS i la venipunció no van fer-se el mateix dia, fet que podria limitar la comparació.



Resultats i discussió

4. Resultats i discussió

La present tesi doctoral s'ha elaborat en base a dos articles i un manuscrit en la línia de simplificació del diagnòstic, seguiment i tractament de les hepatitis víriques en poblacions vulnerables, per a assolir els objectius de l'OMS per a la seva eliminació pel 2030, tal com es descriu en el pla estratègic publicat al 2016. En aquest sentit, dins del marc d'aquesta tesi, es presenten tres estratègies de micro-eliminació descentralitzades en tres poblacions vulnerables: persones que s'injecten drogues, persones treballadores del sexe i migrants de països endèmics.

4.1. Avaluació de la utilitat de les mostres de sang seca per a la monitorització del tractament de l'hepatitis C i la reinfecció en persones que s'injecten drogues, dins d'un programa de cribratge i tractament descentralitzat en un CRD (Article I, annex 1)

Les persones que s'injecten drogues, tal com s'ha exposat anteriorment, constitueixen el cor de l'epidèmia pel VHC en països desenvolupats, representant el 44% dels nous casos d'infecció a Europa[231]. Per tant, amb la finalitat d'aconseguir els objectius de l'OMS pel 2030, el número de noves infeccions fins a 2 nous casos per cada 100 PQID i any[232]. Però, l'accés al diagnòstic i tractament de les PQID és reduït degut a les diferents barreres d'accés als serveis de salut (principalment, baixa predisposició i estigmatització) [233,234]. En aquest sentit, s'han dut a terme diversos estudis arreu del món per tal de trobar noves vies alternatives simplificades i descentralitzades de diagnòstic, derivació i tractament del VHC en PQID, proposant l'ús de mostres alternatives, com les mostres de DBS, o la detecció de virèmia en el punt d'atenció, gràcies a les noves tecnologies disponibles com el GeneXpert. A més, les guies de l'OMS recomanen estratègies de cribratge i tractament (*test-and-treat* en anglès), com el pilotat en l'estudi CHIME, de descentralització de diagnòstic i tractament al REDAN La Mina per a minimitzar el número de pèrdues en el seguiment i augmentar la taxa de curació.

Les mostres de DBS han demostrat ser una bona alternativa a les mostres de sang obtingudes per venipunció en col·lectius amb accés venós difícil. A més, l'evidència científica demostra que els assaigs de detecció de l'ARN-VHC en mostres de DBS tenen una excel·lent precisió diagnòstica, amb una sensibilitat del 97% (IC 95%: 95−98%) i una especificitat del 100% (IC 95%: 98−100%)[235]. No obstant, les dades de la precisió diagnòstica d'aquestes tècniques en mostres de DBS per a l'avaluació de la RVS després del tractament (prova de curació) són minses[235,236]. En les PQID actives, la taxa de reinfecció és elevada degut a les reiterades pràctiques de risc durant el consum injectat de drogues[237–239]. Així doncs, en els casos en que la virèmia és recurrent després del tractament, el genotipat per seqüenciació i l'anàlisi filogenètic del VHC poden ajudar a diferenciar si ens trobem davant d'una reinfecció o d'un fracàs terapèutic, per tal d'administrar a les PQID el tractament adequat en cada cas[240]. En programes de tractament descentralitzat, la seqüenciació del virus es pot dur a terme a partir de les mostres de DBS[240].

Anteriorment, el nostre grup va avaluar l'ús de mostres de DBS pel diagnòstic de la infecció virèmica pel VHC en CRDs en comparació amb l'assaig en plasma i amb l'assaig PoCT Xpert VL FS en sang capil·lar [204,226], trobant un límit inferior de detecció de 541 UI/mL en l'assaig usat, basat en una PCR a temps real casolana (*in-house* amb anglès). En aquest estudi, hem volgut avaluar l'ús del mateix assaig de detecció d'ARN-VHC en mostres DBS per a la monitorització de la RVS en comparació amb l'assaig PoCT Xpert VL FS, així com per a la detecció de la virèmia recurrent en PQID en el mateix CRD de Barcelona.

Aquest estudi es va dur a terme en el marc del projecte de cribratge i tractament descentralitzat CHIME, on a les PQID, se'ls feia un seguiment de fins a 60 setmanes després del tractament. Les PQID virèmiques pel VHC diagnosticades en el CRD, gràcies a l'assaig PoCT Xpert VL FS, eren reclutades per l'estudi i se'ls recollia la primera mostra de DBS (mostra basal). Als pacients virèmics se'ls administrava el tractament amb AAD de forma descentralitzada i, posteriorment, se'ls realitzava el seguiment a les 12 setmanes post-tractament, per a l'avaluació de la curació

en el CRD amb el mateix PoCT. Tant les PQID amb un resultat positiu com negatiu per a l'ARN-VHC després del tractament, se'ls recollia una mostra de DBS que s'enviava al laboratori, per a realitzar l'avaluació de l'ús de mostres de DBS per a la comprovació de la curació (RVS12) o la detecció de la virèmia recurrent. A més, també es tornava a fer la prova PoCT i es recollien mostres de DBS dels participants a la setmana 36 i 60 (FU36 i FU60, respectivament).

Es van incloure un total de 118 pacients tractats, 44 d'ells (37,3%) van presentar virèmia recurrent després del tractament. D'entre els que van presentar virèmia recurrent, el 38,6% (N=17) van ser tractats de nou. En total es van obtenir 199 mostres de DBS, 103 de la FU12, 59 de la FU36 i 37 de la FU60.

La mediana d'edat dels participants va ser de 42 anys (rang: 35-48 anys) i majoritàriament homes (88%). El 42% dels participants eren migrants, 32% persones sense llar i el 60% havien estat a la presó almenys un cop a la vida. El 71% reportava l'ús injectat de drogues al menys un cop al dia en els últims 6 mesos, el 23% havia compartit xeringues, el 36% havia compartit material d'injecció i el 50% va declarar haver estat en tractament de manteniment amb agonistes opiacis en algun moment. El 75% dels participants havia estat diagnosticat prèviament pel VHC, però només el 25% reportava haver rebut tractament. El 23% dels participants presentaven co-infecció amb el VIH, dels quals el 59% prenia tractament antiretroviral (**Taula 2**).

Taula 2. Característiques basals dels participants inclosos en l'estudi

Variables	**Participants (N=118)**
Edat (anys)	42 (35-48)
Home	104 (88)
Nacionalitat estrangera	50 (42)
Sense llar	38 (32)
Suport familiar	76 (64)
Sense treball	151 (65)
Prèviament empresonat^	71 (60)
Nivell educatiu :	
Cap	2 (2)
Educació primària	50 (42)
Educació secundària	30 (25)
Batxillerat	10 (8)

Educació universitària	16 (14)
Cicle formatiu	10 (8)
Assistència al sistema sanitari:	
Atenció primària	42 (36)
Hospital	25 (21)
Freqüència d'injecció de drogues en els últims 6 mesos:	
Més d'un cop al dia	68 (58)
Un cop al dia	15 (13)
Un cop a la setmana	16 (14)
Menys d'un cop a la setmana	14 (12)
Cap	5 (4)
Consum de drogues en els últims 6 mesos:	
Cocaïna	104 (88)
Heroïna	102 (86)
Cànnabis	66 (56)
Speedball (cocaïna i heroïna conjuntament)	80 (68)
Haver compartit xeringues en els últims 6 mesos	19 (23)
Haver compartit material de consum en els últims 6 mesos	42 (36)
Haver mantingut relacions sexuals de risc en els últims 6 mesos‡	48 (44)
Haver consumit alcohol en els últims 6 mesos	40 (34)
Estar en tractament de manteniment amb agonistes opiacis	59 (50)
VIH+	27 (23)
Estar en teràpia antiretroviral pel VIH	16/27 (59)
Diagnòstic previ pel VHC	89 (75)
Haver estat tractat prèviament pel VHC	22/89 (25)
Fibroscan® Basal (kPa)	6 (5-7,5)
Fibrosi avançada (≥9.5 kPa)	12 (10)
Règim de tractament antivíric pel VHC:	
Sofosbuvir/Velpatasvir (12 setmanes)	65 (55)
Glecaprevir/Pibrentasvir (8 setmanes)	53 (45)

Les variables qualitatives estan expressades en n (%) i les variables quantitatives en mediana i rang interquartílic (P25 – P75). VHC, virus de l'hepatitis C.
^ Informació disponible en n=115. ‡ Informació disponible en n=108. La resta de participants no van voler respondre o van respondre "no ho sé". (Taula 1, Article I)

4.1.1. Avaluació del rendiment clínic de l'assaig de detecció de l'ARN-VHC en mostres de sang seca per a l'avaluació de la curació (resposta virològica sostinguda) i la detecció de la virèmia recurrent després del tractament, en comparació amb la prova Xpert VL FS

Es van avaluar un total de 199 mostres de DBS de la FU12, FU36 i FU60 per a la detecció de virèmia recurrent després del tractament en comparació amb el mètode de referència; de les quals sis van ser excloses per problemes ocorreguts durant l'extracció dels àcids nucleics.

La precisió diagnòstica obtinguda de l'assaig en mostres de DBS va ser del 94,8% (183/193; IC 95%: 90,7%−97,2%) en comparació amb els resultats obtinguts pel PoCT Xpert VL FS, amb una especificitat del 100% (no es va detectar cap fals positiu) i una sensibilitat del 84,4% (54/64; IC 95%: 73,5%−91,3%) del total de les 193 mostres; en 10 mostres de DBS no es va detectar l'ARN-VHC per l'assaig en DBS, però sí que es van detectar en sang capil·lar fresca dels mateixos pacients per la tècnica de referència (**Taula 3**). Dels 10 casos no detectats en l'assaig en DBS, cinc presentaven una càrrega vírica per l'assaig PoCT inferior al límit de detecció de l'assaig de sang seca (<100 UI/mL en 2 casos i càrregues víriques de 116, 219 i 588 UI/mL), en la resta, cinc presentaven càrregues víriques de 993, 1.290, 1.610, 4.950 i 41.400 UI/mL (**Figura 25**).

Taula 3. Detecció de l'ARN-VHC en DBS *vs* PoCT Xpert VL FS (mètode de referència) després del tractament (FU12, FU36 i FU60) i com a prova de curació (RVS a la FU12)

		PoCT Xpert VL FS[1] a la FU12, FU36 i FU60		
Assaig		Positiu	Negatiu	Total
DBS[2]	Positiu	54	0	54
	Negatiu	10	129	139
	Total	64	129	193
		PoCT Xpert VL FS[1] a la FU12		
		Positiu	Negatiu	Total
DBS[2]	Positiu	40	0	40
	Negatiu	7	54	61
	Total	47	54	101

[1]Límit inferior de detecció, 35 UI/mL. [2]Límit inferior de detecció, 541 UI/mL.
DBS, mostres de sang seca; FU, seguiment. (Taula 2, Article I)

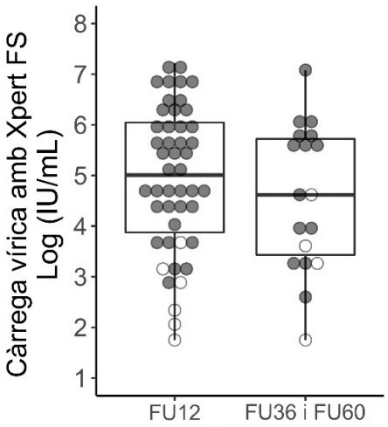


Figura 25. Detecció de l'ARN-VHC en mostres de DBS en la FU12, FU36 i FU60 segons la càrrega vírica realitzada pel mètode de referència. Els cercles omplerts representen els casos en que es

va obtenir un resultat positiu per l'ARN-VHC en l'assaig en DBS, i els cercles buits són aquells casos amb un resultat negatiu per a l'ARN-VHC en DBS. FU, seguiment. (Figura 2, Article I)

Les guies de l'EASL recomanen un límit inferior de detecció per a les proves de detecció de virèmia no clàssiques dutes a terme fora d'un laboratori i que permeten ampliar el cribratge d'almenys 1.000 UI/mL[92], i les guies de l'OMS recomanen un límit inferior de detecció d'almenys 3.000 UI/mL[241]. Així doncs, si ens basem en aquests dos llindars marcats per les guies, la sensibilitat de l'assaig en mostres de DBS va augmentar fins al 93 i 96%, respectivament (**Taula 4**).

Taula 4. Sensibilitat de l'assaig en DBS d'acord amb els diferents llindars establerts

	Detectable per l'assaig en DBS[2]			
	FU12, FU36 i FU60		**FU12**	
Llindar de CV del VHC detectada per PoCT Xpert VL FS	**Proporció**	**% (IC 95%)**	**Proporció**	**% (IC 95%)**
Detectable[1]	54/64	84,4 (73,6–91,3)	40/47	85,1 (72,3–92,6)
Quantificable ≥100 UI/mL	54/62	87,1 (76,6–93,3)	40/46	87,0 (74,3–93,9)
Quantificable ≥1.000 UI/mL	53/57	93,0 (83,3–97,2)	40/43	93,0 (81,4–97,6)
Quantificable ≥3.000 UI/mL	49/51	96,1 (86,8–98,9)	38/39	97,4 (86,8–99,6)

[1]Límit inferior de detecció, 35 UI/mL. [2]Límit inferior de detecció, 541 UI/mL.
DBS, mostres de sang seca; FU, seguiment; CV, càrrega vírica; VHC, virus de l'hepatitis C. (Taula 3, Article I)

Si ens centrem exclusivament en l'anàlisi de les mostres de la FU12, és a dir, a la setmana 12 després del tractament, que es quan s'avalua la RVS, i que s'usa com a prova de curació pel VHC després del tractament amb AAD, l'especificitat de l'assaig en DBS va ser del 100% i la sensibilitat del 85,1% (40/47 mostres, IC 95%: 72,3–92,6%) per totes les mostres que presentaven una càrrega vírica detectable pel PoCT Xpert VL FS; set mostres no van ser detectades per l'assaig en DBS amb una càrrega vírica mitjana del 790,5 UI/mL (rang, 116 – 4950 UI/mL, i una mostra detectable però no quantificable, càrrega vírica <100 UI/mL). Si ens centrem amb els llindars

abans mencionats de l'EASL i de l'OMS, la sensibilitat de l'assaig en DBS augmenta fins el 93% i 97,4% respectivament.

A més, es va observar que les càrregues víriques obtingudes en els pacients virèmics després del tractament amb AAD eren significativament inferiors en comparació amb les càrregues víriques de les mostres basals, amb una diferència mitjana de -0.83 log_{10} (UI/mL) i un rang de -2,43 i 3,84 log_{10} (UI/mL) (p=0.001). Aquest fet, afecta directament a la sensibilitat tant dels assajos per a la detecció de la virèmia com pel genotipat del VHC a partir de mostres de DBS (**Figura 26**).

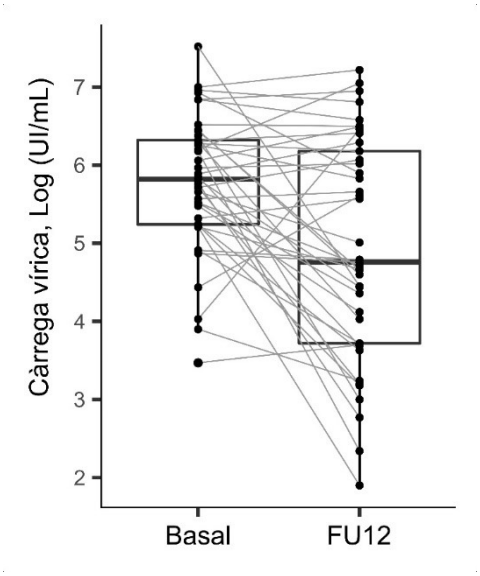


Figura 26. Càrregues víriques per a l'ARN-VHC a la FU12 en comparació amb la basal. FU12, seguiment a la setmana 12 després de la finalització del tractament amb AAD. (Figura 1, Article I)

Els resultats obtinguts en la detecció de virèmia recurrent després del tractament amb AAD a partir de les mostres de DBS tenint en compte el llindar marcat per l'OMS (detecció d'almenys càrrega vírica ≥3000 UI/mL) van en línia amb resultats previs trobats amb el mateix assaig en població PQID pel diagnòstic de la virèmia previ al tractament, els quals mostraven una sensibilitat del 98,3% i una especificitat del 100%[226]. El nostre assaig mostra una sensibilitat i especificitat del 96,1% i del 100% respectivament en el llindar de 3000 UI/mL, fet que ens permet identificar el 95% de les infeccions virèmiques[241]. Si en canvi, considerem el límit de detecció de les guies de l'EASL pel diagnòstic de les infeccions agudes, cròniques i reinfeccions per als assajos

de detecció d'ARN-VHC per a proves moleculars en el punt d'atenció (CV ≥1000 UI/mL)[92], la sensibilitat trobada en aquest estudi és inferior a la d'un metaanàlisi recent, en el qual detecten en DBS el 97% dels casos amb virèmia detectable en sang venosa, i augmenta fins el 98% quan analitzen exclusivament aquelles mostres amb un resultat quantificable[235]. Cal dir però, que els estudis mencionats usen les mostres de DBS per a la detecció de l'ARN-VHC pel diagnòstic de la virèmia, en canvi, en l'estudi CHIME s'avalua l'ús d'aquestes mostres per al seguiment del tractament i determinació de la curació, on hem vist que les càrregues víriques solen ser més baixes que en el moment del diagnòstic (mostra basal).

Les càrregues víriques baixes observades en el nostre estudi poden ser degudes a diferents factors. Primerament, la virèmia recurrent s'ha detectat en molts casos tan aviat com a les 12 setmanes post-tractament, degut a que s'han reinfectat recentment, i es conegut que durant la infecció aguda es poden observar fluctuacions de la virèmia, inclús podent ser indetectable durant breus períodes[92]. Segonament, les càrregues víriques baixes solen associar-se a la presència de cirrosi hepàtica, que també es relaciona amb el consum elevat d'alcohol entre les PQID. Aquest fet pot dificultar la replicació del VHC en el fetge, i per tant presentar unes càrregues víriques inferiors[242,243]. Finalment, en el context de la reinfecció, les càrregues víriques baixes poden ser degudes al desenvolupament d'una immunitat adaptativa generada durant les infeccions prèvies pel VHC[244]. En aquells casos amb càrrega vírica baixa es recomanaria la recollida d'una nova mostra passat un temps per avaluar si el pacient segueix virèmic o pel contrari, ha aclarit la infecció espontàniament. També, les PQID que presentin factors de risc per a la reinfecció, com pot ser l'ús compartit de xeringues, s'haurien de realitzar la prova de detecció de virèmia pel VHC de forma freqüent per avaluar si s'han reinfectat. Les guies de l'ECDC recomanen un cribratge bianual en aquells PQID que presentin factors de risc[245].

Tot i que el límit inferior de detecció del nostre assaig de virèmia a partir de mostres de DBS compleix amb els criteris tant de les guies de l'EASL com de l'OMS, el 8,5% dels casos virèmics

en la FU12 van presentar càrregues inferiors a 1000 UI/mL. En aquest sentit, un estudi recent[246] el qual ha analitzat 5.973 casos de virèmia recurrent d'onze cohorts observacionals i dos assajos clínics, indica que un 10% dels casos de fracàs terapèutic no es detectarien amb un assaig amb un límit inferior de detecció de 1000 UI/mL. Aquesta proporció de casos de fracàs terapèutic no detectats es veu reduïda fins el 3% en assajos clínics, molt probablement degut als criteris restrictius de participació. L'estudi conclou que per detectar el 95% del casos virèmics caldria un límit inferior de detecció de 227 UI/mL, inferior al de l'assaig usat en aquest estudi, que és un assaig casolà, però també és inferior al del primer assaig amb marcatge CE-IVD per a mostres de DBS (462 UI/mL) comercialitzat per Abbott l'any 2020[79]. Per tant, és possible que amb l'ús de mostres de DBS no es detecti algun cas amb virèmia baixa però, per altra banda, facilita l'accés a les proves de curació post-tractament.

4.1.2. Avaluació de la viabilitat de l'ús de mostres de sang seca per a diferenciar reinfecció de fracàs terapèutic mitjançant el genotipat de les mostres basals i de seguiment (FU)

En pacients amb virèmia recurrent és important diferenciar fracàs terapèutic de reinfecció, ja que comporta un canvi en el règim de retractament. En l'estudi CHIME disposàvem d'un total de 64 casos amb virèmia recurrent (51 casos de primer tractament, 11 casos de segon tractament i 2 casos de tercer tractament), pels quals vam comparar el genotip i subtipus en la seva mostra de DBS basal amb la mostra de seguiment (**Figura 27**).

En la FU12, es van genotipar amb èxit un total de 47 casos (89%, 42/47) a partir de DBS o bé per seqüenciació o bé per l'assaig comercial d'Abbott. La determinació del genotip a través de l'assaig comercial d'Abbott es va dur a terme en els casos on la seqüenciació Sanger no va ser possible, ja fos perquè es tractava d'una infecció mixta (4 casos) o bé, presentaven una càrrega vírica baixa (5 casos). Del total de casos genotipats, 28 (59,6%) casos van ser classificats com a reinfecció, 6 (12,8%) casos com a fracàs terapèutic i 13 (27,6%) casos no es van poder classificar,

degut a que presentaven el mateix genotip i subtipus que la mostra basal, i no vam poder obtenir la seqüència del VHC d'alguna de les mostres (s'havia realitzat la determinació per l'assaig comercial), o bé perquè alguna de les dues mostres no es va poder genotipar per cap dels dos mètodes, degut a que presentava una càrrega vírica baixa.

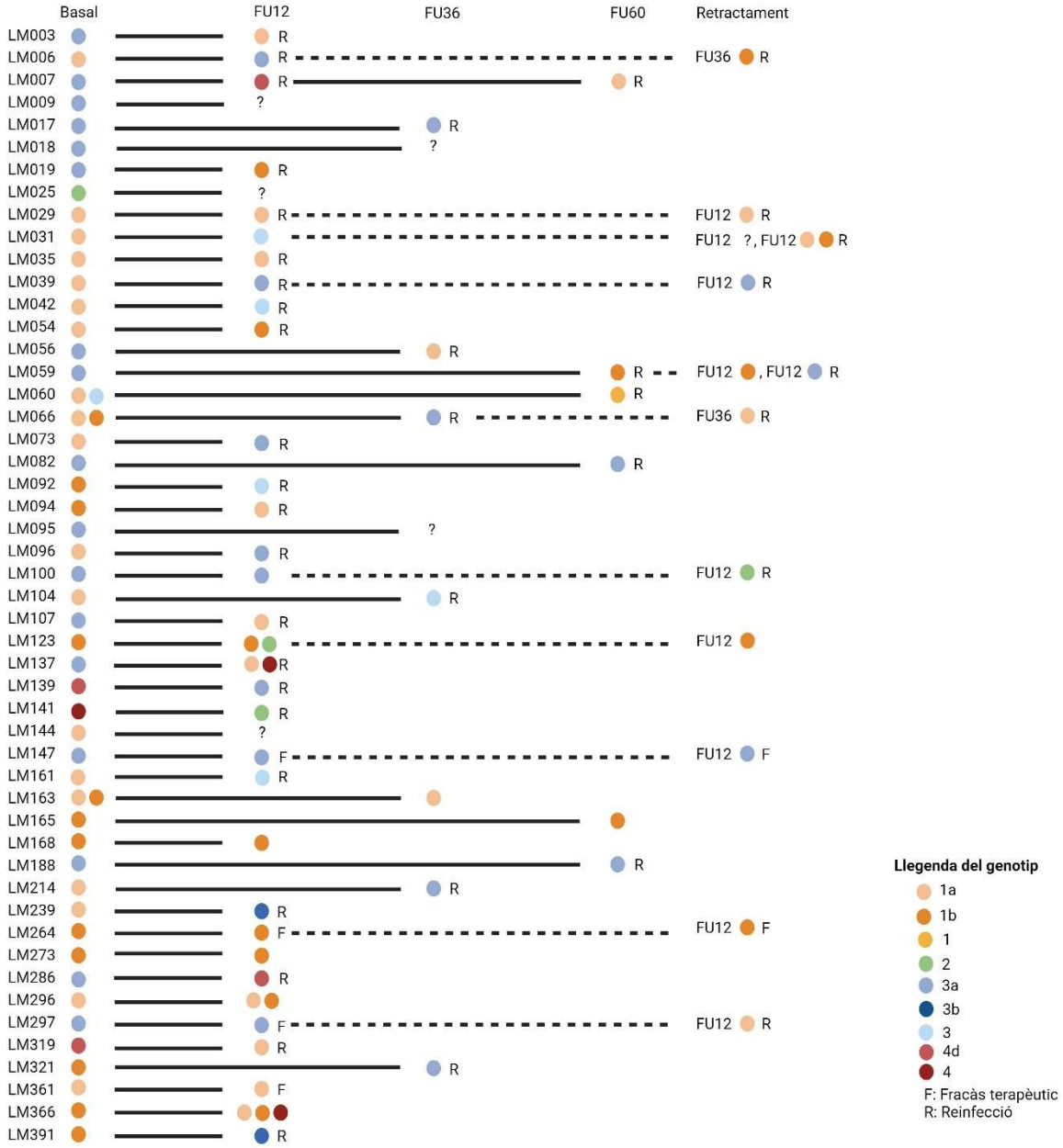


Figura 27. Genotips del VHC observats en les mostres de DBS obtingudes en el moment basal i seguiment posterior. Per cada pacient (identificat amb "LM" seguit d'un número), es mostra el genotip i subtipus detectat a l'inici i després del tractament (FU12, FU36 i FU60) o després del retractament. Els resultats en què s'observa només el genotip, però no el subtipus, van ser obtinguts mitjançant l'assaig de PCR a temps real comercial. Els signes d'interrogació indiquen aquelles mostres no genotipables. Els pacients amb reinfecció s'indiquen amb una R i els fracassos terapèutics amb una F; els pacients LM147 i LM264 no van respondre a dos cicles de tractament. Els restants no es van poder classificar a partir dels resultats de genotipat. (Figura 3, Article I)

En els següents punts de seguiment, a la setmana 36 i 60 després de tractament (FU36 i FU60 respectivament), 14/17 mostres van poder genotipar-se (82,4%); 13 (76,4%) casos van ser classificats com a reinfecció, i els 4 casos restants (23,6%) no es van poder classificar.

El 25% dels casos seqüenciats (7/28) amb reinfecció detectada en la FU12 van presentar el mateix genotip i subtipus que la mostra basal o de seguiment a comparar, mentre que en la FU36 i FU60 aquest percentatge va augmentar fins el 30,8% dels casos. Per tant, la reinfecció amb el mateix genotip i subtipus és freqüent, i només pot ser diferenciada del fracàs terapèutic mitjançant l'anàlisi filogenètic de la seqüència obtinguda, on s'observa que els dos aïllats no agrupen en l'arbre filogenètic (**Figura 28**).

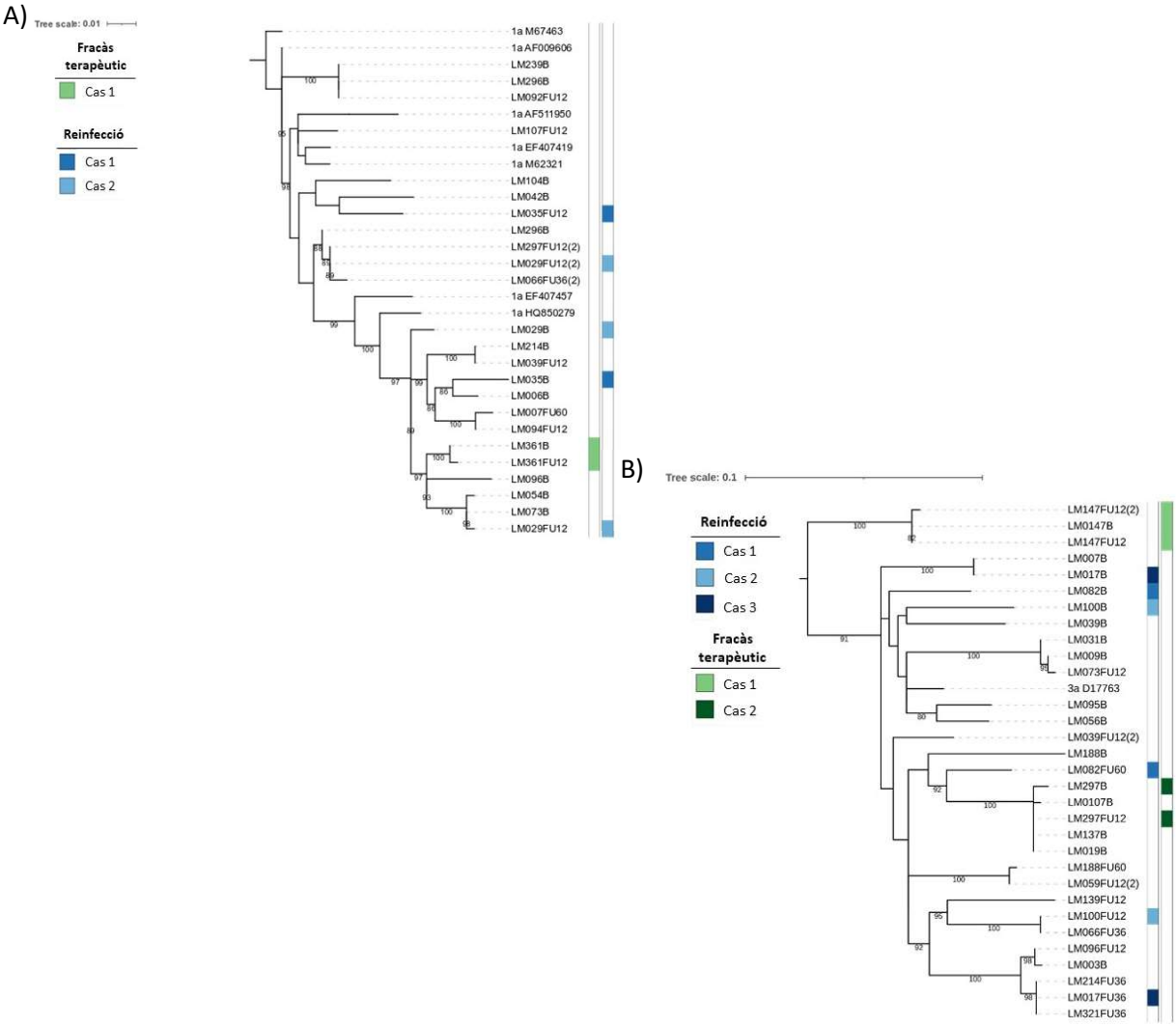


Figura 28. Arbre filogenètic de la regió NS5B, on es mostren en blau alguns casos en què es va detectar reinfecció i en verd d'altres que van patir un fracàs terapèutic. La figura A es mostra un exemple del genotip 1a i el B del genotip 3a (Figura 4, Article I).

En aquest estudi s'ha demostrat que les mostres de DBS són útils per al genotipat del VHC, facilitant el diagnòstic descentralitzat de les infeccions recurrents[247,248]. En PQID, l'avaluació de la reinfecció després del tractament és clau per a poder administrar ràpidament un règim de retractament i disminuir la prevalença en aquesta població, fet clau per poder reduir el número de noves infeccions fins a 2 o menys noves infeccions per cada 100 PQID i any pel 2030, tal com marca l'estratègia d'eliminació de l'OMS[232]. Les reinfeccions post-tractament són més comunes en persones que s'han injectat drogues recentment; un metaanàlisi realitzat amb 36 estudis d'arreu del món en persones que han consumit drogues recentment (injectades o no injectades), així com en persones que han estat en tractament de manteniment amb agonistes opiacis, va estimar que la taxa de reinfecció entre les persones que consumien drogues per via injectada era de 6,2/100 persones-any (IC 95%: 4,3−9,0) mentre que era inferior entre les persones que es trobaven en tractament de manteniment amb agonistes opiacis (3,8/100 persones-any; IC 95%: 2,5−5,9)[249]. La taxa de reinfecció global en l'estudi CHIME (2018-20) va ser molt més elevada, de 31/100 persones-any, essent els principals factors de risc la co-infecció amb el VIH i injecció diària [250]. Cal recordar que es tracta d'una població especialment vulnerable. Dins de l'estudi realitzat per a l'avaluació de les mostres de DBS per a la detecció de virèmia recurrent, 23% dels participants eren VIH+ i 71% dels participants van reportar consum de drogues per via injectada en els últims 6 mesos d'almenys un cop al dia.

En aquest estudi, el 73,5% dels casos (47/64) es van poder classificar, ja sigui com a reinfecció o fracàs terapèutic mitjançant el genotipat del VHC a partir de mostres de DBS. Aquells casos amb càrregues víriques baixes, el genotipat no va ser possible ni per seqüenciació ni per l'assaig comercial basat en PCR a temps real (més sensible, de fins a una càrrega vírica de 500 UI/mL). Els assajos comercials basats en PCR a temps real, permeten determinar el genotip i subtipus del pacient, però en els casos en que les mostres de seguiment presentin el mateix genotip i subtipus que la seva basal, aquesta tècnica no permet diferenciar entre reinfecció i fracàs terapèutic. En l'estudi CHIME, el 36,2% dels casos van presentar el mateix genotip i subtipus que

abans d'iniciar el tractament o el retractament; gràcies a la seqüenciació de la regió NS5B a partir de mostres de DBS i l'anàlisi filogenètic es va poder identificar una reinfecció en el 64,7% dels casos es tractaven de reinfeccions. En els casos amb càrrega vírica baixa, les quals la seqüenciació no és possible, caldria recollir una segona mostra un mes després per a comprovar si la càrrega vírica ha augmentat i per tant es pot seqüenciar, o si la infecció s'ha curat espontàniament.

La seqüenciació i anàlisi filogenètic de les mostres, a part de permetre'ns distingir reinfecció de fracàs terapèutic, també ens ha permès observar que existeix un possible vincle epidemiològic entre alguns dels participants de l'estudi que mostraven una reinfecció, ja que mostres de diferents participants van agrupar en l'arbre filogenètic, i o bé eren idèntiques, o compartien un ancestre comú recent. Aquest fet evidencia la necessitat de millorar les mesures de prevenció de la transmissió del VHC en els CRDs, així com promoure l'estratègia de "tractar als teus amics" (*treat your friends en anglès*)[251], la qual es basa en tractar alhora a totes les persones que es troben dins una mateixa xarxa d'injecció, per tal de minimitzar la reinfecció i millorar l'eficiència del tractament.

Si bé en el moment de realitzar la validació inclosa en aquesta tesi doctorat no hi havia assajos comercials amb marcatge CE per al diagnòstic in vitro en DBS. L'any 2020 es va comercialitzar el primer assaig amb marcatge CE-IVD de la casa comercial Abbott per a la plataforma m2000, i vam fer una petita avaluació de l'assaig en el mateix centre obtenint resultats similars[252].

En resum, l'ús de mostres de DBS per a la determinació de la curació i reinfecció post-tractament pot ser una estratègia alternativa al GeneXpert per facilitar el tractament descentralitzat en PQID que acudeixen a CRDs. Tot i això, quan es van publicar les guies de l'OMS on es recomana l'ús de proves moleculars en el punt d'atenció (2023) no hi havia encara prou evidencia per a recomanar també l'ús de mostres de DBS.

4.1.3. Avaluació de l'assaig de detecció d'ARN-VHC comercial amb marcatge CE-IVD en mostres de sang seca per a l'avaluació de la curació i la detecció de la virèmia recurrent després del tractament, en comparació amb la prova en el punt d'atenció Xpert VL FS.

L'avaluació de l'assaig de detecció de l'ARN-VHC comercial en mostres de DBS es va realitzar a posterior de l'avaluació de l'assaig casolà, i per tant, els resultats dels dos estudis no són comparables directament.

Es van analitzar un total de 47 mostres de DBS corresponents a la FU12, d'elles 24 van ser positives pel mètode de referència en el punt d'atenció. L'assaig comercial per a la detecció de l'ARN-VHC en mostres de DBS va mostrar una precisió diagnòstica del 95,7% (45/47; IC 95%: 85,8−98,8%), una especificitat del 100% (23/23, IC 95%: 83,9−100%), i una sensibilitat del 91,7% (22/24; IC 95%: 74,2−97,7%) (**Taula 5**); els dos casos no detectats per l'assaig en DBS presentaven CV de 442 i 472 UI/mL. La sensibilitat, però, va augmentar fins el 100% si marquem el llindar de CV d'almenys 1.000 UI/mL, tal com marquen les guies de l'EASL (**Taula 6**).

Taula 5. Detecció de l'ARN-VHC en DBS en comparació amb el mètode de referència (PoCT Xpert VL FS) a la FU12.

		PoCT Xpert VL FS[1] a la FU12		
		Positiu	Negatiu	Total
Assaig comercial per a DBS[2]	Positiu	22	0	22
	Negatiu	2	23	25
	Total	24	23	47

[1]Límit inferior de detecció 35 UI/mL. [2]Límit inferior de detecció, 462 UI/mL. DBS, mostres de sang seca; FU12, seguiment a la setmana 12 post-tractament.

Taula 6. Sensibilitat de l'assaig en DBS d'acord amb els llindars establerts.

Llindar de la CV del VHC detectada per PoCT Xpert VL FS[1]	**Detectat per l'assaig comercial en DBS[2]**	
	Proporció	% (IC 95%)
Detectable	22/24	92 (75,03 – 97,78)
Quantificable > 100 UI/mL	22/24	92 (75,03 – 97,78)
Quantificable > 1000 UI/mL	21/21	100 (81,39 – 97,50)

[1]Límit inferior de detecció, 35 UI/mL. [2]Límit inferior de detecció, 462 UI/mL. DBS, mostres de sang seca; FU, seguiment; CV, càrrega vírica; VHC, virus de l'hepatitis C.

Pel que fa a la seqüenciació de les mostres, el 58,3% (n=14) dels casos van ser reinfeccions, el 12,5% (n=3) fracassos terapèutics i el 29,2% (n=7) no es van poder classificar, ja fos per presentar infecció mixta (n=1), càrrega vírica baixa (n=3), o perquè alguna de les dues mostres s'havia genotipat per la PCR a temps real i ambdues presentaven el mateix genotip i subtipus (n=3). D'entre les reinfeccions, el 35,7% (n=4) dels casos presentaven el mateix genotip i subtipus en la mostra basal i a la FU12 (**Figura 29**).

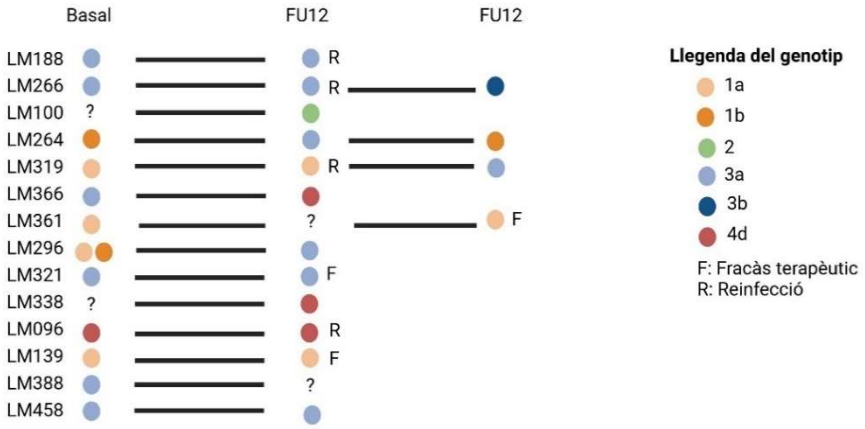


Figura 29. Genotips del VHC observats en les mostres de DBS obtingudes en el moment basal i la FU12. Per cada pacient (identificat amb "LM" seguit d'un número), es mostra el genotip i subtipus detectat a l'inici i després del tractament (FU12) o després del retractament (segona FU12). Els resultats en què s'observa només el genotip, però no el subtipus, van ser obtinguts mitjançant l'assaig de PCR a temps real comercial. Els signes d'interrogació indiquen aquelles mostres no genotipables. Els pacients amb reinfecció s'indiquen amb una R i els fracassos terapèutics amb una F. Els restants no es van poder classificar a partir dels resultats de genotipat.

Els resultats obtinguts de l'avaluació de l'assaig comercial en mostres de DBS són similars als obtinguts en el nostre assaig de PCR a temps real casolana, demostrant que aquest assaig té una bona precisió diagnòstica per a l'avaluació de la curació de la infecció pel VHC després del tractament amb AAD. Un 9,1% dels casos avaluats en mostres de DBS van presentar càrregues víriques baixes, inferiors a 1.000 UI/mL, similar al percentatge també trobat en l'avaluació anterior. Per tant, en aquests casos seria convenient recollir una nova mostra de DBS al cap d'un mes per a confirmar si la persona és virèmica o bé a aclarit la infecció espontàniament. L'EASL recomana monitoritzar la virèmia recurrent després de la RVS en aquelles persones que

continuïn tenint comportaments de risc, com són les PQID, i menciona que les mostres de DBS poden ser una bona alternativa per a detectar la reinfecció pel VHC[5].

Limitacions de l'estudi. La principal limitació de l'estudi és el reduït número de mostres de DBS de seguiment incloses, doncs es va dur a terme en un únic CRD, el primer CRD on s'estava duent a terme un pilot de "*test-and-treat*". El centre REDAN La Mina, CRD on es va dur a terme l'estudi, dona servei a un gran número de PQID que presenten pràctiques d'alt risc, altes taxes de desocupació, sense sostre i empresonament, així com una alta proporció de migrants amb poc recursos econòmics i suport familiar. Tots aquests factors poden estar relacionats amb l'elevada taxa de reinfecció precoç observada després del tractament amb AAD i fer que la comparabilitat dels resultats obtinguts amb la d'altres centres sigui limitada. Per tant, es necessiten estudis addicionals més amplis per confirmar aquests resultats en altres grups PQID.

4.2. Avaluació de la prevalença del virus de l'hepatitis B i les necessitats de vacunació entre les dones transgènere treballadores del sexe i els homes treballadors del sexe que acudeixen a ONGs de Barcelona (Article II)

Els professionals del sexe representen una població vulnerable a infeccions de transmissió sexual degut a diferents factors de risc: exposició a múltiples parelles sexuals, pràctiques sexuals de risc i ús de drogues; a més de patir marginació, violència i criminalització. Per tot això, els professionals del sexe es consideren un grup de risc per a les infeccions de transmissió sexual (ITS) i les hepatitis víriques. Per tant, les guies recomanen la integració del cribratge de les hepatitis víriques, així com el servei de vacunació del VHB, en serveis de cribratge del VIH i altres ITS per tal de poder simplificar l'accés al diagnòstic i a la vacunació d'aquest col·lectiu. Un estudi previ a Barcelona, projecte Sweetie, dut a terme en dones trans i homes treballadors del sexe (TTS i HTS) va determinar una alta prevalença d'ITS, incloent l'exposició al VHB; el 34,2% dels participants presentaven exposició prèvia al VHB, i el 69% desconeixien el seu estat enfront de la infecció[124]. Tot i les diferents aproximacions i esforços realitzats en la població de professionals del sexe pel diagnòstic del VIH i ITS, els estudis realitzats incloent les hepatitis víriques són pocs. En aquesta línia, hem volgut determinar la prevalença d'infecció pel VHB en TTS i HTS, així com conèixer els factors de risc associats a la infecció pel VHB, les necessitats de vacunació enfront al VHB i els determinants de no vacunació, per tal de poder implementar estratègies de cribratge i vacunació específiques per aquesta població.

Aquest estudi es va dur a terme dins del projecte SexCohort en TTS i HTS que acudien a centres comunitaris per al cribratge del VIH i ITS. Segons la nostra coneixença, aquest és el primer estudi realitzat a Espanya que determina la prevalença del VHB i l'estat vacunal en una cohort comunitària de TTS i HTS.

Característiques de la població d'estudi. Es van ser reclutar un total de 271 participants, el 62,7% dels participants eren TTS i el 37,3% HTS. La mediana d'edat va ser de 41 anys, i el 56,1%

dels participants eren majors de 30 anys (TTS, 65,9% i HTS, 39,6%; *p*<0,001). El 93% dels participants eren migrants procedents de països amb prevalença baixa pel VHB, principalment de Sud-Amèrica i Centre-Amèrica (86%), i el 44,5% tenia el permís de residència espanyola. El 53,1% dels participants havia exercit el treball sexual durant més de cinc anys (TTS, 68,2% i HTS, 27,7%; *p*<0,001) (**Taula 7**).

Pel que fa a les conductes de risc, el 59,9% dels participants van declarar haver mantingut relacions sexuals sense preservatiu en els últims 12 mesos, el 27,6% havien practicat Chemsex en els últims 12 mesos i el 2,6% s'havien injectat drogues algun cop a la vida. A més, el 12,6% havia estat a la presó en algun moment. El 26,2% dels participants va presentar un diagnòstic previ d'ITS en els últims 12 mesos, i el 55,2% havia declarat una infecció prèvia per *T. pallidum*. En general, el 26% dels participants havia experimentat discriminació en algun centre mèdic algun cop a la vida, el 24,2% havia sofert agressions físiques o abusos sexuals en els últims 12 mesos i el 27,2% estava en tractament amb ansiolítics.

Taula 7. Característiques sociodemogràfiques dels participants de SexCohort.

	TTS (*n* = 170)		**HTS** (*n* = 101)		**Total** (*N* = 271)		***p*-valor**
	n	%/SD	*n*	%/SD	*n*	%/SD	
Característiques sociodemogràfiques							
> 30 anys	112	65,9%	40	39,6%	152	56,1%	<0,001
No espanyol	160	94,1%	92	91,1%	252	93,0%	0,485
Permís de residència	82	48,8%	36	37,1%	118	44,5%	0,086
Educació primària o inferior	51	30,0%	16	15,8%	67	24,5%	0,014
Característiques bioconductuals							
> 5 anys de treball sexual	116	68,2%	28	27,7%	144	53,1%	<0,001
Edat de la primera relació sexual (anys)	13,49	3,4	14,33	3,0	13,80	3,3	0,036
No ús del preservatiu*	78	47,0%	80	81,6%	158	59,9%	<0,001
Número de clients l'última setmana	7,94	8,6	5,09	6,2	6,87	7,9%	0,002
Parella estable	73	42,9%	62	61,4%	135	49,8%	0,005
Consum d'alcohol* (abans o durant la relació sexual)	116	69,1%	66	65,4%	182	67,7%	0,621
Consum de drogues*	131	78,9%	82	82,0%	213	80,1%	0,652

Consum de drogues injectades (algun cop a la vida)	0	0,0%	7	6,9%	7	2,6%	0,001
Consum de drogues esnifades (algun cop a la vida)	136	81,0%	82	81,2%	218	81,0%	0,003
Chemsex *	35	21,0%	39	38,6%	74	27,6%	1,000
Haver estat a la presó	25	14,9%	9	8,9%	34	12,6%	0,216
Diagnòstic d'ITS*	39	22,9%	32	31,7%	71	26,2%	0,150
Vacunació pel VHB (autorreportat)							0,671
No	36	21,4%	20	20,0%	56	20,9%	
No ho sap	68	40,5%	46	46,0%	114	42,5%	
Sí	64	38,1%	34	34,0%	98	26,8%	
Tractament PrEP pel VIH (algun cop a la vida)	6	3,6%	12	11,9%	18	6,7%	0,017
Haver experimentat discriminació en els serveis mèdics (algun cop a la vida)	53	31,9%	16	16,2%	69	26,0%	0,005
Agressió física o abús sexual*	45	26,8%	20	19,8%	65	24,2%	0,251
Tractament amb ansiolítics *	52	31,0%	21	20,8%	73	27,1%	0,094
Tractament amb antidepressius*	26	15,6%	11	10,9%	37	13,8%	0,372

*En els últims 12 mesos

TTS, dones trans treballadores del sexe; HTS, homes treballadors del sexe ITS, infecció de transmissió sexual; VHB, virus de l'hepatitis B; PrEP, tractament de profilaxis pre-exposició al VIH; VIH virus de la immunodeficiència humana. (Taula 1, Article II)

4.2.1. Caracterització de la prevalença de la infecció activa pel VHB i l'exposició prèvia

La prevalença d'infecció activa pel VHB (AgHBs positiu) va ser de l'1,9% (5/270; IC 95%: 0,6−4,3%), essent dos casos nous diagnòstics (**Taula 8**). Els cinc participants amb infecció activa presentaven co-infecció amb el VIH, i quatre d'ells havien estat diagnosticats d'una ITS en els últims 12 mesos. Tot i que la prevalença d'infecció va ser superior entre les TTS que entre els HTS, aquesta diferència no va ser estadísticament significativa (2,4% (4/169) *vs*. 0,9% (1/101); *p*=0,42).

La prevalença d'**infecció activa** pel VHB trobada en aquesta població (1,9%) és de 8,4 vegades superior a l'observada en la població general (0,2%; IC 95%: 0,10−0,34%) d'acord amb l'estudi de seroprevalença dut a terme a Espanya entre el 2017-2018[17], i de 3,6 vegades superior a la prevalença trobada en un estudi realitzat a Catalunya (2016-2018) entre la població general

(0,5%; IC 95% 0.26−0.77%)[21]. En comparació amb la prevalença trobada en l'estudi Sweetie (0,8%), realitzat en la mateixa població d'estudi entre el 2017-2018 [124], va ser una mica superior. En estudis realitzats a Londres, Argentina i Països Baixos, les prevalences trobades van ser de 1,2%, 1,7% i 5,2% respectivament per cada un dels països[253–255]. Aquestes diferències observades poden ser degudes als països d'origen de les diferents proporcions de TTS i HTS de cada un dels estudis, a les pràctiques sexuals dels participants, o a l'accés al sistema sanitari, entre d'altres. Per això, és important realitzar una caracterització de l'epidemiologia local del VHB en aquest col·lectiu a partir de diferents estratègies per tal de poder dissenyar intervencions de prevenció i control adaptades a les seves necessitats.

Diverses guies, del CDC, l'Associació Americana de l'estudi de malalties del fetge[256], l'ECDC[211] i l'OMS[111], recomanen un cribratge periòdic per l'AgHBs en aquelles poblacions on la prevalença de l'AgHBs és superior a l'1%. En aquest sentit, la població de professionals del sexe, i concretament les TTS i els HTS participants a SexCohort presenten una prevalença igual o superior i per tant cal un cribratge periòdic pel VHB.

La prevalença d'**exposició prèvia** al VHB observada va ser del 31,9% (86/270; IC 95%: 26,3%−37,8%) (anti-HBc positiu) (**Taula 8**), dels quals la majoria eren provinents de països d'Amèrica del Sud (62,8%): Colòmbia (24,4%), Perú (12,8%), Equador (12,8%) i Veneçuela (12,8%). Aquesta prevalença trobada és de 6 vegades superior a l'observada en la població espanyola (5,3%)[17]. Cal tenir en compte que la gran majoria dels participants eren migrants. En aquest sentit, els participants que presentaven exposició prèvia al VHB eren majoritàriament de quatre països de Sud-Amèrica (Colòmbia, Veneçuela, Brasil i Perú). Aquests països presenten prevalences baixes pel VHB[257], essent la prevalença per l'AgHBs l'any 2022 del 0,6% a Colòmbia, del 0,43% a Perú, del 0,64% a Equador i del 1,3% a Veneçuela[258]. Aquest fet indica que el factor de risc d'exposició i d'infecció al VHB en aquesta població d'estudi no va tan lligat al país d'origen, sinó al treball sexual que és el principal factor de risc.

L'anàlisi específic per gènere, va mostrar que les TTS tenen una major exposició al VHB respecte als HTS (38,5% TTS *vs.* 20,8% HTS (21/101); *p*-valor=0,002). L'exposició superior al VHB trobada entre les TTS podria ser deguda a l'edat, ja que el 65,9% de TTS eren majors de 30 anys, i feia més anys que es dedicaven al treball sexual (el 68,7% de les TTS portava més de cinc anys exercint). En canvi, el 39,6% del HTS eren majors de 30 anys i el 27,7% portava més de cinc anys dedicant-se al treball sexual. Aquest fet suggereix que les TTS han acumulat una major exposició al VHB.

Finalment, el 22,6% dels participants (61/270) presentaven immunitat enfront al VHB deguda a una **infecció resolta** (anti-HBc i anti-HBs positius), essent el 43% d'ells VIH positius i el 72,1% presentaven un diagnòstic previ d'alguna ITS en els últims 12 mesos (**Taula 7**). Addicionalment, el 7,4% (20/270) dels participants eren positius únicament al marcador anti-HBc (anomenat anti-HBc aïllat, en anglès "*anti-HBc alone*") (**Taula 8**). Un resultat positiu únicament a anti-HBc pot ser degut a: el resultat d'una infecció passada quan els nivells d'anti-HBs han disminuït, una infecció oculta, un fals positiu (susceptible) o una soca mutant d'AgHBs que no és detectable per l'assaig serològic usat (infecció).

Taula 8. Estat serològic pel VHB i diferències entre les dones trans treballadores del sexe (TTS) i homes treballadors del sexe (HTS).

	TTS (N=169)		**HTS** (N=101)		**Total** (N=270)		***p*-valor**
Estat serològic enfront el VHB	n	%	n	%	n	%	
Infecció pel VHB	4	2,37%	1	0,99%	5	1,85%	0,42
Immunitat adquirida degut a infecció pel VHB	47	27,81%	14	13,86%	61	22,59%	<0,001
Immunitat adquirida per vacunació	52	30,77%	39	38,61%	91	33,70%	<0,001
Susceptible (candidats a vacunar)	52	30,77%	41	40,59%	93	34,44%	<0,001
Anti-HBc aïllat positiu	14	8,28%	6	5,94%	20	7,40%	<0,001

*Classificació del CDC (2023). Infecció pel VHB: AgHBs-positiu, anti-HBc-positiu. Infecció pel VHB resolta (immunitat adquirida per infecció): AgHBs-negatiu, anti-HBc-positiu, anti-HBs-positiu. Immunitat adquirida per vacunació: AgHBs-negatiu, anti-HBc-negatiu, anti-HBs-positiu. Susceptible, mai infectats: AgHBs-negatiu, anti-HBc-negatiu, anti-HBs-negatiu. Anti-HBc aïllat positiu: anti-HBc-positiu.

VHB, virus de l'hepatitis B; TTS, persones treballadores del sexe dones trans; HTS, persones treballadores del sexe homes. (Taula 2, Article II)

4.2.2. Caracterització dels factors de risc associats a l'exposició al VHB

Els factors de risc identificats a exposició al VHB, en el model ajustat de regressió logística, van ser el treball sexual de més de 5 anys (ORa=9,35, IC 95%: 3,57−26,96), exposició prèvia a *T. pallidum* (ORa=3,49, IC 95%: 1,42−9,01) i estar en tractament amb ansiolítics (ORa=3,23, IC 95%: 1,21−9,38) (**Taula 9**). Les persones treballadores del sexe que fa més de 5 anys que treballen en el sexe tenen un risc d'exposició al VHB de més de 9 vegades superior; aquest resultat va en línia amb un estudi previ en el camp del VIH, on es va veure una associació entre l'exposició al VIH i més anys de dedicació al treball sexual[259]. També, l'exposició prèvia a *T. pallidum* triplica el risc d'exposició al VHB en aquesta cohort; resultats similars es van trobar en professionals del sexe a Argentina, el qual va reportar que la co-infecció més freqüent en TTS i HTS era per *T. pallidum* i VHB, representant un 13,8% de les co-infeccions[254]. Aquesta associació s'esperava degut als factors de risc compartits, com les relacions sexuals sense protecció, i a les lesions ulceroses induïdes per aquest agent, que faciliten potencialment la transmissió del VHB, ja que entra directament al torrent sanguini, tal com s'ha descrit anteriorment[260]. Finalment, estar en tractament amb ansiolítics comportava també triplicar el risc d'exposició al VHB. Les situacions laborals, així com personals, dels professionals del sexe fa que siguin propensos a patir trastorns mentals com ansietat o depressió, necessitant de medicació per al seu control[261]. La medicació per aquests trastorns pot dur a una disminució de la capacitat de presa de decisions degut a la disminució de la capacitat cognitiva[262]. A més, els professionals del sexe estan subjectes a múltiples condicions sindèmiques com l'ús d'alcohol i violència, els quals impacten en la seva salut mental i, en conseqüència, a practicar conductes sexuals de risc com no usar preservatiu[263], fet que augmenta el risc d'adquisició d'ITS[264].

Taula 9. Anàlisi de regressió logística univariada i multivariada dels factors de risc d'exposició pel VHB.

	Negatiu (n=93) n(%)	Positiu (n=86) n(%)	Total (N=179) n(%)	Model univariant OR (IC 95%)	Model multivariat ORa (IC 95%)
Característiques sociodemogràfiques					
HTS	41 (44,09%)	21 (24,42%)	62 (34,64%)	0,4 (0,18-0,83)	
> 30 anys	43 (46,24%)	71 (82,56%)	114 (63,69%)	4,6 (2,17-10,20)	
Migrants	64 (68,81%)	40 (46,51%)	104 (58,10%)	0,12 (0,01-0,87)	
Educació primària o inferior	15 (16,13%)	33 (38,37%)	48 (26,82%)	2,82 (1,24-6,76)	
> 5 anys de treball sexual	32 (34,41%)	72 (83,72%)	104 (58,10%)	11,02 (2,17-10,2)	**9,35 (3,57-26,96)**
Característiques bioconductuals					
No ús del preservatiu†	46 (52,87%)	47 (55,29%)	93 (54,07%)	1,1 (0,6-2,01)	
Parella estable†	44 (47,31%)	37 (43,02%)	81 (45,25%)	0,84 (0,46-1,52)	
Consum d'alcohol (abans o durant les relacions sexuals) †	69 (74,19%)	55 (63,95%)	124 (69,27%)	0,62 (0,32-1,17)	
Chemsex†	23 (25,00%)	24 (27,91%)	47 (26,40%)	1,16 (0,6-2,27)	
Consum de drogues injectades‡	2 (2,15%)	3 (3,49%)	5 (2,79%)	1,64 (0,27-12,72)	
Consum de drogues esnifades‡	73 (78,49%)	71 (82,56%)	144 (80,45%)	1,3 (0,62-2,77)	
Haver estat a la presó	8 (8,60%)	17 (19,77%)	25 (13,97%)	2,62 (1,1-6,75)	
Agressió física o abús sexual†	17 (18,28%)	23 (26,74%)	40 (22,35%)	1,63 (0,81-3,36)	
Ús d'esteroides injectats†	5 (5,38%)	2 (2,33%)	7 (3,91%)	0,7 (0,09-3,59)	
Circumcisió	4 (4,40%)	16 (19,51%)	20 (11,56%)	5,27 (1,83-19,07)	
Tractament amb ansiolítics†	15 (16,13%)	35 (40,70%)	50 (27,93%)	3,35 (1,43-8,37)	**3,23 (1,21-9,38)**
Tractament amb antidepressius†	8 (8,60%)	17 (20,00%)	25 (14,04%)	3 (0,96-10,78)	
Diagnòstic d'ITS†	20 (21,51%)	22 (25,58%)	42 (23,46%)	1,21 (0,64-2,27)	
Tractament PrEP pel VIH‡	3 (3,23%)	4 (4,65%)	7 (3,91%)	1,46 (0,31-7,61)	
Resultats del laboratori					
VHC	1 (1,08%)	3 (3,49%)	4 (2,23%)	3,33 (0,42-67,94)	

VIH	13 (14,29%)	37 (43,53%)	50 (28,41%)	4,16 (1,73-10,92)	
*C. trachomatis**	10 (10,99%)	5 (6,02%)	15 (8,62%)	0,52 (0,16-1,53)	
*N. gonorrheae**	11 (12,09%)	11 (13,25%)	22 (12,64%)	1,11 (0,45-2,75)	
Sífilis (anticossos treponèmics)	40 (43,01%)	62 (72,09%)	102 (56,98%)	3,06 (1,44-6,63)	**3,49 (1,42-9,01)**

†En els últims 12 mesos

‡Algun cop a la vida

*Resultat positiu a qualsevol localització (orina, faringe o anal)

TTS, homes treballadors del sexe; ORa, oportunitat relativa ajustada. (Taula 3, Article II)

4.2.3. Avaluació de l'estat de vacunació i els determinants de no vacunació prèvia

El 33,7% (91/270) dels participants van presentar anticossos post-vacunals enfront el VHB en absència de marcadors d'infecció, indicant una vacunació prèvia (positius a anti-HBs i negatius a anti-HBc i AgHBs), dels quals el 56% desconeixia estar-ho, i el 19,8% d'ells estaven infectats amb el VIH (51/91).

