

VANTAGGI E CRITICITA' DERIVANTI DALL'IMPIEGO DELL'NGS PER IL TEST GENOTIPICO DI RESISTENZA DI HIV

Marco Tuccio¹, Chiara Farinella¹, Letizia Pillitteri¹, Valerio La Barbera¹, Elena Baiamonte¹,
Giuseppina Maria Elena Colomba¹, Orazia Diquattro¹.

¹U.O.C. di Microbiologia e Virologia, AOOR "Villa Sofia – Cervello",

INTRODUZIONE

Il decremento dei costi del next generation sequencing (NGS), unitamente alla disponibilità di kit adeguati alle necessità ospedaliere, hanno permesso ad un numero sempre crescente di laboratori di adottare tale tecnologia per la genotipizzazione di HIV. Convenzionalmente la ricerca delle mutazioni di resistenza (DRMs) veniva eseguita con il sequenziamento di popolazione secondo metodica Sanger che però risente di una limitata capacità nell' identificare varianti con una frequenza intra-host al di sotto del 20%; diversi studi hanno dimostrato che tali mutazioni possono avere un impatto clinico considerevole e la loro identificazione può sensibilmente migliorare l'outcome del paziente seguente al trattamento farmacologico. Obiettivo del nostro lavoro è mettere in luce i vantaggi ed eventualmente le criticità, derivanti dall'impiego dell'NGS per la genotipizzazione di HIV in un contesto ospedaliero.

RT-NRTI

Abacavir: R
Didanosina: R
Lamivudina: R
Stavudina: S
Tenofovir: S
Zidovudina: S
Emtricitabina: R

RT-NRTI

Abacavir: R
Didanosina: R
Lamivudina: R
Stavudina: I
Tenofovir: S
Zidovudina: I
Emtricitabina: R



MATERIALI E METODI

L'NGS è stato condotto su campioni di sangue prelevati da pazienti cui era già stata confermata la positività per HIV mediante indagini molecolari. Il sequenziamento è stato realizzato su piattaforma illumina® e i risultati ottenuti analizzati mediante *HIVdb Program* fornito dal database di Stanford. Il sequenziamento con tecnica Sanger è stato altresì condotto mediante kit HIV Drug Resistance Mutation Sequencing v2 e le sequenze analizzate sul database di Stanford in conformità ai test condotti con tecnica NGS.



CONCLUSIONI

Il Next generation sequencing si è dimostrato uno strumento estremamente efficace, con una maggiore sensibilità rispetto al sequenziamento Sanger; questo ha permesso di correggere e adeguare la terapia farmacologica eradicando sottopopolazioni selezionate dall'impiego di un trattamento subottimale. Inoltre processando un quantitativo considerevole di campioni è stato possibile ottimizzare i consumi abbattendo notevolmente i costi. La standardizzazione delle procedure, dal processamento dei campioni all'elaborazione dei dati rappresenta un'avvincente sfida che pone numerosi punti di snodo considerata l'estrema variabilità dei dati ottenuti ed i potenziali bias derivanti da una così vasta mole di informazioni.