

# SCREENING-UL NEONATAL ÎN BOLILE GENETICE DE METABOLISM

## *Neonatal screening for inherited metabolic diseases*

**Prof. Dr. Valeriu Popescu, Dr. Alis Antrasian, Dr. Andrei Zamfirescu**

*Clinica de Pediatrie și Neurologie pediatrică, Spitalul Clinic de copii „Dr. Victor Gomoiu“, București*

### REZUMAT

Screening-ul de rutină al nou-născuților pentru bolile genetice de metabolism (BGM) a fost introdus în practică în anul 1961, după ce Bickel a stabilit o terapie dietetică eficientă în fenilcetonurie și Guthrie a introdus testul de inhibiție bacteriană cu rol în detectarea concentrației de fenilalanină în picăturile de sânge uscat, fixate pe rondele de hârtie de filtru.

În timp, screening-ul neonatal a fost extins în mai multe boli metabolice tratabile și la boli endocrine, incluzând galactozemia, leucinoza, deficiența de biotinidază, sindromul adreno-genital, hipotiroidismul congenital, siclemia (drepanocitoza) și altele.

O etapă majoră a constituit-o, în ultimii ani, dezvoltarea de rutină a analizei acylcarnitinei și aminoacizilor în carduri Guthrie prin spectroscopia de masă în tandem (tandem mass spectroscopy, MS/MS). Această achiziție a permis detectarea majorității aminoacidopatiilor, aciduriilor organice și anomaliilor oxidării acizilor grași și astfel a câtorva din cele mai importante boli genetice ale metabolismului intermediar.

**Cuvinte cheie: Boli genetice de metabolism (BGM); screening neonatal**

### ABSTRACT

Routine screening of newborn infants for metabolic disorders was introduced in 1961 after Bickel established an effective dietary therapy for phenylketonuria (PKU) and Guthrie developed a bacterial inhibition assay to detect elevated concentrations of phenylalanine in dried blood tests.

Over time, neonatal screening has been expanded to several other treatable metabolic and endocrine disorders, including galactosemia, biotinidase deficiency, congenital hypothyroidism, congenital adrenal hyperplasia. A major step in recent years has been the development of routine acylcarnitine and aminoacid analysis in guthrie cards by tandem mass spectroscopy.

Researchers at Duke University developed tandem mass spectroscopy of acylcarnitines and aminoacids for expanded newborn screening in the early 1990's. It allows for screening aminoacidopathies, including PKU, organic acidurias and disorders of fatty acids oxidation.

A positive result often constitutes a metabolic emergency as infants with many of the disorders diagnosed by the technique can become critically ill in the first days after birth.

**Key words: Inherited metabolic disease; neonatal screening**

Screening-ul de rutină al nou-născuților pentru bolile genetice de metabolism a început să fie folosit din 1961, după ce Horst Bickel a stabilit o terapie dietetică eficientă în fenilcetonurie (FC) și Robert Guthrie a introdus primul test screening pentru această boală. Ulterior au fost perfecționate și alte teste screening pentru alte boli genetice de metabolism (hiperfenilalaninemie, galactozemie, deficitul de biotinidază, leucinoză, etc), diferite boli endocrine (hipotiroidismul congenital, sindromul

adreno-genital) dar și pentru unele boli hematologice congenitale (drepanocitoză).

Dar cea mai „revoluționară“ metodă folosită în depistarea bolilor genetice de metabolism a fost realizată prin spectroscopia de masă în tandem (tandem mass spectroscopy – MS/MS), metodă automată prin care pot fi detectate majoritatea aminoacidopatiilor, aciduriile organice dar și anomalii ale oxidării acizilor grași.

Adresă de corespondență:

Prof. Dr. Valeriu Popescu, Spitalul Clinic de Copii „Victor Gomoiu“ Bulevardul Basarabia, Nr. 21, Sector 2, București

Screening-ul neonatal în „masă“ este necesar deoarece o boală genetică de metabolism nu este totdeauna suspectată și diagnosticată clinic, iar evoluția ei poate să fie rapid fatală în absența tratamentului.