Del total de participants, 93 (34,4%) van ser identificats com a candidats a vacunació, ja que no presentaven cap marcador serològic pel VHB, dels quals, el 25,8% (24/93) reportaven haver estat vacunats prèviament (d'aquests 8 (8/24) eren VIH positius) i el 13,9% del total de candidats a vacunació estaven infectats amb el VIH. Un estudi dut a terme a Londres[253] amb HTS va determinar que el 61,3% dels participants eren candidats a vacunació, essent major que en el nostre estudi. El 25,8% de les persones que van reportar estar vacunades però eren anti-HBs negatiu, és possible que no rebessin la pauta de vacunació completa, pel que és aconsellable la revacunació[32].

Els determinants de no vacunació van ser no haver rebut tractament PrEP pel VIH (OR=4,23, IC 95%: 1,27−19,20; p=0,042) i haver nascut fora d'Espanya (OR=5,00, IC 95%: 1,25−33,3; *p*=0,043) (**Taula 10**). L'any 2019 es va iniciar l'estratègia d'ús de tractament de profilaxis pre-exposició per la prevenció del VIH (PrEP) dins del Sistema de Salut Nacional Español. A Catalunya, les unitats

destinades al subministrament de la PrEP realitzen cribratge d'ITS i hepatitis víriques durant les primeres visites, facilitant l'administració de la vacuna del VHB en aquelles persones que la requereixen[265]. Aquest fet, justifica que les persones que no estaven en PrEP tinguessin un risc 4 vegades més alt de no haver estat vacunades. L'altre factor associat va ser haver nascut fora d'Espanya (OR=5,00); el 93% dels participants eren provinents d'Amèrica Llatina on la vacunació pel VHB es va anar introduint en diferents anys: a Colòmbia la vacunació va començar l'any 1994 en nens d'entre 0 i 5 anys[266], a Veneçuela al 2000 en nens menors d'un any[267], Brasil el 1993 vacunava exclusivament personal sanitari i l'any 1998 va començar la vacunació en nens d'entre 0 i 9 anys[268], i Perú va començar la vacunació l'any 1997 en menors de 1 any[269]. Tenint en compte que la mediana d'edat dels participants és de 41 anys, la majoria dels participants no van accedir a les campanyes de vacunació enfront al VHB del seu país d'origen.

Si ens fixem amb les proporcions de persones vacunades en el grup de TTS i HTS, la proporció de TTS que presenten anticossos post-vacunals (vacunades) va ser inferior a la de HTS (30,8% *vs* 38,6%; $p<0.001$) (**Taula 7**), segurament degut a que el 65,9% de TTS eren majors de 30 anys i per tant, en molts casos no es van poder adherir a les campanyes de vacunació pel VHB del país d'origen. Però, tot i que, la proporció de TTS vacunades era inferior, la proporció d'infecció prèvia era superior i, per tant, el percentatge de candidates a vacunar era significativament menor que en el grup de HTS (TTS: 30,8%; 52/169; HTS: 40,6%; 41/101, $p<0,001$). Tot i així, les estratègies específiques de vacunació en aquests dos grups són primordials.

Taula 10. Anàlisi logístic de regressió univariada dels factors de risc de no vacunació.

	Susceptible (*n* = 93) n (%)	**Vacunat (*n* = 91) n (%)**	**Total (*N* = 184) n (%)**	**Model Univariat OR (IC 95%)**
Característiques sociodemogràfiques				
> 30 anys	43 (46,2%)	40 (44,0%)	83 (45,1%)	0,87 (0,49-1,56)
HTS	41 (44,09%)	39 (42,86%)	80 (43,48%)	1,05 (0,58-1,88)
No espanyol	91(97,85%)	82 (90,11%)	173 (94,02%)	5,00 (1,25-33,3)
Permís de residència	31 (33,33%)	36 (40,91%)	67 (37,02%)	0,72 (0,39-1,31)
Educació primària o inferior	15 (16,13%)	18 (19,78%)	33 (17,93%)	1,28 (0,60-2,77)
Característiques bioconductuals				
> 5 anys de treball sexual	32 (34,41%)	39 (42,86%)	71 (38,59%)	1,42 (0,78-2,63)
Haver patit discriminació en els serveis mèdics (algun cop a la vida)	22 (24,18%)	24 (27,59%)	46 (25,84%)	0,80 (0,40-1,56)
Haver estat a la presó	8 (8,60%)	9 (10,11%)	17 (9,34%)	0,83 (0,30-2,27)
Chemsex en els últims 12 mesos	23 (25,00%)	27 (30,34%)	50 (27,62%)	0,76 (0,39-1,47)
Consum de drogues en els últims 12 mesos	75 (80,65%)	70 (80,46%)	145 (80,56%)	1,01 (0,48-2,12)
Injecció de drogues (algun cop a la vida)	2 (2,15%)	2 (2,25%)	4 (2,20%)	0,95 (0,11-8,33)
Vacunació pel VHB				
No	22 (23,66%)	20 (22,47%)	42 (23,08%)	
No ho sé	47 (50,54%)	31 (34,83%)	78 (42,86%)	1,36 (0,64-2,94)
Sí	24 (25,81%)	38 (42,70%)	62 (34,07%)	0,57 (0,25-1,26)
VIH	13 (14,29%)	18 (20,69%)	31 (17,42%)	0,63 (0,28-1,38)
No haver estat en tractament amb la PrEP pel VIH (algun cop a la vida)	3 (3,23%)	11 (12,36%)	14 (7,69%)	4,23 (1,27-19,2)

HTS, persones treballadores del sexe homes; VIH, virus de la immunodeficiència humana; PrEP, tractament antiretroviral per a la prevenció del VIH. (Taula 4, Article II)

Finalment, el 7,4% dels participants eren positius únicament per l'anti-HBc. Els individus que presenten aquest tipus de patró serològic enfront al VHB presenten una major probabilitat de reactivació del VHB en situacions d'immunodepressió[256]. A més, aquest patró serològic sovint

indica una infecció oculta pel VHB o una infecció aguda resolta que ha perdut el marcador anti-HBs[270], situació comuna en pacients co-infectats amb el VIH. En la nostra cohort, el 50% dels participants amb anti-HBc aïllat positiu presentaven infecció amb el VIH, però cap cas presentava virèmia pel VHB (probablement degut a l'efecte de la teràpia antiretroviral) i el 50% restant que no presentaven infecció amb el VIH, tampoc presentava càrrega vírica detectable pel VHB. Dues hipòtesis poden encaixar amb aquesta situació, per un costat que es trobin en una fase de resolució d'una infecció aguda pel VHB[270], o per altra banda, que es tracti de falsos positius per l'anti-HBc fet que seria menys probable, ja que la taxa de falsos positius de la prova serològica utilitzada és de 0,002% [271].

L'alt desconeixement dels participants sobre el seu estat enfront el VHB (el 56% desconeixia estar vacunat enfront al VHB, i el 25,8% dels candidats a vacunar reportaven haver estat vacunats pel VHB), així com la baixa taxa de vacunació i l'alta prevalença d'exposició al VHB, fa que aquesta població sigui clau per a realitzar estratègies de cribratge, vacunació i educació en les hepatitis víriques. Altres estratègies de cribratge en aquestes poblacions pel VHB poden ser explorades com és l'autotestatge a casa, estratègia que s'ha usat en el col·lectiu de gais, bisexuals, HSH, i TTS per al cribratge de VIH, VHC i altres ITS[131,272]. Actualment, les guies internacionals[2,273], així com el manual de vacunació enfront al VHB de Catalunya[32], recomanen la vacunació enfront el VHB en professionals del sexe. Per a poder augmentar la taxa de vacunació en aquesta població calen estratègies comunitàries integrades en els centres freqüentats per ells. A més, les guies de l'OMS emfatitzen la importància de la integració i descentralització del cribratge de les malalties infeccioses (VIH, ITS i hepatitis víriques) en centres comunitaris[109]. Prèviament a la vacunació enfront el VHB és essencial determinar l'estat serològic enfront al VHB, no obstant, és més difícil de descentralitzar perquè les proves ràpides d'anti-HBs i anti-HBc presenten una sensibilitat baixa, i no funcionen tant bé com els d'AgHBs. En aquest sentit, les guies del CDC indiquen que estratègies de cribratge i vacunació són més cost-efectives que únicament de vacunació[24].

4.2.4. Caracterització de la prevalença d'infecció activa pel VHC

La prevalença basal d'infecció activa pel VHC a l'entrada de la cohort va ser de 0,7% (n=2, ambdós nous diagnòstics; IC 95%; 0,2−2,9%). Segons el gènere, la prevalença entre els HTS va ser del 1,0% (n=1), i entre les TTS del 0,6% (n=1). D'entre les dues persones amb infecció activa, una presentava co-infecció amb el VIH i havia interromput el tractament antiretroviral. A més, entre les persones participants, 5 (1,9%) van presentar anticossos i 6 (2,2%) van reportar un diagnòstic i tractament previ pel VHC.

La seroprevalença trobada en aquest estudi és menor a la trobada en un estudi realitzat a Argentina el qual reporta una seroprevalença de 4,5% en TTS i del 6,1% en HTS[254]; i a un estudi realitzat a EEUU en persones treballadores del sexe, el qual va trobar una seroprevalença del 23,8%[230]. En l'estudi Sweetie, realitzat en la mateixa població d'estudi que l'estudi SexCohort, no es va trobar cap participant virèmic a VHC, però si que el 2,4% dels participants havien estat exposats al VHC (anti-VHC positius). Aquest resultat va en línia amb la seroprevalença trobada en aquest estudi[124]. Donada la importància de la transmissió parenteral del VHC en aquestes poblacions[61,212], l'escàs número de participants injectors de drogues en SexCohort (2,6%), podria ser l'explicació d'aquestes baixes prevalences en comparació amb altres estudis.

Limitacions de l'estudi. Tot i que el projecte SexCohort es va dur a terme en dos centres comunitaris de Barcelona, és possible que no representi completament tota la població de TTS i HTS de la ciutat. Per tal de diversificar la població participant, es va convidar a participar a professionals del sexe que no freqüenten els centres comunitaris, gràcies a l'aproximació feta en pàgines web de treball sexual. La N prevista de 300 participants no va ser assolida, així com l'escàs número de participants AgHBs positius va fer que no fos possible comparar la prevalença de VHB entre el grup de TTS i HTS. Per altre banda, la informació sobre les dades sociodemogràfiques, proves prèvies del VHB, diagnòstic, tractament i vacunació van ser autorreportades, per tant podrien no ser completament certes. Per tal de mitigar aquest fet, es

va garantir que les entrevistes es realitzessin per personal format, i de forma privada i confidencial. Addicionalment, els nivells d'anti-HBs poden disminuir després de la vacunació[274], i inclús poden ser indetectables en persones que no responen a la vacuna (el 5% de les persones immunocompetents i entre el 18 i 72% de les persones que viuen amb el VIH, depenent del seu estat immunitari)[275], causant una subestimació de les persones vacunades i una sobreestimació dels considerats susceptibles[274]. Tot i això, en general es recomana una revacunació enfront al VHB en aquelles persones que no responen a la vacuna[32]. Degut a la recent aprovació de la Bulevirtida pel tractament del VHD, és important realitzar les proves de detecció del VHD en pacients diagnosticats de VHB crònica (AgHBs positiu). No es van realitzar proves de detecció del virus de l'hepatitis delta (VHD), ja que l'estudi SexCohort es va realitzar en el context de cribratge d'ITS en centres comunitaris, i aquells participants que van donar positiu van ser derivats a l'atenció sanitària. Finalment, tot i que el projecte SexCohort disposava de proves longitudinals pel diagnòstic de les ITS, les proves de VHB i VHC es van limitar a les mostres basals (mostra recollida a l'entrada del projecte), fet que va impedir examinar patrons temporals i inferir relacions causals pels factors de risc de VHB identificats.

4.3. Implementació i avaluació d'una estratègia de micro-eliminació basada en una acció comunitària que reuneix educació sobre el VHB i el VHC, cribratge i accés simplificat a l'atenció i el tractament en migrants procedents de països endèmics que viuen a la província de Barcelona (Manuscrit I)

Els migrants de països endèmics són una població clau per al cribratge del VHB i VHC, ja que poden reflectir la prevalença del país d'origen. Tal com s'ha indicat en la Introducció, la distribució global del VHB i VHC es dona de forma desigual, afectant en major mesura a països de renta baixa i mitja, on les prevalences per ambdós virus superen el 2%, considerant-se països de mitja endemicitat (prevalença ≥2%) o d'alta endemicitat (prevalença ≥5%). A Europa, alguns països de l'est d'Europa com Romania, també són considerats endèmics pel VHC, ja que presenten prevalences superiors al 2%[214]. La prevalença en la població general a Espanya i Catalunya tant pel VHB com pel VHC és baixa, però hi ha un elevat percentatge de persones migrades de diferents orígens, incloent països endèmics pel VHB i VHC.

En el marc d'aquesta situació, vam dur a terme el projecte HepBC*link* a l'àrea metropolitana de Barcelona, per a poder avaluar la viabilitat i efectivitat d'una intervenció comunitària en persones provinents de països endèmics pel VHB i VHC, proporcionant-los educació, cribratge i accés simplificat al tractament antivíric. En el projecte HepBC*link* es van reclutar migrants de Pakistan, Senegal i Romania, ja que les prevalences en aquests països són elevades pel VHB i VHC. A més, un estudi realitzat a partir de les dades de població espanyola del INE i les prevalences del ECDC estima que la prevalença de VHB i VHC a Espanya i Catalunya en aquestes poblacions és més elevada que la prevalença en la població general[219]. Addicionalment, un gran nombre de persones d'aquestes tres nacionalitats viuen a l'àrea metropolitana de Barcelona.

La intervenció comunitària duta a terme en aquesta estratègia es va realitzar en diferents espais, a través d'agents comunitaris de salut, una infermera comunitària i un metge infectòleg especialitzat en salut comunitària. Per a cada una de les poblacions migrants escollides es van formar dos agents comunitaris de salut en la realització de les proves ràpides d'AgHBs pel VHB i

d'anti-VHC pel VHC, així com en la recollida de les mostres de sang seca en el cas de que el participant fos reactiu per a alguna de les proves ràpides. Els agents de salut comunitari parlaven l'idioma dels països escollits a cribrar; en el cas de la població pakistanesa, l'agent de salut comunitari parlava urdú; per la població senegalesa, wòlof i francès; i per la població romanesa, romanès, eliminant la barrera idiomàtica que molts cops troba aquesta població al assistir al sistema sanitari de salut convencional. A més, els agents comunitaris es van encarregar de la vinculació al sistema sanitari dels participants positius a AgHBs o a ARN-VHC mitjançant trucades telefòniques, i també van acompanyar als participants a la primera visita a la USI. Per aquells participants que no van assistir a alguna de les visites programades, els agents de salut comunitària van realitzar diverses trucades per a poder revincular-los i sensibilitzar-los sobre la importància de tenir l'atenció medica requerida. Durant la intervenció comunitària, a més, es va realitzar una sessió educativa de forma individual a través de l'eina educativa HEPARJOC en format tauleta, així com la realització de les proves ràpides per a la detecció de l'AgHBs i dels anticossos enfront al VHC. Aquells casos positius per a alguna de les proves ràpides, se'ls va recollir una mostra de sang seca que va ser enviada al laboratori per a la confirmació de la virèmia (**Figura 30**).

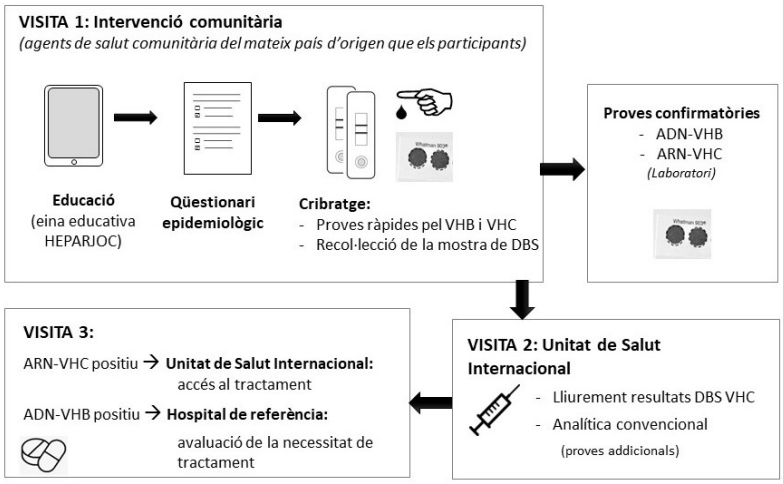


Figura 30. Disseny d'estudi de l'HepBC*link*. (Figura 1, Manuscrit I)

Característiques dels participants. Un total de 768 participants van ser reclutats: 346 pakistanesos, 304 senegalesos i 136 romanesos en 68 intervencions comunitàries. Les

intervencions comunitàries es van dur a terme en diferents llocs segons el país d'origen (tal com s'ha indicat anteriorment).

Pel que fa a les característiques sociodemogràfiques (**Taula 11**), la població romanesa va ser majoritàriament dones (60,8%; *p*<0,001) i era la població amb menor proporció de participants que posseïen targeta sanitària (84,2%; *p*<0,001); la població pakistanesa era la més jove amb una edat mediana de 38,4 anys (*p*<0,001) i la població senegalesa va mostrar un major coneixement del castellà i/o català parlat (93,6%; *p*<0,001). Respecte a la mediana de temps que portaven vivint a Espanya, la població romanesa va ser la que feia més anys que vivia aquí (mediana de 16,1 anys; *p*<0,001) respecte a la població pakistanesa i senegalesa (mediana de 11,2 anys i 15,8 anys respectivament). El percentatge de participants considerats migrants recents (<5 anys vivint a Espanya) va ser del 5,1% en la població romanesa, del 16,4% en senegalesos i del 24,0% en els pakistanesos. Finalment, el número de participants que van reportar ús de drogues per via injectada va ser molt baix, tant entre els pakistanesos com entre els senegalesos (n=4) i nul entre els romanesos.

Pel que fa al coneixement sobre el VHB i VHC entre els participants era limitat, especialment entre la població senegalesa (35,7 i 33,8% coneixen que és el VHB i el VHC). A més, l'anàlisi per gènere descriu que les dones tenen un major coneixement de les dues infeccions respecte els homes (62,1% per VHB i 62,1 per VHC en les dones i 40,7% pel VHB i 39,7% pel VHC en homes, amb una *p*<0,001). En aquest sentit, la població romanesa de l'estudi era majoritàriament de dones, i també és la població que va presentar un major coneixement. La predominança de dones es deu a que el cribratge es va dur a terme sobretot en l'església ortodoxa on les persones que assisteixen són majoritàriament dones.

Finalment, el percentatge de participants que havien estat cribrats prèviament pel VHB i el VHC va ser baix en general. Pel VHB, el 12,1% (n=16) dels participants romanesos van reportar haver estat cribrats prèviament, el 8,9% (n=27) en la població senegalesa i el 5,5% (n=19) en

pakistanesos; per tant, la població romanesa va presentar una major proporció de participants prèviament cribrats, essent la diferència estadísticament significativa (*p*=0,04). Dels participants prèviament cribrats, 5 (31,3%) participants de Romania havien tingut un diagnòstic d'infecció per VHB previ, 4 (14,8%) per a Senegal i 2 (10,5%) per a Pakistan; entre ells, 3 romanesos van reportar estar o haver estat en tractament (3 senegalesos i 2 pakistanesos). Pel VHC, el 9,9% (n=13) dels participants de Romania van reportar haver estat cribrats prèviament pel VHC, 8,3% (n=25) dels senegalesos i 6,4% (n=22) dels pakistanesos; tot i que la població romanesa torna a presentar una major proporció de participants cribrats, aquestes diferències no són estadísticament significatives. Dels cribrats, 2 (15,3%) romanesos van reportar haver estat diagnosticats pel VHC, 1 (4%) dels senegalesos i 6 (27,3%) dels pakistanesos; dels quals, 1 participant romanès havia estat tractat, 1 senegalès i 3 pakistanesos.

Respecte a l'estat vacunal pel VHB, la proporció de participants vacunats va ser baix en general, essent els participants pakistanesos (16,8%) els que reportaven una taxa de vacunació significativament superior respecte a les altres poblacions d'estudi (8,3% en senegalesos i 8,5% en romanesos). El desconeixement sobre l'estat vacunal va ser alt, el 41,0% dels senegalesos va reportar desconèixer si estava vacunat, el 49,5% dels senegalesos i el 43,4% dels romanesos. Gairebé la meitat dels participants de cada un dels països d'origen va reportar no estar vacunat enfront al VHB. Cal tenir en compte que les campanyes de vacunació a Pakistan van començar l'any 2009[276], a Senegal l'any 2004 en adolescents i l'any 2016 en recents nascuts[277], i a Romania va començar l'any 1995 en recents nascuts i l'any 1999 en menors de nou anys[278]. Tenint en compte que els participants tenen una mediana d'edat de 38,4 anys per Pakistan, 42,0 anys en els senegalesos i 47,0 anys en els romanesos, és possible que no es poguessin adherir a les campanyes de vacunació del seu país d'origen, fet que justificaria el percentatge tant baix que va reportar estar vacunat enfront el VHB.

Taula 11. Característiques sociodemogràfiques per països d'origen dels participants de l'HepBC*link*.

	Pakistan (N=346)		Senegal (N=304)		Romania (N=136)		
	N	%	N	%	N	%	*p*-valor
Característiques sociodemogràfiques							
Dona	84	24,3	65	21,4	79	60,8	<0,001
Mediana d'edat, anys	38,4	12,0	42,0	10,5	47,0	13,8	<0,001
Mediana de temps residint a Espanya, anys	11,2	7,18	15,8	8,73	16,1	5,63	<0,001
Parlar castellà o català	211	62,1	279	93,6	106	80,3	<0,001
Educació:							-
Cap	17	4,9	43	14,3	6	4,7	
Primària	137	39,8	107	35,7	16	12,4	
Secundària	123	35,8	119	39,7	83	64,3	
Universitària	67	19,5	28	9,3	21	16,3	
Actualment, treball remunerat	192	55,8	205	68,3	70	58,3	-
Consum previ de drogues per via injectada	4	1,16	4	1,36	0	0	0,005
Accés als serveis de salut:							
Targeta sanitària	317	92,7	280	95,9	112	84,2	<0,001
Al menys una visita al metge durant l'últim any	256	80,3	213	86,6	95	82,6	0,139
VHB:							
Coneixement sobre el VHB	163	47,7	109	36,1	94	71,2	<0,001
Prèviament cribrat pel VHB	19	5,5	27	8,9	16	12,1	0,044
Prèviament diagnosticat pel VHB	2	10,5	4	14,8	5	31,25	0,376
Tractament pel VHB							1,000
Prèviament tractat	1	50	2	50	1	20	
En tractament	1	50	1	25	2	40	
Vinculat al sistema sanitari	1	50	1	25	1	20	0,245
Prèviament vacunat pel VHB							0,008
Sí	57	16,8	23	8,3	9	8,5	
No	143	42,2	117	42,2	51	48,1	
No ho sé	139	41,0	137	49,5	46	43,4	
Familiar o amic amb VHB							-
Sí	32	9,28	8	2,69	20	15,62	
No	177	51,3	89	29,9	57	44,5	
No ho sé	136	39,4	201	67,4	51	39,8	
VHC:							
Coneixement sobre el VHC	164	48,0	103	34,1	93	70,5	<0,001
Prèviament cribrat pel VHC	22	6,4	25	8,3	13	9,9	0,405
Prèviament diagnosticat pel VHC	6	27,3	1	4,0	2	15,4	0,018
Prèviament tractat pel VHC	3	50,0	1	4,0	1	7,7	1,000

Les *p*-valor amb un – és degut a que no hi ha prou mostra per detectar una diferència significativa. Les variables quantitatives s'han expressat en mediana. VHB, virus de l'hepatitis B; VHC, virus de l'hepatitis C. (Taula 1, Manuscrit I)

4.3.1. Avaluació de la viabilitat i acceptabilitat de la intervenció comunitària per cada un dels països

Les intervencions es van dur a terme en diferents espais comunitaris. Per a la població pakistanesa, les intervencions es van dur a terme al consolat (n=177, 51,2%), mesquites (n=91, 26,3%) i escoles del taxi (n=78, 22,65%). Pels senegalesos es van realitzar majoritàriament a associacions civils com ara associacions senegaleses, associacions de dones senegaleses, TopManta (n=233, 76,6%), llocs institucionals (centre cívic, centre d'acollida i casal) (n=64, 21,1%) i a assentaments (n=7, 2,3%). Finalment, per a la població romanesa, les intervencions es van realitzar principalment a l'església ortodoxa (n=104, 74,5%), també en alguns domicilis (n=23, 16,9%) i llocs institucionals (n=9, 6,6%) (**Fotografies 1** i **Figura 31**). Les intervencions comunitàries van ser dissenyades per a realitzar-se de forma individual o grupal. Però, el reclutament va començar el març de 2021 en plena pandèmia de la COVID-19, fet que va provocar que les intervencions comunitàries només es poguessin realitzar de forma individual degut a les restriccions indicades pel Ministeri de Salut.

La mida mostral prevista d'estudi va ser de 300 persones per a cada un dels països d'origen. No obstant, per a Romania no es va aconseguir reclutar les 300 persones, degut a les dificultats trobades a l'hora de formar un agent comunitari romanès i al conflicte entre Rússia i Ucraïna. El reclutament de la població romanesa inicialment es va dur a terme a l'església ortodoxa, on el rector ens va donar la seva aprovació. Però les persones cribrades a l'església presenten un perfil específic, essent majoritàriament dones de mitjana edat. Per tant, es va intentar realitzar el reclutament en altres ambients comunitaris, però només es van poder fer algunes sessions a domicilis i una altra en un lloc institucional. Diversificar els llocs de reclutament per aquesta població va ser molt complicat, fent que no es pogués assolir la mida mostral prevista.

A)



B)



C)



Fotografies 1: Llocs on es va realitzar el reclutament de participants per cada un dels països. A) Intervenció realitzada al Consolat General del P per al reclutament de migrants de Pakistan; B) Església ortodoxa per a la població romanesa; i c) reunió d'associació de senegalesos per a la població senegalesa.

Durant l'estudi es va proposar participar a: 406 pakistanesos, d'aquests el 14,8% (40/406) van rebutjar participar, 305 senegalesos, dels quals 1/305 va rebutjar participar-hi (0,32%); i 138 romanesos, dels quals 2/138 no van voler participar (1,4%). Les principals raons per les quals no van voler participar van ser: por als resultats (66,7%) i no tenir temps (33,3%). D'entre els que van rebutjar participar, 4,7% (n=3) va reportar estar infectat pel VHB i 4,7% (n=3) pel VHC, tots sis participants eren pakistanesos. Així doncs, finalment van ser reclutats 346 pakistanesos, 304 senegalesos i 136 romanesos en un total 68 intervencions comunitàries.

La taxa d'acceptació dels migrants va ser del 92,6% del total als qui se'ls hi va oferir participar i fer-se la prova.

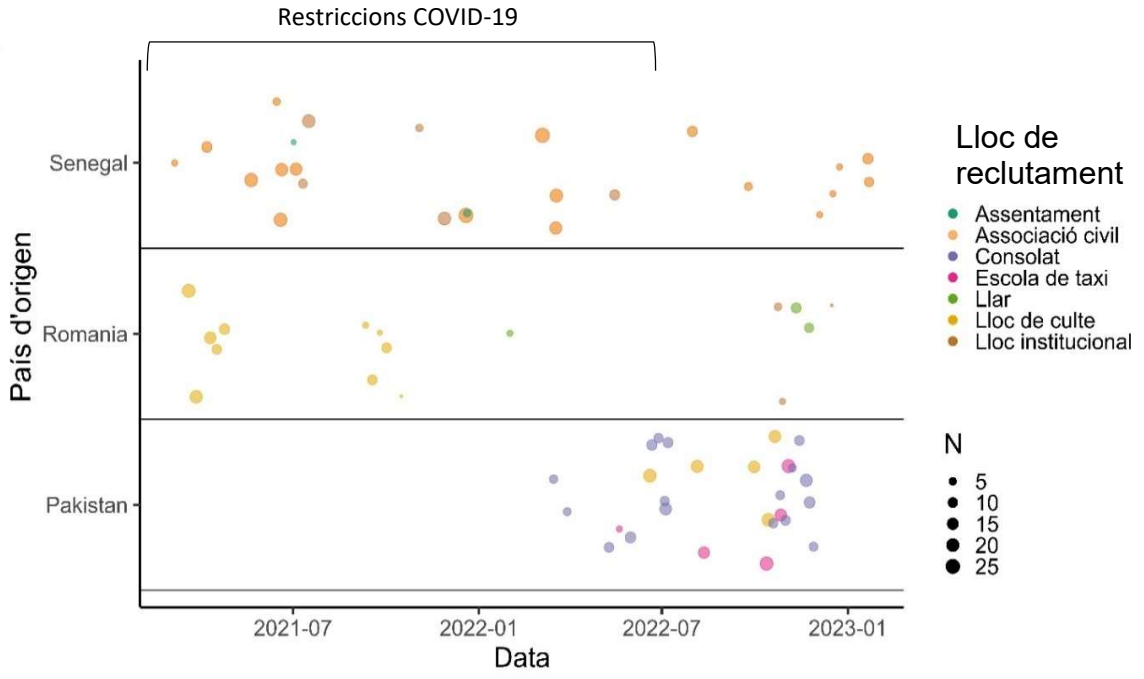


Figura 31. Gràfic per països d'origen on es reflexa el lloc, el número de participants reclutats i quan es van realitzar les diferents accions comunitàries. Data expressada en aaaa-mm.

Aquesta proporció d'acceptabilitat va en línia amb la trobada en un estudi comunitari realitzat a Sicília en migrants africans, on el 95,9% dels migrants acceptaven ser cribrats per VHB, VHC i VIH[279]. També, un estudi realitzat al nord d'Itàlia en un centre de salut internacional va reportar una acceptabilitat del 91,4% per al cribratge de VHB en migrants sense papers no provinents de la Unió Europea[280]. Però, el nivell d'acceptació a participar en estudis de cribratge per a infeccions com són el VHB, VHC i VIH varia depenent de la població d'estudi i del país on es realitza l'estudi. Un estudi comunitari realitzat a Holanda en migrants sense papers i residents sense accés al sistema sanitari va presentar una taxa d'acceptabilitat del 57% pel cribratge del VHB, VHC i VIH[224].

Les persones que van acceptar participar en aquest estudi, van mostrar una bona **acceptació** i **satisfacció**: el 100% dels participants van respondre en el qüestionari que estaven d'acord en la realització d'intervencions comunitàries de cribratge i el 99,1% estaven satisfets d'haver estat cribrats pel VHB i VHC durant la intervenció (**Figura 32** i **33**).

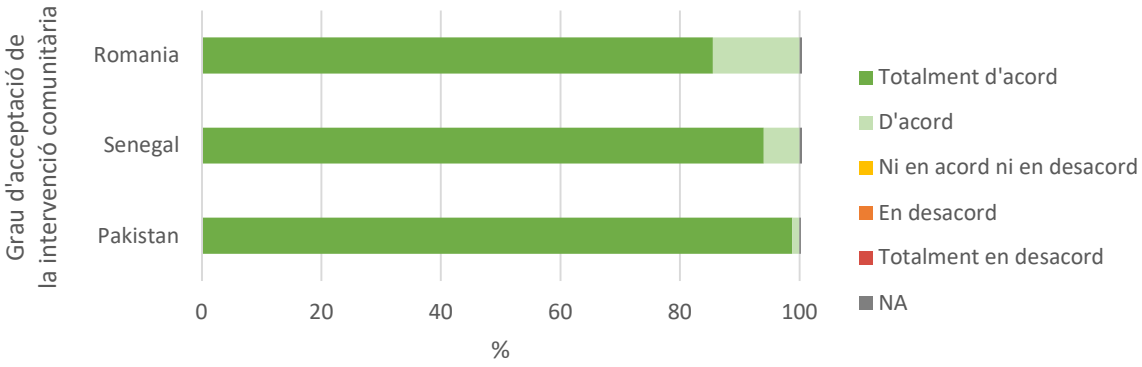


Figura 32. Grau d'acceptació dels participants de la intervenció comunitària de cribratge, mesurada segons escala Likert. NA, dada no obtinguda, no han respost a la pregunta. (Figura 2A, Manuscrit I)

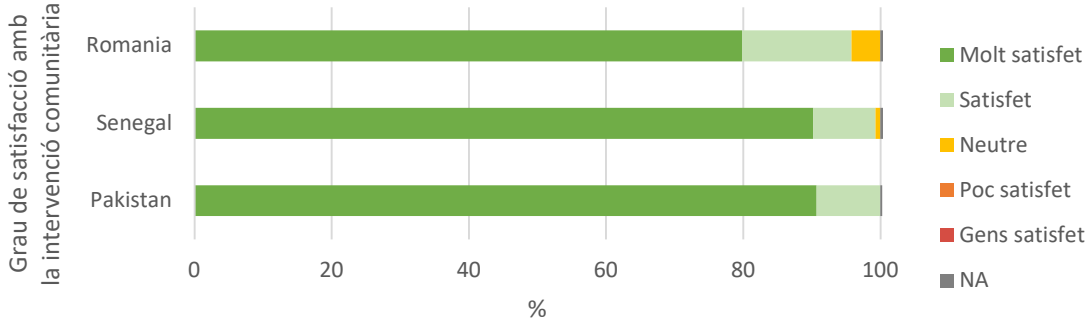


Figura 33. Grau de satisfacció dels participants amb el cribratge durant la intervenció comunitària, mesurada segons escala Likert. NA, dada no obtinguda, no han respost a la pregunta. (Figura 2B, Manuscrit I)

4.3.2. Caracterització de la prevalença d'infecció activa pel VHB i VHC per a cada país d'origen, així com el seguiment, tractament i curació dels participants virèmics

La prevalença trobada pel **VHB** entre la **població pakistanesa** va ser del 0,9% (3/346 participants van ser positius per la prova ràpida per a l'AgHBs, tots homes; IC 95%: 0,2%–2,7%)). Dels tres participants positius, 2 van ser nous diagnòstics. El participant amb infecció coneguda es trobava en seguiment mèdic i tractament per a la infecció. Els dos nous diagnòstics van assistir a la primera visita realitzada a l'USI, on se'ls va realitzar una analítica de rutina, i se'ls va derivar a l'hospital de referència per a l'avaluació del tractament per part de l'hepatòleg, però no van assistir a la visita. Per tant es van considerar com a perduts durant el seguiment (**Figura 34**).

Entre la **població senegalesa**, 25 participants dels 304 van ser positius a la prova ràpida d'AgHBs, prevalença del 8,2% (88% van ser homes i 12% van ser dones; IC 95%: 5,5%−12,1%). Del total de participants positius a la prova ràpida, 8 havien estat prèviament diagnosticats i es trobaven en seguiment amb el seu metge. Per tant, 17 participants van ser nous diagnòstics. D'entre els nous diagnòstics, 12 dels 17 participants van assistir a la primera visita a l'USI i en tots ells es va confirmar la virèmia a través de l'analítica de rutina realitzada. Dels 12 que van assistir a l'USI, 7 van assistir a la visita amb l'hepatòleg a l'hospital i cap d'ells va complir els criteris de tractament. Per tant, un total de 10 participants es van perdre al llarg del seguiment, 5 no van assistir a la visita a l'USI (un va migrar cap a França, dos no estaven interessats i per a dos es desconeixen els motius), quatre van assistir a la primera visita però no van retornar per rebre els resultats i per tant no es van poder derivar a l'hepatòleg i, per últim, un es va derivar a l'especialista però no va assistir a la visita (**Figura 34**).

Dels **participants romanesos**, 2 van ser positius a la prova ràpida pel VHB (prevalença de 1,4%; IC 95%: 0,3%−5,8%), essent un d'ells nou diagnòstic. Els dos participants, però, van ser derivats a l'hepatòleg, reforçant la vinculació al sistema sanitari del cas diagnosticat prèviament, i cap dels dos van ser candidats a rebre tractament antivíric (**Figura 34**).

Cap dels participants positius a ADN-VHB presentava co-infecció amb el VHD.

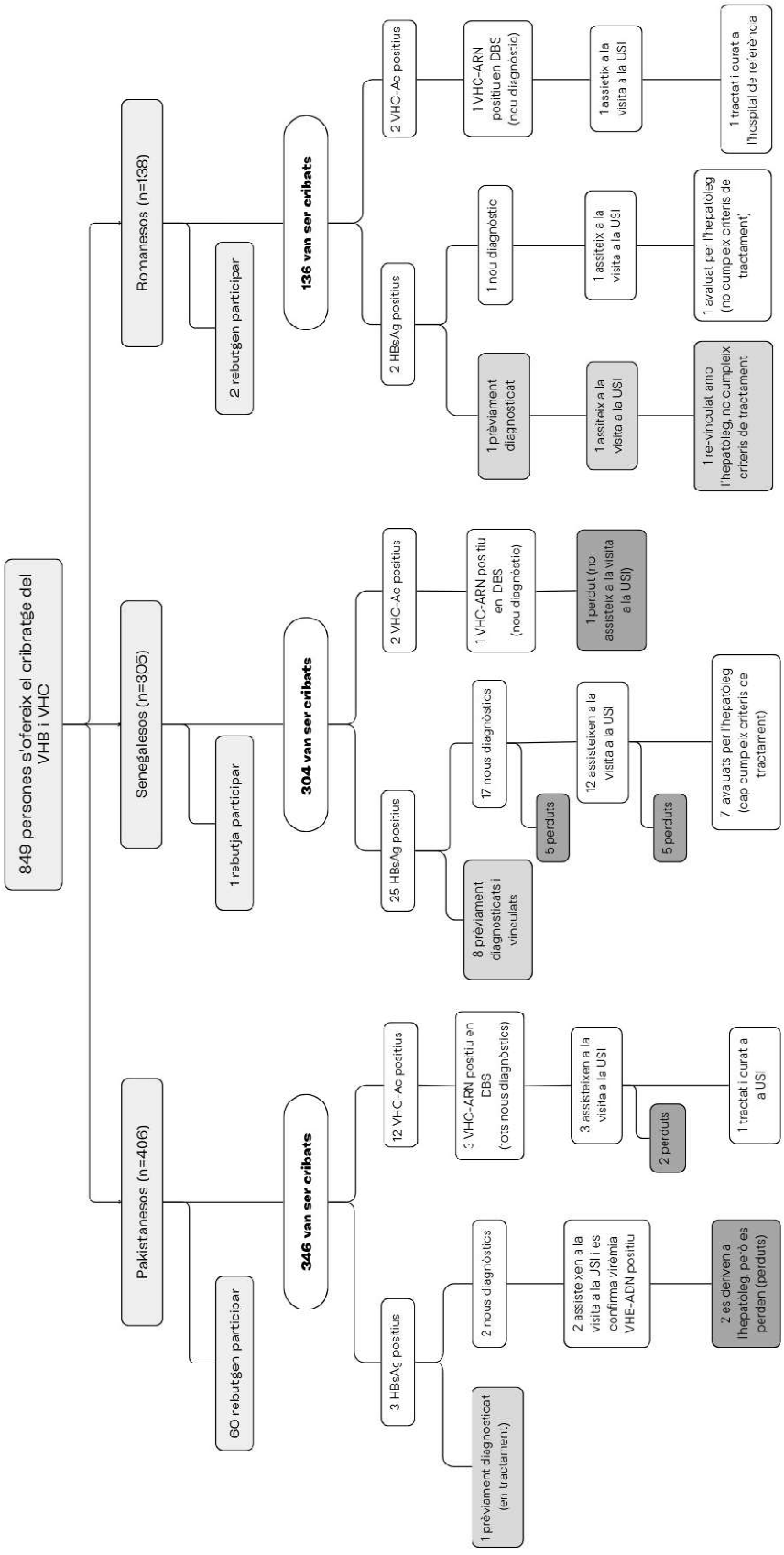


Figura 34. Diagrama de flux en funció del país d'origen i del virus. VHB, virus de l'hepatitis B; VHC, virus de l'hepatitis C; AgHBs, antigen de superfície del VHB; anti-VHC, anticossos enfront al VHC; DBS, mostres de sang seca; USI, Unitat de Salut Internacional. (Figura 3, Manuscrit I)

Així doncs, la prevalença observada pel VHB va ser del 8,2%, 1,4% i 0,9% en la població senegalesa, romanesa i pakistanesa. Aquestes poblacions presenten una prevalença 37,2, 6,3 i 4,1 vegades superior amb comparació en la població general a Espanya (0,22%; IC 95% 0,10−0,34%)[17]. No obstant, la prevalença observada en el nostre estudi és inferior a la prevalença estimada en un report realitzat per l'ECDC l'any 2016 (12,7% per Senegal, 5,5% per Romania i 4,2% Pakistan)[216]. Tot i això, les prevalences observades en les tres poblacions són superiors a la població general a Espanya, per tant, és important realitzar el cribratge i unió al sistema sanitari d'aquestes poblacions, per tal de poder aconseguir els objectius de l'OMS d'eliminació de les hepatitis víriques en tots els col·lectius afectats (l'OMS recomana el cribratge poblacional en països amb una prevalença ≥2% tant pel VHB com pel VHC). Les prevalences observades en el nostre estudi, són similars a les trobades en un estudi realitzat al nord d'Itàlia, on va trobar una prevalença del 13% per a migrants provinents de Senegal, 3,7% en població romanesa i 4,2% en pakistanesos[280]. També va obtenir resultats similars un estudi realitzat a Sicília, el qual va trobar una prevalença d'AgHBs del 9,7% en migrants africans (el 90% dels participants eren provinent d'Àfrica Sub-sahariana)[279]. Un estudi recent realitzat a la província de Barcelona en migrants provinents de l'oest d'Àfrica va trobar una prevalença per l'AgHBs del 9,2%[281] una mica superior a la trobada en l'estudi HepBC*link*.

Al llarg de tot el seguiment, es van produir pèrdues de seguiment dels participants es van produir en diferents punts. Per un costat, 5 (29,4%) participants senegalesos es van perdre a la primera visita a l'USI, ja que no van assistir a la visita, i els altres participants es van perdre en la derivació a l'hepatòleg, 5 (41,6%) senegalesos i 2 (100%) pakistanesos. Per tal de minimitzar les pèrdues durant el seguiment, aquells participants que no van assistir alguna de les visites, ja fos a l'USI o a l'hospital, van ser trucats i/o contactats a través de l'aplicació WhatsApp pels agents comunitaris de salut, per tal de poder revincular-los al sistema sanitari. En alguns casos, tot i insistir en les trucades, alguns participants no van respondre, i a d'altres se'ls va reprogramar una segona visita, a la qual tampoc van assistir. No obstant, cap dels participants visitats per

l'hepatòleg va ser candidat a rebre tractament antivíric, ja que van ser classificats com a infecció crònica AgHBe negativa (fase antigament anomenada de portador inactiu). En aquest sentit, un estudi dut a terme per M.J. MackInnon l'any 2023, reporta que només 1 de cada 5 persones de l'oest d'Àfrica són candidates a tractament[282]. D'altra banda, la infecció crònica pel VHB requereix de monitorització i seguiment al llarg dels anys. Aquest fet fa que el seguiment a llarg termini dels pacients pot ser especialment complicada i difícil, sobretot en poblacions mòbils com són els migrants.

L'augment de les taxes de vacunació enfront al VHB globalment és un dels elements clau per tal de reduir la incidència del VHB i assolir els objectius marcats per l'OMS pel 2030. Tot i que les taxes de vacunació en països de renta baixa i mitja ha augmentat en els últims anys, l'efecte protector encara no és palpable. En aquest sentit, el 41,2% dels participants de l'estudi desconeixen si havien estat vacunats enfront al VHB i el 39,8% van reportar no estar vacunat.

Pel **VHC**, 12 dels 346 **participants pakistanesos** (91,7% homes i 8,3% dones) van ser positius a la prova ràpida d'anticossos pel VHC, representant una seroprevalença del 3,5% (IC 95%: 1,9%−6,1%). Tots els participants amb un resultat positiu a la prova ràpida van acceptar la recollida d'una mostra de sang seca per a la determinació de la virèmia al laboratori, i d'aquests, 3 van ser virèmics (prevalença del 0,86%; IC 95%: 0,2−2,72), tots ells nous diagnòstics, homes i amb genotip 3a. Dels tres participants virèmics, un va ser tractat a l'USI durant el projecte assolint la curació (RVS), i els altres dos no van assistir a la primera visita a l'USI i es van considerar com a perduts durant el seguiment (**Figura 34**).

Del grup de **senegalesos**, 2 participants homes van ser positius a la prova ràpida d'anti-VHC, essent una seroprevalença del 0,65% (IC 95%: 0,1%−2,6%), i un va ser virèmic (prevalença del 0,32%; IC 95%: 0,02%−2,1%) amb genotip 2d. No obstant, el participant virèmic no va assistir a la visita a l'USI i per tant es va considerar com a perdut (**Figura 34**).

Dels participants **romanesos**, 2 van ser positius a la prova ràpida (un home i una dona), essent una seroprevalença del 1,47% (IC 95%: 0,3%−5,8%). Un d'ells va ser virèmic, essent nou diagnòstic (prevalença de 0,73%; IC 95%0,4%−4,6%) amb genotip 1b (**Figura 34**). Aquest participant va ser tractat a l'hospital, ja que presentava una rigidesa hepàtica de 18,1 kPa, el qual indica que presentava cirrosi hepàtica (considerant-se diagnòstic tardà) i va presentar una RVS (curat).

Així doncs, la seroprevalença del VHC observada va ser del 3,6%, 1,47% i 0,65% per a migrants de Pakistan, Romania i Senegal. La seroprevalença estimada pel VHC en la població general a Espanya és de 0,85% (IC 95%: 0,64−1,08%)[17]. Per tant, la seroprevalença trobada en la població pakistanesa i romanesa és 4,2 i 1,8 vegades superior a la de la població general espanyola, respectivament, però la seroprevalença en la població senegalesa d'estudi és similar a la de la població general. A més, la prevalença d'infecció virèmica pel VHC dels participants de l'estudi va ser de 0,86%, 0,73% i 0,32% per als migrants pakistanesos, romanesos i senegalesos. De nou, la població senegalesa no va presentar una prevalença d'infecció activa pel VHC superior a la població general espanyola[17], mentre que la població pakistanesa i romanesa van presentar una prevalença d'infecció activa pel VHC de 4 i 3 vegades superior (la prevalença d'infecció activa a Espanya és de 0,22% amb un IC 95% de 0,12−0,32%)[17]. A l'igual que les prevalences trobades pel VHB, la seroprevalença trobada en aquest estudi pel VHC és menor a l'estimada en un estudi descriptiu transversal espanyol, basat en les dades obtingudes de l'Institut Nacional d'Estadística (INE) l'any 2019, el qual estimava una seroprevalença de 5,0%, 5,3% i 3,2% per Pakistan, Senegal i Romania[219]. Ara bé, la seroprevalença observada en migrants senegalesos en aquest estudi va en línia amb la seroprevalença reportada en un estudi realitzat en 10 ONGs locals a Sicília en migrants provinents d'Àfrica (el 90% del total de participants provenien d'Àfrica Sub-sahariana) la qual va ser del 0,9%[279]. Pel que fa als migrants pakistanesos, tant la seroprevalença com la prevalença d'infecció activa observada és lleugerament inferior a la trobada en l'estudi previ HepC*link* (4,6% 1,2%, respectivament)[223], estudi realitzat en la mateixa àrea geogràfica abans de

la pandèmia de la COVID-19. Finalment, la seroprevalença trobada en la població romanesa, tot i que predomini la població femenina en l'estudi HepBC*link*, s'equipara a la trobada en un estudi de L. Georghe dut a terme en institucions mèdiques de 4 grans ciutats de Romania, la qual va ser del 1,39%[283].

Totes les prevalences trobades tant pel VHB com pel VHC en les tres poblacions d'estudi han estat menors a les reportades en els països d'origen. Tots tres països d'origen són considerats països de mitja (prevalença ≥2%) o alta endemicitat (prevalença ≥5%) pel VHB i pel VHC. Per Pakistan, la prevalença d'AgHBs és del 2,5% i del 4,3% per l'anti-VHC[284]. Per Senegal, la prevalença estimada d'AgHBs és d'entre 10,1% i el 15,2%, i la seroprevalença estimada pel VHC és del 5,3% [285]. Romania presenta una prevalença estimada d'AgHBs i d'anti-VHC del 5,2-5,7% i del 3,2% respectivament[216,285]. Aquest fet pot ser degut al que s'anomena "l'efecte del migrant sa", el qual defineix que les persones nascudes fora del país receptor són més sanes que les persones natives[286]; especialment en les persones arribades recentment, les quals presenten menys probabilitat de patir problemes de salut crònics, problemes de salut mental i/o problemes de dependència de substàncies. Entre els participants de l'estudi HepBC*link*, un 17,8% eren migrants recents (< 5 anys vivint a Espanya).

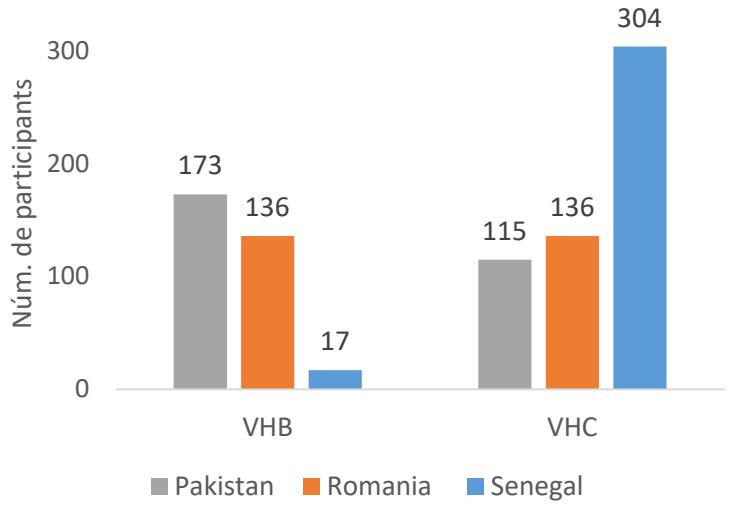


Figura 35. Número de persones a diagnosticar per a trobar un nou diagnòstic segons país d'origen i hepatitis vírica. VHB, virus de l'hepatitis B; VHC, virus de l'hepatitis C. (Figura 4, Manuscrit I)

Finalment, en la F**igura 35** es representa el número de persones a cribrar necessàries per a trobar un nou diagnòstic per al VHB i VHC. Pel VHB, cal cribrar 173 persones pakistaneses per trobar un nou diagnòstic, pels senegalesos en calen 18 i pels romanesos 68. Mentre que pel VHC, pels pakistanesos cal testar a 115 persones, pels senegalesos 304 i pels romanesos 136. Aquests resultats indiquen que les intervencions de cribratge pel VHB en persones senegaleses i pel VHC en persones pakistaneses són les que tindrien una major efectivitat respecte a les altres poblacions d'estudi.

Finalment, **Taula 12 i 13**, es mostren els indicadors de qualitat de la intervenció de l'estudi HepBC*link*, basats en els indicadors de qualitat usat en HepScreen i en altres estudis previs com és l'HepC*link*[223]. En elles es pot veure de forma resumida el número de persones que assisteixen i accedeixen al cribratge, així com el número i el percentatge de persones que van ser positives a la prova ràpida, que van ser cribrades completament, que es van vincular al sistema sanitari i que es van retenir en el sistema sanitari, i els diagnòstics tardans. Aquests indicadors permetran comparar el model HepBC*link* amb d'altres que s'estan avaluant a Catalunya.

Taula 12. Indicadors de qualitat del model HepBC*link* pel VHB.

	N (%)		
	Pakistan	Senegal	Romania
Efectivitat			
Núm. de persones que assisteixen a les sessions educatives	406	305	138
% de persones cribrades	346/346 (100)	304/304 (100)	136/136 (100)
% de persones que reporten haver estat cribrats prèviament pel VHB	19/346 (5,5)	27/304 (8,9)	16/136 (12,1)
% de persones amb un resultat positiu a la prova ràpida d'AgHBs	3/346 (0,9)	25/304 (8,2)	2/136 (1,4)
% de persones cribrades pel VHB que reben els resultats de la prova (cribratge complet)	346/346 (100)	304/304 (100)	136/136
% de persones cribrades que són positives a ADN-VHB i assisteixen a la visita a l'USI d'entre els nous diagnòstics (vinculació al sistema sanitari)	2/3 (66,6)	12/17 (70,6)	1/1 (100)

% de persones cribrades que són positives a ADN-VHB que assisteixen a la visita amb l'hepatòleg d'entre els nous diagnòstics (retenció en el sistema sanitari)	0	7/12 (58,3)	1/1 (100)
Impacte			
% de persones cribrades VHB positives que presenten un diagnòstic tardà d'entre els nous diagnòstics	0	0/17	0/1

Núm, número; AgHBs, antigen de superfície del virus de l'hepatitis B; VHB, virus de l'hepatitis B; USI, Unitat de Salut Internacional. (Taula 1, Material suplementari, Manuscrit I)

Taula 13. Indicadors de qualitat del model HepBC*link* pel VHC.

	N (%)		
	Pakistan	Senegal	Romania
Efectivitat			
Núm. de persones que assisteixen a les sessions educatives	406	305	138
% de persones cribrades	346/346 (100)	304/304 (100)	136/136 (100)
% de persones que reporten haver estat cribrats prèviament pel VHC	22/346 (6,4)	25/304 (8,3)	13/136 (9,9)
% de persones amb un resultat positiu a la prova ràpida d'anti-VHC	12/346 (3,5)	2/304 (0,7)	2/136 (1,5)
% de persones cribrades pel VHC que reben els resultats de la prova (cribratge complet)	346/346 (100)	304/304 (100)	136/136 (100)
% de persones cribrades, positives a ARN-VHC i que assisteixen a la visita a l'USI d'entre els nous diagnòstics vinculació al sistema sanitari)	3/3 (100)	0	1/1 (100)
% de persones cribrades positives a ARN-VHC que van iniciar tractament d'entre els nous diagnòstics (retenció en el sistema sanitari)	1/3 (33,3)	0	1/1 (100)
Impacte			
% de persones cribrades VHC positives que presenten un diagnòstic tardà d'entre els nous diagnòstics	0/3	0	1/1

Núm, número; anti-VHC, anticossos enfront el virus de l'hepatitis C; VHC, virus de l'hepatitis B; USI, Unitat de Salut Internacional. (Taula 1, Material suplementari, Manuscrit I)

4.3.3. Avaluació de l'ús de mostres de sang seca per a la detecció de la infecció virèmica pel virus de l'hepatitis B

Per a l'avaluació de les mostres de DBS per a la detecció de la infecció virèmica pel VHB, primerament es va dur a terme la determinació del límit inferior de detecció de l'assaig. La determinació de la càrrega vírica es va dur a terme amb la plataforma Alinity m i el kit Alinity m HBV assay (Abbott Molecular) sense seguir el protocol que indica la casa comercial per l'assaig, ja que està validat i comercialitzat per mostres de plasma, sinó que ens vam basar en el protocol descrit per un grup francès que realitzava la determinació de l'ADN-VHB també en aquesta plataforma[287]. Posteriorment, es van avaluar les mostres de DBS dels participants del projecte HepBC*link*.

Per a la determinació del límit inferior de detecció, es van realitzar dilucions seriades de càrrega vírica d'entre 20.000, 10.000, 5.000, 2.500, 1.000, 500, 250, 125, 62,5 i 31,3 UI/mL en sang a partir de sang no infectada barrejada amb un control de VHB de càrrega vírica coneguda (6,29 Log UI/mL).

Els resultats obtinguts es van analitzar de forma qualitativa (detectable o no detectable) (**Taula 14**), i mitjançant l'anàlisi de regressió Probit es va determinar el límit inferior de detecció de l'assaig, essent de 1.115 UI/mL amb un IC 95% de 876−1773 UI/mL (**Figura 36**).

Taula 14. Número de casos detectats per l'assaig de detecció d'ADN-VHB en mostres de sang seca per a cada una de les càrregues víriques.

Càrrega vírica (UI/mL)	Número de casos detectats (n/N)
2.500	10/10
1.000	8/10
500	8/10
250	2/10
125	2/10
62,5	1/10
31,25	0/10

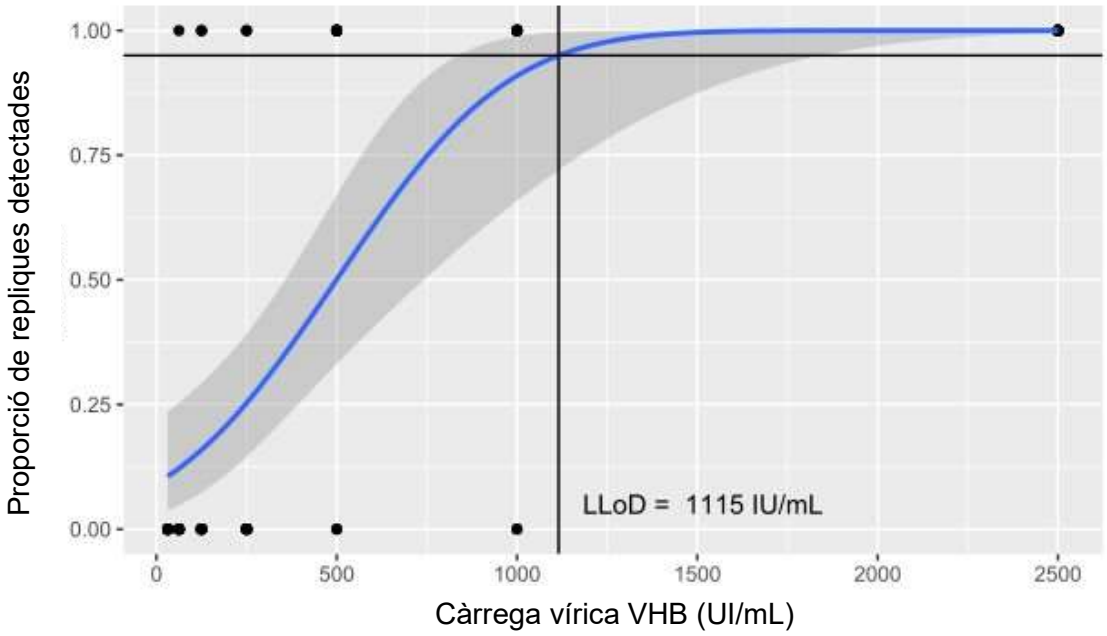


Figura 36. Límit inferior de detecció de l'assaig d'ADN-VHB en mostres de DBS segons anàlisi Probit. VHB, virus de l'hepatitis B; LLoD, límit inferior de detecció.

Un metaanàlisi el qual avalua el límit de detecció de l'ADN-VHB a partir de mostres de DBS tant en assajos comercials com casolans, reporta que el límit inferior de detecció en l'assaig Cobas (Roche Diagnostics) per a mostres de DBS és de 914 UI/mL, mentre que dos altres estudis indiquen que la quantificació de l'ADN-VHB en aquest tipus de mostres per sota de 4.000 UI/mL és difícil de realitzar[146]. En un altre estudi realitzat a Barcelona amb mostres de PSC determina que el límit inferior de detecció es troba entre 200 i 1.000 UI/mL (no establert); en aquest cas feien servir l'assaig Cobas[281]. En el nostre assaig, el límit inferior de detecció va ser de 1.115 UI/mL, límit que es troba prop dels altres valors reportats. Donat que cap d'aquestes tècniques té marcatge CE-IVD per a mostres de DBS, el límit inferior de detecció s'ha de determinar en cada laboratori.

El límit de detecció de l'assaig per a mostres de DBS per a la detecció del VHB és clau, ja que, les guies de l'OMS marquen que pacients amb càrrega vírica superior a 2.000 UI/mL en presència d'elevació de transaminases i/o cirrosi són candidats a tractament pel VHB[31]. En aquest sentit,

aquest assaig en mostres de DBS permetria detectar totes aquelles persones candidates a rebre tractament. No obstant, pel seguiment de la infecció pel VHB i monitorització de la resposta al tractament antivíric és essencial poder quantificar la càrrega vírica del pacients. Per tant, caldria realitzar més estudis per a poder valorar l'ús de sang seca per a la quantificació de l'ADN-VHB.

