

DIREZIONE GENERALE

- Alla Direzione Generale per la Tutela della
salute ed il coordinamento del SSR**
- Al CEINGE
Centro Unico Regionale Screening Neonatali
e Diagnostica Molecolare**
- Alla Novartis Gene Therapies**

-
- Alla Direzione Sanitaria**
Alle Direzioni Mediche PP.OO.
Alla U.O.C. Neurologia
Alla U.O.C. Programmazione Sanitaria
Alla U.O.C. Gestione Economica Finanziaria
Alla U.O.C. Gestione Risorse Umane

Oggetto: Trasmissione delibera AORN Santobono Pausilipon n. 93 del 15.02.2022 ad oggetto:
*"Programma di screening neonatale per la diagnosi precoce della Atrofia Muscolare Spinale (SMA)
nella popolazione neonatale della Campania (NEOSMA Campania). – Esecuzione immediata".*

Si trasmette, in allegato, copia della deliberazione di questa A.O.R.N. n. 93 del 15.02.2022,
ad oggetto: *"Programma di screening neonatale per la diagnosi precoce della Atrofia Muscolare
Spinale (SMA) nella popolazione neonatale della Campania (NEOSMA Campania). – Esecuzione
immediata".*

L'occasione è gradita per porgere distinti saluti.

**Il Direttore Generale
Dott. Rodolfo Conenna**



DELIBERAZIONE DEL DIRETTORE GENERALE n. 93 del 15 febbraio 2022

UNITÀ OPERATIVA DIREZIONE GENERALE

OGGETTO: Programma di screening neonatale per la diagnosi precoce della Atrofia Muscolare Spinale (SMA) nella popolazione neonatale della Campania (NEOSMA Campania). Esecuzione immediata.

Premesso che:

- Il Programma di Screening Neonatale (SN) è un'attività di medicina preventiva secondaria che rientra nei LEA ed ha lo scopo di selezionare patologie in fase pre-sintomatica con notevoli vantaggi sia per il paziente, in termini di salute, che per la società, in termini di risparmi di risorse. Identificare precocemente le patologie rare significa, infatti, offrire una speranza di cura e di una migliore qualità di vita al bimbo malato;
- L'atrofia muscolare spinale (SMA) è una rara malattia neurodegenerativa a trasmissione autosomica recessiva, con un'incidenza di circa 1:7.000-10.000 nati vivi ed è caratterizzata da un'importante e progressiva debolezza muscolare e ipotonia da degenerazione e perdita dei motoneuroni delle corna anteriori del midollo spinale e dei nuclei del tronco encefalico;
- L'elevata incidenza della SMA, la bassa eterogeneità allelica (95% dei pazienti hanno la stessa elezione causativa) e la disponibilità di opzioni terapeutiche efficaci rendono tale patologia un ottimo candidato per lo Screening neonatale.

Visti:

- La Legge 19 agosto 2016 n. 167 recante "Disposizioni in materia di accertamenti diagnostici neonatali obbligati per la prevenzione e la cura delle malattie metaboliche ereditarie";
- il Decreto del Ministero della Salute del 13 ottobre 2016, con il quale vengono date disposizioni per l'avvio dello screening neonatale per la diagnosi precoce di malattie metaboliche ereditarie, e in particolare, nella premessa si specifica l'opportunità che "le Regioni stipulino accordi per ottimizzare l'utilizzo delle risorse e delle competenze disponibili nei laboratori e nei centri già operativi per le malattie metaboliche ereditarie...";

Preso atto:

- che nel 2018, in relazione alla recente disponibilità di terapie innovative efficaci, è stato proposto un emendamento alla legge 167/2016 che prevede l'inserimento all'interno del panel esistente di alcune malattie neuromuscolari genetiche, immunodeficienze congenite severe e malattie da accumulo lisosomiale;
- che lo scorso febbraio 2020 è stato approvato "l'emendamento Noja" che prevedeva il termine di giugno 2020 entro cui il Ministero della Salute avrebbe dovuto completare il processo di ampliamento del panel di malattie diagnosticabile tramite screening e la SMA è la prima malattia in elenco.
- che il progetto succitato è stato approvato dal Comitato Etico "A.O.R.N. Antonio Cardarelli - A.O.R.N. Santobono-Pausilipon" nella seduta del 30.06.2021;

- che questo progetto prevede una collaborazione di tipo multidisciplinare tra l'A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, il CEINGE - Centro Unico Regionale Screening Neonatali e Diagnostica Molecolare - e la Regione Campania, con i relativi Centri Nascita.

Considerato:

