

CASE REPORT: EPATITE C E DIFFICILE IDENTIFICAZIONE DEL GENOTIPO HCV 3H

P. Griffo², K. Bortolozzo¹, M. Amadio³, A. Gani¹, R. Carrino²

¹AB ANALITICA srl, Via Svizzera 16, 35127 Padova, Italia

²Laboratorio di Analisi Cliniche Biomedical, Via Salvo d'Acquisto 200, 81031 Aversa, Italia

³U.O.C Medicina di Laboratorio-Ospedale di Dolo, Via XXIX Aprile 2, 30031 Venezia, Italia

INTRODUZIONE

E' giunto a dicembre 2015 al nostro laboratorio un paziente di 44 anni affetto da epatite C, contratta verosimilmente in seguito a trasfusione in età pediatrica. Pregresse analisi di tipizzazione avevano identificato la presenza di un genotipo HCV 1b. Per iniziare la terapia con DAAs vengono richiesti nuovi controlli medici tra cui la ricerca del genotipo virale. Il test di tipizzazione effettuato nel nostro laboratorio non ha confermato la presenza del genotipo 1b ed ha richiesto diversi approfondimenti. Dal primo al terzo mese di trattamento con DAKLINZA e SOVALDI si è osservato nel paziente l'azzeramento della carica virale, che è però tornata a salire a partire dal quarto mese.

METODI

L'indagine per la ricerca del genotipo virale viene effettuata su RNA estratto da plasma, utilizzando kit diagnostici basati su tecnologie diverse: Real Time PCR (HCV Genotype Plus Real-TM- Sacace) e Reverse Line Blot (AMPLIQUALITY HCV TYPE PLUS - AB ANALITICA e VERSANT HCV Genotype 2.0 - Siemens). Inoltre si è proceduto in parallelo al sequenziamento della regione NS5B dell'RNA virale, sia per confermare il genotipo che per escludere la presenza di eventuali varianti conferenti resistenza. La carica virale è stata monitorata mensilmente utilizzando il kit Artus HCV RG RT-PCR (QIAGEN).

RISULTATI

Il sistema HCV Genotype Plus Real-TM basato su metodica in Real Time PCR ha dato come risultato la presenza di un genotipo indeterminato; lo stesso risultato è stato ottenuto con il dispositivo VERSANT HCV Genotype 2.0 mentre il kit AMPLIQUALITY HCV TYPE PLUS ha evidenziato la presenza di un genotipo HCV 3h. La presenza del genotipo HCV 3 sottotipo h è stata confermata anche dal sequenziamento e dall'analisi filogenetica della regione virale NS5B. Non è invece stata riscontrata evidenza di alcuna variante nella porzione aminoacidica 223-342 della NS5B polimerasi o positività ad altre mutazioni indagate, quali: K250R, I253V, S269T, I293L, R300T, V323I, S327N, V329I, A335T e S282T.

CONCLUSIONI

La nostra esperienza conferma la difficoltà di identificazione del genotipo HCV 3h, già riportata in precedenti lavori (Sodano et al., 2010; Pollicita et al., 2013). La presenza di polimorfismi nella 5'UTR del sottotipo h lo rende non identificabile dalle sonde utilizzate normalmente per l'identificazione del genotipo 3. Un risultato di tipizzazione, in accordo con il sequenziamento, è stato ottenuto con il kit AMPLIQUALITY HCV TYPE PLUS, nel quale è presente una sonda specifica per la detection di questo sottotipo virale. Rimangono incompresi, in assenza di mutazioni nella regione NS5B, quali possano essere i motivi di fallimento della terapia con DAAs sebbene i dati attuali in nostro possesso non possano escludere la presenza di varianti conferenti resistenza nella regione NS5A.