

Novorođenački skrining u Hrvatskoj i u svijetu

Danijela Petković Ramadža¹, Vladimir Sarnavka¹, Ana Škaričić², Ksenija Fumić², Ivo Barić^{1,3}

Novorođenački skrining je vitalni dio zdravstvene zaštite novorođenčadi i provodi se radi ranog otkrivanja prirođenih bolesti i sa svrhom što ranijeg početka liječenja i sprečavanja trajnih i nepopravljivih posljedica za život i zdravlje djeteta. U Republici Hrvatskoj se skrining na fenilketonuriju i konatalnu hipotireozu provodi centralizirano, i to s vrlo dobrim rezultatima, u Laboratoriju za novorođenački skrining Klinike za pedijatriju, Kliničkog bolničkog centra Zagreb. Prije dvadesetak godina razvijena je, a posljednje desetljeće je u svijetu šire dostupna tehnologija tandemске spektrometrije masa kojom se iz malog uzorka krvi u kratkom vremenu mogu analizirati metaboliti karakteristični za više od 50 bolesti. Navedena tehnologija je postala standard za provođenje takozvanog proširenog novorođenačkog skrininga i primjenjuje se u svim razvijenim zemljama svijeta. Rezultati dobro dizajniranih velikih studija nedvojbeno su pokazali da prošireni novorođenački skrining dovodi do smanjenja smrtnosti i boljeg kliničkog ishoda oboljele djece, ali i to da je njegovo provođenje ekonomski isplativo za cijelu zajednicu. Posljednjih godina su poduzeti naponi da se u Hrvatskoj stvore preduvjeti za proširenje novorođenačkog skrininga. Višegodišnje iskustvo razvijenih zemalja u provođenju proširenog skrininga i iz toga proizašle spoznaje služe nam kao dobar predložak za racionalnu organizaciju programa proširenog skrininga koji će, vjerujemo, uskoro postati realnost i u Republici Hrvatskoj. U radu se opisuju dosadašnji rezultati i dostignuća u našoj zemlji, promjene koje nas očekuju te koristi, ali i negativne strane proširenog novorođenačkog skrininga tehnologijom tandemске spektrometrije masa.

Ključne riječi: novorođenački skrining; tandemška spektrometrija masa; Hrvatska

NOVOROĐENAČKI SKRINING: DEFINICIJA, POVIJEST I DOSADAŠNJA DOSTIGNUĆA

Novorođenački skrining ili novorođenački probir je sustav organiziranog traganja za pojedinim prirođenim bolestima u cjelokupnoj novorođenačkoj populaciji određenog područja. Primarni cilj skrininga je što ranije otkrivanje bolesnika, kako bi se pravodobnim liječenjem spriječila smrtnost, poboljšavanje i trajna invalidnost djeteta (1). Novorođenački skrining je međunarodno priznat kao nužan dio zdravstvene zaštite koji donosi brojne koristi oboljeloj djeci i njihovim obiteljima, ali istodobno ima i veliko javnozdravstveno značenje. Skrining na prirođene bolesti metabolizma provodi se tako da se svakom novorođenčetu prije otpusta iz rođilišta izvadi nekoliko kapi krvi na filter-papir (tzv. suha kap krvi) i uzorak se pošalje u laboratorij za novorođenački skrining, gdje se izmjere metaboliti specifični za bolesti na koje se probir obavlja. No novorođenački skrining nipošto nije samo laboratorijski test već i složeni program, koji obuhvaća planiranje provođenja i organizaciju skrininga,

prikupljanje i obradu uzoraka, interpretaciju nalaza, daljnje postupanje s pozitivnim nalazima, obavještanje zdravstvenih ustanova i obitelji o rezultatima testa, potvrđne testove i druge dijagnostičke postupke, liječenje i praćenje bolesnika otkrivenih skriningom, trajnu edukaciju osoblja koje provodi skrining, ali i drugog medicinskog osoblja na izravan ili neizravan način uključenog u program skrininga, te na kraju validaciju metode, evaluaciju programa skrininga i učinkovitosti terapijskih intervencija, kao i procjenu dugoročne koristi za pojedince i zajednicu u cjelini (2, 3, 4, 5).

¹ Klinika za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra i Medicinskog fakulteta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

² Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra u Zagrebu i Medicinskog fakulteta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

³ Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Adresa za dopisivanje:

Prof. dr. sc. Ivo Barić, Zavod za bolesti metabolizma, Referentni centar Ministarstva zdravlja Republike Hrvatske za medicinsku genetiku i metaboličke bolesti u djece, Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb, E-mail: ibaric@kbc-zagreb.hr

Primljeno/Received: 24. 9. 2013., Prihvaćeno/Accepted: 15. 10. 2013.