Obiectivul principal al unui program de screening în bolile genetice îl reprezintă depistarea bolii în stadiul presimptomatic.

În bolile genetice de metabolism se pot folosi 2 tipuri de programe de screening:

a) screening-ul neonatal „în masă“

b) screening-ul „țintit“ sau „circumscribit“ care este aplicat numai unor categorii de copii:

- cu risc genetic crescut (afectare familială prezentă anamnestic);
- copiii din anumite zone geografice sau din unele grupuri etnice (cu consanguinitate crescută);
- copiii cu o simptomatologie compatibilă cu o boală genetică de metabolism;
- copiii cu boli neuropsihice cronice.

Factori determinanți pentru inițierea unui program de screening neonatal

În inițierea unui program de screening neonatal trebuie să se țină cont de:

a) Caracteristicile bolii avute în vedere:

- cu frecvență relativ mare;
- severă în absența unui tratament;
- cu un „interval liber“ presimptomatic necesar efectuării testului;
- boala să beneficieze de tratament și să existe un protocol terapeutic standardizat la nivel național.

b) Caracteristicile testului de laborator folosit.

Acesta trebuie să fie:

- cu sensibilitate și specificitate mare;
- cu valoare predictivă;
- ușor de executat și ușor de interpretat;
- sigur și etic;
- ușor de acceptat de familie;
- cu cost mic.

Din rațiuni economice, medicale dar și etice, programele de screening neonatal „în masă“ trebuie să îndeplinească aceste condiții.

În continuare sunt prezentate bolile genetice de metabolism care sunt incluse în programele de screening.

## HIPERFENILALANINEMIILE

Hiperfenilalaninemiile neonatale rezultă dintr-o varietate de situații. Hiperfenilalaninemiile neonatale sunt clasificate în 3 categorii: primare, secundare și tranzitorii.

### a) Hiperfenilalaninemiile primare

Deficiența genetică primară este determinată de absența enzimei fenilalanin hidroxilază (FAH), enzimă care este necesară pentru conversia fenilalaninei în tirozină. Absența acestei enzime determină apariția fenilcetonuriei (FC).

Incidența bolii este apreciată la 1/2.600 (în Turcia), la 1/10.000 nou-născuți în Europa de vest și la aproximativ 1/10.000 în țara noastră.

Boala se transmite autozomal recesiv, gena FAH fiind situată pe brațul lung al cromozomului 12 (12q22-q24). Sunt descrise peste 100 mutații (în special la exonii 6-12), iar corelația genotip-fenotip explică existența unui tablou clinic foarte variabil la acești pacienți.

Tabloul clinic se caracterizează prin: manifestări neuropsihice (retard mental, convulsii recurente, spasticitate, mișcări stereotipe, lipsa controlului sfincterian, retard staturoponderal), hipopigmentație (tegumente albe, păr blond, ochi albaștri), miros particular al urinei („de șoarece“). Primele manifestări clinice apar, de obicei, după primul trimestru de viață. Boala beneficiază de tratament dietetic.

Deficitul parțial al FAH determină o formă benignă de hiperfenilalaninemie. Activitatea enzimei este între 1-35% din cea fiziologică. Unii copii necesită tratament dietetic pentru o dezvoltare normală.

### b) Hiperfenilalaninemiile secundare

Hiperfenilalaninemiile secundare apar în cazul în care există un deficit în metabolismul biopterinei (2% din hiperfenilalaninemiile):

- deficit de sinteză a biopterinei (boală transmisă autozomal recesiv) sau
- deficit de reciclare a tetrahydrobiopterinei (tetrahydrobiopterina este cofactor pentru FAH, dar și cofactor pentru tirozin- și triptofan hidroxilază), care va determina scăderea sintezei de neurotransmițători (dopamină și serotonină).

Caracteristic pentru acești copii este faptul că inițial sunt diagnosticați ca având fenilcetonurie și primesc dietă restrictivă în fenilalanină, însă, boala evoluează cu afectare neurologică progresivă, deși fenilalanina plasmatică se normalizează.

