

# I falsi positivi dello Screening Neonatale Esteso evidenziano condizioni materne sia carenziali che patologiche ereditarie

S. Lucchi<sup>1</sup>, L. Alberti<sup>1</sup> L. Cappelletti<sup>1</sup>, L.A. Saielli<sup>1</sup>, E.Pratiffi<sup>1</sup>, S.Fazzone<sup>1</sup>, A.Meta<sup>1</sup>, E. Benedetti<sup>1</sup>, L.Cannella<sup>1</sup>, M. Perrone Donnorso<sup>2</sup>, S. Gasperini<sup>3</sup>, F. Furlan<sup>4</sup>, G.Banderali<sup>5</sup>, E.Verducci<sup>6</sup>, C. Cereda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio di Riferimento regionale per lo Screening Neonatale, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi – ASST Fatebenefratelli-Sacco Milano

<sup>2</sup>UNIGE DINOEMI - LABSIEM, UOC Clinica Pediatrica e Endocrinologia, IRCCS Giannina Gaslini, Genova

<sup>3</sup>Unità pediatrica di patologie rare, Dipartimento di Pediatria, Fondazione MBBM, Ospedale San Gerardo, Monza, Italia

<sup>4</sup>Unità pediatrica di Alta Intensità di Cura, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, Italia

<sup>5</sup>Dipartimento di pediatria, ASST Santi Paolo e Carlo, Milano, Italia

<sup>6</sup>Unità di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi – ASST Fatebenefratelli-Sacco Milano, Università degli Studi di Milano

Contatti:  
simona.lucchi@asst-fbf-sacco.it

## INTRODUZIONE

Lo screening neonatale esteso (SNE) è stato introdotto in Lombardia nel 2016 con lo scopo di identificare le 49 malattie metaboliche ereditarie (MME) previste dal DM Salute 13.10.2016 che comprendono aminoacidopatie, difetti del ciclo dell'urea, acidemie organiche, difetti dell'ossidazione degli acidi grassi, difetti del metabolismo dei carboidrati. Lo screening viene eseguito entro i primi giorni di vita con lo scopo di permettere una diagnosi precoce in fase ancora asintomatica attraverso la tempestiva selezione dei neonati.

Lo SNE ha messo in evidenza condizioni patologiche ereditarie o carenziali materne come incidental findings