Začetci novorođenačkog probira sežu u 1961. godinu kad je dr. Robert Guthrie osmislio jednostavan test inhibicije bakterijskog rasta za otkrivanje fenilketonurije (6). S obzirom na javnozdravstveno značenje skrininga, a imajući na umu ekonomsku opravdanost, Wilson i Junger su 1968. godine postavili nekoliko ključnih kriterija koji su morali biti zadovoljeni da bi se pojedina bolest mogla uvrstiti u program skrininga, a to su: relativno visoka incidencija bolesti, nemogućnost pravodobne kliničke dijagnoze, dostupnost terapije, prikladan (dovoljno osjetljiv i specifičan) laboratorijski test i prihvatljivi troškovi skrininga (8). Navedene kriterije je prihvatila Svjetska zdravstvena organizacija i dugo su vremena oni bili temelj za kreiranje sustava novorođenačkog skrininga. Zbog svoje visoke incidencije, dostupnosti jednostavnog, jeftinog i pouzdanog testa za otkrivanje bolesti, nemogućnosti kliničkog prepoznavanja prije nego nastupe nepopravljiva oštećenja mozga te gotovo u potpunosti normalnog neurološkog i somatskog razvoja djece u koje se navrijeme započne s liječenjem, fenilketonurija je bila izvanredan prototip bolesti koja je zadovoljavala sve kriterije tzv. klasičnog skrininga. Kao druga bolest za kojom se sustavno tragalo 70-ih godina prošlog stoljeća je kongenitalna hipotireoza uvrštena u program novorođenačkog probira (9). U međuvremenu su se pojavljivali novi testovi i uvedene su nove metode za otkrivanje drugih prirođenih bolesti (kao što su galaktozemija, leucinoza, homocistinurija, hemoglobinopatije i cistična fibroza), i to po načelu jedan test za jednu bolest (10). No za razliku od fenilketonurije i hipotireoze za koje je postojao univerzalni konsenzus da skrining značajno poboljšava ishod bolesti, zbog čega se on i provodio u gotovo svim zemljama u kojima postoji program novorođenačkog skrininga, uključenost ostalih bolesti razlikovala se među pojedinim zemljama (11).

Značajan preokret se dogodio 1996. kad je uvedena tehnologija tandemske spektrometrije masa (MS/MS) koja je omogućila da se iz jednog uzorka, u relativno kratkom vremenu (oko 2 minute po uzorku), može analizirati mnogo metabolita i dijagnosticirati nekoliko desetaka različitih bolesti. Dostupnost MS/MS tehnologije dovela je do temeljitih promjena u načinu provođenja skrininga i ona je postala osnovni preduvjet za provođenje tzv. proširenog novorođenačkog skrininga koji se provodi u većini razvijenih zemalja i koji uključuje znatno veći broj bolesti (12, 13). Tandemskom spektrometrijom masa se za potrebe novorođenačkog skrininga analiziraju neke aminokiseline i određeni profili acilkarnitina, a na temelju dobivenih rezultata mogu se prepoznati različite organske acidurije, poremećaji beta-oksidacije masnih kiselina, poremećaji karnitinskog ciklusa i neke aminoacidopatije (14, 15). Valja naglasiti da MS/MS tehnologija ima tako visoku osjetljivost da se iz male količine krvi (samo 3 µL) mogu identificirati analiti u nanomolima, zbog čega su moguća i brojna druga mjerenja iskoristiva za

novorođenački probir (14, 16). Tako se ovom tehnologijom mogu mjeriti koncentracije hormona i ona se primjenjuje u skriningu za drugostupanjski test (objašnjenje pojma vidi niže u tekstu) na kongenitalnu adrenalnu hiperplaziju (17). Odnedavno dostupna terapija za lizosomske bolesti nakupljanja dovela je do razvijanja novih MS/MS metoda pa se ove bolesti sve češće razmatraju za uvrštenje u programe proširenog novorođenačkog skrininga (18, 19). Iz navedenog je razvidno da su tradicionalni kriteriji za uključivanje pojedinih bolesti u program novorođenačkog probira sve manje čvrsti i za očekivati je da će se i neke druge bolesti s vremenom uvrstiti u program skrininga. Moguće je i to da će se uključivanjem novih bolesti u programe novorođenačkog skrininga sadašnje metode zamijeniti molekularno-genetičkim testovima, tzv. genskim čipovima, kojima se jednim testom može istodobno analizirati više mutacija različitih gena (20).

NOVOROĐENAČKI SKRINING U REPUBLICI HRVATSKOJ

U Republici Hrvatskoj se skrining na fenilketonuriju provodi od 1978. godine, a na konatalnu hipotireozu od 1985. Novorođenački skrining je od 1986. godine obvezna mjera zdravstvene zaštite (21, 22). Metode kojima se obavlja probir su Guthrijev test za mjerenje fenilalanina radi otkrivanja fenilketonurije i imunofluorescentna metoda (Delfia) kojom se mjeri tireotropin (TSH) za otkrivanje konatalne hipotireoze. U našoj je zemlji skrining centraliziran i provodi se u Kabinetu za novorođenački skrining u okviru Referentnog centra za medicinsku genetiku i metaboličke bolesti djece Ministarstva zdravlja, koji je dio Klinike za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Zagreb. Zadovoljno možemo ustvrditi da je obuhvat novorođenčadi skriningom već dulji niz godina gotovo 100% (23). Od početka provođenja skrininga do kraja 2012. pretraženo je 1514 824 uzoraka na fenilketonuriju i otkrivena je u 178-ero djece, a na konatalnu hipotireozu je pretraženo 1035 152 uzoraka i otkrivena je u 236-ero djece. Prema tome, provođenjem programa novorođenačkog skrininga od teške umne zaostalosti i drugih neuroloških poteškoća spašeno je 414-ero djece. Treba naglasiti da se od kraja 2002. godine u Republici Hrvatskoj provodi i program probira za rano otkrivanje oštećenja sluha procjenom evociranih otoakustičnih potencijala, a od 2006. godine je i ovaj probir uvršten u obveznu mjeru zdravstvene zaštite (24).

