

Pancreatitis-Associated Protein in Neonatal Screening for Cystic Fibrosis: comparison between IRT/DNA/IRT2 and IRT/PAP/DNA protocols.

Centro Regionale Toscano di Riferimento per la Fibrosi Cistica

Bianchimani Chiara, Dolce Daniela, Taccetti Giovanni, Cavicchi Maria Chiara,
Centrone Claudia, Campana Silvia, Ravenni Novella, Orioli Tommaso, Camera
Erica, Francalanci Michela, Terlizzi Vito



Strategie di screening neonatale per la FC

- Programma di indagini laboratoristiche condotto nei neonati e finalizzato all'individuazione di soggetti a rischio per la malattia, al fine di avviarli precocemente all'accertamento diagnostico rappresentato dal test del sudore.
- I diversi passaggi del protocollo variano nelle diverse Regioni italiane e nei Paesi europei in base a fattori economici, genetici, geografici ed organizzativi¹.

Slovakia	Czech Republic	Poland	Ireland	Netherlands	Switzerland	Norway	Turkey	Portugal
2009	2009	2009	2011	2011	2011	2012	2015	2015
IRT	IRT	IRT	IRT	IRT	IRT	IRT	IRT	IRT
IRT	DNA	EGS	DNA	PAP	DNA	EGS	IRT	PAP
	IRT			DNA	IRT			IRT
				EGS				

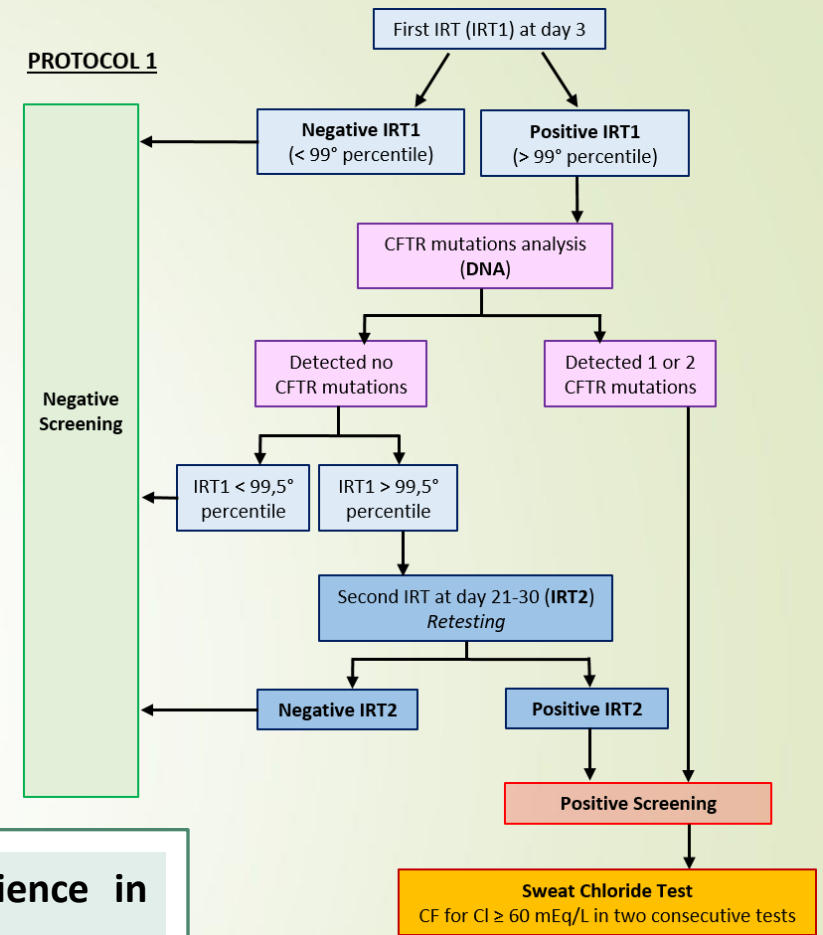
IRT1/DNA/IRT2 Vs IRT/PAP/DNA

¹The expansion and performance of national newborn screening programmes for cystic fibrosis in Europe.
Barben J, et al.. J Cyst Fibros. 2017; 16 :207-213.