Un cop determinat el límit de detecció de la tècnica, es va realitzar la detecció de la infecció virèmica en les mostres de DBS dels participants de l'estudi. Un total de 25 mostres de sang seca van ser analitzades (25/25; 100%). Els resultats obtinguts de l'assaig a partir de les mostres de DBS van ser comparades amb la càrrega vírica obtinguda a través de l'analítica convencional realitzada a la visita a l'USI. Cal dir que les mostres de DBS i la mostra de sang venosa per a la realització de l'analítica convencional es van obtenir en dies diferents, ja que les mostres de DBS es recollien durant la intervenció comunitària i no hi havia possibilitat de realitzar la venipunció durant la intervenció; sinó que es realitzava quan assitien a la visita a l'USI. La mediana de dies transcorreguts entre la recollida de les dues mostres va ser de 13 dies (rang: 2-46 dies). Degut a les pèrdues durant el seguiment, només en 16 casos es va poder comparar la càrrega vírica obtinguda per venipunció respecte a l'assaig en DBS. L'ADN-VHB en mostres de DBS es va detectar en 8 dels 16 casos, amb càrregues víriques en plasma d'entre 331 i 14.454 UI/mL. En els 8 casos restants no es va detectar amplificació, amb càrregues víriques en plasma d'entre 33 i 2.089 UI/mL, càrregues víriques al voltant del límit inferior de detecció de l'assaig (**Figura 37**). Malgrat en alguns casos les càrregues víriques van ser ≥2.000 UI/mL, del total de participants que va ser possible realitzar la comparació entre la càrrega vírica en plasma i en DBS, cap complia els criteris de tractament antivíric actuals.

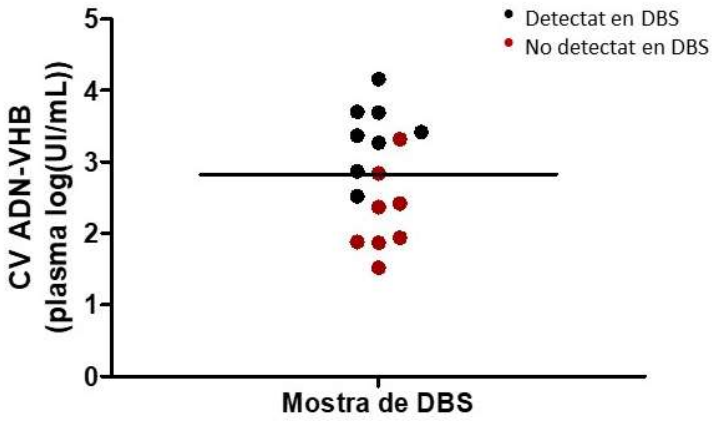


Figura 37. Detecció de l'ADN-VHB en mostres de DBS en comparació amb les càrregues víriques obtingudes en plasma. En negre es mostren aquelles mostres que són positives per DBS i plasma, i en vermell aquelles que són negatives en l'assaig de DBS i positives en plasma. DBS, mostres de sang seca. CV, càrrega vírica; DBS mostres de sang seca.

Així doncs, la detecció de l'ADN-VHB en mostres de DBS va ser possible en la meitat dels casos amb càrrega vírica detectable en plasma (CV: 331-14.454 UI/mL). Els resultats obtinguts en aquest estudi concorden amb els trobats en un estudi recent realitzat amb mostres recollides en targetes de separació de plasma (targetes PSC) a Barcelona. En aquest estudi, van detectar el 44,4% dels participants amb càrrega vírica detectable en PSC[288]. En aquest sentit, l'ús de mostres de DBS podria complementar el cribratge amb la prova ràpida d'AgHBs realitzades en poblacions migrants en la comunitat, ja que tal com hem dit anteriorment, detectaríem la majoria de casos amb càrrega vírica >2.000 UI/mL que caldria avaluar per si compleixen la resta de compleixen els criteris de tractament antivíric[31]. Per tant, les mostres de DBS permetrien identificar aquells pacients que potencialment puguin requerir tractament antivíric (CV >2.000 UI/mL), i que per tant, cal vincular al sistema sanitari per a la realització de proves complementàries (determinació de la rigidesa hepàtica, determinació dels altres marcadors serològics del VHB, entre altres) , i per avaluar la necessitat de tractament antivíric per part de l'hepatòleg.

Per concloure, l'estratègia de micro-eliminació pel VHB i VHC presentada en el projecte HepBC*link* ha demostrat arribar amb èxit a poblacions de migrants de Pakistan, Senegal i Romania en situació de vulnerabilitat i proporcionar-los educació sobre les hepatitis víriques,

així com accés simplificat a les proves de cribratge i atenció sanitària. L'elevada prevalença observada en els diferents grups i el limitat autoconeixement del seu estat enfront al VHB i el VHC justifiquen la realització de programes de cribratge en aquests grups, d'acord amb les recomanacions de l'OMS i l'ECDC. Aquest model d'atenció, també es va pilotar en altres regions de Catalunya (MiCatC), a la ciutat de Lleida per al cribratge de la població d'Àfrica Subsahariana, a Tarragona i voltants per a la població romanesa, a Barcelona litoral per pakistanesos, ucraïnesos i russos, i a l'àrea metropolitana de Barcelona sud per població pakistanesa[289] per avaluar l'ampliació d'aquesta intervenció a altres zones i països d'origen. En l'estudi MiCatC es van cribrar un total de 1505 participants en 150 intervencions comunitàries, majoritàriament pakistanesos. El 84% dels participants va declarar no haver estat cribrat prèviament pel VHB i el 92% pel VHC. El 49,3% de les persones cribrades van reportar no estar vacunades pel VHB i el 41,3% ho desconeixia. La prevalença per l'AgHBs entre el total dels participants va ser del 2,95%, trobant una prevalença superior en migrants de Gàmbia (13,3%) i de Senegal (7,7%). La prevalença d'anti-VHC entre el total de participants va ser del 3,29%, essent superior en pakistanesos (4,5%) i no trobant cap cas en participants provinents de Senegal, Nigèria i Gambia; la prevalença d'ARN-VHC va ser de 1,06%[289].

A més, cal destacar la baixa taxa de vacunació reportada, tant en el HepBC*link* com MiCatC, i el seu desconeixement de l'estat vacunal enfront al VHB, pel que caldria reforçar, idealment en la comunitat, el cribratge i vacunació en front al VHB en migrants. En l'estudi COMSAVA[281] es va realitzar la vacunació dels participants candidats a vacunar en una segona visita a la comunitat, obtenint unes taxes de vacunació elevades: del total de participants de l'estudi COMSAVA (N=444), 204 van ser candidats a vacunar, dels quals més del 70% (n=145) van rebre els resultats durant la segona visita i el 85% d'ells (n=123) van acceptar vacunar-se amb la primera dosi[281].

Limitacions de l'estudi. En primer lloc, els participants van ser reclutats per mostreig de conveniència, fet que fa que potser no sigui una mostra representativa, i que els resultats no

siguin extrapolables i generalitzables a tota la població migrant de cada un dels països estudiats que viu a Catalunya, ni a migrants procedents del mateix país d'origen que viuen a altres països. Cal tenir en compte que l'estudi es va dur a terme durant la pandèmia de la COVID-19, dificultant les activitats comunitàries degut a les restriccions nacionals. En segon lloc, les dades sociodemogràfiques van ser autorreportades pels participants, així com les proves prèvies i els diagnòstics previs pel VHB i VHC, fent que no siguin completament fiables. En tercer lloc, l'ús de proves en el punt d'atenció en sang capil·lar pel cribratge pot haver dut a una subestimació de la prevalença degut a una sensibilitat limitada en comparació amb les proves de diagnòstic estàndard per venipunció; però les proves ràpides usades en l'estudi presenten una sensibilitat de 0,1 UI/mL per a la prova ràpida de VHB[28] i del 100% pel de VHC[290], segons especificacions de la casa comercial. Finalment, la vacunació dels participants no va ser possible durant l'estudi, ja que els participants negatius a la prova ràpida per a AgHBs no van ser activament vinculats al sistema sanitari, com en el cas dels positius, i per tant, no sabem quants eren candidats a vacunació ni quants es van vacunar arran de la intervenció. Durant la intervenció comunitària, sí que es va recomanar sobretot els participants que van dir que no estaven vacunats pel VHB o que no desconeixien, que assistissin al seu centre d'atenció primària, per a la comprovar si estaven vacunats, i rebre la vacunació en el cas que fossin candidats.

Valoració global, futures consideracions i implicacions per a la salut pública

Aquesta tesi doctoral ha contribuït a aportar evidència de la viabilitat i la utilitat de diferents estratègies de micro-eliminació pel VHB i VHC en tres poblacions vulnerables. Els tres projectes han ofert un espai únic per a la col·laboració multidisciplinària cap a la investigació clínica-translacional, involucrant les activitats d'investigació i atenció de varis nivells del sistema de salut, l'experiència de microbiòlegs, epidemiòlegs, hepatòlegs, agents comunitaris de salut, treballadors de les ONGs i infermeres comunitàries, a més del recolzament directe dels agents de salut pública de l'Agència de Salut Pública de Catalunya (ASPCAT). Per tant, aquesta tesi doctoral té un elevat potencial de transferència, en forma d'estratègies millorades de prevenció, detecció i tractament de l'hepatitis B i C, conduint a la millora dels serveis de salut i la promoció de la Salut Pública.

L'ús de les mostres de DBS per a la detecció de la virèmia del VHC ha estat transferit de la investigació a la pràctica clínica. La recollida d'aquestes mostres es va implementar el 2022 com a part del diagnòstic rutinari de l'hepatitis C en persones que accedeixen a centres d'atenció a les drogodependències i alguns CRDs d'arreu de Catalunya, inclòs dins del nou "Protocol pel diagnòstic i tractament del VHC per a persones amb drogodependència"[198]. En paral·lel, la tècnica d'Abbott Molecular per a la quantificació de la càrrega vírica en mostres de DBS (amb marcatge CE-IVD) com a part de les tècniques de rutina ofertes pel Servei de Microbiologia de l'Hospital Germans Trias i Pujol (laboratori clínic Metropolitana Nord), per a processar les mostres que ens arriben d'aquests centres.

Si bé el 2018 ja es va elaborar el "Protocol de la prova de detecció ràpida del VHC per a HSH i persones trans"[291] en centres comunitaris per part de l'ASPCAT. L'estudi realitzat en població trans i HSH ha aportat evidència per elaborar una nova guia de "Recomanacions per al cribratge del VHB en entitats comunitàries", en el quan es donaran recomanacions sobre a quines

persones cal oferir el cribratge del VHB, i a quines cal oferir la vacunació idealment també en aquests centres comunitaris, enlloc de referir aquestes persones a l'Atenció Primària.

També, el nou model d'atenció dissenyat en els estudis HepC*link* i HepBC*link* ha servit de base per tal que l'ASPCAT llencés un projecte pilot ampliat en tres regions de Catalunya (MiCatC), en el qual el nostre grup també ha participat. A partir dels resultats dels estudis HepBC*link* i MiCatC s'està realitzant un estudi de cost-efectivitat per a poder avaluar els costos associats a la intervenció i el seu impacte en salut, per a avaluar la implementació d'aquesta estratègia a llarg terme dins del Pla Català de Salut Pública. Malgrat la falta d'aquest estudi, en aquesta tesi doctoral s'han avaluat indicadors d'efectivitat i d'impacte que permeten comparar els resultats obtinguts amb altres estratègies i monitoritzar el procés cap a l'eliminació. En el nostre cas, el cribratge del VHB en persones provinents de Senegal i el cribratge del VHC en persones de Pakistan serien les estratègies més efectives a l'hora de trobar nous diagnòstics. Tot i això, és important treballar per augmentar la vinculació i retenció al sistema sanitari d'aquestes poblacions.

Totes les intervencions desenvolupades en els tres estudis en que es basa la tesi doctoral han generat retorns socials, tant a nivell individual com col·lectiu. Per una banda, promovent el diagnòstic i tractament precoç. A nivell individual ha permès la detecció precoç dels casos ocults en les tres poblacions i de les virèmies recurrents post-tractament en PQID que podrien passar desapercebudes pel baix accés al sistema sanitari, i la promoció de la vinculació a l'atenció i tractament, reduint la possibilitat de progressió de la malaltia cap a cirrosis i trasplant hepàtic, contribuint a millorar la seva salut i la qualitat de vida. A més, els estudis han contribuït a formar els participants sobre les hepatitis B i C i a millorar el coneixement del seu propi estat enfront aquestes infeccions. A nivell comunitari, aquests coneixements han empoderat els diferents col·lectius. Especialment els líders comunitaris de les poblacions migrants han contribuït a promoure la consciència, la prevenció i la detecció de les hepatitis víriques en la comunitat.

Tot i que els tres estudis presenten limitacions, aquest treball ofereix evidència i informació epidemiològica estratègica per quantificar el problema, conèixer l'epidèmia i els factors de risc associats en aquests col·lectius clau, per tal de poder focalitzar i establir millors mesures preventives i de cribratge per part de l'ASPCAT. A més, les dades generades en el marc d'aquesta investigació doctoral serveixen per seguir recolzant la inversió en estratègies de micro-eliminació en poblacions vulnerables per poder avançar cap a l'eliminació de les hepatitis víriques, i aconseguir els objectius marcats per l'OMS pel 2030. Segons les dades preliminars presentades l'any 2022 al The Liver Meeting (AASLD), Espanya estaria dins dels 11 països que podrien aconseguir l'eliminació de les hepatitis víriques pel 2030[292], però és important que els objectius d'eliminació no s'assoleixin només a la població general, sinó en cadascuna de les poblacions afectades, tot i ser minoritàries.

Els resultats de l'estudi HepBC*link* s'han publicat en dos documents de guia sobre cribratge i eliminació de les hepatitis víriques a nivell internacional:

- Recommendations from the 2023 INHSU Hepatitis C Point-of-Care Testing Forum[293].
- Eliminating Hepatitis Amongs Migrant Population. ACHIEVE Stories to Inspire[294].

La recerca duta a terme en la present tesi doctoral ha estat innovadora, ja que presenta formes de cribratge i d'eliminació de les hepatitis víriques diferents a les clàssiques, i que recentment han estat recomanades en les guies de l'OMS de 2022, com són cribratge comunitari dut a terme per infermeres comunitàries, agents de salut comunitari i personal de les ONGs, integració del cribratge i tractament en un CRD i descentralització del cribratge i tractament en les diferents poblacions estudiades.



Conclusions

5. Conclusions

Avaluació de la utilitat de les mostres de sang seca per a la monitorització del tractament de l'hepatitis C i la reinfecció en persones que s'injecten drogues, dins d'un programa de cribratge i tractament descentralitzat en un CRD.

1. L'assaig de detecció de l'ARN-VHC en DBS, prèviament posat a punt per a la detecció de virèmia pel nostre grup, presenta una alta precisió diagnòstica (93,0% de sensibilitat i 100% d'especificitat) tant per a l'avaluació de la curació com per a la detecció de la virèmia recurrent després del tractament en PQID en el llindar de 1.000 UI/mL.
2. En aquest mateix context, l'assaig de detecció de l'ARN-VHC comercial amb marcatge CE-IVD en DBS presenta una precisió diagnòstica excel·lent (100% de sensibilitat i especificitat) com a prova de curació a la setmana 12 post-tractament.
3. No obstant, degut a que entre el 8,5% i el 9.1% dels casos virèmics en la setmana 12 post-tractament van presentar càrregues baixes (inferiors a 1000 UI/mL), i alguns d'aquests casos poden donar un resultat fals negatiu especialment per la prova en DBS, caldria repetir la prova periòdicament si el risc persisteix, per tal de detectar les persones que no aclareixin la infecció i requereixin tractament.
4. Les mostres de DBS permeten diferenciar entre reinfecció i fracàs terapèutic en el 73,5% dels casos mitjançant el genotipat del VHC en les mostres basals i de seguiment. Si bé el rendiment de les proves de genotipat es veu afectat per les càrregues víriques baixes.

Avaluació de la prevalença del VHB i les necessitats de vacunació entre les persones treballadores del sexe (dones trans i homes) que accedeixen a ONGs de Barcelona.

1. Les TTS i HTS presenten una prevalença d'infecció activa pel VHB del 1,9%, 8,6 vegades superior a la població general, i una alta prevalença d'exposició prèvia al VHB, del 31,9%.
2. Els determinants d'exposició prèvia al VHB en TTS i HTS són haver estat més de 5 anys exercint el treball sexual (ORa=9,35, IC 95%: 3,57−26,96), haver tingut una infecció

prèvia per *T. pallidum* (ORa=3,49, IC 95%: 1,42−9,01) i estar en tractament amb ansiolítics (ORa=3,23, IC 95%: 1,21−9,38).

3. El 33,7% de les TTS i dels HTS presenten anticossos post-vacunació, mentre que el 34,4% són susceptibles a la infecció. Els determinants de no vacunació en aquest col·lectiu són no haver rebut tractament PrEP pel VIH (OR=4,23, IC 95%: 1,27−19,20) i haver nascut fora d'Espanya (OR=5,00, IC 95%: 1,25−33,3).
4. Les TTS i els HTS presenten una prevalença d'infecció activa pel VHC del 0,7% (IC 95%: 0,2−2,9%), lleugerament superior a la població general (0,22%; IC 95%: 0,12−0,32%).

Implementació i avaluació d'una estratègia de micro-eliminació basada en una acció comunitària que reuneix educació sobre el VHB i VHC, cribratge, i accés simplificat a l'atenció i el tractament en migrants procedents de països endèmics que viuen a l'àrea metropolitana de Barcelona.

1. L'acció comunitària per a l'educació i cribratge del VHB i VHC en població migrant de Pakistan, Senegal i Romania resulta viable, tot i que en menor grau per a la població de Romania, presentant una bona acceptabilitat del cribratge per part dels participants.
2. La prevalença d'infecció activa pel VHB en migrants de Pakistan, Senegal i Romania (0,9%, 8,2% i 1,4%) és superior a la prevalença en la població general espanyola, mentre que la prevalença d'infecció virèmica pel VHC és superior a la població general a Espanya per a la població pakistanesa i romanesa (0,86% i 0,73%, respectivament), i similar per a la població senegalesa (0,32% per a migrants de Senegal).
3. Les estratègies amb una major eficiència (menor número de cribratges necessaris per a trobar un nou diagnòstic) són el cribratge del VHB en migrants de Senegal i del VHC en migrants de Pakistan. Tot i això, caldria millorar la vinculació dels nous diagnòstics al sistema sanitari per a minimitzar les pèrdues de seguiment.

4. L'ús de les mostres de DBS per a la detecció de la infecció virèmica pel VHB presenta un límit inferior de detecció de 1.115 UI/mL, fet que permet identificar les persones que podrien ser candidates a rebre tractament antivíric (càrrega vírica >2.000 UI/mL).



Bibliografia

Bibliografia

1. Global Hepatitis Report 2017. Geneva: World Health Organitzation; 2017.
2. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
3. Global hepatitis report 2024: action for access in low- and middle-income countries. Geneva: World Health Organization; 2024
4. Zeng H, Li L, Hou Z, Zhang Y, Tang Z, Liu S. Direct-acting antiviral in the treatment of chronic hepatitis c: Bonuses and challenges. *Int J Med Sci*. 2020;17(7):892-902.
5. Reiberger T, Lens S, Cabibbo G, et al. EASL position paper on clinical follow-up after HCV cure. *J Hepatol*. 2024 May 30:S0168-8278(24)00275-7.
6. Block TM, Alter HJ, London WT, Bray M. A historical perspective on the discovery and elucidation of the hepatitis B virus. *Antiviral Res*. 2016;131:109-123.
7. Gerlich WH. Medical Virology of Hepatitis B: How it began and where we are now. *Virol J*. 2013;10:239.
8. Baruch S. Blumberg – Facts - NobelPrize.org. https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1976/blumberg/facts/
9. Liang TJ. Hepatitis B: The virus and disease. *Hepatology*. 2009;49(SUPPL. 5):S13-21.
10. Berman JJ. Viruses. In: *Taxonomic Guide to Infectious Diseases*. Elsevier; 2019:263-319.
11. Al-Sadeq DW, Taleb SA, Zaied RE, et al. Hepatitis B virus molecular epidemiology, host-virus interaction, coinfection, and laboratory diagnosis in the MENA region: An update. *Pathogens*. 2019;8(2):63.
12. Hu J, Liu K. Complete and Incomplete Hepatitis B Virus Particles: Formation, Function, and Application. *Viruses*. 2017;9(3):56.
13. Tsukuda S, Watashi K. Hepatitis B virus biology and life cycle. *Antiviral Res*. 2020;182:104925.
14. Pollicino T, Caminiti G. HBV-Integration Studies in the Clinic: Role in the Natural History of Infection. *Viruses*. 2021;13(3):368.
15. European Centre for Disease Prevention and Control. Hepatitis B. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2022. Stockholm: ECDC; 2024.
16. Serra MA. Virus de la Hepatitis B. Control de Calidad SEIMC.
17. 2º Estudio de Seroprevalencia En España, 2020. Madrid; Ministerio de Sanidad, 2021
18. Vigilancia Epidemiológica de La Hepatitis B, 2020. Madrid; Centro Nacional de Epidemiología, Instituto de Salud Carlos III, Junio 2022.
19. Hepatitis B in the WHO European Region, 2022. Geneva; World Health Organization European Region, 2022. https://www.who.int/europe/health-topics/hepatitis
20. Coalition for Global Hepatitis Elimination. Spain Can Eliminate Hepatitis. National Hepatitis Elimination Profile, 2023.
21. Rodríguez-Tajes S, Domínguez Á, Carrión JA, et al. Significant decrease in the prevalence of hepatitis C infection after the introduction of direct acting antivirals. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. 2020;35(9):1570-1578.
22. Ganem D, Prince AM. Hepatitis B Virus Infection-Natural History and Clinical Consequences. *N Engl J Med*. 2004;350:1118-1147.
23. Documents de Vigilància Epidemiològica. www.gencat.net/salut
24. Conners EE, Panagiotakopoulus L, Hofmeister MG, et al. Screening and Testing Recommendations for Chronic Hepatitis B Virus Infection (HBV). Centers for Disease Control and Prevention (CDC). MMWR Supple 2023;72.
25. Nguyen MH, Wong G, Gane E, Kao JH, Dusheiko G. Hepatitis B virus: Advances in prevention, diagnosis, and therapy. *Clin Microbiol Rev*. 2020;33(2):e00046-19.
26. Lampertico P, Agarwal K, Berg T, et al. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2017;67(2):370-398.

27. Aguilera Guirao A, et al. Diagnóstico microbiológico de las hepatitis víricas. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clínica (SEIMC).
28. Insert Determine HBsAg 2 | Abbott Point of Care. https://www.globalpointofcare.abbott/ww/en/product-details/determine-hbsag-2.html
29. Arikan A, Sayan M, Doluca O. NeuMoDx random access molecular diagnostic system for detection and quantification of hepatitis B virus in clinical samples. *J Infect Dev Ctries*. 2020;14(10):1197-1203.
30. Guvenir M, Arikan A. Hepatitis B Virus: From Diagnosis to Treatment. *Pol J Microbiol*. 2020;69(4):391-399.
31. Guidelines for the prevention, diagnosis, care and treatment for people with chronic hepatitis B infection. Geneva: World Health Organization; 2024.
32. Manual Vacunacions Catalunya de 2020. Generalitat de Catalunya, Agència de Salut Pública de Catalunya. 2020;4-8. https://salutpublica.gencat.cat/ca/ambits/promocio_salut/vacunacions/Manual-de-vacunacions/
33. Which countries include hepatitis B vaccines in their vaccination schedules? 2021. https://ourworldindata.org/grapher/hepatitis-b-vaccine-immunization-schedule?time=latest
34. Domínguez A, Avellón A, Hernando V, et al. Impact of the Universal Implementation of Adolescent Hepatitis B Vaccination in Spain. *Vaccines (Basel)*. 2024;12(5):488.
35. Ghafari M, Simmonds P, Pybus OG, Katzourakis A. A mechanistic evolutionary model explains the time-dependent pattern of substitution rates in viruses. *Curr Biol*. 2021;31(21):4689-4696.e5.
36. Campollo O, Amaya G, McCormick PA. Milestones in the discovery of hepatitis C. *World J Gastroenterol*. 2022;28(37):5395-5402.
37. Seeff LB. The history of the “natural history” of hepatitis C (1968-2009). In: *Liver International*. Vol 29. ; 2009:89-99.
38. Hepatitis C: Del Descubrimiento a la Curación. A Propósito del Premio Nobel de Medicina y Fisiología 2020.
39. Puerro-Vicente M, Puerro-Vicente M. Premio Nobel de Medicina 2020 para los científicos que descubrieron el virus de la hepatitis C. *Sanidad Militar*. 2020;76(4):211-212.
40. Kolykhalov AA, Agapov E V., Blight KJ, Mihalik K, Feinstone SM, Rice CM. Transmission of hepatitis C by intrahepatic inoculation with transcribed RNA. *Science*. 1997;277(5325):570-574.
41. Yanagi M, Purcell RH, Emerson SU, Bukh J. Transcripts from a single full-length cDNA clone of hepatitis C virus are infectious when directly transfected into the liver of a chimpanzee. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(16):8738-8743.
42. Lohmann V, Körner F, Koch JO, Herian U, Theilmann L, Bartenschlager R. Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science*. 1999;285(5424):110-113.
43. Masaki T, Suzuki R, Saeed M, et al. Production of infectious hepatitis C virus by using RNA polymerase I-mediated transcription. *J Virol*. 2010;84(11):5824-5835.
44. Adugna A. Therapeutic strategies and promising vaccine for hepatitis C virus infection. *Immun Inflamm Dis*. 2023;11(8):e977.
45. Yu X, Qiao M, Atanasov I, et al. Cryo-electron microscopy and three-dimensional reconstructions of hepatitis C virus particles. *Virology*. 2007;367(1):126-134.
46. Douam F, Lavillette D, Cosset FL. The mechanism of HCV entry into host cells. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2015;129:63-107.

47. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 1989;244(4902):359-362.
48. Gottwein JM, Bukh J. Cutting the gordian knot-development and biological relevance of hepatitis C virus cell culture systems. *Adv Virus Res*. 2008;71:51-133.
49. Lapa D, Garbuglia AR, Capobianchi MR, Porto P Del. Hepatitis C Virus Genetic Variability, Human Immune Response, and Genome Polymorphisms: Which Is the Interplay? *Cells*. 2019;8(4):305.
50. Morozov VA, Lagaye S. Hepatitis C virus: Morphogenesis, infection and therapy. *World J Hepatol*. 2018;10(2):186-212.
51. Worobey M, Holmes EC. Evolutionary aspects of recombination in RNA viruses. *J Gen Virol*. 1999;80 (Pt 10)(10):2535-2543.
52. Confirmed HCV genotypes/subtypes. ICTV, 2022. https://ictv.global/sg_wiki/flaviviridae/hepacivirus/table1
53. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014;61(1):S45-S57.
54. Davis C, Mgomella GS, da Silva Filipe A, et al. Highly Diverse Hepatitis C Strains Detected in Sub-Saharan Africa Have Unknown Susceptibility to Direct-Acting Antiviral Treatments. *Hepatology*. 2019;69(4):1426-1441.
55. Borgia SM, Hedskog C, Parhy B, et al. Identification of a Novel Hepatitis C Virus Genotype From Punjab, India: Expanding Classification of Hepatitis C Virus Into 8 Genotypes. *J Infect Dis*. 2018;218(11):1722-1729.
56. Aguilera A, Navarro D, Rodríguez-Frias F, et al. Prevalence and distribution of hepatitis C virus genotypes in Spain during the 2000-2015 period (the GEHEP 005 study). *J Viral Hepat*. 2017;24(9):725-732.
57. Estirado Gómez A, Soledad, Gil J, et al. Elaboración del informe: Coordinación del 2º Estudio de Seroprevalencia en España. 2017.
58. Papadopoulos N, Argiana V, Deutsch M. Hepatitis C infection in patients with hereditary bleeding disorders: epidemiology, natural history, and management. *Ann Gastroenterol*. 2018;31(1):35-41.
59. Kamal SM, Ghoraba D. Epidemiology and Modes of Transmission of HCV in Developing Countries. Hepatitis C in Developing Countries: Current and Future Challenges. *Elsevier*. 2018:13-22.
60. Hajarizadeh B, Kairouz A, Ottaviano S, et al. Global, regional, and country-level coverage of testing and treatment for HIV and hepatitis C infection among people who inject drugs: a systematic review. *Lancet Glob Health*. 2023;11(12):e1885-e1898.
61. European Centre for Disease Prevention and Control. Public health guidance on HIV, hepatitis B and C testing in the EU/EEA. *Stockholm: ECDC*, 2018 https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/hiv-hep-testing-guidance_0.pdf
62. Chan DPC, Sun HY, Wong HTH, Lee SS, Hung CC. Sexually acquired hepatitis C virus infection: a review. *Int J Infect Dis*. 2016;49:47-58.
63. Benova L, Mohamoud YA, Calvert C, Abu-Raddad LJ. Vertical transmission of hepatitis C virus: systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2014;59(6):765-773.
64. Cottrell EB, Chou R, Wasson N, Rahman B, Guise JM. Reducing risk for mother-to-infant transmission of hepatitis C virus: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 2013;158(2):109-113.
65. European Centre for Disease Prevention and Control. Hepatitis C. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2021. Stockholm: ECDC; 2022
66. Guía de Cribado de La Infección Por El VHC. División de Control Del VIH, ITS, Hepatitis Virales y Tuberculosis. Madrid; Ministerio de Sanidad, 2022.

67. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual epidemiological report for 2022. Stockholm: ECDC; 2022.
68. Hernando V, Oca VÁ, -Ruiz-Algueró M, Díaz A, Nacional De Vigilancia LR. Vigilancia Epidemiológica de La Hepatitis C. Ministerio de Ciencia e Innovaciones, Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica, 2022.
69. Una de cada cinco personas en Cataluña desconoce que tiene hepatitis C. ASSCAT. https://asscat-hepatitis.org/una-de-cada-cinco-personas-en-cataluna-desconoce-que-tiene-hepatitis-c-2/
70. Lingala S, Ghany MG. Natural History of Hepatitis C. *Gastroenterol Clin North Am*. 2015;44(4):717-734.
71. Westbrook RH, Dusheiko G. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol*. 2014;61(1):S58-S68.
72. Training workshop on screening, diagnosis and treatment of hepatitis B and C. Geneva; WHO, 2020.
73. Dunn PJH, Malinovsky D, Goenaga-Infante H. Calibration strategies for the determination of stable carbon absolute isotope ratios in a glycine candidate reference material by elemental analyser-isotope ratio mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 2015;407(11):3169-3181.
74. Colin C, Lanoir D, Touzet S, Meyaud-Kraemer L, Bailly F, Trepo C. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature. *J Viral Hepat*. 2001;8(2):87-95.
75. Kamili S, Drobeniuc J, Araujo AC, Hayden TM. Laboratory diagnostics for hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis*. 2012;55 Suppl 1:S43-8.
76. Roger S, Ducancelle A, Le Guillou-Guillemette H, Gaudy C, Lunel F. HCV virology and diagnosis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2021;45(3):101626
77. Mauss S, Berg T, Rockstroh J, Sarrazin C, Wedemeyer H. Hepatology, a Clinical Textbook.2010.
78. Updated recommendations on HCV simplified service delivery and HCV diagnostics: policy brief. Geneva: World Health Organization; 2022.
79. Insert Abbott RealTime HCV assay specifications. https://www.molecularcatalog.abbott/int/en/Abbott-Realtime-HCV
80. Sepúlveda-Crespo D, Treviño-Nakoura A, Bellón JM, et al. Diagnostic performance of hepatitis C core antigen assay to identify active infections: A systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol*. 2023;33(3):e2436.
81. Guía de Cribado de La Infección Por El VHC. Madrird; Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad, 2020. https://www.mscbs.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/docs/GUIA_DE_CRIBADO_DE_LA_INFECCION_POR_EL_VHC_2020.pdf
82. Crespo J, Lázaro P, Blasco AJ, et al. Hepatitis C reflex testing in Spain in 2019: A story of success. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2021;39(3):119-126.
83. Bajis S, Applegate TL, Grebely J, Matthews G V., Dore GJ. Novel Hepatitic C Virus (HCV) Diagnosis and Treatment Delivery Systems: Facilitating HCV Elimination by Thinking Outside the Clinic. *J Infect Dis*. 2020;222(Suppl 9):S758-S772.
84. Chevaliez S, Feld J, Cheng K, et al. Clinical utility of HCV core antigen detection and quantification in the diagnosis and management of patients with chronic hepatitis C receiving an all-oral, interferon-free regimen. *Antivir Ther*. 2018;23(3):211-217.
85. Freiman JM, Tran TM, Schumacher SG, et al. Hepatitis C Core Antigen Testing for Diagnosis of Hepatitis C Virus Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2016;165(5):345-355.
86. Duchesne L, Lacombe K. Innovative technologies for point-of-care testing of viral hepatitis in low-resource and decentralized settings. *J Viral Hepat*. 2018;25(2):108-117.

87. Chevaliez S. Strategies for the improvement of HCV testing and diagnosis. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2019;17(5):341-347.
88. Adee M, Zhong H, Reipold EI, Zhuo Y, Shilton S, Chhatwal J. Cost-Effectiveness of a Core Antigen–Based Rapid Diagnostic Test for Hepatitis C. *Value in Health*. 2022;25(7):1107-1115.
89. Martinello M, Hajarizadeh B, Grebely J, Dore GJ, Matthews G V. Management of acute HCV infection in the era of direct-acting antiviral therapy. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;15(7):412-424.
90. Saludes V, González V, Planas R, Matas L, Ausina V, Martró E. Tools for the diagnosis of hepatitis C virus infection and hepatic fibrosis staging. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2014;20(13):3431.
91. Chung RT, Ghany MG, Kim AY, et al. Hepatitis C Guidance 2018 Update: AASLD-IDSA Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C Virus Infection. *Clinical Infectious Diseases*. 2018;67(10):1477-1492.
92. Pawlotsky JM, Negro F, Aghemo A, et al. EASL recommendations on treatment of hepatitis C: Final update of the series. *J Hepatol*. 2020;73(5):1170-1218.
93. 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;59(1):318-327.
94. Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*. 2005;42(4):962-973.
95. Saludes V, Quer J, Gregori J, et al. Identification of hepatitis C virus genotype 3 by a commercial assay challenged by natural polymorphisms detected in Spain from patients with diverse origins. *J Clin Virol*. 2016;78:14-19.
96. Mokhtari C, Ebel A, Reinhardt B, Merlin S, Proust S, Roque-Afonso AM. Characterization of Samples Identified as Hepatitis C Virus Genotype 1 without Subtype by Abbott RealTime HCV Genotype II Assay Using the New Abbott HCV Genotype Plus RUO Test. *J Clin Microbiol*. 2016;54(2):296-299.
97. He C, et al. Utility of the Abbott RealTime HCV Genotype Plus RUO assay used in combination with the Abbott RealTime HCV Genotype II assay. *J Clin Virol*. 2018;99-100:97-100.
98. VERSANT HCV Genotype 2.0 Assay (LiPA). https://www.siemens-healthineers.com/molecular-diagnostics/molecular-diagnostics-in-vitro-diagnostics/versant-hcv-genotype-2-assay-lipa
99. cobas® HCV GT for use on the cobas® 4800 System. https://diagnostics.roche.com/global/en/products/params/cobas-hcv-gt-for-use-on-thecobas-4800-system.html
100. Cuypers L, Thijssen M, Shakibzadeh A, Sabahi F, Ravanshad M, Pourkarim MR. Next-generation sequencing for the clinical management of hepatitis C virus infections: does one test fits all purposes? *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2019;56(6):420-434.
101. Quer J, Gregori J, Rodríguez-Frias F, et al. High-resolution hepatitis C virus subtyping using NS5B deep sequencing and phylogeny, an alternative to current methods. *J Clin Microbiol*. 2015;53(1):219-226.
102. Burgess S V., Hussaini T, Yoshida EM. Concordance of sustained virologic response at weeks 4, 12 and 24 post-treatment of hepatitis c in the era of new oral direct-acting antivirals: A concise review. *Ann Hepatol*. 2016;15(2):154-159.
103. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006;43(6):1317-1325.
104. Basyte-Bacevice V, Kupcinskas J. Evolution and Revolution of Hepatitis C Management: From Non-A, Non-B Hepatitis Toward Global Elimination. *Dig Dis*. 2020;38(2):137-142.

105. Mutimer D, Aghemo A, Diepolder H, et al. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014;60(2):392-420.
106. Pawlotsky JM, Aghemo A, Back D, et al. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2015. *J Hepatol*. 2015;63(1):199-236.
107. JCarmena J, et al. Documento de consenso del grupo español para el estudio de la hepatitis (GEHEP) sobre el tratamiento de la hepatitis C. SEIMC, 2015.
108. España, en la senda de eliminar la hepatitis C seis años antes del horizonte 2030 fijado por la OMS. CIBERISCIII. https://www.ciberisciii.es/noticias/espana-en-la-senda-de-eliminar-la-hepatitis-c-seis-anos-antes-del-horizonte-2030-fijado-por-la-oms
109. Global Health Sector Strategy on Viral Hepatitis 2016-2021. Geneva; World Health Organization, 2016.
110. Consolidated guidelines on HIV, viral hepatitis and STI prevention, diagnosis, treatment and care for key populations. Geneva; World Health Organization, 2022.
111. Action Plan for the Health Sector Response to Viral Hepatitis in the WHO European Region. Geneva; World Health Organization, 2017.
112. Hepatitis B. Manual de Immunizaciones En Línia de La AEP. Comité Asesor de Vacunas e Inmunizaciones (CAV-AEP), 2024. https://vacunasaep.org
113. Calendario vacunal España. Madrid; Ministerio de Sanidad, 2024. https://www.sanidad.gob.es/areas/promocionPrevencion/vacunaciones/calendario/docs/CalendarioVacunacion_Todalavida.pdf
114. Grebely J, Applegate TL, Cunningham P, Feld JJ. Hepatitis C point-of-care diagnostics: in search of a single visit diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn*. 2017;17(12):1109-1115.
115. Jones L, Bates G, Mccoy E, Beynon CM. A Systematic Review of the Effectiveness and Cost Effectiveness of Interventions Aimed at Raising Awareness and Engaging with Groups Who Are at an Increased Risk of Hepatitis B and C infection. Centre for Public Health Liverpool.
116. Grebely J, Knight E, Genoway KA, et al. Optimizing assessment and treatment for hepatitis C virus infection in illicit drug users: a novel model incorporating multidisciplinary care and peer support. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2010;22(3):270-277.
117. Crawford S, Bath N. Peer support models for people with a history of injecting drug use undertaking assessment and treatment for hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis*. 2013;57 Suppl 2(SUPPL.2). doi:10.1093/CID/CIT297
118. Protocol de Seguiment de l'embaràs a Catalunya. Departament de Salut; Agència de Salut Pública de Catalunya, 2018.
119. Morales-Arraez D, Hernández-Bustabad A, Medina-Alonso MJ, et al. Telemedicine and decentralized hepatitis C treatment as a strategy to enhance retention in care among people attending drug treatment centres. *Int J Drug Policy*. 2021;94:103235
120. Nevola R, Rosato V, Conturso V, et al. Can Telemedicine Optimize the HCV Care Cascade in People Who Use Drugs? Features of an Innovative Decentralization Model and Comparison with Other Micro-Elimination Strategies. *Biology (Basel)*. 2022;11(6):85.
121. Rennert L, Howard KA, Kickham CM, et al. Implementation of a mobile health clinic framework for Hepatitis C virus screening and treatment: a descriptive study. *Lancet regional health Americas*. 2023;29:100648.
122. Valencia J, Lazarus J V., Ceballos FC, et al. Differences in the hepatitis C virus cascade of care and time to initiation of therapy among vulnerable subpopulations using a mobile unit as point-of-care. *Liver Int*. 2022;42(2):309-319.
123. Demant J, Krohn-Dehli L, Van der Veen J, Øvrehus A, Lazarus J V., Weis N. Peer-delivered point-of-care testing and linkage to treatment for hepatitis C virus infection among marginalized populations through a mobile clinic in Copenhagen, Denmark. *Int J Drug Policy*. 2023;121:104185.

124. Ferrer L, González V, Martró E, et al. High HIV/STI prevalence among cisgender men and transgender women sex workers attending community-based centres in Barcelona, Spain: The Sweetie Project. *Int J STD AIDS*. 2022;33(12):1045-1053.
125. Waked I, Esmat G, Elsharkawy A, et al. Screening and Treatment Program to Eliminate Hepatitis C in Egypt. *N Engl J Med*. 2020;382(12):1166-1174.
126. Egypt becomes the first country to achieve WHO validation on the path to elimination of hepatitis C. News WHO EMRO. https://www.emro.who.int/media/news/egypt-becomes-the-first-country-to-achieve-who-validation-on-the-path-to-elimination-of-hepatitis-c.html
127. Compendium of good practices in the health sector response to viral hepatitis in the WHO European Region Geneva; WHO European Region, 2020.
128. NHS Tayside. https://www.nhstayside.scot.nhs.uk/News/Article/index.htm?article=PROD_339892
129. GGD Amsterdam. https://www.ggd.amsterdam.nl/
130. Day SL, McDonald G, Kellett C. Hepatitis B and hepatitis C testing outcomes among service users of Sexual Health London: an online sexually transmitted infection testing service for London residents. *Sex Transm Infect*. 2023 Nov 24:sextrans-2023-055916.
131. Martínez-Riveros H, Martró E, Montoro-Fernandez M, et al. An online hepatitis C virus self-sampling strategy for gay, bisexual, and other men who have sex with men and trans women: TESTATE C PLUS 2020-2021. *J Evid Based Med*. 2023;16(4):446-450.
132. Disfrutasin-C. https://disfrutasin-c.org/.
133. Hassanin A, Kamel S, Waked I, Fort M. Egypt's Ambitious Strategy to Eliminate Hepatitis C Virus. *Glob Health Sci Pract*. 2021;9(1)187-200.
134. Persones internes a centres penitenciaris. Agència de Salut Pública de Catalunya (ASPCAT). https://salutpublica.gencat.cat/ca/ambits/vigilancia/vih-sida-its-hv/hepatitis-viriques/descripcio/internes
135. Marco A, Ra G, Sastre A, Ja C, Grumip. Is it possible to eliminate hepatitis C from the prisons of Catalonia, Spain, in 2021? *Rev Esp Sanid Penit*. 2019;21:38-41.
136. Feld JJ, Ward JW. Key Elements on the Pathway to HCV Elimination: Lessons Learned From the AASLD HCV Special Interest Group 2020. *Hepatol Commun*. 2021;5(6):911-922.
137. Lazarus J V., Safreed-Harmon K, Thursz MR, et al. The Micro-Elimination Approach to Eliminating Hepatitis C: Strategic and Operational Considerations. *Semin Liver Dis*. 2018;38(3):181-192.
138. Lazarus J V., Wiktor S, Colombo M, Thursz M. Micro-elimination – A path to global elimination of hepatitis C. *J Hepatol*. 2017;67(4):665-666.
139. Fourati S, Feld JJ, ephane Chevaliez S, Luhmann N. Approaches for simplified HCV diagnostic algorithms. *J Int AIDS Soc*. 2018 Apr;21 Suppl 2(Suppl Suppl 2):e25058.
140. Global progress report on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections, 2021. Geneva; World Health Organization, 2021.
141. Consolidated guidelines on HIV, viral hepatitis and STI prevention, diagnosis, treatment and care for key populations. Geneva; World Health Organization, 2022.
142. Jacobson TA, Kler JS, Bae Y, et al. A state-of-the-science review and guide for measuring environmental exposure biomarkers in dried blood spots. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology 2022 33:4*. 2022;33(4):505-523.
143. Prasad Gupta B, Jayasuryan N, Jameel S. Direct Detection of Hepatitis B Virus from Dried Blood Spots by Polymerase Chain Reaction Amplification. *J Clin Microbiol*. 1992;30(8):1913-1916.
144. Parker SP, Cubitt WD, Ades AE. A method for the detection and confirmation of antibodies to hepatitis C virus in dried blood spots. *J Virol Methods*. 1997;68(2):199-205.

145. Abe K, Konomi N. Hepatitis C virus RNA in dried serum spotted onto filter paper is stable at room temperature. *J Clin Microbiol*. 1998;36(10):3070-3072.
146. Lange B, Roberts T, Cohn J, et al. Diagnostic accuracy of detection and quantification of HBV-DNA and HCV-RNA using dried blood spot (DBS) samples - a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2017;17(Suppl 1):700.
147. Lange B, Cohn J, Roberts T, et al. Diagnostic accuracy of serological diagnosis of hepatitis C and B using dried blood spot samples (DBS): Two systematic reviews and meta-analyses. *BMC Infect Dis*. 2017;17(Suppl 1):700.
148. Chevaliez S, Pawlotsky JM. New virological tools for screening, diagnosis and monitoring of hepatitis B and C in resource-limited settings. *J Hepatol*. 2018 Oct;69(4):916-926.
149. Prequalified In Vitro Diagnostics. WHO - Prequalification of Medical Products (IVDs, Medicines, Vaccines and Immunization Devices, Vector Control). 2024. https://extranet.who.int/prequal/vitro-diagnostics/prequalified-vitro-diagnostics
150. Roche awarded WHO prequalification for the HIV and HCV tests on the cobas 6800/8800 Systems. https://diagnostics.roche.com/global/en/news-listing/2021/roche-s-awarded-who-prequalification-for-the-hiv-and-hcv.html
151. Martínez-Campreciós J, Rando-Segura A, Buti M, et al. Reflex viral load testing in dried blood spots generated by plasma separation card allows the screening and diagnosis of chronic viral hepatitis. *J Virol Methods*. 2021;289:114039.
152. Marins EG, Krey N, Becker A, Melzer S, Hoppler M. Evaluation of the cobas® HCV test for quantifying HCV RNA in dried plasma spots collected using the cobas® Plasma Separation Card. *J Virol Methods*. 2020;278:113820.
153. Grebely J, Matthews S, Causer LM, et al. We have reached single-visit testing, diagnosis, and treatment for hepatitis C infection, now what? *Expert Rev Mol Diagn*. 2024;24(3):177-191.
154. White B, Day C, Thein HH, et al. Acceptability of hepatitis C virus testing methods among injecting drug users. *Drug Alcohol Rev*. 2008;27(6):666-670.
155. Baltazar CS, Raposo C, Jani I V., et al. Evaluation of performance and acceptability of two rapid oral fluid tests for HIV detection in Mozambique. *J Clin Microbiol*. 2014;52(10):3544-3548.
156. Cruz HM, da Silva EF, Villela-Nogueira CA, et al. Evaluation of saliva specimens as an alternative sampling method to detect hepatitis B surface antigen. *J Clin Lab Anal*. 2011;25(2):134-141.
157. Portilho MM, Martins PP, Lampe E, Villar LM. A comparison of molecular methods for hepatitis B virus (HBV) DNA detection from oral fluid samples. *J Med Microbiol*. 2012;61(Pt 6):844-851. 0
158. Heiberg IL, Hoegh M, Ladelund S, Niesters HGM, Hogh B. Hepatitis B virus DNA in saliva from children with chronic hepatitis B infection: implications for saliva as a potential mode of horizontal transmission. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29(5):465-467.
159. Sullivan RP, Davies J, Binks P, et al. Point of care and oral fluid hepatitis B testing in remote Indigenous communities of northern Australia. *J Viral Hepat*. 2020;27(4):407-414.
160. Portilho MM, Mendonça AC da F, Bezerra CS, et al. Usefulness of in-house real time PCR for HBV DNA quantification in serum and oral fluid samples. *J Virol Methods*. 2018;256:100-106.
161. Pauly M, Ganova-Raeva L. Point-of-Care Testing for Hepatitis Viruses: A Growing Need. *Life*. 2023;13(12):2271.
162. Perazzo H, Castro R, Villela-Nogueira C, et al. Acceptability and usability of oral fluid HCV self-testing for hepatitis C diagnosis: A systematic review and meta-analysis. *J Viral Hepat*. 2023;30(11):838-847.

163. Amini A, Varsaneux O, Kelly H, et al. Diagnostic accuracy of tests to detect hepatitis B surface antigen: a systematic review of the literature and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2017;17(Suppl 1):698.
164. Seck A, Ndiaye F, Maylin S, et al. Poor Sensitivity of Commercial Rapid Diagnostic Tests for Hepatitis B e Antigen in Senegal, West Africa. *Am J Trop Med Hyg*. 2018;99(2):428-434.
165. Leathers JS, Pisano MB, Re V, et al. Evaluation of Rapid Diagnostic Tests for Assessment of Hepatitis B in Resource-Limited Settings. *Ann Glob Health*. 2019;85(1):98.
166. Ségéral O, S. N'Diaye D, Prak S, et al. Usefulness of a serial algorithm of HBsAg and HBeAg rapid diagnosis tests to detect pregnant women at risk of HBV mother-to-child transmission in Cambodia, the ANRS 12328 pilot study. *J Clin Virol*. 2018;109:29-34.
167. El-Ghitany EM, Farghaly AG. Evaluation of commercialized rapid diagnostic testing for some Hepatitis B biomarkers in an area of intermediate endemicity. *J Virol Methods*. 2013;194(1-2):190-193.
168. Cruz HM, Scalioni L de P, de Paula VS, et al. Poor sensitivity of rapid tests for the detection of antibodies to the hepatitis B virus: implications for field studies. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2017;112(3):209-213.
169. Bottero J, Boyd A, Gozlan J, et al. Performance of rapid tests for detection of HBsAg and anti-HBsAb in a large cohort, France. *J Hepatol*. 2013;58(3):473-478.
170. Gupta E, Khodare A, Rani N, Singh G, Aggarwal K, Sharma M. Performance evaluation of Xpert HBV viral load (VL) assay: Point-of-care molecular test to strengthen and decentralize management of chronic hepatitis B (CHB) infection. *J Virol Methods*. 2021;290:114063.
171. Marcuccilli F, Chevaliez S, Muller T, et al. Multicenter Evaluation of the Cepheid Xpert® HBV Viral Load Test. *Diagnostics (Basel)*. 2021;11(2):297.
172. Jackson K, Tekoaua R, Li X, Locarnini S. Real-world application of the Xpert® HBV viral load assay on serum and dried blood spots. *J Med Virol*. 2021;93(6):3707-3713.
173. Poiteau L, Wlassow M, Hézode C, Pawlotsky JM, Chevaliez S. Evaluation of the Xpert HBV Viral Load for hepatitis B virus molecular testing. *J Clin Virol*. 2020;129:104481.
174. Chen CM, Ouyang S, Lin LY, et al. Diagnostic accuracy of LAMP assay for HBV infection. *J Clin Lab Anal*. 2020;34(7):e23281.
175. Zhang B, Zhu Z, Li F, Xie X, Ding A. Rapid and sensitive detection of hepatitis B virus by lateral flow recombinase polymerase amplification assay. *J Virol Methods*. 2021;291:114094.
176. Li H, Song W, Li H, et al. Advances in isothermal nucleic acid amplification methods for hepatitis B virus detection. *Analyst*. 2023;148(16):3708-3718. doi:10.1039/D3AN00700F
177. Applegate TL, Fajardo E, Sacks JA. Hepatitis C Virus Diagnosis and the Holy Grail. *Infect Dis Clin North Am*. 2018;32(2):425-445.
178. Public health benefits of partner notification for sexually transmitted infections and HIV. Stockholm, ECDC, 2013. https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/public-health-benefits-partner-notification-sexually-transmitted-infections-and
179. Buti M, Domínguez-Hernández R, Casado MÁ, Sabater E, Esteban R. Healthcare value of implementing hepatitis C screening in the adult general population in Spain. *PLoS One*. 2018;13(11): e:0208036.
180. Liu L, Zhang M, Hang L, et al. Evaluation of a new point-of-care oral anti-HCV test for screening of hepatitis C virus infection. *Virol J*. 2020 Jan 31;17(1):14.
181. Saludes V Lazarus JV Folch C González-Gómez S González N Ibáñez N Colom J Matas L Casabona J Martró E. AA. Evaluation of the Xpert HCV VL Fingerstick point-of-care assay and dried blood spot HCV-RNA testing as simplified diagnostic strategies among people who inject drugs in Catalonia, Spain. *Int J Drug Policy.* 2020 Jun;80:102734.

182. Llibre A, Shimakawa Y, Mottez E, et al. Development and clinical validation of the Genedrive point-of-care test for qualitative detection of hepatitis C virus. *Gut*. 2017;67:2017-2024.
183. Shih STF, Cheng Q, Carson J, et al. Optimizing point-of-care testing strategies for diagnosis and treatment of hepatitis C virus infection in Australia: a model-based cost-effectiveness analysis. *Lancet Reg Health West Pac*. 2023;36:100750.
184. Grebely J. Point-of-care testing for hepatitis C infection: A critical building block for the foundation to achieve elimination. *Clin Infect Dis.* 2024 Mar 21:ciae156.
185. Patel J, Sharma P. Design of a novel rapid immunoassay for simultaneous detection of hepatitis C virus core antigen and antibodies. *Arch Virol*. 2020;165(3):627-641.
186. Mikawa AY, Santos SAT, Kenfe FR, da Silva FH, da Costa PI. Development of a rapid one-step immunochromatographic assay for HCV core antigen detection. *J Virol Methods*. 2009;158(1-2):160-164.
187. Freiman JM, Wang J, Easterbrook PJ, et al. Deriving the optimal limit of detection for an HCV point-of-care test for viraemic infection: Analysis of a global dataset. *J Hepatol*. 2019;71(1):62-70.
188. FIND explores new diagnostic technologies with the potential to confirm hepatitis C infection in community settings. FIND. https://www.finddx.org/publications-and-statements/press-release/find-explores-new-diagnostic-technologies-with-the-potential-to-confirm-hepatitis-c-infection-in-community-settings/
189. Torres-Vázquez B, de Lucas AM, García-Crespo C, et al. In vitro Selection of High Affinity DNA and RNA Aptamers that Detect Hepatitis C Virus Core Protein of Genotypes 1 to 4 and Inhibit Virus Production in Cell Culture. *J Mol Biol*. 2022;434(7):167501.
190. Kweon OJ, Lim YK, Kim HR, Kim TH, Lee MK. Analytical performance of newly developed rapid point-of-care test for the simultaneous detection of hepatitis A, B, and C viruses in serum samples. *J Med Virol*. 2019;91(6):1056-1062.
191. Programa d'intercanvi de xeringues (PIX). Drogues i addiccions comportamentals. Generalitat de Catalunya. https://drogues.gencat.cat/ca/professionals/reduccio_de_danys/programes/programa_d_intercanvi_de_xeringues_pix/
192. Rashti R, Sharafi H, Alavian SM, Moradi Y, Bolbanabad AM, Moradi G. Systematic review and meta-analysis of global prevalence of HBsAG and HIV and HCV antibodies among people who inject drugs and female sex workers. *Pathogens*. 2020;9(6):432.
193. Informe Europeo Sobre Drogas 2022: Tendencias y Novedades. Observatorio Europeo de las Drogas y las Toxicomanías, 2022.
194. Sistema d'Informació Sobre Addiccions de Catalunya. Informe Anual 2022. Agència de Salut Pública de Catalunya, 2023.
195. Sweeney S, Ward Z, Platt L, et al. Evaluating the cost-effectiveness of existing needle and syringe programmes in preventing hepatitis C transmission in people who inject drugs. *Addiction (Abingdon, England)*. 2019;114(3):560-570.
196. Picchio CA, Valencia J, Doran J, et al. The impact of the COVID-19 pandemic on harm reduction services in Spain. *Harm Reduct J*. 2020;17(1):81.
197. Day E, Broder T, Bruneau J, et al. Priorities and recommended actions for how researchers, practitioners, policy makers, and the affected community can work together to improve access to hepatitis C care for people who use drugs. *Int J Drug Policy*. 2019;66:87-93.
198. Protocol de diagnòstic i tractament del virus de l'hepatitis C per persones drogodependents. Generalitat de Catalunya; Agència de Salut Pública de Catalunya, 2021
199. Informe d'activitat Assistencial: Serveis de Reducció de Danys. Generalitat de Catalunya; Agència de Salut Pública de Catalunya, 2023.

200. Informe d'activitat Assistencial. Programa d'intercanvi de Xeringues, Any 2022. Agència de Salut Pública de Catalunya. 2023.
201. Pla d'Acció sobre Drogues i Addiccions de Barcelona 2021-2024. Agència de Salut Pública de Barcelona, 2024.
202. Monitoratge Del VIH, VHC i Dels Seus Determinants En Persones Que s'injecten Drogues Usuàries de Centres de Reducció de Danys a Catalunya. Estudi REDAN, 2019. CEEISCAT, Agència de Salut Pública de Catalunya, 2019.
203. Folch C, Saludes V, Reyes-Ureña J, et al. The hepatitis C care cascade among people who inject drugs accessing harm reduction services in Catalonia: Major gaps for migrants. *Int J Drug Policy*. 2021;90:103057.
204. Saludes V, Antuori A, Folch C, et al. Utility of a one-step screening and diagnosis strategy for viremic HCV infection among people who inject drugs in Catalonia. *Int J Drug Policy*. 2019;74:236-245.
205. Trickey A, Fajardo E, Alemu D, Artenie AA, Easterbrook P. Impact of hepatitis C virus point-of-care RNA viral load testing compared with laboratory-based testing on uptake of RNA testing and treatment, and turnaround times: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2023;8(3):253-270.
206. Rashti R, Alavian SM, Moradi Y, et al. Global prevalence of HCV and/or HBV coinfections among people who inject drugs and female sex workers who live with HIV/AIDS: a systematic review and meta-analysis. *Arch Virol*. 2020;165(9):1947-1958.
207. Degenhardt L, Peacock A, Colledge S, et al. Global prevalence of injecting drug use and sociodemographic characteristics and prevalence of HIV, HBV, and HCV in people who inject drugs: a multistage systematic review. *Lancet Glob Health*. 2017 Dec;5(12):e1192-e1207.
208. Miranda NTGP, de Souza RL, Monteiro JC, et al. Seroprevalence of HBV and HCV in female sex workers from four cities in the state of Pará, northern Brazil. *J Med Virol*. 2021;93(6):3730-3737.
209. de Matos MA, da Silva França DD, dos Santos Carneiro MA, et al. Viral hepatitis in female sex workers using the Respondent-Driven Sampling. *Rev Saude Publica*. 2017;51:65.
210. Ranjan A, Shannon K, Chettiar J, Braschel M, Ti L, Goldenberg S. Barriers and facilitators to hepatitis B vaccination among sex workers in Vancouver, Canada: Implications for integrated HIV, STI, and viral hepatitis services. *International Journal of Infectious Diseases*. 2019;87:170-176.
211. Public health guidance on HIV, hepatitis B and C testing in the EU/EEA – An integrated approach. Stockholm: ECDC; 2018
212. Myers T, Allman D, Xu K, et al. The prevalence and correlates of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-HIV co-infection in a community sample of gay and bisexual men. *Int J Infect Dis*. 2009;13(6):730-739.
213. Saludes V, Folch C, Morales-Carmona A, et al. Community-based screening of hepatitis C with a one-step RNA detection algorithm from dried-blood spots: Analysis of key populations in Barcelona, Spain. *J Viral Hepat*. 2018;25(3):236-244.
214. The Polaris Observatory HCV Collaborators. Global change in hepatitis C virus prevalence and cascade of care between 2015 and 2020: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2022;7(5):396-415.
215. The Polaris Observatory Collaborators, Bensalem A, Bessone F, et al. Global prevalence, cascade of care, and prophylaxis coverage of hepatitis B in 2022: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2023;8(10):879-907.
216. European Centre for Disease Prevention and Control. Epidemiological Assessment of Hepatitis B and C among Migrants in the EU/EEA. Stockholm; ECDC, 2016.