UVOĐENJE PROŠIRENOG NOVOROĐENAČKOG SKRININGA U REPUBLICI HRVATSKOJ

Većina preduvjeta za proširenje novorođenačkog skrininga u našoj zemlji postoje: 35 godina iskustva u provođenju skrininga, educirano osoblje u Zavodu za bolesti metabolizma

Klinike za pedijatriju i u Laboratoriju za dijagnostiku nasljednih metaboličkih bolesti Kliničkog bolničkog centra Zagreb, novi i prilagođen prostor Laboratorija za novorođenački skrining, tandemski spektrometar masa s pripadajućom dodatnom opremom, koji je velikodušno donirala tvrtka "dm", te razvijene metode za testove potvrde. Najčešći potvrdni testovi koji se rade nakon pozitivnih rezultata skrininga su analiza aminokiselina u plazmi i organskih kiselina u urinu te profil acil karnitina u plazmi. Prve dvije pretrage se već duže godina rade u Laboratoriju za dijagnostiku nasljednih i metaboličkih bolesti s izvrsnim rezultatima, što potvrđuju i vanjske kontrole kakvoće rada laboratorija. Profil acil-karnitina se radi na istom aparatu (MS/MS) i po nešto modificiranoj metodi kao i novorođenački skrining, pa se nadamo da ćemo relativno skoro uvesti i tu metodu u pretrage koje možemo učiniti. Budući da neki čimbenici mogu utjecati na raspon rezultata (kao npr. prehrana, gestacijska dob, itd.), uvedene su nove kartice za novorođenački skrining koje sadržavaju više informacija o novorođenčetu. Kako bi se stručna i šira javnost upoznala s programom proširenog novorođenačkog skrininga, na tu je temu također posljednjih godina održano više predavanja na stručnim skupovima i objavljeno je nekoliko stručnih radova u medicinskim časopisima i priručnicima. Ono što nam preostaje za doradu i poboljšanje, a dio će se moći ostvariti tek pošto se počne provoditi prošireni skrining (25) je:

- vrijeme uzimanja krvi i pristizanja uzoraka u laboratorij (krv treba uzimati između 36-48 i 72 sata života novorođenčeta te dostaviti po mogućnosti unutar 48 sati do laboratorija, a jedan od razloga za to je što neke bolesti na koje će se raditi probir mogu uzrokovati akutnu metaboličku krizu sa smrtnim posljedicama već u prvim danima života)
- ponovljeno testiranje pojedine novorođenčadi zbog moguće lažno negativnih rezultata (nedonoščad, nedostaščad, novorođenčad na parenteralnoj prehrani, prerano otpuštena iz rodilišta ...)
- informacije roditeljima o dobrobitima i rizicima skrininga, kao i o mogućnostima liječenja pojedinih bolesti
- granične vrijednosti (engl. *cutt off*) vlastitog laboratorija koje su u izradi, a koje će osigurati optimalan odnos specifičnosti i osjetljivosti pojedine analize
- postupak nakon pozitivnog rezultata i algoritam za pojedine bolesti
- kontinuirano vrjednovanje rezultata i reevaluacija svih elemenata proširenog novorođenačkog skrininga
- nabavka još jednog tandemskog spektrometra masa (što je izgledno), koji bi se u slučaju kvara postojećeg mogao rabiti za potrebe skrininga, a u međuvremenu se može

upotrebljavati za druge svrhe (na ovaj način će biti osigurano da se skrining, kad se jednom njime započne, provodi trajno i bez zastoja).

Bolesti koje inicijalno planiramo uvrstiti u prošireni novorođenački probir su: nedostatak acil-CoA-dehidrogenaze srednjih lanaca (MCADD), nedostatak 3-OH-acil-CoA-dehidrogenaze dugih lanaca (LCHADD), uključujući nedostatak trifunkcionalnog proteina (TFPD), nedostatak acil-CoA-dehidrogenaze vrlo dugih lanaca (VLCADD), nedostatak karnitinskog nosača (CUD), izovaleričku acidemiju (IVA), glutarnu acidemiju tipa I. (GA-I), bolest javorovog sirupa (leucinozu - MSUD) te vjerojatno klasičnu homocistinuriju (HCY). Incidencija, kratki opis kliničkog tijeka, liječenje i prognoza pojedine bolesti su prikazani u tablici 1. Navedene bolesti su tzv. primarni ciljevi, odnosno za njima će se ciljano tragati, ali se analizom pojedinih analiza/biljega usputno mogu otkriti i neke druge bolesti, tzv. sekundarni ciljevi. Npr. primarni biljeg za klasičnu homocistinuriju je metionin i bolest se otkriva analizom metionina te omjera metionina i fenilalanina, ali na isti način se mogu otkriti i neke druge hipermetioninemije, kao npr. nedostatak S-adenozilhomocistein hidrolaze.

Uz navedene bolesti i dalje će se provoditi skrining na konatalnu hipotireozu metodom imunofluorescencije i skrining na fenilketonuriju, ali sada metodom MS/MS.