- **IRT1 + DNA + IRT2**

- Si esegue un primo dosaggio del tripsinogeno immunoreattivo (**IRT1**) il 3° giorno di vita su spot di sangue (cut-off al 99° percentile ricalcolato ogni 4 mesi); in caso di positività, si effettua l'analisi molecolare di un pannello di mutazioni del gene CFTR (*CF-causing mutation*, <https://cftr2.org/>).
- Se non vengono rilevate mutazioni, in base al valore dell'IRT1 si esegue un richiamo a 4 settimane di vita per un secondo dosaggio (**IRT2, retesting**).
- I neonati in cui viene rilevata almeno 1 una mutazione e quelli in cui l'IRT2 è positivo vengono richiamati al test del sudore.



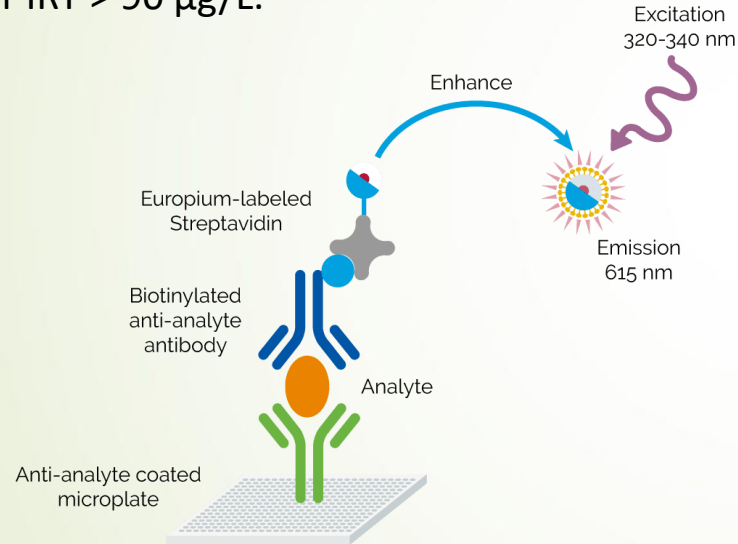
Cystic fibrosis screen positive inconclusive diagnosis (CFSPID): Experience in Tuscany, Italy.

Terlizzi V, et al. . J Cyst Fibros. 2019;18:484-490

- Eccessivo numero di neonati con diagnosi non conclusiva (rapporto CF:CRMS/CFSPID di 0.64:1)
- Alto numero di analisi del gene CFTR effettuate
- Alto numero di richiami al test del sudore

