

# Novorozenecký screening

Mezi **screeningová vyšetření u novorozenců** patří:

- screening vrozené syfilis z pupečnickové krve (povinný);
- screening vrozené katarakty - vybavením červeného reflexu v zornici pomocí oftalmoskopu (povinné od roku 2005);
- screening vrozené hluchoty - vyšetření sluchu metodou tranzientně evokovaných otoakustických emisí (povinný od roku 2012);
- novorozenecký laboratorní screening z krve odebrané z patičky;
  - od roku 2022 je nově doporučený screening spinální muskulární atrofie (SMA) a skupiny onemocnění těžké kombinované imunodeficiency (SCID) - zatím se jedná o pilotní projekt, vyšetření je dobrovolné;
- screening vývojové dysplázie kyčelního kloubu - vyšetření kyčlí ortopedem;
- vyšetření vrozených kritických srdečních vad pomocí pulzní oxymetrie - porovnání SpO<sub>2</sub> na pravé horní končetině a dolních končetinách (nepovinný);
- ultrasonografické vyšetření ledvin (nepovinný).

V užším smyslu slova se pak novorozeneckým screeningem rozumí **novorozenecký laboratorní screening**.

**Screening** = systematické cílené vyhledávání určité choroby před její klinickou manifestací se snahou předejít včas jejím možným následkům<sup>[1]</sup>

- podle zvolené populace, v níž je porucha vyhledávána, rozlišujeme screening *celoplošný* (např. novorozenecký screening) a *selektivní* (v rizikové populaci)
- *podmínky zavedení celoplošného screeningu*:
  - vyhledávaná porucha je klinicky diagnostikovatelná až v době, kdy již došlo k nevratnému poškození ohroženého systému, nebo bez jejího časného stanovení může být bezprostředně ohrožen život nositele poruchy,
  - porucha má v populaci dostatečnou incidenci,
  - je k dispozici efektivní léčba,
  - existuje screeningový test s vysokou senzitivitou a dostatečnou specificitou,
  - test je přiměřeně levný (příznivý poměr cost/benefit)<sup>[2]</sup>.

## Novorozenecký laboratorní screening

U všech novorozenců narozených na území ČR se provádí novorozenecký laboratorní screening (NLS) 18 vrozených či dědičných onemocnění níže uvedených metodou odběru tzv. suché kapky krve na novorozenecké screeningové kartičce mezi 48. a 72. hodinou života. Cílem novorozeneckého screeningu je rychlá diagnostika a včasná léčba novorozenců s těmito onemocněními.

- hyperfenylalaninémie a fenylketonurie;
  - metoda: tandemová hmotnostní spektrometrie;
- kongenitální hypotyreóza;
  - metoda: stanovení tyreoidu stimulujícího hormonu (TSH) fluoroimunoanalýzou (FIA);
- kongenitální adrenální hyperplazie;
  - metoda: stanovení 17alfa-OH-progesteronu pomocí imunoanalytických metod;
- cystická fibróza;
  - metoda: stanovení hladiny imunoreaktivního trypsinogenu (IRT) imunoanalytickou metodou;
- vybrané dědičné metabolické poruchy;
  - metoda: tandemová hmotnostní spektrometrie;
- spinální muskulární atrofie a těžká kombinovaná imunodeficiency (dobrovolný);
  - metoda: kvantitativní polymerázové řetězové reakce v reálném čase (QRT-PCR).

## Metodika odběru suché kapky krve na screeningovou kartičku

- dobře omytá, prokrvená kůže na vnitřním či zevním okraji patičky novorozence se očistí alkoholem a nechá uschnout,
- provede se drobná incize do hloubky max. 2 mm sterilním kopíčkem ručně či lancetou (speciální automatické zařízení určené pro tento účel),
- první kapka krve se setře suchým sterilním tamponem,
- po vytvoření dostatečně velké další kapky se jemně přiloží filtrační papírek screeningové kartičky, tak aby se krev nasávala a úplně zaplnila předtisknutý terčík a filtrační papír byl viditelně nasáklý z obou stran,
  - patička se nesmí mačkat či ždímat, aby nedošlo k příměsi tkáňového moku,
  - terčík musí být nasáknut najednou z jedné kapky, nesmí se vrstvit kapky do jednoho terčíku,
  - je zapotřebí krví nasáknout všechny terčíky na novorozenecké screeningové kartičce,



Odběr krve pro novorozenecký laboratorní screening.

