•CORSO IN PARALLELO SIPPS-SIN•

LA NEONATOLOGIA PER IL PEDIATRA: I PRIMI 100 GIORNI DI VITA

Il neonato... a casa: la famiglia e il pediatra di famiglia

Lo screening neonatale metabolico: ieri, oggi … e domani?

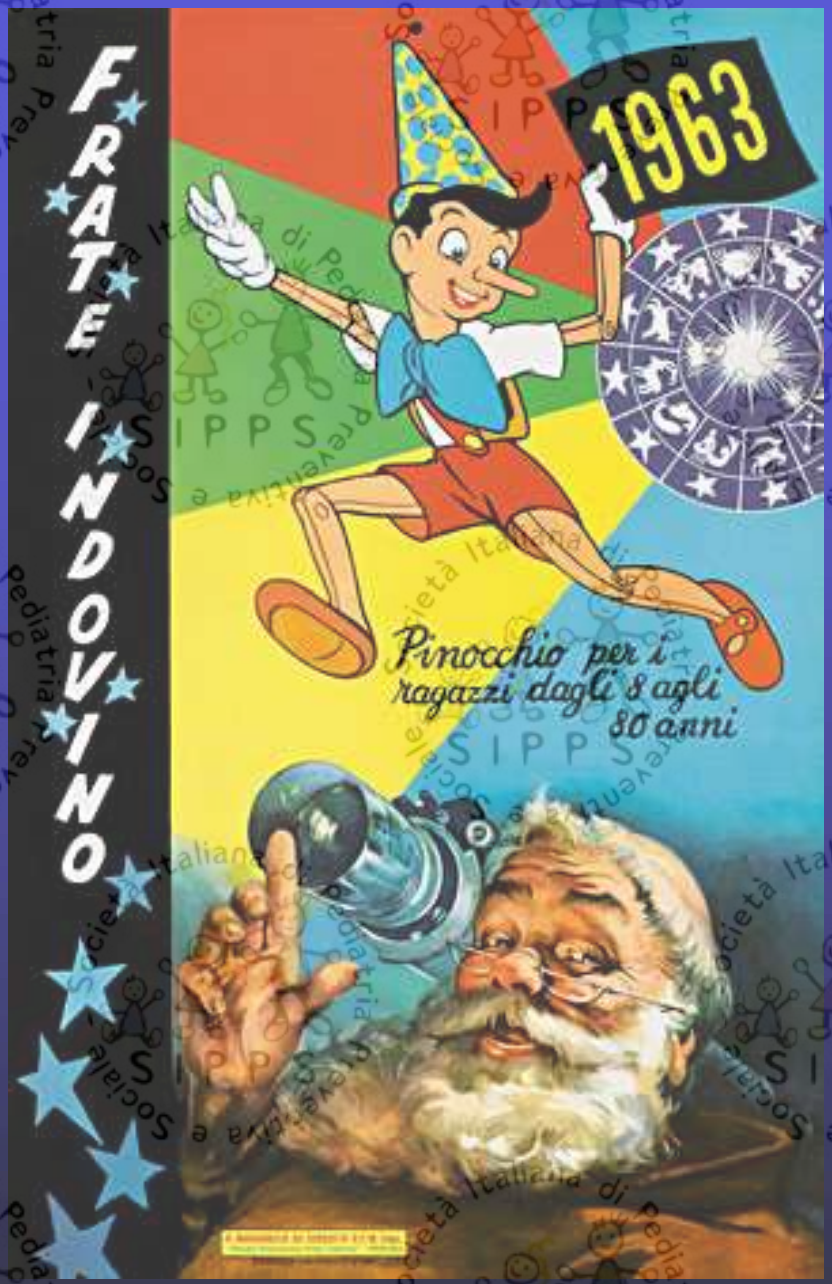
Carlo Corbetta

Laboratorio di Riferimento Regionale per lo Screening Neonatale

Ospedale dei Bambini "Vittore Buzzi"

ASST Fatebenefratelli Sacco, Milano

Regione Lombardia



…la nostra storia inizia nell'anno 1963…

….un anno importante e non solo per lo screening neonatale….

L'Italia del miracolo economico (1958-1963)

L'Italia del **1963** è una nazione nuova, uscita dalle macerie della II guerra mondiale

Nel **1963** gli abitanti di Torino sono aumentati del 35,5%, arrivano cioè oltre 66.000 persone, gli abitanti di Milano aumentano del 36,6%, con l'arrivo di 118.000 persone. Nello stesso 1963 il Mezzogiorno ha perso il 12,2% della popolazione pari a circa 226.000 persone.

Nel 1958 in Italia furono prodotte 369.000 automobili, 10.000 lavatrici, 500.000 frigoriferi

Nel **1963** le automobili divengono 1.105.000, le lavatrici 1.263.000, i frigoriferi 2.187.000.

SOFIA LOREN - MARCELLO MASTROIANNI
IERI OGGI DOMANI
alamy stock photo

la storia dello screening: un mitico decennio dal 1953 al 1963

Robert Guthrie

(1916 – 1995)

Horst Bickel

(1918 – 2000)

Horst Bickel:

Dieta speciale

a basso contenuto di Phe

Bickel H. et al

"Influence of Phe intake on PKU"
Lancet 1953; 265:812-3

L'alimentazione precoce
del neonato PKU
con una dieta
deprivata di Fenilalanina
evita
l'insorgenza del ritardo mentale

Robert Guthrie:

BIA test per Phe

Guthrie card & DBS

Guthrie R et al

"A simple Phe method for detecting PKU in large population of newborns infants"
Pediatrics 1963; 32:338-43

Primo test di laboratorio applicabile
su larga scala per
l'individuazione di
neonati con PKU
Carta da filtro al posto della provetta

Programmi di Screening Neonatale: "Criteri di Wilson & Jungner "
(WHO 1968)

- La malattia deve essere: a) conosciuta e ben descritta; b) frequente nella popolazione ; c) grave; d) (totalmente) curabile.
- La selezione del malato deve: a) avvenire ad uno stadio presintomatico; b) basarsi su un marker biologico di semplice determinazione, sensibile, specifico; c) confermabile da metodiche diagnostiche certe.
- Il programma di prevenzione deve essere: a) previsto a lungo termine; b) efficace c) utile per il soggetto ammalato selezionato; d) caratterizzato da un favorevole rapporto "costo/beneficio".

Programmi di Screening Neonatale: "Criteri di Wilson & Jungner "
(WHO 1968)

Il ***razionale*** dell'***azione tecnica tradizionale*** di screening è espresso dal concetto:

UN MARKER → UNA MALATTIA

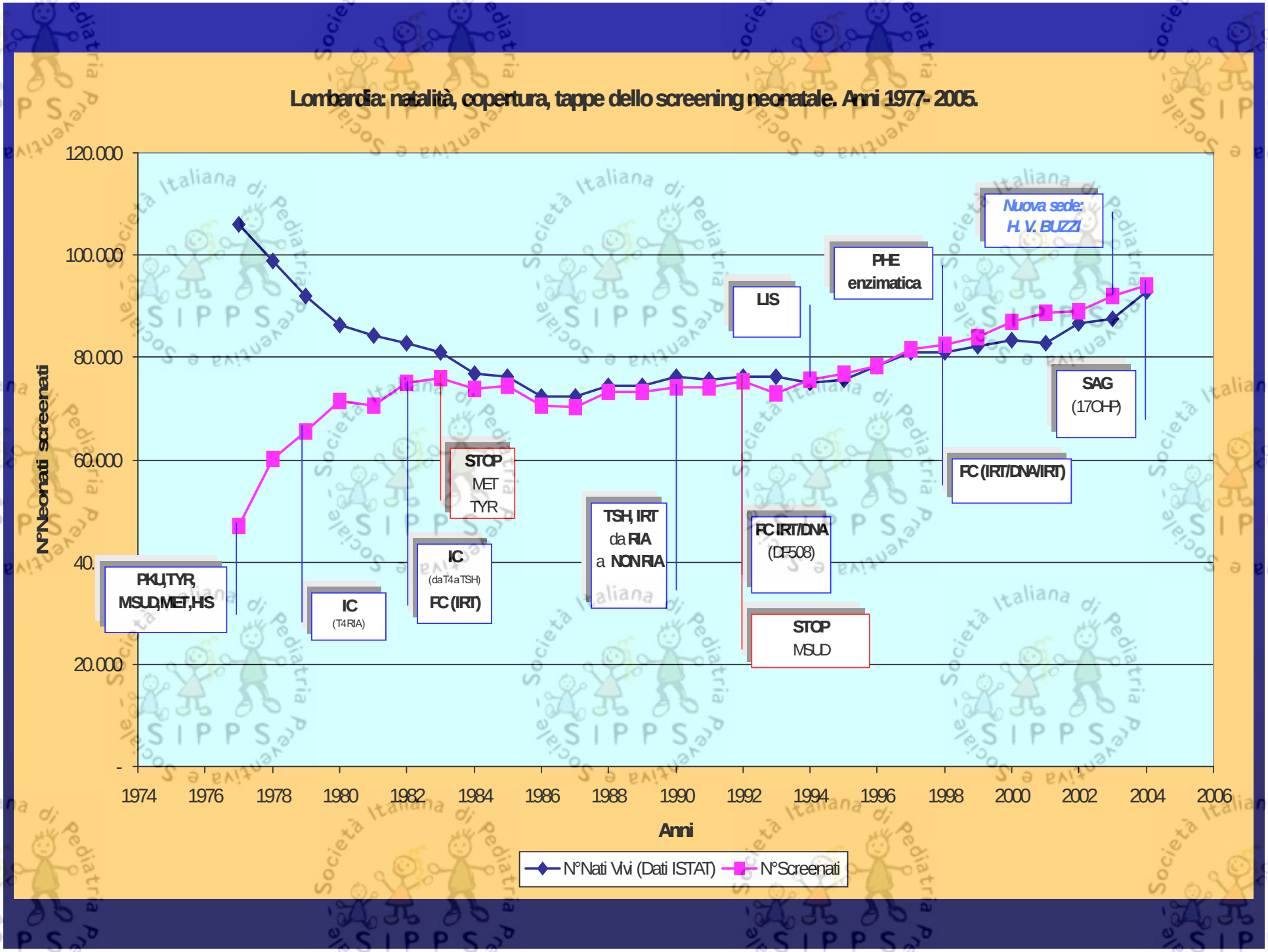
Italy: the National "History" of Newborn Screening