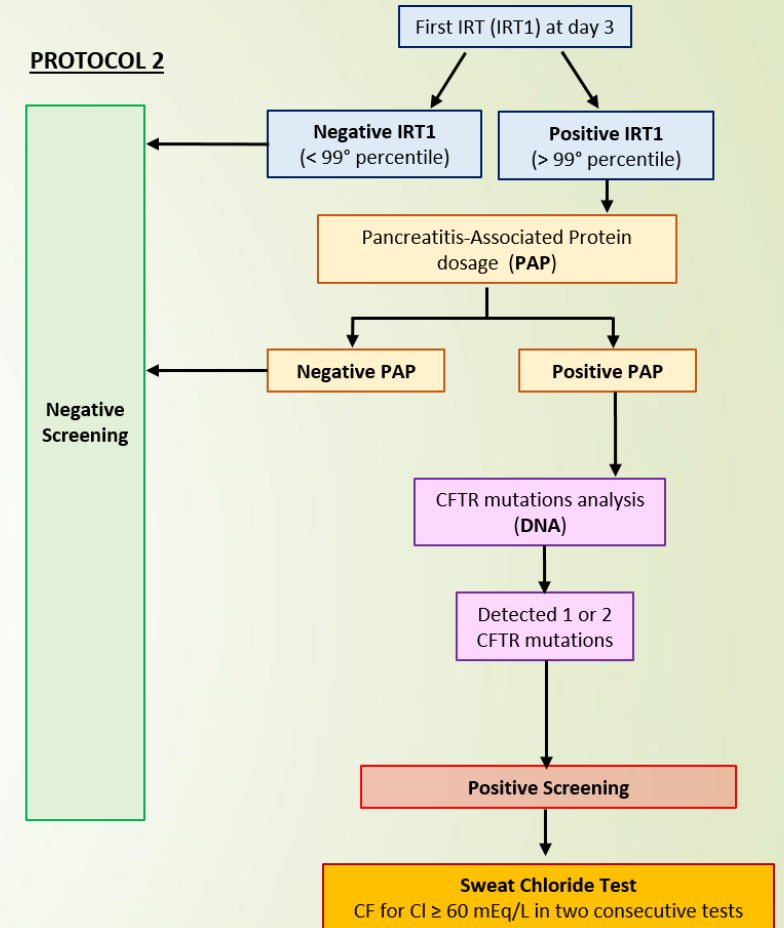
- **IRT + PAP + DNA**

- La **pancreatitis-associated protein (PAP)** è una proteina ematica secreta dal pancreas in condizioni di stress (infettivo-infiammatorie o degenerative) e che risulta elevata nei neonati con FC².
- Il dosaggio viene effettuato sullo spot di sangue mediante l'utilizzo del kit MucoPAP-F, un saggio immunofluorometrico a tempo risolto (TRF).
- Il cut-off è stato stabilito, rispetto a studi precedenti³, per metodo di non inferiorità a PAP > 1.8 µg/L per IRT tra 99° centile e 90 µg/L e a PAP > 0.6 µg/L per IRT > 90 µg/L.

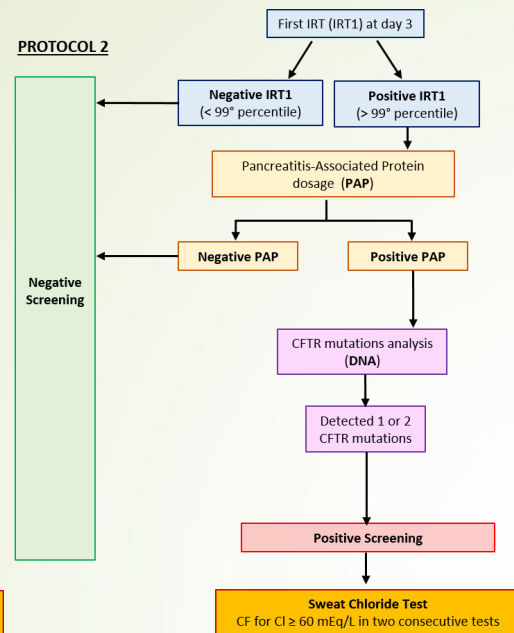
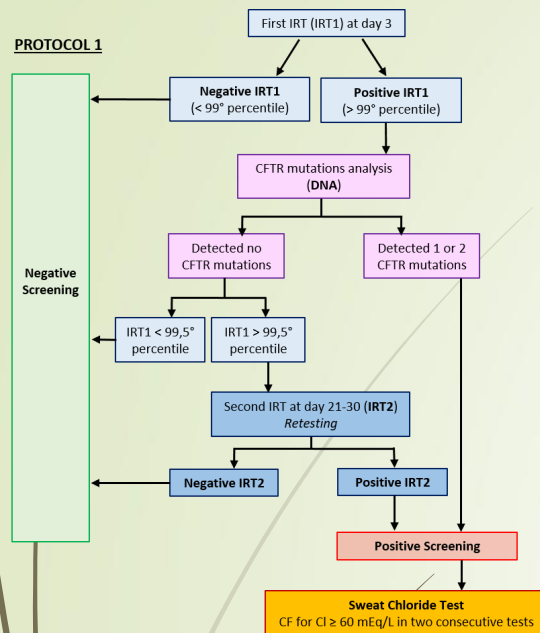