- filtračního papírku se nikdy nedotýkáme a je nutno zabránit i kontaktu krevních kapek s jakýmkoliv předmětem,
- po odběru necháme krev zaschnout v horizontální poloze kartičky po dobu nejméně 3 hodin při pokojové teplotě (nejlépe ve speciálním stojánku na sušení kartiček),
- po zaschnutí krve se kapky překryjí krycím papírkem, který je součástí kartičky.<sup>[3]</sup>



Vzorek krve na screeningové vyšetření získáme z patičky novorozence

## Screening hyperfenylalaninémie a fenylketonurie

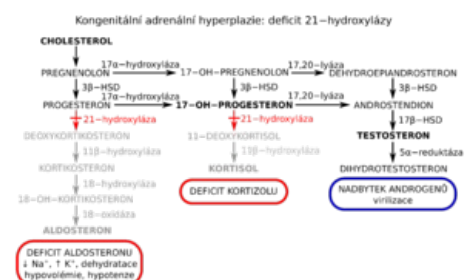
- v ČR se provádí od roku 1975, incidence podle výsledků NLS (2010-2016) asi 1:5500<sup>[4]</sup>
- **hyperfenylalaninémie** (HPA) = porucha metabolismu fenylalaninu, při které dochází k jeho patologickému nahromadění v krvi a ostatních tělesných tekutinách → hyperfenylalaninémie **poškozuje CNS** – postihuje duševní vývoj dítěte a vede k těžké oligofrenii,
  - nejtěžší forma: fenylketonurie (PKU) – incidence v ČR 1:10 000 živě narozených<sup>[2]</sup>,
    - v 97 % je příčinou **deficit enzymu fenylalaninhydroxylázy**,
    - v 1–3 % je příčinou deficit **tetrahydrobiopterinu**,
- léčbu (**eliminační dietu**) je třeba zahájit nejpozději do 21 dnů,
- **screening**: metoda *tandemové hmotnostní spektrometrie* (od 1. 10. 2009)<sup>[3]</sup>,
- odběr suché krevní kapky z patičky novorozence se provádí teprve 3.–4. den života, kdy dítě přijímá mléčnou stravu (aby byla hladina fenylalaninu dostatečně vysoká),
- v bílkovině mateřského mléka je fenylalanin zastoupen přibližně 5 %<sup>[2]</sup>,
- kritéria pro diagnózu klasické fenylketonurie:
  - hladina fenylalaninu nad 20 mg/dl (nad 1,2 mmol/l),
  - normální nebo snížená hladina tyrozinu,
  - přítomnost abnormálních metabolitů v moči (kyselina fenylpyrohroznová),
  - normální koncentrace tetrahydrobiopterinu, kofaktoru hydroxylace fenylalaninu na tyrozin.<sup>[5]</sup>

## Screening kongenitální hypotyreózy

- v ČR se provádí od roku 1985, incidence v ČR podle NLS: asi 1:3000 živě narozených novorozenců,<sup>[4]</sup>
- **kongenitální hypotyreóza** (CH) – nedostatek hormonů štítné žlázy u dětí vede k **narušení vývoje mozku** s následným ireverzibilním mentálním defektem různého stupně. Klinické příznaky se objevují pozdě (až při nevratném poškození CNS).
  - vzniká na podkladě **dysgeneze** štítné žlázy (ageneze, hypoplazie, ektopie) nebo **dysgenezise** (nejč. následkem deficitu tyroidální peroxidázy); hypofyzární a hypotalamické formy jsou vzácné,
- **substituční léčbu L-tyroxinem** je třeba zahájit do 14 dnů života,
- **screening**: stanovení *tyroideu stimulujícího hormonu (TSH) fluoroimunoanalýzou (FIA)*<sup>[5]</sup>,
- u všech novorozenců s potvrzenou kongenitální hypotyreózou je třeba nejpozději do 3 měsíců po narození provést elektronický screening vrozených vad sluchu metodou tranzientních otoakustických emisí<sup>[3]</sup>.