| Elenco Gruppi e Patologie Tab. 1-2-3 DM Salute 13.10.2016    |                                                                       |                                                       |
|--------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| <b>FAO (11)</b>                                              | <b>AMINOACIDOPATIE (14)</b>                                           | <b>ACIDEMIE ORGANICHE (17)</b>                        |
| Deficit di Carnitina-Acilearnitina                           | Deficit biotinidasi e deficit rigenerazione del cofattore biotinidasi | Deficit di 3-metilglutaril-CoA deidrogenasi           |
| Troscososi                                                   | Omoocistemia (Defetto di CBS)                                         | Deficit di beta-chetotilasi                           |
| Deficit di Carnitina palmittol-trasferasi I                  | Iperfenilalaninemia benigna                                           | Acidemia Metilmalonica (C3-A)                         |
| Deficit di Carnitina palmittol-trasferasi II                 | Malattia delle Urine a sciroppo d'acero                               | Acidemia Metilmalonica (C3-B)                         |
| Deficit del Trasporto della Carnitina                        | Omoocistemia (Defetto severo di MTHFR)                                | Acidemia Metilmalonica con Omocistemia (Deficit C4-C) |
| Acidemia Glutamica tipo II                                   | Fenilketonuria                                                        | Acidemia Metilmalonica con Omocistemia (Deficit C4-D) |
| Deficit di 3-idrossi-AcCoA deidrogenasi a catena lunga       | Tirozinemia tipo I                                                    | Acidemia glutarica tipo I                             |
| Deficit di 3-idrossi-AcCoA deidrogenasi a catena media/corta | Tirozinemia tipo II                                                   | Acidemia 3-idrossi 3-metilglutarica                   |
| Deficit di AcCoA deidrogenasi a catena media                 | Defetto di Biotinidasi                                                | Acidemia Isovalerica                                  |
| Deficit della Proteina Trifunzionale mitocondriale           | Deficit di Glutina N-Metiltransferasi                                 | Acidemia Malonica                                     |
| Deficit di AcCoA deidrogenasi a catena molto lunga           | Deficit di Metionina Adenosulfotransferasi                            | Deficit Multiple di Carbosilati                       |
| Deficit di AcCoA deidrogenasi a catena corta                 | Deficit di 5-Adenosil Omocisteina                                     | Acidemia Metilmalonica (Mat)                          |
|                                                              | Ictiosi                                                               | Acidemia propionica                                   |
|                                                              | Tirozinemia tipo III                                                  | Deficit di 3-Metil 3-idrossibutiril-CoA deidrogenasi  |
|                                                              |                                                                       | Deficit di 3-Metil Crotonil-CoA deidrogenasi          |
|                                                              |                                                                       | Deficit di 3-Metilglutaricoacido                      |
|                                                              |                                                                       | Deficit di Isobutiril-CoA deidrogenasi                |
| <b>DIFETTI CICLO DELL'UREA (4)</b>                           |                                                                       | <b>DIFETTI METAB. CARBOIDRATI (1-3)</b>               |
| Arginemia                                                    |                                                                       | GALATTOSIDEMIA                                        |
| Acidemia Argininosuccinica                                   |                                                                       | Da deficit Gal-1-PUT                                  |
| Citrullinemia tipo I                                         |                                                                       | (Da deficit di Galattosidasi)                         |
| Citrullinemia tipo II (Deficit di Citrullina)                |                                                                       | (Da deficit di Galattosidasi)                         |

SNE  
Totale MME:  
49

## METODI

Un totale di 381.228 neonati sono stati esaminati dal 2016 al 2020 con la spettrometria di massa tandem (MS/MS) su campione di sangue essiccato su carta (DBS) prelevato a 48-72 ore di vita. I risultati dell'analisi spettrofotometrica sono stati analizzati con l'ausilio del Tool informatico della Mayo Clinic Region 4 Storck Collaborative Project e la sua versione aggiornata Collaborative Laboratory Integrated Reports.

Tutti i campioni positivi al test di 1° livello sono sottoposti a ri-analisi in duplicato (retest) per la conferma del valore ottenuto e contemporaneamente hanno eseguito analisi di seconda istanza denominate "Second Tier Test" (2TT) qualora per la patologia selezionata esista un 2TT. L'esecuzione del 2TT avviene attraverso UHPLC-MS/MS ed è finalizzata a migliorare l'efficienza del programma, aumentandone sensibilità e specificità [riduzione dell'indice di falsa positività]. Per i neonati selezionati al 1° livello per sospetta metilmalonico/propionico aciduria e difetti della rimetilazione si procede con l'esecuzione dei 2TT, con cui si quantificano gli ulteriori analiti target ovvero acido metilmalonico, acido propionico, acido metilcitrico ed omocisteina. I neonati che presentano valori alterati dei 2TT vengono inviati al Centro Clinico di Riferimento (CCR) per la presa in carico clinico-terapeutica.

Per tutti quei campioni che risultano positivi al 1° livello ma per cui non esiste un 2TT, viene richiesto un cartoncino di controllo ed un campione di plasma/urine per poter procedere con l'analisi delle acilcarnitine plasmatiche, degli aminoacidi plasmatici o degli acidi organici urinari in modo da indagare ulteriormente la condizione di positività o negatività allo screening. I risultati delle analisi di acilcarnitine plasmatiche, aminoacidi plasmatici ed acidi organici urinari sono determinanti al fine di inviare o meno il neonato al Centro Clinico di Riferimento