- 1972: **Firsts Regional Programs for PKU and Aminoacid Diseases**

  Fano (Marche Region) and Genoa (Liguria Region).
- 1977: **Firsts Regional Programs for CH**

  Bologna (Emilia Romagna Region), Roma (Lazio Region) and Genoa (Liguria Region).
- 1981 - 1983: **Firsts Regional Program for CF (b-IRT)**

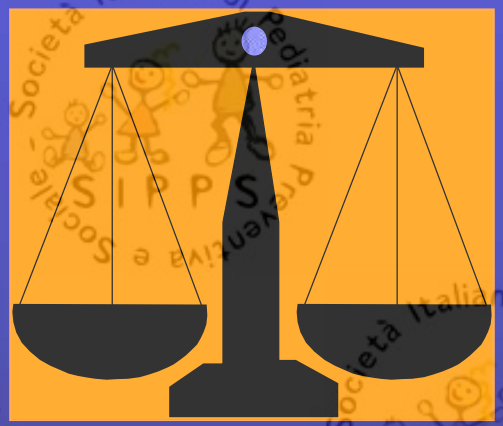
  Verona (Veneto Region) and Milano (Lombardia Region)


Lombardia: natalità, copertura, tappe dello screening neonatale. Anni 1977- 2005.
N°Neonati screenati
120.000
100.000
80.000
60.000
40.
20.000
-
1974
1976
1978
1980
1982
1984
1986
1988
1990
1992
1994
1996
1998
2000
2002
2004
2006
Anni
PKU,TYR, MSUD,MET,HS
IC (T4RIA)
IC (da T4 a TSH) FC (IRT)
STOP MET TYR
TSH, IRT da RIA a NON RIA
LIS
FC IRT/DNA (DF508)
STOP MSUD
PHE enzimatica
FC (IRT/DNA/IRT)
Nuova sede: H. V. BUZZI
SAG (17OHP)
N°Nati Vivi (Dati ISTAT)
N°Screenati

Le prime normative nazionali in ambito di screening neonatale

- Legge 5 febbraio 1992 n°104
  - Legge quadro per l'assistenza, l'integrazione sociale e i diritti delle persone handicappate
- Legge 23 dicembre 1993 n° 548
  - Disposizioni per la prevenzione e la cura della Fibrosi Cistica
- DPCM 9 luglio 1999 (GU n.170 del 22.07.1999)
  - Atto di indirizzo e coordinamento in materia di accertamenti utili alla diagnosi precoce delle malformazioni ed il tempestivo trattamento dell'ipotiroidismo congenito, della fenilchetonuria e della fibrosi cistica.

Lo screening neonatale in Italia



Norme legislative nazionali:

- Legge n° 104, 5 Febbraio 1992
- Legge n° 548, 23 Dicembre 1993
- DPCM 9 Luglio 1999

- Obbligo di legge per HPA/PKU, IC, FC.
- Attivazione facoltativa (competenza regionale) per altre endocrinopatie ed ECM

L'attualità dello screening neonatale

Alcuni punti fondamentali:

- una nuova visione di medicina preventiva
- il concetto di "sistema screening neonatale"
- le nuove normative nazionali (in Italia)

Medicina Preventiva nell'età neonatale e infantile: sintesi degli obiettivi prioritari

- Ridurre mortalità
- Ridurre morbilità severa
- Rimuovere ove possibile le cause genetiche, epigenetiche, ambientali di malattia

Priorità Screening

Una nuova visione dei programmi di screening neonatale: 40 anni dopo Robert Guthrie ed i criteri di Wilson & Jungner

"Newborn screening is more than testing; it should always be part of a system that includes screening tests, follow-up, diagnosis, treatment and evaluation as necessary.

The primary objective of each newborn screening system should be to ensure that every newborn receives appropriate and timely services."

Serving the Family From Birth to the Medical Home-Newborn Screening: A Blueprint for the Future – A Call for a National Agenda on State Newborn Screening Programs.

Pediatrics, 2000,106 Suppl 2; pp.389-422

Due "cardini" fondamentali:

- rete integrata e multidisciplinare di servizio
- risposta tempestiva ed adeguata ad una domanda di salute non procastinabile.

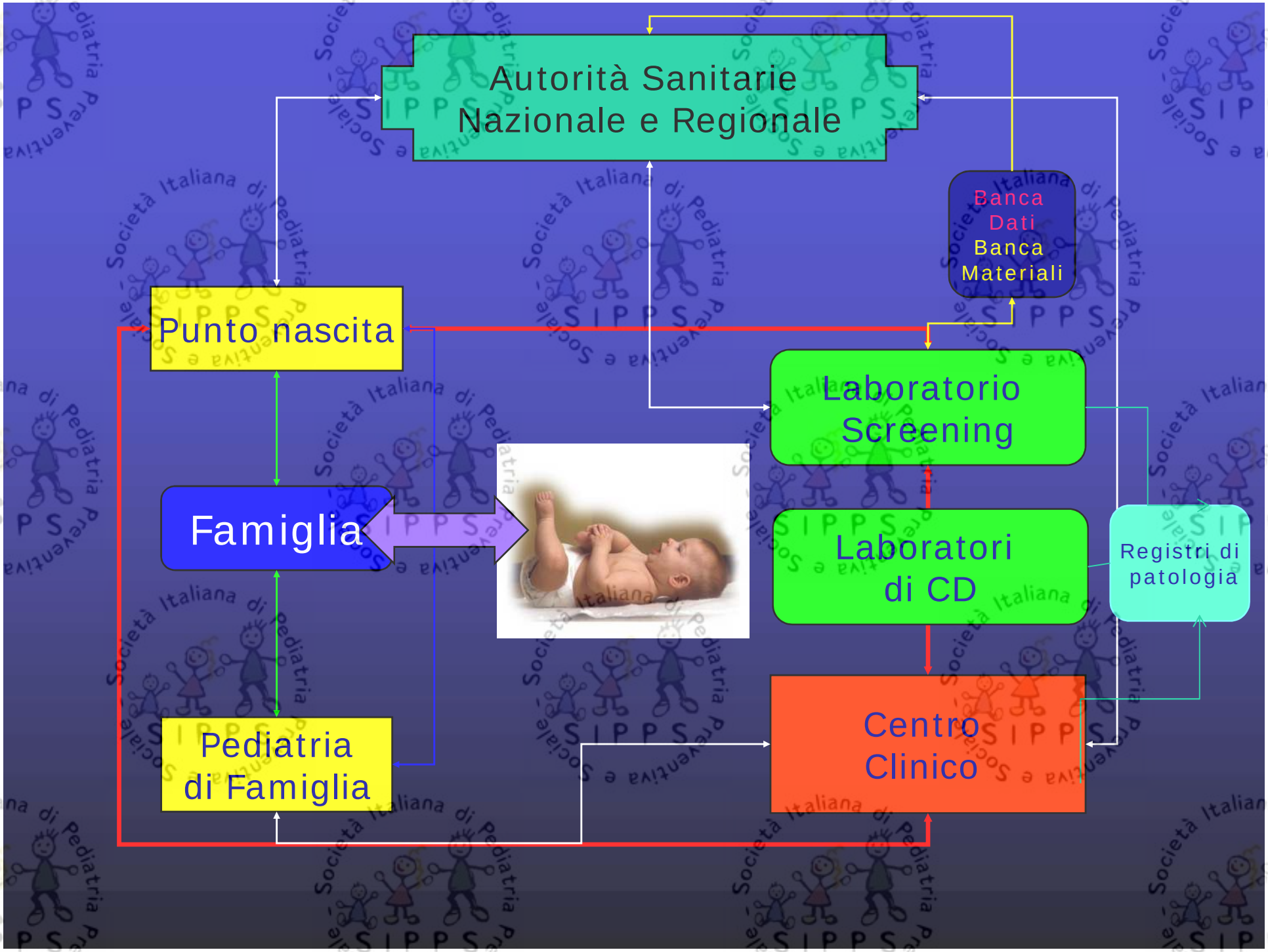
Sistema SCREENING NEONATALE come intervento di Medicina Preventiva

- consente di intervenire in fase presintomatica
- azione a carattere universale ed uniforme
- area d'intervento socio-sanitario
  - attivazione realizzata in base ad una decisione di POLITICA SANITARIA (nazionale, regionale, locale).

strumento fondamentale di medicina preventiva e di salute pubblica

Caratteristiche di servizio di un Programma di Screening neonatale

- Fornisce alla collettività un sistema sanitario centralizzato per assicurare:
  - di sottoporre tutti i nati a screening
  - d'identificare (entro limiti conosciuti d'efficienza) tutti i soggetti affetti
- Raggiunge il suo pieno obiettivo solo quando:
  - ogni neonato con esito positivo ha accesso ad una valutazione diagnostica efficiente
  - ogni neonato con diagnosi confermata ha accesso ad un appropriato percorso di cura, cronico, globale e centrato sul binomio paziente – famiglia.

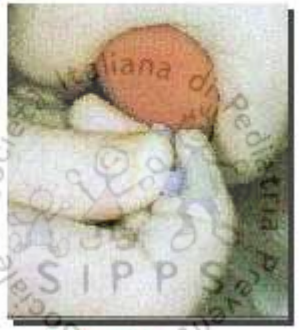

Autorità Sanitarie
Nazionale e Regionale
Banca
Dati
Banca
Materiali
Punto nascita
Laboratorio
Screening
Famiglia
Laboratori
di CD
Registri di
patologia
Pediatria
di Famiglia
Centro
Clinico

Nel corso degli anni si è determinata una progressiva complessità dello screening neonatale.

Un primo esempio:

l'evoluzione della rete di servizio

NBS Specimen Collection



heel puncture

All the screening tests are done on a sample of blood taken from the baby's heel.

