

Novorozenecký screening v České republice

M. Kapustová, E. Hlídková,
D. Friedecký, V. Bekárek,
V. Růžičková, J. Ševčíková,
L. Kittlová, T. Adam

Od října roku 2009 probíhá v České republice nově koncipovaný, celoplošný, novorozenecký, laboratorní screening (NBS) všech narozených dětí. Screening je prováděn dle metodických návodů a pokynů, uvedených ve Věstníku č. 6, 2009, str. 7-14 – „Metodický návod k zajištění celoplošného novorozeneckého screeningu a následné péče“. Jako každá nová zavedená vyšetření mohou vyvolat řadu otázek i nově screenovaná dědičná metabolická onemocnění.

Co to je NBS? Novorozenecký screening slouží k vyhledávání novorozenců se zvýšeným rizikem některých vzácných onemocnění. Díky včasnému odhalení tohoto rizika pak lze tato onemocnění diagnostikovat a léčit dříve než stačí nevratně poškodit zdraví dítěte.

Kde se provádí NBS? NBS je prováděn ve specializovaných laboratořích v Praze, Brně a v Olomouci .

Které nemoci se novorozeneckým screenem vyšetřují?

Dědičné poruchy metabolismu

Poruchy metabolismu aminokyselin

PKU - fenylketonurie, hyperfenylalaninemie

MSUD - leucinóza

organické acidurie

GA I - glutarová acidurie typ I

IVA - izovalerová acidurie

Poruchy metabolismu mastných kyselin

MCAD - def. acyl-CoA dehydrogenázy mast. kys. se středně dlouhým řetězcem

LCHAD - def. 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenázy mast. kys. s dlouhým řetězcem

VLCAD - deficit acyl-CoA dehydrogenázy mast. kys. s velmi dlouhým řetězcem

Poruchy v transportu mastných kyselin

CPT I - deficit karnitinpalmitoyltransferázy I

CPT II - deficit karnitinpalmitoyltransferázy II

CACT - deficit karnitinacylkarnitintranslokázy

Dále se vyšetřují

endokrinní onemocnění

kongenitální hypotyreóza

kongenitální adrenální hyperplazie

jiná onemocnění

cystická fibróza

Jak se novorozenecký screening provádí? Ve věku 48-72 hodin po narození se odebere několik kapek krve z patičky dítěte na speciální papírek a odešle se k analýze do laboratoře.

Je nutné dodržet správný odběr 48 – 72 h po narození, dodržet zásady bezpečnosti odebíraného vzorku tak, aby nedošlo ke kontaminaci, je důležité i správné usušení vzorku KS. Takto odebraný materiál je připravený k odeslání do příslušné laboratoře. Kartička s KS musí obsahovat identifikační údaje pacienta, které jsou důležité pro laboratoř. Informace jsou důležité pro další možné vyšetřování. U některých novorozenců se provádí tzv. rescreening z rozhodnutí lékaře (8. – 14. den) - při nízké porodní hmotnosti < 1500 g, při parenterální nutrii, pokud matka v době těhotenství užívala léky, které by mohly ovlivnit výsledky vyšetření. Při řešení nejednoznačného nálezu screeningového vyšetření si vyžádá opakovaný odběr laboratoř.

Materiál je do laboratoří zasílán převážně doporučenou poštou. Z krevní skvrny se vyrazí terčik o velikosti 3mm, jednotlivé terčíky se umísťují přesně podle protokolu do 96 jamkových plotničiek, přidáme interní standard (MeOH + dIS) a probíhá extrakce 20 minut v termostatu při 25°C za stálého třepání, poté dochází k centrifugaci 10 minut. Nyní již je vzorek připraven k analýze.