- che, l'AORN Santobono Pausilipon è centro di riferimento regionale per la diagnosi e terapia dei pazienti affetti da SMA dove vengono seguiti bambini trattati con terapie innovative, in particolare: terapia genica, terapia intratecale con Nusinersen e terapia orale con Risdiplam.
- che la prognosi è strettamente correlata alla diagnosi precoce e che il trattamento in fase presintomatica migliora significativamente l'outcome dei bambini.
- che, lo screening neonatale assume un'importanza fondamentale nella diagnosi e trattamento precoce, quando la malattia non è ancora evidente.
- che, dal punto vista scientifico, il succitato screening permette di analizzare i risultati a lungo termine dei pazienti trattati precocemente, consente il confronto con le diverse terapie utilizzate e permette di raccogliere marcatori clinici e di laboratorio per meglio comprendere le basi della malattia nonché di acquisire dati precisi nel versante epidemiologico intercettando tutti i bambini affetti alla nascita, eliminando il rischio di mancate o ritardate diagnosi.
- che la identificazione precoce dei bambini affetti comporta, inoltre, attraverso un percorso diagnostico terapeutico e assistenziale ben definito, la presa in carico dei piccoli sin dalla nascita migliorando l'assistenza e prevenendo la migrazione extraregionale;
- che lo studio si pone, altresì, come obiettivo di mettere a punto un protocollo analitico e post-analitico di screening neonatale molecolare per l'identificazione precoce e la presa in carico clinica dei pazienti con SMA in Campania; di valutare l'incidenza della SMA nella popolazione campana; di garantire consulenza multidisciplinare alle famiglie dei neonati affetti ed offrire la possibilità di estendere l'analisi ai consanguinei.

Considerato, altresì:

- che la SMA è una rara malattia genetica neurodegenerativa a trasmissione autosomica recessiva, causata dalla mutazione del gene Survival Motor Neuron1 (SMN1) e caratterizzata dalla degenerazione dei motoneuroni del midollo spinale e da atrofia muscolare. Una diagnosi precoce ottenuta mediante SN consente di ottenere il massimo risultato terapeutico;
- che il progetto, della durata di due anni, prevede l'utilizzo di un kit commerciale per l'analisi molecolare ed il materiale biologico impiegato è il Dried Blood Spot (DBS), da cui viene estratto il DNA per effettuare l'indagine. Il test di screening consiste nell'individuare la delezione in omozigosi dell'esone 7 del gene SMN1, responsabile del 95% dei casi di SMA;

Preso atto:

- che per la realizzazione del progetto è necessario per l'AORN Santobono Pausilipon un team di lavoro, supervisionato dal Direttore della UOC Neurologia, composto da n. 2 unità di personale laureato e n. 2 unità di personale tecnico con funzioni di ricerca clinica e transazionale;
- che per l'attuazione del suddetto progetto è previsto un cofinanziamento da parte della Regione Campania e della Novartis Gene Therapies;
- che il progetto si affianca alla consolidata rete dei servizi per gli screening neonatali obbligatori LEA così come previsto ed approvato con l'emendamento Noja in ottica ampliamento del panel di malattie diagnosticabili tramite screening di cui la SMA è prima in elenco;

Acquisito il parere favorevole del Direttore Sanitario che sottoscrive per conferma

Il Direttore Sanitario
Dott. Vincenzo Giordano
f.to digitalmente

IL DIRETTORE GENERALE

In virtù dei poteri conferitigli con D.P.G.R.C. N. 171 DEL 09/12/2020

Per tutto quanto in premessa espresso e che qui si intende integralmente richiamato:

DELIBERA

1. Proporre l'esecuzione di un progetto pilota della durata di due anni denominato *"Programma di screening neonatale per la diagnosi precoce dell'atrofia muscolare spinale (SMA) nella popolazione neonatale della Campania (NEOSMA Campania)"* consistente nell'applicazione di un programma di screening neonatale molecolare sulla popolazione campana finalizzato all'identificazione precoce di bambini affetti da SMA Sq, con delezione omozigote dell'esone 7 almeno del gene SMN, che si allega quale parte integrante e sostanziale del presente atto deliberativo;
2. Prendere atto che detto progetto non comporta oneri economici a carico di questa Azienda, atteso che lo stesso demanda a specifiche, successive approvazioni per la definizione degli aspetti di natura tecnico-scientifica, organizzativa, gestionale e finanziaria;
3. Trasmettere la presente deliberazione alla Regione Campania ai fini della valutazione ed eventuale approvazione del progetto in questione, al CEINGE quale Centro Unico Regionale Screening Neonatali e Diagnostica Molecolare ed alla Novartis Gene Therapies ai fini del cofinanziamento;
4. Trasmettere il presente provvedimento, per quanto di rispettiva competenza, alla Direzione Sanitaria, alle Direzioni Mediche di Presidio, alle UU.OO.CC. Programmazione Sanitaria, Gestione Economica Finanziaria e Gestione Risorse Umane;
5. Dare esecuzione immediata al presente provvedimento.

Il Direttore Generale
Dott. Rodolfo Conenna
f.to digitalmente



*Azienda Ospedaliera di Rilevo Nazionale
Santobono Pausilipon
Dipartimento di Neuroscienze
Struttura Complessa di Neurologia
Direttore della UOC Dott. Antonio Varone
Via M. Fiore 6 – Napoli*

Programma di screening neonatale per la diagnosi precoce della Atrofia Muscolare Spinale (SMA) nella popolazione neonatale della Campania (NEOSMA Campania)

Introduzione

Il Programma di Screening Neonatale (SN) è un'attività di medicina preventiva secondaria che ha lo scopo di selezionare patologie in fase pre-sintomatica con notevoli vantaggi sia per il paziente, in termini di salute, che per la società, in termini di risparmi di risorse. Identificare precocemente le patologie rare significa, infatti, offrire una speranza di cura e di una migliore qualità di vita al bimbo malato.

Lo SN viene effettuato nelle prime ore di vita, mediante un prelievo di sangue dal tallone del neonato e depositato su un apposito cartoncino di carta assorbente o Guthrie Card (Dried Blood Spot, DBS).