NBS Specimen Collection

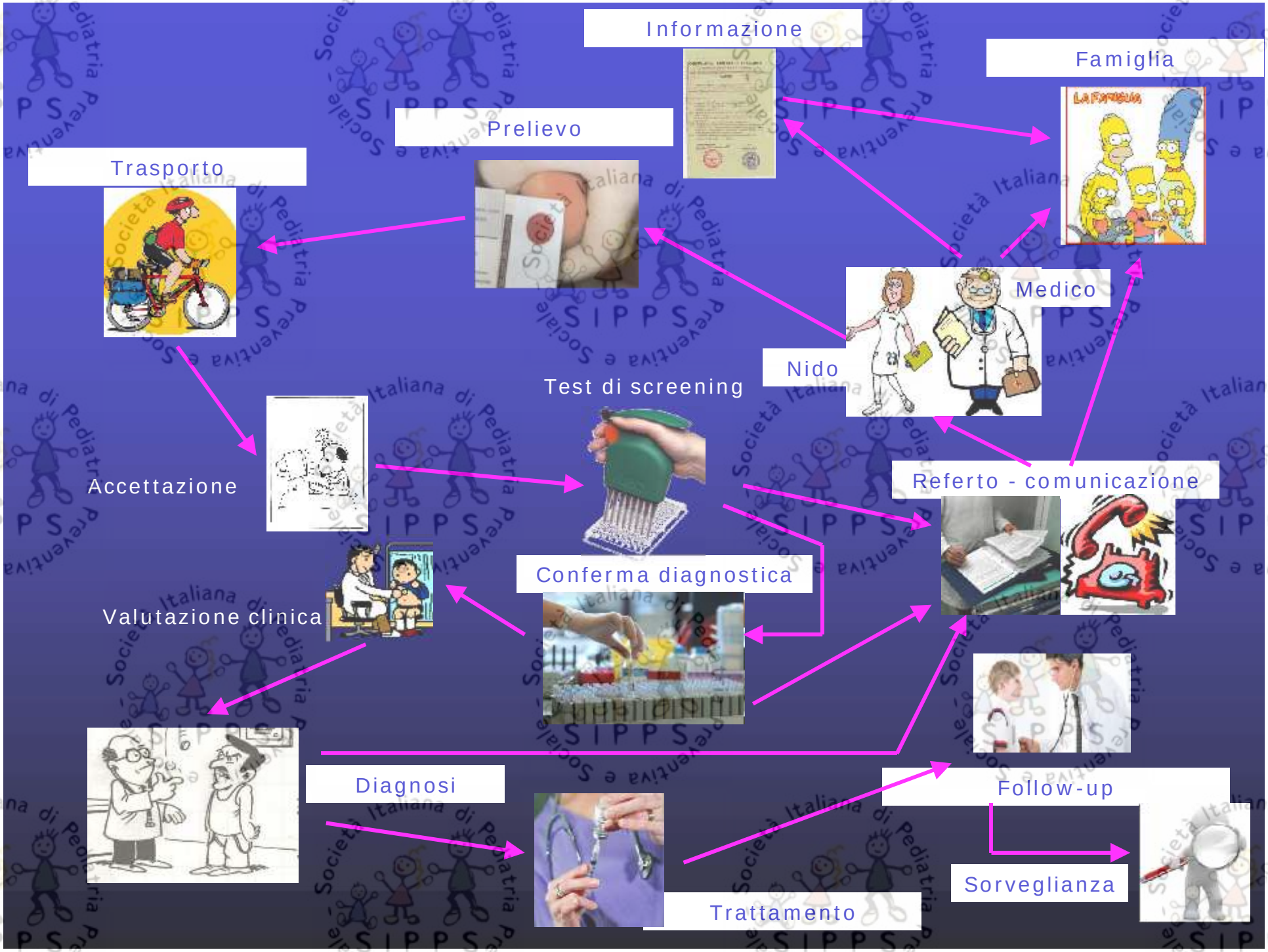
blood drop lightly touched to filter paper

Blood from the heel stick is transferred to a specimen collection form.

NBS Specimen Collection

The filter paper collection form is sent to the Texas Department of Health Laboratory for testing.

Neonato ì Guthrie cards ì analisi di laboratorio


Informazione
Famiglia
Prelievo
Trasporto
Medico
Nido
Test di screening
Accettazione
Referto - comunicazione
Conferma diagnostica
Valutazione clinica
Diagnosi
Follow-up
Sorveglianza
Trattamento

Nel corso degli anni si è determinata una progressiva complessità dello screening neonatale.

Un secondo esempio:

l'evoluzione della Guthrie's Cards

Catalog No. 160-C Lot No. 090K6011

BLOOD COLLECTION CARD

Lab Specimen No. _____

Lab Specimen No. _____

Infant's Name _____

Infant's Sex _____

Infant's I.D. No. _____

Date of Birth/Time _____

Mother's Name _____

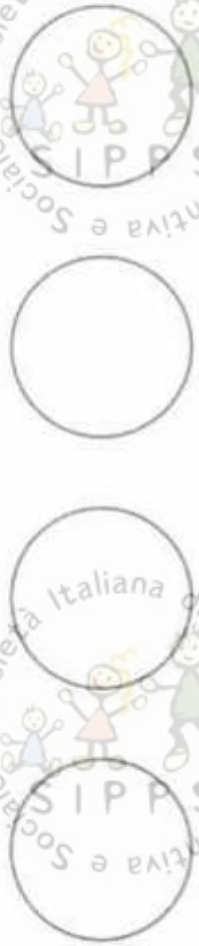
Hospital _____ Doctor _____

Date First Protein Feeding _____ Premature Yes ☐ No ☐

Specimen Date/Time _____ Antibiotics Yes ☐ No ☐

8F006

COMPLETELY FILL ALL CIRCLES WITH BLOOD.
MUST SOAK THRU TO OTHER SIDE.



Società Italiana di Pediatria Preventiva e Sociale SIPPS

Guthrie's Card: dispositivo medico essenziale per l'ottimizzazione dello screening

> 35 campi d'informazione clinica e demografica

Big Data e screening neonatale

Big Data and Machine Learning in Health Care

- **Regione Lombardia - Anno 2016:**
  - ***105.612 campioni DBS***
  - ***35 campi info clinico demografiche per campione (Guthrie's card)***
  - ***45 parametri analitici standard misurati in TR-FIA e LC-MSMS****

Nell'anno 2016 sono stati prodotti 8.448.960* dati che "fotografano" le caratteristiche di ogni campione e di ogni neonato accettato: "potenza" informativa enorme per il SSN

(studi epidemiologici, analisi settoriali)

*** Non sono considerati i dati relativi a 2TT e test di conferma diagnostica**

L'attualità dello screening neonatale

- **I nuovi "targets"**
  - → Malattie Rare (MR)
  - → Errori Congeniti del Metabolismo

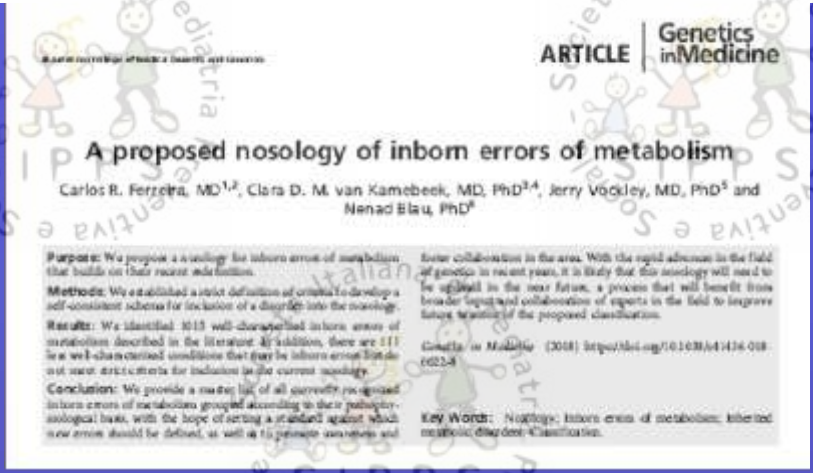
Rare Diseases (RD) and Inborn Errors of Metabolism (IEM)

- WHO & EU Community: **RD** as major future health challenge
- Among RD, **IEM** are **especially important** because of:
  - **high morbidity and mortality**
  - **high recurrence risk in affected families**
  - **emerging therapeutic options**
- Conclusion: need to identify asymptomatic newborns by **newborn screening**

From:G.F.Hoffman, Martin Lindner, J.Gerard Loeber "50 years of newborn screening"
J. Inherit Metab Dis (2014) 37: 163-164

Inborn errors of metabolism (IEM)

- IEM are a complex, heterogeneous group of rare genetic disease
- Most of them have severe neonatal onset and are a primary cause of death in newborn and infants
- **A rapid diagnosis of IEM in newborn could make the difference between life and death and reduce length of stay in NICU**
- Early signs and symptoms of IEM are similar to the features of other, more common neonatal illnesses



ARTICLE | Genetics in Medicine

A proposed nosology of inborn errors of metabolism

Carlos R. Ferreira, MD[1,2], Clara D. M. van Karnebeek, MD, PhD[3,4], Jerry Vockley, MD, PhD[5] and Nenad Blau, PhD[6]

Purpose: We propose a nosology for inborn errors of metabolism that builds on their recent redefinition.

Methods: We established a strict definition of criteria to develop a self-consistent schema for inclusion of a disorder into the nosology.

Results: We identified 1015 well-characterized inborn errors of metabolism described in the literature. In addition, there are 111 less well-characterized conditions that may be inborn errors but do not meet strict criteria for inclusion in the current nosology.

Conclusion: We provide a master list of all currently recognized inborn errors of metabolism grouped according to their pathophysiological basis, with the hope of setting a standard against which new errors should be defined, as well as to promote awareness and better collaboration in the area. With the rapid advances in the field of genetics in recent years, it is likely that this nosology will need to be updated in the near future, a process that will benefit from broader input and collaboration of experts in the field to improve future iterations of the proposed classification.