Daljnji planovi za proširenje novorođenačkog skrininga uključuju i uvođenje tzv. drugostupanjskih testova (od engl. *second tier test*), koji se rade iz istog uzorka krvi, odnosno iz iste kartice ako je prvi test pozitivan, a služe za smanjenje broja lažno pozitivnih rezultata za bolesti biljezi kojih nisu dovoljno specifični (26). Nakon uvođenja drugostupanjskih testova u prošireni novorođenački probir će biti uključene i metilmalonska i propionska acidemija, a vjerojatno i neke druge bolesti.

Uz napore koji su dosad poduzeti radi ostvarivanja preduvjeta za početak provođenja proširenog novorođenačkog skrininga, 2012. godine je osnovano i Nacionalno povjerenstvo za novorođenački skrining Ministarstva zdravlja. Povjerenstvo sačinjavaju liječnici i medicinski biokemičar koji se bave skriningom, neonatolog, predstavnici Ministarstva zdravlja i Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje, predstavnik udruge bolesnika i bioetičar, a glavna zadaća povjerenstva je nadzor nad organizacijom i provođenjem skrininga.

Ministarstvo zdravlja je dalo suglasnost za provođenje programa proširenog novorođenačkog skrininga te je i ono uključeno u nacrt Nacionalnog programa za rijetke bolesti za razdoblje 2013.-2018. godine. Proširenje novorođenačkog skrininga podržavaju stručna društva Hrvatskog liječničkog zbora (Hrvatsko pedijatrijsko društvo, Hrvatsko perinatološko društvo i Hrvatsko društvo za rijetke bolesti).

TABLICA 1. Bolesti na koje se planira početak provođenja proširenog novorođenačkog probira tehnologijom tandemске spektroskopije masa

Bolest	Incidencija	Klinički simptomi	Liječenje	Proгноза
Glutarna acidemija tipa 1 (GA-I)	1:30 000 – 1:80 000*	distonija, makrocefalija, frontotemporalna atrofija, akutna encefalopatska kriza s oštećenjem bazalnih ganglija i posljedična teška distonija i diskinezija	dijeta s ograničenim unosom proteina (smanjen unos lizina i triptofana), nadomjestak karnitina, izbjegavanje gladovanja, terapijski protokol u krizi	uz pridržavanje terapije i protokola u krizi dobra, premda rijetki imaju trajna oštećenja mozga uprkos liječenju
Izovalerička acidurija (IVA)	U Njemačkoj 1:750 000	metabolička kriza praćena povraćanjem i pomicanjem svijesti, miris na „znojne noge“, trajna neurološka oštećenja ili smrt	ograničen unos proteina (leucina), nadomještanje L-karnitina i glicina	dobra, ako se dijagnoza postavi na vrijeme i strogo se pridržava terapije
Manjak karnitinskog nosača (CUD)	1:40 000 – 1:120 000*	hipoglikemija, letargija, koma, mišićna slabost, zatajenje jetre, aritmija, kardiomiopatija	nadomjestak karnitina	dobra
Manjak 3-OH-acil-CoA-dehidrogenaze dugih lanaca/manjak trifunkcionalnog proteina (LCHAD/TFP)	U Njemačkoj 1:80 000	hipoglikemija, letargija, koma, kardiomiopatija, hipotonija, progresivna miopatija i polineuropatija, pigmentna retinopatija,	izbjegavanje gladovanja, dijeta s niskim udjelom masti i bogata ugljikohidratima	različit ishod
Manjak acil-CoA-dehidrogenaze srednjih lanaca (MCAD)	1:11 700*	hipoglikemija, letargija, koma, hipotonija, jetrena lezija	izbjegavanje gladovanja, dijeta s niskim udjelom masti i bogata ugljikohidratima	izvršna, djeca otkrivena skriningom su bez neuroloških sekvela, ranije smrtnost u prvoj krizi do 25%
Manjak acil-CoA-dehidrogenaze vrlo dugih lanaca (VLCAD)	U Italiji 1:90 000	teži oblik: neketotična hipoglikemija, kardiomiopatija, jetrena lezija, iznenadna smrt dojenčeta; blaži oblik: mišićna slabost u naporu ili rekurentna mioglobinurija	izbjegavanje gladovanja i težih fizičkih napora, dijeta s malo masti i bogata ugljikohidratima	teži oblik kao i LCHAD, blaži oblik izvršna prognoza
Fenilketonurija (PKU)	1:8 500**	teške intelektualne poteškoće, autizam, hiperaktivnost, epilepsija	dijeta s ograničenim unosom proteina (fenilalanina) i u nekih tetrahidrobiopterin	uz pridržavanje dijete odlična, praktički normalan neurološki i somatski razvoj
Klasična homocistinurija (CBS)	1:200 000*	intelektualne poteškoće, abnormalnosti kostiju, dislokacija leće, miopija, tromboza, vaskularni inzulti	dijeta s malo metionina i nadomještanjem vitamina B6 i B12 te betaina	dobra u onih koji imaju zadovoljavajući odgovor na terapiju vitaminom B6, u ostalih različit ishod
Leucinoza (MSUD)	U Njemačkoj 1:107 000, drugdje 1:200 000	progresivna encefalopatija, konvulzije, koma	dijeta s ograničenim unosom proteina (aminokiselina razgranatog lanca) i nadomještanje tiamina	bez liječenja smrt u novorođenačkoj dobi, a ako se rano prepozna i započne liječenje ishod je dobar

*Srednja incidencija u zemljama Europe

**Incidencija u Hrvatskoj

U zagradi uz naziv bolesti su uobičajene kratice koje se navode u engleskoj literaturi.

