

## **ID: 83 - VALUTAZIONE BIOCHIMICA COMBINATA AL SEQUENZIAMENTO DEL DNA NELLO SCREENING NEONATALE ESTESO DELLE MALATTIE METABOLICHE EREDITARIE: L'ESPERIENZA IN UN CENTRO DI RIFERIMENTO ITALIANO**

Simona Fecarotta<sup>1</sup>, Lorenzo Vaccaro<sup>2</sup>, Alessandra Verde<sup>3</sup>, Marianna Alagia<sup>1</sup>, Alessandro Rossi<sup>3</sup>, Chiara Colantuono<sup>4</sup>, Mariateresa Cacciapuoti<sup>4</sup>, Patrizia Annunziata<sup>4</sup>, Sara Riccardo<sup>4</sup>, Antonio Grimaldi<sup>2</sup>, Tonya Fusco<sup>2</sup>, Rosa De Santis<sup>2</sup>, Fernando Barretta<sup>5</sup>, Lucia Albano<sup>6</sup>, Daniela Crisci<sup>6</sup>, Fabiana Vallone<sup>6</sup>, Antonietta Tarallo<sup>3</sup>, Marcella Cesana<sup>3</sup>, Nicola Brunetti-Pierri<sup>3</sup>, Giulia Frisso<sup>5</sup>, Margherita Ruoppolo<sup>5</sup>, Davide Cacchiarelli<sup>2</sup>, Giancarlo Parenti<sup>3</sup> AOU Federico II – Azienda Ospedaliera Universitaria Federico II, Napoli, Italia, <sup>2</sup> Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Pozzuoli, Italy, <sup>3</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università di Napoli “Federico II”, Italia, <sup>4</sup> NEGEDIA srl, Pozzuoli, Naples, Italy, <sup>5</sup> Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università di Napoli “Federico II”, Italia, <sup>6</sup> CEINGE-Biotecnologie Avanzate Franco Salvatore, Napoli, Italia

**Introduzione** I programmi di screening neonatale esteso (SNE) hanno migliorato la salute di pazienti con malattie metaboliche ereditarie (MME). I metodi analitici biochimici sono considerati il gold-standard per lo SNE, ma esistono difficoltà interpretative in caso di analiti non specifici, portatori, condizioni materne o risultati non conclusivi. Nei casi di positività allo SNE spesso è necessario interrogare i dati genomici come complemento ai dati biochimici, in particolare quando questi non sono sufficienti per la diagnosi. Il sequenziamento di nuova generazione (NGS) è un prezioso strumento per la diagnosi di malattie genetiche, incluse le MME, ma comporta sfide importanti se utilizzato come approccio di prima linea nello screening neonatale. Lo scopo dello studio è valutare un approccio integrato e parallelo di analisi biochimiche di conferma e di sequenziamento genomico, quale algoritmo diagnostico applicato ai neonati richiamati SNE.

**Metodi** In 108 neonati riferiti per positività allo SNE abbiamo eseguito in parallelo approfondite procedure biochimiche di conferma e NGS su dried blood spot (DBS). L'analisi NGS si basava sull'applicazione di librerie di sequenziamento dell'esoma, con analisi limitata a 105 geni coinvolti nella diagnosi differenziale di 46 MME oggetto dello SNE. Per ciascun caso abbiamo valutato se l'approccio basato esclusivamente su dati biochimici sarebbe stato sufficiente per definire la diagnosi o se l'analisi molecolare fosse stata indispensabile o di supporto per la conclusione.

**Risultati** Con questo approccio abbiamo risolto il 100% dei casi. Nel 39,8% (43/108) l'analisi genetica è stata necessaria alla conclusione (critica nel 17,5% e utile nel 22,3% dei casi). In totale, abbiamo identificato 23 affetti (con varianti in omozigosi o eterozigosi composta o con diagnosi biochimica supportata da una sola variante nel gene corrispondente in un caso), 32 falsi positivi, 12 individui riferiti per condizioni materne (deficit di vitamina B12) e 41 eterozigoti. Il contributo dell'analisi molecolare ad una corretta valutazione variava in diverse malattie.

**Conclusioni** In questo studio, abbiamo valutato l'efficacia della combinazione di approcci biochimici e molecolari nella diagnosi di MME applicata allo SNE. L'algoritmo proposto potrebbe diventare il gold-standard per la diagnosi di neonati riferiti allo SNE, con potenziale riduzione dell'impatto, dei tempi necessari alla conclusione diagnostica e dei costi per il sistema sanitario.