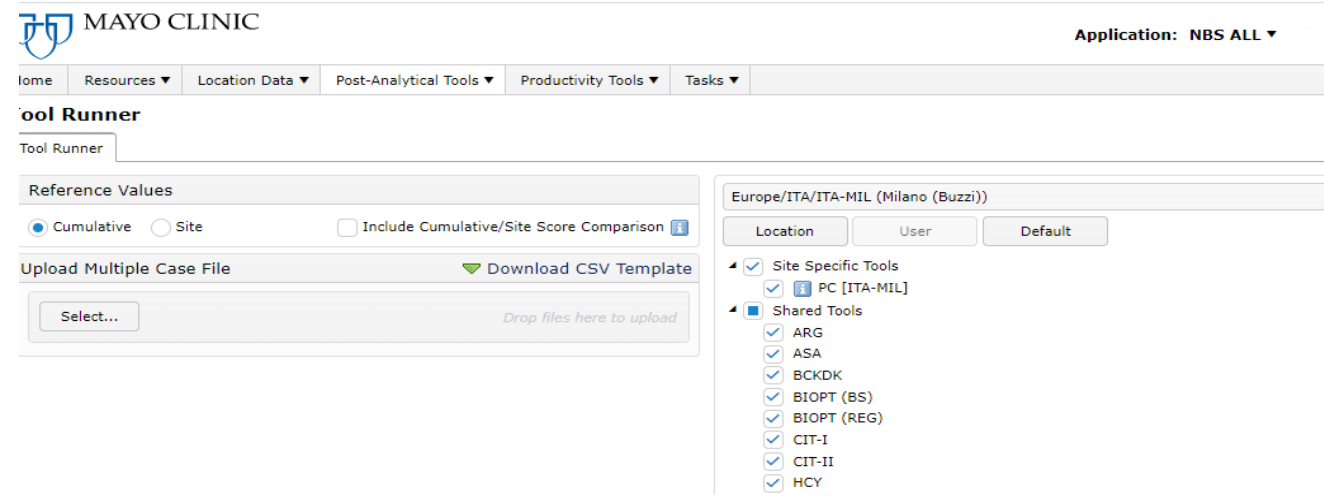
## Percorso Screening



Prelievo di sangue da tallone su carta



MS/MS su DBS



Analisi dei dati con Tool informatico della Mayo Clinic



Esecuzione del 2TT sullo stesso DBS



Richiesta di plasma e/o urine per analisi acilcarnitine plasmatiche, acidi organici



Invio del neonato al Centro Clinico di Riferimento per Malattie Metaboliche

## RISULTATI

Sono stati identificati 185 casi di deficit di vitamina B12 materna da 334 neonati selezionati allo SNE per sospetta metilmalonico/propionico aciduria, difetti della rimetilazione. I neonati in questione presentavano elevata concentrazione di propionilcarnitina o ridotta concentrazione di metionina e sono stati indagati con i 2TT per acido metilmalonico ed omocisteina.

Sono state identificate 5 CUD materne e 40 casi di condizioni carenziali nutrizionali materne da 71 neonati selezionati allo SNE per sospetto CUD.

Da 65 neonati per cui lo SNE aveva un sospetto di aciduria organica associata ad incremento di C5OH/C4DC sono risultate 6 3-MCC materne ed 1 MCADD materna.