Extrahované krevní skvrny jsou měřeny na přístroji UHPLC UltiMate 3000 RS (Dionex) ve spojení s API 4000 (AB Sciex) přímou injekcí 3 µL bez separačního kroku. Pro transport vzorku a promytí se používá mobilní fáze složená z methanolu a kys. mravenčí při průtoku 300 resp. 30 ul/min. Analyty jsou ionizovány elektrosprejem v pozitivním módu a analyzovány metodou sledování produktu rozpadu molekulárního iontu (MRM) při čase měření 70 ms na jednu látku. Kvantifikace se provádí vztažením průměrné intenzity signálu analytu na příslušný deuterovaný interní standard pomocí software Chemoview 2.0 (AB Sciex). Interpretace výsledků je založena na diagnostických algoritmech (viz. tabulka níže), při jejichž splnění se provádí příslušné následující akce.

Hodnocení a závěry vyplývající s výsledků naměřených zvýšených parametrů

Negativita: analýza probanda uzavřena jako negativní = nevzbuzující podezření na chorobu = žádná další akce, analyt (analyty) < cut off.

Pozitivita: analýza probanda nevyklučuje chorobu = vzbuzuje podezření = laboratoř podniká další kroky (obecně stanoveny ve Věstníku). Analyt (analyty) <= cut off.

Algoritmy určení onemocnění NBS

Onemocnění	Primární markery	Sekundární markery *
PKU a HPA	Phe > 120	a Phe/Tyr > 2
MSUD	Leu > 300	a Leu/Ala > 2 Leu/Phe > 7 Val > 280
MCAD	C8 > 0.4	a C8/C2 > 0.1 C10 > 0.5 C10:1 > 0.2 C6 > 0.2 C8/C10 > 5
LCHAD	C16-OH > 0.1 nebo/a C18:1OH > 0.05 C18-OH > 0.04	
VLCAD	C14:1/C16 > 0.15	a C14:1 > 0.3 C14 > 0.5
CPT I	C0/(C16+C18) > 25	a C0 > 40 C18 < 0.15 C18:1 < 0.2 C16 < 0.3
CPT II / CACT	(C16+C18:1)/C2 > 2	a C16 > 8 C18 > 2.2 C18:1 > 3 C0 < 5
GA I	C5DC > 0.4	a C5DC/C8 > 4 C5DC/C16 > 0.5
IVA	C5 > 0.7 / 1.2	a C5/C8 > 10 C5/C2 > 0.4

* - pouze doplňující markery, v případě patologie nejsou určujícími pro diagnostiku onemocnění

Nejednoznačný nález= řeší se opakováním odběru suché kapky, který indikuje, vyžádá a realizuje laboratoř.

V laboratoři dědičných metabolických poruch v Olomouci bylo od počátku vyšetřování NBS, od října 2009 dosud, zachyceno 16 dětí s pozitivním nálezem na dědičné metabolické poruchy. Nejčastější záchyt pro onemocnění MCADD, PKU, GAI, VLCADD .

Co na závěr?

Dědičné metabolické poruchy jsou významnou příčinou mortality a dlouhodobé morbidity ve všech věkových kategoriích. Se zvyšujícím se počtem přežívajících a narůstajícím počtem diagnostikovaných pacientů je tematika mimořádně aktuální.

TMS je senzitivní technologie umožňující odhalit několik desítek různých DMP. Napomáhá diagnostice a diferenciální diagnostice dědičných metabolických poruch a včasné úpravě stravy a nasazení efektivní léčby.

Rozšířené vyšetřování DMP je aktivní vyhledávání chorob v jejich předmanifestním stadiu tak, aby se tyto choroby diagnostikovaly a léčily dříve, než se stačí projevit a způsobit dítěti nevratné poškození zdraví.

Hovoříme-li o zdraví dítěte, každá informace má svůj význam. Pokud je diagnostikována některá z těchto chorob, včasný léčebný zásah může hrát klíčovou roli a umožnit dítěti vést normální život. Rozšířené vyšetřování metabolických poruch je prvním krokem v tomto procesu.