Nell'agosto 2016 è stata approvata la Legge 167 che ha ampliato lo Screening Neonatale a circa 40 malattie metaboliche (Screening Neonatale Esteso, SNE).

Si tratta di patologie metaboliche ereditarie, difficili da diagnosticare in fase pre-sintomatica, ma potenzialmente individuabili dalle metodiche analitiche previste per lo SNE. Sono malattie per le quali esistono trattamenti e cure che, se applicate in epoca neonatale, prima che si manifestino i sintomi, possono migliorare in modo molto significativo la qualità di vita del bambino o/e evitarne la morte.

Nel 2018, in relazione alla recente disponibilità di terapie innovative efficaci, è stato proposto un emendamento alla legge 167 che prevede l'inserimento all'interno del pannello esistente di alcune malattie neuromuscolari genetiche, immunodeficienze congenite severe e malattie da accumulo lisosomiale. Lo scorso febbraio 2020 è stato approvato anche "l'emendamento Noja" che stabiliva come giugno 2020 il termine entro

cui il Ministero della Salute avrebbe dovuto completare il processo di ampliamento del panel di malattie diagnosticabile tramite screening e la SMA è la prima malattia in elenco. Chiaramente l'emergenza legata a Covid-19 ha ritardato i tempi, ma la strada da seguire è questa.

La SMA è una rara malattia genetica neurodegenerativa a trasmissione autosomica recessiva, causata dalla mutazione del gene Survival Motor Neuron1 (*SMN1*) e caratterizzata dalla degenerazione dei motoneuroni del midollo spinale e da atrofia muscolare. Una diagnosi precoce ottenuta mediante SN consente di ottenere il massimo risultato terapeutico.

Il progetto, della durata di due anni, prevede l'utilizzo di un kit commerciale per l'analisi molecolare ed il materiale biologico impiegato è il Dried Blood Spot (DBS), da cui viene estratto il DNA per effettuare l'indagine. Il test di screening consiste nell'individuare la delezione in omozigosi dell'esone 7 del gene *SMN1*, responsabile del 95% dei casi di SMA.

Background

L'atrofia muscolare spinale (SMA) è una rara malattia neurodegenerativa a trasmissione autosomica recessiva, con un'incidenza di circa 1:7.000-10.000 nati vivi ed è caratterizzata da un'importante e progressiva debolezza muscolare e ipotonia da degenerazione e perdita dei motoneuroni delle corna anteriori del midollo spinale e dei nuclei del tronco encefalico [1-3].

Nel 95% dei pazienti, la patologia è causata da delezioni in omozigosi che interessano almeno dell'esone 7 del gene *SMN1*, localizzato sul cromosoma 5q13. Nei restanti casi la patologia è causata da mutazioni puntiformi in eterozigosi composita con la delezione comune [4].

Esistono quattro fenotipi clinici di SMA (Tipo I-II-III-IV), basati sull'età di esordio e sul grado di severità. Quest'ultimo è anche influenzato dal numero di copie presenti del gene *SMN2* [5].

Il gene *SMN2*, paralogo di *SMN1*, è localizzato in posizione centromerica sullo stesso cromosoma e differisce da *SMN1* unicamente per 5 nucleotidi. Di particolare rilevanza funzionale è il nucleotide T in posizione c.840 dell'esone 7 di *SMN2*, che favorisce lo *skipping* dell'esone e induce, nel 90% dei trascritti, la produzione di una proteina inattiva; il rimanente 10% dei trascritti produce una piccola quota di proteina SMN normale. Il gene *SMN1*, che presenta il nucleotide C nella stessa posizione, non è soggetto invece a tale *skipping* e produce con alta efficienza la proteina SMN

normale [4,6].

L'espressione residua di *SMN2* è in grado di influenzare il fenotipo SMA. Sebbene generalmente siano presenti 2 copie per genoma, in alcuni individui il gene *SMN2* può avere copie multiple (3 o 4) e nei pazienti SMA vi è una correlazione inversa fra numero di copie di *SMN2* e gravità del fenotipo.

L'elevata incidenza della SMA, la bassa eterogeneità allelica (95% dei pazienti hanno la stessa delezione causativa) e la disponibilità di opzioni terapeutiche efficaci rendono tale patologia un ottimo candidato per lo SN[7,8].

Nel mese di settembre 2017 l'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) ha approvato Nusinersen (Spinraza), il cui meccanismo di azione è di tipo genico. Si tratta di un oligonucleotide antisense (ASO) sintetico che si lega all'RNA del gene *SMN2* e consente di incrementare la quantità di produzione della proteina SMN funzionante. Questo sopperisce in buona parte alla carenza della proteina causata dalla delezione di *SMN1*, alleviando così i sintomi della SMA [9-11].

Un'altra terapia disponibile è Zolgensma®, un farmaco composto da capsidi virali AAV9 che contengono il transgene *SMN1* a valle di promotori sintetici. A seguito della somministrazione endovenosa, il vettore adenovirale AAV9 viene trasportato nel circolo sanguigno e, grazie al capsido proteico, è in grado di oltrepassare la barriera ematoencefalica e raggiungere specificamente i motoneuroni, dove rilascia il transgene *SMN1* che supplisce la funzione del gene *SMN1* mancante [12,13]. Già dal 2019 Zolgensma è stato approvato negli Stati Uniti. Nel marzo 2020, il comitato per i prodotti medicinali per uso umano (CHMP - Committee for Medicinal Products for Human Use) della Agenzia Europea dei Medicinali (EMA - European Medicines Agency) ha adottato una opinione positiva raccomandando l'autorizzazione condizionale alla commercializzazione di Zolgensma® (onasemnogeneparvovec) per il trattamento di pazienti SMA 5q con mutazione biallelica nel gene *SMN1* e una diagnosi clinica di SMA tipo 1, oppure di pazienti SMA 5q con mutazione biallelica nel gene *SMN1* e fino a 3 copie del gene *SMN2*. La commissione europea (EC - European Commission) ha ratificato tale raccomandazione del CHMP nel Maggio 2020, approvandone l'utilizzo in Europa.