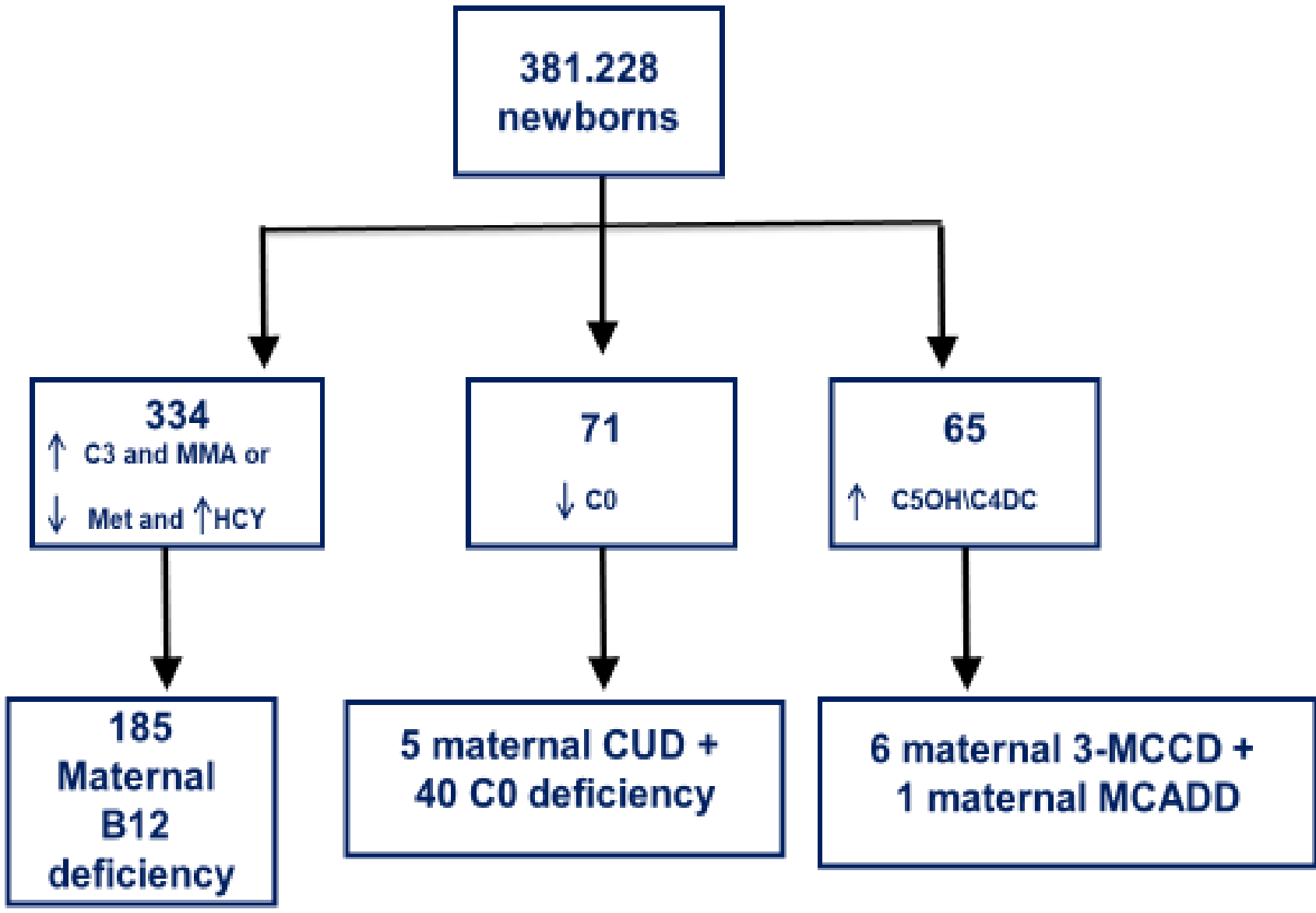


Figure 1: NBS Results. Fig. 1 show the number of newborn screened in Lombardy Region between 2016-2020. 321 newborns were selected after 2TT test suspected for cobalamin genetic related disorders, 71 newborn were selected for suspected CUD and 64 newborns were selected C5OH related diseases. After clinical investigation were found 185 maternal B12 deficiency, 6 maternal CUD and 38 carnitine deficiency or heterozygous carrier status, 6 maternal 3-MCCD and 1 maternal MCADD

## CONCLUSIONI

Valutando le MME neonatali è emerso che il 55% delle mamme di neonati che risultano falsi positivi allo SNE per le metilmalonico/propionico acidurie, difetti di rimetilazione, CUD, acidurie organiche associate ad incremento di C5OH/C4DC presentano deficit nutrizionali mentre il 9% delle mamme hanno patologie metaboliche ereditarie.