

Targeted-resequencing NGS nella diagnostica assistenziale di laboratorio degli errori congeniti del metabolismo: sette anni di esperienza

Lorenzo Ferri¹, Catia Cavicchi¹, Anna Caciotti¹, Rodolfo Tonin¹, Silvia Falliano¹, Francesca Marin¹, Antonella Paoli¹, Marina Rinaldi¹, Renzo Guerrini^{1,2}, Amelia Morrone^{1,2}

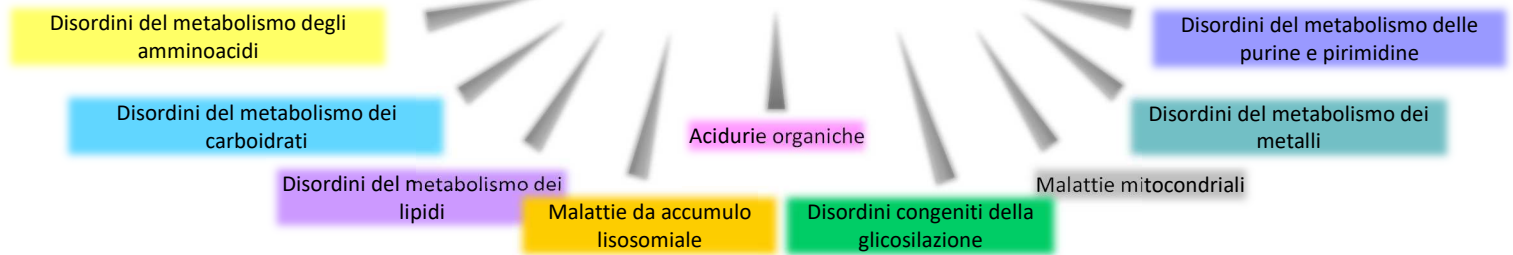


1 Lab Bio Mol Mal Neuromet, AOU Meyer, Firenze; 2 Dip Neurofarba, UNIFI Firenze
Email: lorenzo.ferri@meyer.it; catia.cavicchi@meyer.it; amelia.morrone@meyer.it



BACKGROUND

ERRORI CONGENITI DEL METABOLISMO



L'analisi genetica è fondamentale per:

- Conferma diagnostica
- Consulenza genetica familiare
- Terapia
- Diagnosi prenatale

METODI

Targeted-resequencing NGS di ~500 geni nucleari suddivisi in tre pannelli tecnici custom per offrire assistenza alla diagnosi in oltre 40 quesiti clinici metabolici mediante Nextera DNA Flex Library Preparation e sequenziamento Paired-End 150 bp su piattaforma MiSeq (Illumina).

Partecipazione al programma di controllo di qualità EMQN DNA Sequencing-NGS (vGermline).

RISULTATI

dal 01/2016 al 10/2022

- ✓ 1370 probandi: 55% con sospetto clinico/biochimico post-natale 45% positività allo SNE
- ✓ 712 probandi risultati positivi (Figura 1).
Resa diagnostica complessiva: 52%
(variabile in base al pannello: dal 100% per iperfenilalaninemie o per cistinuria, a <20% per CDG senza alterazione della sialotransferrina sierica)
- ✓ **Varianti nuove:** nel 27% dei probandi analizzati.
- ✓ **CNV (Copy Number Variants):** 2% dei probandi con delezione di singolo esone o multiesonica (Tabella 1).
- ✓ **Consulenza genetica familiare:** screening di mutazione nota in ~1000 familiari a rischio e la diagnosi genetica prenatale in 8 gravidanze.
- ✓ Oltre il 60% delle diagnosi effettuate erano correlate a geni che non analizzavamo in Sanger in epoca pre-NGS.

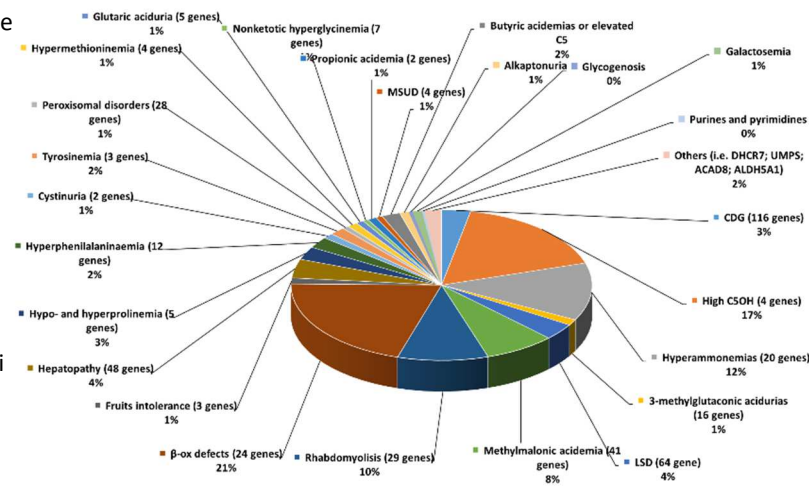


Figura 1. Distribuzione dei casi diagnosticati in NGS (N = 712)

Tabella 1. CNV identificate (29 probandi)

Pannello	CDG	CSOH	↑ NH ₄ ⁺	3-MGA	LSD	Muscolari	↑ Prolina	Rifiuto della frutta	↑ Phe	↑ Tyr	Propionico aciduria	Alcaptonuria	Glicogenosi	Epatopatie
Delezioni estese identificate	ALG8:Δex3-13	MCCC1:Δex1 MCCC1:Δex1+ins MCCC1:Δex17 BTD:Δintero gene	CA5A:Δex1 CA5A:Δex3-7 CPS1:Δex17-20 ARG1:Δintero gene	AUH:Δex2-3 AUH:Δex8-10	SUMF1:Δintero gene	CAV3:Δex2 DMD:Δ8-9 DMD:Δ48 DMD:Δ52 RYR1:Δex21-24	PRODH:Δintero gene PRODH:Δ2-14	FBP1:Δex1	PAH:Δex6 PTS:Δex5-6	HPD:Δex8-9	PCCA:Δex3-4 PCCA:Δex21 PCCB:Δex5-6	HGD:Δex2	AGL:Δex1-25	MPV17:Δex8

DISCUSSIONE

L'NGS targeted-resequencing nel laboratorio di conferma molecolare di ECM:

- Consente di espandere il numero di condizioni cliniche diagnosticabili
- Potenzia l'efficienza diagnostica permettendo di eseguire il sequenziamento genico e l'analisi di CNV in un unico test.
- Migliora l'offerta assistenziale permettendo di effettuare diagnosi differenziale.