

**P 3991**

**Validação de uma nova abordagem para o diagnóstico de doenças lisossômicas selecionadas por sequenciamento de nova geração**

Diana Elizabeth Rojas Málaga, Marina Siebert, Silvia Liliana Cossio, Delva Pereira Leão, Ana Carolina Brusius-Facchin, Gabriela Pasqualim, Carolina Fischinger Moura de Souza, Roberto Giugliani, Ursula Matte  
Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

As doenças lisossômicas são um grupo heterogêneo de condições que apresentam sinais e sintomas clínicos poucos característicos e que na maioria com sobreposição fenotípica e gravidade variável, o que torna difícil a determinação da condição específica. O diagnóstico certo deste tipo de doenças requer uma combinação de técnicas bioquímicas e moleculares, em conjunto com a avaliação clínica. A análise molecular de mutações específicas não é uma solução, uma vez que, não existem mutações comuns nos genes associados à doença. Neste sentido, o sequenciamento de nova geração, oferece uma alta capacidade de diagnóstico ao permitir definir um espectro mutacional abrangente e com custo-benefício aceitável. O objetivo deste trabalho foi validar a implementação de um painel de sequenciamento de nova geração para a detecção de mutações nos genes *GLA*, *NAGA*, *GAA* e *LAMP2* no Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Como parte da validação inicial foram avaliados 21 controles positivos com genótipos previamente determinado por sequenciamento pelo método de Sanger e 02 controles negativos. Os pacientes foram analisados no Ion Torrent Personal Genome Machine (Life Technologies) utilizando os primers Ampliseq customizados desenhados online (<https://www.ampliseq.com/browse.action>). A cobertura do painel inclui todos os exons de cada gene (45 exons; 72 amplicones; 7, 644pb), e 10 nucleotídeos *upstream* e *downstream* de cada exon. Os dados foram analisados na plataforma de bioinformática Ion Torrent Suite e Ion Reporter (Life Technologies). As 23 amostras foram analisadas em três chips de 314, obtendo-se uma cobertura média de 650X. A comparação com os dados obtidos por sequenciamento Sanger demonstrou uma concordância de 100%. Este painel irá oferecer uma estratégia de testagem única para o diagnóstico molecular de pacientes com Fabry, Pompe, Schindler e Danon no Brasil. Palavras-chaves: Sequenciamento de nova geração, doenças lisossômicas, diagnóstico. Projeto 15-0165