217. Greenaway C, Makarenko I, Chakra CNA, et al. The effectiveness and cost-effectiveness of hepatitis C screening for migrants in the EU/EEA: A systematic review. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15(9):2013.
218. Rein DB, Lesesne SB, Smith BD, Weinbaum CM. Models of Community-Based Hepatitis B Surface Antigen Screening Programs in the U.S. and Their Estimated Outcomes and Costs. *Public Health Reports*. 2011;126(4):560-567.
219. Alarcón-Linares ME, Torres-Cantero A, Subirá C, et al. Geographic analysis and estimation of hepatitis C cases in migrant populations living in Spain: Is a country-based screening strategy appropriate? *Revista Espanola de Enfermedades Digestivas*. 2019;111(9):615-625.
220. Falla AM, Ahmad AA, Duffell E, Noori T, Veldhuijzen IK. Estimating the scale of chronic hepatitis C virus infection in the EU/EEA: A focus on migrants from anti-HCV endemic countries. *BMC Infect Dis*. 2018;18(1):42.
221. Rodríguez-Tajes S, Domínguez Á, Carrión JA, et al. Significant decrease in the prevalence of hepatitis C infection after the introduction of direct acting antivirals. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. 2020;35(9):1570-1578.
222. Ouaarab Essadek H, Borrás Bermejo B, Caro Mendivelso J, et al. "HEPARJOC-ACTÚA": herramienta educativa creada a través de un proceso de investigación-acción participativa con colectivos inmigrantes vulnerables para mejorar la accesibilidad al diagnóstico de la hepatitis B. *Rev Esp Salud Publica*. 2020;94.
223. Martró E, Ouaarab H, Saludes V, et al. Pilot hepatitis C micro-elimination strategy in Pakistani migrants in Catalonia through a community intervention. *Liver International*. 2022;42(8):1751-1761.
224. Klok S, van Dulm E, Boyd A, et al. Hepatitis B Virus (HBV), Hepatitis C Virus (HCV) and Human Immunodeficiency Virus (HIV) infections among undocumented migrants and uninsured legal residents in the Netherlands: A cross-sectional study, 2018–2019. *PLoS One*. 2021;16(10) :e0258932.
225. WHO sounds alarm on viral hepatitis infections claiming 3500 lives each day. Geneva; World Health Organization (WHO), 2024. https://www.who.int/news/item/09-04-2024-who-sounds-alarm-on-viral-hepatitis-infections-claiming-3500-lives-each-day
226. Saludes V, Antuori A, Lazarus J V., et al. Evaluation of the Xpert HCV VL Fingerstick point-of-care assay and dried blood spot HCV-RNA testing as simplified diagnostic strategies among people who inject drugs in Catalonia, Spain. *Int J Drug Policy*. 2020;80:102734.
227. Saludes V, Antuori A, Reinhardt B, et al. Reliable resolution of ambiguous hepatitis C virus genotype 1 results with the Abbott HCV Genotype Plus RUO assay. *Sci Rep*. 2019;9(1):3678.
228. Sullivan KM, Dean A, Minn MS. OpenEpi: a web-based epidemiologic and statistical calculator for public health. *Public Health Rep*. 2009;124(3):471-474.
229. Sönmez İ, Mesías-Gazmuri J, Barbara JC, et al. Factors associated with PrEP knowledge and intention to use PrEP among HIV-negative men and trans women sex workers in Spain. *AIDS Care*. 2023;35(8):1224-1234.
230. Wilson EC, Turner C, Lin J, McFarland W, Burk K, Raymond HF. Hepatitis C seroprevalence and engagement in related care and treatment among trans women. *J Viral Hepat*. 2019;26(7):923-925.
231. European Centre for Disease Prevention and Control. Hepatitis C. Annual epidemiological report for 2017. Stockholm: ECDC; 2019. https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER_for_2017-hepatitis-C.pdf
232. Global Health Sector Strategies on, Respectively, HIV, Viral Hepatitis and Sexually Transmitted Infections for the Period 2022-2030. Geneva: World Health Organization; 2022.

233. Fernandez-Lopez L, Folch C, Majo X, Gasulla L, Casabona J. Implementation of rapid HIV and HCV testing within harm reduction programmes for people who inject drugs: a pilot study. *AIDS Care*. 2016;28(6):712-716.
234. Grebely J, Hajarizadeh B, Lazarus J V., Bruneau J, Treloar C. Elimination of hepatitis C virus infection among people who use drugs: Ensuring equitable access to prevention, treatment, and care for all. *Int J Drug Policy*. 2019;72:1-10.
235. Catlett B, Hajarizadeh B, Cunningham E, et al. Diagnostic Accuracy of Assays Using Point-of-Care Testing or Dried Blood Spot Samples for the Determination of Hepatitis C Virus RNA: A Systematic Review. *J Infect Dis*. 2022;226(6):1005-1021.
236. Tang W, Tao Y, Fajardo E, et al. Diagnostic Accuracy of Point-of-Care HCV Viral Load Assays for HCV Diagnosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Diagnostics (Basel)*. 2022;12(5):1255.
237. Cunningham EB, Hajarizadeh B, Amin J, et al. Reinfection Following Successful Direct-acting Antiviral Therapy for Hepatitis C Virus Infection Among People Who Inject Drugs. *Clin Infect Dis*. 2021;72(8):1392-1400.
238. Midgard H, Weir A, Palmateer N, et al. HCV epidemiology in high-risk groups and the risk of reinfection. *J Hepatol*. 2016;65(1 Suppl):S33-S45.
239. Valencia J, Alvaro-Meca A, Troya J, et al. High rates of early HCV reinfection after DAA treatment in people with recent drug use attended at mobile harm reduction units. *Int J Drug Policy*. 2019;72:181-188.
240. Chevaliez S. Strategies for the improvement of HCV testing and diagnosis. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2019 May;17(5):341-347.
241. Guidelines for the Care and Treatment of Persons Diagnosed with Chronic Hepatitis C Virus Infection. Geneva; World Health Organization, 2018.
242. Van Santen DK, Schim Van Der Loeff MF, Cartier Van Dissel J, Martens JPD, Van Der Valk M, Prins M. High proportions of liver fibrosis and cirrhosis in an ageing population of people who use drugs in Amsterdam, The Netherlands. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2018;30(10):1168-1176.
243. Duvoux C, Pawlotsky JM, Bastie A, Cherqui D, Soussy CJ, Dhumeaux D. Low HCV replication levels in end-stage hepatitis C virus-related liver disease. *J Hepatol*. 1999;31(4):593-597.
244. Osburn WO, Fisher BE, Dowd KA, et al. Spontaneous control of primary hepatitis C virus infection and immunity against persistent reinfection. *Gastroenterology*. 2010;138(1):315-324.
245. Prevention and control of infectious diseases among people who inject drugs - 2023 update. Stockholm, ECDC, 2023. https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/prevention-and-control-infectious-diseases-among-people-who-inject-drugs-2023
246. Morgan JR, Marsh E, Savinkina A, et al. Determining the lower limit of detection required for HCV viral load assay for test of cure following direct-acting antiviral-based treatment regimens: Evidence from a global data set. *J Viral Hepat*. 2022;29(6):474-486.
247. Soulier A, Poiteau L, Rosa I, et al. Dried Blood Spots: A Tool to Ensure Broad Access to Hepatitis C Screening, Diagnosis, and Treatment Monitoring. *J Infect Dis*. 2016;213(7):1087-1095.
248. Chevaliez S, Wlassow M, Volant J, et al. Assessing Molecular Point-of-Care Testing and Dried Blood Spot for Hepatitis C Virus Screening in People Who Inject Drugs. *Open Forum Infect Dis*. 2020;7(6) :ofaa196.
249. Hajarizadeh B, Cunningham EB, Valerio H, et al. Hepatitis C reinfection after successful antiviral treatment among people who inject drugs: A meta-analysis. *J Hepatol*. 2020;72(4):643-657.
250. Lens S, Miralpeix A, Gálvez M, et al. HCV microelimination in harm reduction centres has benefits beyond HCV cure but is hampered by high reinfection rates. *JHEP Reports*. 2022 Sep 13;4(12):100580.

251. Hellard M, Rolls DA, Sacks-Davis R, et al. The impact of injecting networks on hepatitis C transmission and treatment in people who inject drugs. *Hepatology*. 2014;60(6):1861-1870.
252. Not A, et al. Performance of Dried Blood Spot Samples at HBV-DNA Detection with a Commercial Assay, Both in the Laboratory and in the Field for the Community Screening of Migrants. Abstract Book, International Viral Hepatitis Elimination Meeting Amsterdam, Netherlands, 1 - 2 December 2023.
253. Sethi G, Holden BM, Gaffney J, Greene L, Ghani AC, Ward H. HIV, sexually transmitted infections, and risk behaviours in male sex workers in London over a 10 year period. *Sex Transm Infect*. 2006;82(5):359-363.
254. dos Ramos Farías MS, Garcia MN, Reynaga E, et al. First report on sexually transmitted infections among trans (male to female transvestites, transsexuals, or transgender) and male sex workers in Argentina: high HIV, HPV, HBV, and syphilis prevalence. *Int J Infect Dis*. 2011;15(9):e35-40.
255. Verhaegh-Haasnoot A, Dukers-Muijrers NHTM, Hoebe CJPA. High burden of STI and HIV in male sex workers working as internet escorts for men in an observational study: a hidden key population compared with female sex workers and other men who have sex with men. *BMC Infect Dis*. 2015;15(1):291.
256. Terrault NA, Lok ASF, McMahon BJ, et al. Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance. *Hepatology*. 2018;67(4):1560-1599.
257. Sheena BS, Hiebert L, Han H, et al. Global, regional, and national burden of hepatitis B, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2022;7(9):796-829.
258. Countries. CGHE. https://www.globalhep.org/data-profiles/countries
259. Szwarcwald CL, Damacena GN, De Souza-Junior PRB, et al. Factors associated with HIV infection among female sex workers in Brazil. *Medicine*. 2018;97(1S Suppl 1):S54-S61.
260. Remis RS, Dufour A, Alary M, et al. Association of hepatitis B virus infection with other sexually transmitted infections in homosexual men. Omega Study Group. *Am J Public Health*. 2000;90(10):1570-1574.
261. Martín-Romo L, Sanmartín FJ, Velasco J. Invisible and stigmatized: A systematic review of mental health and risk factors among sex workers. *Acta Psychiatr Scand*. 2023;148(3):255.
262. Stewart SA. The effects of benzodiazepines on cognition. *J Clin Psychiatry*. 2005;66 Suppl 2:9-13.
263. Mesías-Gazmuri J, Folch C, Ferrer L, et al. Syndemic Conditions and Their Association with HIV/STI Sexual Risk Behaviors Among Transgender Women and Cisgender Men Sex Workers in Catalonia: The SexCohort Project. *Int J Behav Med*. 2023 Dec;30(6):824-835.
264. Mimiaga MJ, Hughto JMW, Klasko-Foster L, et al. Substance Use, Mental Health Problems, and Physical and Sexual Violence Additively Increase HIV Risk Between Male Sex Workers and Their Male Clients in Northeastern United States. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2021;86(3):305-312.
265. Elements per a la implementació de la profilaxi pre-exposició al VIH (PrEP) a Catalunya. Departament de Salut Generalitat de Catalunya, 2022.
266. Porras R. A, De la Hoz R. F. Impacto de la vacunación contra hepatitis B en el Amazonas colombiano 18 años después de su introducción. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*. 2012;30:32-35.
267. Rísquez A, Echezuría L, Carrión-Nessi FS, Forero-Peña DA. A time-series analysis of morbidity and mortality of viral hepatitis in Venezuela, 1990–2016. *BMC Infect Dis*. 2023;23(1):1-10.

268. Sacramento Pinto C, Barbosa Costa G, Bezerra Allaman I, Rocha Gadelha S. Clinical, epidemiological aspects, and trends of Hepatitis B in Brazil from 2007 to 2018. *Sci Rep. 2021 Jul 7;11(1):13986.*
269. Vildozola G H. Vacunación contra Hepatitis B: veinte años Después. *Revista de Gastroenterología del Perú*. 2007;27(1):57-66.
270. Jeng WJ, Papatheodoridis G V., Lok ASF. Hepatitis B. *The Lancet*. 2023;401(10381):1039-1052.
271. Gish RG, Basit SA, Ryan J, Dawood A, Protzer U. Hepatitis B Core Antibody: Role in Clinical Practice in 2020. *Curr Hepatol Rep*. 2020;19(3):254-265.
272. Martínez-Riveros H, Díaz Y, Montoro-Fernandez M, et al. An Online HIV Self-Sampling Strategy for Gay, Bisexual and Other Men Who Have Sex with Men and Trans Women in Spain. *J Community Health*. 2024;49(3):535-548.
273. Prevention and treatment of HIV and other sexually transmitted infections for sex workers in low- and middle-income countries. Geneva; World Health Organization, 2012.
274. Sahana H V., Sarala N, Prasad SR. Decrease in Anti-HBs Antibodies over Time in Medical Students and Healthcare Workers after Hepatitis B Vaccination. *Biomed Res Int*. 2017;2017.
275. Walayat S, Ahmed Z, Martin D, Puli S, Cashman M, Dhillon S. Recent advances in vaccination of non-responders to standard dose hepatitis B virus vaccine. *World J Hepatol*. 2015;7(24):2503-2509.
276. Hepatitis-B – Federal Directorate of Immunization, Pakistan. https://epi.gov.pk/vaccine-preventable-diseases/hepatitis-b/#:~:text=Three%20doses%20of%20this%20vaccine,be%20given%20later%20as%20well.
277. Périères L, Diallo A, Marcellin F, et al. Hepatitis B in Senegal: A Successful Infant Vaccination Program but Urgent Need to Scale Up Screening and Treatment (ANRS 12356 AmBASS survey). *Hepatol Commun*. 2022;6(5):1005-1015.
278. Pitigoi D, Rafila A, Pistol A, Arama V, Molagic V, Streinu-Cercel A. Trends in hepatitis B incidence in Romania, 1989-2005. *Euro Surveill*. 2008;13(2):11-12.
279. Prestileo T, Di Marco V, Dino O, et al. Effectiveness of a screening program for HBV, HCV, and HIV infections in African migrants to Sicily. *Digestive and Liver Disease*. 2022;54(6):800-804.
280. El-Hamad I, Pezzoli MC, Chiari E, et al. Point-of-care screening, prevalence, and risk factors for hepatitis B infection among 3,728 mainly undocumented migrants from Non-EU countries in northern Italy. *J Travel Med*. 2015;22(2):78-86.
281. Picchio CA, Nomah DK, Rando-Segura A, et al. Community-based screening enhances hepatitis B virus linkage to care among West African migrants in Spain. *Communications Medicine*. 2023;3:182.
282. MacKinnon MJ, Picchio CA, Nomah DK, et al. Chronic conditions and multimorbidity among West African migrants in greater Barcelona, Spain. *Front Public Health*. 2023;11:1142672.
283. Gheorghe L, Iacob S, Csiki IE, et al. The prevalence of hcv infection and risk factors in a hospital-based population screening, a first step to the micro-elimination of hcv infection in medical institutions from romania-results of the hepc alert study. *J Gastrointestin Liver Dis*. 2020;29(4):587-593.
284. Global hepatitis profile from Pakistan. https://www.globalhep.org/data-profiles/countries/pakistan.
285. Falla AM, Ahmad AA, Duffell E, Noori T, Veldhuijzen IK. Estimating the scale of chronic hepatitis C virus infection in the EU/EEA: a focus on migrants from anti-HCV endemic countries. *BMC Infect Dis*. 2018;18(1):42.

286. Calvo F, Guillén A, Carbonell X, et al. “Healthy immigrant effect” among individuals experiencing homelessness in Spain?: Foreign-born individuals had higher average age at death in 15-year retrospective cohort study. *BMC Public Health*. 2023;23(1):1212.
287. Ortonne V, Lucas Q, Garrigou O, et al. Alinity m, a Random-Access System, for Hepatitis B Virus DNA Quantification in Plasma and Whole Blood Collected on Dried Blood Spots. *mSphere*. 2022;7(3):e0008222.
288. Picchio CA, Nomah DK, Araujo SG, et al. A novel model of care for simplified testing of HBV in African communities during the COVID-19 pandemic in Spain. *Sci Rep*. 2021;11(1):17063.
289. V. Forero, S. Manzanares-Laya, H. Ouaarab, et al. Comunicación oral 0060: Mejora del acceso a las pruebas de las hepatitis B y C entre poblaciones inmigrantes en Cataluña: un estudio basado en una intervención comunitaria. Libro de comunicaciones SEIMC 2024
290. Insert Anti-HCV TEST - TURKLAB. https://www.turklab.com.tr/anti-hcv-test-2
291. Protocol de la prova de detecció ràpida del VHC per a HSH i persones trans. Generalitat de Catalunya; Agència de Salut Pública de Catalunya, 2018.
292. Updated Evaluation of Global Progress Towards HBV and HCV Elimination, Preliminary Data Through 2021. CDA Foundation. https://cdafound.org/updated-evaluation-of-global-progress-towards-hbv-and-hcv-elimination-preliminary-data-through-2021/
293. Markus C, Martro E, Hamid S, et al. Barriers and solutions to increasing access to point-of-care HCV testing. Report from the 2023 inhsu hepatitis C point-of-care testing forum. 2023.
294. Eliminating Hepatitis amongst Migrant Population – ACHIEVE Stories to Inspire. https://stories.achievehepatitiselimination.eu/story/eliminating-hepatitis-amongst-migrant-population/



Annexos

Annex 1

Articles i Manuscrit derivats de la tesi:

- Not A, Saludes V, Gálvez M, Miralpeix A, Bordoy AE, González N, González-Gómez S, Muntané L, Reyes-Urueña J, Majó X, Colom J, Forns X, Lens S, Martró E. Usefulness of dried blood spot samples for monitoring hepatitis C treatment outcome and reinfection among people who inject drugs in a test-and-treat program. J Med Virol. 2023 Feb;95(2):e28544. doi: 10.1002/jmv.28544. (**Article I**)
- Antuori A, Not A, Mesías-Gazmuri J, González V, Montoro-Fernandez M, Folch C, Saludes V, Villar M, Meroño M, Paytubi S, Alemany L, SexCohort Group, Casabona J, Martró E. High hepatitis B prevalence and vaccination needs among transgender women and men sex workers in Barcelona, Spain. Doi: 10.1093/ofid/ofae410. Acceptat a la revista Open Forum Infectious Diseases, el 10 de juliol de 2024. (**Article II**)
- Not A, Ouaarab-Essadek H, Montoro M, Treviño B, Buti M, Morillas RM, Bordoy AE, Folch C, Majó X, Casabona J, Gómez i Prat J, Martró E. Hepatitis B and C screening and linkage to care in migrants from endemic countries in Barcelona through a community action (en redacció). (**Manuscrit I**)

Check for updates

Received: 2 December 2022 | Accepted: 30 January 2023

DOI: 10.1002/jmv.28544

RESEARCH ARTICLE

JOURNAL OF MEDICAL VIROLOGY WILEY

Usefulness of dried blood spot samples for monitoring hepatitis C treatment outcome and reinfection among people who inject drugs in a test-and-treat program

Anna Not[1,2] | Verónica Saludes[1,3] | Mont Gálvez[4,5] | Anna Miralpeix[4,5] | Antoni E. Bordoy[1] | Noemí González[6] | Sara González-Gómez[1] | Laura Muntané[1] | Juliana Reyes-Urueña[3,7] | Xavier Majó[8] | Joan Colom[8] | Xavier Forns[4,5,9] | Sabela Lens[4,5,9] | Elisa Martró[1,2,3]

[1]Microbiology Department, Laboratori Clínic Metropolitana Nord, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Institut d'Investigació Germans Trias i Pujol (IGTP), Badalona, Spain

[2]Genetics and Microbiology Department, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Bellaterra, Spain

[3]Biomedical Research Networking Centre in Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

[4]Liver Unit, Hospital Clínic, Barcelona, Spain

[5]Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain

[6]REDAN La Mina. Parc de Salut Mar, Barcelona, Spain

[7]Center for Epidemiological Studies on HIV/AIDS and STIs of Catalonia (CEEISCAT), ASPCAT, Barcelona, Spain

[8]Program for the Prevention, Control and Care of HIV, Sexually Transmitted Infections and Viral Hepatitis, Agència de Salut Pública de Catalunya (ASPCAT), Barcelona, Spain

[9]Biomedical Research Networking Centre in Liver and Digestive Diseases (CIBEREHD), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

Correspondence
Elisa Martró, Microbiology Department, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Germans Trias i Pujol Research Institute (IGTP), Badalona, Spain.
Email: emartro@igtp.cat

Abstract

Dried blood spots (DBS) are a reliable tool to diagnose viremic hepatitis C virus (HCV) infection. We evaluated the clinical performance of a DBS-based molecular assay for the assessment of cure and reinfection after on-site treatment at a harm reduction center (HRC). Genotyping from DBS samples was also assessed to discriminate reinfection from treatment failure. People who inject drugs (PWID) from an ongoing test-and-treat pilot at the largest HRC in Barcelona were included in the study. HCV-RNA detection from DBS collected after treatment (with follow-up at 12, 36, and 60 weeks) was compared with a molecular point-of-care test using finger-stick blood (GeneXpert). Baseline and follow-up DBS samples were genotyped by NS5B sequencing or commercial real-time PCR. Among treated patients, 193 follow-up DBS samples were tested. The DBS-based assay showed 100% specificity (129/129), and sensitivity ranged from 84.4% to 96.1% according to different viral load cut-offs (from detectable to 3000 IU/mL). Sensitivity as test of cure (follow-up 12) ranged from 85.1% to 97.4%. Among the 64 patients with recurrent viremia, 10.9% had low viral loads (≤1000 IU/mL); HCV genotyping allowed us to classify 73.5% of viremic cases either as reinfection or as treatment failure. DBS samples are useful to assess cure and differentiate reinfection from relapse after HCV antiviral treatment in the real world, facilitating decentralization of treatment and posttreatment follow-up in PWID. However, a fraction of patients presented with low viral loads, limiting viremia detection and genotyping in DBS and, therefore, repeat testing is recommended.

Sabela Lens and Elisa Martró are cosenior authors.

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.
© 2023 The Authors. *Journal of Medical Virology* published by Wiley Periodicals LLC.

10969071, 2023, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.28544 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [16/02/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

Funding information
Gilead Sciences; Instituto de Salud Carlos III / European Social Fund; Direcció General de Recerca, Generalitat de Catalunya

KEYWORDS
dried blood spots, HCV, people who inject drugs, point-of-care test, reinfection, sustained virological response

1 | INTRODUCTION

The World Health Organization (WHO) has set the main programmatic targets of reaching 90% diagnosis and 80% treatment rates by 2030 in the effort to eliminate hepatitis C virus (HCV) infection as a major public health problem.[1] Spain, has improved treatment rates remarkably since the approval of the Strategic Plan for Tracking Hepatitis C in the National Health System in 2015[2] and is one of the countries that may achieve the 2030 targets.[3] In 2019 a study by the Spanish Ministry of Health estimated that 29.4% of viremic individuals in the population attending primary care were unaware of their infection.[4] However, this figure remains unknown for certain populations who are at a higher risk for HCV infection or who seldom attend primary care.

People who inject drugs (PWID) are an important population at risk for HCV infection as intravenous drug use remains the main route of transmission among newly reported cases in Europe (44.0%).[5] The burden of HCV infection is considerable among PWID, with an estimated prevalence of viremic infection of over 39.2%, representing 6.1 million people who have recently injected drugs.[6] Accordingly, an absolute annual HCV incidence rate of ≤2 cases per 100 in PWID has recently been established as the elimination target.[7] However, access to diagnosis and treatment among PWID has historically been low because of the barriers to access to mainstream healthcare services, including poor predisposition and stigmatization.[8,9]

For all of these reasons, decentralization of both diagnosis and treatment is of utmost importance when approaching the PWID population, and has been shown to yield comparable cure rates to specialist care in a variety of settings.[10] In this sense, minimally invasive dried blood spot (DBS) sampling by finger prick has been shown to be a useful tool for increasing access to HCV testing and linkage-to-care.[11] DBS are relatively easy to collect, even by non-healthcare personnel,[12] and can be shipped to the laboratory for testing via regular post.[13] Furthermore, in populations with difficult venous access, such as PWID, DBS sampling is more acceptable than venipuncture.[14] Accumulated evidence shows that HCV-RNA detection from DBS has an excellent diagnostic accuracy with 97% sensitivity (95% CI: 95%–98%) and 100% specificity (95% CI: 98%–100%).[15] While the lower limit of detection (LLoD) of DBS-based HCV-RNA assays varies from assay to assay,[15] an LLoD of 1318 IU/mL would identify 97% of viremic HCV infections.[16] Additionally, a highly-sensitive molecular point-of-care (PoC) assay using finger-stick blood has recently become commercially available (Xpert HCV VL Fingerstick assay, Cepheid; hereafter, Xpert VL FS), facilitating test-and-treat strategies[17] as results are available within an hour. However, data on the diagnostic accuracy of DBS for the evaluation of sustained virological response 12 weeks after treatment (SVR12) and for detecting reinfection after cure is scarce.[15,17] Reinfection after HCV treatment is frequent in active PWID given that risk practices are often maintained.[18–20] If recurrent viremia is detected, HCV genotyping by sequencing and phylogenetic analysis helps to discriminate reinfection from treatment failure and facilitates administration of the appropriate retreatment regimen.[21] In decentralized treatment programs this could be achieved by using DBS samples, which are suitable for HCV genotyping by sequencing.[22]

Previously, we have evaluated the use of a DBS-based HCV-RNA assay and the Xpert VL FS PoC test for the diagnosis of viremic HCV infection in harm reduction centers (HRC) in Catalonia.[23,24] The aim of the current study was to evaluate the clinical performance of this DBS-based assay for the assessment of SVR12 and the detection of recurrent viremia after on-site treatment at an HRC, in comparison with the Xpert VL FS test. Additionally, the feasibility of differentiating between reinfection and treatment failure through HCV genotyping from baseline and follow-up (FU) DBS samples was also assessed.

2 | METHODS

2.1 | Study participants

This prospective study was performed on a subset of participants from an ongoing test-and-treat pilot study in PWID accessing an urban HRC (REDAN La Mina) in Barcelona who received treatment with direct acting antivirals (DAA) under written informed consent.[25] Eligible patients for this analysis included those for which DBS samples were available before and after treatment from January 2019 to September 2021. All available FU DBS samples were included for each participant, that is, either after the first, or subsequent courses of treatment. The retreatment regimen was selected on a case-by-case basis in light of HCV genotyping results, previous treatment duration and adherence. The study was approved by the institutional Ethics Board at Hospital Clínic, Barcelona (HCB/2018/0755 and HCB/2019/0783).

2.2 | PoC HCV-RNA testing

HCV viral load was assessed at baseline (before antiviral treatment) and at several time points after the end of treatment: 12 weeks (FU12) to assess SVR12 (negative HCV-RNA 12 weeks after the end of treatment), and every 6 months thereafter (FU36, FU60) to detect cases with recurrent viremia. Fresh finger-stick capillary whole blood (100 µL) was used according to manufacturer's instructions of the CE-IVD marked HCV-RNA assay Xpert VL FS run on a four-module GeneXpert System (Cepheid) operated by the study nurse (LLoD, 35 IU/mL; lower limit of quantification [LLoQ], 100 IU/mL).

10969071, 2023, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.28544 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [16/02/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

2.3 | DBS sample collection and storage

Finger-stick capillary blood was obtained using safety lancets Super (Safety-Lancet Super; Sarstedt AG & Co. KG). Capillary blood was collected with one 200 µL EDTA coated Minivette (Sarstedt) and then spotted onto four 12 mm (50 µL) spots of a paper card (CF12; GE Healthcare Europe GmbH). Spotted cards were air dried for at least 1 h or until visually dry, and then stored with desiccant incorporating a humidity indicator (GE Healthcare Europe GmbH) in individual pouches. DBS samples were kept at room temperature (approximately 20–25°C) until shipped at least once a month to the central laboratory (Microbiology Service; Northern Metropolitan Clinical Laboratory, at Germans Trias i Pujol University Hospital). FU DBS samples were kept at room temperature (approximately 20–25°C) until HCV-RNA testing (within 1 month from collection). The stability of low HCV-RNA levels (1000 IU/mL) in DBS stored at room temperature had been previously confirmed to be good (coefficient of variation, 0.026) for at least 67 days according to previous results in our setting.[26] Baseline DBS samples were stored at −80°C and only tested if participants had recurrent HCV viremia.

2.4 | HCV-RNA testing in DBS

Nucleic acids were extracted from DBS samples (two spots) using either EasyMag (bioMérieux), which was used during the first period (until June 2020) and Abbott m2000*sp* (Abbott Molecular Inc.), which was used thereafter. A previously developed in-house single-step reverse-transcription real-time PCR (RT-PCR) assay with a LLoD of 541 IU/mL of whole blood was used.[26] An unrelated internal control RNA was added to each sample, and positive and negative controls were included in each run.

2.5 | HCV genotyping from DBS

For participants who had recurrent HCV viremia during FU, paired baseline and FU DBS samples were subjected to HCV genotyping by sequencing and phylogenetic analysis as previously described[24] to distinguish reinfection from relapse. Briefly, previously DBS-extracted nucleic acids were reverse-transcribed, and a fragment of the NS5B region was amplified by nested-PCR, purified, and subjected to bidirectional Sanger sequencing. The consensus sequences obtained were aligned together with reference sequences and a Maximum Likelihood phylogenetic tree was obtained using a General Time Reversible model (GTR + G + I) and 500 bootstrap replicates. Nucleotide sequences were submitted to GenBank (accession numbers OQ296060-OQ296140). To obtain genotyping information from as many DBS samples as possible, when Sanger sequencing was not possible due to low viral loads or suspected mixed-type infections, the commercial RT-PCR assay Abbott RealTi*me* HCV Genotype II (Abbott Laboratories; Abbott Park) was used using RNA eluates from DBS. It was out of the scope of this study to determine the LLoD of this commercial assay when using DBS samples instead of plasma.

2.6 | Rapid HIV testing

All participants were tested for HIV-1 antigen and antibodies against HIV-1/2 using the Determine™ HIV Early Detect rapid detection test (Abbott).

2.7 | Data analyses

The sensitivity and specificity of the DBS-based assay were assessed in comparison with the results from the Xpert VL FS assay, which was used as the reference method, considering all positive results above its LLoD, either quantifiable or not (detectable threshold). Sensitivity was also assessed using three additional viral load thresholds: quantifiable ≥100 IU/mL (viral load equal or above the LLoQ of the reference method), quantifiable ≥1000 IU/mL (according to the recommendations to broaden access to HCV diagnosis and care[21]), and quantifiable ≥3000 IU/mL (according to guidelines for improving access to and affordability of HCV diagnostics[1]). The 95% CI were calculated using the Wilson score method with OpenEpi software (v3.01).[27] For detectable HCV-RNA results, agreement with the reference method was assessed by the Cohen's κ coefficient. Baseline and FU viral loads were compared using the *t*-test for paired samples. Statistical analysis was performed using RStudio software (v1.4.1717).

3 | RESULTS

3.1 | Study population characteristics

A total of 118 treated patients were included in Table 1, and 44 (37.3%) presented with recurrent viremia after treatment. Among the latter, 17 (38.6%) were retreated. Overall, 199 FU DBS samples were obtained from these patients, including FU12 ($n = 103$), FU36 ($n = 59$), and FU60 ($n = 37$).

The average age was 42 (range: 35–48) and they were mostly male (88%). Foreign-born participants accounted for 42%; 32% were homeless and 60% had been in prison at least once. Drug injection at least once a day over the previous 6 months was reported by 71%, sharing syringes by 23% and sharing other injecting paraphernalia by 36%. Having been under opioid substitution therapy at some time was reported by 50%. A previous HCV diagnosis was reported by 75% of participants, but only 25% of these had received antiviral therapy. HIV coinfection was detected in 23% of participants and 59% of them were on antiretroviral therapy.

3.2 | Clinical performance of the DBS-based assay for HCV-RNA detection after treatment

A technical error occurred during RNA extraction in 6/199 (3.0%) DBS samples, which were excluded from subsequent analyses.

10969071, 2023, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.28544 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [16/02/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

TABLE 1 Baseline characteristics of the population included in the study.

Variables	Patients (*N* = 118)
Age (years)	42 (35–48)
Male	104 (88)
Foreign nationality	50 (42)
Homeless	38 (32)
Family support	76 (64)
Unemployment	151 (65)
Previously incarcerated[a]	71 (60)
Educational level	
None	2 (2)
Primary education	50 (42)
Secondary education	30 (25)
Highschool	10 (8)
University degree	16 (14)
Vocational training	10 (8)
Healthcare system attendance	
Primary care	42 (36)
Hospital	25 (21)
Drug injection previous 6 months	
More than once/day	68 (58)
Once/day	15 (13)
Weekly	16 (14)
Less than weekly	14 (12)
None	5 (4)
Drug consumption previous 6 months	
Cocaine	104 (88)
Heroin	102 (86)
Cannabis	66 (56)
Speedball	80 (68)
Syringe sharing previous 6 months	19 (23)
Paraphernalia sharing previous 6 months	42 (36)
Risk sexual relationships previous 6 months[b]	48 (44)
Alcohol consumption previous 6 months	40 (34)
Opioid substitution therapy	59 (50)
HIV positive	27 (23)
Antiretroviral therapy among HIV positive	16/27 (59)
Previous HCV diagnosis	89 (75)
Previous HCV antiviral therapy	22/89 (25)
Baseline Fibroscan® (kPa)	6 (5–7.5)
Advanced fibrosis (≥9.5 kPa)	12 (10)
HCV antiviral treatment regimen	
Sofosbuvir/velpatasvir (12 weeks)	65 (55)
Glecaprevir/pibrentasvir (8 weeks)	53 (45)

Note: Qualitative variables are expressed as *n* (%) and quantitative variables as median (P25–P75).

Abbreviation: HCV, hepatitis C virus.

[a]Available in *n* = 115.

[b]Available in *n* = 108. The remaining patients declined to answer or answered "unknown."

TABLE 2 Performance of the DBS-based assay when detecting HCV-RNA after treatment (FU12, FU36, and FU60) in comparison with the gold standard.

		Xpert VL FS[a] at FU12, FU36, and FU60		
Assay		Positive	Negative	Total
DBS[b]	Positive	54	0	54
	Negative	10	129	139
	Total	64	129	193
		Xpert VL FS[a] at FU12		
		Positive	Negative	Total
DBS[b]	Positive	40	0	40
	Negative	7	54	61
	Total	47	54	101

Abbreviations: DBS, dried blood spots; HCV, hepatitis C virus; LLoD, lower limit of detection.

[a]LLoD, 35 IU/mL.

[b]LLoD, 541 IU/mL.

Therefore, 193 DBS samples corresponding to FU12, FU36, and FU60 were successfully tested for HCV-RNA. The agreement between the DBS-based test and the Xpert VL FS assay was strong ($\kappa = 0.87$). The diagnostic accuracy of the DBS assay was 94.8% (183/193; 95% CI: 90.7%–97.2%). Specificity was 100% (129/129; 95% CI: 97.1%–100%), as no false positive result was obtained. The sensitivity of the DBS assay for HCV-RNA levels detectable by the Xpert VL FS assay was 84.4% (54/64; 95% CI: 73.5%–91.3%) (Table 2). There were 10 cases with a positive PoC test that tested negative in DBS (Figure 1); 5 cases had viral loads around or below the LLoD of the DBS-based assay (<100 in 2 cases, and 116, 219, and 588 IU/mL in the remaining) and the rest of viral loads were above it (993, $1.29 \times 10,^3$ $1.61 \times 10,^3$ $4.95 \times 10,^3$ 4.14×10^4 IU/mL). When taking into consideration the thresholds set by the EASL (1000 IU/mL)[28] and the WHO (3000 IU/mL)[1] for improved access to testing, sensitivity increased to 93.0% and 96.1%, respectively (Table 3).

10969071, 2023, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.28544 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [16/02/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

3.3 | Clinical performance of the DBS-based assay for SVR12 assessment

When focusing just on SVR12 assessment (i.e., using the DBS assay as a test for cure), a technical error with the automated extractor led to loss of DBS samples for 2 patients. RT-PCR results were obtained for 101/103 FU12 DBS samples from 64 patients, 91 (90.1%) of them obtained after the first antiviral treatment course at the HRC, and the rest after subsequent retreatment. The agreement between both HCV-RNA assays was strong ($\kappa = 0.85$). The diagnostic accuracy of the DBS-based assay was 93.1% (95% CI: 86.4%–96.6%). The specificity was 100% (54/54; 95% CI: 93.4%–100%), and the sensitivity was 85.1% (40/47, 95% CI: 72.3%–92.6%) for detectable HCV-RNA levels (Table 2). Eight cases were not detected by the DBS assay, they showed low viral loads with a median of 790.5 IU/mL (range: 116–4.95×10^3 IU/mL) and one detectable but not quantifiable viremia. When considering the 1000 and 3000 IU/mL thresholds sensitivity increased to 93.0% and 97.4%, respectively (Table 3).

Among those study participants with positive viremia after treatment viral loads at FU12 were significantly lower than at baseline, with a mean difference of −0.83 Log_{10}(IU/mL) and a range of −2.43 to 3.84 Log_{10}(IU/mL) ($p = 0.001$) (Figure 1). On the other hand, differences between viral loads at FU12 and subsequential visits (FU36, FU60) were not significant (Figure 2); the median viral load of the 47 cases with quantified results by the Xpert VL FS assay at FU12 was 5.12 Log_{10}(IU/mL) (range: 2.06–7.22; IQR: 4.10–6.06 Log_{10}[IU/mL]) and 4.87 Log_{10}(IU/mL) (range: 2.60–7.08 Log_{10}[IU/mL]; IQR: 3.85–5.73 Log_{10}[IU/mL]) for the 21 cases with quantifiable results at FU36 and FU60.

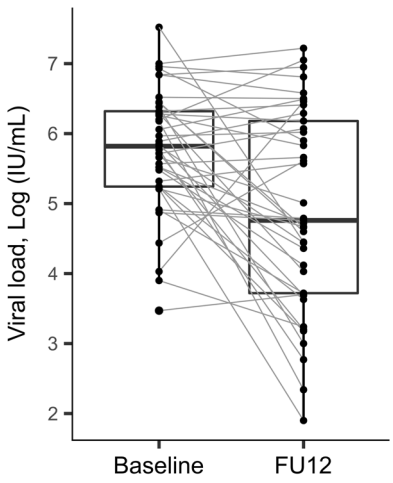


FIGURE 1 HCV viral loads at FU12 in comparison with baseline levels. FU12, follow-up week 12 after the end of treatment; HCV, hepatitis C virus.

3.4 | HCV genotyping from DBS before and after treatment

For the 64 patients with recurrent viremia after treatment, HCV genotyping was performed from paired baseline and FU DBS samples (Figure 3). At FU12, 89% (42/47) of the samples were successfully genotyped. Among those genotyped by sequencing ($n = 34$), mixed-type infections were suspected in 4 cases, which were subsequently confirmed

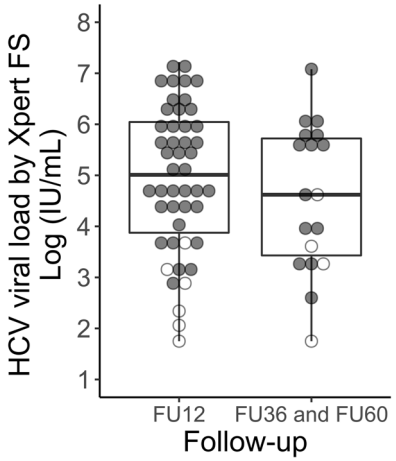


FIGURE 2 HCV-RNA detection by the DBS-based assay at FU12, FU36, and FU60 according to viral load levels by the gold standard method. Full circles represent cases with an HCV-RNA positive result on DBS. Open circles represent cases with an HCV-RNA negative result on DBS, including two cases that were detectable but not quantifiable <2 Log_{10}(IU/mL). DBS, dried blood spots; HCV, hepatitis C virus.

TABLE 3 Sensitivity of the DBS-based assay according to viral load levels detected after treatment.

	Detected by the DBS assay[a]			
	FU12, FU36, and FU60		FU12	
HCV viral load threshold by Xpert VL FS	Proportion	% (95% CI)	Proportion	% (95% CI)
Detectable[b]	54/64	84.4 (73.6–91.3)	40/47	85.1 (72.3–92.6)
Quantifiable ≥ 100 IU/mL	54/62	87.1 (76.6–93.3)	40/46	87.0 (74.3–93.9)
Quantifiable ≥ 1000 IU/mL	53/57	93.0 (83.3–97.2)	40/43	93.0 (81.4–97.6)
Quantifiable ≥ 3000 UI/mL	49/51	96.1 (86.8–98.9)	38/39	97.4 (86.8–99.6)

Abbreviations: DBS, dried blood spots; FU, follow-up; HCV, hepatitis C virus; LLoD, lower limit of detection.

[a]LLoD, 541 IU/mL.

[b]LLoD, 35 IU/mL.

10969071, 2023, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.28544 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [16/02/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

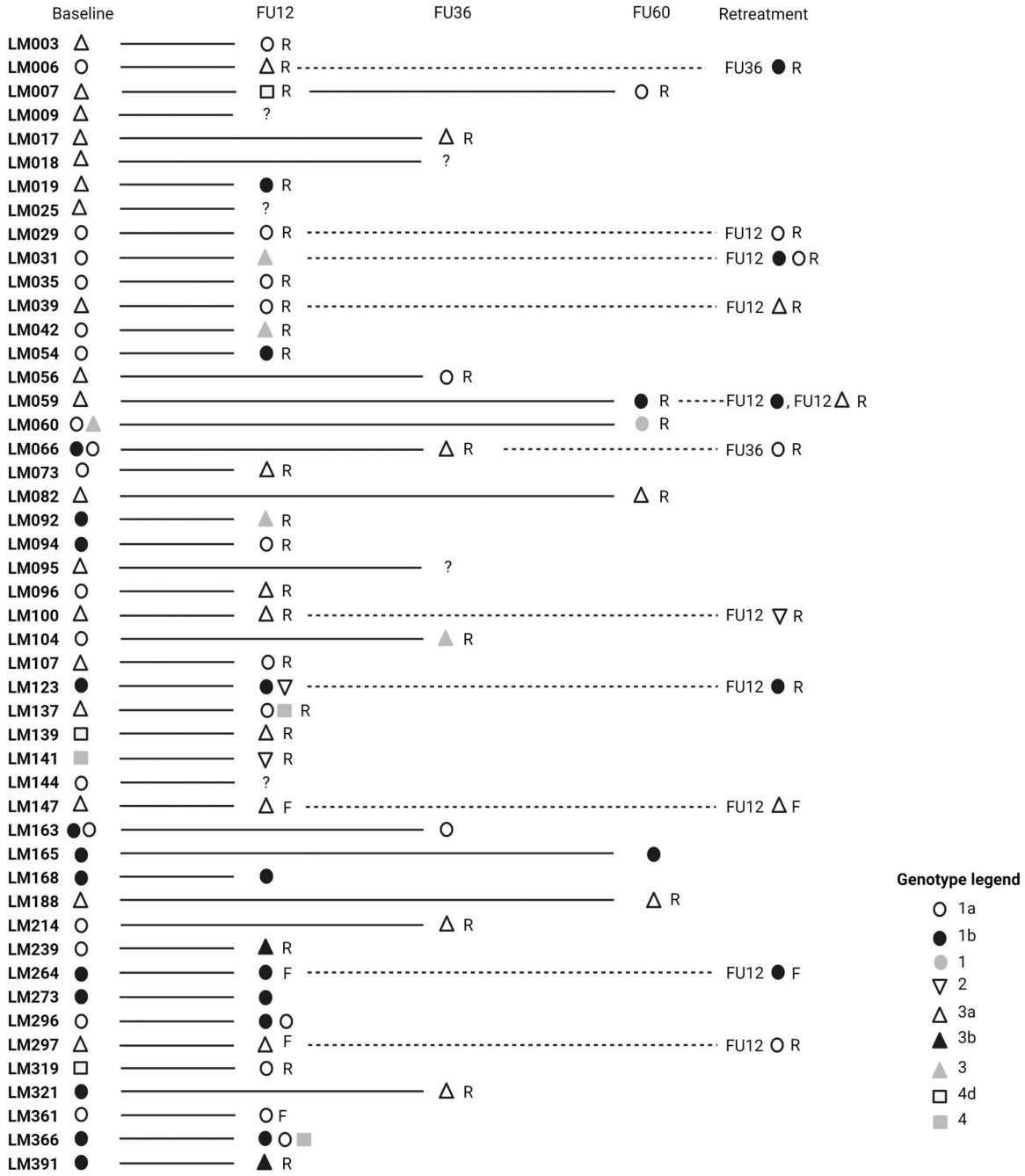


FIGURE 3 HCV genotypes observed in DBS samples obtained at baseline and at the time of detected recurrent viremia after treatment. For each patient (identified by "LM" followed by a number), the HCV genotype/subtype detected at baseline and either after treatment (FU, follow-up week: 12, 36, or 60) or after retreatment are shown. Results showing the HCV genotype with no subtype assigned were obtained by the real-time PCR assay. Question marks indicate non-genotypable samples. Patients with reinfection (R) and with treatment failure (F) are indicated; patients LM147 and LM264 failed to respond to two treatment courses. The rest could not be classified from genotyping results. DBS, dried blood spots; HCV, hepatitis C virus.

by the commercial RT-PCR assay (2 + 1b, 1a + 4, 1a + 1b, and 1a + 1b + 4). The rest were directly genotyped by the commercial RT-PCR assay. In subsequent time-points (FU36 and FU60), 82.4% (14/17) of the DBS samples were successfully genotyped, 10 by sequencing and 4 by RT-PCR. Overall, the most frequent subtypes found after treatment were 3a (26.8%, 15/56) followed by 1a and 1b (23.2%, 13/56, for both subtypes), and mixed-type infections were detected in 7.1% of the cases.

3.5 | Identification of treatment failure versus reinfection from HCV genotyping data

For each patient, the cause of recurrent viremia was inferred from genotyping data of baseline versus FU DBS samples. Among those cases that were HCV-RNA positive by Xpert VL FS at FU12 ($n = 47$, either after the first treatment or subsequent

10969071, 2023, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.28544 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [16/02/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

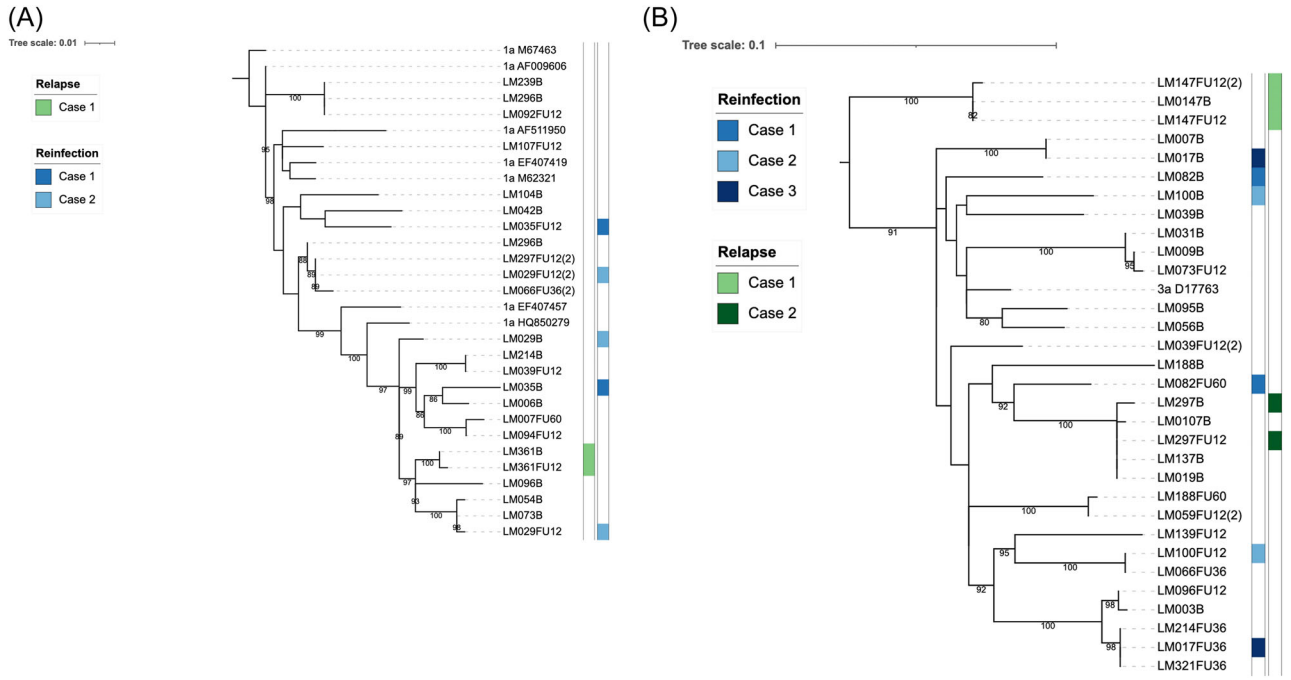


FIGURE 4 Maximum likelihood phylogenetic subtrees of the NS5B region. (A) Subtype 1a. (B) Subtype 3a. Examples of HCV sequences obtained from patients with reinfection (same subtype, different isolate) and relapse (same isolate) are shown in color. Sequences are identified with the patient ID (LM followed by a number) and the time point (B, baseline; FU, follow-up) and the number of weeks after the end of treatment (12, 36, or 60). FU sequences obtained after a second treatment are indicated with "(2)." The bar indicates the number of substitutions per nucleotide position. Bootstrap values are shown for those nodes with a value over 75%. Reference sequences are identified with the HCV subtype and the GenBank accession number. HCV, hepatitis C virus.

retreatment), 13 (27.7%) were either not genotypable or not classifiable (the same genotype/subtype was found in both samples by RT-PCR, and no sequence could be obtained for phylogenetic analysis). Among the rest, early reinfection was identified in 28 cases (7/28 [25%] of them with the same subtype as at baseline), and treatment failure in 6 (4 patients, with 2 of them showing virological failure both after the first treatment and after retreatment). In subsequent time-points (FU36 and FU60), 4/17 (23.5%) cases were either not genotypable or not classifiable, while reinfection was identified in all genotyped cases (13/13, with the same HCV subtype detected before and after treatment in 30.8% of these).

Given that reinfection with the same HCV subtype as that observed at baseline was frequent, treatment failure could only be reliably identified by sequencing and phylogenetic analysis. Figure 4 shows several examples in which the same subtype was detected both at baseline and at FU, differentiating those cases with reinfection (when the FU isolate was not closely related to the baseline one) from those with treatment failure (when the same isolate was found both at baseline and at FU). Phylogenetic analysis also evidenced that HCV isolates sequenced from certain reinfected participants were often phylogenetically related to other sequenced viremic study participants (22/40, 55.0%; data not shown).

4 | DISCUSSION

This study demonstrates the usefulness of HCV-RNA detection and genotyping from DBS samples for the assessment of HCV cure as well as differentiating early reinfection from relapse after antiviral treatment in PWID at an HRC. This is especially relevant as it may facilitate treatment decentralization and reinfection FU, in agreement with recommendations on simplification of care pathways to overcome HCV testing and treatment barriers in PWID.[29]

Regarding HCV-RNA detection after antiviral treatment (FU12, FU36, and FU60), the DBS assay assessed here showed a good real-world clinical performance when considering the 3000 IU/mL cut-off (96.1% sensitivity and 100% specificity). These results align with a previous study in the same PWID population when DBS were used for HCV diagnosis (98.3% sensitivity and 100% specificity vs. the Xpert HCV Viral Load test in plasma).[24] A LLoD ≤3000 IU/mL would identify 95% of viremic infections and was recommended by the WHO for improving access to and affordability of HCV diagnosis.[1] The EASL HCV treatment guidelines recommended a more restrictive LLoD (≤1000 IU/mL) for HCV diagnosis of acute and chronic infection and reinfection using qualitative HCV-RNA assays or PoC tests to broaden access to diagnosis and care.[21] When considering the latter cut-off, sensitivity of the DBS-based assay decreased to 93.0%, as 10.9% of the cases had viral loads below 1000 IU/mL. This

10969071, 2023, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.28544 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [16/02/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

level of sensitivity is lower than that found in a recent meta-analysis of diagnostic accuracy of DBS-based assays (97% for HCV-RNA detection and 98% for quantification).[15] However, we assessed accuracy in a DAA test-and-treat context and, therefore, results are not directly comparable. Stability of HCV-RNA on DBS stored at room temperature has yielded controversial results,[30] and it could be argued that the observed differences in sensitivity could have been due to HCV-RNA degradation due to storage at room temperature of FU DBS samples until testing. While the internal control RNA, added at the nucleic acid extraction step, did not monitor for RNA degradation from sample collection to processing, we had previously shown that low levels of HCV-RNA (1000 IU/mL) are stable under these conditions in our setting for at least 67 days.[26] Furthermore, in this study we monitored blood quantity (by using Minivette devices) and quality (by using desiccant with humidity indicator) of collected DBS before testing. Therefore, in our opinion, the lower sensitivity in this study compared with the meta-analysis mentioned above is not related to the methods used.

When focusing on SVR12 assessment, that is, using the DBS-based assay as a test of cure, sensitivity was 97.4% and 93.0% when considering the 3000 and 1000 IU/mL thresholds, respectively. The EASL HCV treatment guidelines support the use of qualitative HCV-RNA assays with a LLoD ≤1000 IU/mL to assess the endpoint of therapy.[21] We observed that PWID with recurrent viremia at FU12 (frequently due to early reinfection) showed significantly lower viral loads than at baseline. This fact hampered viremia detection and HCV genotyping from DBS. While our DBS-based assay (LLoD of 541 IU/mL) would fulfill EASL recommendations, 8.5% of viremic cases (including both reinfections and treatment failures) showed viral loads ≤1000 IU/mL at FU12. Similarly, a recent study[31] found that a test with an LLoD of 1000 IU/mL would miss 10% of treatment failure cases due to low-level viremia. Interestingly, this proportion was lower when considering clinical trial registries (3%) versus observational databases, stressing the relevance of taking real-world data into consideration. That study concluded that a LLoD of 227 IU/mL would be necessary to detect 95% of viremic cases at SVR12. As several PoC HCV-RNA assays are becoming available, updated WHO recommendations on simplified service delivery and diagnostics now include the possibility of using PoC HCV-RNA assays with a comparable LLoD to laboratory-based assays as a test of cure.[29] Most currently available laboratory-based assays have a LLoD ≤30 IU/mL[32] while the LLoD of the first CE-IVD marked HCV viral load test is 462 IU/mL.[33] Additional recommendations regarding the use of DBS-based assays as test for cure are required, for which the present study adds valuable evidence. The use of decentralized collection of DBS could help overcome the difficulties in SVR12 testing commonly experienced in real world elimination programs targeting PWID.[12]

Several factors could have contributed to the proportion of low viral loads observed after antiviral treatment in our study population. First, recurrent viremia was often due to early detected reinfections and frequent fluctuations in viremia and even brief interludes of undetectable viral load may be observed during acute infection.[21] Low viral loads have also been associated to liver cirrhosis, which could be related to heavy alcohol consumption among PWID, and could hamper HCV replication in the liver.[34,35] Finally, low viral loads in the context of reinfection could be due to the development of an adaptive immunity during previous HCV infections.[36]

Besides HCV-RNA detection, DBS samples have proved useful for HCV genotyping facilitating the decentralized diagnosis of HCV infection.[12,37] However, few studies have used DBS samples to assess cure after antiviral treatment[38] and, to our knowledge, no studies have used DBS to distinguishing reinfection from treatment failure. As reinfection is a critical risk to assess HCV elimination, integrating strategies for the early detection of reinfection is of utmost importance.[39] HCV reinfection post-SVR is especially common among people recently injecting drugs, estimated at 6.2/100 person-years (95% CI: 4.3–9.0) in a recent meta-analysis,[40] and 31/100 person-years in the test-and-treat program associated with this study (independently associated to HIV coinfection and daily drug injection).[25] Among the participants included here, HCV genotyping from DBS enabled us to classify 72.3% of the cases with recurrent viremia, either as reinfection or treatment failure. In those cases with low viral loads at SVR12 genotyping by sequencing and phylogenetic analysis is often not possible, although commercial assays may be more sensitive. However, the detection of the same genotype/subtype in baseline and SVR12 samples with these commercial assays does not necessarily mean treatment failure, as reinfection with a different isolate from the same subtype cannot be ruled out (25% of subtyped cases in our study). In case of low viral load, a second DBS sample may be obtained 1 month later to check whether the viral load has increased and can be sequenced, or infection has cleared.

The phylogenetic analysis of HCV sequences obtained from DBS samples did not only allow us to distinguish reinfection from treatment failure but also to identify those study participants who were epidemiologically related to other participants (showing identical or closely related HCV sequences). These results evidence the need for improved harm reduction measures and the possible usefulness of the "treat your friends" strategy[41] (treating persons in the same injecting network at the same time) to minimize reinfection and improve treatment efficiency.

The main limitation of this study is that a reduced number of FU DBS samples obtained from a single HRC were tested. This center cares for a highly marginalized PWID population with high-risk practices, high rates of unemployment, homelessness, and incarceration and a significant proportion of migrants with low levels of economic resources and family support. Given the high rates of early reinfection after treatment, comparability of obtained results with those from other centers may be limited. Therefore, additional studies are needed to confirm these results with a larger sample size and also using commercial viral load assays validated for DBS samples.

In conclusion, HCV-RNA detection and genotyping from DBS has been shown to be useful for assessing cure and differentiating reinfection from relapse after HCV antiviral treatment in the real

10969071, 2023, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.28544 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [16/02/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

world, thus facilitating the choice of the retreatment regimen in PWID attending a test-and-treat program at an HRC. However, a fraction of patients presented with low viral loads after antiviral treatment, and a few of them were missed by DBS testing. Therefore, the balance needs to be found between the convenience of reaching more people for HCV-RNA monitoring with a DBS-based assay (which may have a lower analytic sensitivity but a higher accessibility than standard laboratory-based assays) and the risk of missing a few patients with low-level recurrent viremia. While these cases might reflect acute infections that may be spontaneously cleared, repeat testing over time would be required to identify all viremic cases. Given that the ECDC advised retesting up to every 6 months for those PWID at ongoing risk, or more frequently depending on local HCV prevalence/incidence,[42] repeat testing should be reinforced in test-and-treat programs caring for this population at high-risk for reinfection. Innovative testing methods, either with molecular PoC tests or DBS samples, might allow patients to be maintained in care more efficiently by minimizing posttreatment visits to centralized clinics.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank all the participants who kindly participated in the present study, and the staff members at the harm reduction center involved in the study. Additionally, they thank the Translational Genomics Unit at Germans Trias i Pujol Research Institute (IGTP), and Harvey Evans for English style corrections. The study was funded by the Conquering Hepatitis Via Microelimination program (CHIME) by Gilead Sciences (IN-ES-987-5349). The funding body had no role in study design, data collection, data analysis, data interpretation, or writing of the report. The Germans Trias i Pujol Research Institute (IGTP) and the Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS) have received support from the CERCA Program/Generalitat de Catalunya. A. N. holds a PFIS grant (Ref. FI20/00211, Instituto de Salud Carlos III, Fondo Social Europeo).

CONFLICTS OF INTEREST STATEMENT

V. S. travel sponsorship to attend scientific meetings from Gilead Sciences and Cepheid. X. F. has acted as advisor for Gilead and Abbvie. S. L. received lecture and advisory fees from Gilead and Abbvie, and research grants from Gilead. E. M. received lecture fees and research grants from Abbott GmbH & Co. KG, Gilead, Cepheid and Abbvie, and advisory fees from Gilead.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

Individual data is not public but will available upon reasonable request. The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

ETHICS STATEMENT

This study was approved by the institutional Ethics Board at Hospital Clínic, Barcelona (HCB/2018/0755 and HCB/2019/0783), and participants provided written informed consent.