### c) Hiperfenilalaninemiile tranzitorii

La nou-născuți pot apare hiperfenilalaninemiile tranzitorii în mai multe situații: prematuri, tirozinemie neonatală tranzitorie sau în cadrul unor boli hepatice, renale etc.

Diagnosticul hiperfenilalaninemiilor neonatale

Primul test screening neonatal „în masă“ folosit a fost pus la punct de către Guthrie.

Tehnica testului se bazează pe recoltarea unei picături de sânge pe o rondelă din hârtie de filtru standardizată (card Guthrie). Metoda constă în inhibiția creșterii coloniilor de bacil subtilis în prezența fenilalaninei din sânge. Testarea se face după a 3-a zi de viață. Dacă testul screening este pozitiv, nou-născutul trebuie internat de urgență într-o unitate specializată pentru a se efectua o evaluare competentă în vederea stabilirii diagnosticului. Evaluarea completă a pacientului se va face conform unui algoritm de diagnostic.

Într-o primă etapă se va determina nivelul plasmatic al fenilalaninei pentru confirmarea testului Guthrie. Dacă fenilalanina este de 360  $\mu\text{mol/l}$  (peste 6 mg/dl) se va face determinarea aminoacizilor în plasmă (fenilalanină și tirozină).

O etapă importantă în algoritmul de diagnostic este reprezentată de excluderea unui deficit de sinteză sau reciclare al bipterinei (se va face testul de încărcare cu bipterină; se determină pterinele în urină și activitatea dihidropterin reductazei, în plus se va face analiza genetică pentru FAH). Bolnavii cu fenilcetonurie au valori foarte mari ale fenilalaninei (peste 10 mg/dl sau 600  $\mu\text{mol/l}$ ). În schimb, cei cu formă benignă de hiperfenilalaninemie (prin deficit parțial al FAH) au valori ale fenilalaninei între 6-10 mg/dl (360-600  $\mu\text{mol/l}$ ). Dacă testul cu tetrahidrobiopterină (BH4) este pozitiv diagnosticul este de anomalie a metabolismului bipterinei (testul de încărcare cu BH4 determină scăderea marcată a fenilalaninemiei la 6 ore după administrare).

Diagnosticul de fenilcetonurie impune introducerea unei diete restrictive în fenilalanină și suplimentarea cu aminoacizi esențiali (valorile fenilalaninei la bolnavii cu FC nu trebuie în general să fie peste 360  $\mu\text{mol/l}$ . Pentru adolescenți dieta este mai puțin restrictivă. Nu există un consens dacă dieta este necesară și la adult.

## GALACTOZEMIA

Principala sursă de galactoză provine din lactoza din alimentație, cel mai important glucid din lapte. Galactoza este metabolizată în principal în ficat (alte țesuturi cum ar fi eritrocitele pot metaboliza de asemenea galactoza).

Deficitul genetic sever al enzimei galactozo-1-fosfat uridil transferază (GALT) determină galactozemia „clasică“ (incidența este 1/50.000-1/80.000). Boala debutează imediat după naștere, odată cu introducerea laptelui (cu lactoză) în alimentație.

Copiii prezintă vărsături, diaree și icter. Dacă boala nu este diagnosticată apare afectare hepatică,

renală și neurologică. Excluderea galactozei din alimentație previne apariția manifestărilor acute.

În ciuda eliminării galactozei din alimentație pot să apară unele implicații tardive cum ar fi insuficiența ovariană și dificultăți în dezvoltarea limbajului.

În prezent, în multe țări este utilizat screening-ul neonatal „în masă“ pentru depistarea galactozemiei, deși pentru unii copii testul nu mai este „benefic“ (pentru nou-născuții care au fost afectați înainte de a se naște) deoarece la naștere au cataractă, iar alții pot deveni simptomatici înainte de efectuarea testului.

În afară de galactozemia „clasică“ au fost identificate mai multe variante Duarte (deficit parțial al enzimei gal-1-P-uridil transferază). Incidența acestor variante genetice este de aproximativ 1/4.000 și unele forme de boală sunt asimptomatice.

### Teste screening neonatal

Pentru depistarea copiilor cu galactozemie se folosesc mai multe teste screening neonatal „în masă“.

