

Applicazione NGS allo studio dei virus

Rozera G, Istituto Nazionale per le Malattie Infettive “L.Spallanzani”, Roma

Nel campo virologico, la così detta 'next-generation' sequencing (NGS) ha introdotto una vera e propria rivoluzione, aprendo nuove prospettive sia nel campo della ricerca che della diagnostica.

L'emergere dei virus Ebola, Nipah, Sin Nombre Hantavirus, SARS, influenza aviaria e MERS fa chiaramente pensare come sia cambiata in modo significativo l'epidemiologia delle malattie virali a causa di diversi fattori antropologici ed ecologici (la vasta globalizzazione del viaggio e del business, la rapida urbanizzazione non pianificata, la deforestazione, ecc), esponendo diverse popolazioni umane a virus nuovi e/o riemergenti, di natura per lo più zoonotica. L'Organizzazione Mondiale della Sanità sottolinea come "sarebbe estremamente ingenuo ritenere che prima o poi non emergeranno altre malattie come l'AIDS, Ebola, SARS " e non si stenta a crederci se si pensa che, secondo una stima recente, sono almeno 320.000 i virus dei mammiferi in attesa di essere scoperti.

In tale scenario, appare evidente come la disponibilità di NGS offra una possibilità senza precedenti per caratterizzare le comunità virali e studiare tutti quei meccanismi che sono essenziali per implementare specifici strumenti diagnostici, determinare la giusta via di trattamento e applicare la corretta strategia di prevenzione.

Le piattaforme NGS possono sequenziare materiale genetico di diversa natura, con alta sensibilità, lavorando anche in maniera sequenza-indipendente, e ciò li rende strumenti ideali anche per la scoperta di nuovi virus. Il vantaggio supremo delle piattaforme NGS è la loro capacità di caratterizzare centinaia di diversi agenti patogeni contemporaneamente che non sono coltivabili utilizzando approcci convenzionali.

Numerosissimi sono gli studi effettuati su virus quali l'HIV, l'HBV, l'HCV, i virus influenzali, con il molteplice scopo di sequenziare l'intero genoma virale, rilevare la variabilità del genoma e le dinamiche virali. Le applicazioni di NGS sono particolarmente adatte per virus che, a causa di errori dovuti al meccanismo di replicazione e all'elevato tasso di replicazione, sono presenti in ogni individuo infetto come una popolazione composta di varianti, indicate come quasispecie. La quasispecie virale, a sua volta, rappresenta il substrato per la pressione selettiva esercitata dal sistema immunitario o da farmaci antivirali. Con approcci tradizionali, è difficile rilevare e quantificare genomi virali minoritari presenti nella quasispecie che possono avere rilevanza biologica e clinica. NGS prevede, per ogni paziente, un set di dati di sequenze clonali che è di diversi ordini di grandezza superiore a quelli ottenuti con i metodi convenzionali. Quindi, NGS è uno strumento estremamente potente con cui indagare aspetti delle dinamiche virali precedentemente inaccessibili, come il contributo di diversi serbatoi virali nel corso della storia

naturale dell'infezione, le dinamiche di sviluppo di farmaco-resistenze e il riemergere di genomi “nascosti” dopo interruzioni del trattamento.

Tuttavia, alcune sfide devono ancora essere superate perché la tecnologia NGS diventi di routine nella pratica clinica: il costo iniziale degli impianti, il tempo di risposta, la necessità di potenti strutture di calcolo e di personale altamente qualificato, sono fra i principali ostacoli alla applicazione di NGS al di fuori dell'ambito sperimentale.