Preduvjet koji nismo uspjeli ostvariti i razlog zbog kojeg se ne može započeti s programom proširenog skrininga trenutna je nemogućnost da Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje financira pretragu. Za rutinski rad bez problema potrebno je educirati i još jednog biokemičara.

REZULTATI I ISKUSTVA S PROŠIRENIM NOVOROĐENAČKIM SKRININGOM U SVIJETU

S provođenjem programa proširenog novorođenačkog skrininga metodom tandemске spektrometrije masa se u Sjedinjenim Američkim Državama započelo potkraj 90-ih godina prošlog stoljeća (27). U Europi je prvi pilot projekt uvela

Njemačka 1998. godine, a nekoliko godina poslije se prošireni novorođenački skrining počinje provoditi i u ostalim razvijenim zemljama Europe (28). Broj bolesti uključenih u program skrininga tandemskom spektrometrijom masa uvelike varira među pojedinim zemljama, pa čak i među pojedinim područjima u istoj državi, a razlozi za takvu nejednolikost su različita prevalencija bolesti, različiti modeli financiranja i zakonske regulative, ograničenost u novčanim sredstvima i opremi te broju educiranog kadra (27, 28, 29).

S obzirom na različit broj bolesti uključen u program skrininga među pojedinim američkim državama, *American College of Medical Genetics (ACMG)* 2006. godine je okupio stručnjake koji su revidirali osnovne smjernice za uvrštavanje

bolesti među primarne ciljeve novorođenačkog skrininga. Tada je donešen konsenzus o tome da u program skrininga mogu ući bolesti koje zadovoljavaju tri osnovna kriterija (tzv. ACMG kriteriji): 1. da se bolest može detektirati unutar 24-48 sati nakon rođenja, a da istodobno nema kliničke ekspresije na temelju koje bi se mogla prepoznati, 2. da je laboratorijski test dovoljno osjetljiv i specifičan, 3. da je bolest liječiva i da postoji ekonomska opravdanost liječenja (29). Na temelju tih kriterija dogovoreno je da 29 bolesti treba biti uvršteno u primarne ciljeve skrininga (za 20 od njih se u probiru primjenjuje metoda MS/MS). U sekundarne ciljeve uvršteno je 25 bolesti koje se mogu prepoznati probirom na primarne ciljeve, jer ulaze u njihovu diferencijalnu dijagnozu i stoga ne zahtijevaju dodatni trošak, a za svrstavanje među primarne ciljeve nisu zadovoljeni kriteriji učinkovite i/ili isplative terapije ili je upitno kliničko značenje ranog otkrivanja bolesti (29). Do 2007. sve su savezne američke države počele provoditi novorođenački probir na 29 predloženih bolesti. Nakon što je usavršen test za novorođenački probir (molekularnom analizom se mjeri broj ekscizijskih kružnih DNA-a koji su indikator stvaranja T-staničnih receptora), od 2010. se u Sjedinjenim Američkim Državama provodi skrining i na tešku kombiniranu imunodeficienciju (30).

U Europi je broj bolesti za kojima se sustavno traga ipak manji nego u Americi, pa se tako u Njemačkoj od 2005. novorođenački probir obavlja na 14 bolesti (31).

Rezultati skrininga pokazuju da je incidencija većine bolesti uključenih u program skrininga veća nego što se prije predmnijevalo, dijelom i stoga jer se skriningom otkrivaju i blagi oblici bolesti za koje je dvojbeno imaju li klinički značaj. Tako se našlo da je poremećaj razgradnje masnih kiselina srednjih lanaca MCADD (eng. *medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency*) jedna od češćih prirođenih bolesti metabolizma s ukupnom incidencijom oko 1:10 000 živorođenih, a u nekim europskim populacijama incidencija je čak i veća (npr. 1:6 600 u Nizozemskoj) (32). Baš je u podskupini bolesnika s MCADD-om, koji su prepoznati skriningom, postignut optimalan klinički ishod i ta djeca uz terapiju imaju izvrsnu prognozu, dok je prije ere skrininga na ovu bolest rizik za smrt u prvoj metaboličkoj krizi ili trajne neurološke posljedice nakon nje bio viši od 30% (33, 45).

Prospektivne studije troškovne učinkovitosti skrininga u razvijenim zemljama kao što su Velika Britanija i Kanada su uz nepobitne kliničke koristi MS/MS metode, a to su jasno veća osjetljivost u odnosu na Guthrijev test za probir na fenilketonuriju te vrlo visoka osjetljivost i specifičnost testa za MCADD, dokazale i izravnu ekonomsku/troškovnu učinkovitost probira na ove dvije bolesti (35, 36). Za ostale bolesti uključene u novorođenački probir rezultati troškovne učinkovitosti nisu uvijek tako nedvojbeni, što je vjerojatno posljedica manjeg broja bolesnika i relativno kratkog vremena provođenja programa proširenog novorođenačkog skrininga.