Clinitestul este cel mai simplu test screening. Testul se bazează pe determinarea galactozei într-o probă de urină. Acesta se efectuează după 24-36 de ore de la introducerea alimentației cu un lapte ce conține lactoză.

În unele țări se folosește testul dintr-o picătură de sânge recoltată pe hârtie de filtru standardizată (card Guthrie) prin care se determină galactoza, gal-1-P (galactozo-1-fosfat) și transferaza (Beutler), dar uneori rezultatul este obținut după apariția manifestărilor clinice.

La copiii cu risc crescut se poate determina gal-1-P din sângele recoltat din cordonul ombilical.

Ideal ca test screening ar fi cel prin care s-ar putea determina activitatea GALT (se folosește în unele studii pilot).

Dacă testul screening „în masă“ este pozitiv copilul trebuie internat în spital unde se vor face investigații complete.

Dacă galactoza este 15-20 mg/dl se va face o reevaluare clinică a copilului (vărsături, scaune, creșterea ponderală etc) și se va repeta testul la o oră după ce copilul a primit o masă cu lapte (cu lactoză).

Dacă galactoza este între 20-50 mg/dl se va determina galactoza în plasmă, glicemia, enzima GALT în eritrocite și analiza genetică.

Se indică alimentație fără lactoză până ce rezultatele finale sunt disponibile.

Internarea de urgență este indicată dacă concentrația galactozei este peste 50 mg/dl. Alimentația fără lactoză va fi instituită imediat după ce s-au recoltat probe de sânge și urină. Se vor determina

galactoza în plasmă, glicemia, gal-1-P în eritrocite, substanțele reducătoare în urină și aminoacizii în sânge.

În plus sunt indicate și investigații hepatice, renale, teste de coagulare și ecografie abdominală.

Diagnosticul de galactozemie se bazează în final pe determinarea concentrației gal-1-P în eritrocite (valoarea normală este de 0,3 mg/dl) care poate ajunge până la 100 mg/dl în galactozemia „clasică”.

Un test screening pozitiv este urmat de electroforeza care identifică: varianta „clasică” a galactozemiei (GG) și alte variante obișnuite ca varianta Duarte (DD) și varianta compusă (DG – duarte galactozemia).

### DEFICITUL DE BIOTINIDAZĂ

Biotina are rol de cofactor pentru carboxilaze (piruvat, acetyl-CoA, propionil și 3-metil crotonil CoA).

Utilizarea biotinei depinde de 2 enzime: holocarboxilaza și biotinidaza. Holocarboxilaza are rolul de a lega biotina de carboxilaze, iar biotinidaza eliberează biotina din complexul format cu carboxilazele având rol în reciclarea biotinei.

Deficitul acestor enzime este cunoscut ca deficit multiplu al carboxilazelor care determină acidemii organice.

Deficitul de holocarboxilază determină manifestări clinice din perioada neonatală: eritem generalizat, alopecie, urină cu miros de „pisică”, infecții recidivante, manifestări neurologice.

Deficitul de biotinidază este o boală cu transmitere autozomal recesivă (incidența de aproximativ 1/140.000) cu debut în perioada de sugar sau de copil mic cu: manifestări cutanate (rash, alopecie), convulsii, ataxie, surditate, atrofie optică, diplegie spastică și întârziere în dezvoltare.

Boala are o evoluție insidioasă, progresivă, motiv pentru care diagnosticul este mai dificil sau este omis. Manifestările clinice tipice sunt prezente la aproximativ 50% dintre pacienți, în timp ce alte semne clinice sunt mai puțin specifice, cum ar fi hipotonia, convulsiile și întârzierea în dezvoltare apar la restul bolnavilor.

Bolnavii beneficiază de tratament cu biotină.

În multe state occidentale, deficitul de biotinidază a fost inclus în programul de screening neonatal „în masă”.

Determinarea activității enzimei biotinidaza se face prin metodă semicantitativă colorimetrică sau fluorimetrică într-un eșantion de sânge (picătură) recoltat pe o hârtie de filtru standardizată.

Teste screening fals negative se notează la nou-născuții care au primit transfuzii de sânge sau după administrare de catecolamine în perfuzie.