La strategia terapeutica adottata da Zolgensma® è quella di fornire all'organismo una copia corretta del gene difettoso *SMN1*, mentre nel caso

di Nusinersen la strategia è quella di indurre il gene *SMN2* a produrre una maggiore quantità di proteina SMN normale per compensare il malfunzionamento del gene *SMN1* nelle cellule colpite dalla malattia.

I risultati ottenuti da queste terapie sono estremamente positivi: prolungamento della sopravvivenza, rapido miglioramento della funzione motoria (spesso entro un mese dalla somministrazione della terapia) e raggiungimento di importanti traguardi nel percorso di acquisizione dello sviluppo motorio, come ad esempio la capacità di sedersi senza supporto [14]. Poiché si tratta di una malattia di natura neurodegenerativa, l'intervento terapeutico tempestivo su pazienti affetti prima dell'insorgenza dei sintomi clinici può produrre un beneficio significativo poiché previene lo sviluppo dei meccanismi patogenetici alla base della sintomatologia.

Alla luce delle terapie oggi disponibili, gli studi clinici su bambini SMA presintomatici, identificati tramite screening neonatali, stanno dimostrando che il trattamento tempestivo prima dell'insorgenza della degenerazione neuronale garantisce uno sviluppo quasi sovrapponibile a quello dei bambini sani [18].

Razionale

Lo SN rappresenta un programma multidisciplinare di prevenzione sanitaria secondaria che garantisce a tutti i neonati la possibilità di diagnosi precoce di malattie congenite come l'ipotiroidismo, la fibrosi cistica e il numeroso gruppo delle malattie metaboliche ereditarie. La capacità di analizzare simultaneamente i biomarcatori di molte patologie e di trattare i neonati affetti con la somministrazione sperimentale di farmaci innovativi si sta sviluppando grazie ad una migliore comprensione delle basi patogenetiche delle malattie e ai progressi continui della tecnologia e della terapia.

I test molecolari applicati allo SN sono relativamente nuovi: il primo screening molecolare è stato avviato nel 2008 per individuare le immunodeficienze combinate gravi (SCID); il relativo test di screening consente di quantificare i TRECs da DBS mediante Real-Time PCR [24].

Negli Stati Uniti, nel 2010 lo screening per le SCID è stato aggiunto al RUSP (Recommended Uniform Screening Panel), il pannello di tutte le malattie raccomandate per lo SN. Più recentemente, nel luglio 2018, il RUSP è stato aggiornato con l'implementazione dello screening dell'atrofia muscolare spinale (SMA).

SMA è quindi già presente in molti programmi di SN in tutto il mondo e la diagnosi precoce permette quindi la somministrazione tempestiva di trattamenti specifici che portano a prognosi migliori, secondo il concetto che “il tempo è motoneurone”. Il ritardo nella diagnosi porta infatti ad una malattia invariabilmente più avanzata e pertanto più complessa nel trattamento.

Obiettivi del progetto

Si propone l'esecuzione di uno studio pilota della durata di due anni che consiste nell'applicazione di un programma di screening neonatale molecolare sulla popolazione campana finalizzato all'identificazione precoce di bambini affetti da SMA 5q, con delezione omozigote dell'esone 7 almeno del gene *SMN1*.

Ciascun campione biologico viene raccolto e quindi analizzato solo dopo aver richiesto ed ottenuto consenso informato ad hoc all'esecuzione del test.

L'obiettivo è l'applicazione del test a tutta la popolazione neonatale campana, prelevando per ciascun neonato un numero addizionale di DBS, rispetto a quelli già raccolti per gli SN obbligatori. Andranno informati e sensibilizzati i Centri Nascita della Regione Campania che hanno dato un preliminare consenso all'iniziativa.

Lo studio si pone come obiettivi:

- mettere a punto un protocollo analitico e post-analitico di screening neonatale molecolare per l'identificazione precoce e la presa in carico clinica dei pazienti con SMA in Campania;
- valutare l'incidenza della SMA nella popolazione campana;
- garantire consulenza multidisciplinare alle famiglie dei neonati affetti ed offrire la possibilità di estendere l'analisi ai consanguinei.

Consenso e Informativa

Il Programma di SN molecolare potrà avviarsi solo una volta ottenuta l'approvazione del progetto da parte del Comitato Etico dell'Ente del soggetto promotore.

A tutti i genitori verranno illustrati informativa e verrà raccolto il consenso informato, nei quali si spiegano dettagliatamente scopo e utilità delle analisi richieste. Il modello di informativa e consenso informato è presente in allegato al presente progetto.



Disegno Sperimentale

Questo progetto prevede una collaborazione di tipo multidisciplinare tra l'A.O. Santobono-Pausilipon, il CEINGE - Centro Unico Regionale Screening Neonatali e Diagnostica Molecolare - e la Regione Campania, con i relativi Centri Nascita.

