

CFTRdup15-22 una nuova duplicazione associata alla fibrosi cistica in un caso di screening neonatale.

Malgieri A¹, Giovanniello T¹, Tolve M¹, Artiola C¹, Pignattoni C¹, Narzi F³, Troiani P³, Cimino G³, Angeloni A², Carducci C²

¹Patologia. Clinica, AOU Policlinico Umberto 1 Screening Neonatale, Roma, Italia, ²Dipartimento Medicina Sperimentale, Università’ La Sapienza Roma, ³Centro Fibrosi Cistica Policlinico Umberto 1, Roma, Italia

La fibrosi cistica (FC) è una malattia genetica a carattere autosomico recessivo, solitamente diagnosticata tramite lo screening neonatale. Nei vari laboratori italiani vengono utilizzati diversi algoritmi diagnostici, tutti (ad eccezione di 2 regioni) utilizzano l’indagine molecolare o come Second Tier Test (STT) o come conferma. Nel nostro Centro, al momento dell’identificazione di questo caso, si utilizzava l’algoritmo così detto: IRT/IRT/DNA (**Figura 1**) e TS a completamento della conferma diagnostica.

Riportiamo il caso di un neonato maschio italiano sottoposto allo screening neonatale nel 2019 risultato positivo sia al test IRT di prima istanza (95 mg/ml) che di seconda istanza (215 mg/ml). Il test molecolare di I livello per le varianti di fibrosi cistica con DR=83% è risultato negativo (*Innolipa CFTR 17+Tn; CFTR19; CFTR Italian Regional; CFTR Deletion+6, FUJIREBIO*), la famiglia viene invitata a completare l’iter diagnostico dello Screening Neonatale mediante il Test del Sudore.

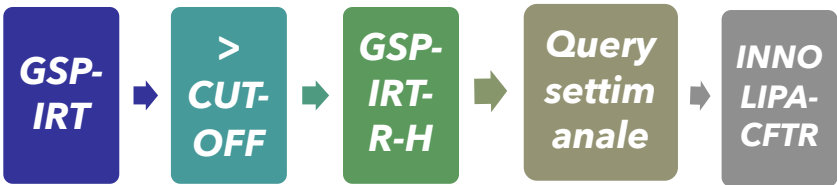


Figura 1: Algoritmo IRT/IRT/DNA.

Visto il risultato negativo dell’ indagine genetica effettuata, la famiglia si rifiutava di portare il bambino ad effettuare il test del sudore per paura di esporlo a un contagio vista la situazione pandemica del periodo. Dopo numerosi solleciti, in coincidenza con un miglioramento nel numero di infezioni da COVID19 e la contestuale comparsa di infezioni respiratorie ricorrenti, la famiglia si è recata ad eseguire il primo TS risultato borderline (Cloro: 57mEq/L), ripetuto successivamente con esito positivo (Cloro: 67 mEq/L). Il bambino è stato a preso in carico presso il Centro Regionale di Riferimento Fibrosi Cistica (CRRFC) del Policlinico “Umberto I di Roma». Durante i controlli periodici ha eseguito esami clinici e strumentali quali: prelievo ematico, visita otorino, ecografia addome completo, elastasi fecale, aspirato ipofaringeo che non hanno mostrato alterazioni degne di nota. La radiografia del torace ha confermato intrappolamento aereo e la comparsa di circoscritte opacità in sede retrocardiaca basale sinistra in corso di febbre. Per tale motivo il bambino è stato ricoverato presso il nostro servizio per eseguire terapia antibiotica endovenosa.

Conclusioni: Si prevede la caratterizzazione del caso familiare per valutare la combinazione della variante di *splicing* e della nuova macro-delezione in modo da determinare l’effetto totale del genotipo a livello dell’ RNA. Si sottolinea l’importanza dell’applicazione di tecniche molecolari di livello avanzato (EGA) con DR>99% per una corretta e rapida definizione diagnostica nei casi positivi allo Screening Neonatale per fibrosi cistica che in questo caso hanno permesso di evidenziare un genotipo non ancora descritto. Infine, sembra utile segnalare, anche come caso isolato, le ripercussioni che la pandemia può avere avuto anche sull’efficienza dei programmi di Screening Neonatale .

E’ stato richiesto da parte del Centro Clinico un approfondimento molecolare che è stato eseguito tramite sequenziamento dell’intero gene CFTR mediante NGS (*Devyser CFTR-MiSeqDx Illumina*). Il test eseguito di II e III livello ha mostrato la presenza in eterozigosi della variante nota e patogenetica c.579+3A>G; 711+ 3A->G. La variante di splicing 711+3A->G è stata confermata mediante sequenziamento Sanger (**Figura 2a**). Inoltre l’analisi di II e III livello ha identificato una nuova macro-duplicazione nelle CNV (**Figura 2b**). Per la conferma diagnostica è stato eseguito il saggio MLPA (*SALSA MLPA Probemix P091 CFTR - MRC Holland; ABI-3130; Figura 2c*) confermando nel probando la duplicazione, mai descritta finora, estesa dall’esone 15 al 22 del gene CFTR (*CFTR15-22dup*).