Dacă testul screening este pozitiv se va determina nivelul activității biotinidazei într-un mililitru de ser care va fi ținut la gheață.

Dacă nivelul enzimei biotinidază este între 0-10% din activitatea normală, deficitul este foarte sever și bolnavii necesită tratament pe termen lung cu biotină (5-20 mg/zi). Dacă nivelul activității enzimatice este între 10-25%, bolnavii au un deficit moderat și necesită tratament numai în primulan de viață (tratament cu biotină – 10 mg/zi).

În afară de determinarea activității biotinidazei în ser se vor efectua și alte investigații biochimice: amoniemia, lactatul în plasmă și aminoacizii organici din urină.

### SPECTROSCOPIA DE MASĂ ÎN TANDEM (TANDEM MASS SPECTROSCOPY – MS/MS)

Spectroscopia de masă în tandem reprezintă cea mai performantă metodă pentru diagnosticul bolilor genetice de metabolism.

MS/MS este o metodă pentru depistarea și analiza acylcarnitinelor (metoda a început să fie folosită din 1980).

În 1990 au fost inițiate programe pilot pentru screening-ul neonatal al bolilor genetice de metabolism. MS/MS este cea mai „revoluționară” metodă pentru depistarea bolilor genetice de metabolism, deoarece permite identificarea simultană a aminoacidopatiilor, acizii organice și anomalii de oxidare a acizilor grași.

Tehnica acestei metode constă în recoltare unei picături de sânge pe o hârtie de filtru standardizată (card Guthrie).

Testul se efectuează la 24 sau 48 de ore după naștere; acest aspect nu este încă bine stabilit. Metoda folosită este automată pentru depistarea și analiza acylcarnitinelor.

Acylcarnitinele sunt formate din carnitină liberă și sunt părți din acyl-CoA derivate din acizi grași și acizi organici (care au derivat din aminoacizi) prin acțiunea carnitin-acyl-CoA transferazelor.

În prezent au fost identificate 17 specii (tipuri) de acylcarnitină. În funcție de tipul (specia) de acylcarnitină evidențiată se poate stabili care enzimă este deficitară și deci unde s-a produs blocul metabolic.

Mai multe enzime sunt cunoscute ca având specificitate inegală (diferită) pentru numărul de atomi de carbon C2-C8 (carnitin acetyl-CoA transferaza), C6-C14 (carnitin octanoil-CoA transferaza) și C12-C18 (carnitin palmitoil-CoA transferaza, CPT).

Acylcarnitinele sunt sintetizate în mitocondrie. | fie transportate în afara mitocondriei și apoi din  
Pentru a putea fi detectate în plasmă, ele trebuie să | interiorul celulei spre exterior (plasmă). Unele

Tabelul 1. *Importanța speciilor (tipurilor) de acylcarnitine în diagnosticul bolilor genetice de metabolism*