Le Unità Operative coinvolte per il Santobono-Pausilipon sono: UOC Neurologia e successivamente, per l'approccio multidisciplinare del bambino SMA, Pneumologia, Rianimazione, Farmacia, Ortopedia e Riabilitazione.

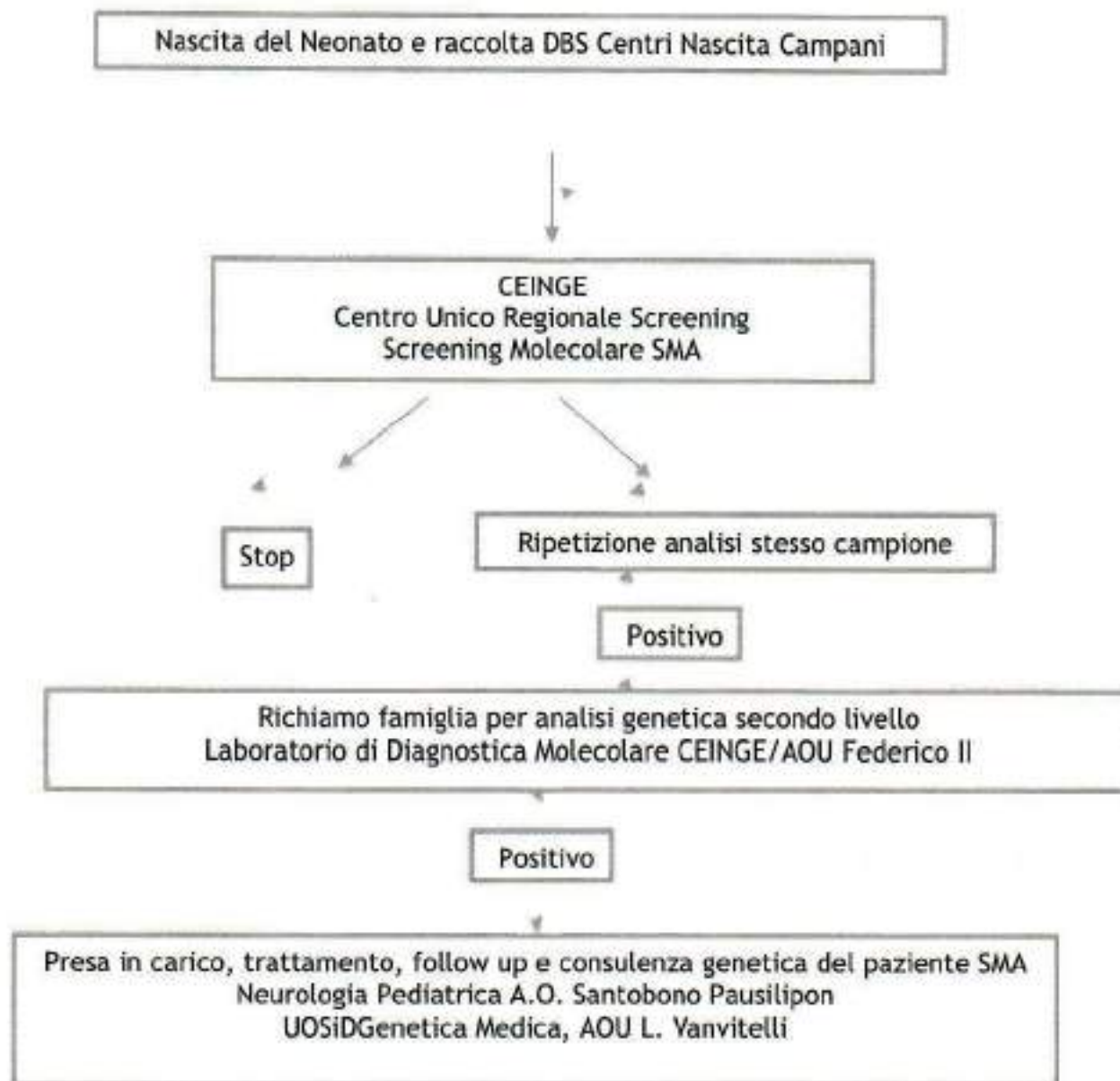
In seguito all'approvazione del Comitato Etico, la prima fase del progetto prevede la formazione del personale addetto alla raccolta dei campioni nei Centri Nascita. L'informazione ai genitori e la raccolta dei consensi informati sono effettuate da personale qualificato dei Centri Nascita. I cartoncini sono raccolti dai Centri Nascita e consegnati al Centro Screening secondo le modalità e tempistiche già attive per il Programma di SNE, con minimi adeguamenti.

In seguito all'arrivo dei campioni al Centro, lo screening molecolare di SMA viene effettuato tempestivamente. In caso di risultato positivo per SMA, l'analisi viene ripetuta una seconda volta sullo stesso campione e se confermato, entro una settimana al massimo dall'arrivo del DBS, viene contattato il Centro Nascita per richiamare la famiglia ed ottenere un nuovo campione biologico del neonato, necessario per eseguire il test molecolare di secondo livello con altra tecnica (vedi in seguito). Questa fase diagnostica è effettuata presso il Laboratorio di Diagnostica Molecolare del CEINGE/AOU Federico II, che rilascerà il referto con la diagnosi molecolare di SMA.