Genetics in Medicine (2018) https://doi.org/10.1038/s41436-018-0602-8

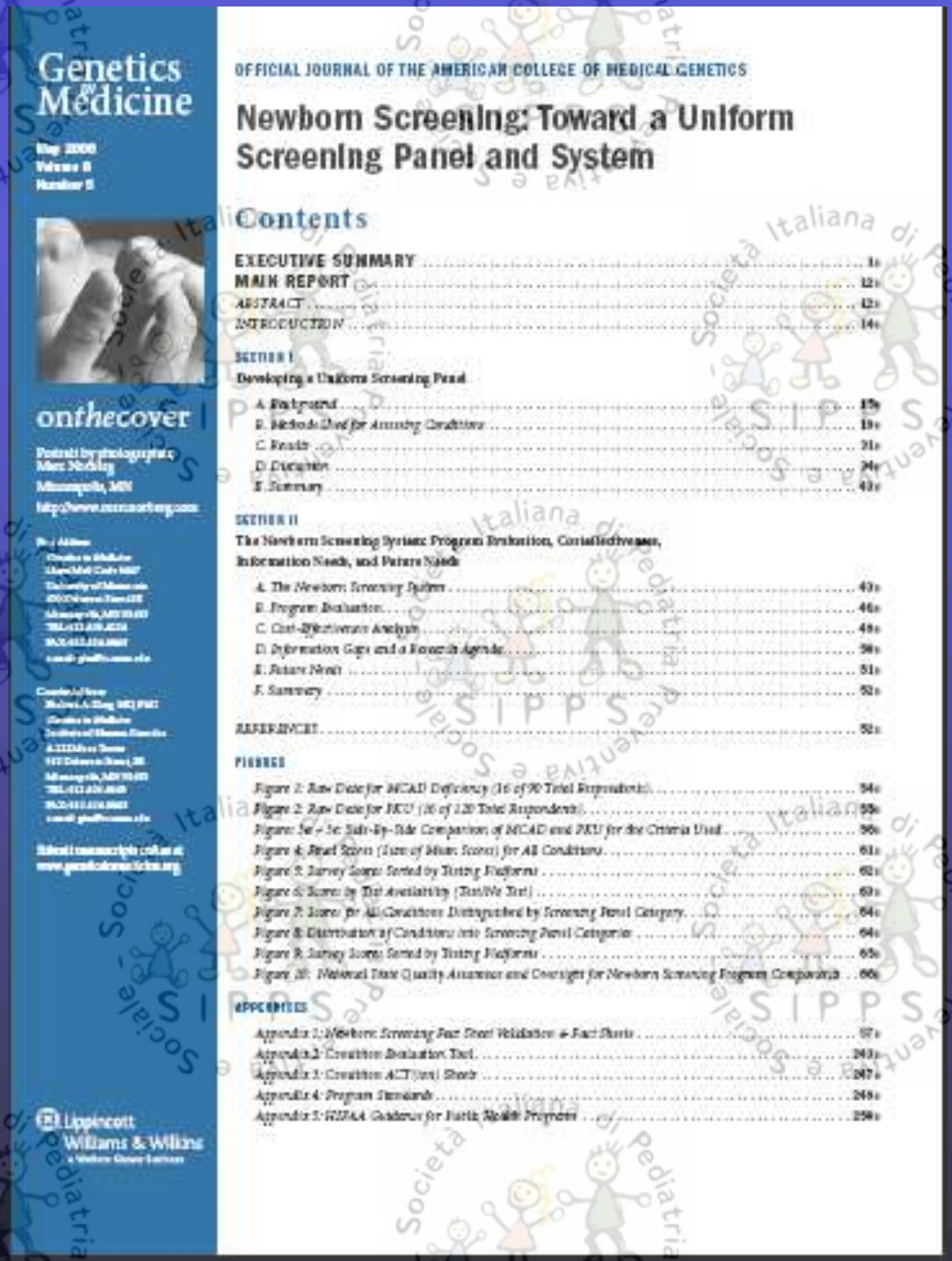
Key Words: Nosology; inborn errors of metabolism; inherited metabolic disorder; classification.

- Nuova (anno 2018) definizione di IEM
- Identifica:
  - **129** gruppi classificativi di IEM
  - **1.015 IEM** come patologie ben definite e caratterizzate da un pdv biochimico, molecolare e clinico
  - **111 IEM** come altre patologie non ancora ben caratterizzate, oggetto di segnalazione “episodica” in letteratura

HRSA
Health Resources & Services Admin.

ACMG
American College Medical Genetics

AAP
American Academy of Pediatrics



Genetics in Medicine

May 2006
Volume 8
Number 5

onthecover

Lippincott Williams & Wilkins

OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF MEDICAL GENETICS

Newborn Screening: Toward a Uniform Screening Panel and System

Contents

EXECUTIVE SUMMARY 1s
MAIN REPORT 12s
ABSTRACT 12s
INTRODUCTION 14s

SECTION I
Developing a Uniform Screening Panel
A. Background 15s
B. Methods Used for Assessing Conditions 19s
C. Results 31s
D. Discussion 34s
E. Summary 43s

SECTION II
The Newborn Screening System: Program Evaluation, Cost-Effectiveness, Information Needs, and Future Needs
A. The Newborn Screening System 43s
B. Program Evaluation 46s
C. Cost-Effectiveness Analysis 48s
D. Information Gaps and a Research Agenda 50s
E. Future Needs 51s
F. Summary 52s

REFERENCES 52s

FIGURES
Figure 1: Raw Data for MCAD Deficiency (16 of 90 Total Respondents) 54s
Figure 2: Raw Data for PKU (16 of 120 Total Respondents) 55s
Figure 3a–3c: Side-By-Side Comparison of MCAD and PKU for the Criteria Used 56s
Figure 4: Final Scores (Sum of Mean Scores) for All Conditions 61s
Figure 5: Survey Scores Sorted by Testing Platforms 62s
Figure 6: Scores by Test Availability (Test/No Test) 63s
Figure 7: Scores for All Conditions Distinguished by Screening Panel Category 64s
Figure 8: Distribution of Conditions into Screening Panel Categories 64s
Figure 9: Survey Scores Sorted by Testing Platforms 65s
Figure 10: National State Quality Assurance and Oversight for Newborn Screening Program Components 66s

APPENDICES
Appendix 1: Newborn Screening Fact Sheet Validation + Fact Sheets 97s
Appendix 2: Condition Evaluation Tool 243s
Appendix 3: Condition ACT(ion) Sheets 247s
Appendix 4: Program Standards 248s
Appendix 5: HIPAA Guidance for Public Health Programs 258s

MENTAL RETARDATION AND DEVELOPMENTAL DISABILITIES RESEARCH REVIEWS 12: 230–235 (2006)

WILEY InterScience

Current Status of Newborn Screening:

Table 2. ACMG Criteria for the Evaluation of Conditions Considered for Newborn Screening

I. Condition
- a. Incidence
- b. Phenotype not apparent at birth
- c. Burden if untreated

II. Screening Test
- a. Availability
- b. Amenable to dried blood spot sample testing or physical method
- c. High throughput
- d. Cost
- e. Multiple analytes detected by test
- f. Secondary targets identified by test
- g. Test done on a multiplex testing platform

III. Diagnosis and Treatment
- a. Availability of diagnostic confirmation
- b. Availability and cost of treatment
- c. Efficacy of treatment
- d. Benefits of early intervention for infant
- e. Benefits of early intervention for the family
- f. Prevention of mortality
- g. Availability of acute management
- h. Simplicity of therapy

"Newborn Screening: Toward a Uniform Screening Panel and System"

USA Health Resources and Services Administration (HRSA) - Maternal and Child Bureau (MCHB) American College of Medical Genetics (ACMG), 2004

Acylcarnitines		Amino acids		
9 OA	5 FAO	6 AA	3 Hb Pathies	6 Others
CORE PANEL				
IVA	MCAD	PKU	Hb SS*	CH
GAI	VLCAD	MSUD	Hb S/βTh*	BIOT
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
Cbl A,B*				
PROP				
BKT				

29 patologie

SECONDARY TARGETS				
6 OA	8 FAO	8 AA	1 Hb Pathies	2 Others
Cbl C,D*	SCAD	HYPER-PHE	Var Hb*	GALK*
MAL	GA2	TYR II		GALE
3MGA	CACT	BIOPT (REG)		
	CPT IA	MET		
	DE RED	CIT II		

25 condizioni patologiche

Programmi di Screening Neonatale: "Criteri

"Expanded Newborn Screening Program"

- Il ***razionale*** della ***nuova azione te*** di screening è espresso dal concet

PIU' MARKERS SIMULTANEI → MOLTE MALATTIE

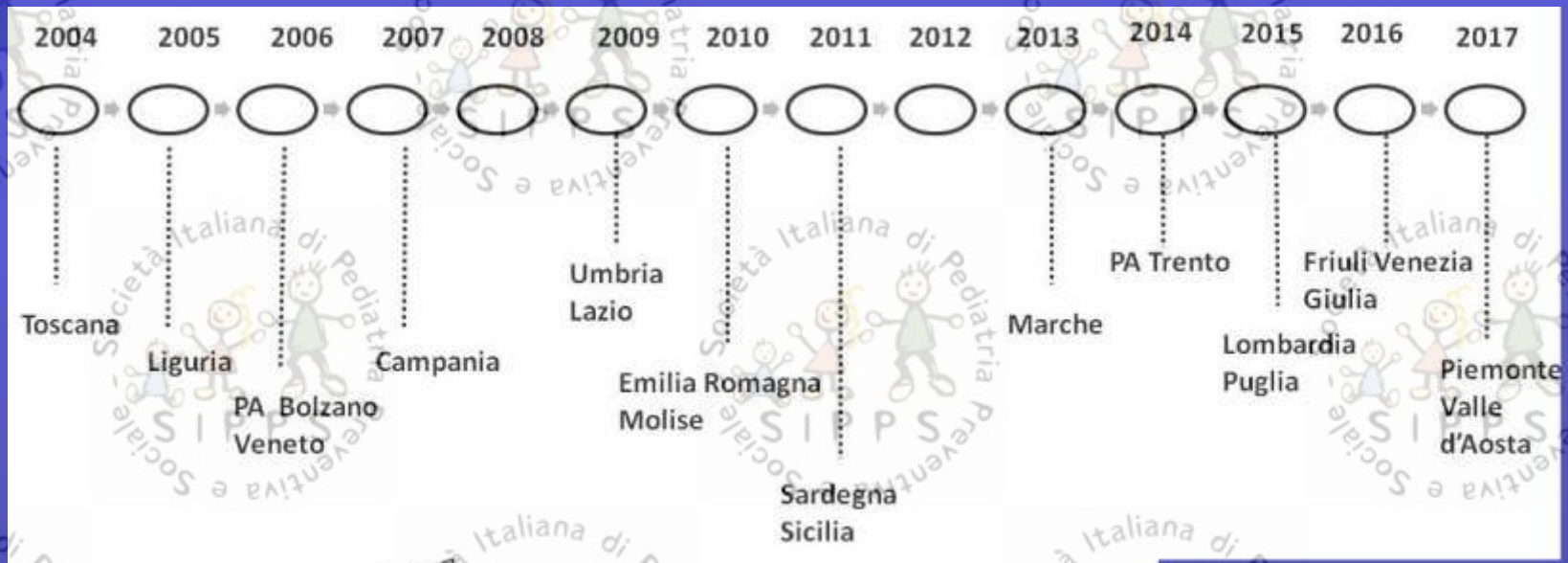


Figura 4. Distribuzione dei Laboratori Screening Regionale dotati di MS-MS (giugno 2017)