Analiza	Dimensiune/ Mărime	Boli/comentariu
Acetilcarnitina	C <sub>2</sub>	Destul de variabil, poate reflecta acidoză lactică sau cetoză
Propionilcarnitina	C <sub>3</sub>	Aciduria propionică, acidura metilmalonică, deficiența de vitamina B12 (maternă/congenitală), deficiența de holocarboxilază, sintetază, creștere nesigură în deficiența de biotinidază
Butirilcarnitina	C <sub>4</sub>	Deficiența de SCAD, deficiența de SCHAD
Izobutilcarnitina	C <sub>4</sub>	Deficiența de izobutil-CoA dehidrogenază
Metilmalonilcarnitina	C <sub>4</sub> D <sub>3</sub>	Aciduria metilmalonică
Izovalericarnitina	C <sub>5</sub>	Aciduria izovalerică, deficiența de 2-metil-3-hidroxitiril-CoA dehidrogenaza; pivaloilcarnitina derivată din antibiotice conținând piroxil-sulbactam, este un izomer și determină un rezultat fals pozitiv
Tiglylcarnitina	C <sub>5</sub> : 1	Deficiența aceto acetyl-CoA thiolaza (2-oxothiolaza) mitocondrială
2-metil-3-hidroxitiril carnitina	C <sub>5</sub> :OH	Deficiența de acetoacetat thiolaza (2-metil-3 hidroxibutil-CoA dehidrogenaza)
Hidroxi izovaleric carnitina	C <sub>5</sub> :OH	Deficiența de 3-metil-crotonil-CoA carboxilază. Deficiența de HMG-CoA liaza, aciduria metilglutaconică tipul I
Glutarilcarnitina	C <sub>5</sub> DC	Aciduria glutarica tip I
3-metilglutaril carnitina	C <sub>6</sub> DC	Deficiența de HMG-CoA liaza, aciduria ,metil glutarică tipul I
Petanoilcarnitina	C <sub>8</sub>	Deficiența de MCA, valproil carnitina este un izomer și poate da rezultat fals pozitiv
Octanoilcarnitina	C <sub>8</sub> :1 C <sub>10</sub> :2	Creștere nespecifică în disfuncție mitocondrială, inclusiv terapia cu valproat Deficiența de 2,4-dienoil-coA reductază
Decanoilcarnitina	C <sub>10</sub> :1	Deficiența de MCAD
Decanoilcarnitina	C <sub>10</sub> C <sub>14</sub> :1 C <sub>14</sub> :2 C <sub>16</sub>  C <sub>16</sub> :1 C <sub>16</sub> :OH C <sub>16</sub> DC	Terapia cu valproat Deficiența de VLCAD Deficiența de VLCAD Deficiența de CPT II, deficiența de carnitină-acilcarnitină translocază Deficiența de VLCAD Deficiența de LCHAD/deficit de proteină trifuncțională Deficiența de CPT II, deficiența de carnitină-acilcarnitină translocază
Linoleilcarnitina	C <sub>18</sub> :1  C <sub>18</sub> :2  C <sub>18</sub> :OH C <sub>18</sub> :1OH C <sub>18</sub> :DC  C <sub>18</sub> :1DC	Deficiența de CPT II, deficiența de carnitină-acilcarnitină translocază Deficiența de CPT II, deficiența de carnitină-acilcarnitină translocază Deficiența de LCHAD/proteină trifuncțională Deficiența de LCHAD/proteină trifuncțională Deficiența de CPT II, deficiența de carnitină-acilcarnitină translocază Deficiența de CPT II, deficiența de carnitină-acilcarnitină translocază

#### Abrevieri

C<sub>n</sub> – un lanț de carbon cu număr de atomi de carbon drept sau ramificat (spectroscopia de masă nu distinge între aceste posibilități); C<sub>n</sub> :1 – un singur lanț dublu; C<sub>n</sub> :2 – două lanțuri duble; DC – specii dicarboxilice; OH – specii hidroxi; CPT – carnitin-palmitoil-CoA transferaza; HMG-CoA – 3-hidroxi-3-metil glutaril-CoA; LCHAD – „long chain” hidroxiacil-CoA dehidrogenaza; MCAD – „medium chain” acil-CoA dehidrogenaza; 3MCC – 3-metil crotonil-CoA carboxilaza; SCAD – „short-chain” acil-CoA dehidrogenaza; SCHAD – „short chain” hidroxiacil-CoA dehidrogenaza; VLCAD – „very long chain” acil-CoA dehidrogenaza

acylcarnitine, în special cele cu lanț lung, sunt absorbite pe eritrocite, fapt care face să existe diferențe între nivelul lor din sânge (picătură de sânge uscat) și cel din plasmă sau ser.

Acylcarnitinele cu lanț scurt și mediu sunt filtrate și reabsorbite în grade diferite la nivel renal; în urină apar cantități anormale de acylcarnitine dacă nivelul lor plasmatic este crescut sau dacă sinteza lor renală este crescută (hipoxie renală) sau dacă reabsorbția tisulară este afectată ca în sindromul Fanconi. Acylcarnitinele cu lanț lung nu apar în urină, ele sunt prezente normal în sânge și bilă.

Formele izomerice (în special cele ramificate) nesaturate și decarboxilice, pot fi identificate și astfel au o importanță deosebită în stabilirea diagnosticului.