Il risultato è trasferito al centro pediatrico di riferimento campano per le malattie Neuromuscolari, UOC di NEUROLOGIA dell'AO SANTOBONO, che provvede alla presa in carico, al trattamento e al follow-up del paziente risultato positivo al test di screening e indirizza i familiari presso la Genetica Medica e Cardiomiologia, AOU L. Vanvitelli, per la consulenza genetica.

Nell'arco dei due anni del progetto, questo disegno sperimentale sarà ottimizzato per rendere più efficiente l'iter diagnostico.

Flowchart



Metodi

Screening per Atrofia Muscolare Spinale (SMA)

La punzonatura dei DBS presenti sui cartoncini inviati al CEINGE dai Centri Nascita della Campania è eseguita utilizzando una strumentazione automatica. Gli spot ottenuti, del diametro di 3,2 mm, sono sottoposti ad estrazione del DNA mediante utilizzo di procedura ad hoc. Quindi si effettua un'analisi di Real-Time PCR sul DNA genomico che permetterà

discriminazione allelica tra le sequenze dell'esone 7 dei geni *SMN1* e *SMN2* mediante kit certificato CE-IVD.

Tale work-flow consente di ottenere il risultato entro 24-48 ore dall'arrivo del campione biologico. Il protocollo sperimentale prevede, per ogni piastra, l'analisi di 92-93 campioni, di due controlli forniti dal kit (controllo negativo, con delezione di *SMN1*; controllo positivo per *SMN1* e *SMN2*) e del bianco (campione estratto da DBS pulito - senza DNA). Eventualmente può essere considerata l'analisi di ulteriore campione di controllo.

L'analisi rileva la presenza/assenza della delezione in omozigosi dell'esone 7 del gene *SMN1*. Per i neonati che risultano omozigoti per la delezione dell'esone 7 di *SMN1*, l'analisi viene ripetuta su un nuovo spot di sangue (estratto dallo stesso cartoncino riportante l'anagrafica del neonato), utilizzando la medesima procedura analitica.

Diagnosi per Atrofia Muscolare Spinale (SMA)

La diagnosi molecolare di SMA, per i neonati positivi allo screening, è eseguita su un nuovo campione biologico (preferibilmente sangue periferico) sempre presso il CEINGE (Laboratorio Diagnostica Molecolare), mediante utilizzo della tecnica dell'MLPA (SALSA MLPA Probemix P021-B1 SMA, MRC Holland), attualmente il *gold standard* diagnostico per la patologia. Tale tecnica permette l'identificazione della delezione degli esoni 7 e 8 del gene *SMN1* e contestualmente la quantificazione del numero di copie di *SMN2* per una valutazione prognostica e terapeutica.

Risultati attesi

In relazione all'incidenza riportata in letteratura e al numero stimato di nati in Campania nei prossimi due anni (circa 90.000), ci aspettiamo di identificare circa 12 - 13 neonati affetti da SMA, omozigoti per delezione dell'esone 7 del gene *SMN1*.

La Neurologia Pediatrica dell'A.O. Santobono Pausilipon provvede alla presa in carico precoce dei pazienti positivi al programma screening, in virtù della presenza nella Struttura del centro di riferimento per le malattie Neuromuscolari.

Contestualmente le famiglie saranno indirizzate presso l'UOSiD di Genetica Medica e Cardiomiologia, Università L. Vanvitelli, per la consulenza genetica.

Innovazione

In questo progetto si è scelto di mettere a punto un sistema per lo screening neonatale molecolare di SMA, mediante utilizzo di kit commerciali certificati CE-IVD.

L'approccio è innovativo perché in grado di fornire in poche ore il dato molecolare utile per identificare i neonati con genotipo verosimilmente correlabile alla patologia oggetto dello studio. La relativa rapidità del test permette di avviare le procedure di accertamento diagnostico-molecolare e clinico in tempi sufficientemente brevi per attivare tempestivamente l'intervento terapeutico potenzialmente in grado di cambiare la storia naturale della malattia e verosimilmente migliorare la qualità della vita del paziente e dei suoi familiari.

Il test è relativamente economico (circa 10 euro a campione considerando raccolta campione, estrazione del DNA, costo kit di analisi, personale dedicato) e complessivamente vantaggioso poiché l'applicazione della tecnologia real time PCR consente di individuare con elevata sensibilità ed in tempi brevi i neonati presunti positivi per la SMA e, una volta confermato il risultato del test, di indirizzarli al centro clinico di riferimento entro una settimana al massimo dall'arrivo del campione al centro screening.

Traslazione e impatto sul SSN

Questo progetto consente la messa a punto di un efficiente programma di screening molecolare per l'identificazione precoce di pazienti con SMA, una patologia grave potenzialmente trattabile con farmaci innovativi. L'inizio della terapia nelle prime settimane di vita, nella maggior parte dei casi quindi in una fase pre-sintomatica, permette di massimizzare i risultati della terapia, impedendo il decesso di questi neonati e/o migliorandone significativamente la qualità di vita.

L'identificazione precoce dei neonati positivi consente di identificare tra l'altro i genitori portatori eterozigoti di SMA e indirizzarli verso un percorso di consulenza multidisciplinare utile anche ai fini di future scelte procreative, per sé e i propri familiari.