Regione Lombardia:
le tappe di un percorso di sistema verso lo SNE attraverso l'uso della spettrometria di massa tandem

- Anno 2008
  - Introduzione MSMS
    - 2TT per Programma H
- Anno 2011
  - Conversione a tecnologia
  - Attivazione Programma T
  - Attivazione di programma
- Anno 2015
  - Attivazione Progetto pilota
    - in collaborazione con Cli S.Paolo-Milano e S.Gerar
- Anno 2016 – 2°semestre
  - Attivazione Regionale Progetto SNE in tutti i neonati
- Anno 2017-2018
  - Continuazione Progetto SNE 2016
  - Adeguamento alle nuove norme nazionali

2TT Second tier test:

- Test eseguito nel medesimo camp.ne DBS usato nello screening basale
- Usa differenti targets (parametri) analitici (anche molecolari)
- Utilizza una metodologia differente
- Migliora la specificità (riduce i FP)
- Migliora la sensibilità (riduce i FN e consente una migliore definizione del rischio di IEM o altra patologia in fase di screening)

Elenco Gruppi e Patologie Tab. 1-2-3 DM Salute 13.10.2016

FAO (11)
Deficit di Carnitina-Acilcarnitina Traslocasi
Deficit di Carnitina palmitoil-trasferasi
Deficit di Carnitina palmitoil-trasferasi
Deficit del Trasporto della Carnitina
Acidemia Glutarica tipo II
Deficit di 3-Idrossi-Acil-CoA Deidrogenasi a catena lunga
Deficit di 3-Idrossi-Acil-CoA Deidrogenasi a catena media/corta
Deficit di Acil-CoA deidrogenai a catena media
Deficit della Proteina Trifunzionale mitocondriale
Deficit di Acil-CoA deidrogenai a catena molto lunga
Deficit di Acil-CoA Deidrogenasi a catena corta

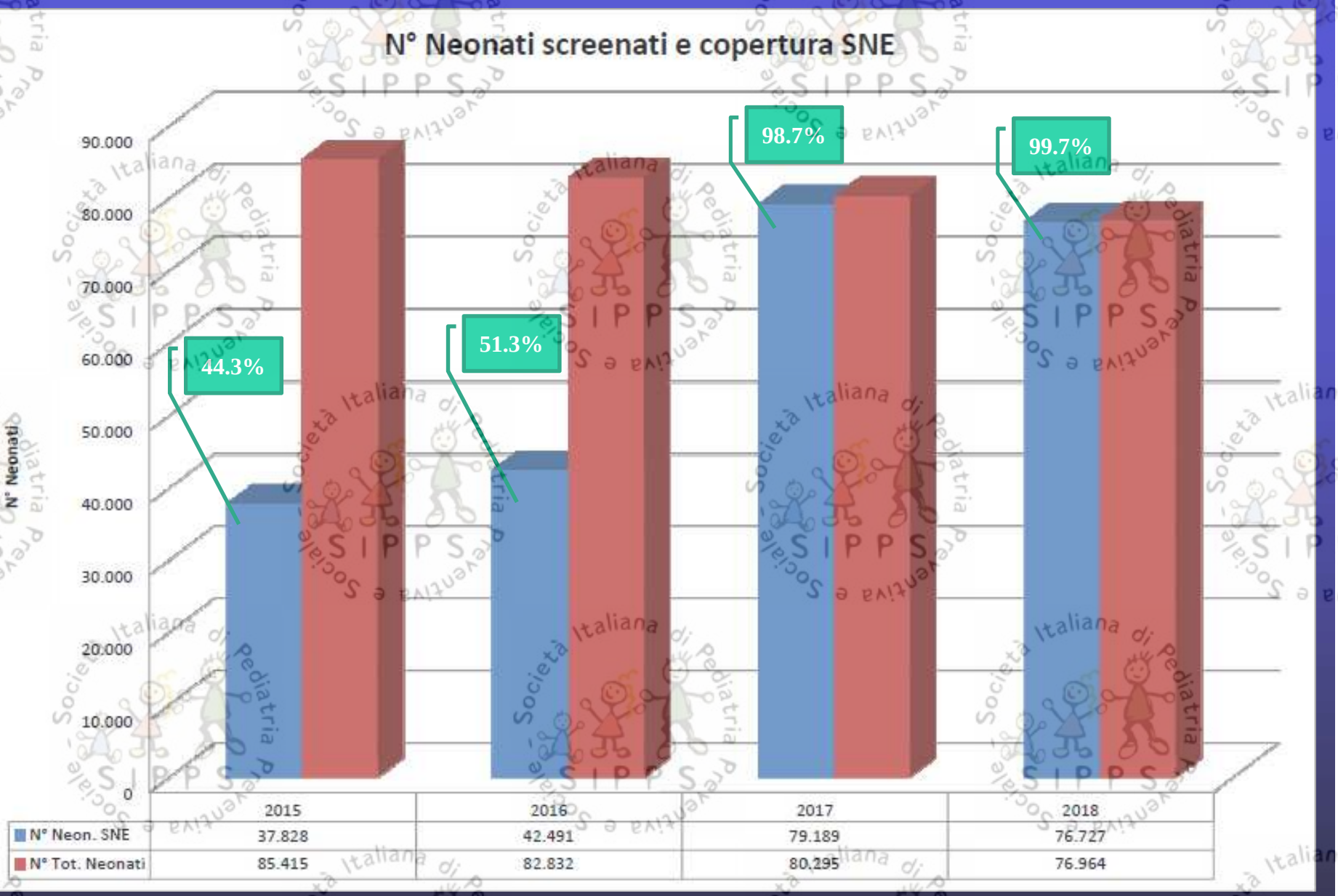
AMINOACIDOPATIE (13)
Deficit biosintesi del cofattore biopterina
Omocistinuria (Difetto di CBS)
Iperfenilalaninemia benigna
Malattia delle Urine a sciroppo d'acero
Omocistinuria (Difetto severo di MTHFR)
Fenilchetonuria
Tirosinemia tipo I
Tirosinemia tipo II
Difetto di Biotinidasi
Deficit di Glicina N-Metiltransferasi
Deficit di Metionina Adenosiltransferasi
Deficit di S-Adenosil Omocisteina Idrolasi
Tirosinemia tipo III

ACIDEMIE ORGANICHE (17)
Deficit di 2-metilbutirril-CoA deidrogenasi
Deficit di beta-chetiotiolasi
Acidemia Metilmalonica (Cbl-A)
Acidemia Metilmalonica (Cbl-B)
Acidemia Metimalonica con Omocistinuria (deficit Cbl C)
Acidemia Metilmalonica con Omocistinuria (deficit Cbl D)
Acidemia glutarica tipo I
Acidemia 3-idrossi 3-metilglutarica
Acidemia Isovalerica
Aciduria Malonica
Deficit Multiplo di Carbossilasi
Acidemia Metilmalonica (Mut)
Acidemia propionica
Deficit di 2-Metil 3-idrossibutirril-CoA Deidrogenasi
Deficit di 3-Metil Crotonil-CoA Carbossilasi
Acidurie 3-Metilglutaconiche
Deficit di Isobutirril-CoA Deidrogenasi

SNE
Totale MME: 48

DIFETTI CICLO dell'UREA (4)
Argininemia
Acidemia Argininosuccinica
Citrullinemia tipo I
Citrullinemia tipo II (Deficit di Citrina)

DIFETTI METAB. CARBOIDRATI (1→ 3)
GALATTOSEMIA
Da deficit Gal-1-PUT
(Da deficit di Galatto Kinasi)
(Da deficit di Galatto Epimerasi)



	2015	2016	2017	2018
N° Neon. SNE	37.828	42.491	79.189	76.727
N° Tot. Neonati	85.415	82.832	80.295	76.964

Programma regionale lombardo di screening neonatale

Ipotiroidismo Congenito (IC)

Iperplasia Surrenalica Congenita (ISC)

Fibrosi Cistica (FC)

Screening Neonatale Esteso per ECM

(PKU, altre AA,OA,FAO,CUD_p,)

Galattosemia (Gal)

Def. Biotinidasi (BTD)

L'attualità dello screening neonatale

- **Le nuove "tecnologie"**
  - → MSMS (UHPLC-MSMS)
  - → NGS

NBS by MS/MS

(Multiplex Testing)

- **Many conditions** — $(IEM)_n$
- **One test** — **MS/MS**
- **Many markers** — $(AA,AC)_n$
- **Many cut-offs** — **0.1-1,000 µM**