La segregazione ha confermato la trasmissione *in trans* delle due varianti (**Figura 2c**).

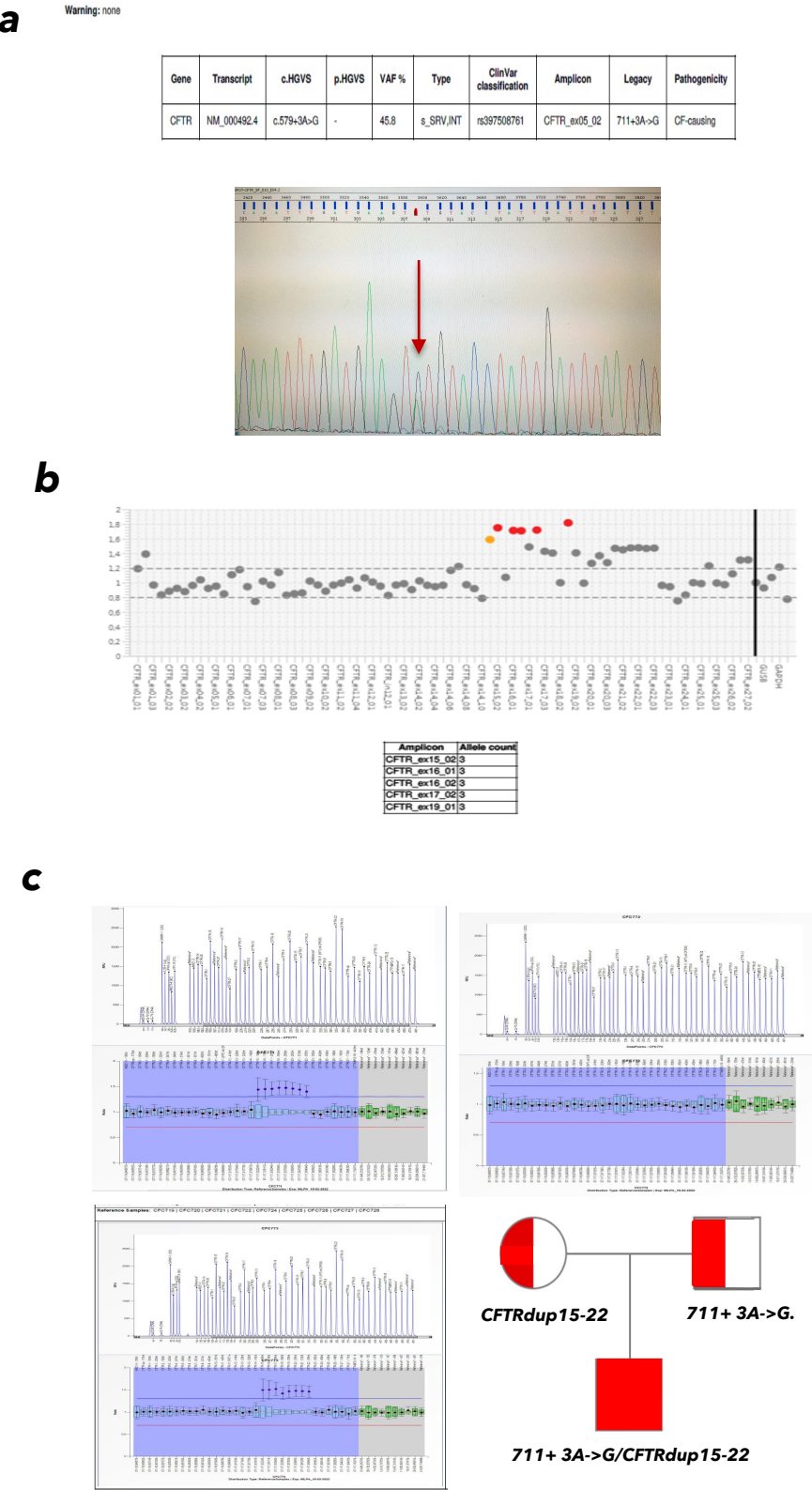


Figura 2: a) Variante missenso riscontrata mediante NGS Devyser CFTR e confermata in Sanger nel probando e nel padre (esone 5). **b)** Analisi CNV mediante Amplicon suite. **c)** Conferma MLPA-CFTR nel probando e nella madre e segregazione familiare.