Timeline

- Formazione degli operatori dei Centri Nascita: due mesi prima dell'inizio della prima analisi
- Screening Molecolare Neonatale SMA [CEINGE], su base volontaria, della popolazione neonatale campana
- Accertamento diagnostico molecolare [CEINGE/AOU Federico II] al rilevamento dei neonati positivi
- Accertamento clinico e presa in carico del paziente [Santobono]
- Consulenza multidisciplinare per i genitori portatori eterozigoti ed eventuali altri familiari dei neonati positivi [Genetica Medica,AOU L. Vanvitelli].

Strumentazione in dotazione Centro Screening:

N°2 MultiPuncher

N°1 Real Time PCR, RFX, Biorad + 1 di backup

Budget totale del progetto

- A) Costi (incluso il team di progetto così come le strumentazioni necessarie presenti nel CEINGE, nelle rispettive unità operative e nei Centri Nascita della regione Campania partecipanti al progetto, il tempo necessario al training e la scrittura del report scientifico), che possono essere stimati in circa €465.000,00 per anno; questi costi sono coperti dall'Istituzione promotrice del progetto e dalla Regione Campania.

Per il CEINGE il team di lavoro, supervisionato dalla Prof. Gabriella Esposito, sarà composto da personale dedicato, consistente in 1 tecnico, per l'esecuzione dell'analisi, da 1 biologo/biotecnologo laureato/specialista, per la validazione del percorso analitico e per l'interpretazione dei risultati, da retribuire con i fondi destinati al progetto.

Per l'A.O.R.N. Santobono-Pausilipon il team di lavoro, supervisionato dal Direttore della U.O.C. Neurologia, sarà composto da n. 2 tecnici e n. 2 unità di personale laureato, con funzioni di ricerca clinica e sperimentale, da retribuire con i fondi destinati al progetto.

Di seguito, il prospetto economico dettagliato.

B)

	Analisi/anno	Costo Unitario	Costo Mensile	Costo Totale nel biennio
Kit real time, kit estrazione, piastre, puntali, enzimi, cartoncini per DBS	45000	€8,77	€32.925,00	€790.000,00
Personale laureato CEINGE	1	€ 30.000,00	€2.500,00	€60.000,00
Personale tecnico CEINGE	1	€ 25.000,00	€2.085,00	€50.000,00
Totale spese CEINGE	45000	€10,00	€37.500,00	€900.000,00
Personale laureato AORN Santobono Pausilipon	2	€ 30.000,00 € 30.000,00 Totale: € 60.000,00	€ 2.500,00 € 2.500,00 Totale: € 5.000,00	120.000,00
Personale tecnico AORN Santobono Pausilipon	2	€ 25.000,00 € 25.000,00 Totale: € 50.000,00	€ 2.085,00 € 2.085,00 Totale: € 4.170,00	100.000,00
Totale spese AORN Santobono Pausilipon			€ 9.170,00	220.000,00
Centri nascita			€1.250,00	€30.000,00
Totale	45000		€ 47.920,00	€ 1.150.000,00
Co-finanziamento Novartis Gene Therapies			€17.500,00	€420.000,00
Co-finanziamento Regione			€ 30.416,00	€ 730.000,00

Supporto economico specificamente richiesto a Novartis Gene Therapies

Il *grant* economico che viene specificamente richiesto a Novartis Gene Therapies è di € 420.000,00 da erogare nel corso di due anni (€ 210.000,00 per ciascun anno), inferiore al 45% del costo complessivo del progetto.