ORCID

Elisa Martró http://orcid.org/0000-0002-2867-6649

REFERENCES

1. World Health Organization. *Guidelines for the Care and Treatment of Persons Diagnosed with Chronic Hepatitis C Virus Infection*. WHO; 2018.
2. Teixidor JR, Albillos Martinez A, Luis A, et al. Strategic plan for tackling hepatitis C in the Spanish National Health System. https://www.sanidad.gob.es/gl/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/hepatitisC/PlanEstrategicoHEPATITISC/docs/PEAHC_eng.pdf
3. Razavi H, Sanchez Gonzalez Y, Yuen C, Cornberg M. Global timing of hepatitis C virus elimination in high-income countries. *Liver Int*. 2020;40(3):522-529.
4. Estirado Gómez A, Justo Gil S, Limia A, et al. Prevalence and undiagnosed fraction of hepatitis C infection in 2018 in Spain: results from a national population-based survey. *Eur J Pub Health*. 2021;31(6):1117-1122.
5. European Centre for Disease Prevention and Control. Hepatitis C. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2017. Stockholm: ECDC; 2019. https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER_for_2017-hepatitis-C.pdf
6. Grebely J, Larney S, Peacock A, et al. Global, regional, and country-level estimates of hepatitis C infection among people who have recently injected drugs. *Addiction*. 2019;114(1):150-166.
7. World Health Organization. *Interim Guidance for Country Validation of Viral Hepatitis Elimination*. WHO; 2021. https://www.who.int/publications/i/item/9789240028395
8. Fernàndez-López L, Folch C, Majó X, Gasulla L, Casabona J. Implementation of rapid HIV and HCV testing within harm reduction programmes for people who inject drugs: a pilot study. *AIDS Care*. 2016;28(6):712-716.
9. Grebely J, Hajarizadeh B, Lazarus JV, Bruneau J, Treloar C. Elimination of hepatitis C virus infection among people who use drugs: ensuring equitable access to prevention, treatment, and care for all. *Int J Drug Policy*. 2019;72:1-10.
10. Oru E, Trickey A, Shirali R, Kanters S, Easterbrook P. Decentralisation, integration, and task-shifting in hepatitis C virus infection testing and treatment: a global systematic review and meta-analysis. *Lancet Global Health*. 2021;9(4):e431-e445.
11. Grebely J, Applegate TL, Cunningham P, Feld JJ. Hepatitis C point-of-care diagnostics: in search of a single visit diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn*. 2017;17(12):1109-1115.
12. Soulier A, Poiteau L, Rosa I, et al. Dried blood spots: a tool to ensure broad access to hepatitis C screening, diagnosis, and treatment monitoring. *J Infect Dis*. 2016;213(7):1087-1095.
13. Feld JJ. Hepatitis C virus diagnostics: the road to simplification. *Clinical Liver Dis*. 2018;12(5):125-129.
14. Bajis S, Maher L, Treloar C, et al. Acceptability and preferences of point-of-care finger-stick whole-blood and venepuncture hepatitis C virus testing among people who inject drugs in Australia. *Int J Drug Policy*. 2018;61:23-30.
15. Catlett B, Hajarizadeh B, Cunningham E, et al. Diagnostic accuracy of assays using point-of-care testing or dried blood spot samples for the determination of hepatitis C virus RNA: a systematic review. *J Infect Dis*. 2022;226(6):1005-1021.
16. Freiman JM, Wang J, Easterbrook PJ, et al. Deriving the optimal limit of detection for an HCV point-of-care test for viraemic infection: analysis of a global dataset. *J Hepatol*. 2019;71(1):62-70.
17. Tang W, Tao Y, Fajardo E, et al. Diagnostic accuracy of point-of-care HCV viral load assays for HCV diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *Diagnostics*. 2022;12(5):1255.
18. Cunningham EB, Hajarizadeh B, Amin J, et al. Reinfection following successful direct-acting antiviral therapy for hepatitis C virus

10969071, 2023, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.28544 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [16/02/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

infection among people who inject drugs. *Clin Infect Dis*. 2021;72(8):1392-1400.
19. Midgard H, Weir A, Palmateer N, et al. HCV epidemiology in high-risk groups and the risk of reinfection. *J Hepatol*. 2016;65(1 suppl):S33-S45.
20. Valencia J, Alvaro-Meca A, Troya J, et al. High rates of early HCV reinfection after DAA treatment in people with recent drug use attended at mobile harm reduction units. *Int J Drug Policy*. 2019;72:181-188.
21. Pawlotsky JM, Negro F, Aghemo A, et al. EASL recommendations on treatment of hepatitis C: final update of the series. *J Hepatol*. 2020;73(5):1170-1218.
22. Chevaliez S. Strategies for the improvement of HCV testing and diagnosis. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2019;17(5):341-347.
23. Saludes V, Antuori A, Folch C, et al. Utility of a one-step screening and diagnosis strategy for viremic HCV infection among people who inject drugs in Catalonia. *Int J Drug Policy*. 2019;74:236-245.
24. Saludes V, Antuori A, Lazarus JV, et al. Evaluation of the Xpert HCV VL Fingerstick point-of-care assay and dried blood spot HCV-RNA testing as simplified diagnostic strategies among people who inject drugs in Catalonia, Spain. *Int J Drug Policy*. 2020;80:102734.
25. Lens S, Miralpeix A, Gálvez M, et al. HCV microelimination in harm reduction centres has benefits beyond HCV cure but is hampered by high reinfection rates. *JHEP Reports*. 2022;4(12):100580.
26. Saludes V, Folch C, Morales-Carmona A, et al. Community-based screening of hepatitis C with a one-step RNA detection algorithm from dried-blood spots: analysis of key populations in Barcelona, Spain. *J Viral Hepatitis*. 2018;25(3):236-244.
27. Sullivan KM, Dean A, Soe MM. On academics: OpenEpi: a web-based epidemiologic and statistical calculator for public health. *Public Health Rep*. 2009;124(3):471-474.
28. Pawlotsky JM, Negro F, Aghemo A, et al. EASL recommendations on treatment of hepatitis C 2018. *J Hepatol*. 2018;69(2):461-511.
29. World Health Organization. *Updated Recommendations on Simplified Service Delivery and Diagnostics for Hepatitis C Infection*. WHO; 2022. https://www.who.int/publications/i/item/9789240052697
30. Greenman J, Roberts T, Cohn J, Messac L. Dried blood spot in the genotyping, quantification and storage of HCV RNA: a systematic literature review. *J Viral Hepatitis*. 2015;22(4):353-361.
31. Morgan JR, Marsh E, Savinkina A, et al. Determining the lower limit of detection required for HCV viral load assay for test of cure following direct-acting antiviral-based treatment regimens: evidence from a global data set. *J Viral Hepatitis*. 2022;29(6):474-486.
32. World Health Organization. Hepatitis C diagnostics technology landscape. https://unitaid.org/assets/HepC-Dx-Tech-Landscape_May2019.pdf
33. Abbott. Abbott real time HCV assay specifications. https://www.molecularcatalog.abbott/int/en/Abbott-Realtime-HCV
34. Van Santen DK, Schim Van Der Loeff MF, Cartier Van Dissel J, Martens JPD, Van Der Valk M, Prins M. High proportions of liver fibrosis and cirrhosis in an ageing population of people who use drugs in Amsterdam, The Netherlands. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2018;30(10):1168-1176.
35. Duvoux C, Pawlotsky JM, Bastie A, Cherqui D, Soussy CJ, Dhumeaux D. Low HCV replication levels in end-stage hepatitis C virus-related liver disease. *J Hepatol*. 1999;31(4):593-597.
36. Osburn WO, Fisher BE, Dowd KA, et al. Spontaneous control of primary hepatitis C virus infection and immunity against persistent reinfection. *Gastroenterology*. 2010;138(1):315-324.
37. Chevaliez S, Wlassow M, Volant J, et al. Assessing molecular point-of-care testing and dried blood spot for hepatitis C virus screening in people who inject drugs. *Open Forum Infect Dis*. 2020;7(6):ofaa196.
38. Martinello M, Bajis S, Dore GJ. Progress toward hepatitis C virus elimination. *Gastroenterol Clin North Am*. 2020;49(2):253-277.
39. Lazarus JV, Picchio CA, Byrne CJ, et al. A global systematic review of hepatitis C elimination efforts through micro-elimination. *Semin Liver Dis*. 2022;42(2):159-172.
40. Hajarizadeh B, Cunningham EB, Valerio H, et al. Hepatitis C reinfection after successful antiviral treatment among people who inject drugs: a meta-analysis. *J Hepatol*. 2020;72(4):643-657.
41. Hellard M, Rolls DA, Sacks-Davis R, et al. The impact of injecting networks on hepatitis C transmission and treatment in people who inject drugs. *Hepatology*. 2014;60(6):1861-1870.
42. European Centre for Disease Prevention and Control. Public health guidance on HIV, hepatitis B and C testing in the EU/EEA—an integrated approach. ECDC; 2018. https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/hiv-hep-testing-guidance_0.pdf

How to cite this article: Not A, Saludes V, Gálvez M, et al. Usefulness of dried blood spot samples for monitoring hepatitis C treatment outcome and reinfection among people who inject drugs in a test-and-treat program. *J Med Virol*. 2023;95:e28544. doi:10.1002/jmv.28544

10969071, 2023, 2, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.28544 by Readcube (Labtiva Inc.), Wiley Online Library on [16/02/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

Open Forum Infectious Diseases

High hepatitis B prevalence and vaccination needs among transgender women and men sex workers in Barcelona, Spain

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	OFID-D-24-00788
Full Title:	High hepatitis B prevalence and vaccination needs among transgender women and men sex workers in Barcelona, Spain
Article Type:	Major Article
Section/Category:	Vaccines and Immunization
Keywords:	hepatitis B virus; men sex workers; trans women sex workers; risk factors; vaccination; community testing
Corresponding Author:	Elisa Martro Foundation Institute of Research in Health Sciences Germans Trias i Pujol: Fundacio Institut d'Investigacio en Ciencies de la Salut Germans Trias i Pujol Badalona, Barcelona SPAIN
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Foundation Institute of Research in Health Sciences Germans Trias i Pujol: Fundacio Institut d'Investigacio en Ciencies de la Salut Germans Trias i Pujol
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Adrián Antuori
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Adrián Antuori
	Anna Not
	Jocelyn Mesías-Gazmuri
	Victoria González
	Marcos Montoro-Fernandez
	Cinta Folch
	Verónica Saludes
	Marta Villar
	Mercè Meroño
	Sonia Paytubi
	Laia Alemany
	SexCohort Group
	Jordi Casabona
	Elisa Martró
Order of Authors Secondary Information:	
Manuscript Region of Origin:	SPAIN
Abstract:	Background. Transgender women sex workers (TWSW) and men sex workers (MSW) are especially vulnerable to acquiring hepatitis B virus (HBV) infection. We aimed to describe HBV prevalence (HBsAg and HBcAb) and associated risk factors for HBV exposure (HBcAb), to assess vaccination status and risk factors for no prior vaccination and to compare HBV prevalence and vaccination status between TWSW and MSW.

Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation

Methods. The SexCohort study was advertised to TWSW and MSW through several communication channels. At cohort entry through two community-based organizations in Barcelona, the study population was screened for HBV and other STIs, and an epidemiological questionnaire was administered (N=271).
Results. Overall, 93.0% of participants were migrants, mostly from South and Central American countries. HBsAg prevalence was 1.9% (TWSW, 2.4% vs. MSW, 0.9%; p=0.42), and previous exposure to HBV was 31.8% (TWSW, 38.5% vs. MSW, 20.8%; p=0.002). Over five years of sex work (aOR=9.35), prior exposure to Treponema pallidum (aOR=3.49) and treatment with anxiolytic drugs (aOR=3.23) were associated with HBV exposure. Overall, 33.7% of participants exhibited immunity from vaccination (TWSW, 30.8% vs. MSW, 38.61%; p<0.001), while 34.4% were candidates to HBV vaccination (TWSW, 30.8% vs. MSW, 40.6%; p<0.001). Never having been on PrEP for HIV (OR=4.23) and non-Spanish origin (OR=5.00) were associated with no prior HBV vaccination.
Conclusions. There is a need to reinforce screening and vaccination programs aimed at TWSW and MSW as integrated services offered at the community centers commonly accessed by these populations.

Suggested Reviewers:	Maria Amelia de Sousa Mascena Veras Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo: Faculdade de Ciencias Medicas da Santa Casa de Sao Paulo maria.veras@gmail.com Expert in the field
	Paula Meireles Universidade do Porto Instituto de Saude Publica paula.meireles@ispup.up.pt Expert in the field
	Erin C Wilson San Francisco Department of Public Health Erin.wilson@sfdph.org Expert in the field
	Nathan Lachowsky CBRC Research Director, University of Victoria nlachowsky@uvic.ca Expert in the field
	Rius Cristina Direcció de l'Observatori de la Salut Pública (OBSAL), Agencia de Salut Publica de Barcelona crius@aspb.cat Expert in the field
	Daniela Rojas Coalition Plus drojascastro@coalitionplus.org Expert in the field
Opposed Reviewers:	
Additional Information:	
Question	**Response**
Are you or any co-authors a member of IDSA?	No
Manuscript Classifications:	Hepatitis - Hepatitis B; Hepatitis B; HIV I; Sexually transmitted; Sexually transmitted diseases; Vaccine - Viral; Viral infection

Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation

Main Manuscript (accepted changes)

Click here to access/download;Major Article/Review Article Manuscript (3500 word

High hepatitis B prevalence and vaccination needs among transgender women and men sex workers in Barcelona, Spain

Adrián Antuori[1,2*], Anna Not[1,2*], Jocelyn Mesías-Gazmuri[3,4,5], Victoria González[1,3,6], Marcos Montoro-Fernandez[3], Cinta Folch[3,4,6], Verónica Saludes[1,6], Marta Villar[7], Mercè Meroño[8], Sonia Paytubi[9,10], Laia Alemany[9,10], SexCohort Group, Jordi Casabona[3,4,5,6], Elisa Martró[1,6,#]

1. Microbiology Department, Laboratori Clínic Metropolitana Nord (LCMN), Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Institut d'Investigació Germans Trias i Pujol (IGTP), Badalona (Barcelona), Spain.

2. Genetics and Microbiology Department, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Bellaterra (Barcelona), Spain.

3. Centre d'Estudis Epidemiològics sobre Infeccions de Transmissió Sexual i Sida de Catalunya (CEEISCAT), Agència de Salut Pública de Catalunya, Barcelona, Spain.

4. Germans Trias i Pujol Research Institute (IGTP), Campus Can Ruti, Badalona, Spain

5. Department of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology and Preventive Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Bellaterra (Barcelona), Spain (Jocelyn, Jordi)

6. Consorcio de Investigación Biomédica en Red de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid, Spain.

7. STOP, Barcelona, Spain.

8. Fundació Àmbit Prevenció, Barcelona, Spain.

9. Cancer Epidemiology Research Programme, Catalan Institute of Oncology, IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

10. Consortium for Biomedical Research in Epidemiology and Public Health—CIBERESP, Carlos III Institute of Health, Madrid, Spain

*Equal contributors

[#]**Corresponding author**: Elisa Martró. Microbiology Department, Laboratori Clínic Metropolitana Nord (LCMN), Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Crta del Canyet s/n. 08916 Badalona. Tel: (+34) 934978894. E-mail: emartro@igtp.cat

Running title: Hepatitis B among sex workers

Manuscript word count: 4009

ABSTRACT

Background. Transgender women sex workers (TWSW) and men sex workers (MSW) are especially vulnerable to acquiring hepatitis B virus (HBV) infection. We aimed to describe HBV prevalence (HBsAg and HBcAb) and associated risk factors for HBV exposure (HBcAb), to assess vaccination status and risk factors for no prior vaccination and to compare HBV prevalence and vaccination status between TWSW and MSW.

Methods. The SexCohort study was advertised to TWSW and MSW through several communication channels. At cohort entry through two community-based organizations in Barcelona, the study population was screened for HBV and other STIs, and an epidemiological questionnaire was administered (N=271).

Results. Overall, 93.0% of participants were migrants, mostly from South and Central American countries. HBsAg prevalence was 1.9% (TWSW, 2.4% *vs.* MSW, 0.9%; p=0.42), and previous exposure to HBV was 31.8% (TWSW, 38.5% *vs.* MSW, 20.8%; p=0.002). Over five years of sex work (aOR=9.35), prior exposure to *Treponema pallidum* (aOR=3.49) and treatment with anxiolytic drugs (aOR=3.23) were associated with HBV exposure. Overall, 33.7% of participants exhibited immunity from vaccination (TWSW, 30.8% *vs.* MSW, 38.61%; p<0.001), while 34.4% were candidates to HBV vaccination (TWSW, 30.8% *vs.* MSW, 40.6%; p<0.001). Never having been on PrEP for HIV (OR=4.23) and non-Spanish origin (OR=5.00) were associated with no prior HBV vaccination.

Conclusions. There is a need to reinforce screening and vaccination programs aimed at TWSW and MSW as integrated services offered at the community centers commonly accessed by these populations.

Abstract word count: 241.

Key Words: Hepatitis B virus, men sex workers, trans women sex workers, risk factors, vaccination, community testing.

BACKGROUND

Globally in 2019, an estimated 316 million people had chronic hepatitis B virus (HBV) infection, the leading cause of death from liver cancer and the third cause of death from cirrhosis [1,2]. In 2016, the World Health Assembly adopted the first Global Health Sector Strategy to eliminate viral hepatitis as a public health threat. This initiative underscored the importance of equitable access to interventions, like screening and HBV vaccination, focusing especially on key risk populations such as people who inject drugs, men who have sex with men (MSM), migrants, people in prison, and sex workers (SW) [3]. Although efforts have been made in recent decades to eliminate hepatitis B (mainly aimed at preventing mother-to-child transmission and transfusion safety), innovative approaches are needed to reach diagnosis and treatment rate targets set by the WHO elimination strategy.

In Spain, the prevalence of HBV surface antigen (HBsAg) is 0.22% in the general population [4]. However, SW are vulnerable to sexually transmitted infections (STIs) including HBV infection, due to several factors, including exposure to many sexual partners, risky sexual practices, and drug use [5]**.** The prevalent marginalization, violence, and criminalization they encounter exacerbate this vulnerability [5]. Therefore, prioritizing vaccination programs [6,7] and regular HBV testing [8] within integrated screening services for infectious diseases like HIV and other STIs is imperative [9]. However, few studies address HBV risk factors and vaccination specifically in SW, more so in the subgroups of transgender women sex workers (TWSW) [10] and cisgender men sex workers (MSW) [11]. These populations, additionally characterized by a high proportion of migrants, may experience several

types of barriers including stigma when accessing healthcare services [12] and frequently access community-based centers offering rapid testing and social services.

In a previous study conducted among TWSW and MSW accessing community-based centers in Barcelona (Sweetie project), a high prevalence of STIs, including HBV exposure in 34.2%, was uncovered, with 69% of participants being unaware of their status [13]. The present study aimed to: i) characterize the prevalence of HBV active infection and resolved infection, and associated risk factors for HBV exposure; ii) assess vaccination status and risk factors for no prior vaccination; and iii) compare HBV prevalence and vaccination status between TWSW and MSW accessing community-based organizations (CBOs) in Barcelona in the context of the SexCohort project offering screening of bacterial and viral STIs.

METHODS

Study design

The SexCohort Project was a prospective, open-label cohort of TWSW and MSW recruited in two community-based centers in Barcelona which offered free, anonymous, voluntary and confidential counselling and testing for viral hepatitis, HIV and other STIs, aiming to describe their prevalence and determinants [14]. The sample size was calculated based on the estimated population size of MSW and TWSW in Barcelona; which is approximately 350 individuals. This estimation considered both those accessing community centers and those not linked to any center. In addition, it

was taken into account that 14% of this population would decline to participate in the study, resulting in a target recruitment of 300 participants.

Study participants and recruitment

Recruitment, from May 2019 to July 2021, was carried out through convenience sampling, by referral from the network of contacts and acquaintances of participating individuals who attended community centers in Barcelona, in order to invite other individuals who met the inclusion criteria. Additionally, specific informative material, including an information sheet and an explanatory brochure, were distributed through other community-based centers in Barcelona. Advertising was also conducted on specific sector websites such as Pasión, Telechapero, Sexchapero, and HUNQZ.

Inclusion criteria were: being of legal age; having worked as sex worker in the previous three months (defined as people who exchange sex, regularly or occasionally, for money); be living in Spain (including those participants with a permit and those without it, such as those with pending permit applications or irregular administrative situations); signing the informed consent form, and agreeing to return for follow-up visits. They were compensated €10 and answered an anonymous survey, administered by trained staff, encompassing socio-demographic details, sex work specifics, drug and alcohol use, experienced discrimination in different community settings, self-reported testing, previous diagnosis and treatment of viral hepatitis and HIV/STIs, HBV vaccination, and pre-exposure prophylaxis (PrEP) for HIV. Questions related with experienced discrimination were asked with an adapted scale used in previous studies in transgender population [15].

Participants were given unique identification codes, linking biological samples with their surveys. The study was conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics Board at Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona. Detailed information about the study and characteristics of participants has been previously described [16].

Biological sample collection and STIs testing

A venepuncture blood sample was collected to test for HBV, HCV, HIV and syphilis. Urine, pharyngeal and anal samples were collected to test for *Neisseria gonorrhoeae* (NG) and *Chlamydia trachomatis* (CT).

NG and CT DNA was detected by real-time PCR using BD MAX CT/GC assay (Beckton Dickinson). *Treponema pallidum* antibodies (TPA) were detected using VITROS® Chemistry System (Ortho Clinical Diagnostics); positive results were confirmed by *T. pallidum* hemagglutination (TPHA, Bio-Rad Laboratories). Anti-HCV antibodies were detected using the VITROS® system and, if positive, HCV viral load was quantified with the Abbott RealTime HCV assay (Abbot Molecular). The HBV surface antigen (HBsAg), anti-core antibody (total HBcAb), and surface antibody (HBsAb) were detected using the VITROS® system. For participants testing positive for either HBsAg or HBcAb in the absence of HBsAb ("isolated HBcAb positivity"), HBV viral load was quantified using the Abbott RealTime HBV assay (Abbott Molecular). For HIV, a rapid diagnostic test was used (Determine HIV – 1/2, Abbott) and, if reactive, HIV viral load was quantified from plasma with the Abbott RealTi*me* HIV-1 assay (Abbott Molecular). Those individuals testing positive for any of these STI tests were referred to the healthcare system for further testing and clinical assessment.

Regarding HBV serological status, participants were categorized according to the CDC classification [8]: HBV infection (HBsAg-positive), immunity due to natural HBV infection (HBcAb-positive and HBsAb-positive), immunity due to vaccination (positive only for HBsAb, although this marker may be negative due to non-response in 5-15% of vaccinated persons [17]), vaccination candidates (susceptible; negative for all serological markers) and participants who were only positive for HBcAb (isolated HBcAb positivity). For analysis purposes, all those participants with HBV infection, immunity due to natural HBV infection, or isolated HBcAb positivity, were classified as previously exposed to HBV.

Data analysis

First, we performed a descriptive analysis of sociodemographic characteristics, behavioral profile, and previous viral hepatitis/HIV/STIs diagnosis and treatment. We incorporated variables for syphilis, NG, and CT detection from any specimen (urine, pharyngeal, and anal samples).

Second, we conducted logistic regression models to estimate crude and adjusted odds ratios (aOR) along with their respective 95% confidence intervals (95% CI) to evaluate risk factors of HBV exposure. Participants classified as previously exposed to HBV were compared to those susceptible to HBV infection (negative for all HBV serological markers). Participants with serological evidence of vaccination (HBsAb-positive and HBcAb-negative) were excluded from this analysis. Variables deemed as potential risk factors from existing literature were incorporated; those with a p-value <0.10 in the unadjusted regression model were included in the adjusted analysis.

Finally, we conducted an analysis to investigate risk factors for no prior vaccination. We considered two groups: Participants with serological evidence of vaccination (HBsAb-positive and HBcAb-negative) and participants susceptible to HBV infection (negative for all HBV serological markers). Participants with previous exposure to HBV were excluded from this analysis. Chi-square and Mann-Whitney U test were used to compare proportions, and we set a cut-off for statistical significance at $p < 0.05$. A logistic regression model to estimate crude odds ratios along with their respective 95% confidence intervals (95% CI) was used. Missing values were not included in the analysis. We used R 4.3.1 'Beagle Scouts' for the analyses.

RESULTS

Study population

The main characteristics of the 271 participants recruited are shown in **Table 1**. Among them, 62.7% were TWSW and 37.3% were MSW. The overall median age was 41 years and 56.1% were above 30 years of age (TWSW, 65.9% and MSW, 39.6%; *p*<0.001). Ninety-three per cent of participants were migrants from countries with low or intermediate HBV prevalence, primarily from South and Central America (86.0%), and 44.5% had the Spanish residence permission. Over half of the participants (53.1%) had engaged in sex work for over five years (TWSW, 68.2% and MSW, 27.7%; *p*<0.001).

Furthermore, 59.9% of participants reported condomless sex in the previous 12 months, 27.6% engaged in Chemsex (the deliberate use of drugs or substances to enhance sexual experiences over an extended duration) in the previous 12 months, and 2.6% had injected drugs ever in life.

Furthermore, 12.6% had been in prison at some point in their lives, 26.2% had been diagnosed with an STI in the previous 12 months, and 6.7% had received PrEP treatment at some point (TWSW, 3.6% and MSW, 11.9%; *p*=0.017). Overall, 26.0% had experienced discrimination in a medical facility ever in life (31.9% TWSW and 16.2% MSW; p=0.005), 24.2% had faced physical aggression or sexual abuse in the previous 12 months, and 27.1% of participants were treated with anxiolytics.

HBV infection prevalence and risk factors for HBV exposure

Of the 271 participants recruited, one was excluded due to the lack of clinical samples for testing. HBsAg prevalence was 1.9% (5/270; 95% CI: 0.6%-4.3%), two of them being new diagnoses (**Table 2**). Of the five participants with HBV infection (HBsAg-positive), all were co-infected with HIV (none of them with HCV). Additionally, four of them had been diagnosed with an STI in the previous 12 months.

When focusing on HBV exposure, a 31.9% (86/270; 95% CI: 26.3%-37.8%) prevalence of HBcAb was observed. Participants with HBV exposure were mainly from four South American countries: Colombia (24.4%), Peru (12.8%), Ecuador (12.8%) and Venezuela (12.8%). Regarding immunity due to natural resolved infection (both HBcAb and HBsAb-positive in the absence of HBsAg), 22.6% (61/270) participants exhibited this serological profile (**Table 2**). Among them, 43.0% were HIV positive and 72.13% had been diagnosed with an STI in the previous 12 months. Additionally, 7.4% (20/270) of participants were only positive for HBcAb (isolated HBcAb positivity) (**Table 2**).

In the adjusted model, over five years of sexual work (aOR=9.35, 95% CI: 3.57-26.96), prior exposure to *T. pallidum* (aOR=3.49, 95% CI: 1.42-9.01), and undergoing treatment

with anxiolytic drugs (aOR=3.23, 95% CI: 1.21-9.38) were identified as independent risk factors for HBV exposure (**Table 3**).

HBV vaccination status and risk factors for no prior vaccination

As shown in **Table 2**, concerning immunity conferred by HBV vaccination, 33.7% (91/270) of individuals had post-vaccination antibodies (HBsAb) in the absence of infection markers (HBcAb and HBsAg) (19.8% of them were infected with HIV). Among them, 56.0% (51/91) were unaware of their vaccination status **(Table 4)**.

Among all participants, 34.4% (93/270) tested negative for all serological markers (13.9% were infected with HIV) and, therefore, identified as vaccination candidates. However, 25.8% (24/93) of them reported having been vaccinated previously.

Never having received PrEP for HIV (OR=4.23, 95% CI: 1.27-19.20; *p*=0.042) and non-Spanish origin (OR=5.00, 95% CI: 1.25-33.3; *p*=0.043) were associated with no serological evidence of prior vaccination (**Table 4**).

Comparison of HBV prevalence and presence of post-vaccination antibodies between TWSW and MSW

The HBsAg prevalence was higher in TWSW than in MSW, but differences were not statistically significant [2.4% (4/169) vs. 0.9% (1/101); *p*=0.42] (**Table 2**). HBV exposure was significantly higher in TWSW than in MSW (38.5% (65/169) vs. 20.8% (21/101); *p*=0.002).

The proportion of TWSW with detectable post-vaccination antibodies was significantly lower compared to MSW (30.8% vs 38.6%; *p*<0.001). However, due to a higher proportion of TWSW with previous infection, the percentage of TWSW candidates for

vaccination (30.8%; 52/169) was significantly lower than that of MSW (40.6%; 41/101) (p<0.001) (**Table 2**).

DISCUSSION

Identifying risk factors for HBV infection and describing the vaccination status is essential to implement targeted screening and vaccination strategies within populations exhibiting high-risk behaviors. Although some efforts have been made to address HIV/STIs/viral hepatitis in the female sex worker population, the literature including TWSW and MSW remains notably sparse. To the best of our knowledge, we assess for the first time in Spain the HBV prevalence and vaccination status in TWSW and MSW, which was accomplished at entry in a community-based cohort study in Barcelona.

The overall HBsAg prevalence was 1.9%, 8.4-fold higher than that observed in the general population (0.2%) according to a large seroprevalence study conducted in Spain in 2017-2018 , and 3.6-fold higher than the prevalence found in a study conducted amongst the general population in Catalonia (0.5%) [4,18]. This prevalence of active HBV infection was somewhat higher than that observed previously in the Sweetie project conducted between 2017 and 2018 among 147 TWSW and MSW in Barcelona (0.8%) [13]. In other studies conducted among TWSW and MSW, the HBsAg prevalence varied from 1.2% in London [11] and 1.7% in Argentina [19], to 5.2% in the Netherlands [20]. These differences may be attributed to different factors, including gender proportion (TWSW *vs*. MSW), different sex practices, differential access to

health services, sample size or recruitment bias. Therefore, the characterization of the local HBV epidemiology using diverse strategies for each of these populations is essential to obtain reliable data required for designing appropriate prevention and control interventions. Besides recruitment at NGOs, other strategies such as self-sampling at home, have been used in our setting in gay, bisexual, and other men who have sex with men and trans women sex workers for HIV, HCV and other STIs [21,22], and could also be explored for HBV.

According to the latest CDC recommendations, populations with >1% HBsAg prevalence should be considered a priority group for HBV infection [8], which justifies periodic screening for HBsAg in these SW populations. This recommendation aligns with other guidelines, such as those elaborated by the American Association for the Study of Liver Diseases [23], the ECDC [24] and WHO [25], which underscore the importance of community-based screening strategies in hard-to-reach populations.

Regarding HBV exposure, the observed 31.8% prevalence in the present study was 6.0-fold higher than that observed in the general Spanish population (5.3%) [4]. Despite the elevated HBV prevalence, both for HBsAg and HBcAb, observed in the present study, participants with HBV exposure were mainly originally from four South American countries which have recorded low to intermediate HBV prevalence since 1990 [1], suggesting that engagement in sex work could be a more significant risk factor for HBV infection than the country of origin. In this cohort, engaging in sex work for over five years was associated with a heightened risk of HBV exposure (aOR=9.35). This observation aligns with previous studies in the HIV field, where an extended duration of sex work has been associated with infection [26], likely due to cumulative

exposure to risk factors. Prior exposure to *T. pallidum* was also associated with risk to HBV exposure (aOR=3.49), similarly to a prior study involving TWSW and MSW in Argentina where past or current syphilis (evidenced by positive treponemal antibodies) was a risk factor for HBV exposure [19]. This association was expected due to shared risk factors (such as unprotected sex), and it has been previously described as attributable to the ulcerative lesions induced by this agent, which potentially facilitate easier transmission of HBV [27]. The heightened prevalence of STIs in SW requires a comprehensive approach, integrating preventive and screening measures, and a unified vision to eradicate epidemics [9]. The WHO encourages community-based services for SW, aimed at overcoming structural barriers and expanding service accessibility, ensuring ongoing care in a stigma and discrimination-free environment [5].

Additionally, this study identified a significant association between the use of anxiolytics and HBV exposure (aOR=3.23). SW are often exposed to high levels of trauma, abuse, and stigma, contributing to a higher prevalence of mental health conditions such as anxiety and depression, which may necessitate the use of medications like anxiolytics [22]. The relationship between mental health challenges and increased risk of HBV exposure is complex and multifaceted. These individuals may experience a combination of syndemic conditions, including alcohol use and violence, which can adversely affect their mental state and decision-making abilities [23]. Such conditions can also influence sexual risk behaviors, such as engaging in condomless sex [13], thereby elevating the risk of STI acquisition, including HBV [24]. This association

could also reflect that suffering from an infection such as HBV could contribute, together with other underlying factors, to increased anxiety requiring medication.

Notably, 7.4% of the participants were only positive for HBcAb, referred as “isolated HBcAb positivity”. Individuals with this serological pattern face a higher HBV reactivation risk during immunosuppression and may need a booster vaccination [23]. This pattern often indicates occult HBV infection (detectable HBV DNA in the liver or blood) or past acute HBV infection with loss of HBsAb [28]. The latter is especially common in HIV co-infected patients (10–45%) [29]. Here, 50% of "isolated HBcAb positivity" cases were co-infected with HIV. However, all participants tested negative for HBV viral load, thus ruling out occult HBV infection. Alternatively, they could represent the resolution phase of an acute HBV infection, preceding the appearance of HBsAb [28]. A minority of the "isolated HBcAb positivity" cases might be false positives, given that the false positive rate of the used serological test is 0.002% [30].

While HIV and STI testing and vaccination for hepatitis A and B are recommended in sex workers, many of them are migrants and experience barriers including stigma when accessing healthcare services [31]. Additionally, over the COVID-19 pandemic, these barriers may have increased [12]. While 33.7% of SexCohort participants (recruited from mid-2019 to mid-2021) exhibited a pattern compatible with immunity derived from vaccination, 34.4% were negative for all serological markers and, therefore, were identified as candidates for HBV vaccination. This is in line with a previous study among MSW conducted in London [11], where the authors found a high prevalence of participants in need for HBV vaccination (61.3%).

Individuals who had never been on PrEP for HIV infection showed a higher risk of not being vaccinated (OR=4.23). In 2019, the Spanish National Health System started funding PrEP, a strategy using antiretroviral drugs for HIV prevention. In Catalonia, PrEP units conduct screenings for STIs and viral hepatitis (including HBV), during baseline visits, and administer HBV vaccination if required [32]. As a result, these services present an excellent opportunity to address other infections such as HBV [33]. Conversely, the proportion of HIV-positive participants with detectable post-vaccination antibodies was similar to that observed in HIV-negative participants, which could be related to the fact that a high proportion of participants were migrants, and HBV vaccination practices may vary across countries. In fact, 93% of the cohort hailed from Latin American countries, and non-Spanish origin was linked to a lack of post-vaccination antibodies (OR=5.00). Hepatitis B vaccination has been progressively introduced in these countries: Colombia started in 1994, Venezuela in 2000 with inconsistent coverage over time, Brazil in 1998, and Peru in 1997. Given the cohort's median age of 41, many participants likely missed these vaccination campaigns [34].

Our data underscore a significant lack of awareness regarding HBV vaccination status among these SW. Specifically, 56.0% of participants with a serological profile indicating presence of post-vaccination antibodies denied having been vaccinated. Conversely, 25.8% of participants without any serological markers believed they had been vaccinated. For the latter group, it is also possible they did not complete the full vaccination schedule, or they might have low HBsAb titers as HBsAb concentrations can decline over time among those vaccinated, making revaccination advisable [7]. While our study does not delve into the specific causes of vaccination awareness, there

is a pressing need to reinforce educational programs on viral hepatitis, complementing them with prevention and screening initiatives for these populations. Catalan initiatives like "Téstate" (a web-based self-sampling strategy for HIV/STIs and HCV detection among MSM) [21] and "Disfruta sin C" (a community-led educational platform promoting HCV diagnosis in MSM practicing chemsex, aiming to reduce its incidence) [35] serve as effective decentralized diagnostic models for at-risk groups. The impact of these initiatives could be amplified by including HBV testing and vaccination.

HBV vaccination, while recommended in sex workers by Catalan [7] and international guidelines [36,37], needs strengthened interventions, especially delivered at community centers frequented by these populations. The WHO's recent guidelines emphasize the importance of integrated and decentralized testing for infectious diseases like HIV, STIs and viral hepatitis, in community settings, which is crucial to achieve a holistic, people-centered approach [9]. Before HBV vaccination, determining serological status is essential due to the observed high HBV exposure and unawareness in this population. This is consistent with CDC recommendations that consider combined screening and vaccination more cost-effective than just vaccination [8]. Nurse-led outreach strategies have proven to be effective to overcome difficulties in HBV testing and vaccination among female sex workers [38]. However, the requirement of nurses and cold-chain storage for vaccines may represent a drawback for its implementation. The HBV-COMSAVA study showcased decentralized community-based HBV care as a viable solution for vulnerable groups like African migrants in Barcelona [39].

In a gender-specific analysis, TWSW displayed an increased HBV exposure compared to MSW. This elevated exposure among TWSW might be due to age disparities: 65.9% of TWSW were over 30, with 68.7% engaged in sex work for over five years, whereas only 39.6% of MSW participants were over 30, with just 27.7% having over five years in the profession. This suggests greater cumulative exposure in the TWSW group as previously suggested [40]. The age factor could also imply that many TWSW might not have benefited from earlier vaccination campaigns, in contrast to the younger MSW. Intriguingly, while both groups had a high need for vaccination, the requirement was notably higher for MSW (30.77% in TWSW and 40.59% in MSW, $p<0.001$). Despite higher vaccination rates in this sub-population, a lower proportion of previous infection potentially makes them more susceptible to HBV. Therefore, vaccination through specific strategies is paramount for both these vulnerable groups.

Despite the strengths of the present study, there are limitations to note. While the SexCohort project was conducted in two community centers in Barcelona, it may not fully represent the entire TWSW and MSW populations of this city. However, it was promoted though several strategies reaching out to SW through sex work websites, seeking to also involve those who did not frequent community centers. The intended sample size of 300 participants could not be reached, and the low numbers of HBsAg-positive participants found limited the comparison of HBV prevalence between TWSW and MSW groups. Furthermore, self-reported information on bio-behavioral data, previous HBV testing, diagnosis, treatment and vaccination might only be somewhat reliable due to limited recall, stigmatization, or poor comprehension. To mitigate this, we ensured private and confidential interviews by trained personnel. Additionally,

HBsAb levels can decline post-vaccination [41] and even be non-detectable in vaccine non-responders (5% of immunocompetent individuals and from 18%-72% of people living with HIV depending on their immune status) [17]; this may have led to an underestimation of vaccinated individuals and an overestimation of those deemed HBV-susceptible but, actually, a second series of HBV vaccination is recommended in non-responders. Among the limitations, it is noted that tests for the hepatitis delta virus (HDV) were not conducted, as our study was conducted in the context of STI screening in community centers and those testing positive were referred to care for further testing. Especially with the recent approval of bulevirtide for the treatment of hepatitis delta, HDV testing should be performed for the clinical assessment of patients diagnosed with chronic hepatitis B (HBsAg-positive). Lastly, although the SexCohort project had longitudinal STI testing, HBV tests were limited to baseline samples, preventing us from examining temporal patterns and inferring causal relationships for observed HBV risk factors.

In conclusion, the observed results confirm the high risk for HBV infection to which TWSW and MSW are subjected, their low vaccination rates, and the lack of knowledge about their own vaccination status. There is an urgent need to reinforce HBV screening and vaccination programs among these populations as integrated services offered at the community centers commonly accessed by them, in an environment free of stigma and discrimination.

REFERENCES

1. Sheena BS, Hiebert L, Han H, et al. Global, regional, and national burden of hepatitis B, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. Lancet Gastroenterol Hepatol; **2022**; 7(9):796–829.

2. Global progress report on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections, 2021. Accountability for the global health sector strategies 2016–2021: actions for impact. Geneva: World Health Organization; **2021**. Available from: https://www.who.int/publications/i/item/9789240027077

3. Global hepatitis report 2024: action for access in low- and middle-income countries. Geneva: World Health Organization; **2024**. Available from: https://iris.who.int/.

4. Ministerio de Sanidad. 2º Estudio Seroprevalencia Enfermedades Inmunoprevenibles. Ministerio de Sanidad; **2020**. Available from: www.sanidad.gob.es/areas/promocionPrevencion/vacunaciones/comoTrabajamos/docs/EstudioSeroprevalencia_EnfermedadesInmunoprevenibles.pdf

5. World Health Organization, United Nations Population Fund, Joint United Nations Programme on HIV/AIDS, Global Network of Sex Work Projects, The World Bank. Implementing comprehensive HIV/STI programmes with sex workers: practical approaches from collaborative interventions. Geneva, World Health Organization; **2013**. Available from: https://www.who.int/publications/i/item/9789241506182

6. Global health sector strategy on viral hepatitis 2016-2021. Geneva, World Health Organization (WHO); **2016**. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/246177/WHO-HIV-2016.06-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y

7. Generalitat de Catalunya. Manual Vacunacions Catalunya de 2020. Generalitat de Catalunya; **2020**; 4–8. Available from: https://salutpublica.gencat.cat/ca/ambits/promocio_salut/vacunacions/Manual-de-vacunacions/Versio-desglossada-per-capitols/.

8. Conners EE, Panagiotakopoulos L, Hofmeister MG, et al. Screening and Testing Recommendations for Chronic Hepatitis B Virus Infection: CDC Recommendations – United States, 2023. MMWR Recomm Rep; **2023**; 72(No. RR-1):1–25. Available from: https://www.cdc.gov/hepatitis/hbv/testingchronic.htm#:~:text=CDC recommends screening all adults,regardless of disclosure of risk.

9. Global health sector strategies on, respectively, HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections for the period 2022-2030. Geneva, World Health Organization; **2022**. Available from: https://www.who.int/publications/i/item/9789240053779

10. Ranjan A, Shannon K, Chettiar J, Braschel M, Ti L, Goldenberg S. Barriers and facilitators to hepatitis B vaccination among sex workers in Vancouver, Canada: Implications for integrated HIV, STI, and viral hepatitis services. Int J Infect Dis; **2019**; 87:170–176.

11. Sethi G, Holden BM, Gaffney J, Greene L, Ghani AC, Ward H. HIV, sexually transmitted infections, and risk behaviours in male sex workers in London over a 10 year period. Sex Transm Infect; **2006**; 82(5):359–363.

12. Leyva-Moral JM, Castro Ávila J, Villar M, et al. Impact of the COVID-19 Health Crisis on Trans Women and Cis Men Sex Workers in Spain. Arch Sex Behav; **2023**; 52(2):629–638.

13. Ferrer L, González V, Martró E, et al. High HIV/STI prevalence among cisgender men and transgender women sex workers attending community-based centres in Barcelona, Spain: The Sweetie Project. Int J STD AIDS; **2022**; 33(12):1045–1053.

14. Mesías-Gazmuri J, Folch C, Ferrer L, et al. Syndemic Conditions and Their Association with HIV/STI Sexual Risk Behaviors Among Transgender Women and Cisgender Men Sex Workers in Catalonia: The SexCohort Project. Int J Behav Med; **2023**; 30(6):824-835.

15. Wilson EC, Turner C, Lin J, McFarland W, Burk K, Raymond HF. Hepatitis C seroprevalence and engagement in related care and treatment among trans women. J Viral Hepat; **2019**; 26(7):923–925.

16. Sönmez I, Mesías-Gazmuri J, Barbarà JC, et al. Factors associated with PrEP knowledge and intention to use PrEP among HIV-negative men and trans women sex workers in Spain. AIDS Care; **2023**; 35(8):1224-1234.

17. Walayat S, Ahmed Z, Martin D, Puli S, Cashman M, Dhillon S. Recent advances in vaccination of non-responders to standard dose hepatitis B virus vaccine. World J Hepatol; **2015**; 7(24):2503–2509.

18. Rodríguez-Tajes S, Domínguez Á, Carrión JA, et al. Significant decrease in the prevalence of hepatitis C infection after the introduction of direct acting antivirals. J Gastroenterology Hepatol; **2020**; 35(9):1570–1578.

19. Ramos Farías MS dos, Garcia MN, Reynaga E, et al. First report on sexually transmitted infections among trans (male to female transvestites, transsexuals, or transgender) and male sex workers in Argentina: high HIV, HPV, HBV, and syphilis prevalence. Int J Infect Dis; **2011**; 15(9):e635-40.

20. Verhaegh-Haasnoot A, Dukers-Muijrers NHTM, Hoebe CJPA. High burden of STI and HIV in male sex workers working as internet escorts for men in an observational study: a hidden key population compared with female sex workers and other men who have sex with men. BMC Infect Dis; **2015**; 15(1):291.

21. Martínez-Riveros H, Martró E, Montoro-Fernandez M, et al. An online hepatitis C virus self-sampling strategy for gay, bisexual, and other men who have sex with men and trans women: TESTATE C PLUS 2020-2021. J Evid Based Med; **2023**; 16(4):446–450.

22. Martínez-Riveros H, Díaz Y, Montoro-Fernandez M, et al. An Online HIV Self-Sampling Strategy for Gay, Bisexual and Other Men Who Have Sex with Men and Trans Women in Spain. J Community Health; **2024**; 49(3):535–548.

23. Terrault NA, Lok ASF, McMahon BJ, et al. Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance. Hepatology; **2018**; 67(4):1560–1599.

24. European Centre for Disease Prevention and Control. Public health guidance on HIV, hepatitis B and C testing in the EU/EEA: An integrated approach. Stockholm, ECDC; **2018**.

25. Action plan for the health sector response to viral hepatitis in the WHO European Region. Geneva, World Health Organization; **2017**. Available from: https://iris.who.int/handle/10665/344154?&locale-attribute=pt#:~:text=The%20goal%20of%20the%20Action,comprehensive%20prevention%2C%20recommended%20testing%2C%20care.

26. Szwarcwald CL, Damacena GN, Souza-Junior PRB De, et al. Factors associated with HIV infection among female sex workers in Brazil. Medicine (Baltimore); **2018**; 97:S54–S61.

27. Remis RS, Dufour A, Alary M, et al. Association of hepatitis B virus infection with other sexually transmitted infections in homosexual men. Am J Public Health; **2000**; 90(10):1570–1574.

28. Jeng WJ, Papatheodoridis G V., Lok ASF. Hepatitis B. Lancet; **2023**; 401(10381):1039–1052.

29. Mak LY, Wong DKH, Pollicino T, Raimondo G, Hollinger FB, Yuen MF. Occult hepatitis B infection and hepatocellular carcinoma: Epidemiology, virology, hepatocarcinogenesis and clinical significance. J Hepatol; **2020**; 73(4):952–964.

30. Gish RG, Basit SA, Ryan J, Dawood A, Protzer U. Hepatitis B Core Antibody: Role in Clinical Practice in 2020. Curr Hepatology Rep; **2020**; 19(3):254–265.

31. Faissner M, Beckmann L, Freistein K, Jungilligens J, Braun E. Healthcare for sex workers—access, barriers, and needs: An exploratory qualitative interview study. Ethik Med; **2024**; 36(2):151–168.

32. Departament de Salut Generalitat de Catalunya. Elements per a la implementació de la profilaxi pre-exposició al VIH (PrEP) a Catalunya. Generalitat de Catalunya; **2022**. Available from: https://salutpublica.gencat.cat/ca/ambits/vigilancia_salut_publica/vih-sida-its-hv/VIH-Sida/profilaxi-pre-exposicio-al-vih-prep/.

33. HIV Prevention, Diagnosis, Treatment and Care for Key Populations Policy Brief Consolidated Guidelines. Geneva, World Health Organization; **2017**. Available from: http://apps.who.int/

34. Ropero AM, Danovaro-Holliday MC, Andrus JK. Progress in vaccination against hepatitis B in the Americas. J Clin Virol; **2005**; 34 Suppl 2:S14-9.

35. DisfrutaSin-C. Available from: https://www.facebook.com/DisfrutaSinHepatitisC/

36. Prevention and treatment of HIV and other sexually transmitted infections for sex workers in low- and middle-income countries. Geneva, World Health Organization; **2012**. Available from: https://www.who.int/publications/i/item/9789241504744.

37. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva, World Health Organization; **2017**. Available from: https://www.who.int/publications/i/item/9789241549981

38. Carneiro LM, Mousquer GJ, Pinheiro RS, et al. Outreach hepatitis B vaccination of female sex workers in central-west Brazil: immunization status, compliance, and immune response. J Public Health Manag Pract; **2014**; 20(6):662–666.

39. Picchio CA, Nomah DK, Araujo SG, et al. A novel model of care for simplified testing of HBV in African communities during the COVID-19 pandemic in Spain. Scientific Reports; **2021**; 11(1):17063.

40. Abdella S, Demissie M, Worku A, Dheresa M, Berhane Y. HIV prevalence and associated factors among female sex workers in Ethiopia, east Africa: A cross-sectional study using a respondent-driven sampling technique. EClinicalMedicine; **2022**; 51:101540.

41. Sahana H V., Sarala N, Prasad SR. Decrease in Anti-HBs Antibodies over Time in Medical Students and Healthcare Workers after Hepatitis B Vaccination. Biomed Res Int. Biomed Res Int; **2017**; 1327492.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors especially acknowledge the participants included in this study. The authors also thank all the other members of the SexCohort Study Group: CEEISCAT: C. Folch, L. Ferrer, V. González, R. Muñoz, J. Mesías-Gazmuri, L. Egea, J. Casabona. Microbiology Department, Laboratori Clínic Metropolitana Nord (LCMN), Hospital Universitari Germans Trias i Pujol: E. Martró, V. Saludes, A. Antuori, A. Not, S. González-Gómez. Programa de Recerca d'Epidemiologia del Càncer (PREC), Institut Català d'Oncologia (ICO): L. Alemany, M.A. Pavón, S. Paytubi, A. Esteban, M. Vergara, V. Rodríguez, F. Morey, S. Tous, A. Montoliu, S. de Sanjosé. STOP: L. Villegas, M. Villar, H. Adell, K. Santander. Fundació Àmbit Prevenció: M. Meroño, M. Cebrián, C. Carrascal. Gaispositius: E. Longares. Metges del Món: L. Martínez. Servei Trànsit: R. Almirall. Programa de Prevenció, Control i Atenció al VIH, les ITS i les Hepatitis Víriques (PCAVIHV). Agència de Salut Pública de Catalunya: R. Mansilla, P. Lletjós. Departament d'Epidemiologia i Metodologia de les Ciències Socials i de la Salut de Manresa, UVic-UCC: G. Drou-Roget, A. Álvarez-Vargas.

FUNDING

This research was supported by CIBERESP (Biomedical Research Center in Epidemiology and Public Health Network) and Instituto de Salud Carlos III through the project "PI18/01481" (Co-funded by European Regional Development Fund "A way to make Europe").

POTENTIAL CONFLICTS OF INTEREST

The authors have no relevant financial or non-financial interests to disclose related to this work.

PATIENT CONSENT STATEMENT

The patient's written consent was obtained upon cohort entry. The design of the work was approved by the local ethical committee “Comitè d'Ètica de la Investigació Clínica (CEIC)” at Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona (PI-18-248).

AVAILABILITY OF DATA AND MATERIAL

Data and material are available upon request to the CEEISCAT (ceeiscat@gencat.onmicrosoft.com).

Table 1. Socio-demographic and bio-behavioural profile of participants, and differences among transgender women sex workers (TWSW) and male sex workers (MSW).

	TWSW (*n* = 170)		MSW (*n* = 101)		Total (*N* = 271)		*p*-value
	n	%/SD	*n*	%/SD	*n*	%/SD	
Socio-demographic characteristics							
>30 years old	112	65.9%	40	39.6%	152	56.1%	**<0.001**
Foreign origin	160	94.1%	92	91.1%	252	93.0%	0.485
Residency permission	82	48.8%	36	37.1%	118	44.5%	0.086
Primary education or less	51	30.0%	16	15.8%	67	24.5%	**0.014**
Bio-behavioural characteristics							
>5 years of sexual work	116	68.2%	28	27.7%	144	53.1%	**<0.001**
Age at first sexual relation (years)	13.49	3.4	14.33	3.0	13.80	3.3	**0.036**
Condomless sex in the last 12 months	78	47.0%	80	81.6%	158	59.9%	**<0.001**
Number of clients	7.94	8.6	5.09	6.2	6.87	7.9	**0.002**
Stable partner	73	42.9%	62	61.4%	135	49.8%	**0.005**
Alcohol consumption in the last 12 months (before or during sex)	116	69.1%	66	65.4%	182	67.7%	0.621
Drug consumption in the last 12 months	131	78.9%	82	82.0%	213	80.1%	0.652
Drug injection (ever in life)	0	0.0%	7	6.9%	7	2.6%	**0.001**
Drug snorting (ever in life)	136	81.0%	82	81.2%	218	81.0%	1.000
Chemsex in the last 12 months	35	21.0%	39	38.6%	74	27.6%	**0.003**
Ever been in prison	25	14.9%	9	8.9%	34	12.6%	0.216
Diagnosed of STI in the last 12 months	39	22.9%	32	31.7%	71	26.2%	0.150
Hepatitis B vaccination							0.671
No	36	21.4%	20	20.0%	56	20.9%	
I don't know	68	40.5%	46	46.0%	114	42.5%	
Yes	64	38.1%	34	34.0%	98	26.8%	
HIV PrEP treatment (ever in life)	6	3.6%	12	11.9%	18	6.7%	**0.017**

Experienced discrimination in medical facilities (ever in life)	53	31.9%	16	16.2%	69	26.0%	**0.005**
Physical aggression or sexual abuse in the last 12 months	45	26.8%	20	19.8%	65	24.2%	0.251
Anxiolytic treatment in the last 12 months	52	31.0%	21	20.8%	73	27.1%	0.094
Antidepressant treatment in the last 12 months	26	15.6%	11	10.9%	37	13.8%	0.372

♦*OR, odds ratio; SD, standard deviation; TWSW, transgender women sex workers; MSW, male sex workers; STI, sexually transmitted infection;* PrEP, pre-exposure prophylaxis.

Table 2. HBV serological status and differences among transgender women sex workers (TWSW) and male sex workers (MSW).

	TWSW (N=169)		**MSW** (N=101)		**Total** (N=270)		***p*-value**
HBV serological status*	n	%	n	%	n	%	
HBV infection	4	2.37%	1	0.99%	5	1.85%	0.42
Immunity due to natural HBV infection	47	27.81%	14	13.86%	61	22.59%	<0.001
Immunity due to vaccination	52	30.77%	39	38.61%	91	33.70%	<0.001
Susceptible (vaccination candidates	52	30.77%	41	40.59%	93	34.44%	<0.001
Isolated HBcAb positivity♦	14	8.28%	6	5.94%	20	7.40%	<0.001

*CDC classification (2023). HBV infection: HBsAg-positive, HBcAb-positive. Resolved HBV infection (infection-induced immunity): HBsAg-negative, HBcAb-positive, HBsAb-positive. Vaccination-induced immunity: HBsAg-negative, HBcAb-negative, HBsAb-positive. Susceptible, never infected: HBsAg-negative, HBcAb-negative, HBsAb-negative. Isolated HBcAb positivity: HBcAb-positive.

♦Can be the result of a past infection when HBsAb levels have waned, occult infection, a false positive (susceptible) or a mutant HBsAg strain that is not detectable by laboratory assay (infection).

HBV, hepatitis B virus; TWSW, transgender women sex workers; MSW, male sex workers.

Table 3. Univariate and multivariate logistic regression analyses of risk factors associated with HBV exposure (HBcAb-positive).

	Negative (n=93) n(%)	Positive (n=86) n(%)	Total (N=179) n(%)	Crude OR (95% CI)	Multivariate model aOR (95% CI)
Socio-demographic characteristics					
MSW	41 (44.09%)	21 (24.42%)	62 (34.64%)	0.4 (0.18-0.83)	1.36 (0.49-4.03)
> 30 years	43 (46.24%)	71 (82.56%)	114 (63.69%)	4.6 (2.17-10.20)	1.68 (0.61-4.55)
Foreign origin	64 (68.81%)	40 (46.51%)	104 (58.10%)	0.12 (0.01-0.87)	
Primary education or less	15 (16.13%)	33 (38.37%)	48 (26.82%)	2.82 (1.24-6.76)	
> 5 years of sexual work	32 (34.41%)	72 (83.72%)	104 (58.10%)	11.02 (2.17-10.2)	**9.35 (3.57-26.96)**
Bio-behavioural characteristics					
Condomless sex in the last 12 months	46 (52.87%)	47 (55.29%)	93 (54.07%)	1.1 (0.6-2.01)	
Stable partner in the last 12 months	44 (47.31%)	37 (43.02%)	81 (45.25%)	0.84 (0.46-1.52)	
Alcohol consumption in the last 12 months (before or during sex)	69 (74.19%)	55 (63.95%)	124 (69.27%)	0.62 (0.32-1.17)	
Chemsex in the last 12 months	23 (25.00%)	24 (27.91%)	47 (26.40%)	1.16 (0.6-2.27)	
Drug injection (ever in life)	2 (2.15%)	3 (3.49%)	5 (2.79%)	1.64 (0.27-12.72)	
Drug snorting (ever in life)	73 (78.49%)	71 (82.56%)	144 (80.45%)	1.3 (0.62-2.77)	
Ever been in prison	8 (8.60%)	17 (19.77%)	25 (13.97%)	2.62 (1.1-6.75)	

Physical aggression or sexual abuse in the last 12 months	17 (18.28%)	23 (26.74%)	40 (22.35%)	1.63 (0.81-3.36)	
Injected steroids in the last 12 months	5 (5.38%)	2 (2.33%)	7 (3.91%)	0.7 (0.09-3.59)	
Circumcision	4 (4.40%)	16 (19.51%)	20 (11.56%)	5.27 (1.83-19.07)	
Anxiolytic treatment in the last 12 months	15 (16.13%)	35 (40.70%)	50 (27.93%)	3.35 (1.43-8.37)	**3.23 (1.21-9.38)**
Antidepressant treatment in the last 12 months	8 (8.60%)	17 (20.00%)	25 (14.04%)	3 (0.96-10.78)	
Diagnosed of STI in the last 12 months	20 (21.51%)	22 (25.58%)	42 (23.46%)	1.21 (0.64-2.27)	
HIV PrEP treatment (ever in life)	3 (3.23%)	4 (4.65%)	7 (3.91%)	1.46 (0.31-7.61)	
Laboratory testing results					
HCV	1 (1.08%)	3 (3.49%)	4 (2.23%)	3.33 (0.42-67.94)	
HIV	13 (14.29%)	37 (43.53%)	50 (28.41%)	4.16 (1.73-10.92)	
CT (any location)*	10 (10.99%)	5 (6.02%)	15 (8.62%)	0.52 (0.16-1.53)	
NG (any location)*	11 (12.09%)	11 (13.25%)	22 (12.64%)	1.11 (0.45-2.75)	
Syphilis (treponemal antibodies)	40 (43.01%)	62 (72.09%)	102 (56.98%)	3.06 (1.44-6.63)	**3.49 (1.42-9.01)**

OR, odds ratio; aOR, adjusted odds ratio; SD, standard deviation; MSW, male sex workers; STI, sexually transmitted infection; CT, *Chlamydia trachomatis;* NG, *Neisseria gonorrhea;* HPV, Human papillomavirus; PrEP, pre-exposure prophylaxis.

*Positive result in any location (urine, pharyngeal or anal).

Table 4. Univariate logistic regression analysis of risk factors for no prior HBV vaccination.

	Susceptible (*n* = 93) n (%)	**HBV vaccinated (*n* = 91) n (%)**	**Total (*N* = 184) n (%)**	**Crude OR (95% CI)**
Socio-demographic characteristics				
>30 years old	43 (46.2%)	40 (44.0%)	83 (45.1%)	0.87 (0.49-1.56)
MSW	41 (44.09%)	39 (42.86%)	80 (43.48%)	1.05 (0.58-1.88)
Foreign origin	91(97.85%)	82 (90.11%)	173 (94.02%)	**5.00 (1.25-33.3)**
Residency permission	31 (33.33%)	36 (40.91%)	67 (37.02%)	0.72 (0.39-1.31)
Primary education or less	15 (16.13%)	18 (19.78%)	33 (17.93%)	1.28 (0.60-2.77)
Bio-behavioural characteristics				
> 5 years of sexual work	32 (34.41%)	39 (42.86%)	71 (38.59%)	1.42 (0.78-2.63)
Experienced discrimination in medical facilities (ever in life)	22 (24.18%)	24 (27.59%)	46 (25.84%)	0.80 (0.40-1.56)
Ever been in prison	8 (8.60%)	9 (10.11%)	17 (9.34%)	0.83 (0.30-2.27)
Chemsex in the last 12 months	23 (25.00%)	27 (30.34%)	50 (27.62%)	0.76 (0.39-1.47)
Drug consumption in the last 12 months	75 (80.65%)	70 (80.46%)	145 (80.56%)	1.01 (0.48-2.12)
Drug injection (ever in life)	2 (2.15%)	2 (2.25%)	4 (2.20%)	0.95 (0.11-8.33)
Hepatitis B vaccine				
No	22 (23.66%)	20 (22.47%)	42 (23.08%)	
I don't know	47 (50.54%)	31 (34.83%)	78 (42.86%)	1.36 (0.64-2.94)
Yes	24 (25.81%)	38 (42.70%)	62 (34.07%)	0.57 (0.25-1.26)
HIV	13 (14.29%)	18 (20.69%)	31 (17.42%)	0.63 (0.28-1.38)
Not in HIV PrEP treatment (ever in life)	3 (3.23%)	11 (12.36%)	14 (7.69%)	**4.23 (1.27-19.2)**

OR, odds ratio; MSW, male sex workers; PrEP, pre-exposure prophylaxis.