## Screening kongenitální adrenální hyperplazie

- v ČR se provádí od roku 2006, incidence CAH je cca 1:8000<sup>[5]</sup>, podle výsledků NLS asi 1:13 000<sup>[4]</sup>,
- **kongenitální adrenální hyperplázie** (CAH) = vrozená porucha syntézy steroidních hormonů, jejíž příčinou je chybění některého z pěti nezbytných enzymů (nejč. jde o **deficit 21-hydroxylázy** a dochází k hromadění 17alfa-OH-progesteronu. Následkem je zvýšená tvorba adrenálních androgenů → **virilizace** ženského zevního genitálu, **předčasná pseudopuberta** (*pseudopubertas praecox*), malý vzrůst,
  - u 60 % postižených je současně přítomen i defekt tvorby mineralokortikoidů,
- **substituční léčba hydrokortizonem (a mineralokortikoidy)**,
- **screening**: stanovení *17alfa-OH-progesteronu* pomocí *imunoanalytických metod*<sup>[5]</sup>.



CAH z deficitu 21-hydroxylázy.

## Screening cystické fibrózy

- v ČR se provádí od 1. 10. 2009<sup>[3]</sup>, incidence dle NLS 1:6500<sup>[4]</sup>
- **cystická fibróza** (CF) = AR dědičné onemocnění, při kterém dochází k mutacím v genu kódujícím chloridový transportér na buněčné membráně,
- **screening**:
  1. vyšetření hladiny *imunoreaktivního trypsinogenu (IRT) imunoanalytickou metodou*,
  2. při podezření na CF (vysoké IRT) je druhým krokem *molekulární genetická analýza* nejčastějších, jednoznačně patogenních a populačně významných mutací v genu CFTR ze stejných suchých kapek krve na screeningové kartičce, ve kterých byla zjištěna zvýšená koncentrace IRT,

3. při velmi vysokém IRT a neprokázání mutace je třetím krokem provedení *potního testu* pomocí pilokarpinové iontoforézy<sup>[3]</sup>.

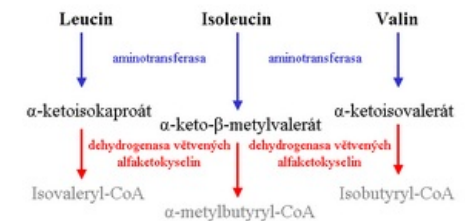
## Screening dalších dědičných metabolických poruch (DMP)

- **screening:** metoda *tandemové hmotnostní spektrometrie*.

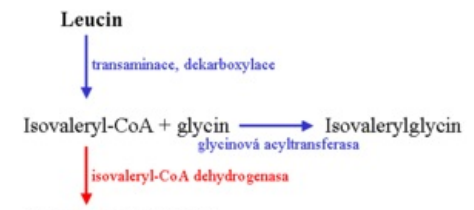
### Dědičné poruchy metabolismu aminokyselin

#### Organické acidurie (v NLS od roku 2009)

- **leucinóza (nemoc javorového sirupu, MSUD)**, incidence 1 : 185 000 narozených;
  - porucha metabolismu větvených aminokyselin (leucin, izoleucin a valin) → hromadění toxických metabolitů;
  - klinický obraz u novorozenců: nesnášenlivost potravy, neprospívání, zvracení, letargie a zápachem moči a ušního mazu po javorovém sirupu či karamelu;
  - bez léčby progreduje do ireverzibilní mentální retardace, hyperaktivity, neprospívání, záchvatového onemocnění, kómatu, mozkového edému a může vést k úmrtí.
- **glutarová acidurie typ I (GA I)**, incidence 1 : 40 000;
  - deficit glutaryl-CoA dehydrogenázy, která přeměňuje glutaryl-CoA na krotonyl-CoA → zvýšení hladiny toxické kyseliny glutarové a jejích metabolitů;
  - klinický obraz u novorozenců: makrocefalie, ale jinak asymptomatický;
  - pozdější symptomy: metabolická acidóza, neprospívání a náhlý nástup dystonie a athetózy z důvodu nevratného poškození striata.
- **izovalerová acidurie (IVA)**, incidence 1 : 230 000;
  - porucha metabolismu leucinu – porucha isovaleryl-CoA dehydrogenázy → hromadí se specifické metabolity, které mohou být toxické;
  - klinický obraz u novorozenců: metabolická ketoacidóza, zápach „zpotených nohou“, dehydratace, hyperamonemie, ketonurie, zvracení, hypoglykémie a neprospívání; existují i mírnější formy bez projevů v novorozeneckém období.