Dodatna korist proširenog novorođenačkog skrininga je i mogućnost otkrivanja nekih stanja i stečenih bolesti u majki, kao što je nedostatak vitamina B12 (koji ugrožava majku, ali i njeno dojenče ako se hrani samo majčinim mlijekom, jer može ostaviti trajne neurološke posljedice) (37), ali i mogućnost otkrivanja prije neprepoznatih prirođenih bolesti metabolizma u majke (npr. nedostatka karnitinskog nosača ili glutarne acidemije tipa 1) (38, 39).

Jedan od velikih problema proširenog novorođenačkog probira jest relativno niska pozitivna prediktivna vrijednost pojedinih testova (odnosno biljega) i stoga je za neke bolesti znatan broj lažno pozitivnih rezultata skrininga, što uz troškove dodatne dijagnostičke obrade zapravo zdrave djece dovodi i do velikog emocionalnog opterećenja i nepotrebnog stresa njihovih obitelji (40). Problem je dobrim dijelom riješen uvođenjem drugostupanjskih testova koji povećavaju specifičnost skrininga, a rade se iz istog uzorka krvi ako je prvostupanjski test pozitivan, dakle nema nepotrebnog uznemiravanja obitelji. Kako je ovaj problem potaknuo dosta etičkih rasprava, ekspertni tim ACMG se 2006. godine izjasnio da politika razvoja novorođenačkog probira mora biti vođena onim što je najbolje za oboljelu novorođenčad, a tek potom se može razmatrati o interesima ostale zdrave novorođenčadi, njihovih obitelji i šire zajednice (29).

U velikom međunarodnom projektu „*Region 4 Genetics*“, kojim koordinira klinika Mayo, navodi se da bi ukupni ciljevi novorođenačkog skrininga na prirođene bolesti metabolizma tehnikom MS/MS trebali biti: incidencija otkrivenih bolesnika 1:3000, postotak lažno pozitivnih slučajeva do 0,3% i pozitivna prediktivna vrijednost barem 20%, i to uzevši u obzir primarne i sekundarne ciljeve skrininga te primjenu drugostupanjskih testova.

ZAKLJUČAK

Provođenje proširenog novorođenačkog skrininga nesumnjivo donosi brojne koristi, a najvažnije su:

- otkrivanje djece oboljele od većeg broja prirođenih bolesti prije njenih kliničkih manifestacija, čime se smanjuje smrtnost, poboljšavanje i invalidnost te troškovi liječenja u svezi s tim
- u onih u kojih dijagnoza ipak stigne prekasno, genetička informacija obitelji i otkrivanje bolesti u drugih njenih članova ili retrogradno postavljanje dijagnoze u ranije umrlih
- otkrivanje nekih asimptomatskih ili oligosimptomatskih bolesti u majki
- negativan test skrininga praktički isključuje neke bolesti, što sužava dijagnostičku obradu različitih stanja koja se mogu razviti kasnije u životu.

Premda koristi proširenog novorođenačkog skrininga više-struko nadmašuju njegove negativne strane i njih treba kritički sagledati kako bi se, kad se jednom počne provoditi prošireni novorođenački skrining, neželjene situacije svele na najmanju moguću mjeru. To su:

- veći broj lažno pozitivnih rezultata i nepotreban psihički stres za obitelj
- otkrivanje blažih oblika bolesti koje možda nikad neće izazvati kliničke simptome
- zakašnjelo postavljanje dijagnoze u pojedinih bolesnika (rana metabolička kriza sa smrtnim ishodom prije nego što stignu rezultati testa)
- dio bolesnika može loše završiti bez obzira na liječenje
- teža interpretacija rezultata, dulji put do konačne dijagnoze te veće opterećenje za zdravstveno osoblje
- viša cijena u odnosu na dosadašnji skrining.

S obzirom na nepobitne dobrobiti koje donosi, ali i činjenicu da su gotovo svi preduvjeti za provođenje proširenog novorođenačkog skrininga u našoj zemlji zadovoljeni, vjerujemo da će se uskoro prevladati i posljednje prepreke za njegovo uvođenje i da će prošireni novorođenački skrining vrlo skoro značajno poboljšati zdravstvenu zaštitu novorođenčadi u Republici Hrvatskoj te dovesti do boljitka bolesne djece, njihovih obitelji i zajednice u cjelini.

NOVČANA POTPORA/FUNDING

Ovaj rad poduprlo je Ministarstvo znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske kroz znanstveni projekt 0108-1081870-1885./Supported by grant No. 0108-1081870-1885 of the Ministry of Science, Education and Sport, Republic of Croatia.

ETIČKO ODOBRENJE/ETHICAL APPROVAL

Nije potrebno/None

DOPRINOSI AUTORA/DECLARATION OF AUTHORSHIP

Svi autori su jednako doprinijeli izradi članka/All authors have equally contributed to the work

SUKOB INTERESA/CONFLICT OF INTEREST

Autori su popunili the Unified Competing Interest form na www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (dostupno na zahtjev) obrazac i izjavljuju: nemaju potporu niti jedne organizacije za objavljeni rad; nemaju financijsku potporu niti jedne organizacije koja bi mogla imati interes za objavu ovog rada u posljednje 3 godine; nemaju drugih veza ili aktivnosti koje bi mogle utjecati na objavljeni rad./All authors have completed the Unified Competing Interest form at www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (available on request from the corresponding author) and declare: no support from any organization for the submitted work; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous 3 years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.