Hepatitis B and C screening and linkage to care in migrants from endemic countries in Barcelona through a community action

Not A[1,2,3], Ouaarab-Essadek H[4], Montoro M[5], Treviño B[4], Buti M[6,7], Morillas RM[7,8], Bordoy AE[1], Folch C[3,5], Majó X[9], Casabona J[3,5], Gómez i Prat J[4], Martró E[1,2,3*]

[1] Microbiology Department, Laboratori Clínic Metropolitana Nord (LCMN), Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Germans Trias i Pujol Research Institute (IGTP), Badalona (Barcelona), Spain
[2] Genetics and Microbiology Department, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Bellaterra (Barcelona), Spain
[3] Consorcio de Investigación Biomédica en Red de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain[4] Community & Public Health Team (ESPIC), Drassanes-Vall d'Hebron Centre for International Health and Infectious Diseases, Barcelona, Spain
[5] Centre d'Estudis Epidemiològics sobre les ITS i la Sida de Catalunya (CEEISCAT), Agència de Salut Pública de Catalunya (ASPCAT), Badalona (Barcelona), Spain
[6] Hepatology Department, Hospital Universitari Vall Hebrón, Barcelona, Spain
[7]Consorcio de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain
[8] Hepatology Unit, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona (Barcelona), Spain
[9] Agència de Salut Pública de Catalunya, Barcelona, Spain

*****Corresponding author: Elisa Martró. Microbiology Department, Laboratori Clínic Metropolitana Nord (LCMN), Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Crta. del Canyet s/n. 08916 Badalona (Barcelona), Spain. E-mail: emartro@igtp.cat. Phone: +34 934798894.

Word count: 4952 words

Abstract word count: 260 words

Number of figures: 3

Number of tables: 1

Abbreviations:

HBV	**Hepatitis B virus**
HCV	**Hepatitis C virus**
HBsAg	**HBV surface antigen**
IHU	**International Health Unit**
DBS	**Dried blood spots**
HCV-Ab	**HCV antibodies**
RDT	**Rapid detection test**
ALT	**Alanine transaminase**
AST	**Aspartate aminotransferase**
GGT	**Gamma-glutamyl transferase**
SVR12	**Sustained virological response at week 12 after treatment**
LTFU	**Lost to follow-up**
IQRs	**Interquartile ranges**
HBeAg	**Hepatitis B e-antigen**

A conflict of interest declaration for all authors?

Acknowledgements

The authors especially thank all study participants, civil society associations, and community health agents of the Community & Public Health Team (Drassanes-Vall d'Hebron Centre for International Health and Infectious Diseases). The authors also thank Laia Ferrer and Laura Fernández (CEEISCAT) for their help on questionnaire design, Esteve Muntada (CEEISCAT) for data management, and Laura Muntané (IGTP) for her help in sample processing and data entry. The study was funded to E.M. by Instituto de Salud Carlos III through the project PI19/0568 (Co-funded by European Regional Development Fund "A way to make Europe"). A.N. holds a PFIS grant (Ref. FI20/00211, Instituto de Salud Carlos III, Fondo Social Europeo). The Germans Trias i Pujol Research Institute (IGTP) has received support from the CERCA Program/Generalitat de Catalunya.

Abstract (258 words)

Background and Aims: Migrants from lower and middle-income countries are key populations for hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) infection in Europe. This study assessed the feasibility and outcomes of a community action that combined education, screening, and simplified access to care among migrants living in Barcelona.

Methods: Adult migrants from Pakistan, Romania and Senegal were included from 2021-2023, through a community action involving education, an epidemiological questionnaire and rapid testing for HBV surface antigen (HBsAg) and HCV antibodies. If positive, dried blood spot samples were collected for laboratory confirmation. Viremic cases were linked to care through an International Health Unit (IHU).

Results: Overall, 786 participants were included (346 from Pakistan, 304 from Senegal and 136 from Romania). Previous screening for HBV and HCV was 8% and 7.7%, respectively. HBsAg prevalence was 0.9% for migrants from Pakistan, 8.2% from Senegal and 1.4% from Romania (n=30/786, 23 new diagnoses). Among these, 16 (69.6%) attended the IHU, all being HBV-DNA positive, but none met treatment criteria nor were coinfected with HDV or HIV. Anti-HCV prevalence was 3.5%, 0.7% and 1.4% for migrants from Pakistan, Senegal and Romania, respectively (n=16/768, 12 new diagnoses), and HCV-RNA prevalence was 0.9%, 0.3% and 0.7%, respectively (N=6, all new diagnoses); 4 (66.6%) of them were linked to treatment and two were cured.

Conclusions: This novel community action successfully reached migrants in situation of vulnerability, and provided them access to testing and care. The high prevalences observed, and the limited self-knowledge of their HBV and HCV status justify targeted screening in these groups.

Keywords: Hepatitis C virus (HCV), Hepatitis B virus (HBV), migrants, dried blood spots (DBS), community action.

INTRODUCTION

Hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) infections account for a significant global disease burden and high mortality from liver cancer and cirrhosis. Hepatitis B and C together continue to cause 1.1 million deaths per year as a result of chronic liver disease and cancer[1]. Globally, around 296 million people are living with a chronic HBV infection and 58 million people have chronic HCV infection[2]. Most people living with viral hepatitis are asymptomatic and potentially unaware of their infection[3]. In this context, the World Health Organization set the goal to eliminate viral hepatitis as a public health threat by 2030, with targets to increase the diagnostic rate to 90% and the treatment rate to 80%[1]. Yet globally, nearly 80% of people with hepatitis B or C virus remain undiagnosed, and affordable treatments are not being accessed[4].

The highest burden of HBV and HCV is carried by lower and middle-income countries, with a high or middle endemicity (seroprevalence in the general population ≥2% and ≥5%, respectively). For this reason, migrants are a key populations in Europe affected by HBV and HCV and the WHO and European Centre for Disease Prevention and Control guidelines recommend the targeted screening of HBV and HCV in this population[5,6]. Moreover, migrant communities often face difficulties to access the mainstream healthcare services due to cultural and language barriers, the fragmentation existing in the continuum of these services, and/or social vulnerability[7]. Bringing screening into the community improves the number of people who can be rapidly screened and linked to care, promoting a more equitable access to diagnosis [8]. The screening of HBV surface antigen (HBsAg) and antibodies to HCV (HCV-Ab) can be easily carried out in diverse community settings using rapid detection tests (RDT) with finger-prick blood[9]. Then, the presence of viremic HBV or HCV infection should be confirmed by the detection of HBV-DNA and HCV-RNA, respectively, in dried blood spots (DBS)[10]. These samples have been shown to facilitate screening in the community, and its use is recommended by the WHO due to (i) its easy collection (obtaining blood by finger-prick and collecting it on Whatman cards) and acceptability, (ii) easy transportation (room temperature), and (iii) the high sensitivity and specificity of molecular assays for the detection of HCV RNA and HBV DNA from these minimally invasive samples[11].

In Catalonia, the most recent estimates for HBsAg prevalence are 0.5% and 1.1% for HCV seroprevalence with a prevalence of active HCV infection of 0.5%[12]. Remarkably, 53% of HBsAg positive individuals were migrants from high endemicity regions (Romania, Africa, South America, China and Pakistan). Spain has a low prevalence of

hepatitis B and C, and it is estimated that 38% and 12% of the total cases of chronic hepatitis B and C affect the migrant population[13]. Catalonia has the second highest proportion of migrant population, accounting for 16.23% of the residing population[14].

In a previous study we developed and piloted the HepC*link* model of care[15] demonstrating the feasibility of community screening for HCV and linkage to treatment in the Pakistani population in Barcelona. A high degree of acceptability and satisfaction was reported by the participants, most of whom had not been screened before despite 80.3% of them having attended primary care in the previous year. In this line, we expanded this model of care based on a community action that brings together education, screening and simplified access to treatment for both HBV and HCV infections (HepBC*link* study), to include migrants from three endemic countries (Pakistan, Romania and Senegal) living in the Barcelona province, aiming to assess its feasibility and outcomes.

METHODS

Study design. The HepBC*link* was a community-based action, designed to increase HBV and HCV knowledge, testing and access to care for Pakistani, Senegalese and Romanian migrants living in the Barcelona province (**Figure 1**). This study started to include participants in March 2021 during the COVID-19 pandemic and continued until January 2023. Migrants born in these three countries, living in Catalonia, aged ≥18 years and who accepted to participate and signed an informed consent were prospectively included. A convenience sample of 300 individuals for each population was initially intended as the objective of this study was not to recruit a representative sample but to evaluate the feasibility and quality of this community screening strategy. This project was approved by the ethics committees at Germans Trias i Pujol and Vall Hebrón Hospitals.

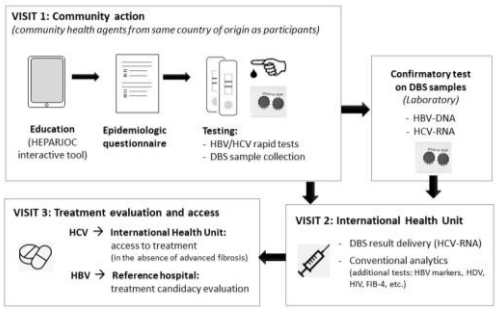


Figure 1. HepBC*link* study design. HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus; DBS, dried blood spot.

HepBC*link* community-based action. The community action involved recruitment, education and testing within a single event in diverse settings. These actions were coordinated by the International Health Unit (IHU) Community and Public Health Team, which consisted of an infectious diseases and public health

doctor, a community medicine nurse and two community health workers for each country of origin who performed the education and testing activities speaking the native language of each target population (Urdu for Pakistan, Wolof and French for Senegal and Romanian for Romania). These agents were trained in rapid HBV and HCV testing, DBS collection and pre- and post- test counselling.

Two community outreach actions (individual- and group- based) were initially planned based on previous experience with the Pakistani migrant population[15]. However, due to the COVID-19 pandemic related restrictions, actions were carried out individually. Migrants were approached during different community outreach activities. Participants were educated on viral hepatitis using a video from the previously piloted interactive educational tool (HEPARJOC)[16] which was translated into the study languages and administered on a tablet. Then, participants were invited to self-complete an epidemiological questionnaire and to get tested with RDT for HBsAg and HCV-Ab performed at the point of care (site where the community action was carried out). If positive on either test, participants were asked to provide a capillary blood sample, for which fingerstick blood was collected as DBS for HBV-DNA and HCV-RNA testing.

Epidemiological questionnaire. Participants self-completed a questionnaire with closed questions in Spanish on socio-demographic data (such as age, gender, education level, current job, etc.), previous access to care including HBV and HCV testing and treatment, and HBV vaccination status. Participants were assisted in completing it as required by the community health agents speaking their native language. Those migrants who refused to participate were asked to provide basic demographic data and self-reported HBV and HCV status.

HBV and HCV screening. Participants underwent rapid testing from finger-stick capillary blood with CE-IVD tests for HBsAg (DETERMINE™ HBsAg 2, Abbott Molecular; analytical sensitivity of 0.1 IU/mL), and for HCV-Ab (Turklab Tibbi Malzemeler San. Ve TIC. A.S.). The time to results was 15 min for both tests. When any of these tests was positive, DBS (four spots, 50 µl each) were collected using a 200 µl EDTA-coated Minivette (Sarstedt) and shipped to the laboratory at room temperature. DBS were processed for blood elution, automated nucleic acid extraction and HBV-DNA and HCV-RNA detection by real-time PCR. For the detection of HCV-RNA, DBS samples (one spot) were eluted and analysed in the *m*2000 system with the Abbott RealTi*me* HCV assay (Abbott Molecular) according to manufacturer's

instructions. This assay has been approved for in vitro diagnostics using DBS samples (CE-IVD) and has a lower limit of detection of 462 IU/mL, compared to 12 IU/mL for the same assay in venous plasma[17]. HBV DNA testing in DBS samples was assessed within this study, and results were not delivered to participants. For the nucleic acid extraction and detection of HBV DNA from DBS the Alinity m HBV Assay (Abbott Molecular) was used out of product specifications. The lower limit of detection of this assay in DBS samples was estimated at 1115 IU/mL by Probit analysis using mock DBS samples with known decreasing DNA concentrations[18], in comparison with a lower limit of detection of 10 IU/mL in plasma.

Linkage to care and access to treatment. Participants testing positive with RDTs in the community events were scheduled a visit to the IHU for the delivery of HCV-RNA DBS results and to have blood drawn for a routine analytical exam. This exam determined biochemical (ALT, AST, GGT), serological (HBsAg, anti-HBc, HBeAg, anti-HCV, anti-HDV and HIV) and virological parameters (HBV DNA). Additionally, liver fibrosis was evaluated in viremic HBV and HCV patients by non-invasive serum markers (FIB-4 index, based on transaminases, platelets and age)[19]. For participants with hepatitis C and absence of advanced liver disease, treatment was dispensed at the IHU by a specifically trained general practitioner, once the antiviral had been prescribed by the hepatologist. Participants with hepatitis C and advanced liver disease or with HBV infection were referred to the hepatologist at the hospital to evaluate the need of treatment.

Participant follow-up. Community health agents contacted participants positive for HBV or HCV rapid tests by telephone call to schedule the required medical visits and reinforce attendance. The following outcomes were recorded: i) attendance of participants with a positive HBsAg or HCV-Ab result to the IHU to receive DBS HCV-RNA test results and undergo a routine analytical exam, and ii) attendance of HBV-DNA positive participants to hospital visits to assess the need of antiviral treatment, and attendance of HCV-RNA positive participants to medical visits related to antiviral treatment and assessment of sustained virological response at week 12 after treatment (SVR12). Viremic participants who did not attend the visits after repeated telephone calls were considered lost to follow-up (LTFU). Participants were followed up through electronic medical records review until 7 months after the recruitment in HBV positive participants and until the assessment of cure (SVR12) in HCV positive participants.

For those patients for which serological markers, viral load, as well as biochemical and histological characteristics were available, HBV infection was categorized according to current guidelines[20]. Late presentation was defined based on the consensus definition proposed by Mauss et al.[21], if advanced liver disease was present at HBV or HCV diagnosis (defined as FIB-4 > 3.25 or liver stiffness > 9.5kPa).

Data analysis. The HepBC*link* strategy was evaluated using a series of quality indicators in order to evaluate the quality of this community-based action and compare it to other HBV and HCV screening programmes:

- Effectiveness indicators: percentage of people who accepted to participate in the study (degree of participation), number of people attending educational sessions, number of people tested, percentage of people who reported to have been previously tested, percentage of people with and HBsAg or HCV-Ab positive result among those tested, percentage of people who received test results among those tested (complete screening), percentage of people who tested HBV-DNA who visited the hepatologist or HCV-RNA positive and attended doctor's appointment at the IHU among all positive cases (linkage to care) and percentage of people who tested HBV-DNA or HCV-RNA positive and visited the doctor, started and completed treatment (retention in care).
- Impact indicator: percentage of people who tested HBV or HCV positive and presented late, according to the definition by Mauss et al.

Additionally, we measured acceptability as to what extent the new intervention was judged as suitable and satisfying to programme recipients, by asking the following two closed questions (5-point Likert scale): "do you agree with HBV and HCV testing being carried out within a community intervention?" and "are you satisfied with HBV and HCV testing during the intervention?"

Besides, the proportion of participants who tested positive for HCV-Ab and RNA was examined (prevalence of HCV exposure and viremic infection). The proportion of participants with HBsAg or HCV-Ab and HBV-DNA or HCV-RNA that were previously unknown (among those testing positive) was assessed. Finally, the number of participants needed to screen in order to detect one new HBV or HCV diagnosis was also calculated by dividing the number of people tested by the number of new diagnoses of viremic HBV or HCV infection.

Statistical analysis was descriptive and stratified by sex, including analysis of frequency, and the Mann–Whitney U test to compare medians and chi-square tests to

compare categorical differences. Interquartile ranges (IQRs) were calculated for quantitative variables. Prevalence was calculated, and 95% CIs were estimated with the Clopper-Pearson exact method. The analysis was performed with R version 4.0.3. Self-knowledge of disease status was evaluated by comparing HCV test results with self-reported data.

RESULTS

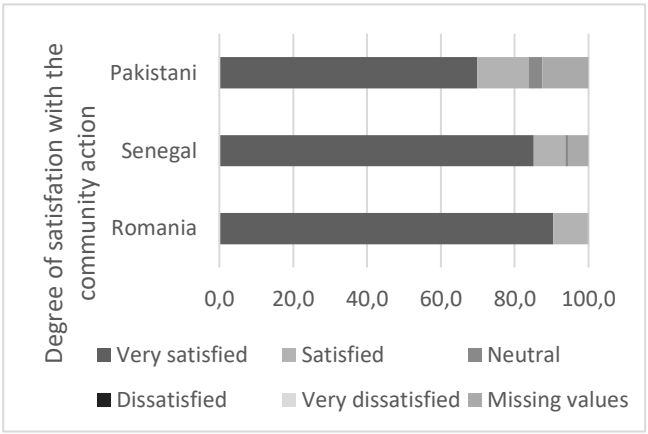
Study feasibility and characteristics of study participants. Among all migrants that were approached (N=849), 786 agreed to participate in the study (92.6% of participation): 85.2% (346/406) among migrants from Pakistan, 99.7% (304/305) from Senegal and 98.6% (136/138 from Romania). Among those who refused to participate the main reasons were fear of results (66.7%) and no time to get tested at that moment (33.3%); 3 (4.7%) reported an active infection for HBV and 3 (4.7%) for HCV, all six from Pakistan (three women and three men).

Overall, 68 education and testing actions were carried out in different community settings. For the Pakistani population, these interventions were carried out in the consulate (*n*=177, 51.2%), mosque (*n*=91, 26.3%) and taxi driving schools (*n*=78, 22.5%); for the Senegalese in civil associations (*n*=297, 97.7%) and a settlement (*n*=7, 2.3%); and for the Romanian population in a church (*n*=101, 74.3%), households (*n*=24, 17.6%) and institutional places (*n*=11, 8.1%). For the latter it was not possible to reach the intended sample size of 300, due to the following issues: i) the complexity in finding individuals from this country who could be trained as community health agents and had a continued dedication; ii) the difficulty in diversifying testing sites other than the Orthodox church; and iii) the conflict between Russia and Ukraine, which made creating links with the community more difficult.

Table 1 summarizes demographic characteristics, healthcare access, previous knowledge of viral hepatitis and previous testing in the study population stratified by country of origin. We found significant differences between migrants from Pakistan, Senegal and Romania; Pakistani migrants are younger (median age of 38.4 years), had been living in Spain for less time (median of 11.2 years), and had the lower percentage of participants that speaks Catalan and/or Spanish (62.1%); the majority of Romanian participants were female (60.8%), had the lower percentage of participants that have the public healthcare card (84.2%), however, they had a higher knowledge of what hepatitis B and C are and (71.2% and 70.5%, respectively) a higher percentage of previous screening for

HBV and HCV (12.1% and 9.9%, respectively); finally in participants from Pakistan and Senegal predominated the male gender and have the same number of participants who reported a previously consume of injected drugs (4 participants for each country of origin). Additionally, the knowledge of what HBV and HCV are were significantly higher among women than men (for HBV, 62.1% in women vs 40.7% in men, and for HCV, 61.9% vs 39.7% in women and men respectively, with a p-value<0.001 for both variables). Overall, 11 out of the 54 participants previously tested reported a previous diagnosis of HBV infection, four of them had been under treatment previously, and another three reported to be currently linked to the healthcare system. In terms of HBV vaccination status, Pakistani participants reported a significantly higher vaccination rate than those from the other countries. Senegalese participants showed a lower knowledge on HBV infection in any relative. For HCV, nine out of the 60 participants who had been previously tested, reported a previous positive result and five of them reported to have received antiviral treatment.

Regarding the acceptability and satisfaction (**Figure 2**), participants from Pakistan present a strongly agree to be tested during community action (98.6%) compared to Senegalese and Romanian (92.8% and 82.4%, respectively); in contrast, Romanian participants showed more satisfaction with the community action (90.5% vs 85.2 for Senegalese and 69.9% for Pakistani) Overall, the degree of agreement and satisfaction was high in all three populations.



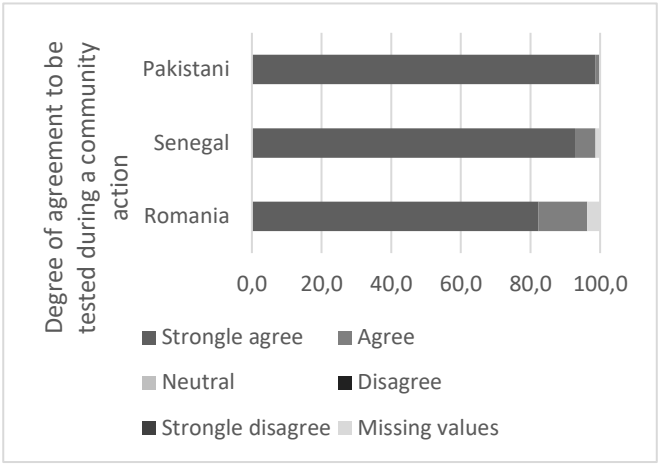


Figure 2. Degree of acceptance and satisfaction with the community action.

<u>HBV community testing and linkage to care.</u> **Figure 3** shows the flowchart of study participants through testing, linkage to care and treatment for each country of origin. In the Pakistani group, 3 (men) of 346 participants were reactive to the HBsAg RDT (0.9% positivity rate) and two of them were unaware of having been infected (2/3 new diagnoses). These two participants were

lost to follow-up after they had been referred to the hospital, and the participant previously diagnosed and linked to care was under treatment (HBeAg negative chronic infection) (**Figure 3**). The number of people needed to screen to detect a new hepatitis B diagnosis was 173 (**Figure 4**).

In the Senegalese group, 25 of 304 participants were HBsAg positive (8.2% positivity rate; 88% being men and 12% women). Eight (32%) had been previously diagnosed and linked to care and 17 (68%) were unaware of having been infected (newly diagnosed). Twelve out of 17 new diagnoses (70.6%) were linked to care at the IHU and the presence of viremia was confirmed in all of them through routine venous blood viral load testing. Among them, 7 (58.3%) participants were referred to the hepatologist and none of them met treatment initiation criteria. The other ten newly diagnosed participants were lost during the follow-up: five did not attend the visit to the IHU (one moved to France, two were not interested, and two for unknown causes); four attended the IHU visit but did not return for the blood work results (and, therefore, could not be referred to the specialist), and the last one was derived to the hepatologist but did not attend (**Figure 3**). Of all 25 HBV infected participants, eleven could be categorized according to routine testing of blood markers and all of them had a HBeAg negative chronic infection. The number of people needed to screen to detect a new HBV diagnosis was 18 (**Figure 4**).

In the Romanian group, 2 (both being women) of 136 participants were HBsAg positive (1.47%) and one of them was unaware of having been infected (1/2 newly diagnosed). Both of them were linked to the specialist but did not meet treatment initiation criteria (HBeAg negative chronic infection) (**Figure 3**). The number of people needed to screen to detect a new HBV diagnosis was 68 (**Figure 4**).

Regarding DBS testing for HBV-DNA, DBS samples were obtained in 25 out of 30 cases (83.3%; the other five were already linked to care). However, due to losses to follow up, routine HBV viral load testing was only possible in 16 cases for comparison of HBV-DNA results. HBV-DNA was detected in 8/16 (50%) DBS samples from participants with viral loads in plasma between 331 and 14,454 IU/mL. No amplification was detected in the rest of the DBS samples, corresponding to participants with viral loads in plasma between 33 and 2089 IU/mL, as expected due to the lower detection limit previously observed for DBS samples[18].

HCV community testing, linkage to care and treatment. In the Pakistani group, 12 of 346 participants were reactive to the HCV-Ab RDT (3.5% seroprevalence; 91.7%

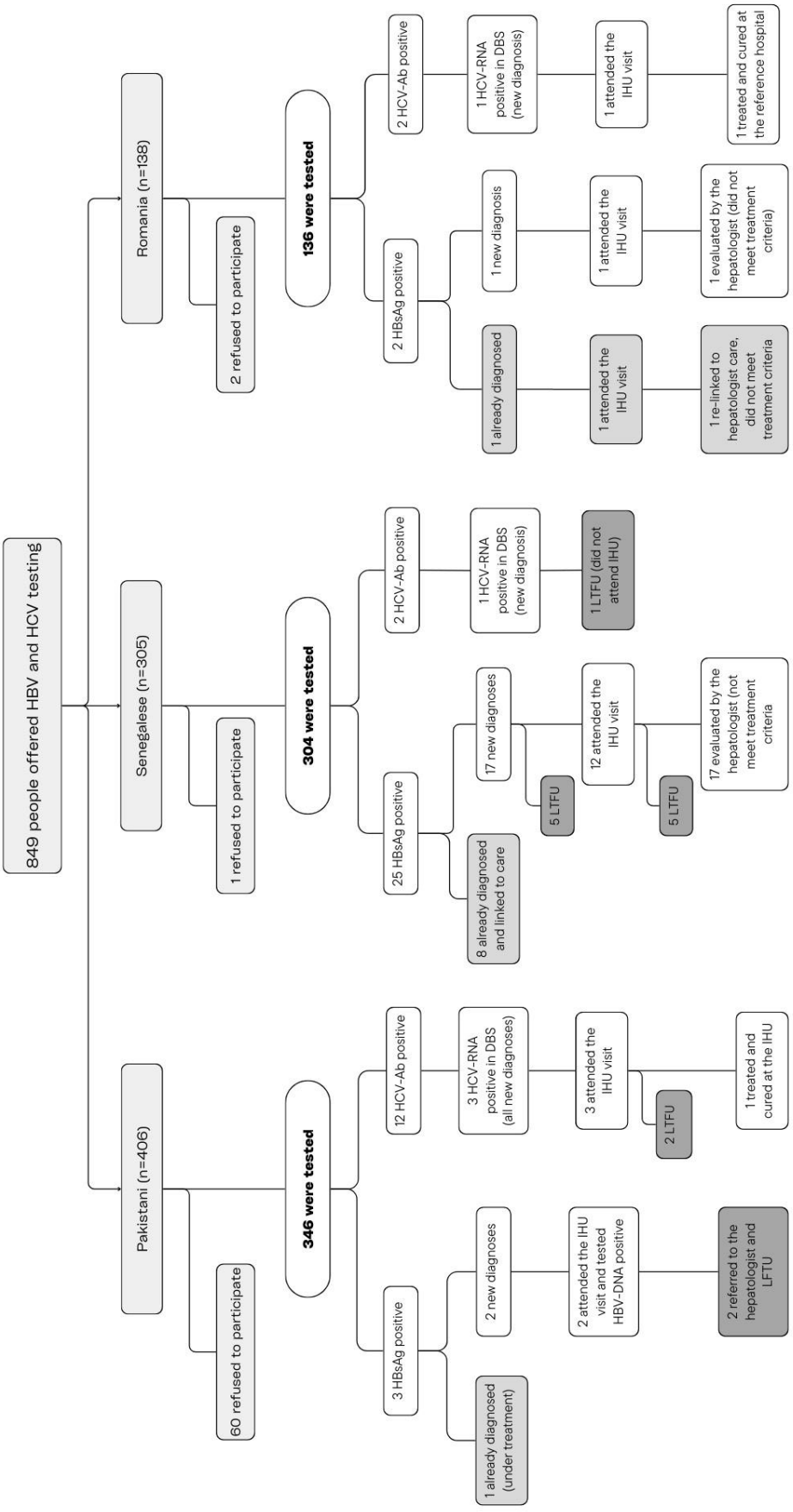


Figure 3. Flowchart depicting the recruitment, testing, linkage to care and follow-up for HBV and HCV according to country of origin. HBV, hepatitis B virus; HCV hepatitis C virus; IHU, International Health Unit; LFTU, lost to follow up; HBsAg, hepatitis B virus surface antigen; HCV-Ab, antibodies against hepatitis C virus.

being men and 8.3% women) and 66.6% were unaware of having been infected. All 12 cases (100%) accepted the DBS collection and 3 were HCV-RNA positive (3/3 all newly diagnosed; all being men), which represents a viremic infection prevalence of 0.86% (3/346). One of them received treatment at the IHU during the study. The remaining two were considered lost to follow-up after their first visit at IHU (Figure 3). The number of people needed to screen to detect a new hepatitis C diagnosis was 115 (Figure 4).

In the Senegalese group, 2 (both being men) out of 304 participants were HCV-Ab positive (0.65%), and both were unaware of having been infected. Viremia was positive in one of them (1/304; 0.32% viremic infection prevalence), who did not attend the visit at IHU and was thus considered lost to follow-up) (**Figure 3**). The number of people needed to screen to detect a new hepatitis C diagnosis was 304 (**Figure 4**).

In the Romanian group, 2 (a man and a woman) of 136 participants were HCV-Ab positive (1.47% seroprevalence) and both (100%) were unaware of having been infected. Both accepted the DBS collection and one was viremic (newly diagnosed), which represents a viremic infection prevalence of 0.73% (**Figure 3**). This case was considered a late diagnosis, with a liver stiffness of 18.1 kPa, which received treatment with direct acting antivirals at the hospital and achieved cure (SVR12). The number of people needed to screen to detect a new hepatitis C diagnosis was 136 (**Figure 4**).

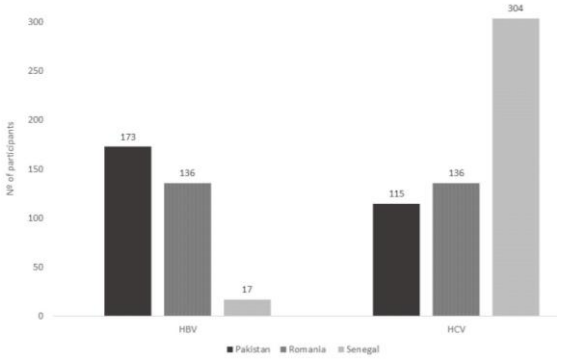


Figure 4. Number of persons needed to screen to find a new diagnosis of viremic HBV or HCV infection. HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus.

Quality indicators for the HepBC*link* intervention. Quality indicators of effectiveness and impact are summarized in **Supplementary Table 1**. Regarding acceptability, all participants agreed and were satisfied with getting tested during the intervention.

DISCUSSION community

Migrants are a key populations affected by HBV and HCV in Europe and targeted screening of this population has been recommended. Bringing screening into the community with involvement of vulnerable populations in education and service delivery breaks the main barriers that migrant communities face when accessing the mainstream healthcare

services. The HepBC*link* builds on previous experience in migrants[15], expanding HBV and HCV education and screening through a community action carried out by community agents from the same country of origin as participants (Pakistan, Senegal and Romania). This community action also involved simplified access to care and treatment and, despite inevitable losses to follow up, showed feasibility and high acceptability even over the COVID-19 pandemic.

Regarding the degree of participation in the community action, 92.6% of the 849 migrants approached agreed to participate in the study and undergo screening for HBV and HCV infection. This proportion is in line with a study in Sicily in community centers which found 95.9% of African migrants agreed to be screened for HBV, HCV and HIV infections[22] and with a study carried out in a Service of International Medicine in Northern Italy among undocumented migrants from non-EU countries in which 91.4% accepted to be screened for HBV[23]. However, the degree of participation in screening studies varies according to the study population and the country where it is performed. In the Netherlands, only 57% among undocumented migrants and uninsured legal residents agreed to participate in HBV, HCV and HIV screening in NGOs centers[24]. Besides high participation, 100% of HepBC*link* participants tested agreed and 99.1% were satisfied with getting tested during the community action.

The knowledge of hepatitis B and C among the participants was limited, especially among Senegalese participants (35.7% and 33.8% respectively), compared to participants from Pakistan (47.7% for HBV and 47.7% for HCV) and Romania (69.6% and 68.9%, respectively). These differences might also be related to gender, as knowledge was higher among women, who predominated among Romanian participants (as screening was mostly carried out in a church), while men predominated among the other two countries of origin. A study in Germany in migrants from sub-Saharan Africa found that the proportion of participants with knowledge of different facts asked in a questionnaire about HBV and HCV varied from 40 to 58%, with was similar to the present study, but they did not found differences between women and men[25]. Overall, less than 10% of the participants reported to have been tested before. These numbers are lower than those found in the Barcelona greater area study in west African migrants (mostly from Ghana), were 18.2% of the participants had been tested before for HBV[26], and in a study in the Netherlands (30% for HBV and 16.6% for HCV)[24]. The lack of knowledge of HBV and HCV among

migrants groups makes them more vulnerable to infections, due lack of awareness of the risks.

The three countries included in this study were chosen due to their representation among migrants in Catalonia and their high prevalence for HBV and/or HCV. Among them, Pakistan is the fifth most common country of origin for migrants in Catalonia and has the fourth largest number of HCV infections globally, with a seroprevalence of 5.5% and an estimated viremic prevalence of 4.3%[27,28], and an HBV prevalence of 4.1%[29]. Romania is the second most represented country among migrants living in Catalonia, and presents an estimated prevalence for HBsAg and anti-HCV of 5.2-5.7% and 3.2%, respectively[30,31]. Finally, Senegal is a country with a high endemicity especially for HBV, with an estimated HBsAg prevalence of 10.1-15.2%, but also for HCV (5.3%) seroprevalence. However, the prevalences observed in this study were lower than in the country of origin. This fact may be due to the "healthy immigrant effect". Foreign-born individuals are healthier and live longer than native-born individuals[32] and especially recent immigrants, are less likely to suffer from chronic health problems, mental health problems and/or substance use disorder.

The HBV infection prevalence observed was 8.2%, 1.4% and 0.9% for Senegalese, Romanian and Pakistani migrants, respectively. These populations present a prevalence 12.4, 2.1 and 1.4 times higher compared to the general population in Spain (0.66%)[33], which justifies screening and linking them to care, in order to achieve the elimination goals. The prevalence observed in this study was lower than previously reported by the European Center for Disease Prevention and Control (12.7% for Senegal, 5.5% for Romania and 4.2% for Pakistan)[31], but in line with a study in Northern Italy in undocumented migrants from non-EU countries (13% from Senegal, 3.7% in participants from Romania and 2.1% from Pakistan[23]). Another study in Sicily in African migrants found 9.7% HBsAg prevalence in Senegalese migrants, and no co-infection with HDV was found[22]

In this study, 54.5% of newly diagnosed cases (83.3% of them being of Senegalese origin) were lost to follow-up. While community health agents tried to call or visit these participants, most of these losses to follow up occurred during the process of referral to the specialist (58.3%), followed by participants lost before the first visit to the IHU (41.7%). Additionally, chronic HBV infection requires monitoring over time, and this engagement in long-term care may be even more difficult among highly mobile populations, such as migrants. Strategies to minimize losses to follow-up should be further refined, increasing simplified

treatment access, such as direct referral to the specialist [Camila]. Among all participants who tested positive for HBsAg and were linked to care, none were candidate to receive antiviral treatment. In fact, fewer than 1 in 5 West African people with chronic HBV infection are eligible for treatment[34]. This scenario may change in the future with the recently published new HBV treatment guidelines[35].

Vaccination at birth is the most effective way of decreasing HBV infection[4] ; in lower- and middle-income countries vaccination rates have increased over the last year, but there is a lag time before this protective effect can be observed in migrants from these countries[36]. Most HepBC*link* participants did not know their vaccination status (41.2%) or had not been vaccinated (39.8%), similar to in a study in Barcelona in African communities in which 70.1% of the participants reported not being vaccinated against HBV followed by not being sure (14.6%)[37]. Therefore, screening and vaccination programs in migrants should be strengthened.

HBV-DNA detection in DBS was observed in half of the cases with detectable plasma viral load, with plasma viral loads between 331 and 14,454 IU/mL. These results are in agreement with those found in a study performed with plasma separation cards in Barcelona, in which 44.4% of the participants with detectable plasma viral load were detected[37]. Nevertheless, DBS testing would identify most patients that could potentially require antiviral treatment (viral load >2000 IU/mL) for reinforced linkage to care for liver function tests and treatment evaluation. Therefore, DBS testing could complement rapid HBsAg testing for the screening of HBV infection in these migrant populations.

The prevalence of HCV antibodies in the general population in Spain was estimated to be 0.85%[38]. The HCV seroprevalence observed in HepBC*link* was 3.6%, 1.47% and 0.65% for Pakistan, Romania and Senegal, respectively. Thus, the Pakistani and Romanian population present a seroprevalence 4.2 and 1.8-fold higher than the general population in Spain (0.85%)[39], while the prevalence in migrants from Senegal is similar. The prevalence of viremic HCV infection (RNA positive) was 0.86%, 0.73% and 0.32% for migrants from Pakistan, Romania and Senegal. Therefore, for Pakistani and Romanian migrants it is 4 and 3-fold higher, respectively, compared to the general population in Spain (0.22%)[39], while for Senegal is not higher. As with HBV, the observed prevalence for HCV was lower than the estimated prevalence in a Spanish study[40] (seroprevalence of 5.0%, 5.3% and 3.2% for Pakistan, Senegal and Romania). The seroprevalence observed in Senegalese migrants is in line with a study in Sicily, where the seroprevalence was 0.9%[22]. The

seroprevalence for HCV observed in the Pakistani community is similar to that observed in a previous study in the same area performed before the COVID-19 pandemia, where the seroprevalence was 4.6%, with a viremic infection prevalence of 1.2%[15]. The prevalence of viremic HCV infection observed in Romanian population in this study is lower than that reported in previous analysis, which reported a prevalence of 2.26% in general population[41]. Most losses to follow-up in the HepBC*link* study occurred during the process of referral to the specialist (two participants out of six were treated and cured), followed by participants lost at the first visit to the IHU.

Lastly, the community-action for HBV and HCV testing in these three populations is more effective in migrants from Senegal, as 17 people need to be screened to find a new diagnosis, followed by HCV screening in the Pakistani population, with 115 people screened to find a positive diagnosis, due to each migrant population has different prevalence for HBV and HCV. Even so, the prevalence found in these three populations for the two viruses is higher than the general population in Spain, except for the Senegalese population and HCV.

This study has several limitations. Firstly, since participants were recruited by convenience sampling, this cohort may not be representative, and the results of this study may not be generalizable to the whole migrant population from each of the tested countries, or to migrants from the same origin living in other countries. Especially, the study was conducted during the COVID-19 pandemic, which made community outreach activities challenging, due to the national restrictions at the time. Secondly, self-reported data regarding previous HBV and HCV testing and diagnosis among participants may not be completely reliable due to limited recall. Thirdly, the use of point-of-care tests for screening may have led to an underestimation of prevalence due to limited sensitivity in comparison with standard diagnostic tests. Finally, vaccination of candidate participants could not be performed at the IHU, and they were referred to primary care. Therefore, vaccination follow-up was not possible, and we did not know whether they were vaccinated or not.

In conclusion, the HepBC*link* model of HBV and HCV care has proven to successfully reach hidden migrant populations from Pakistan, Senegal and Romania in situation of vulnerability and providing them education on viral hepatitis, and access to testing and care, by culturally trained peer navigators. The high prevalence observed in the different groups, and the limited self-knowledge of their status against HBV and HCV status

justify targeted screening in these groups in agreement with recommendations by the WHO and ECDC. However, referrals to treatment should be further simplified to minimize losses to follow-up. This decentralized care model was also piloted in other regions in Catalonia[42] to assess scaling up this intervention and its usefulness in reaching WHO elimination targets. Additionally, the low vaccination rate and lack of knowledge of HBV vaccination status was remarkable, for which HBV vaccination should also be reinforced ideally in the community.

References

1. World Global health sector strategies on, respectively, HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections for the period 2022-2030. Geneva: World Health Organization; 2022.
2. World Health Organization (WHO). Hepatitis C Virus. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c
3. World Health Organization (WHO). Viral hepatitis. https://www.who.int/health-topics/hepatitis#tab=tab_2
4. Global health sector strategy on viral hepatitis 2016-2021. Geneva: World Health Organization (WHO); 2016.
5. European Centre for Disease Prevention and Control. Public Health Guidance on Screening and Vaccination for Infectious Diseases in Newly Arrived Migrants within the EU/EEA. Stockholm: ECDC; 2018.
6. Global Hepatitis Report 2017. Geneva: World Health Organization; 2017.
7. Greenaway C, Makarenko I, Chakra CNA, et al. The effectiveness and cost-effectiveness of hepatitis c screening for migrants in the EU/EEA: A systematic review. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15(9). doi:10.3390/IJERPH15092013
8. Rein DB, Lesesne SB, Smith BD, Weinbaum CM. Models of Community-Based Hepatitis B Surface Antigen Screening Programs in the U.S. and Their Estimated Outcomes and Costs. *Public Health Reports*. 2011;126(4):560-567. doi:10.1177/003335491112600412
9. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
10. Guidelines for the care and treatment of persons diagnosed with chronic hepatitis C virus infection. Geneva: World Health Organization; 2018.
11. Lange B, Cohn J, Roberts T, et al. Diagnostic accuracy of serological diagnosis of hepatitis C and B using dried blood spot samples (DBS): Two systematic reviews and meta-analyses. *BMC Infect Dis*. 2017;17. doi:10.1186/s12879-017-2777-y
12. Rodríguez-Tajes S, Domínguez Á, Carrión JA, et al. Significant decrease in the prevalence of hepatitis C infection after the introduction of direct acting antivirals. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. 2020;35(9):1570-1578. doi:10.1111/jgh.14984
13. Ahmad AA, Falla AM, Duffell E, et al. Estimating the scale of chronic hepatitis B virus infection among migrants in EU/EEA countries. *BMC*

Infect Dis. 2018;18(1). doi:10.1186/s12879-017-2921-8

14. Instituto Nacional de Estadística (INE). Porcentaje de población extranjera por comunidad autónoma y provincia, sexo, Comunitarios/No Comunitarios y tamaño de municipio. https://www.ine.es/jaxi/Datos.htm?path=/t20/e245/p04/provi/l0/&file=0tamu004.px
15. Martró E, Ouaarab H, Saludes V, et al. Pilot hepatitis C micro-elimination strategy in Pakistani migrants in Catalonia through a community intervention. *Liver International*. 2022;42(8):1751-1761. doi:10.1111/liv.15327
16. Ouaarab Essadek H, Borrás Bermejo B, Caro Mendivelso J, et al. "HEPARJOC-ACTÚA": herramienta educativa creada a través de un proceso de investigación-acción participativa con colectivos inmigrantes vulnerables para mejorar la accesibilidad al diagnóstico de la hepatitis B. *Rev Esp Salud Publica*. 2020;94.
17. Abbott RealTime HCV assay specifications. https://www.molecularcatalog.abbott/int/en/Abbott-Realtime-HCV
18. Not A, Ouaarab H, Treviño B, et al. Performance of dried blood spot samples at HBV-DNA detection with a commercial assay, both in the laboratory and in the field for the community screening of migrants. Abstract Book, International Viral Hepatitis Elimination Meeting Amsterdam, Netherlands. 1 - 2 December 2023.19. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006;43(6):1317-1325. doi:10.1002/hep.21178
20. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Screening and Testing Recommendations for Chronic Hepatitis B Virus Infection (HBV). Published 2023. https://www.cdc.gov/hepatitis/hbv/testingchronic.htm#:~:text=CDC recommends screening all adults,regardless of disclosure of risk.
21. Mauss S, Pol S, Buti M, et al. Late presentation of chronic viral hepatitis for medical care: a consensus definition. *BMC Med*. 2017;15(1). doi:10.1186/S12916-017-0856-Y
22. Prestileo T, Di Marco V, Dino O, et al. Effectiveness of a screening program for HBV, HCV, and HIV infections in African migrants to Sicily. *Digestive and Liver Disease*. 2022;54(6):800-804. doi:10.1016/j.dld.2021.08.024
23. El-Hamad I, Pezzoli MC, Chiari E, et al. Point-of-care screening, prevalence, and risk factors for hepatitis B infection among 3,728 mainly undocumented migrants from Non-EU countries in northern Italy. *J Travel Med*. 2015;22(2):78-86. doi:10.1111/jtm.12176
24. Klok S, van Dulm E, Boyd A, et al. Hepatitis B Virus (HBV), Hepatitis C Virus (HCV) and Human Immunodeficiency Virus (HIV) infections among undocumented migrants and uninsured legal residents in the Netherlands: A cross-sectional study, 2018-2019. *PLoS One*. 2021;16(10). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0258932
25. Wenz B, Nielsen S, Gassowski M, et al. High variability of HIV and HCV seroprevalence and risk behaviours among people who inject drugs:

Results from a cross-sectional study using respondent-driven sampling in eight German cities (2011-14). *BMC Public Health*. 2016;16(1). doi:10.1186/s12889-016-3545-4
26. Picchio CA, Nomah DK, Rando-Segura A, et al. Community-based screening enhances hepatitis B virus linkage to care among West African migrants in Spain. *Communications Medicine*. 2023;3(182). doi:10.1038/s43856-023-00420-8
27. Mahmud S, Al Kanaani Z, Abu-Raddad LJ. Characterization of the hepatitis C virus epidemic in Pakistan. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):809. doi:10.1186/s12879-019-4403-7
28. Mooneyhan E, Qureshi H, Mahmood H, et al. Hepatitis C prevalence and elimination planning in Pakistan, a bottom-up approach accounting for provincial variation. *J Viral Hepat*. 2023;30(4):345-354. doi:10.1111/JVH.13802
29. Global hepatitis profile from Pakistan. https://www.globalhep.org/data-profiles/countries/pakistan.
30. Falla AM, Ahmad AA, Duffell E, Noori T, Veldhuijzen IK. Estimating the scale of chronic hepatitis C virus infection in the EU/EEA: A focus on migrants from anti-HCV endemic countries. *BMC Infect Dis*. 2018;18(1). doi:10.1186/S12879-017-2908-5
31. European Centre for Disease Prevention and Control. Epidemiological Assessment of Hepatitis B and C among Migrants in the EU/EEA. Stockholm: ECDC; 2016. doi:10.2900/05429
32. Calvo F, Guillén A, Carbonell X, et al. "Healthy immigrant effect" among individuals experiencing homelessness in Spain?: Foreign-born individuals had higher average age at death in 15-year retrospective cohort study. *BMC Public Health*. 2023;23(1). doi:10.1186/s12889-023-16109-5
33. Ministerio de Sanidad. 2º Estudio Seroprevalencia Enfermedades Inmunoprevenibles. 2020 www.sanidad.gob.es/areas/promocionPrevencion/vacunaciones/comoTrabajamos/docs/EstudioSeroprevalencia_EnfermedadesInmunoprevenibles.pdf
34. MacKinnon MJ, Picchio CA, Nomah DK, et al. Chronic conditions and multimorbidity among West African migrants in greater Barcelona, Spain. *Front Public Health*. 2023;11. doi:10.3389/fpubh.2023.1142672
35. Guidelines for the prevention, diagnosis, care and treatment for people with chronic hepatitis B infection. Geneva: World Health Organization; 2024.
36. Mitchell T, Armstrong GL, Hu DJ, Wasley A, Painter JA. The increasing burden of imported chronic hepatitis B - United States, 1974-2008. *PLoS One*. 2011;6(12). doi:10.1371/journal.pone.0027717
37. Picchio CA, Nomah DK, Araujo SG, et al. A novel model of care for simplified testing of HBV in African communities during the COVID-19 pandemic in Spain. *Sci Rep*. 2021;11(1). doi:10.1038/s41598-021-96350-3
38. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad. *Guía de Cribado de La Infección Por El VHC*.; 2020. https://www.mscbs.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/docs/GUIA_DE_CRIBADO_DE_LA_INFECCION_POR_EL_VHC_2020.pdf
39. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad. *Plan Estratégico Para El Abordaje de La Hepatitis C*

En El Sistema Nacional de Salud.; 2020.

40. Alarcón-Linares ME, Torres-Cantero A, Subirá C, et al. Geographic analysis and estimation of hepatitis C cases in migrant populations living in Spain: Is a country-based screening strategy appropriate? *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. 2019;111(9):615-625. doi:10.17235/REED.2019.6117/2018
41. Thomadakis C, Gountas I, Duffell E, et al. Prevalence of chronic HCV infection in EU/EEA countries in 2019 using multiparameter evidence synthesis. *The Lancet regional health Europe*. 2023;36. doi:10.1016/J.LANEPE.2023.100792
42. Abstract SEIMC 2024. (Faltarà concreter un cop estigui en el llibre d'abstracts o pàgina web)

Table

Table 1. Sociodemographic characteristics of the HepBC*link* participants.

	Pakistan (N=346)		Senegal (N=304)		Romania (N=136)		
	N	%	N	%	N	%	*p-value*
Sociodemographic characteristics:							
Women	84	24.3	65	21.4	79	60.8	<0.001
Median age, yrs	38.4	12.0	42.0	10.5	47.0	13.8	<0.001
Median time of residency in Spain, yrs	11.2	7.18	15.8	8.73	16.1	5.63	<0.001
Speaks Spanish and/or Catalan	211	62.1	279	93.6	106	80.3	<0.001
Education							-
None	17	4.9	43	14.3	6	4.7	
Primary	137	39.8	107	35.7	16	12.4	
Secondary	123	35.8	119	39.7	83	64.3	
University	67	19.5	28	9.3	21	16.3	
Current remunerated job	192	55.8	205	68.3	70	58.3	-
Previous consume of drugs injected	4	1.16	4	1.36	0	0	0.005
Access to healthcare services:							
Public healthcare card	317	92.7	280	95.9	112	84.2	<0.001
At least one medical visit during the previous year	256	80.3	213	86.6	95	82.6	0.139
HBV:							
Knowledge on HBV	163	47.7	109	36.1	94	71.2	<0.001
Previously tested for HBV	19	5.5	27	8.9	16	12.1	0.044
Previously diagnosed with HBV	2	10.5	4	14.8	5	31.25	0.376
Treatment for HBV							1.000
Previously treated	1	50	2	50	1	20	
In treatment	1	50	1	25	2	40	
Linked to HBV care	1	50	1	25	1	20	0.245
Previously HBV vaccinated							0.008
Yes	57	16.8	23	8.3	9	8.5	
No	143	42.2	117	42.2	51	48.1	
Don’t know	139	41.0	137	49.5	46	43.4	
Any relative with HBV							-
Yes	32	9.28	8	2.69	20	15.62	
No	177	51.3	89	29.9	57	44.5	
Don’t Know	136	39.4	201	67.4	51	39.8	
HCV:							
Knowledge on HCV	164	48.0	103	34.1	93	70.5	<0.001
Previously tested for HCV	22	6.4	25	8.3	13	9.9	0.405
Previously diagnosed with HCV	6	27.3	1	4.0	2	15.4	0.018

Previously treated for HCV	3	50.0	1	4.0	1	7.7	1.000

Yrs, years; HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus

Figures legends

Figure 1. HepBC*link* study design. HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus; DBS, dried blood spot.

Figure 2. Degree of acceptance and satisfaction with the community action.

Figure 3. Flowchart depicting the recruitment, testing, linkage to care and follow-up for HBV and HCV according to country of origin. HBV, hepatitis B virus; HCV hepatitis C virus; IHU, International Health Unit; LFTU, lost to follow up; HBsAg, hepatitis B virus surface antigen; HCV-Ab, antibodies against hepatitis C virus.

Figure 4. Number of persons needed to screen to find a new diagnosis of viremic HBV or HCV infection. HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus.

Supplementary Table 1. Quality indicators for the HepBC*link* community intervention for HBV.

	N (%)		
	Pakistan	Senegal	Romania
Effectiveness			
No of people attending educational sessions	346	304	136
No of people tested	346/346 (100)	304/304 (100)	136/136 (100)
% of people who reported to have been previously tested for HBV	19/346 (5.5)	27/304 (8.9)	16/136 (12.1)
% of people with a positive HBV test result (Ag)	3/346 (0.9)	25/304 (8.2)	2/136 (1.4)
% of people tested for HBV with a screening test who recieved test results (complete screening)	346/346 (100)	304/304 (100)	136/136
% of people who tested positive for HBV-DNA who visited doctor (linkage to care)	2/3 (66.6)	12/17 (70,6)	1/1 (100)
% of people who tested positive for HBV-DNA who visited the hepatologist (retention in care)	0	7/10 (70)	1/1 (100)
Impact			
% of people who tested HBV positive who were diagnosed late	0	0/17	0/1

Supplementary Table 2. Quality indicators for the HepBC*link* community intervention for HCV.

	N (%)		
	Pakistan	Senegal	Romania
Effectiveness			
No of people attending educational sessions	346 (-)	304 (-)	136 (-)
No of people tested	346/346 (100)	304/304 (100)	136/136 (100)
% of people who reported to have been previously tested for HCV	22/346 (6.4)	25/304 (8.3)	13/136 (9.9)
% of people with a positive HCV test result (Ab)	12/346 (3.5)	2/304 (0.7)	2/136 (1.5)
% of people tested for HCV with a screening test who recieved test results (complete screening)	346/346 (100)	304/304 (100)	136/136 (100)
% of people who tested positive for HCV-RNA who visited doctor (linkage to care)	3/3 (100)	0	1/1 (100)
% of people who tested positive for HCV-RNA who visited the doctor, started and completed treatment (retention in care)	1/3 (33.3)	0	1/1 (100)
Impact			
% of people who tested HCV positive who were diagnosed late	0	0	1

Annex 2

Altres articles realitzats durant la tesi:

- Martró E, Ouaarab H, Saludes V, Buti M, Treviño B, Roade L, Egea-Cortés L, Reyes-Ureña J, Not A, Majó X, Colom J, Gómez I Prat J; HepC*link* Study Group. Pilot hepatitis C micro-elimination strategy in Pakistani migrants in Catalonia through a community intervention. Liver Int. 2022 Aug;42(8):1751-1761. doi: 10.1111/liv.15327.
- Saludes V, Bordoy AE, Yela E, Turú E, Not A, López-Corbeto E, Egea-Cortés L, González-Candelas F, Casabona J; Group for the Study and Control of Infectious Diseases in Prison (GRUMIP); Marco A, Martró E. Incidence and molecular epidemiology of hepatitis C virus reinfection in prisons in Catalonia, Spain (Re-HCV study). Sci Rep. 2023 Sep 25;13(1):16012. doi: 10.1038/s41598-023-42701-1.
- Martínez-Riveros H, Martró E, Montoro-Fernandez M, Diaz Y, Muntada E, Romano-deGea P, Moreno-Fornés S, Mora R, Villegas L, Mena J, Roqueta Q, Hernández J, Vázquez M, Rius C, Román F, Not A, Muntané L, Colom J, Casabona J, Agustí C. An online hepatitis C virus self-sampling strategy for gay, bisexual, and other men who have sex with men and trans women: TESTATE C PLUS 2020-2021. J Evid Based Med. 2023 Dec;16(4):446-450. doi: 10.1111/jebm.12566.

Check for updates

Received: 13 September 2021 | Revised: 13 April 2022 | Accepted: 26 May 2022

DOI: 10.1111/liv.15327

Liver INTERNATIONAL WILEY

ORIGINAL ARTICLE

Pilot hepatitis C micro-elimination strategy in Pakistani migrants in Catalonia through a community intervention

Elisa Martró[1,2] | Hakima Ouaarab[3] | Verónica Saludes[1,2] | Maria Buti[4,5] | Begoña Treviño[6] | Luisa Roade[4] | Laia Egea-Cortés[7] | Juliana Reyes-Ureña[2,7] | Anna Not[1] | Xavier Majó[8] | Joan Colom[8] | Jordi Gómez i Prat[3] | on behalf of the HepC*link* Study Group

[1]Microbiology Department, Laboratori Clínic Metropolitana Nord, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Institut d'Investigació Germans Trias i Pujol (IGTP), Badalona (Barcelona), Spain

[2]Consorcio de Investigación Biomédica en Red de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

[3]Community & Public Health Team (ESPIC), Drassanes Vall d'Hebron Centre for International Health and Infectious Diseases, Barcelona, Spain

[4]Liver Unit, Internal Medicine Department, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain

[5]CIBER en Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

[6]Drassanes Vall d'Hebron Centre for International Health and Infectious Diseases, Barcelona, Spain

[7]Centre d'Estudis Epidemiològics sobre les Infeccions de Transmissió Sexual i Sida de Catalunya (CEEISCAT), Departament de Salut, Generalitat de Catalunya, Badalona (Barcelona), Spain

[8]Programa de prevenció, control i atenció al virus d'immunodeficiència humana (VIH), les infeccions de transmissió sexual (ITS) i les hepatitis víriques (HV), (PCAVIHV), Public Health Agency of Catalonia, Barcelona, Spain

Correspondence
Elisa Martró, Microbiology Department, Germans Trias i Pujol University Hospital and Research Institute (IGTP). Crta. del Canyet s/n. 08916 Badalona, Spain.
Email: emartro@igtp.cat

Funding information
This study was carried out with the support of Gilead Sciences (grant number GLD18-00062 to EM). The funder of the study had no role in study design, data collection, data analysis, data interpretation, writing of the report or the decision to publish. Authors thank the CERCA Programme/Generalitat de Catalunya for their support to the Germans Trias i Pujol Research Institute (IGTP). AN holds a PFIS grant [Ref. FI20/00211, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Fondo Social Europeo].

Handling Editor: Luca Valenti

Abstract

Background and Aims: Pakistani migrants in Catalonia, Spain, could have high hepatitis C virus (HCV) prevalence. The aims of the HepC*link* study were (i) to implement and assess the quality of a micro-elimination strategy based on a community intervention and (ii) to obtain data from primary care (PC) registries as a baseline comparator.

Methods: The community intervention targeted Pakistani adults and consisted of education, screening and simplified access to treatment. Quality indicators were calculated (effectiveness, impact and acceptability). The testing rate, the prevalence of HCV antibodies and HCV-RNA were compared with those observed in the Pakistani population accessing PC in the previous year.

Results: A total of 505 participants were recruited through the community intervention (64.6% men, median 37 years) vs those accessing PC (N = 25 455, 70.9% men, median 38 years). Among study participants, 35.1% did not know about HCV and 9.7% had been previously tested. The testing rate in the community intervention was 99.4% vs 50.7% in PC. Prevalence was 4.6% vs 7.1% (p = .008) for HCV antibodies and 1.4% (3/6 new diagnoses) vs 2.4% (p = .183) for HCV-RNA. Among the six viremic patients,

Abbreviations: 95% CI, 95% confidence interval; Ab-PoCT, Antibody point-of-care test; COVID-19, Coronavirus disease 2019; DAA, directly acting antiviral treatment; DBS, dried blood spots; HCV, hepatitis C virus; IHU, International Health Unit; LTFU, lost to follow-up; PC, primary care; SIDIAP, Information System for the Development of Research in Primary Care; SVR12, Sustained virological response at week 12 after treatment; WHO, World Health Organization.

© 2022 John Wiley & Sons A/S. Published by John Wiley & Sons Ltd.

three began treatment within the intervention and two through the usual circuit and all completed the full course.

Conclusions: This novel community intervention was well accepted and effective at reaching a Pakistani migrant population with a low-level knowledge of HCV and largely not tested before. The observed prevalence and the high unawareness of their HCV status justify a targeted screening in this group both in the community and in PC.