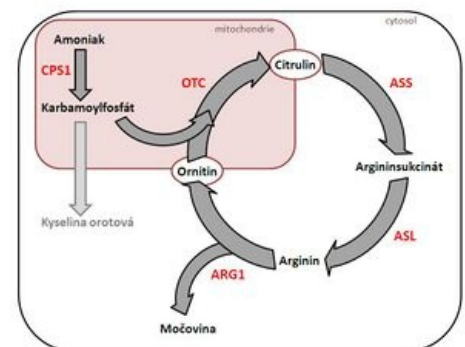
Leucinóza (červeně místo poruchy)



Izovalerová acidurie (červeně místo poruchy)

#### Poruchy cyklu močoviny (v NLS od roku 2016)

- **argininémie (ARG)**, incidence 1 : 300 000 narozených;
  - deficit arginázy → hromadění argininu a amoniaku → dráždivost, porucha příjmu potravy, zvracení, neprospívání, neurologické příznaky (neobratnost, chůze po špičkách kolem věku 2-3 let, opoždění psychomotorického vývoje, křeče,...);
  - ataky hyperamonemie při zvýšeném odbourávání aminokyselin (horečka, hladovění, infekty, operace) → amoniak je ve vysokých koncentracích toxický pro mozkové buňky → zmatenost, porucha vědomí, zvracení; život ohrožující.
- **citrulinémie I. typu (CIT)**, v ČR dosud diagnostikováni 2 pacienti;
  - deficit argininosukcinátsyntázy → hromadění citrulinu a amoniaku;
  - těžká novorozenecká forma – velmi rychlá progresse s vysokou mortalitou;
  - pozdní forma – manifestace v situacích zvýšených energetických nároků.



Cyklus močoviny. CPS1: karbamoylfosfátsyntetáza, OTC: ornitintranskarbamyláza, ASS: argininosukcinátsyntetáza, ASL: argininosukcinátlyáza, ARG1: argináza.

#### Poruchy metabolismu sirných aminokyselin (v NLS od roku 2016)

- **homocystinurie z deficitu cystathionin beta-syntázy (CBS)**, pyridoxin non-responzivní forma, incidence 1 : 6000 - 1 : 20 000;
  - nejčastější porucha metabolismu sirných aminokyselin, blok v transsulfuraci homocysteinu;
  - deficit cystathionin beta-syntázy → snížená kondenzace homocysteinu se serinem na cystathionin → hromadí se homocystein a jeho deriváty;
  - kofaktorem enzymu je pyridoxal-5-fosfát, který vzniká z vitamínu B6 (pyridoxin) přijímaného ve stravě;
  - mírný deficit: asymptomatický;
  - těžký deficit: multisystémové postižení očí, kostry, centrálního nervového systému a cév;
  - léčba pyridoxinem (část pacientů je non-responzivní), dietu s omezením methioninu/bílkovin ve stravě doplněnou s cysteinem obohaceným preparátem esenciálních aminokyselin a/nebo betainem.
- **homocystinurie z deficitu methylentetrahydrofolátreduktázy (MTHFR)**, incidence není známa;
  - onemocnění z poruchy metabolismu folátů a sirných aminokyselin, nejčastější porucha v remethylaci homocysteinu,
  - těžký deficit methylentetrahydrofolátreduktázy → nedochází k redukcí 5,10-methylentetrahydrofolátu na 5-methyltetrahydrofolát → hromadí se homocystein a jeho deriváty;
  - klinický obraz těžkého deficitu: neurologické příznaky (opoždění psychomotorického vývoje, hypotonie a křeče), později psychiatrické problémy, neuropatie a trombembolické příhody;

- léčba: podávání vysokých dávek betainu.<sup>[6]</sup>

## Dědičné poruchy metabolismu mastných kyselin

### Poruchy beta-oxidace (v NLS od roku 2009)

- **deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem (deficit MCAD),** incidence 1 : 20 000 narozených;
  - porucha beta-oxidace středně dlouhých mastných kyselin → hromadění mastných kyselin a jejich potenciálně toxických derivátů;
  - manifestace při hladovění a/nebo období zvýšených energetických nároků (horečka, stres), kdy produkce energie je z větší části závislá na metabolismu tuků;
  - klinický obraz u novorozenců: asymptomatický, event. hypoglykémie, metabolická acidóza, hyperamonemie a hepatomegalie, bez léčby je vysoká mortalita, s léčbou a prevencí hypoglykemií je prognóza velmi dobrá.
- **deficit 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin s dlouhým řetězcem (deficit LCHAD),** incidence 1 : 60 000 narozených;
  - klinický obraz u novorozenců: ataky Reye-like syndromu s kardiomyopatií a/nebo myopatií (rhabdomyolýza), hepatomegalie, hepatopatie, hypoketotická hypoglykémie, laktátová acidóza a neprosívání; i u dobře léčených pacientů je klinická prognóza nejistá.
- **deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem (deficit VLCAD),** incidence 1 : 300 000 narozených;
  - klinický obraz u novorozenců s kritickým deficitem: kardiomyopatie, arytmie, hepatopatie, rhabdomyolýza a náhlé úmrtí.

