

SELEZIONE DI VARIANTI FARMACO-RESISTENTI IN CORSO DI FALLIMENTO TERAPEUTICO IN PAZIENTI CON INFEZIONE DA HCVG. Colomba¹, N. Urone¹, D. Ferraro¹¹Dpt Scienze per la Promozione della Salute e Materno Infantile "G. D'Alessandro", Università di Palermo- Microbiologia AOUP "P. Giaccone"**INTRODUZIONE**

L'eradicazione dell'infezione da HCV è correlata all'ampio uso delle nuove terapie con farmaci ad azione antivirale diretta (DAAs), quali gli inibitori della proteasi NS3/4A, della fosfoproteina NS5A e della polimerasi NS5B. La scelta del regime terapeutico si basa sul genotipo/sottotipo virale infettante e sulla presenza di resistance-associated variants (RAVs) nei pazienti già sottoposti a terapia.

METODI

Sequenze di NS3, NS5A e NS5B sono state prodotte dal siero di 12 pazienti infettati da HCV/1b o HCV/4 (1/12) ottenuti all'inizio della terapia (To) con DAAs e al fallimento terapeutico (Tr). I pazienti, nessuno dei quali ha una precedente storia di fallimento terapeutico con DAA, sono stati trattati con Ledipasvir e Sofosbuvir (5/12), Paritaprevir, Ombitasvir più Dasabuvir (4/12), o con i nuovi regimi Velpatasvir e Sofosbuvir (2/12) e Grazoprevir più Elbasvir (1/2). Le sequenze ottenute sono state ispezionate visualmente e mediante il software geno2pheno (<https://hcv.geno2pheno.org>). Epitopi HLA-I di HCV sono stati ottenuti da Immune Epitope Database e Analysis Resource (IEDB, www.iedb.org). Lo score di legame è stato valutato mediante lo score IC50 Artificial Neural Network (IC50 ANN).

RISULTATI

L'analisi filogenetica ha confermato il genotipo 1b o 4d degli isolati virali, precedentemente definito con test di ibridazione inversa. Le sequenze NS3 di 1/4 pazienti in terapia con Paritaprevir mostrano al T0 la RAV S122T, mentre a Tr tutti i 4 casi hanno selezionato le RAVs Y56H più D168A/V. Le sequenze NS3 dei pazienti che sono andati incontro a fallimento terapeutico con Grazoprevir mostrano il polimorfismo A150V, ma nessuna delle mutazioni descritte. Pattern di RAVs multiple nella proteina NS5A, incluso le mutazioni Y93C/E/H/Q sono state dimostrate in tutti gli isolati ottenuti a Tr. Prima della terapia 4/12 isolati mostrano la mutazione Y93H spesso associata con Q30R, L31M, Q54H, Q62E/K. Nel gene NS5B, uno di 7 isolati da pazienti in terapia con Sofosbuvir mostra a Tr la RAV S282T, mentre in 2/4 isolati da pazienti in terapia con Dasabuvir è stata evidenziata la mutazione M204V.

Lo studio degli epitopi evidenzia la sovrapposizione alle RAV nelle proteine NS3 e NS5A. La mappa degli epitopi di HCV rivela nelle proteine NS3 e NS5A la sovrapposizione alle RAV e che le mutazioni Y56H, D168A/V in NS3 e Y93C/E/H in NS5A, possono influenzare l'affinità di legame HLA e quindi favorire l'immune-escape.

CONCLUSIONI

Raramente vengono registrati fallimenti terapeutici con i DAAs, e comunque più spesso sono riconducibili alla misclassificazione del genotipo e alla selezione di RAVs. Il rapido adattamento di HCV alle condizioni dell'ospite può portare all'emergenza di varianti che possono sfuggire nello stesso tempo alla risposta immune dell'ospite e alla terapia, riducendo così la probabilità di guarigione.