KEYWORDS
community health workers, dried blood spot testing, hepatitis C virus, micro-elimination, transients and migrants

1 | INTRODUCTION

Hepatitis B and C viruses are the main causes of cirrhosis, hepatocellular carcinoma and liver transplantation and are responsible for 96% of the mortality due to viral hepatitis in the world.[1] Specifically, hepatitis C virus (HCV) causes chronic hepatitis in 70% of cases (14 million in Europe).[2] Since there is no vaccine available, the prompt diagnosis of chronic cases and access to effective antiviral treatment is considered the key intervention for decreasing HCV-related mortality. The World Health Organization (WHO) has developed a global strategy to eliminate viral hepatitis as a public health threat worldwide by the year 2030 by, among other targets, increasing the diagnostic rate to 90%; only 19% of people living with hepatitis C knew their status in 2016.[3] In Spain, over half of the estimated cases of hepatitis C have been treated since the Strategic Plan for Tackling Hepatitis C in the Spanish National Health System was implemented in 2015.[4] However, among people accessing primary care (PC) in 2017–2018, 29.4% of those with viremic HCV infection had not yet been diagnosed.[5] Additionally, during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic, diagnosis rates have declined causing a delay in antiviral treatment, which could increase liver mortality and disease burden and costs.[6] Therefore, it is necessary to provide easy and rapid access to diagnosis and treatment, without leaving the most vulnerable populations behind. In this sense, micro-elimination strategies, in which testing and treatment programmes are tailored to each population's specific needs, including migrants from endemic areas, have been suggested as a useful approach to enable countries to reach elimination.[7]

Migrants are disproportionately affected by hepatitis C and are considered a key risk group in Europe and account for an estimated 14% of all chronic cases.[8] Among migrants, those originating from intermediate and high endemicity countries are the most affected.[9] For this reason, the WHO and European Centre for Disease Prevention and Control recommend the targeted screening of HCV in migrants from countries of intermediate or high endemicity (HCV seroprevalence in the general population ≥2% and ≥5% respectively).[10,11] However, migrant communities often face difficulties to access the mainstream health system due to cultural and language barriers, the fragmentation existing in the continuum of health services, or social vulnerability.[12] Therefore, decentralized community-based screening strategies implemented in collaboration with community organizations could increase testing by overcoming these barriers.[12] Bringing screening into the community improves the number of people who can be rapidly screened and linked to care,[13] promoting more equitable access to diagnosis.

Rapid tests for HCV antibodies (Ab) can be easily implemented in the community setting. Then, HCV-RNA can be determined from a sample of finger-prick blood collected as dried blood spots (DBS) to confirm viremic infections.[14] DBS facilitate community screening and are recommended by the WHO due to their easy collection, shipment and storage (room temperature), their high acceptability and the high sensitivity and specificity of HCV diagnostic assays.[15]

In Spain, 12% of chronic hepatitis C cases occur in the migrant population.[8] While HCV prevalence in the general population in Catalonia is low (Ab, 1.02%; RNA, 0.49%),[16] the region has the highest percentage of migrant population in Spain (15.1%, $N = 1\,159\,427$) (www.ine.es). Pakistan is the fifth most common country of origin for migrants in Catalonia (www.Idescat.cat), but the current HCV prevalence among the Pakistani community living in Catalonia is mostly unknown.[17] HCV prevalence in Pakistan is among the highest worldwide (6.2%),[18] and Pakistani migrants could account for 27 000 chronic hepatitis C cases in Europe (mostly living in the UK, Italy, Spain, Germany, Greece and France).[8]

Lay summary

- Hep*Clink* is a new intervention for hepatitis C carried out in one specific population and in their community. Pakistani migrants in Catalonia were tested and given education and easy access to care for the hepatitis C virus (HCV).
- It was effective at reaching a group of people who had not previously been tested for HCV and guiding those infected (1.2%) into a care and treatment regime.
- Information from PC health registers shows that HCV testing should be increased.

14783231, 2022, 8, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/liv.15327 by Universitat Autonoma De Barcelona, Wiley Online Library on [13/07/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

Accordingly, assessing hepatitis C micro-elimination strategies involving community outreach interventions targeting the Pakistani population in Catalonia is required. In this sense, the HEPscreen European project proposed key indicators to measure the quality of viral hepatitis screening programmes.[19] The current study aimed to implement and assess the feasibility and quality of a micro-elimination strategy based on a community intervention that brings together HCV education, screening and simplified access to treatment in Pakistani migrants living in Catalonia. Additionally, we aimed to describe the attendance of the Pakistani population to PC and their HCV testing rates and prevalence before the implementation of Hep*Clink*, as a baseline comparator.

2 | METHODS

2.1 | Study design

This Hep*Clink* cross-sectional community-based intervention was designed to increase HCV testing and access to care for Pakistani migrants living in Catalonia (March 2019 to February 2020). Additionally, we collected data on the attendance of the Pakistani population to PC, as well as their HCV testing rates and prevalence, previous to the implementation of the intervention (January to December 2018).

This project was approved by the ethics committees at Germans Trias i Pujol and Vall Hebrón Hospitals.

2.1.1 | Hep*Clink* community-based intervention

Study population

Migrants born in Pakistan and living in Catalonia, aged ≥18 years who accepted to participate and signed the informed consent were included. A convenience sample of 500 individuals was recruited prospectively as the objective of this study was not to recruit a representative sample but to evaluate the feasibility and quality of screening and linkage to care strategy in the community centres that serve them.

HepClink intervention

The intervention involved recruitment, education and testing within a single event in the community setting. HCV Ab-positive participants were scheduled a visit to an International Health Unit (IHU) for the delivery of HCV-RNA results, simplified liver disease evaluation and antiviral treatment access (Figure 1). The community actions were coordinated by the IHU's Community & Public Health Team, consisting of an infectious diseases and public health doctor, a community medicine nurse and two Urdu-speaking Pakistani community health workers (a man and a woman). These agents were trained in rapid HCV testing, DBS collection and pre- and post-test counselling.

Two community outreach strategies were designed and held in the Urdu language. In the group-based strategy, group educational sessions of 6–17 participants were performed at Pakistani associations, schools for adults, taxi schools, civic centres and households in the Barcelona metropolitan area. Participants were trained on viral hepatitis using the previously piloted interactive educational tool (HEPARJOC),[20] which was translated into Urdu and administered on a tablet. Participants were then invited to self-complete an epidemiological questionnaire and to get tested with a rapid HCV Ab point-of-care test (Ab-PoCT). Ab-positive participants were asked to provide a capillary blood sample by fingerstick collected as DBS for HCV-RNA testing. The whole process took 1–2 hours, depending on the number of participants. In the individual-based strategy, Pakistani migrants were individually approached in Pakistani restaurants, the Consulate General of Pakistan in Barcelona and in the street during the celebration of Pakistani Independence Day. After an initial sensitization with a video (HEPARJOC game 5),[20] individuals were asked to self-complete a shorter version of the epidemiological questionnaire and were tested as described above. This process took approximately 30 min to complete. In both strategies, a brief questionnaire on knowledge of viral hepatitis was offered (available upon request).

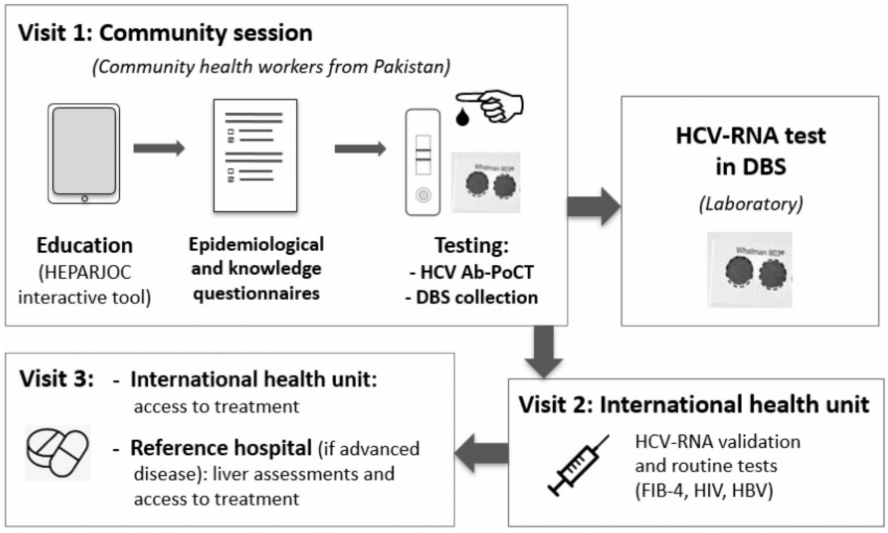


FIGURE 1 Hep*Clink* study design. HCV, hepatitis C virus; Ab-PoCT, antibody point-of-care test; DBS, dried blood spots; FIB-4, Fibrosis-4 index; HIV, human immunodeficiency virus; HBV, hepatitis B virus.

14783231, 2022, 8, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/liv.15327 by Universitat Autonoma De Barcelona, Wiley Online Library on [13/07/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

HCV diagnostic tests

Participants underwent HCV Ab-PoCT with a CE-marked rapid test (15 min) from fingerstick capillary blood (TÜRKLAB TIBBİ MALZEMELER SAN. ve TİC. A.Ş.) with 100% sensitivity and specificity, according to the kit insert. When positive, DBS (four spots, 50µl each) were collected using a 200 µl EDTA-coated Minivette (Sarstedt) and shipped to the laboratory for the detection of HCV-RNA as previously described.[21] This assay was 96.1% sensitive and 100% specific in people who inject drugs in real life[22] and fulfils international guidelines for HCV testing.[10,23] The assay was additionally validated in the migrant population within this study, by comparing DBS results with those of the gold standard method (HCV viral load in serum by the Cobas HCV Test, Roche Diagnostics). For this purpose, all Ab-positive participants were contacted for a medical appointment at the IHU, located in a predominantly migrant neighbourhood. Additionally, HCV genotyping was performed from DBS samples by amplification, Sanger sequencing and phylogenetic analysis of a fragment of the NS5B region, as previously described.[24]

Assessment of liver fibrosis and access to directly acting antiviral (DAA) treatment

Liver fibrosis was evaluated in viremic HCV patients by the FIB-4 index (based on transaminases, platelets and age).[25] Patients with a FIB-4 > 3.25 (significant fibrosis and/or cirrhosis) were referred to the hepatologist at a tertiary hospital for liver elastography (Fibroscan®) and abdominal ultrasound if liver stiffness >12 kPa. Decentralized treatment in cases without advanced liver disease was piloted for the first time in this setting; DAAs were dispensed by a doctor at the IHU, once prescribed by the hepatologist.

Epidemiological questionnaire

A self-completed questionnaire with closed questions in Spanish on socio-demographic data (such as year of arrival in Spain, previous access to healthcare and HCV testing and treatment) was filled in. Urdu-speaking community health agents assisted participants in completing it when required. Basic demographic data and self-reported HCV status were recorded for those that refused to participate in the individual-based strategy.

Participant follow-up

Community health agents called Ab-positive participants to schedule the required medical visits and reinforce attendance. The following outcomes were recorded: (i) attendance of participants with an HCV Ab-PoCT-positive result to the IHU to receive HCV-RNA test results, and (ii) attendance of HCV-RNA-positive participants to medical visits related to antiviral treatment and assessment of sustained virological response at week 12 after treatment (SVR12). Viremic participants who did not attend the visits after repeat telephone calls were considered lost to follow-up (LTFU). Participants undergoing antiviral treatment were followed up through electronic medical records review until the assessment of cure (SVR12).

Evaluation of the HepClink strategy

A series of indicators were calculated as previously described in the HEPscreen project[19] in order to evaluate the quality of this new testing strategy and compare it to other HCV screening programmes:

A Effectiveness indicators: number of people attending educational sessions, number of people tested, percentage of people who reported to have been previously HCV tested, percentage of people with an HCV Ab-positive result among those tested, percentage of people who received test results among those tested (complete screening), percentage of people who tested HCV-RNA positive and attended a doctor's appointment at the IHU among all HCV-RNA-positive cases (linkage to care) and percentage of people who tested HCV-RNA positive and visited the doctor, started and completed treatment (retention in care).

B Impact indicator: percentage of people who tested HCV positive and presented late, according to the definition by Mauss et al.[26]

Additionally, we measured acceptability as to what extent the new intervention was judged as suitable and satisfying to programme recipients, by asking the following two closed scale questions: "do you agree with hepatitis C testing being carried out within a community intervention?" and "are you satisfied with HCV testing during the intervention?"

Besides, the proportion of participants who tested positive for HCV Ab and RNA was examined (prevalence of HCV exposure and viremic infection) and the 95% confidence intervals (95% CIs) were calculated. The proportion of participants with HCV Ab and HCV-RNA that were previously unknown (among those testing positive) was assessed. Finally, the number of participants needed to screen in order to detect one new hepatitis C diagnosis was also calculated by dividing the number of people tested by the number of new diagnoses of viremic HCV infection.

2.1.2 | Description of baseline access and testing of Pakistani migrants in PC

We analysed data from the Information System for the Development of Research in PC (SIDIAP, by its Catalan acronym), which contains the anonymized, longitudinal information of over 5.6 million people (80% of the Catalan population),[27] assigned to 274 centres (3414 PC providers), managed by the Catalan Health Institute (ICS), a public company which is the main PC provider of the Catalan Health Service. Information was collected on socio-demographic characteristics and HCV tests. Data from Pakistani migrants living in the Barcelona metropolitan area for 1 year before the Hep*Clink* intervention (2018) were analysed to calculate the proportion of the tested population among those who accessed health care (emergency and scheduled visits), HCV seroprevalence among those tested, and the prevalence of viremic HCV infection among those tested. These proportions were compared to those observed in the Hep*Clink* intervention.

14783231, 2022, 8, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/liv.15327 by Universitat Autonoma De Barcelona, Wiley Online Library on [13/07/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

2.2 | Statistical analysis

Data analysis was descriptive and stratified by sex, including analysis of frequency, and the Mann–Whitney *U* test to compare medians and chi-square tests to compare categorical differences. Interquartile ranges (IQRs) were calculated for quantitative variables. Prevalence was calculated, and 95% CIs were estimated with the Clopper-Pearson exact method. The analysis was performed with R version 4.0.3. Self-knowledge of disease status was evaluated by comparing HCV test results with self-reported data.

3 | RESULTS

3.1 | HepC*link* community intervention

3.1.1 | Characteristics of study participants

A total of 505 participants were recruited: 349 (69.1%) through the individual strategy, and 156 (30.9%) through the group strategy. In the individual strategy, 15 individuals not previously tested for HCV Ab refused to participate (4.3%), they were younger than the participants (median age, 30 vs 36 years); their main reasons were not being ready to be tested (42.9%), lack of time (28.6%) and not wishing to get tested (21.4%). None of them had been tested for HCV previously. The rejection rate could not be estimated in the group strategy, as non-attendance to the sessions was not quantifiable.

The characteristics of the study participants are shown in Table 1. Briefly, 64.8% were men, the median age was 36.8 years (range, 18–67) and with a median of 9 years of residence in Spain (range, 0–28). Overall, 91.3% of participants had their public healthcare card, required for access; this percentage was higher in women than in men ($p < .001$). Additional information was asked to 188 (37.2%) participants: 87.7% of women and 74.8% of men reported having had at least one medical visit over the previous year ($p = .044$), 53.2% were able to understand Spanish and/or Catalan, 90.5% were born in Punjab and 62.0% of men and 16.0% of women reported having a paid job ($p < .001$).

Regarding information on HCV, 177 (35.1%) participants did not know about hepatitis C (42.2% of men vs 21.9% of women, $p < .001$). Overall, 49 (9.7%) participants had been tested previously (15.2% among those reporting a medical visit over the previous year); men had mostly been tested in Spain (57.7%) and women in Pakistan (70.0%). Fifteen out of 46 (three had missing information) reported a previous positive result (42.3% of men and 20.0% of women), which represents an overall self-reported HCV prevalence of 3.0%. Among

TABLE 1 Characteristics of the HepC*link* study participants by gender

Characteristics	Proportion (%)			
	Men ($n = 327$; 64.8%)	Women ($n = 178$; 35.2%)	Total ($N = 505$)	*p*-value
Median age, yrs.	37	36	36	.107
Median time of residency in Spain, yrs.	6.5	9.0	9.0	.929
Previous knowledge on what hepatitis C is	57.8	78.1	65.0	**<.001**
Previously tested for HCV	8.3	12.4	9.7	.187
Previously diagnosed with hepatitis C, among those tested	40.7	18.2	30.6	.200
Previously treated for hepatitis C, among those diagnosed	72.7	75.0	73.3	.699
Not previously treated for hepatitis C but currently linked to care among those diagnosed	45.5	5.0	46.7	
Individual healthcare card	87.2	98.9	91.3	**<.001**
At least one medical visit over the previous year[a]	74.8	87.7	80.3	**.044**
Speaks Spanish and/or Catalan[a]	57.0	48.1	53.2	.290
Education[a]				
None	11.2	18.5	14.4	**<.001**
Primary	37.4	13.6	27.1	
Secondary	4.2	37.0	38.8	
University	11.2	30.9	19.7	
Current remunerated job[a]	62.0	16.0	42.3	**<.001**
HCV Ab-PoCT positive (previous exposure)	5.2	3.4	4.6	.497
HCV-RNA positive on DBS[b] (if Ab-PoCT positive)	31.3	16.7	27.3	.883

Abbreviations: Ab-PoCT, antibody point-of-care test; DBS, dried blood spots; HCV, hepatitis C virus; Yrs., years.

p values <0.05 are shown in bold.

[a]These questions were asked to a sub-sample of 188 (37.2%) participants.

[b]All cases were confirmed as viremic on a venous serum sample.

14783231, 2022, 8, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/liv.15327 by Universitat Autonoma De Barcelona, Wiley Online Library on [13/07/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

these, 73.3% (11/15) had been previously treated for hepatitis C (country of treatment was not included in the questionnaire), and two were being followed up.

3.1.2 | HCV testing, linkage to care and treatment

A flow chart of the *HepClink* participants from community HCV testing to treatment is shown in Figure 2. Onsite HCV Ab-PoCT was well accepted (99.4%, 502/505), as only three women in the group strategy refused to get tested. Overall, 23/502 were HCV Ab-positive (seroprevalence of 4.6%; 95% CI, 2.8–6.4%), and 43.5% of them were unaware of having been infected. Of the total HCV Ab-positive cases, 95.7% (22/23) accepted the DBS collection, with 27.3% (6/22) of them being viremic cases (3/6 newly diagnosed), which represents a viremic infection prevalence of 1.2% (95% CI, 0.2–2.1%). The number of people needed to screen to detect a new hepatitis C diagnosis was 167. No significant differences were found in the prevalence of HCV Ab or RNA either according to recruitment strategy or sex. Additionally, DBS samples were also collected for two out of the 15 cases who reported a previous HCV-positive test, for whom an Ab-PoCT-negative result was obtained; both cases reported previous antiviral treatment and HCV-RNA was not detected in either case. Regarding HCV genotyping results, subtype 3a was identified in all six viremic cases from DBS samples.

Regarding linkage to care, one out of the six viremic cases was LTFU, four had no or mild liver fibrosis and one of the newly diagnosed patients had cirrhosis according to FIB-4 values. The two participants with a previous diagnosis started antiviral treatment through routine care, and three newly diagnosed participants started it within the intervention. Among the latter five, two were treated at the IHU, and the one with cirrhosis was referred to the reference hospital. All cases completed the full course of treatment,

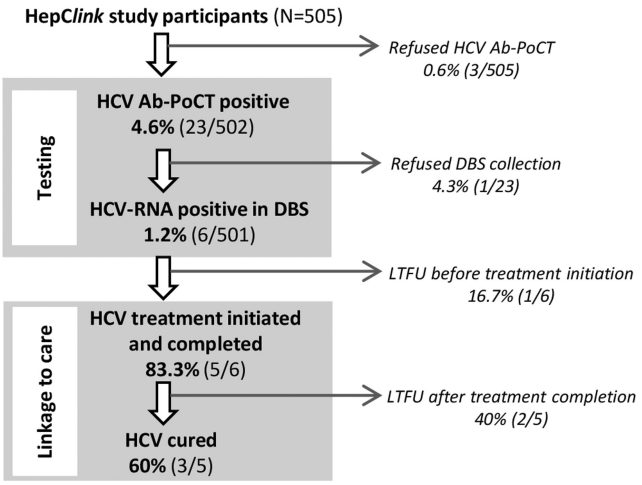


FIGURE 2 Flow chart of the Hep*Clink* intervention from HCV testing to antiviral treatment and cure. HCV, hepatitis C virus; Ab-PoCT, antibody point-of-care test; DBS, dried blood spots; LTFU, lost to follow-up.

but two were LTFU (left Spain) before the SVR assessment, which was reached in the other cases.

Finally, those participants with a positive Ab-PoCT result who were HCV-RNA-negative on DBS were also referred to the IHU for conventional HCV testing of venous blood ($n = 16$). Among them, 15 attended the visit and tested HCV-RNA negative on venous blood (the remaining case was lost to follow-up). In fact, nine out of those 16 cases reported a previous HCV-positive test and eight of them reported previous antiviral treatment.

3.1.3 | Quality indicators for the Hep*Clink* intervention

The indicators of effectiveness and impact of the Hep*Clink* community intervention are shown in Table 2. Regarding acceptability, all participants in the queried sub-sample agreed and were satisfied with getting tested during the intervention.

3.2 | Pakistani migrants accessing primary care

About 38 255 Pakistani migrants >18 years old were assigned to PC in the Barcelona metropolitan area in the year previous to the intervention (2018) and 25 455 (66.5%) attended PC, with a somewhat increased proportion of women (79.5 vs 62.4%, $p < .001$). Their characteristics in comparison with the population recruited through the community intervention are shown in Table 3. The observed prevalence was 7.5% (95% CI, 7.1–7.9%) for HCV Ab and 2.5% (95% CI, 2.3–2.8%) for HCV-RNA.

The population reached through the Hep*Clink* community intervention was younger and with a higher proportion of women vs those accessing PC (Figure 3). HCV testing was performed in 59.1% of the Pakistani population-accessing PC (median age of 39 years, IQR 20–62 years, 31% females). Pakistani migrants who tested positive for HCV Ab vs RNA in PC had a median age of 45 years (IQR, 27–63) vs 44 years (24.9–63) and 68.8% vs 73.5% were male. In Hep*Clink*, those who tested positive for HCV Ab vs RNA had a median age of 44 years (IQR, 28–61) vs 41 years (IQR, 28–54) and 73.9% vs 80% were male.

4 | DISCUSSION

A novel community intervention that involves HCV infection education, testing and simplified access to treatment targeting Pakistani migrants in Catalonia has been designed, implemented and evaluated as a micro-elimination strategy in the present study. The Hep*Clink* intervention, implemented in the field by a public and community health team including Pakistani agents, reached both males and females with limited awareness of hepatitis C and self-status (mostly unscreened), and effectively identified viremic HCV cases and linked them to care, promoting more equitable access to

14783231, 2022, 8, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/liv.15327 by Universitat Autonoma De Barcelona, Wiley Online Library on [13/07/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

TABLE 2 Quality indicators for the Hep*Clink* community intervention

	N	Percentage
Effectiveness indicators		
No of people attending educational sessions	505	-
No of people tested	502/505	99.4
% of people who reported to have been previously tested for HCV	49/505	9.7
% of people with a positive HCV test result (Ab)	23/502	4.6
% of people tested for HCV with a screening test who received test results (complete screening)	502/502	100
% of people who tested positive for HCV-RNA who visited the doctor (linkage to care)	5/6	83.3
% of people who tested positive for HCV-RNA who visited the doctor, started and completed treatment (retention in care)	5/6	83.3
Impact indicator		
% of people who tested HCV positive who were diagnosed late	1/5	20

Abbreviations: Ab, antibody; HCV, hepatitis C virus.

TABLE 3 Basic characteristics of the Pakistani population participating in the Hep*Clink* community intervention in comparison with those accessing primary care

	Hep*Clink*	Primary care	*p* value
Median age, years (IQR)	36 (19–59)	38 (19–62)	**<.001**
Men, n/N (%)	329/503 (65.4%)	18 036/25 455 (70.9%)[a]	**.002**
Previous HCV testing, n/N (%)	49/503 (9.7%)	15 037/25 455 (59.1%)[a]	**<.001**
HCV Ab positive, n/N (%)	23/502 (4.6%)	1126/15 037 (7.5%)[b]	**.018**
HCV-RNA positive, n/N (%)	6/502 (1.2%)	378/15 037 (2.5%)[b]	.084

Abbreviations: Ab, antibody; HCV, hepatitis C virus; IQR, interquartile range.

p values <0.05 are shown in bold.

[a]Among those accessing primary care.

[b]Among those tested in primary care.

diagnosis and treatment. The degree of satisfaction with hepatitis C testing performed within the community intervention was very high, demonstrating the appropriateness of the programme.

In 2018, a systematic review evidenced that coverage of migrant screening programmes in EU/EEA countries was low, emphasizing the importance of countries developing innovative and sustainable strategies to facilitate screening and linkage to care through a comprehensive healthcare approach.[28] This is the first time that a strategy including both HCV education and screening in migrants from an endemic country (Pakistan) has been performed in the community setting in Spain. This led to a very high screening rate (99.4%) by using an HCV Ab-PoCT in the educational sessions and to a very high confirmatory RNA testing rate (95.7%) by using DBS collected on-site. Both group and individual outreach strategies were feasible and successful. While the group strategies could be perceived as a less confidential environment than a clinical appointment, private space was sought for the delivery of test results, and people attending group sessions might have felt more confident getting tested without feeling individually selected.[19] Within the European HEPscreen project,[19] an outreach HCV screening strategy was piloted targeting migrants from Eastern Europe in Barcelona; this model included community health workers who organized community educational sessions, but then participants were referred to the general practitioner for Ab testing and to the specialist for confirmatory RNA testing. That outreach model had very good acceptability but high attrition (49%) was observed between education sessions in the community and screening in the healthcare system, with only one in six seropositive cases receiving confirmatory RNA testing. Community screening may represent a greater cost (especially in terms of planning and organization) but allows for a rapid increase in the number of people at risk screened.[13] In this study, decentralization and task-shifting for both complete HCV screening (performed by Pakistani community health agents) and treatment assessment and delivery (performed by a doctor at an IHU and piloted for the first time within Hep*Clink*) were feasible and effective at facilitating access to diagnosis as well as linkage and retention in care until the completion of treatment. While LTFU before the SVR12 assessment was observed in this highly mobile population, clinical guidelines suggest that assessing SVR12 could be avoided in populations with low risk for reinfection given the high cure rates of current DAAs.[29] Furthermore, as one in five participants identified as viremic already had advanced liver disease, the implementation of this strategy

14783231, 2022, 8, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/liv.15327 by Universitat Autonoma De Barcelona, Wiley Online Library on [13/07/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

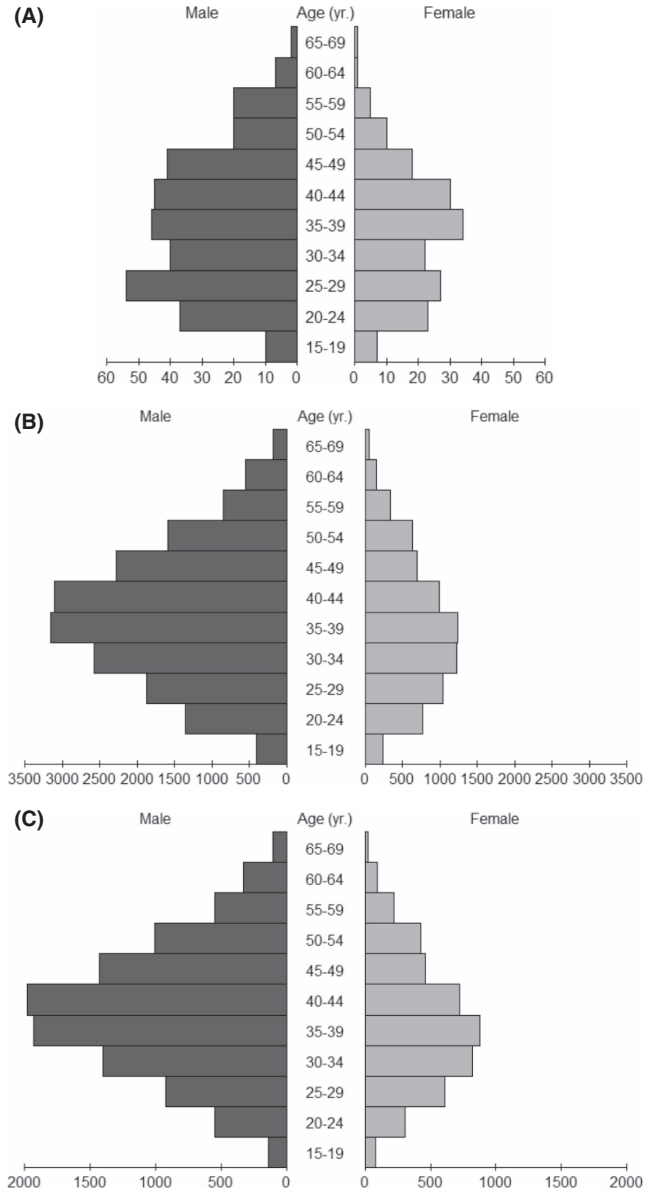


FIGURE 3 Demographic pyramids of Pakistani migrants participating in the Hep*Clink* community intervention and accessing primary care. (A) Hep*Clink* intervention. (B) Primary care, attended ($N = 25\,455$). (C) Primary care, HCV tested ($N = 15\,037$).

could also have a high potential impact on preventing a late diagnosis of chronic HCV infection in this migrant population by promoting early diagnosis and treatment.

While required for healthcare planning, HCV prevalence among the wider healthy migrant population in Catalonia was mostly unknown, as HCV testing is not systematically offered to those who reach PC.[30] Furthermore, HCV-infected migrants in an irregular situation or recent migrants are not usually reached, given their restricted access to healthcare and their risk of social exclusion.[12] The HCV seroprevalence observed here among Pakistani migrants living in Barcelona was somewhat lower than in the general population in Pakistan (4.6 vs 6.2%[18]), especially considering that the seroprevalence in the Punjab province (the most common region of origin reported by participants) reaches 17.3%.[31] Similar results were obtained in an outreach testing study in migrants from Pakistan living in Scotland, where a 4.1% seroprevalence was found despite most participants coming from the province of Punjab.[32] These differences might be explained by the so-called 'healthy migrant effect',[32] including the migration of healthier individuals or a lower exposure time to HCV in their country of birth when migration takes place at a young age. Similar disparities were obtained in a community-based testing project in migrants from South Asia living in England, with 2.7% seroprevalence among those from Pakistan, leading the authors to conclude that, as prevalence varies both by region of origin and over time, the prevalence in migrant communities living in Western countries cannot be easily predicted from data in the country of origin.[33] Additionally, a couple of studies performed over a decade ago among Pakistanis attending IHUs in Catalonia found a higher prevalence (8.1%–14.9%),[34,35] evidencing changes over time.

The HCV-RNA positivity among Ab-positive participants was 27.3%, which represents a viremic infection prevalence of 1.2% (95% CI, 0.2–2.1%) in the study population. Bearing in mind that the seroprevalence was 4.6%, the reasons for this rather low proportion of viremic infections were i) spontaneous clearance (7 out of the 10 seropositive cases who did not report the previous testing were HCV-RNA negative) and ii) a high treatment rate (9 treated cases among the 13 who had been previously diagnosed, all of whom were HCV-RNA negative). Among these nine treated cases, all but one had been diagnosed in Spain (the remaining one had been diagnosed in Pakistan). Due to unrestricted access to antiviral treatment since 2017, treatment rates have been high, which has had a strong impact on the prevalence of viremic infection in recent years in Catalonia.[16]

The Spanish Strategic Plan includes the promotion of HCV diagnosis in priority populations when they attend PC among its objectives.[4] However, certain populations at risk, such as migrants, have limited access to the healthcare system.[36] In fact, 8.7% of participants (12.8% among men) did not have the individual health card required to access the public health system. Additionally, the fragmentation existing in the continuum of health services, from the identification of infected individuals to clinical management, makes it difficult to diagnose new hepatitis C cases in migrants and link them to care and treatment. Among the Hep*Clink* study sub-sample asked regarding PC attendance (37.2% of participants), 80% reported having had at least one visit over the previous year and, despite this, only 15.2% of them reported previous HCV testing. Data from PC registries evidenced that two-thirds of the Pakistani population assigned actually accessed these services in 2018 and that HCV screening was performed in 59.1% of them, despite being recommended in all migrants from the Indian subcontinent in the migrant patient PC guide in Catalonia.[37] Thus, we hypothesize that screening in the PC setting was mostly performed in the light of signs or symptoms related to hepatitis rather than due to the country of origin. Altogether, these factors could explain the lower seroprevalence observed in the Hep*Clink* community-based pilot in comparison to that observed in PC and emphasize the need to improve screening rates in migrants from Pakistan accessing PC.

14783231, 2022, 8, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/liv.15327 by Universitat Autonoma De Barcelona, Wiley Online Library on [13/07/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

Thanks to the Spanish Strategic Plan, Spain is among the first out of the 45 high-income countries on track to reach HCV elimination by 2030.[38] However, in order to maintain the high treatment rates achieved before the COVID-19 pandemic, focused efforts will be needed to pursue HCV elimination, without leaving behind those populations most affected who attend mainstream health services less frequently. The HepC*link* community intervention designed herein, either based on small groups or even on households, or performed individually in community settings, could be performed even during the COVID-19 pandemic. In fact, the Public Health Agency of Catalonia together with the Community & Public Health Team of the IHU continued to offer HCV screening at the Pakistani Consulate in Barcelona once a week after the end of this pilot and during the pandemic, within the Catalan Plan for the Control and Prevention of hepatitis C in Catalonia.[39] This regional plan includes community screening of viral hepatitis in migrants from endemic countries as an essential strategy for the control of these infections in cooperation with community-based organizations,[39] which has been shown to overcome cultural and language barriers.[12] A study of budget impact assessment is being performed in the context of the Health System in Catalonia to assess the scalability and sustainability of the HepC*link* intervention. If scaled up, given that HCV-RNA test results from DBS and plasma have shown full agreement in this study confirming previous results,[22] linkages to care could be focussed just on those migrants with viremic infection based on DBS test results (instead of linking all Ab-positive persons as done in this pilot). The HepC*link* intervention has been included as an example in the screening guidelines recently published by the Spanish Ministry of Health,[40] which promotes HCV screening in migrants from countries with high prevalence in agreement with ECDC guidelines,[41] and stresses the importance of simplifying models of care avoiding multiple referrals in people with greater vulnerability to infection such as migrant populations.

This study has several limitations. Firstly, the observed prevalence of HCV Ab and HCV-RNA by opportunistic sampling may not be representative of the whole local Pakistani community. However, similar values have been observed after implementing this strategy in the Pakistani Consulate. Secondly, self-reported data regarding previous HCV testing and diagnosis among community intervention participants may not be completely reliable due to limited recall. Thirdly, the low number of viremic participants identified by the community intervention limited the evaluation of its effectiveness at linkage to care and treatment. Fourthly, as we sought to keep the community action as short as possible, risk factors for HCV infection were not assessed, as these are well known in Pakistan (medical exposure to reused syringes, contaminated blood/blood products, or contaminated sharps, unqualified healthcare practitioners and reuse of razors by barbers),[42,43] where HCV has replaced HBV as the most common cause of cirrhosis (86%) and hepatocellular carcinoma (58%).[44] Similarly, the questionnaire in the individual strategy had to be shortened, which meant that certain information (such as previous medical visits, language barriers, region of birth or year of arrival in Spain) was only asked 188 (37.2%) participants and might not be representative of the whole study sample. Finally, the rejection rate could not be estimated in the group strategy, as non-attendance to the sessions was not quantifiable.

In conclusion, HepC*link* has proven to be an innovative model of the HCV care continuum successfully reaching hidden migrant populations, and its implementation has required active collaboration between multiple stakeholders. The high prevalence observed (4.6% for HCV Ab; 1.2% for HCV-RNA), and the limited self-knowledge of their HCV status justify targeted screening in this group in agreement with current guidelines. Scaling up this intervention to other Pakistani migrants in Spain may help to reach the WHO elimination targets for this population. Additionally, HCV screening of those accessing primary care should also be reinforced.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank all study participants, and all members of the HepC*link* study group:

- Microbiology Department, Germans Trias i Pujol University Hospital, IGTP: E. Martró, V. Saludes, A. Antuori, A. Not, S. González-Gómez, A.E. Bordoy and A. Coello.
- Drassanes-Vall Hebrón International Health Unit: J. Gómez i Prat, H. Ouaarab, T. Rafi, B. Treviño, P. Peremiquel-Trillas, S. Tahir, N. Serre, I. Oliveira.
- CEEISCAT: J. Casabona, J. Reyes-Ureña, L. Egea-Cortés, F. Costel, L. Ferrer.
- Hepatology Unit, Vall Hebron Universtiy Hospital: M. Buti, M. Riveiro-Barciela, L. Roade.
- Public Health Agency of Catalonia: J. Colom, X. Majó, E. Buira.
- Sistema d'Informació dels Serveis d'Atenció Primària (SISAP), Institut Català de la Salut (ICS): M. Fàbregas.

CONFLICT OF INTEREST

EM received lecture fees and research grants from Gilead Sciences. VS received travel sponsorship to attend scientific meetings from Gilead Sciences. MB received fees and research grants from Abbvie, Janssen and Gilead Sciences. The rest of the authors have no conflict to declare.

ETHICS APPROVAL AND PATIENT CONSENT STATEMENTS

This project was approved by the ethics committee at Germans Trias i Pujol and Vall Hebrón hospitals. Informed written consent was obtained from all participants.

ORCID

Elisa Martró https://orcid.org/0000-0002-2867-6649
Verónica Saludes https://orcid.org/0000-0003-2139-3360
Maria Buti https://orcid.org/0000-0002-0732-3078
Luisa Roade https://orcid.org/0000-0002-8160-9613
Juliana Reyes-Ureña https://orcid.org/0000-0002-3122-6518
Anna Not https://orcid.org/0000-0001-8756-1094
Jordi Gómez i Prat https://orcid.org/0000-0001-7041-9526

14783231, 2022, 8, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/liv.15327 by Universitat Autonoma De Barcelona, Wiley Online Library on [13/07/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

REFERENCES

1. World Health Organization. *Global Hepatitis Report 2017*. World Health Organization; 2017.
2. European Centre for Disease Prevention and Control. *Monitoring the Responses to Hepatitis B and C Epidemics in EU/EEA Member States, 2019*. ECDC; 2020.
3. World Health Organization. *Global Health Sector Strategy on Viral Hepatitis 2016–2021. Towards Ending Viral Hepatitis*. World Health Organization; 2016.
4. Ministerio de Sanidad Sanidad. Plan Estratégico Para el Abordaje de la Hepatitis C en el Sistema Nacional de Salud. https://www.mscbs.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/hepatitisC/PlanEstrategicoHEPATITISC/home.htm
5. Estirado Gómez A, Justo Gil S, Limia A, et al. Prevalence and undiagnosed fraction of hepatitis C infection in 2018 in Spain: results from a national population-based survey. *Eur J Public Health*. 2021;31(6):1117-1122.
6. Mennini FS, Marcellusi A, Robbins Scott S, et al. The impact of direct acting antivirals on hepatitis C virus disease burden and associated costs in four european countries. *Liver Int*. 2021;41(5):934-948.
7. Lazarus JV, Wiktor S, Colombo M, Thursz M. Micro-elimination – a path to global elimination of hepatitis C. *J Hepatol*. 2017;67(4):665-666.
8. Falla AM, Ahmad AA, Duffell E, Noori T, Veldhuijzen IK. Estimating the scale of chronic hepatitis C virus infection in the EU/EEA: a focus on migrants from anti-HCV endemic countries. *BMC Infect Dis*. 2018;18(1):42.
9. European Centre for Disease Prevention and Control. *Epidemiological Assessment of Hepatitis B and C among Migrants in the EU/EEA*. ECDC; 2016.
10. World Health Organization. *Guidelines on Hepatitis B and C Testing*. World Health Organization; 2017.
11. European Centre for Disease Prevention and Control. *Public health guidance on HIV, hepatitis B and C testing in the EU/EEA – An integrated approach*. ECDC; 2018.
12. Greenaway C, Makarenko I, Chakra CNA, et al. The effectiveness and cost-effectiveness of hepatitis c screening for migrants in the EU/EEA: a systematic review. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15(9):2013.
13. Rein DB, Lesesne SB, Smith BD, Weinbaum CM. Models of community-based hepatitis B surface antigen screening programs in the U.S. and their estimated outcomes and costs. *Public Health Rep*. 2011;126(4):560-567.
14. World Health Organization. *Guidelines for the Care and Treatment of Persons Diagnosed with Chronic Hepatitis C Virus Infection*. World Health Organization; 2018.
15. Lange B, Roberts T, Cohn J, et al. Diagnostic accuracy of detection and quantification of HBV-DNA and HCV-RNA using dried blood spot (DBS) samples - a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2017;17(Suppl 1):693.
16. Rodríguez-Tajes S, Domínguez Á, Carrión JA, et al. Significant decrease in the prevalence of hepatitis C infection after the introduction of direct acting antivirals. *J Gastroenterol Hepatol*. 2020;35(9):1570-1578.
17. Lazarus JV, Bromberg DJ, del Amo J, et al. Hepatitis C prevalence among the migrant population in Spain: a systematic review and meta-analysis. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019;37(4):222-230.
18. Al Kanaani Z, Mahmud S, Kouyoumjian SP, Abu-Raddad LJ. The epidemiology of hepatitis C virus in Pakistan: systematic review and meta-analyses. *R Soc Open Sci*. 2018;5(4):180257.
19. HEPscreen. Screening for Hepatitis B and C among Migrants in the European Union. http://hepscreen.eu
20. Ouaarab Essadek H, Borrás Bermejo B, Caro Mendivelso J, et al. "HEPARJOC-ACTÚA": herramienta educativa creada a través de un proceso de investigación-acción participativa con colectivos inmigrantes vulnerables para mejorar la accesibilidad al diagnóstico de la hepatitis B. *Rev Esp Salud Publica*. 2020;94:e202007078.
21. Saludes V, Folch C, Morales-Carmona A, et al. Community-based screening of hepatitis C with a one-step RNA detection algorithm from dried-blood spots: analysis of key populations in Barcelona. *Spain J Viral Hepat*. 2018;25(3):236-244.
22. Saludes V, Antuori A, Folch C, et al. Utility of a one-step screening and diagnosis strategy for viremic HCV infection among people who inject drugs in Catalonia. *Int J Drug Policy*. 2019;74:236-245.
23. Pawlotsky JM, Negro F, Aghemo A, et al. EASL recommendations on treatment of hepatitis C 2018. *J Hepatol*. 2018;69(2):461-511.
24. Saludes V, Antuori A, Reinhardt B, et al. Reliable resolution of ambiguous hepatitis C virus genotype 1 results with the Abbott HCV Genotype Plus RUO assay. *Sci Rep*. 2019;9(1):3678.
25. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006;43(6):1317-1325.
26. Mauss S, Pol S, Buti M, et al. Late presentation of chronic viral hepatitis for medical care: a consensus definition. *BMC Med*. 2017;15(1):92.
27. Bolíbar B, Avilés FF, Morros R, et al. SIDIAP database: electronic clinical records in primary care as a source of information for epidemiologic research. *Med Clin (Barc)*. 2012;138(14):617-621.
28. Seedat F, Hargreaves S, Nellums LB, Ouyang J, Brown M, Friedland JS. How effective are approaches to migrant screening for infectious diseases in Europe? A systematic review. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(9):e259-e271.
29. Pawlotsky JM, Negro F, Aghemo A, et al. EASL recommendations on treatment of hepatitis C: final update of the series. *J Hepatol*. 2020;73(5):1170-1218.
30. Hladun O, Grau A, Esteban E, Jansà JM. Results from screening immigrants of low-income countries: data from a public primary health care. *J Travel Med*. 2014;21(2):92-98.
31. Ahsan A, Khan AZ, Javed H, Mirza S, Chaudhary SU, Shahzad-Ul-Hussan S. Estimation of hepatitis C prevalence in the Punjab province of Pakistan: a retrospective study on general population. *PLoS One*. 2019;14(4):e0214435.
32. Jafferbhoy H, Miller MH, McIntyre P, Dillon JF. The effectiveness of outreach testing for hepatitis C in an immigrant Pakistani population. *Epidemiol Infect*. 2012;140(6):1048-1053.
33. Uddin G, Shoeb D, Solaiman S, et al. Prevalence of chronic viral hepatitis in people of south Asian ethnicity living in England: the prevalence cannot necessarily be predicted from the prevalence in the country of origin. *J Viral Hepat*. 2010;17(5):327-335.
34. Manzardo C, Treviño B, Gómez i Prat J, et al. Communicable diseases in the immigrant population attended to in a tropical medicine unit: epidemiological aspects and public health issues. *Travel Med Infect Dis*. 2008;6(1–2):4-11.
35. Valerio L, Barro S, Pérez B, et al. Seroprevalencia de marcadores de hepatitis crónica vírica en 791 inmigrantes recientes en Cataluña, España. Recomendaciones de cribado y de vacunación contra la hepatitis B. *Rev Clin Esp*. 2008;208(9):426-431.
36. Wolffram I, Petroff D, Bätz O, et al. Prevalence of elevated ALT values, HBsAg, and anti-HCV in the primary care setting and evaluation of guideline defined hepatitis risk scenarios. *J Hepatol*. 2015;62(6):1256-1264.
37. *Grup de Treball en Cooperació i Salut Internacional (COCOOPSI) de CAMFiC. [Immigrant Patient Primary Care Guide]*. CAMFiC; 2011.
38. Razavi H, Sanchez Gonzalez Y, Yuen C, Cornberg M. Global timing of hepatitis C virus elimination in high-income countries. *Liver Int*. 2020;40(3):522-529.
39. Departament de Salut, Generalitat de Catalunya. *Pla de Prevenció i Control de l'Hepatitis C a Catalunya*. ; Generalitat de Catalunya: 2018. https://salutpublica.gencat.cat/web/.content/minisite/aspcat/vigilancia_salut_publica/vih-sida-its/04_Hepatitis_viriques/Pla-Hepatitis-Definitiu_C_DEF.pdf.

14783231, 2022, 8, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/liv.15327 by Universitat Autonoma De Barcelona, Wiley Online Library on [13/07/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

40. Ministerio de Sanidad. *Guía de cribado de la infección por el VHC*. Ministerio de Sanidad; 2020.
41. European Centre for Disease Prevention and Control. *Public Health Guidance on Screening and Vaccination for Infectious Diseases in Newly Arrived Migrants within the EU/EEA*. Stockholm; 2018.
42. Ayoub HH, Al Kanaani Z, Abu-Raddad LJ. Characterizing the temporal evolution of the hepatitis C virus epidemic in Pakistan. *J Viral Hepat*. 2018;25(6):670-679.
43. Janjua NZ, Butt ZA, Mahmood B, Altaf A. Towards safe injection practices for prevention of hepatitis C transmission in South Asia: challenges and progress. *World J Gastroenterol*. 2016;22(25):5837-5852.
44. Sarin SK, Kumar M, Eslam M, et al. Liver diseases in the Asia-Pacific region: a lancet gastroenterology & hepatology commission. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5(2):167-228.

How to cite this article: Martró E, Ouaarab H, Saludes V, et al.. Pilot hepatitis C micro-elimination strategy in Pakistani migrants in Catalonia through a community intervention. *Liver Int*. 2022;42:1751-1761. doi: 10.1111/liv.15327

14783231, 2022, 8, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/liv.15327 by Universitat Autonoma De Barcelona, Wiley Online Library on [13/07/2023]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

scientific reports

Check for updates

OPEN

Incidence and molecular epidemiology of hepatitis C virus reinfection in prisons in Catalonia, Spain (Re-HCV study)

Verónica Saludes[1,2,14], Antoni E. Bordoy[1,14], Elena Yela[3], Elisabet Turú[4], Anna Not[1], Evelin López-Corbeto[2,5], Laia Egea-Cortés[5], Fernando González-Candelas[2,6], Jordi Casabona[2,5], Group for the Study and Control of Infectious Diseases in Prison (GRUMIP)[4*], Andrés Marco[2,4,15] & Elisa Martró[1,2,15]✉

Hepatitis C virus (HCV) reinfection may hamper HCV elimination in prisons. We aimed to (i) determine the reinfection rate in people treated for HCV in Catalan prisons, (ii) measure reinfection in people entering prisons, and (iii) characterize the molecular epidemiology of HCV in prisons and people who inject drugs (PWID) in the community. Re-HCV was a prospective study in eight prisons (2019–2020) including two groups: (1) people cured with treatment in prison and followed-up every 6 months, and (2) people testing HCV-RNA positive at incarceration. Bio-behavioral data were collected. HCV isolates were sequenced and phylogenetically analyzed with those of PWID in the community. Reinfection follow-up after treatment was achieved in 97 individuals (103.05 person-years). Two reinfections were detected, resulting in an incidence ≤ 10/100 person-years. Among people entering prison, 2% (359/17,732) were viremic, of which 334 (93.0%) were included, and 44 (13.5%) presented with reinfection (84.7% being PWID). Frequently, HCV isolates in prisons and PWID in the community were phylogenetically related. Although HCV reinfection is low after treatment, it is common in people entering Catalan prisons. To maintain a low HCV prevalence in prisons, harm-reduction services and test-and-treat programs for PWID should be strengthened both inside and outside prisons.

Spain is among the countries on track to reach the absolute HCV elimination targets set by the World Health Organization (WHO), that is, an absolute annual HCV incidence of ≤ 5 cases per 100,000 persons and ≤ 2 cases per 100 people who inject drugs (PWID), and an HCV-related annual mortality rate of ≤ 2 deaths per 100,000 persons[1].

People in prisons are considered a key population to be screened and treated for HCV infection in the WHO strategy for HCV elimination as well as by the Spanish national and regional Hepatitis C Plans (including that from Catalonia)[1–3]. The prison setting enables access to populations at high risk of HCV infection, such as PWID, who additionally have suboptimal engagement with mainstream health services outside prison. Additionally, people in prisons are a dynamic population with high mobility between the prisons and with the community. Therefore, curing hepatitis C in this population has a significant impact on public health[4].

Currently, 7913 individuals (93.5% men and 47.9% foreigners) are incarcerated within the Penitentiary System of Catalonia, an autonomous region in Spain with a population of 7.5 million people. The stay in Catalan prisons offers an opportunity to detect, prevent, and treat hepatitis C, as the whole range of existing services aiming at eliminating HCV infection is offered according to WHO recommendations[5]: (i) voluntary HCV screening upon

[1]Microbiology Department, Northern Metropolitan Clinical Laboratory, Germans Trias i Pujol Research Institute and Hospital (IGTP), Crta. del Canyet S/N, 08916 Badalona, Barcelona, Spain. [2]Consortium for Biomedical Research in Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain. [3]Brians-1 Prison Health Services, Sant Esteve Ses Rovires, Barcelona, Spain. [4]Prison Health Programme, Catalan Institute of Health (ICS), Barcelona, Spain. [5]Centre for Epidemiological Studies On Sexually Transmitted Infections and HIV/AIDS of Catalonia (CEEISCAT), Public Health Agency of Catalonia (ASPCAT), Badalona, Spain. [6]Joint Research Unit Infection and Public Health FISABIO-University of Valencia I2SysBio, Valencia, Spain. [14]These authors contributed equally: Verónica Saludes and Antoni E. Bordoy. [15]These authors jointly supervised this work: Andrés Marco and Elisa Martró. *A list of authors and their affiliations appears at the end of the paper. ✉email: emartro@igtp.cat

entering prison (coverage of 84%) and periodic screening if risk behaviors for HCV infection are maintained; (ii) use of directly acting antivirals (DAA) therapy for hepatitis C and periodic HCV-RNA screening after cure to detect reinfection; (iii) opioid substitution therapy (OST) and needle and syringe programs (NSP); and (iv) educational activities on HCV prevention. Furthermore, the continuity of HCV care and treatment is guaranteed by the figure of a liaison nurse after release.

Since the implementation of DAA-based therapy against HCV infection in 2015 in Catalan prisons, more than a thousand people have been treated during imprisonment and have achieved a sustained virological response (SVR)[6]. Unfortunately, when risk behaviors for HCV infection are maintained over time, reinfection can occur one or more times after cure, as the immunity generated against HCV infection is not protective. In a study performed by Marco et al. in a cohort of people treated in the Catalan penitentiary system between 2002 and 2016, HCV-RNA was assessed once a year according to the existing guidelines at that time[7], and a relatively low reinfection rate of 3.9 per 100 person-years was observed in PWID[8]. However, higher reinfection rates post-SVR of 31 and 16.7 cases per 100 person-years among PWID in the community have been reported in Catalonia and Madrid, respectively[9,10], and it is well known that PWID are at a higher risk of imprisonment during their lifetime[11]. Nevertheless, the proportion of HCV reinfection among people entering prisons has not yet been determined.

Given that people in prisons constitute a dynamic population, it is necessary to diagnose and treat reinfections as soon as possible to avoid the spread of the virus and identify the determinants of these reinfections. Therefore, in the present study, we sought to re-evaluate HCV reinfection post-SVR in the Catalan Penitentiary System using frequent HCV-RNA testing intervals (every 6 months) together with sequence analyses of HCV isolates circulating within the prison setting and in the community. Specifically, we aimed to (i) determine the current HCV reinfection rate after cure by therapy (post-SVR) and its determinants in people treated in Catalan prisons, (ii) assess the proportion of HCV reinfection in people entering prisons, and (iii) characterize the molecular epidemiology of the HCV epidemic in the prison setting in relation to the community.

Methods

Study design and participants

Re-HCV was a prospective, observational, multicenter study of HCV reinfection performed over two years (January 2019–December 2020) in eight Catalan prisons with medical services able to administer HCV treatment. The characteristics of people in prison from each penitentiary center included in the study were as follows: Brians-1, men on preventive detention and sentenced women; Brians-2, sentenced men; Lledoners, sentenced men; Quatre Camins i Joves, sentenced men, and a separate facility for young men (aged 18 to 21); Dones, women on preventive detention; Mas d'Enric, men and women, sentenced and on preventive detention; Ponent, men and women, sentenced and on preventive detention; Puig de les Basses, men and women, sentenced and on preventive detention.

Prison medical and nursing staff informed individuals over 18 years of age about the study, gave them an information sheet, and asked them to participate by signing an informed consent form if they fulfilled the following criteria to enter into one of the two defined study groups.

Reinfection follow-up group

This group included people cured by therapy in prison and followed up for reinfection at 6-month intervals. All individuals who achieved SVR at week 12 (SVR12) after DAA treatment while in prison from July 2018 to July 2020, were included in the study at the 6 months post-SVR time-point and were subsequently followed up every 6 months (at 12, 18, and 24 months post-SVR). HCV reinfection was defined as a secondary infection following a primary infection cured by DAA treatment, with SVR confirmed by a negative HCV-RNA test. Participants who were released from prison were considered lost to follow-up.

Viremic group

This study group included all individuals in prison with viremic HCV infection detected at the time of imprisonment over the entire study period. Individuals in this group who initiated DAA treatment and achieved cure (SVR12) were candidates for subsequent inclusion in the reinfection follow-up group. In this group, HCV reinfection was defined as a secondary infection following a primary infection cured either spontaneously or by DAA treatment (SVR confirmed by a negative HCV-RNA test result).

Clinical specimens

Venous blood samples were obtained, as described below, by the nursing staff at each prison to assess the presence of HCV viremia. The samples were shipped to the reference territorial laboratories assigned to each prison for HCV-RNA testing.

Reinfection follow-up group

Blood samples were obtained at 6, 12, 18, or 24 months after SVR as long as the participants were still incarcerated at these time points.

Viremic group

Blood samples were obtained at incarceration as part of the routine admission process.

When HCV-RNA was detected by the reference territorial laboratories at any of the time points defined above, a frozen EDTA-plasma aliquot was shipped to the coordinator laboratory for HCV sequencing.

HCV sequencing and phylogenetic analyses

To characterize the molecular epidemiology of the HCV epidemic in the prison setting in relation to the community, isolates from participants in the viremic group were sequenced and phylogenetically analyzed together with isolates circulating in the community. The latter were obtained from 291 PWID who attended four harm reduction services (HRS) in Barcelona province, caring for half of the PWID population in Catalonia from the HepC*detect* II study between May 2016 and February 2019[12,13]. The methods used, including total RNA extraction, retrotranscription, PCR amplification, Sanger sequencing, and phylogenetic and clustering analyses of the HCV NS5B region, are described in the Supplementary material S1.

Epidemiological data collection

Sociodemographic and behavioral information was collected through a brief questionnaire (Questionnaire A) completed by participants, which included questions about drug use and sexual practices both inside and outside the prison. In parallel, the prison healthcare personnel completed a questionnaire (Questionnaire B) with information related to the treatment of hepatitis C, as well as sociodemographic characteristics and clinical-therapeutic data of the participants. In the reinfection follow-up group, both questionnaires were completed at enrollment (6 months post-SVR) with questions about the treatment period and at each follow-up time point (12, 18, and 24 months post-SVR) in order to assess behavioral changes over time after cure and their possible association with reinfection. In the viremic group, both questionnaires were completed at the time of incarceration, with questions about their entire lives.

Statistical analyses

For quantitative variables, we used measures of central tendency and dispersion (medians and 95% interquartile ranges). For qualitative variables, we calculated the absolute frequencies and percentages. Bivariate analysis was carried out using the Mann–Whitney U test to compare medians and chi-square tests to compare categorical differences. In the reinfection follow-up group, the statistical analyses consisted of determining the reinfection rate after cure by DAA therapy in prison and comparing the characteristics of the reinfected and non-reinfected cases. The reinfection incidence rate was calculated for the population as cases per 100 person-years of follow-up after censoring at the last negative HCV RNA test or at the midpoint between the last negative and first positive HCV RNA test dates for those with reinfection. The proportions of clustered isolates from the Re-HCV and HepC*detect* II studies were calculated and compared using Fisher's exact test, *p*-values were adjusted using the Benjamini and Hochberg method[14] to decrease the false discovery rate. All analyses were performed using R version 4.0.3.

Ethics declarations

This study was approved by the institutional Ethics Board at Germans Trias i Pujol University Hospital (PI-18-247, January 11, 2019), and the participants provided written informed consent. The study was conducted in accordance with the requirements established by the current legislation.

Results

Characteristics of the study population

Overall, 422 individuals were included in this study (Fig. 1). In the reinfection follow-up group, study inclusion and reinfection follow-up were performed in 97 individuals treated with DAAs in Catalan prisons from January 2018 to December 2019, while six individuals refused to participate (6/103, 5.8%). The reason for not participating was refusing the blood draw required for reinfection assessment in 4/6 (66.7%) cases; one individual was transferred out of the prison, and the last one did not provide any reason.

Among the 17,732 people who entered the Catalan penitentiary system and were tested for HCV-RNA during the study period (Fig. 1), 2% (n = 359) were viremic and 93.0% (n = 334) agreed to participate in the study (viremic group). Reasons for not participating were provided in 12/25 (48%) cases and were highly diverse. Nine individuals in the viremic group were included in the reinfection follow-up group after treatment and SVR achievement (9/97).

The main characteristics of the participants at the time of inclusion in the study for each study group are shown in Table 1. Briefly, most individuals were men, with a median age of 41 years. Foreign-born participants accounted for 29% and 46% of the reinfection follow-up and viremic groups, respectively. Approximately a quarter of the participants were HIV-positive, and a similar proportion presented with a psychiatric disorder. Most people in the Catalan prisons who participated in the present study reported drug injection at least once during their lives (> 80%), and 28% of the viremic group participants reported drug injection during previous incarcerations. Intravenous drug use during hepatitis C treatment was reported by one third of the reinfection follow-up group participants. Additionally, 86.5% and 75.3% of the reinfection follow-up group and viremic group participants, respectively, had previously been in prison.

Baseline HCV genotypes in the reinfection follow-up group participants, as reported in the epidemiological questionnaire were as follows: genotype 1 (53.6%), 3 (23.7%), 4 (17.5%), 2 (1.0%), mixed infection (3.1%), and undetermined (1.0%). HCV genotypes in the viremic group participants were determined by sequencing and phylogenetic analysis, as detailed below.