### Transportní poruchy beta-oxidace (v NLS od roku 2009)

- **deficit karnitinpalmityltransferázy I (CPT I),**
  - transportní porucha beta-oxidace dlouhých mastných kyselin; raritní;
  - klinický obraz u novorozenců: asymptomatický, nebo hypoketotická hypoglykémie, letargie, hepatomegalie a křeče, většinou vyvolané hladověním nebo akutní nemocí;
  - léčba: frekventní strava (prevence hladovění) s vysokým obsahem sacharidů obohacených škroby a s nízkým obsahem tuků.
- **deficit karnitinpalmityltransferázy II (CPT II),**
  - transportní porucha beta-oxidace dlouhých mastných kyselin; incidence neznámá;
  - klasická adultní forma: epizodická svalová slabost s myalgií, rhabdomyolýzou a myoglobinurií, které jsou obvykle vyprovokované zvýšenou námahou, hladověním, infekcí, stresem nebo prochladnutím; infantilní forma je velmi vzácná.
- **deficit karnitinacylkarnitintranslokázy (CACT),**
  - transportní porucha beta-oxidace dlouhých mastných kyselin; raritní.<sup>[6]</sup>

## Dědičná porucha přeměny vitamínů

- **deficit biotinidázy (BTD)** – v NLS od roku 2016,
  - organická acidémie; incidence 1 : 60 000 narozených;
  - klinický obraz dle tíže deficitu: asymptomatická či život ohrožující ketoacidóza, nebo pozvolné neurologické a zrakové a sluchové poškození.<sup>[6]</sup>

## Spinální muskulární atrofie a těžká kombinovaná imunodeficeience

- pilotní projekt od ledna 2022, vyšetření je dobrovolné;
- provádí se z odebrané suché kapky, není potřeba odebrat více krve;
- screening metodou kvantitativní polymerázové řetězové reakce v reálném čase (qRT-PCR).<sup>[7]</sup>

## Laboratoře pro novorozenecký screening

Laboratorní vyšetření **dědičných poruch metabolismu (DPM)** metodou tandemové hmotnostní spektrometrie provádí:

- Všeobecná fakultní nemocnice, Ke Karlovu 2, 128 08 Praha 2, Ústav dědičných metabolických poruch;
- Fakultní nemocnice Olomouc, I.P.Pavlova, 775 20 Olomouc, Laboratoř dědičných metabolických poruch, OKBL.

Laboratorní vyšetření **kongenitální hypotyreózy (CH)**, **kongenitální adrenální hyperplazie (CAH)** a **cystické fibrózy (CF)** pomocí imunoanalytických metod provádí:

- Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Šrobárova 50, 100 34 Praha 10, Laboratoř novorozeneckého screeningu, Klinika dětí a dorostu;
- Fakultní nemocnice Brno, Černopolní 9, 61300 Brno, pracoviště Dětská nemocnice, Oddělení klinické biochemie a hematologie.<sup>[3]</sup>

Laboratorní vyšetření **SMA** a **SCID** metodou kvantitativní polymerázové řetězové reakce v reálném čase provádí:

- Všeobecná fakultní nemocnice, Ke Karlovu 2, 128 08 Praha 2, Ústav dědičných metabolických poruch;
- Fakultní nemocnice Brno, Černopolní 9, 61300 Brno, Interní hematologická a onkologická klinika, Centrum molekulární biologie a genetiky.<sup>[7]</sup>

## Poznámky

- do roku 2009 se ke stanovení **fenylalaninu** v krvi používal ***Guthrieho test*** (semikvantitativní mikrobiologická zkouška):
  1. odebere se kapka krve na terčík filtračního papíru,
  2. filtrační papír se vloží do agarového média, ve kterém jsou bakteriální spory (obvykle *Bacillus subtilis*) a kompetitivní růstový inhibitor specifický pro hledanou aminokyselinu (pro fenylalanin beta-2-thienylalanin),
  3. inkubace,
  4. vyhodnocení růstu bakterií (bakterie rostou za přítomnosti fenylalaninu v kapce krve)<sup>[8]</sup>,
- ještě dříve se používal močový test s chloridem železitým.