D.Matern, Mayo Clinic, Rochester,MN,USA

ASST FBF Sacco
PO V. Buzzi - Milano

Elenco Patologie
incluse nello screening neonatale obbligatorio

DENOMINAZIONE ANALITA	SIGLE	PROGRAMMA
AMINOACIDI		
Alanina	ALA	
Arginina	ARG	
Citrullina	CIT	
Glicina	GLY	
Leucina/Isoleucina/Idrossiprolina*	LEU/ILE/ProOH	
Metionina	MET	
Ornitina	ORN	
Fenilalanina	PHE	
Prolina	PRO	
Tirosina	TYR	
Valina	VAL	
CARNITINE e ACILCARNITINE		
Carnitina libera	C0	
Acetilcarnitina	C2	
Propionilcarnitina	C3	
Malonilcarnitina/3-idrossibutirilcarnitina*	C3DC/C4OH	
Butirilcarnitina	C4	
Metilmalonil/3-idrossivalerilcarnitina*	C4DC/C5OH	
Isovalerilcarnitina	C5	
Tiglilcarnitina	C5:1	
Glutarilcarnitina/3-idrossi-esanoilcarnitina*	C6DC\C6OH	
Esanoilcarnitina	C6	
Metilglutarilcarnitina	C6DC	
Octanoilcarnitina	C8	
Ottenoilcarnitina	C8:1	
Decanoilcarnitina	C10	
Decenoilcarnitina	C10:1	
Decadienoilcarnitina	C10:2	
Dodecanoilcarnitina	C12	
Dodecenoilcarnitina	C12:1	
Tetradecanoilcarnitina (Miristoilcarnitina)	C14	
Tetradecenoilcarnitina	C14:1	
Tetradecadienoilcarnitina	C14:2	
3-Idrossi-tetradecanoilcarnitina	C14OH	
Esadecanoilcarnitina (Palmitoilcarnitina)	C16	
Esadecenoilcarnitina	C16:1	
3-Idrossi-esadecanoilcarnitina	C16OH	
3-Idrossi-esadecenoilcarnitina	C16:1OH	
Ottadecanoilcarnitina (Stearoilcarnitina)	C18	
Ottadecenoilcarnitina (Oleilcarnitina)	C18:1	
Ottadecadienoilcarnitina (Linoleilcarnitina)	C18:2	
3-Idrossi-Octadecanoilcarnitina	C18OH	
3-Idrossi-Octadecenoilcarnitina	C18:1OH	
CHETONI		
Succinilacetone	SA	

SNE (Screening neonatale esteso per MME)

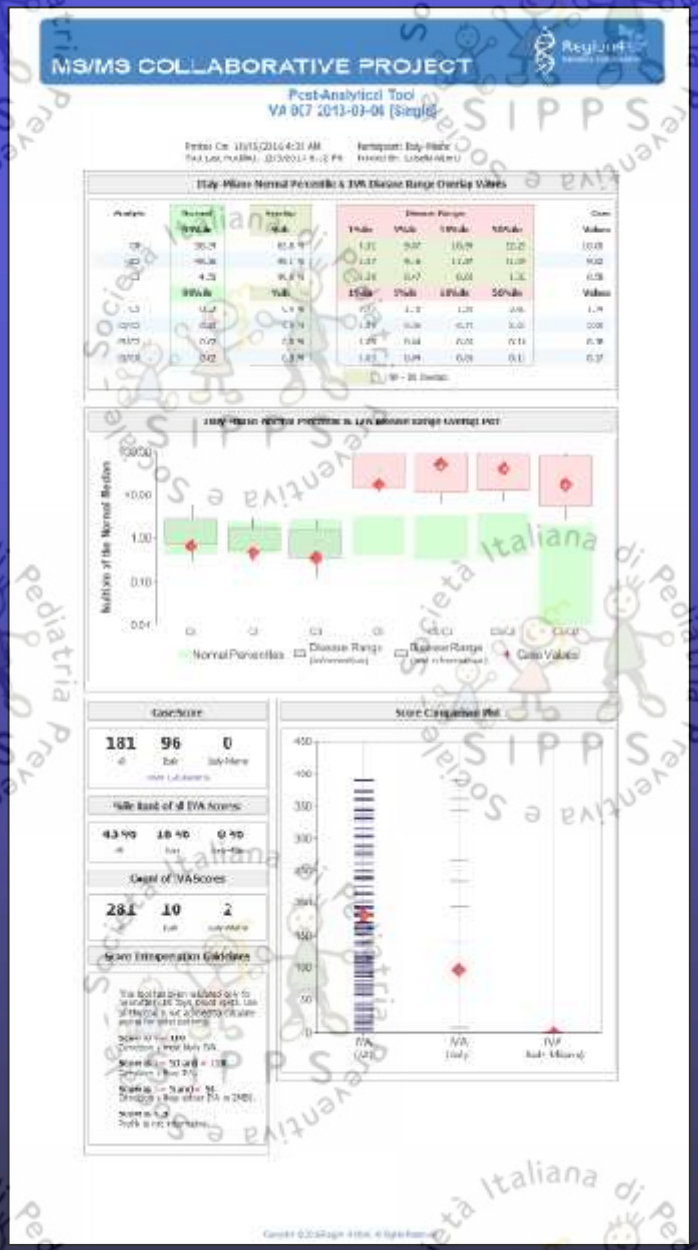
*Nota: gli analiti riportati sono isomeri o isobari e non possono essere singolarmente distinti nell'analisi in MSMS

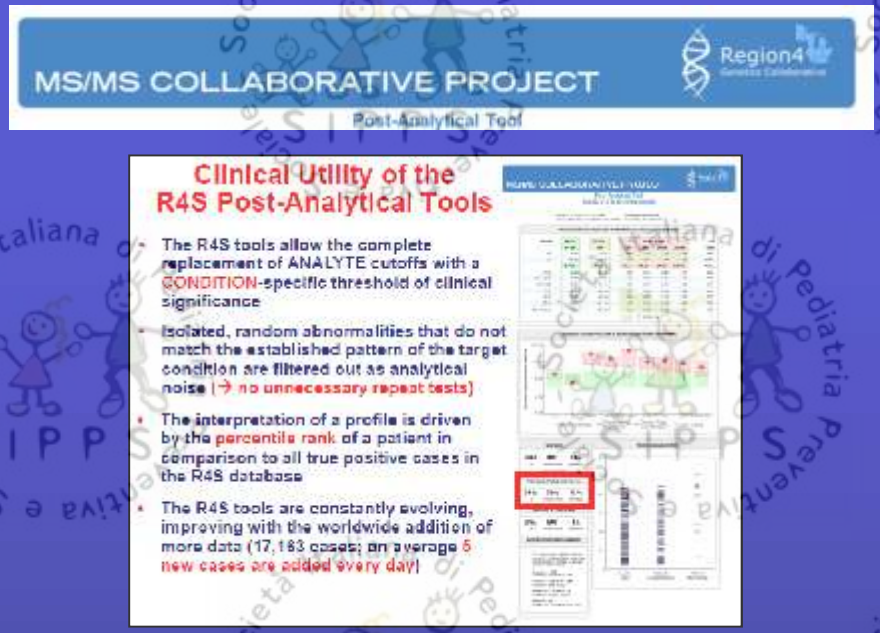
> 90 rapporti

11 AA

31 AC

1 K





- **Superato il concetto di IR e valore di cut-off per singolo analita o biomarcatore in favore di sistema multiparametrico di analisi multivariata**
- **Definizione di "score" di rischio per singolo neonato (L,I,H)**
- **Valutazione comparativa complessiva rispetto a > 300 laboratori mondiali**

Newborn Screening and 2-tier testing (2TT)

CH
(b-TSH)

CAH
(b-17OHP)

CF
(b-IRT)

IEM
(b-AA+AC)

FLUOROIMMUNOASSAY (TR-FIA)

MSMS

2TT

b-Steroid profile
(UPHLC-MSMS)

DNA NBS
panel (NGS)

b-MMA+PA,b-aILE,
b-HCY,.. (UHPLC-MSMS)

s-TSH, s-fT4
(Hypophysis &
Thyroid ass.)

s-Steroid
profile
s-ACTH
stim.test

Sweat Test,
etc

p/u-AA
p/u-AC
u-OA
u-OROT,
etc

Genetic
Counselling:

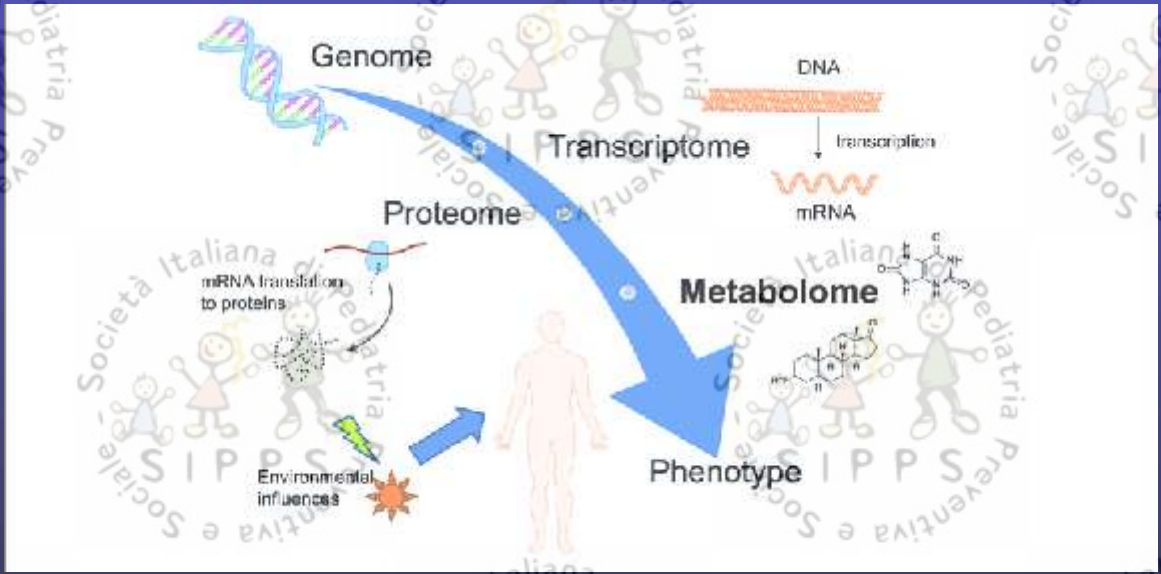
DNA
Genotyping

DNA
Genotyping

DNA
Genotyping

Il futuro dello screening neonatale: le scienze "-omiche"