Observed HCV reinfection in individuals treated with DAAs in Catalan prisons (reinfection follow-up group)

Among the 97 participants included in this group at 6 months post-SVR, 30.9% (30/97), 9.3% (9/97), and 1.0% (1/97) were followed-up at 12, 18, and 24 months post-SVR respectively, resulting in a mean follow up time of 8.5 months post-SVR. Most losses to follow up (69.1%, 67/97) occurred during the first 6 months after

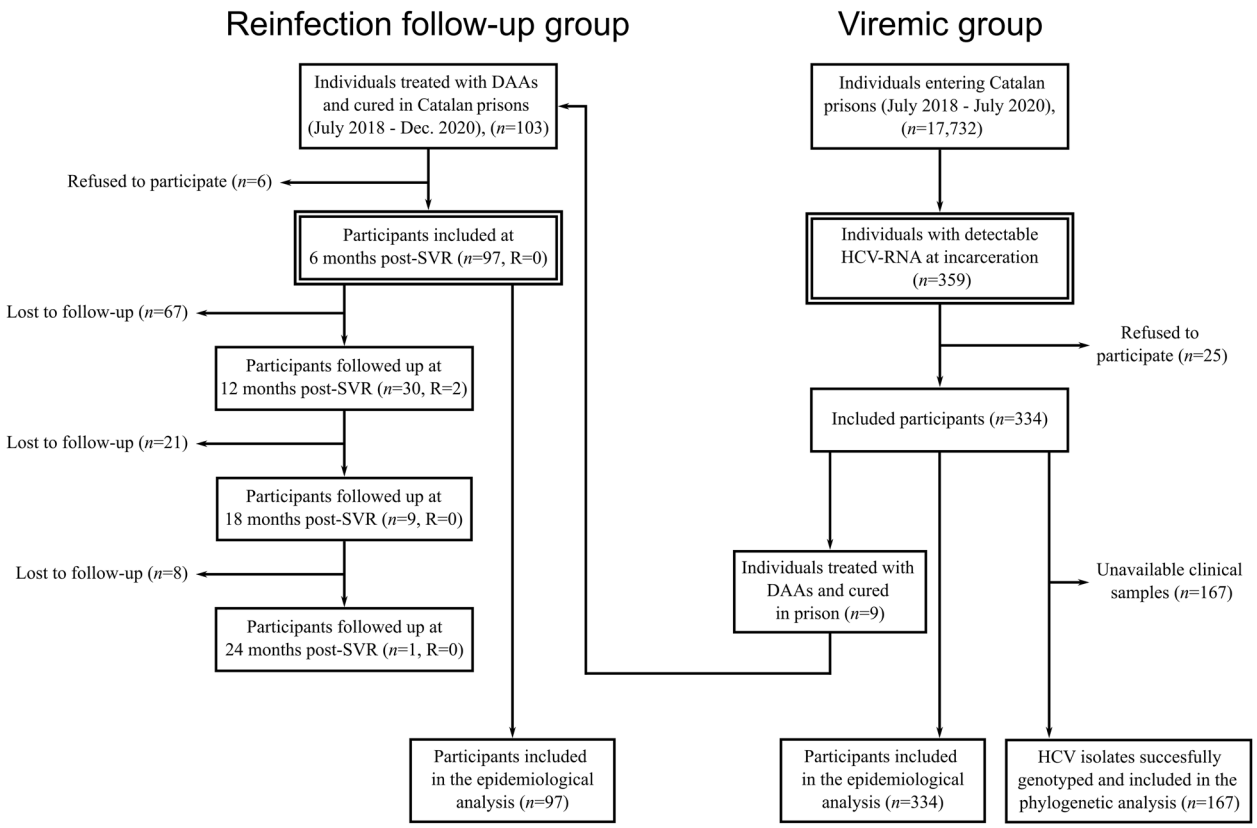


Figure 1. Flowchart of participants included in the reinfection follow-up and viremic study groups. *R* reinfection.

study inclusion (i.e., within the 12–18 months post-SVR period). The main reasons for loss to follow-up were release from prison due to sentences or preventive detention ending, or premature release due to the COVID-19 pandemic.

The mobility of the reinfection follow-up group participants between the prisons and the community is shown in Fig. 2. Movement between prisons took place at least once in 1.0% (1/97) of the participants during follow-up. Additionally, 24.2% (23/95) of the participants were released and later incarcerated again, released under surveillance during incarceration, or on a prison furlough.

During the 103.05 person-years of follow-up, two cases of reinfection were identified according to clinical records, both at 12 months post-SVR, which translates into an incidence of reinfection of 2 per 100 person-years (95% CI 0–7). The low number of detected reinfection cases prevented the identification of the determinants of reinfection in this group. However, it is important to note that these two cases reported intravenous drug use at least once during their lives, as well as other risky behaviors associated with HCV infection. Both cases reported more than three previous incarcerations and risk behaviors were maintained while in prison. Furthermore, one individual was co-infected with HIV. Both participants were released between the end of treatment and detection of reinfection at incarceration (12 months post-SVR). Both cases were then treated and cured while in prison.

Characteristics of viremic people entering prisons (viremic group)

Among the viremic participants incarcerated during the study period ($n = 334$), 84.7% (283/334) were classified as primary infections, 13.2% (44/334) as reinfections after successful antiviral treatment, and 2.1% (7/334) as treatment failures according to the available clinical records.

The characteristics of participants with reinfection and primary infection are shown in Table 2 (the low number of treatment failures precluded their characterization). Briefly, HIV infection, homelessness, and having been in prison more than three times were significantly more frequent in those with HCV reinfection than in those with primary infection. Regarding risk behaviors, injecting drugs, sharing syringes and needles, and unprotected sex were also more frequent in those reinfected, either at some point in life or in prison (during previous imprisonments). Additionally, HCV subtype 3a infection was detected more frequently among reinfected individuals at incarceration than other genotypes (Supplementary Fig. S1).

Molecular epidemiology analysis evidenced that HCV isolates detected inside and outside the prison setting were commonly related

Due to COVID-19 related constraints, clinical samples could not be recovered from the reference laboratories for 167 (50%) viremic group participants. Therefore, 167 HCV isolates were genotyped by sequencing and

Characteristics	Reinfection follow-up group ($n=97$) n (%)	Viremic group ($n=334$) n (%)
Age, median (range)	44 (30–59)	41 (26–57)
Gender		
Male	86 (88.7)	311 (93.1)
Female	10 (10.3)	23 (6.9)
Foreign origin	28 (28.9)	153 (46.1)
HIV infection	23 (23.7)	103 (30.8)
Psychiatric disorder	24 (24.7)	76 (23.0)
Educational attainment > primary	56 (63.6)	201 (60.7)
Homeless during the 6 months before incarceration	53 (58.2)	61 (18.5)
Previously incarcerated	77 (86.5)	250 (75.3)
Sexual orientation		
Heterosexual	85 (95.5)	319 (96.1)
Homosexual	1 (1.1)	5 (1.5)
Bisexual	3 (3.4)	8 (2.4)
Intravenous drug use at least once during live	74 (82.2)	283 (84.7)
Intravenous drug use in prison	–	80 (28.3)
Intravenous drug use during hepatitis C treatment	30 (31.3)	–
Intravenous drug use during hepatitis C treatment while in prison	12 (40.0)	–
Sharing of needles*	16 (16.7)	140 (41.9)
Sharing of needles in prison*	9 (56.3)	46 (33.6)
Sharing of syringes*	17 (17.9)	145 (43.5)
Sharing of syringes in prison*	10 (55.6)	45 (32.4)
Sharing of other injection equipment*	19 (19.8)	169 (50.6)
Sharing of other injection equipment in prison*	9 (47.7)	47 (28.5)
Practicing front-backloading*	11 (11.5)	102 (30.5)
Practicing front-backloading in prison*	5 (45.5)	27 (27.6)
Sharing drugs already prepared to inject*	17 (17.7)	174 (52.3)
Sharing drugs already prepared to inject in prison*	9 (52.9)	45 (26.5)
Cocaine snorting*	45 (46.9)	288 (86.2)
Cocaine snorting in prison*	28 (65.1)	117 (41.2)
Sharing cocaine snorting straw*	34 (35.8)	215 (64.8)
Sharing cocaine snorting straw in prison*	20 (60.6)	89 (42.0)
Piercing or tattooing*	33 (34.4)	250 (74.9)
Piercing or tattooing in prison*	18 (54.4)	119 (48.0)
Unprotected sex*	21 (21.9)	165 (49.4)
Unprotected sex in prison*	5 (23.8)	26 (16.0)
Currently in treatment for drug addiction*	62 (64.6)	164 (49.2)
Released, on prison furlough, or released under surveillance during the present sentence*	23 (24.2)	33 (9.9)

Table 1. Characteristics of the Re-HCV study participants (N = 422)** at study inclusion. *These questions referred to the hepatitis C treatment period for the reinfection follow-up group, and to at any time in life for the viremic group. **Nine individuals of the viremic group were candidates to be subsequently included in the reinfection follow-up group after treatment and SVR achievement.

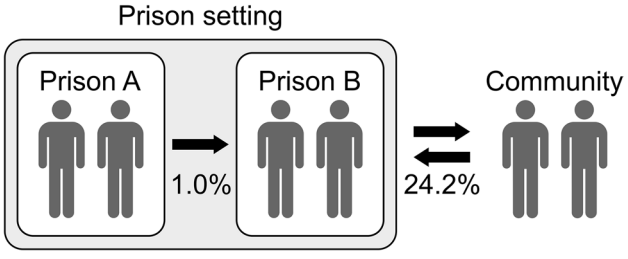


Figure 2. Schematic representation of mobility of participants in the reinfection follow-up group between prisons and with the community over the study period.

Characteristics	Primary infection (n = 283) n (%)	Reinfection (n = 44) n (%)	*p*-value
Age, median (95% interquartile range)	40 (25.0–57.0)	41 (29.0–53.0)	n.s
Gender			
Male	261 (92.2)	43 (97.7)	n.s
Female	22 (7.8)	1 (2.3)	
Foreign origin	134 (47.5)	18 (41.9)	n.s
HIV infection	80 (28.3)	21 (47.7)	0.009
Psychiatric disorder	66 (23.6)	7 (15.9)	n.s
Educational attainment > primary	174 (62.1)	24 (54.6)	n.s
Homeless*	38 (13.7)	16 (36.4)	< 0.001
Previously incarcerated (≥ 3 times)	145 (51.6)	33 (75.0)	0.013
Sexual orientation			
Heterosexual	270 (96.1)	43 (97.7)	n.s
Homosexual	5 (1.8)	0 (0)	
Bisexual	6 (2.1)	1 (2.3)	
Intravenous drug use at least once during live	235 (83.0)	43 (97.7)	0.011
Intravenous drug use in prison	58 (24.7)	19 (44.2)	0.009
Sharing of needles at least once during live	109 (38.5)	28 (63.6)	0.002
Sharing of needles in prison	29 (27.1)	16 (59.3)	0.002
Sharing of syringes at least once during live	112 (39.7)	30 (68.2)	< 0.001
Sharing of syringes in prison	29 (27.1)	15 (51.7)	0.012
Sharing of other injection equipment at least once during live	136 (48.1)	28 (63.6)	0.055
Sharing of other injection equipment in prison	33 (24.8)	13 (46.4)	0.021
Practicing front-backloading at least once during live	77 (27.2)	22 (50.0)	0.002
Practicing front-backloading in prison	18 (24.7)	8 (36.4)	n.s
Sharing drugs already prepared to inject at least once during live	138 (48.9)	32 (72.7)	0.003
Sharing drugs already prepared to inject in prison	32 (23.7)	12 (37.5)	n.s
Cocaine snorting at least once during live	241 (85.2)	40 (90.9)	n.s
Cocaine snorting in prison	93 (39.1)	21 (53.9)	0.082
Sharing cocaine snorting straw at least once during live	178 (63.4)	31 (70.5)	n.s
Sharing cocaine snorting straw in prison	68 (38.9)	17 (54.8)	n.s
Piercing or tattooing at least once during live	209 (73.9)	37 (84.1)	n.s
Piercing or tattooing in prison	93 (44.9)	23 (62.2)	0.053
Unprotected sex at least once during live	132 (46.6)	28 (63.6)	0.036
Unprotected sex in prison	16 (12.4)	9 (32.1)	0.01
Currently in treatment for drug addiction	134 (47.5)	29 (65.9)	0.061
Released, on prison furlough, or released under surveillance during the present sentence	27 (9.5)	4 (9.1)	n.s

Table 2. Comparison of the characteristics of participants presenting with primary infection or reinfection at incarceration (viremic group). *Previous 6 months before incarceration. *n.s.* not significant.

phylogenetic analysis of the viremic group participants. The distribution of HCV genotypes detected in individuals entering Catalan prisons is shown in Supplementary Fig. S1. Overall, the most frequently detected genotype was 1a (36.5%, 61/167) followed by 3a (27.5%, 46/167).

To identify recent transmission events involving HCV isolates detected in people in prisons, a pairwise SNP distance cut-off of 2 (within the NS5B fragment sequenced) was set based on the distribution of pairwise SNP differences between pairs of sequences of the same subtype (Fig. 3). The cut-off value corresponds to 98.4% for the cumulative distribution function of the Poisson distribution with $\lambda = 0.51$, observed for low pairwise SNP values. As expected, the mode of such distribution, $\lfloor\lambda\rfloor = 0$, was lower than the estimated number of SNPs (2.3) in a period of five years, which was the maximum timespan during which transmission between Re-HCV and HepC*detect* II study participants could have taken place. Sequence pairs below this cut-off were considered to share the most recent common ancestor during the previous five years at most, thus providing strong evidence of recent transmission (either directly or from shared sources). Transmission clusters fulfilling this cut-off (supported by a monophyletic origin with a bootstrap value > 90%) were identified within each HCV subtype and are depicted in Supplementary Fig. S2 and described in Table 3. Overall, 25 recent transmission clusters were identified containing at least one isolate from the Re-HCV study; corresponding to 24.0% (40/167) of sequenced isolates from viremic group participants. Identified clusters also involved 7.9% (23/291) of HepC*detect* II study participants (HRS setting). Eight (32.0%) clusters contained exclusively Re-HCV study participants and had a median size of two (range 2–4); the rest of the clusters ($n = 17$) showed the same median size and a similar range (2–5), but contained at least one participant from Re-HCV and one from HepC*detect* II. Among the latter, the

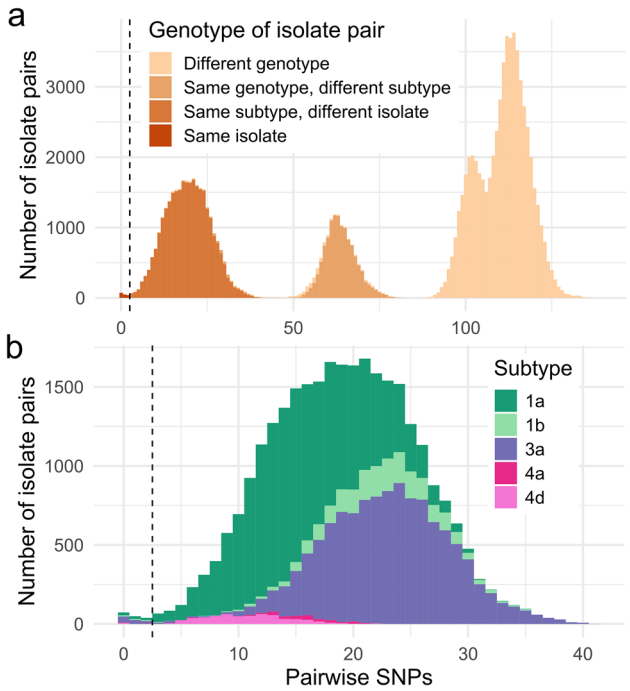


Figure 3. Stacked histogram of pairwise SNP differences between HCV sequences. (**a**) Pairwise SNP differences between sequences obtained from Re-HCV and Hep*Cdetect* II studies ($n = 458$). (**b**) Pairwise SNP differences between HCV isolate pairs of selected subtypes. In both panels, the black dashed line indicates a pairwise SNP threshold of two.

HCV subtype	Patient type			Sequences in clusters[1]	No. of sequences[2]	Clustering ratio[3]
	Primary infection	Treatment failure	Reinfection			
1a	10 (6.0%)	–	3 (1.8%)	13 (7.8%)	61 (36.5%)	21.3
1b	12 (7.2%)	–	2 (1.2%)	14 (8.4%)	31 (18.6%)	45.2
2	–	–	–	–	1 (0.6%)	–
3a	5 (3.0%)	1 (0.6%)	2 (1.2%)	8 (4.8%)	46 (27.5%)	17.4
4a	2 (1.2%)	–	–	2 (1.2%)	10 (6.0%)	20.0
4d	3 (1.8%)	–	–	3 (1.8%)	17 (10.2%)	17.6
6a	–	–	–	–	1 (0.6%)	–
Sequences in clusters	32 (19.2%)	1 (0.6%)	7 (4.2%)	40 (24.0%)	–	
No. of sequences	145 (86.8%)	3 (1.8%)	19 (11.4%)	–	167 (100%)	
Clustering ratio	22.1	33.3	36.8			

Table 3. Number of sequences involved in recent transmission clusters according to HCV subtype and infection type among viremic group participants. [1]No. of sequences from each subtype in clusters, from the total number of sequences. [2]No. of sequences from each subtype, from the total number of sequences. [3]No. of sequences in cluster, from the total number of sequences.

sequences found in people in prison and the HRS were identical in seven clusters. There were 10 clusters containing more than one Re-HCV isolate, of which five contained isolates from different prisons, and six included identical sequences from 12 different individuals. Overall, 12.6% (21/167) of the sequences collected from people in prison belonged to a transmission cluster involving sequences from the community. The percentage of clustered sequences across different HCV subtypes varied from 0 (genotype 2 and subtype 6a, 0/1) to 45.2% (subtype 1b, 14/31), whereas this percentage was higher in reinfection cases (36.8%, 7/19) than in treatment failure (33.3%, 1/3) and primary infection cases (22.1%, 32/145) (Table 3). However, the differences in the frequency of clustered Re-HCV samples among different HCV subtypes as well as among different infection types were not statistically significant.

Discussion

This study shows that after over a decade of HCV treatment with DAAs in Catalan prisons, the reinfection rate is low in this setting. However, viremic HCV infection in people entering prisons is frequently due to reinfection, especially among those most vulnerable (HIV-infected and homeless individuals) and maintaining risk behaviors inside and outside prison. This may hamper HCV elimination both in the prison setting and in the community (i.e., harm reduction centers), given the high mobility of individuals at risk between these two settings.

Most people in the Catalan prisons who participated in the present study reported drug injection at least once during their lives (> 80%), and 28% of the participants reported drug injection during previous incarcerations. This is in agreement with the fact that injection drug use is the main contributor to both prevalent and incident HCV infections among people in prisons globally[15]. In line with this, in the Hep*Cdetect* II study carried out on PWID who accessed HRS in the province of Barcelona, a 58.5% prevalence of viremic HCV infection was observed, 64% of the participants reported having been in prison at least once and 27% reported injecting drugs while in prison[16]. Tattooing, piercing, and high-risk sexual behaviors have also been described as HCV-associated factors among people in prisons[11], and the self-reported proportions of these behaviors cannot be considered negligible in the study population presented here. Additionally, about a quarter of the participants were HIV-infected, which has been associated with a higher risk of HCV reinfection among prisoners[6,8].

Despite the high prevalence of these risk factors in the reinfection follow-up group, only two cases (2%) of HCV reinfection after achieving SVR with DAA treatment in the Catalan Penitentiary System were detected over the study period, leading to a low reinfection rate (< 10 per 100 person-years). Both cases occurred in individuals who reported intravenous drug use as well as other risk behaviors associated with HCV infection. These results are in agreement with a previous study by Marco et al. in the same setting that also found an incidence of HCV reinfection of < 10 per 100 person-years (3.62; 95% CI 1.28–7.74) from 2015 to 2016; all reinfections were detected in individuals who reported injecting drug use at least once during their lives[8]. However, Marco et al. might have underestimated the reinfection rate using a 12-month testing interval, as spontaneously cleared infections within this 12 month intervals would have been missed. In a previous study, up to 52% of PWID who achieved SVR and got reinfected, spontaneously cleared HCV-RNA six months after reinfection[17]. Thus, within the context of the Re-HCV study, monitoring of HCV reinfection by HCV RNA testing was implemented every six months post-SVR for the first time in the Catalan Penitentiary System[5], in agreement with the available recommendations[18]. In our study, reinfection between the end of treatment and SVR was not evaluated; nevertheless, a low rate of reinfection within this period would be expected, according to previous data[8]. SVR rates in the Catalan prison setting are ≥ 95%, and the absence of SVR is more frequent in HCV genotype 3 infection, liver cirrhosis, low treatment adherence, and/or interruption of treatment due to prison release[6]. Cuadrado et al. reported no reinfections in the JAILFREE-C trial in a prison in Cantabria (Spain) between 2016 and 2017, either before SVR (three virological failures were observed) or after SVR (with a median follow-up time of 12 months; range 5.5–14)[19]. By contrast, the few studies performed so far on HCV reinfection in people treated in non-Spanish prisons have observed elevated reinfection rates, mainly among those with maintained injection drug use and sharing of associated paraphernalia after cure: 12.5 cases per 100 person-years (95% CI 7.9–19.8) in the STOP-C trial performed in Australia between 2014 and 2019[20], 14.3 per 100 person-years (95% CI 11.1–18.5) in a large study performed in Scotland between 2000 and 2018[21], and 40.6 per 100 person-years in England between 2016 and 2019[22].

The observed differences in reinfection rates among people treated in prisons across different countries and regions may be due not only to the local prevalence of viremic HCV infection among people in prisons, but also to the approaches adopted in each country to reach the goal of HCV elimination in prisons, among other factors. It is well recognized that access to harm-reduction programs within prisons substantially reduces the risk of HCV reinfection[23]. However, people in prisons in Australia and the United Kingdom have access to OST but not to NSP[4,24]. In Spain, prisons from Catalonia and Cantabria offer the whole range of services aimed at eliminating HCV infection[5,19], which, in combination with the continuum of care program contributes to the reduction of the HCV reinfection rate observed among people treated with DAAs in these prisons. Additionally, the availability of these services in Catalan prisons has led to a progressive reduction in the prevalence of viremic HCV infection in this setting, from 10% in 2015 to 0.6% in the first quarter of 2023[25], which is similar to the prevalence of viremic HCV infection in the general population in Catalonia (0.49%)[26]. Since both participants with detected reinfection in the present study were released between the end of treatment and the time of reinfection detection (12 months post-SVR when they were re-incarcerated), we hypothesized that they were possibly reinfected outside the prison setting after their release. An increased risk of HCV acquisition in the first period after its release from prison has been described[11]. Furthermore, the persistence of high-risk behaviors among PWID during a prison furlough or after release from imprisonment is well known[27].

Despite the low HCV reinfection rate in people treated with DAAs in Catalan prisons, HCV reinfection was common (13.2%) among people entering Catalan prisons. Specifically, socioeconomic factors (homelessness and having previously been in prison), risk behaviors practiced during lifetime or while in prison (injecting drugs, sharing syringes and needles, and unprotected sex), and HIV infection were more frequently detected in individuals entering prison with HCV reinfection than in those with primary infection, indicating that this population shows a highly vulnerable and risky behavioral profile for HCV infection. Prevention strategies in Catalan prisons, including access to OST, NSP, and condoms, have led to a decrease in HCV infection during incarceration. However, it should be borne in mind that almost half of the participants were migrants, and information on the location of previous imprisonments was not available; therefore, prevention strategies available during their preceding imprisonments were unknown. In agreement with the obtained results, previous studies indicate that risk behaviors for HCV infection often continue during and after antiviral treatment in PWID, putting them at risk of reinfection, which compromises the individual and population-level benefits of HCV

treatment-as-prevention strategies. In fact, a much higher reinfection rate (31 cases per 100 person-years) has been reported by Lens et al. among PWID diagnosed and treated in a HRS in Catalonia, mainly in association with HIV infection and daily drug injection[9]. Although most of the individuals had previously been in prison, this was not identified as an independent predictive factor for reinfection. Moreover, overall reinfection rates post-SVR in PWID of 3.8–6.2 cases per 100 person-years have been reported in a meta-analysis[23]. Altogether, these data highlight the need for continued HCV-RNA screening after therapy, early reinfection diagnosis, and access to re-treatment both in prisons and the community to prevent onward transmission. In addition, risk-reduction strategies and education should be provided to high-risk populations who initiate treatment to prevent reinfection.

In the present study, close epidemiological relationships were identified between HCV isolates from people entering Catalan prisons with viremic HCV infection and from PWID accessing community HRS in Barcelona, as well as between HCV isolates from people located in different prisons. Importantly, about a quarter of the Re-HCV study participants belonged to transmission clusters. This phylogenetic analysis reflected the dynamic nature of these populations, in accordance with previous evidence in European prisons[11]. In agreement with this, more than 75% of participants had been in prison before, and at least a quarter of the reinfection follow-up group participants were released and later incarcerated again, released on prison furlough, or released under surveillance during incarceration. Consequently, it is necessary to guarantee the continuity of care across the prison-community interface and to retreat HCV reinfections as soon as possible to avoid the spread of the virus in both the prison and the community[23]. Currently, in Catalan prisons, the liaison nurse links people released from prison to HCV care in the community[5,28]. This strategy is likely to improve the previously limited linkage to mainstream HCV healthcare services and treatment among active PWID accessing the HRS network of Catalonia, especially in migrant PWID[29]. Additionally, Lens et al. recently demonstrated that PWID can be successfully treated through an externalized hepatology outpatient clinic located in a HRS in Barcelona[9]. Altogether, these observations support the need to expand decentralization and access to early diagnosis and treatment of hepatitis C reinfection among PWID in the community in locations frequented by PWID. Otherwise, HCV elimination will not be achieved in this group.

This study has been challenging in many aspects given its multicentric nature (eight prisons involved with different medical teams) and the fact that many participants were on preventive detention or had short sentences. The latter was also due to the fact that 17% of individuals were released from Catalan prisons during the first wave of the pandemic to prevent the spread of SARS-CoV-2[30], leading to a sample size and follow-up time of the reinfection group lower than expected. Consequently, a wide 95%CI was obtained for the reinfection rate among people treated with DAAs in Catalan prisons, and identification of the determinants of reinfection was not possible. Additionally, plasma samples for HCV sequencing could only be obtained from 46.7% of the viremic participants because of the great work overload caused by the large-scale SARS-CoV-2 diagnostic activity. This fact also precluded us from confirming the two potential reinfections detected in the reinfection follow-up group by phylogenetic analysis of paired baseline and follow-up samples, as these samples were not available; nevertheless, it is important to note that in both cases, SVR was confirmed by a negative HCV-RNA test, and that relapse post-SVR is generally rare (< 1%)[31]. Finally, in the clustering analyses performed, a slight overlap existed between the right tail of the recent transmission distribution (Fig. 3a, *same isolate*) and the left tail of the distribution among isolates of the same subtype (Fig. 3b, *same subtype, different isolate*), therefore the selected cut-off value of two might have resulted in the detection of a small fraction of false negatives and false positives. Moreover, as no personal identification was recorded in the Hep*Cdetect* II study, in the four clusters of two sequences involving one participant from each study (representing 16% of all clusters), the fact that both sequences belonged to the same individual identified both inside and outside the prison could not be ruled out. This could have led to a slight overestimation of the proportion of epidemiologically related HCV isolates both in and out of prison.

In conclusion, the HCV reinfection rate is low in people treated with DAAs in Catalan prisons, but it is frequent in people who enter prison, especially in those individuals who show a vulnerable and risky behavioral profile for HCV infection such as PWID. Incarceration may provide a unique opportunity to improve the health of HCV-infected individuals, who often do not attend mainstream healthcare services, including PWID and other marginalized populations, and to prevent the spread of HCV to the community. Nevertheless, this should not detract from the fact that there is a need to strengthen harm reduction and test and treat programs among PWID in a comprehensive manner (both in prisons and in the community) to maintain low HCV prevalence in prisons and achieve HCV elimination.

Data availability

The datasets generated and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request. Nucleotide sequences are available GenBank (accession numbers OQ342879-OQ343045).

Received: 25 July 2023; Accepted: 13 September 2023
Published online: 25 September 2023

References

1. World Health Organization. Interim guidance for country validation of viral hepatitis elimination. Geneva: World Health Organization. https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240028395 (2021).
2. Generalitat de Catalunya. Departament de Salut. Plà de prevenció i control de l'hepatitis C a Catalunya. http://salutpublica.gencat.cat/web/.content/minisite/aspcat/vigilancia_salut_publica/vih-sida-its/04_Hepatitis_viriques/Pla-Hepatitis-Definitiu_C_DEF.pdf (2018).

3. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad. Strategic Plan for Tackling Hepatitis C in the Spanish National Health System 2015. https://www.mscbs.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/hepatitisC/PlanEstrategicoHEPATITISC/docs/PEAHC_eng.pdf (2015).
4. Stöver, H. *et al.* Offering HCV treatment to prisoners is an important opportunity: Key principles based on policy and practice assessment in Europe. *BMC Public Health* **19**, 30 (2019).
5. Marco, A., Guerrero, R. A. & Turu, E. Control of HCV infection in prisons in Catalonia, Spain. Compendium of good practices in the health sector response to viral hepatitis in the WHO European Region. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe (2020).
6. Marco, A. *et al.* Comparison of effectiveness and discontinuation of interferon-free therapy for hepatitis C in prison inmates and noninmates. *J. Viral Hepat.* **25**, 1280–1286 (2018).
7. European Association for the Study of the Liver, Clinical Practice Guidelines Panel. EASL recommendations on treatment of hepatitis C: Final update of the series. *J. Hepatol.* **73**, 1170–1218 (2020).
8. Marco, A. *et al.* Reinfection in a large cohort of prison inmates with sustained virological response after treatment of chronic hepatitis C in Catalonia (Spain), 2002–2016. *Int. J. Drug Policy* **72**, 189–194 (2019).
9. Lens, S. *et al.* HCV microelimination in harm reduction centres has benefits beyond HCV cure but is hampered by high reinfection rates. *JHEP. Rep.* **4**, 100580 (2022).
10. Valencia, J. *et al.* High rates of early HCV reinfection after DAA treatment in people with recent drug use attended at mobile harm reduction units. *Int. J. Drug Policy* **72**, 181–188 (2019).
11. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. *Prison and drugs in Europe: Current and future challenges* (Publications Office of the European Union, 2022).
12. Antuori, A. *et al.* Characterization of acute HCV infection and transmission networks in people who currently inject drugs in Catalonia: Usefulness of dried blood spots. *Hepatology* **74**, 591–606 (2021).
13. Saludes, V. *et al.* Evaluation of the Xpert HCV VL Fingerstick point-of-care assay and dried blood spot HCV-RNA testing as simplified diagnostic strategies among people who inject drugs in Catalonia Spain. *Int. J. Drug Policy* **80**, 102734 (2020).
14. Benjamini, Y. & Hochberg, Y. Controlling the false discovery rate: A practical and powerful approach to multiple testing. *J. Roy. Stat. Soc.: Ser. B (Methodol.)* **57**(1), 289–300 (1995).
15. Larney, S. *et al.* Incidence and prevalence of hepatitis C in prisons and other closed settings: Results of a systematic review and meta-analysis. *Hepatology* **58**, 1215–1224 (2013).
16. Saludes, V. *et al.* Utility of a one-step screening and diagnosis strategy for viremic HCV infection among people who inject drugs in Catalonia. *Int. J. Drug Policy* **74**, 236–245 (2019).
17. Sacks-Davis, R., McBryde, E., Grebely, J., Hellard, M. & Vickerman, P. Many hepatitis C reinfections that spontaneously clear may be undetected: Markov-chain Monte Carlo analysis of observational study data. *J. R. Soc. Interface* **12**, 20141197 (2015).
18. European Centre for Disease Prevention and Control. Public health guidance on HIV, hepatitis B and C testing in the EU/EEA. An integrated approach. Stockholm: ECDC. https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/public-health-guidance-hiv-hepatitis-b-and-c-testing-eueea (2018).
19. Cuadrado, A. *et al.* Microenvironment eradication of hepatitis C: a novel treatment paradigm. *Am. J. Gastroenterol.* **113**, 1639–1648 (2018).
20. Carson, J. M. *et al.* Hepatitis C virus reinfection following direct acting antiviral treatment in the prison setting: the SToP-C study. *Clin. Infect. Dis.* **75**(10), 1809–1819 (2022).
21. Yeung, A. *et al.* Population-level estimates of hepatitis C reinfection post scale-up of direct-acting antivirals among people who inject drugs. *J. Hepatol.* **76**, 549–557 (2022).
22. Bhandari, R. *et al.* High rate of hepatitis C reinfection following antiviral treatment in the North East England prisons. *J. Viral Hepat.* **27**, 449–452 (2020).
23. Hajarizadeh, B. *et al.* Hepatitis C reinfection after successful antiviral treatment among people who inject drugs: A meta-analysis. *J. Hepatol.* **72**, 643–657 (2020).
24. Bretaña, N. A. *et al.* Combined treatment and prevention strategies for hepatitis C virus elimination in the prisons in New South Wales: a modelling study. *Addiction* **115**, 901–913 (2020).
25. Departament de Justicia, Drets i Memòria. Descriptors estadistics de serveis penitenciaris i Rehabilitació. 2023. http://www.gencat.cat/justicia/estadistiques_serveis_penitenciaris/ (2023).
26. Rodríguez-Tajes, S. *et al.* Significant decrease in the prevalence of hepatitis C infection after the introduction of direct acting antivirals. *J. Gastroenterol. Hepatol.* **35**, 1570–1578 (2020).
27. Cepeda, J. A. *et al.* High-risk behaviors after release from incarceration among people who inject drugs in St. Petersburg, Russia. *Drug Alcohol. Depend.* **147**, 196–202 (2015).
28. Turu, E., Barnés, I. & Marco, A. Asistencial and therapeutic continuity after release from prison: an urgent problem that requires solutions. The model applied in catalonian prisons. *Rev. Esp. Sanid. Penit.* **21**, 153–160 (2019).
29. Folch, C. *et al.* The hepatitis C care cascade among people who inject drugs accessing harm reduction services in Catalonia: major gaps for migrants. *Int. J. Drug Policy* **90**, 103057 (2021).
30. Marco, A., Guerrero, R. A. & Turu, E. Control of SARS-CoV-2 in prisons. *SEMERGEN* **47**, 47–55 (2021).
31. Simmons, B., Saleem, J., Hill, A., Riley, R. D. & Cooke, G. S. Risk of late relapse or reinfection with hepatitis C virus after achieving a sustained virological response: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* **62**, 683–694 (2016).

Acknowledgements

The authors specially acknowledge and thank the people in prisons who participated in this study, and the nursing staff at the Catalan prisons. Additionally, we thank the personnel at the reference territorial laboratories (J. Niubo, C. Gutierrez, A. Bernet, C. Gonzalez, A. Rando, and D. Perez) for providing us with clinical samples from study participants. The Re-HCV Study was carried out with the collaboration of the competitive Gilead Scholarship Program for Biomedical Research (grant number GLD18-00052, 2019–2020), and Gilead also supported article processing charges, but had no role in the study design, collection, analysis, and interpretation of data, in the writing of the report, or in the decision to publish. A. N. holds a PFIS grant (Ref. FI20/00211, Instituto de Salud Carlos III, Fondo Social Europeo). Finally, the authors thank the CERCA Programme/Generalitat de Catalunya for their support to the Germans Trias i Pujol Research Institute (IGTP).

Author contributions

Conceptualization: E.M., V.S., A.M. Funding acquisition: E.M. Methodology, data collection, and analysis: A.M., E.M., V.S., A.E.B., E.Y., A.N., L.E.C., E.L.C., F.G.C., GRUMIP. Interpreted data: all authors. Figure creation: A.E.B. Resources: E.M., E.T., A.M., J.C. Writing—original draft: V.S., A.E.B., E.M. Writing—review and editing: all authors.

Competing interests

Regarding competing interests, VS received travel sponsorship to attend scientific meetings from Gilead Sciences and Cepheid; AM presented lectures at Symposia or Conferences organized by Gilead, Janssen, MSD, Abbvie, and ViiV, as well as consulting services for MSD and Camurus; and EM received lecture fees and research grants from Abbott GmbH & Co. K. G, Gilead Sciences, Cepheid, and Abbvie. The other authors declare no competing interests.

Additional information

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at https://doi.org/10.1038/s41598-023-42701-1.

Correspondence and requests for materials should be addressed to E.M.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

© The Author(s) 2023, corrected publication 2023

Group for the Study and Control of Infectious Diseases in Prison (GRUMIP)

Núria Teixidó[4,7], Anna Sastre[4,8], Ana Ruíz[4,8], Carlos Gallego[4,9], Carlos Touzón[4,10], Concepció Solé[4,11], Ramón Planella[4,12], Elisa Vaz[4,13] & Rafael A. Guerrero[4]

[7]EAPP Sant Esteve Sesrovires-1, Barcelona, Spain. [8]EAPP Sant Esteve Sesrovires-2, Barcelona, Spain. [9]EAPP La Roca del Vallés-1, Barcelona, Spain. [10]EAPP Sant Joan de Vilatorrada, Barcelona, Spain. [11]EAPP Figueres, Girona, Spain. [12]EAPP Lleida, Lleida, Spain. [13]EAPP Tarragona, Tarragona, Spain.

Check for updates

Received: 19 July 2023 | Accepted: 24 November 2023

DOI: 10.1111/jebm.12566

LETTER

WILEY

An online hepatitis C virus self-sampling strategy for gay, bisexual, and other men who have sex with men and trans women: TESTATE C PLUS 2020–2021

The World Health Organization (WHO) global hepatitis strategy aims to reduce new infections by 90% and deaths by 65% by 2030.[1] In 2019, it was estimated that of the 58 million people infected worldwide, only 21% were diagnosed, and 62% of these treated with direct-acting antivirals.[1]

Evidence of hepatitis C virus (HCV) transmission and emerging acute HCV infection among gay, bisexual, and other men who had sex with men (GBMSM), especially in human immunodeficiency virus (HIV)-infected individuals, had risen over the past two decades.[2] In 2018, European Centre for Disease Prevention and Control reported the prevalence in GBMSM at 4.7%.[3] Chemsex, recreational drug use for sex, was an important risk factor for primary infection and reinfection among GBMSM and the risk of transmission was increased with slamming (injecting drugs).[4] The SWEETIE study (HIV and sexually transmitted infection prevalence study in GBMSM and trans women sex workers) identified trans women (TW) as a vulnerable population with an HCV seroprevalence of 1.2%.[5]

Research and engagement were urgently needed to integrate evidence-based interventions with HIV/sexually transmitted infections (STI) prevention in programmes that support screening and linkage to care.[6] An example was the Disfrutasin-C, a partnership with three nongovernmental organizations (NGOs) in Barcelona to inform about hepatitis C prevention.

The WHO recommended the collection of dried blood spots (DBS) by finger prick due to ease of use and high sensitivity and specificity for HCV ribonucleic acid (RNA) detection. However, use was limited as many tests lacked regulatory approval.[7] The WHO had also recently published the first self-testing and self-sampling guidelines for HCV to expand access to screening.[7] Digital technologies to deliver information and sexual health interventions (sexual e-health) were increasingly used. A recent study in Amsterdam demonstrated that DBS self-sampling was feasible without compromising the sensitivity of HCV RNA detection and concluded that such intervention was a practical solution to improve access to testing for at-risk GBMSM.[8,9] To our knowledge, no online self-sampling intervention for screening for HCV viremic infection by viral RNA detection was performed in Spain. Might there be a need for innovative approaches to improve wider access to HCV testing and to extend coverage to populations previously unreached by existing strategies in Spain?

This study aimed to design and implement a pilot intervention (TESTATE C PLUS) to assess the feasibility and acceptability of offering online DBS self-sampling kits for HCV viremic infection screening among GBMSM and TW in Spain. This prospective, nonrandomised study included GBMSM and TW ≥18 years old living in Spain who agreed to sign the informed consent form between October 2020 and November 2021. The study was approved by the Ethics Committee of the Germans Trias i Pujol Hospital (PI-20-093).

Access to self-sampling was based on the HCV- Men who have sex with men Observational Study of Acute Infection with hepatitis C (MOSAIC) risk practices identification questionnaire.[10] Participants were recruited in collaboration with the *Agència de Salut Pública de Barcelona* (ASPB) and three NGOs (*STOP*, *Gais Positius and gTt-VIH*), which were widely recognised by the target community. The recruitment strategy was described elsewhere.[11]

The TESTATE website (https://testate.org/) was expanded to include the offer of free HCV self-sampling kits. Users logged in and completed a sociodemographic and behavioural survey, which included the HCV-MOSAIC questionnaire. Users at HCV risk were sent a DBS collection kit by post. Participants collected the sample by finger prick at home and sent the sample to the laboratory by post with a prepaid envelope. The results were delivered online. All participants who returned a sample were emailed an anonymised acceptance survey (Supplementary Material).

The DBS samples underwent quality check, blood elution, automated nucleic acid extraction, and reverse transcription and real-time polymerase chain reaction to detect HCV RNA in the m2000 system using the Abbott RealTime HCV assay (Abbott Molecular). Valid results were classified as positive or negative. The lower limit of detection for this assay in DBS samples was 462 IU/mL, compared to 12 IU/mL for the same assay in venous plasma. This assay had been approved for in vitro diagnostics (European in-vitro diagnostic devices directive, CE-IVD) using DBS samples.[12]

Participants who tested positive were asked to see a doctor to confirm the diagnosis and access treatment. Participants with a confirmed

© 2023 Chinese Cochrane Center, West China Hospital of Sichuan University and John Wiley & Sons Australia, Ltd.

positive result received a second call 2 months after the first call to find out if they had started treatment. A final call was made 6 months after the first call to find out if the HCV treatment had been effective. We estimated HCV prevalence by calculating the proportion of confirmed HCV-positive persons out of the total number of persons tested with a valid DBS sample. The 95% confidence interval was calculated.

Self-sampling kits were requested by 657 participants (characteristics shown in Table 1). The majority were male (98.90%), and 84.60% of participants identified themselves as gay. The median age was 36 years, and 149 (22.70%) were immigrants—the majority (37.40%) living in cities with populations over 1 million.

Of the participants who responded to the HCV questions ($n = 393$), half (45.04%) had never been tested for HCV, and of those tested, 68.43% had been tested within the previous 6 months to 5 years or more and 29.82% within the previous 6 months. In the last 6 months, 73.79% had receptive condomless anal sex, 31.30% had shared sex toys, and 17.56% had engaged in fisting regarding drug use in the last year, 31.0% had practised chemsex, 6.36% had injected drugs, and 28.50% had shared "rollers" (intranasal drug delivery devices) and 17.81% were on PrEP (Table S1).

Three hundred fifty-three returned a sample to the reference laboratory (53.72% return rate), but 42 (11.90%) were considered invalid and not tested. There were 306 negative and 5 positive samples. Figure S1 shows a summary diagram of participants in the intervention.

The characteristics of the five positive participants are shown in Table 1. Among them, four were successfully contacted; two had their results confirmed and were referred for treatment, but the other two, with a low-level signal, were not (2/311 were considered false positive; 0.6% of participants tested). One positive participant could not be contacted, but the presence of HCV RNA in the DBS sample was confirmed by amplifying and sequencing the NS5B gene region[12], which produced specific results. Considering confirmed positive cases, the estimated prevalence was 0.96% (3/311, 95% CI 0.00 to 2.05).

Fifty-four of the participants who returned the sample (15.29%) responded to the acceptability survey. The median age of participants was 39 years. For participant satisfaction from one to five, the mean score was 4.63 (standard deviation 0.95). 90.74% said they would repeat the experience, and 92.59% would recommend it to a friend. The advantages most identified were convenience (88.89%), free testing (87.04%), and privacy (85.19%). The disadvantages most identified were the risk of sample loss in shipping (55.56%) and long waiting time for results (31.48%) (Table S2).

The TESTATE C PLUS study demonstrated that the provision of self-sampling kits for the detection of HCV viral infection in DBS and online consultation of results was feasible in Spain, as it was in other European countries.[8,9] The intervention enabled access to HCV testing for people at risk of HCV infection. Additionally, many of the participants had never been tested for HCV (45.04%).

Complementary testing modalities to existing testing strategies for HIV, hepatitis, and STIs were important options to diversify and optimise access to testing and should be regulated and available as part of national policy and practice. E-health testing, such as TESTATE C PLUS, could circumvent the inconvenience and stigma associated with face-to-face services and could expand access to populations that could not use standard/mainstream services.[13]

The study had high rates of confirmation and referral to care for participants with positive results. In community screening centres in Catalonia in 2019, GBMSM and TW had a 0.31% HCV RNA detection rate, which was below that of TESTATE C PLUS.[5]

The study has several limitations. First, due to a flaw in the algorithm, some participants were unable to answer the questions on HCV-MOSAIC risk and that might have influenced the low detection of infection. Although the HCV-MOSAIC tool had not been validated for HIV-negative individuals, it might be helpful in selecting those at higher risk of HCV infection who, therefore, should be offered screening. Furthermore, the response rate was relatively low, which could introduce bias in the interpretation of the findings; we had no information on why people ordered kits but did not return samples. We found 0.6% of false positive results, similar to previous studies, when directly assessing low-prevalence populations with an HCV RNA assay.[14,15] These results might be due to artefacts in the assay giving low-level noise.[15]

The study had several strengths. In a COVID-19 pandemic, or in other cases of population quarantine, it made even more sense to increase access and testing, reduce the burden of primary care and STIs consultations, and reduce people's mobility. TESTATE could also bring testing closer to rural areas with less accessible medical resources.

In conclusion, TESTATE C PLUS is potentially a practical solution to improve access to HCV testing in GBMSM and TW at risk and most study participants deemed it acceptable and user-friendly. Implementing this strategy alongside existing ones may aid in HCV microelimination among the intended population. This study demonstrates the benefits and the need to work together with community entities. Our intervention has proven to be feasible and could be consolidated as a service and easily adapted to include self-sampling kits suitable for other infections such as chlamydia, gonorrhoea and HIV, enteric infections such as shigellosis or new infections such as mpox. Further research is required to achieve integration into the public health system.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Gema Ballega, Juan Rus, Marina Herrero, Pili Bonamusa, Juliana Reyes-Ureña, the Directorate General of the Department of Health of the Generalitat de Catalunya and Associació Benestar i Desenvolupament, and Gilead Sciences for their collaboration. This study was carried out with the support from the competitive Gilead COMIT call (No. 07691), but Gilead had no role in the study design, collection, analysis, and interpretation of data, in the writing of the report, or in the decision to publish. To Anna Pérez for the laboratory work. Anna Not holds a PFIS grant (Ref. FI20/00211, Instituto de Salud Carlos III, Fondo Social Europeo). Finally, the authors thank the CERCA Programme/Generalitat de Catalunya for their support to the Germans Trias i Pujol Research Institute (IGTP). To Elena Longares, Jordi Garo and Abel Huete for their help in collaborating with the saunas and sex shops in Barcelona. To the managers of the locals and the dating and contact apps and websites and to the

17565391, 2023, 4, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jdbm.12566 by Universitat Autònoma de Barcelona, Wiley Online Library on [16/07/2024]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

TABLE 1 Main characteristics of participants from TESTATE C PLUS October 2020 to November 2021.

Characteristics	DBS kit sent ($n = 657$)	DBS sample received ($n = 311$)	HCV RNA negative ($n = 306$)	HCV RNA positive ($n = 5$)
Median age (IQR)	36 (29, 44)	36 (28, 44)	36 (28, 44)	36 (35, 44)
Gender				
Cis man	650 (98.90%)	307 (98.70%)	302 (98.70%)	5 (100.00%)
Trans person	7 (1.10%)	4 (1.30%)	4 (1.30%)	0 (0.00%)
Sexual orientation				
Gay	556 (84.60%)	269 (86.50%)	264 (86.30%)	5 (100.00%)
Heterosexual	8 (1.20%)	2 (0.60%)	2 (0.70%)	0 (0.00%)
Bisexual	90 (13.70%)	38 (12.20%)	38 (12.40%)	0 (0.00%)
Other	3 (0.50%)	2 (0.60%)	2 (0.70%)	0 (0.00%)
Country of birth				
Spain	508 (77.30%)	66 (21.20%)	65 (21.20%)	1 (20.00%)
Other	149 (22.70%)	245 (78.80%)	241 (78.80%)	4 (80.00%)
Region				
Andalucía	71 (10.80%)	36 (11.60%)	36 (11.80%)	0 (0.00%)
Aragón	10 (1.50%)	6 (1.90%)	6 (2.00%)	0 (0.00%)
Canarias	17 (2.60%)	9 (2.90%)	9 (2.90%)	0 (0.00%)
Cantabria	4 (0.60%)	2 (0.60%)	2 (0.70%)	0 (0.00%)
Castilla-La Mancha	9 (1.40%)	5 (1.60%)	5 (1.60%)	0 (0.00%)
Castilla y León	12 (1.80%)	7 (2.30%)	7 (2.30%)	0 (0.00%)
Cataluña	267 (40.60%)	128 (41.20%)	124 (40.50%)	4 (80.00%)
Ciudad Autónoma de Melilla	1 (0.20%)	1 (0.30%)	1 (0.30%)	0 (0.00%)
Comunidad de Madrid	136 (20.70%)	59 (19.00%)	59 (19.30%)	0 (0.00%)
Comunidad Foral de Navarra	6 (0.90%)	3 (1.00%)	3 (1.00%)	0 (0.00%)
Comunitat Valenciana	51 (7.76%)	17 (5.47%)	17 (5.56%)	0 (0.00%)
Extremadura	2 (0.30%)	2 (0.64%)	2 (0.65%)	0 (0.00%)
Galicia	23 (3.50%)	11 (3.54%)	10 (3.27%)	1 (20.00%)
Illes Balears	10 (1.52%)	3 (0.96%)	3 (0.98%)	0 (0.00%)
La Rioja	1 (0.15%)	1 (0.32%)	1 (0.33%)	0 (0.00%)
País Vasco	23 (3.50%)	14 (4.50%)	14 (4.58%)	0 (0.00%)
Principado de Asturias	6 (0.91%)	4 (1.29%)	4 (1.31%)	0 (0.00%)
Región de Murcia	8 (1.22%)	3 (0.96%)	3 (0.98%)	0 (0.00%)
Town or city inhabitants				
More than 1 million inhabitants	246 (37.40%)	107 (34.40%)	103 (33.70%)	4 (80.00%)
Between 500,000 and 999,999 inhabitants	45 (6.85%)	15 (4.82%)	15 (4.90%)	0 (0.00%)
Between 100,000 and 499,999 inhabitants	126 (19.20%)	61 (19.60%)	61 (19.90%)	0 (0.00%)
Between 49,000 and 99,999 inhabitants	66 (10.00%)	33 (10.60%)	32 (10.50%)	1 (20.00%)
Between 10,000 and 49,000 inhabitants	85 (12.90%)	46 (14.80%)	46 (15.00%)	0 (0.00%)
Less than 10,000 inhabitants	43 (6.54%)	24 (7.72%)	24 (7.84%)	0 (0.00%)
DK/DA	46 (7.00%)	25 (8.04%)	25 (8.17%)	0 (0.00%)
Level of studies				
Complete primary school	18 (2.74%)	7 (2.25%)	7 (2.29%)	0 (0.00%)
Complete secondary school	81 (12.30%)	47 (15.10%)	47 (15.40%)	0 (0.00%)

(Continues)

17565391, 2023, 4, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jebm.12566 by Universitat Autònoma de Barcelona, Wiley Online Library on [16/07/2024]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

TABLE 1 (Continued)

Characteristics	DBS kit sent (*n* = 657)	DBS sample received (*n* = 311)	HCV RNA negative (*n* = 306)	HCV RNA positive (*n* = 5)
Complete vocational studies	189 (28.80%)	94 (30.20%)	93 (30.40%)	1 (20.00%)
Complete university	201 (30.60%)	90 (28.90%)	87 (28.40%)	3 (60.00%)
Postgraduate studies (master, PhD, etc.)	161 (24.50%)	67 (21.50%)	66 (21.60%)	1 (20.00%)
DK/DA	7 (1.07%)	6 (1.93%)	6 (1.96%)	0 (0.00%)
HIV positive				
Yes	40 (6.09%)	13 (4.18%)	12 (3.92%)	1 (20.00%)
No	417 (63.50%)	200 (64.30%)	198 (64.70%)	2 (40.00%)
DK/DA	200 (30.40%)	98 (31.50%)	96 (31.40%)	2 (40.00%)
HIV status of your partner at last anal intercourse				
HIV negative	176 (26.80%)	93 (29.90%)	92 (30.10%)	1 (20.00%)
HIV positive with undetectable viral load	49 (7.46%)	22 (7.07%)	22 (7.19%)	0 (0.00%)
HIV positive with detectable viral load	3 (0.46%)	2 (0.64%)	2 (0.65%)	0 (0.00%)
HIV positive and I don't know if his viral load was detectable or undetectable	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
I don't know your HIV status	318 (48.40%)	149 (47.90%)	146 (47.70%)	3 (60.00%)
DK/DA	111 (16.94%)	45 (14.46%)	44 (14.19%)	1 (20.00%)
Last STI				
In the last month	24 (3.65%)	8 (2.57%)	8 (2.61%)	0 (0.00%)
In the last 6 months	74 (11.30%)	26 (8.36%)	24 (7.84%)	2 (40.00%)
In the last 12 months	79 (12.00%)	31 (9.97%)	30 (9.80%)	1 (20.00%)
Within the last 5 years	158 (24.00%)	80 (25.70%)	79 (25.80%)	1 (20.00%)
More than 5 years ago	25 (3.81%)	15 (4.82%)	15 (4.90%)	0 (0.00%)
DK/DA	297 (45.21%)	151 (48.52%)	150 (49.00%)	1 (20.00%)
Number of men or trans women receptive or insertive anal intercourse last 12 months				
I have not had anal intercourse in the last 12 months	17 (2.59%)	8 (2.57%)	8 (2.61%)	0 (0.00%)
With 1	39 (5.94%)	19 (6.11%)	19 (6.21%)	0 (0.00%)
2–4	118 (18.00%)	61 (19.60%)	60 (19.60%)	1 (20.00%)
5–9	97 (14.80%)	49 (15.80%)	47 (15.40%)	2 (40.00%)
10–20	74 (11.30%)	34 (10.90%)	34 (11.10%)	0 (0.00%)
More than 20 pairs	107 (16.30%)	45 (14.50%)	43 (14.10%)	2 (40.00%)
DK/DA	205 (31.23%)	95 (30.51%)	95 (31.03%)	0 (0.00%)
Condom use in last anal sexual intercourse				
Yes	203 (30.90%)	105 (33.80%)	103 (33.70%)	2 (40.00%)
No	437 (66.50%)	199 (64.00%)	196 (64.10%)	3 (60.00%)
DK/DA	17 (2.59%)	7 (2.25%)	7 (2.29%)	0 (0.00%)

Abbreviatios: DBS, dried blood spots; DK/DA, don't know/don't answer; HCV, hepatitis C virus; HIV, human immunodeficiency virus; IQR, interquartile range; RNA, ribonucleic acid; STI, sexually transmitted infection.

community referents—drag queens, amateur and professional porn actors—who helped us in the fieldwork and to the volunteers who helped in the recruitment of participants. And especially to Llorenç Carrera for his involvement in developing the web application. This work has been carried out within the framework of the Doctorate Programme in Biomedical Research Methodology and Public Health of the Universitat Autònoma de Barcelona.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

E.M. received lecture fees and research grants from Abbott GmbH & Co. KG, Gilead, Cepheid, and Abbvie, and advisory fees from Gilead, out of the present work. The other authors declare no competing interests.

Héctor Martínez-Riveros he/him[1,2,3]
Elisa Martró[3,4,5]

17565391, 2023, 4, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jebm.12566 by Universitat Autònoma de Barcelona, Wiley Online Library on [16/07/2024]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License

Marcos Montoro-Fernandez[1]
Yesika Diaz[1,5]
Esteve Muntada[1]
Pol Romano-deGea[1,3]
Sergio Moreno-Fornés[1,5]
Rubén Mora[6]
Luis Villegas[6]
Juan Mena[6]
Quim Roqueta[7]
Juanse Hernández[8]
Miguel Vázquez[8]
Cristina Rius[9]
Francisca Román[9]
Anna Not[3,4,5,10]
Laura Muntané[3,4]
Joan Colom[11]
Jordi Casabona[1,3,5,10]
Cristina Agustí[1,3,5]

[1]*Centre for Epidemiological Studies on Sexually Transmitted Infections and AIDS of Catalonia, Ministry of Health of the Governmen of Catalonia, Badalona, Spain*
[2]*Doctorate Program in Methodology of Biomedical Research and Public Health, Department of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology and Preventive Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Badalona, Spain*
[3]*Germans Trias i Pujol Research Institute, Campus Can Ruti, Badalona, Spain*
[4]*Microbiology Department, Laboratori Clínic Metropolitana Nord, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Institut d'Investigació Germans Trias i Pujol, Badalona (Barcelona), Spain*
[5]*Biomedical Research Center Network for Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain*
[6]*Stop, Barcelona, Spain*
[7]*Gais Positius, Barcelona, Spain*
[8]*Grupo de Trabajo sobre Tratamientos del VIH (gTt-VIH), Barcelona, Spain*
[9]*Epidemiology Service, Public Health Agency of Barcelona (ASPB), Barcelona, Spain*
[10]*Department of Genetics and Microbiology, Autonomous University of Barcelona, Badalona, Spain*
[11]*Programa de prevenció, control i atenció al virus d'immunodeficiència humana, les infeccions de transmissió sexual i les hepatitis víriques, Public Health Agency of Catalonia, Barcelona, Spain*

Correspondence
Héctor Martínez-Riveros, Centre for Epidemiological Studies on Sexually Transmitted Infections and AIDS of Catalonia, Ministry of Health of the Governmen of Catalonia, Badalona, Spain.
Email: hmr.badalona@gmail.com

ORCID

Héctor Martínez-Riveros he/him https://orcid.org/0000-0003-3372-6134

REFERENCES

1. World Health Organization. World Health Organization; 2022. Available from: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c
2. Chan DP, Sun HY, Wong HT, Lee SS, Hung CC. Sexually acquired hepatitis C virus infection: a review. *Int J Infect Dis*. 2016;49:47–58.
3. European Centre for Disease Prevention and Control. *Hepatitis B and C Epidemiology in Selected Population Groups in the EU/EEA*. ECDC; 2018.
4. Midgard H, Weir A, Palmateer N, et al. HCV epidemiology in high-risk groups and the risk of reinfection. *J Hepatol*. 2016;65:33–45.
5. Centre d'Estudis Epidemiològics sobre les ITS i Sida de Catalunya—CEEISCAT (2021) Sistema Integrat de Vigilància Epidemiològica de la SIDA/VIH/ITS/VHC a Catalunya (SIVES 2020). Departament de Salut, Generalitat de Catalunya. Available from: http://www.ceeiscat.cat
6. European Centre for Disease Prevention and Control. *Public Health Guidance on HIV, Hepatitis B and C Testing in the EU/EEA—An Integrated Approach*. ECDC; 2018.
7. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
8. Prinsenberg T, Rebers S, Boyd A, et al. Dried blood spot self-sampling at home is a feasible technique for hepatitis C RNA detection. *PLoS One*. 2020;15(4), e0231385.
9. Prinsenberg T, Schinkel J, Zantkuijl P, Davidovich U, Prins M, van der Valk M. Internet-guided HCV-RNA testing: a promising tool to achieve hepatitis C micro-elimination among men who have sex with men. *J Viral Hepat*. 2022;29(8), 677–684.
10. Newsum AM, Stolte IG, van der Meer JT, et al. Development and validation of the HCV-MOSAIC risk score to assist testing for acute hepatitis C virus (HCV) infection in HIV-infected men who have sex with men (MSM). *Euro Surveill*. 2017;22(21), 30540.
11. Martínez-Riveros H, Montoro-Fernandez M, Diaz Y, et al. Reclutamiento para el cribado de hepatitis C durante la pandemia del COVID-19: retos y oportunidades. *Enf Emerg*. 2023;22(1): 30–34.
12. Saludes V, Antuori A, Lazarus JV, et al. Evaluation of the Xpert HCV VL Fingerstick point-of-care assay and dried blood spot HCV-RNA testing as simplified diagnostic strategies among people who inject drugs in Catalonia, Spain. *Int J Drug Policy*. 2020;80:102734.
13. Minichiello V, Rahman S, Dune T, Scott J, Dowsett G. E-health: potential benefits and challenges in providing and accessing sexual health services. *BMC Public Health*. 2013;13:790.
14. Saludes V, Folch C, Morales-Carmona A, et al. Community-based screening of hepatitis C with a one-step RNA detection algorithm from dried-blood spots: analysis of key populations in Barcelona, Spain. *J Viral Hepat*. 2018;25(3), 236–244.
15. Catlett B, Bajis S, Starr M, et al. Evaluation of the aptima HCV quant Dx assay for hepatitis C virus RNA detection from fingerstick capillary dried blood spot and venepuncture-collected samples. *J Infect Dis*. 2021;223(5), 818–826.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

17565391, 2023, 4, Downloaded from https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jdv.12566 by Universitat Autonoma de Barcelona, Wiley Online Library on [16/07/2024]. See the Terms and Conditions (https://onlinelibrary.wiley.com/terms-and-conditions) on Wiley Online Library for rules of use; OA articles are governed by the applicable Creative Commons License