LITERATURA

1. Maternal And Child Health Bureau. Newborn screening: Towards a uniform screening panel system. Available from: <http://mchb.hrsa.gov/programs/newbornscreening/screeningreport.pdf>.
2. Kaye CI; Committee on Genetics, Accurso F, et al. Introduction to the newborn screening fact sheets. *Pediatrics*. 2006;118:934-63. <http://dx.doi.org/10.1542/peds.2006-1783> PMID:16950973
3. Therrell BL, Panny SR, Davidson A, et al. U.S. newborn screening system guidelines: statement of the Council of Regional Networks for Genetic Services (CORN). *Screening*. 1992;1:135-47. [http://dx.doi.org/10.1016/0925-6164\(92\)90005-P](http://dx.doi.org/10.1016/0925-6164(92)90005-P)
4. Pass KA, Lane PA, Fernhoff PM, et al. US newborn screening guidelines II: follow-up of children, diagnosis, management, and evaluation. Statement of the Council of Regional Networks for Genetic Services (CORN). *J Pediatr*. 2000;137:S1-S46. <http://dx.doi.org/10.1067/mpd.2000.109437> PMID:11044838
5. Academy of Pediatrics. Serving the family from birth to the medical home: A report from the Newborn Screening Task Force convened in Washington DC, May 10-11, 1999. *Pediatrics*. 2000;106:383-427.
6. Guthrie R, Susi A. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. *Pediatrics*. 1963;32:338-43.
7. Guthrie R. Organisation of a regional newborn screening laboratory. In: Bickel H, Guthrie R, Hammerseng G, et al. *Neonatal Screening for Inborn Errors of Metabolism*. Berlin: Springer-Verlag 1980;259-70. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-67488-4_26
8. Wilson JMG, Jungner G. Principles and practice of screening for disease. Geneva: WHO; 1968. Available from: whqlibdoc.who.int/php/WHO_PHP_34.pdf.
9. Rastogi MV, LaFranchi SH. Congenital hypothyroidism. *Orphanet J Rare Dis*. 2010;5:17. <http://dx.doi.org/10.1186/1750-1172-5-17> PMID:20537182 PMCID:PMC2903524
10. Paul DB. Patient advocacy in newborn screening: Continuities and discontinuities. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2008;148:8-14. <http://dx.doi.org/10.1002/ajmg.c.30166> PMID:18200523
11. Pitt JJ. Newborn screening. *Clin Biochem Rev*. 2011;44:21-3. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2010.08.007> PMID:20709048
12. Millington DS, Kodo N, Norwood DL, et al. Tandem mass spectrometry: A new method for acylcarnitine profiling with potential for neonatal screening for inborn errors of metabolism. *J Inher Metab Dis*. 1990;13:321-4. <http://dx.doi.org/10.1007/BF01799385> PMID:2122093
13. Copeland S. A review of newborn screening in the era of tandem mass spectrometry: What's new for the pediatric neurologist? *Semin Pediatr Neurol*. 2008;15: 110-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.spen.2008.05.003> PMID:18708000
14. Marsden D, Larson C, Levy HL. Newborn screening for metabolic disorders. *J Pediatr*. 2006;148:577-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2005.12.021> PMID:16737864
15. Schulze A, Lindner M, Kohmuller D, Olgemoller K, Mayatepek E, Hoffman GF. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. *Pediatrics*. 2003;111:1399-406. <http://dx.doi.org/10.1542/peds.111.6.1399> PMID:12777559
16. Wilcken B, Wiley V, Hammond J, Carpenter K. Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *N Engl J Med*. 2003;348:2304-12. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa025225> PMID:12788994