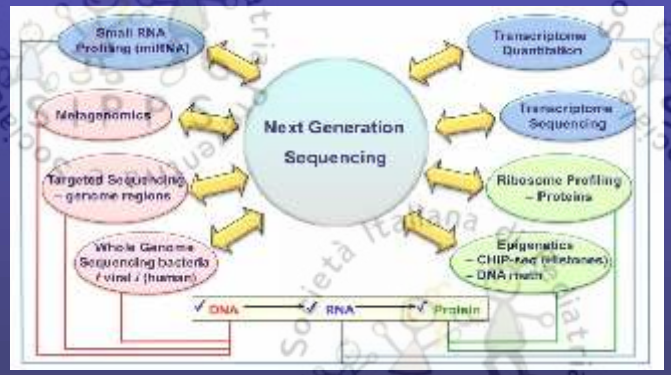
- Genoma
- Transcriptoma
- Proteoma
- Metabolomica



NEXT GENERATION SEQUENCING

Le tecniche di NGS permettono di sequenziare:

- **DNA genomico**:
  - **Intero genoma** (la sequenza completa - piccoli genomi)
  - **Esoma** (solo la parte di DNA trascritto in RNA, esoni)
  - **Geni mirati**
  - **Ampliconi** (solo prodotti PCR)
- **Trascrittoma**:
  - **RNA totale**
  - **mRNA**
  - **small RNA (<30 nt)**
- **Epigenoma**:
  - **ChIP-Seq (*Chromatin immunoprecipitation sequencing*: DNA o RNA a cui sono legati specifiche proteine)**
  - **Metil-Seq (studio del pattern di metilazione del DNA, epigenetica)**



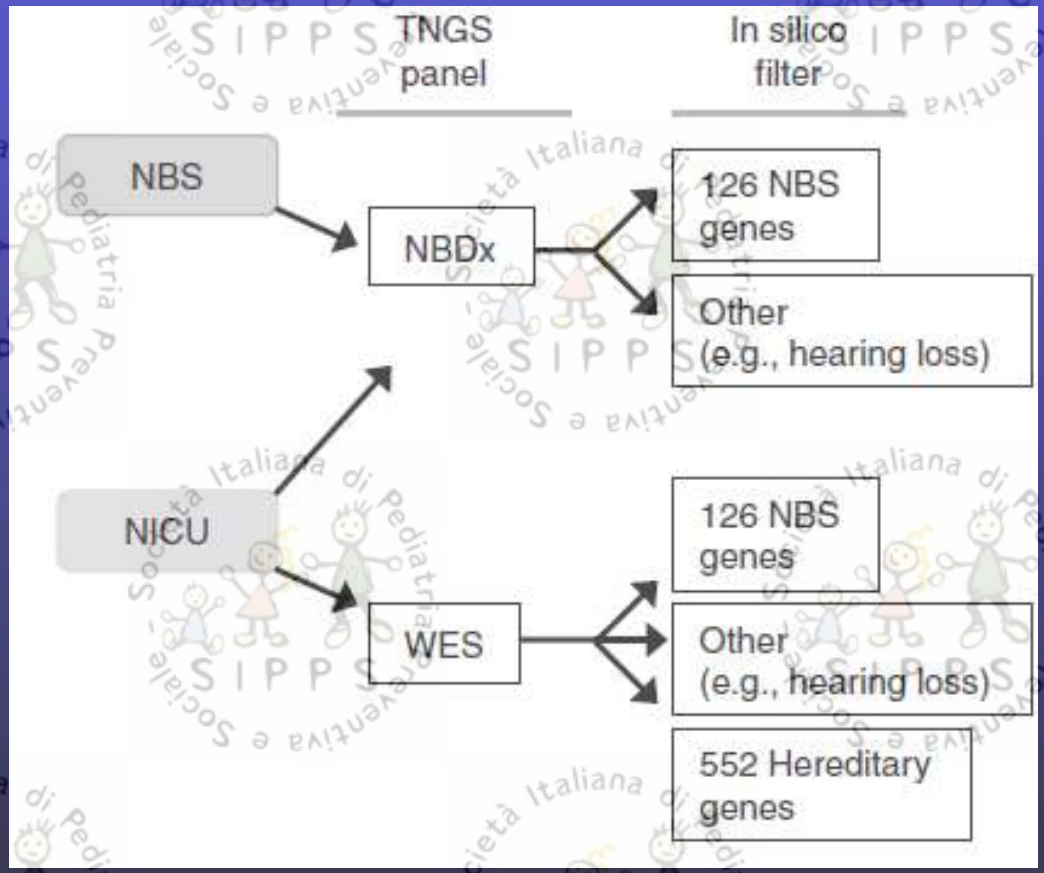
ORIGINAL RESEARCH ARTICLE

Genetics inMedicine

Open

Development of DNA Confirmatory and High-Risk Diagnostic Testing for Newborns Using Targeted Next-Generation DNA Sequencing

Arindam Bhattacharjee, PhD[1], Tanya Sokolsky, PhD[1], Stacia K. Wyman, Ph.D[1], Martin G. Reese, PhD[2], Erik Puffenberger, PhD[1], Kevin Strauss MD[1], Holmes Morton, MD[1], Richard B. Parad, MD, MPH[3] and Edwin W. Naylor PhD, MPH[1,*]



NGS–based second tier testing has the advantage of improving performance of the primary biochemical NBS by reducing FP (parental anxiety), identying de novo variants, distinguish genotypes associated with milder phenotypes.

NGS second-tier DNA testing also lays the foundation for future primary DNA-based programs.

Recently, second-tier testing using NGS has been proposed for SCID after primary screening of TREC from DBS.

Official Journal of the American College of Medical Genetics and Genomics

ORIGINAL RESEARCH ARTICLE | Genetics in Medicine

Open

Utility of whole-genome sequencing for detection of newborn screening disorders in a population cohort of 1,696 neonates

Dale L. Bodian, PhD[1], Elisabeth Klein, DNP, RNC[1], Ramaswamy K. Iyer, PhD[1,2], Wendy S.W. Wong, PhD[1], Prachi Kothiyal, PhD[1], Daniel Stauffer, PhD[1], Kathi C. Huddleston, PhD, RN[1], Amber D. Gaither, MD[3], Irina Remsburg, MD[3], Alina Khromykh, MD[1], Robin L. Baker, MD[4], George L. Maxwell, MD[5-7], Joseph G. Vockley, PhD[1,2], John E. Niederhuber, MD[1,8] and Benjamin D. Solomon, MD[1,3,9]

Purpose: To assess the potential of whole-genome sequencing (WGS) to replicate and augment results from conventional blood-based newborn screening (NBS).

Methods: Research generated WGS data from an ancestrally diverse cohort of 1,696 infants and both parents of each infant were analyzed for variants in 163 genes involved in disorders included or under discussion for inclusion in US NBS programs. WGS results were compared with results from state NBS and related follow-up testing.

Results: NBS genes are generally well covered by WGS. There is a median of one (range: 0–6) database-annotated pathogenic variant in the NBS genes per infant. Results of WGS and NBS in detecting 28 state-screened disorders and four hemoglobin traits were concordant for 88.6% of true positives ($n = 35$) and 98.9% of true negatives ($n = 45,757$). Of the five infants affected with a state-screened disorder, WGS identified two whereas NBS detected four. WGS yielded fewer false positives than NBS (0.037 vs. 0.17%) but more results of uncertain significance (0.90 vs. 0.013%).

Conclusion: WGS may help rule in and rule out NBS disorders, pinpoint molecular diagnoses, and detect conditions not amenable to current NBS assays.

Genet Med advance online publication 3 September 2015

Key Words: genome; inborn errors of metabolism; newborn screening; next generation sequencing; whole genome sequencing

The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine, 2012; 25(S(1)): 104–109
© 2012 Informa UK, Ltd.
ISSN 1476-7058 print/ISSN 1476-4954 online
DOI: 10.3109/14767058.2012.663198

informa
healthcare

REVIEW ARTICLE

Clinical application of metabolomics in neonatology

Vassilios Fanos[1], Roberto Antonucci[2], Luigi Barberini[3], Antonio Noto[1] & Luigi Atzori[4]

[1]Neonatal Intensive Care Unit, Puericulture Institute and Neonatal Section, University of Cagliari, Italy, [2]Division of Neonatology and Pediatrics, "Nostra Signora di Bonaria" Hospital, San Gavino Monreale, Italy, [3]Department of Neurological Sciences, University of Cagliari, Italy, and [4]Department of Toxicology, University of Cagliari, Italy

Metabolic diseases. There is an increased interest in literature in this field. In fact, metabolic disease is an obvious choice for the application of metabolomics because many of the underlying causes of these diseases are thought to result from dysregulation in small molecule metabolism. Some authors applied untargeted mass spectrometry-based metabolomics to methylmalonic academia (MMA) and propionic acidemia (PA). Plasma propionyl carnitine was easily identified as the best biomarker of disease. Moreover, two acylcarnitine metabolites and numerous unidentified species differentiate MMA and PA [32].

Anno 2016:
La nuova normativa nazionale italiana
di
regolamentazione
dello screening neonatale

Le nuove normative nazionali vigenti in ambito di screening neonatale

- **Legge 19 agosto 2016, n° 167**
  - Disposizioni in materia di accertamenti diagnostici neonatali obbligatori per la prevenzione e la cura delle malattie metaboliche ereditarie.
- **Ministero della Salute Decreto 13 ottobre 2016**
  - Disposizioni per l'avvio dello screening neonatale per la diagnosi precoce di malattie metaboliche ereditarie. (G.U. Serie Generale , n. 267 del 15 novembre 2016)
- **DPCM Livelli Essenziali di Assistenza (LEA) 2016**
  - Pubblicato in GU 19 marzo 2017

LEGGE 19 agosto 2016, n. 167

Punti rilevanti dell'articolato:

1. L'art.1 (Finalità) e l'art.2 (Ambito di applicazione) stabiliscono l'**obbligatorietà**(1) dello screening neonatale per **malattie metaboliche ereditarie** per le quali vi siano **evidenze scientifiche di efficacia terapeutica** o per le quali una **diagnosi precoce** in età neonatale comporti un **vantaggio** per l'accesso a **terapie in avanzato stato di sperimentazione.**

(1) Concetto di obbligatorietà: obbligatorietà di esecuzione o obbligatorietà di offerta ?