Bibliografia

1. Lunn MR, Wang CH. Spinal muscular atrophy. *Lancet LondEngl* 2008;371:2120-33
2. Mercuri E, Finkel RS, Muntoni F, Wirth B, Montes J, Main M, Mazzone ES, Vitale M, Snyder B, Quijano-Roy S, Bertini E, Davis RH, Meyer OH, Simonds AK, Schroth MK, Graham RJ, Kirschner J, Iannaccone ST, Crawford TO, Woods S, Qian Y, Sejersen T; SMA Care Group. Diagnosis and management of spinal muscular atrophy: Part 1: Recommendations for diagnosis, rehabilitation, orthopedic and nutritional care. *NeuromusculDisord*. 2018 Feb;28(2):103-115. doi: 10.1016/j.nmd.2017.11.005. Epub 2017 Nov 23. Review.
3. Finkel RS, Mercuri E, Meyer OH, Simonds AK, Schroth MK, Graham RJ, Kirschner J, Iannaccone ST, Crawford TO, Woods S, Muntoni F, Wirth B, Montes J, Main M, Mazzone ES, Vitale M, Snyder B, Quijano-Roy S, Bertini E, Davis RH, Qian Y, Sejersen T; SMA Care group. Diagnosis and management of spinal muscular atrophy: Part 2: Pulmonary and acute care; medications, supplements and immunizations; other organ systems; and ethics. *NeuromusculDisord*. 2018 Mar;28(3):197-207. doi: 10.1016/j.nmd.2017.11.004. Epub 2017 Nov 23.
4. Lefebvre S, Bürglen L, Reboullet S, Clermont O, Burlet P, Villet L, et al. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy determining gene. *Cell* 1995;80:155-65. doi:10.1016/0092-8674(95) 90460-3.
5. Muralidharan K, Wilson RB, Ogino S, Nagan N, Curtis C, Schrijver I. Population carrier screening for spinal muscular atrophy: a position statement of the Association for Molecular Pathology. *J MolDiagn*. 2011;13:3-6
6. Cartegni L, Krainer AR. Disruption of an SF2/ASF-dependent exonic splicing enhancer in SMN2 causes spinal muscular atrophy in the absence of SMN1. *Nat Genet*. 2002;30:377-384
7. Dangoulouff T, Burghes A, Tizzano EF, Servais L; NBS SMA Study Group. 244th ENMC international workshop: Newborn screening in spinal muscular atrophy May 10-12, 2019, Hoofddorp, The Netherlands. *NeuromusculDisord*. 2019 Nov 9. pii: S0960-8966(19)31171-X.
8. Serra-Juhe C, Tizzano EF. Perspectives in genetic counseling for spinal muscular atrophy in the new therapeutic era: early pre-symptomatic intervention and test in minors. *Eur J Hum Genet*. 2019 Dec;27(12):1774-1782
9. Finkel, R.S.; Mercuri, E.; Darras, B.T.; Connolly, A.M.; Kuntz, N.L.; Kirschner, J.; Chiriboga, C.A.; Saito, K.; Servais, L.; Tizzano, E.; et al. Nusinersen versus Sham Control in Infantile-Onset Spinal Muscular Atrophy. *N. Engl. J. Med*. 2017, 377, 1723-1732.
10. Messina S, Pane M, Sansone V, Bruno C, Catteruccia M, Vita G, Palermo C, Albamonte E, Pedemonte M, Bertini E, Binetti L, Mercuri E; Italian EAP working Group. Expanded access program with Nusinersen in SMA type I in Italy: Strengths and pitfalls of a successful experience. *NeuromusculDisord*. 2017 Dec;27(12):1084-1086.
11. Pane M, Coratti G, Sansone VA, Messina S, Bruno C, Catteruccia M, Sframeli M, Albamonte E, Pedemonte M, D'Amico A, Bravetti C, Berti B, Brigati G, Tacchetti P, Salmin F, de Sanctis R, Lucibello S, Piastra M, Genovese O, Bertini E, Vita G, Tiziano FD, Mercuri E; Italian Expanded Access Program Working Group. Nusinersen in type 1 spinal muscular atrophy: Twelve-month real-world data. *AnnNeurol*. 2019 Sep;86(3):443-451. doi: 10.1002/ana.25533. Epub 2019 Jul 8.
12. Mendell, J.R.; Al-Zaidy, S.; Shell, R.; Arnold, W.D.; Rodino-Klapac, L.R.; Prior, T.W.; Lowes, L.; Alfano, L.; Berry, K.; Church, K.; et al. Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy. *N. Engl. J. Med*. 2017, 377, 1713-1722.
13. Lowes, L.P.; Alfano, L.N.; Arnold, W.D.; Shell, R.; Prior, T.W.; McCollly, M.; Lehman, K.J.; Church, K.; Sproule, D.M.; Nagendran, S.; et al. Impact of Age and Motor Function in a Phase

1/2A Study of Infants with SMA Type 1 Receiving Single-Dose Gene Replacement Therapy. *Pediatr. Neurol.* 2019, 98, 39-45.

14. Wadman RJ, van der Pol WL, Bosboom WM, Asselman FL, van den Berg LH, Iannaccone ST, Vrancken AF. Drug treatment for spinal muscular atrophy type I. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019 Dec 11;12:CD006281. doi: 10.1002/14651858.CD006281.pub5
15. Remaschi G, Ricci S, Cortimiglia M, De Vitis E, Iannuzzi L, Boni L, Azzari C, Dani C. TREC and KREC in very preterm infants: reference values and effects of maternal and neonatal factors. *J MaternFetal Neonatal Med.* 2019 Dec 29;1-6. doi: 10.1080/14767058.2019.1702951.
16. Cristina Gutierrez-Mateo, Anne Timonen, Katja Vaahtera, MarkkuJaakkola, David M Hougaard, Jonas Bybjerg-Grauholm, Marie Baekvad-Hansen, Dea Adamsen, Galina Filippov, Stephanie Dallaire, David Goldfarb, Daniel Schoener and RongcongWu. Development of a Multiplex Real-Time PCR Assay for the Newborn Screening of SCID, SMA, and XLA. *International Journal of Neonatal Screening.* Received: 1 September 2019; Accepted: 31 October 2019; Published: 2 November 2019
17. Dorsey MJ, Dvorak CC, Cowan MJ, Puck JM. Treatment of infants identified as having severe combined immunodeficiency by means of newborn screening. *J Allergy ClinImmunol.* 2017 Mar;139(3):733-742. doi: 10.1016/j.jaci.2017.01.005.

18. AVXS-101 Gene-Replacement Therapy (GRT) in Presymptomatic Spinal MuscularAtrophy (SMA): Study Update

Meredith Schultz¹, Kathryn Swoboda², Michelle Farrar³, Hugh McMillan⁴, Julie Parsons⁵, Courtney Wells⁶,

Francis G. Ogrinc⁶, Bryan McGill⁶, Douglas E. Feltner⁶, James L'Italien⁶, Douglas M. Sproule⁶, Kevin A. Strauss⁷

¹University of Wisconsin School of Medicine and Public Health, ²Massachusetts General Hospital, ³Sydney

Children's Hospital, ⁴Children's Hospital of Eastern Ontario, ⁵Children's Hospital Colorado, ⁶AveXis, Inc., ⁷Clinic for Special Children