17. Speiser PW. Improving neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:3685-6.
<http://dx.doi.org/10.1210/jc.2004-0976>
PMid:15292288
18. Orsini JJ, Martin MM, Showers AL, et al. Lysosomal storage disorder 4+1 multiplex assay for newborn screening using tandem mass spectrometry: Application to a small-scale population study for five lysosomal storage disorders. *Clin Chim Acta.* 2012;413:1270-3.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2012.04.012>
PMid:22548856 PMCID:PMC3443687
19. Mechtler TP, Stary S, Metz TF, et al. Neonatal screening for lysosomal storage disorders: feasibility and incidence from a nationwide study in Austria. *Lancet.* 2012; 379:335-41.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61266-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61266-X)
20. Dhondt JL. Neonatal screening: from the 'Guthrie age' to the 'genetic age'. *J Inherit Metab Dis.* 2007;30:418-22.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10545-007-0624-9>
PMid:17505914
21. Sarnavka V, Mardešić D, Gjuric G, et al. Screening for congenital hypothyroidism in Croatia- organization and first results. *Acta Med lug.* 1990;40:3-14.
22. Sarnavka V. Novorođenački skrining. *Paediatr Croat.* 2004;48:197-203.
23. Sarnavka V, Barić I, Gjuric G, Blau N, Mardešić D. Trideset godina novorođenačkog skrininga u Hrvatskoj - rezultati i perspektive. *Paediatr Croat.* 2008;52:81.
24. Marn B. Rano otkrivanje oštećenja sluha u djece u Hrvatskoj - probir i dijagnostika. *Paediatr Croat.* 2012;56:195-201.
25. Barić I, Fumić K, Juras K, Sarnavka V. Novorođenački probir na vratima ere tandemске spektrometrije masa. *Paediatr Croat.* 2010;54:19-24.
26. Rinaldo P, Matern D. Newborn screening for inherited metabolic disease. In: Hoffman GF, et al. *Inherited Metabolic Diseases.* Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2010;251-60.
http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-74723-9_27
27. Wilcken B, Wiley V, Hammond J, Carpenter K. Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *N Engl J Med.* 2003;348:2304-12.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa025225>
PMid:12788994
28. Bodamer OA, Hoffmann GF, Lindner M. Expanded newborn screening in Europe 2007. *J Inherit Metab Dis.* 2007;30:439-44.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10545-007-0666-z>
PMid:17643197
29. Watson MS, Mann MY, Lloyd-Puryear MA, Rinaldo P, Howell RR (American College of Medical Genetics Newborn Screening Expert Group). Newborn screening: Towards a uniform screening panel and system-executive summary. *Genet Med.* 2006;8 (Suppl 1):S12-S252.
<http://dx.doi.org/10.1097/01.gim.0000223467.60151.02>
PMid:15292288
30. Janik DK, Lindau-Shepard B, Comeau AM, Pass KA. A multiplex immunoassay using Guthrie specimen to detect t-cell deficiencies including severe combined immunodeficiency disease. *Clin Chem.* 2010;56:1460-5.
<http://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2010.144329>
PMid:20660143 PMCID:PMC3220183
31. Harms E, Ollgemöller B. Newborn screening for metabolic and endocrine disorders. *Dtsch Arztebl Int.* 2011;108:11-2.
32. Rhead WJ. Newborn screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: A global perspective. *J Inherit Metab Dis.* 2006;29:370-7.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10545-006-0292-1>
PMid:16763904
33. Linder M, Gram G, Haeghe G, et al. Efficacy and outcome of expanded newborn screening for metabolic diseases – report of 10 years from South-West Germany. *Orphanet J Rare Dis.* 2011;6:44.
<http://dx.doi.org/10.1186/1750-1172-6-44>
PMid:21689452 PMCID:PMC3141366
34. Wilcken B, Hass M, Joy P, et al. Outcome of neonatal screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in Australia: a cohort study. *Lancet.* 2007;369:37-42.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60029-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60029-4)
35. Neonatal screening on inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry: an evidence-based analysis. *Ont Health Technol Assess Ser.* 2003;3:1-36.
36. Pandor A, Eastham J, Beverly C, et al. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of neonatal screening on inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry. A systematic review. *Health Technol Assess.* 2004;8:1-121.
37. Marble M, Copeland S, Khanfar N, Rosenblatt DS. Neonatal B12 deficiency secondary to maternal subclinical pernicious anemia: identification by expanded newborn screening. *J Pediatr.* 2008;152:731-3.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2008.01.023>
PMid:18410783
38. Crombez EA, Cederbaum SD, Spector E, et al. Maternal glutaric acidemia type I identified by newborn screening. *Mol Genet Metab.* 2008;94:132-4.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2008.01.005>
PMid:18304851 PMCID:PMC2474772
39. Schimmenti LA, Crombez EA, Schwahn BC, et al. Expanded newborn screening identifies maternal primary carnitine deficiency. *Mol Genet Metab.* 2007;90:441-5.
40. Waisbren SE, Albers S, Amato S, et al. Effect of expanded newborn screening for biochemical genetic disorders on child outcomes and parental stress. *JAMA.* 2003;290:2564-72.
<http://dx.doi.org/10.1001/jama.290.19.2564>
PMid:14625333

SUMMARY

Newborn screening in Croatia and around the world

Danijela Petković Ramadža, Vladimir Sarnavka, Ana Škaričić, Ksenija Fumić, Ivo Barić

Newborn screening is a healthcare program aimed at identifying newborns with health conditions that can cause severe illness or death unless detected and treated early. In the Republic of Croatia, newborn screening has been organized for phenylketonuria and congenital hypothyroidism in a single center, at Laboratory for Newborn Screening, Department of Pediatrics, Zagreb University Hospital Center, which has very good screening results. During the last decade, newborn screening for inborn errors of metabolism has been significantly improved, mainly due to the novel technology of tandem mass spectrometry, which has the ability to detect specific metabolites for more than 50 disorders from a single dried blood spot. This novel technology has become a standard for the so-called expanded newborn screening and it has been used in developed countries all over the world. Results of well designed and large studies have shown that early detection of inborn errors of metabolism by expanded newborn screening program reduces mortality and leads to better clinical outcome in affected children, but also that it is cost-effective. In the last few years, great efforts have been made to implement expanded newborn screening program in our country. Having in mind benefits and negative sides of expanded newborn screening in the world, we tried to tailor a rational and for our circumstances adjusted disease panel which will, hopefully, be implemented soon in the national newborn screening program. Here we describe former results and achievements of the current Croatian newborn screening program, as well as the anticipated benefits, challenges and negative side effects we will have to deal with once the expanded newborn screening program is initiated.

Keywords: neonatal screening; tandem mass spectrometry; Croatia