² **Pancreatitis-Associated Protein in Neonatal Screening for Cystic Fibrosis: Strengths and Weaknesses.**
Sommerburg O, et al.. *Int J Neonatal Screen.* 2020; 30;6(2):28.

³ **PAP assays in newborn screening for cystic fibrosis: a population-based cost-effectiveness study.**
Seror V, et al.. *J Med Screen.* 2016;23:62-9



RISULTATI



Analisi dati Regione Toscana giugno 2020- maggio 2021	IRT1/DNA/IRT2	IRT/PAP/DNA
Neonati sottoposti a screening	22633	22633
Neonati con IRT > 99° centile	193	193
Neonati positivi alla PAP	-	61
Neonati sottoposti all'analisi del gene CFTR	193	61
Neonati sottoposti al <i>retesting</i> (IRT2)	44	-
Neonati sottoposti al test del sudore	61	23
Neonati CFSPID	9	5
Diagnosi di FC per screening (Veri positivi)	3	3

		IRT (µg/L)	PAP (µg/L)	First CFTR variant	Second CFTR variant	Cl value at diagnosis (mEq/L)	Last Cl value (mEq/L), age (months)
CF	1	98	1,53	N1303K	N1303K	126	/
	2	75	>max	L867X	G378X/I148T	109	/
	3	91	1,13	F508del	UN [*]	66-65	/
CRMS/ CFSPID	1*§	93	2,31	E585X	UN [*]	48-56	16 (18)
	2	47	0,60	F508del	(TG)12T5	50-36	45 (11)
	3	53	1,25	F1052V	621+3A>G	32	NA
	4	54	0,27	F508del	L997F	36-28	20 (8)
	5*	58	3,01	F508del	S912L	36-34	48 (9)
	6	58	1,11	N1303K	F508C	31-19	25 (6)
	7*	129	3,02	2789+5G>A	5T-12TG	39	34 (6)
	8*	54	3,20	F508del	L467P	31-24	NA
	9*	54	2,01	F508del	UN [*]	49-44	NA

Vantaggi

- Riduzione di neonati con diagnosi inconclusiva (CFSPID)
- Eliminazione *retesting* (IRT2)
- Riduzione delle analisi del gene CFTR
- Riduzione dei richiami al test del sudore

Limiti

- Kit non automatizzato
- Studio retrospettivo
- Eterogeneità genetica regione Toscana
- Periodo di follow-up limitato

Conclusioni e obiettivi futuri

I risultati preliminari mostrano come il protocollo di screening FC IRT/PAP/DNA sembra ridurre il numero di casi CFSPID/CMRS, confermando il numero di diagnosi individuate con il protocollo attualmente utilizzato nel Centro.

Progetto dura fino al 2022, le diagnosi dell'ultimo periodo sono confermate dalla metodica

RINGRAZIAMENTI

Medici del Centro Regionale di riferimento per la cura della FC, Osp. Meyer:

Giovanni Taccetti, Vito Terlizzi, Maria Chiara Cavicchi, Anna Silvia Neri, Valeria Galici

Laboratorio Screening FC, Lab. Microbiologia FC ed Uffici Laboratorio Screening, Osp. Meyer:

Daniela Dolce, Silvia Campana, Novella Ravenni, Michela Francalanci, Tommaso Orioli, Erica Camera

S.O.D. Diagnostica Genetica Osp. Careggi, Firenze:

Claudia Centrone