În tabelul 1 sunt prezentate speciile (tipurile) de acylcarnitine și semnificația lor în diagnosticul bolilor genetice de metabolism.

Deoarece foarte multe boli genetice de metabolism detectate prin MS/MS se pot decompensa rapid în perioada de nou-născut, testele recoltate trebuie expediate zilnic către un laborator specializat care să efectueze rapid analiza. Probele recoltate sunt în general stabile timp de 18 luni.

În laborator probele de sânge recoltate pe „carduri Guthrie“ sunt tratate cu un solvent, după care sunt introduse într-un aparat automat care va analiza prin „pierderea“ unui ion caracteristic ( $m/z$  «mass to charge ratio» 85 sau 99).

Un rezultat pozitiv este o urgență metabolică și nou-născutul trebuie internat rapid pentru o evaluare completă; este indicată repetarea testului și ulterior investigații asupra aminoacizilor plasmatici, acizilor organici din urină, teste genetice, determinarea unor enzime în fibroblaști în raport cu boala genetică de metabolism suspectată.

Dacă testarea pentru confirmarea diagnosticului durează mai mult de câteva ore, în așteptarea rezultatului se va iniția terapia, chiar dacă copilul este asimptomatic.

Un test negativ nu va exclude o nouă testare dacă apar manifestări clinice compatibile cu o boală de metabolism.

Folosirea acestei metode de diagnostic a demonstrat că testul are o foarte mare sensibilitate și specificitate.

## BIBLIOGRAFIA

1. **Beutler E, Ballada MC** – A simple spot screening test for galactosemia. *J Lab Clin Med*, 1966, 68, 137.
2. **Chace DH, Hillman SL, van Have JL et al** – Rapid diagnosis of MCAD deficiency: quantitative analysis of octanoylcarnitine and other acylcarnitines in newborn blood spots by tandem mass spectroscopy. *Clin Chem*, 1997, 43, 2106-2113.
3. **Danks DM** – Diagnosis of metabolic diseases after birth: neonatal screening and investigation of symptomatic patients of babies at genetic risk. In: Hull D (ed) *Recent advances in paediatrics*, p. 50-69, Churchill Livingstone, Edinburgh, London, Melbourne, New York, 1981.
4. **Guthrie R, Susi A** – A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large population of newborn infant. *Pediatrics*, 1963, 32, 238.
5. **Hoffmann GF, Nyhan WL, Zschocke J et al** – Neonatal screening for inherited metabolic disease. In: Hoffmann GF et al (eds) *Inherited metabolic diseases*, ch. 9, p. 110-122, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2002.
6. **Millington DS, Norwood DL, Kodo M et al** – Application of fast atom bombardment with tandem mass spectroscopy and liquid chromatography/mass spectroscopy to the analysis of acylcarnitines in human urine, blood and tissue. *Anal Biochem*, 1989, 180, 331-339.
7. **Naylor EW, Chace DH** – Automated tandem mass spectroscopy for mass newborn screening for disorders in fatty acid, organic acid and aminoacid metabolism. *J Child Neurol*, 1999, 14(suppl 1), S4-S8.
8. **Popescu V, Arion C** – Screening-ul în practica pediatrică. *Pediatria*, 1978, 27, 97.
9. **Popescu V** – Screening-ul neonatal în bolile genetice de metabolism. In: Popescu V (ed) *Actualități în Pediatrie*, vol I, cap 7, p. 74-82, Ed Amaltea, București, 2008.
10. **Rashed MS, Oyand PT, Bucknall MP et al** – Diagnosis of inborn errors of metabolism from blood spots by acylcarnitines and aminoacids profiling using automated electrospray tandem mass spectroscopy. *Pediatr Res*, 1995, 38, 324-331.
11. **Stanbury JB, Wyngaarden JB, Frederickson DS** – The metabolic basis of inherited disease, 4th ed, McGraw Hill, New York, 1978.
12. **Tarini BA** – The current revolution in newborn screening: new technology, old controversies. *Arch Ped & Adolesc Med*, 2007, 161(8), 767-762.