Ministero della Salute Decreto 13.10.2016

(pubblicato in GU 15.11.2016; entrato in vigore dal gg. successivo; obbligo di applicazione regionale entro 90 gg. dalla pubblicazione)

Disposizioni per l'avvio dello screening neonatale per la diagnosi precoce di malattie metaboliche ereditarie

Articolato:

1. Malattie metaboliche ereditarie da sottoporre a SNE
2. Informativa e consenso allo SNE
3. Raccolta, invio e conservazione dello spot
4. **Sistema di screening neonatale**
   a) **Laboratorio di Screening Neonatale**
   b) **Laboratorio di Conferma Diagnostica**
   c) **Centro Clinico**
   d) **Coordinamento Regionale del Sistema Screening**
5. Comunicazione, richiamo, conferma diagnostica e presa in carico
6. Formazione, informazione ed empowerment
7. **Copertura economica e criteri di riparto**
8. Entrata in vigore
9. Allegati: tabelle di patologie

LEGGE 30 dicembre 2018, n. 145
Bilancio di previsione dello Stato per l'anno finanziario 2019 e bilancio pluriennale per il triennio 2019-2021. (18G00172) (GU Serie Generale n.302 del 31-12-2018 - Suppl. Ordinario n. 62)
Comma 544

Modifiche alla legge 19 agosto 2016, n. 167 "Disposizioni in materia di accertamenti diagnostici neonatali obbligatori per la prevenzione e la cura delle malattie ereditarie"

Alla legge 19 agosto 2016, n. 167, sono apportate le seguenti modificazioni:

a) all'articolo 1, comma 1, dopo le parole: «malattie metaboliche ereditarie,» sono inserite le seguenti: «delle **malattie neuromuscolari genetiche**, delle **immunodeficienze congenite severe** e delle **malattie da accumulo lisosomiale**, »;

omissis

USA – RUSP
(Recommended Uniform Screening Panel)

CORE TARGET 2018
Integrazioni rispetto al Panel 2006

- Severe Combined Immunodeficiency Diseases (SCID)
- T cell related lymphocite deficiencies
- LSD: Pompe disease – Glycogen Storage Disease type II
- LSD: Mucopolysaccharidosis type I (MPS I)
- X-linked Adrenoleukodystrophy (X-ALD)

- SMA – Spinal Muscular Atrophy (Febbraio 2018)

- CCHD - Critical Congenital Heart Disease

TOTALE PATOLOGIE o GRUPPI
(IEM,ENDOCRINOPATIE,HbPATIE,SORDITA',etc):

59

Nuovi scenari di screening neonatale

1. **Malattie d'accumulo lisosomiale (LSD)**
   - pannello 1 → M. di Pompe (Glycogen Storage Disease type II), M. di Fabry (α-Galactosidase Deficiency), M. di Gaucher (Glucocerebrosidase deficiency), Mucopolisaccaridosi-MPS tipo I (Hurler Syndrome), M. di Niemann-Pick A/B (Acid Sphingomyelinase Deficiency)
   - pannello 2 →, M. di Krabbe, Mucolipidosi II-III, MPS tipo II - tipo IIIA - tipo VI, Deficit multiplo di Sulfatasi
2. **Immunodeficienze Primarie (PID)**
   - **SCID** – Severe Combined Immunodeficiency Disease
     - Disordini del metabolismo delle Purine, delle Pirimidine e dei Nucleotidi: Immunodeficienza Severa Combinata da deficit di Adenosina Deaminasi (ADA-SCID), Difetto di Purina Nucleoside Fosforilasi (PNP)
3. **Adrenoleucodistrofia-X linked (X-ALD) –** [Zellweger Spectrum]
4. **Atrofia Muscolare Spinale (SMA)**
5. **Distrofinopatie**
   - Distrofia muscolare di Duchenne,
6. Altri Disordini Neurodegenerativi (Xantomatosi cerebro tendinee)
7. Emoglobinopatie

Editorial

February 2018

Nusinersen for Spinal Muscular Atrophy

Are We Paying Too Much for Too Little?

Vinay Prasad, MD, MPH

Author Affiliations

JAMA Pediatr. 2018;172(2):123-125. doi:10.1001/jamapediatrics.2017.4360

JAMA Pediatr. 2018;172(2):123-125. doi:10.1001/jamapediatrics.2017.4360

Nusinersen, one of several recently approved drugs intended for use in a rare disease, boasts an eye-popping price tag. Biogen Pharmaceuticals announced that nusinersen will cost $750 000 for the first year of treatment and $375 000 each year thereafter (prescribed indefinitely) for patients with spinal muscular atrophy (SMA).[1] Other recently approved costly therapies for rare diseases include ivacaftor, costing $311 000 per year, for responsive patients with cystic fibrosis[2]; combination lumacaftor-ivacaftor, costing $272 000 per year, for patients with cystic fibrosis[2]; eteplirsen, costing $300 000 per year, for a 25-kg child with Duchenne muscular dystrophy[3]; and asfotase alfa, costing $285 000 per year, for patients with infantile and juvenile-onset hypophosphatasia.[4] Many more such drugs are poised to enter the market, particularly in fields such as cancer medicine.[5]

COLD SPRING HARBOR
Molecular Case Studies
© 2017

COMMENTARY

New tools and approaches to newborn screening: ready to open Pandora's box?

Can Ficicioglu

Children's Hospital of Philadelphia (CHOP), Perelman School of Medicine at the University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania 19104, USA

Abstract The landscape of newborn screening (NBS) is changing as new tools are developed. We must acknowledge that NBS is a very important and extraordinarily positive initiative especially for rare and serious inherited disorders; however, lessons learned from current NBS should guide the future of NBS as we enter the era of "omics" that will expand NBS for many other genetic disorders. In this article, I will first discuss new tools such as genomics and metabolomics for NBS. I will then turn to assessing how best to take advantage of new technical developments while considering the best interests of patients and the success of newborn screening.

Nuovi scenari di screening e criticità: libere considerazioni finali (NdR-1)

1. **La selezione delle patologie**
   1. Patologie "consolidate" nel pannello federale USA, teoricamente rispondenti ai criteri ACMG-AAP 2006
   2. Patologie "non (ancora) approvate" nel pannello federale USA ma per le quali esistono segnalazioni (non evidenze) significative in letteratura
   3. Patologie che in Europa (UK in particolare) non superano i criteri di selezione secondo HTA
   4. Pannelli che inevitabilmente determinano l'emersione di forme cliniche "late-onset" o condizioni di incerto significato clinico (varianti, pseudodeficienze)

Nuovi scenari di screening e criticità: libere considerazioni finali (NdR-2)

2. Modalità di inserimento di nuove patologie in un pannello obbligatorio di screening:

1. Criteri USA – ACHDNC: tecnologici e clinici ad alta specializzazione
2. Criteri UK – NHS : principalmente basati su criteri di HTA e EBM
3. Europa: ?
4. Italia: funzione demandata a livello nazionale al CNC-SNE in collaborazione con Agenas e Società Scientifiche (L.167/2016; DM 13.10.2016) con necessità di inserimento in LEA
   - Funzione superata autonomamente dal Legislatore
   - Ruolo autonomo delle singole Regioni?

Nuovi scenari di screening e criticità: libere considerazioni finali (NdR-3)

3. Introduzione di nuove terapie anche sperimentali

1. Costituiscono uno dei “driver” principali per l’attivazione di nuovi programmi di screening
2. Determinano la pressione lobbistica di Big-Pharma
3. Mobilitano sul piano sociale le Associazioni dei Malati
4. Non sempre proposte con adeguata attenzione all’impatto economico a medio-lungo termine

Nuovi scenari di screening e criticità: libere considerazioni finali (NdR-4)

4. **Disponibilità di nuovi test laboratoristici applicabili in fase screening e conferma diagnostica**
   1. Altro “driver” determinante
   2. Generalmente sono test ad alta/altissima complessità tecnologica, che potranno in futuro beneficiare di sistemi AI
   3. Frequentemente sono test di tipo genetico-molecolare (non solo come 2TT)
   4. Potranno prevedere in un futuro non lontano approcci iniziali di tipo metabolomico o genomico
   5. Efficienza ed economicità (relativa) garantite solo da strutture ad elevata automazione, expertise, produzione

Nuovi scenari di screening e criticità: libere considerazioni finali (NdR-5)

5. **Presa in carico presso CCR:**
   - Alta specializzazione (per singola patologia o gruppo di patologie)
   - Continuità di servizio
   - Necessitano di risorse adeguate e devono avere un modello organizzativo fortemente strutturato
   - Devono essere in grado di lavorare in ambito di reti nazionali e europee (ERN)

Nuovi scenari di screening e criticità: libere considerazioni finali (NdR-5)

Review

For reprint orders, please contact: reprints@futuremedicine.com

Personalized Medicine

Benefits and burdens of newborn screening: public understanding and decision-making

10.2217/PME.14.46 © Stuart Gordon Nicholls

Per. Med. (2014) 11(6), 593–607

Programma di Screening Neonatale
Che cosa ci ha insegnato l'esperienza acquisita ?

L'efficienza e l'efficacia dei Programmi è garantita da:

- **Lavoro di squadra** e **in rete** di tutte le componenti professionali coinvolte nel Programma (risorse adeguate)
- **Expertise** organizzativa e sanitaria elevata
  - non vi possono essere iniziative ed attività estemporanee
- Elevata **sicurezza di qualità** e **tracciabilità** di tutte le fasi del processo di screening e presa in carico del neonato a rischio
- Azioni di miglioramento (**empowerment**) e revisione (**audit**) continue, effettuate con strumenti non autoreferenziali (standards ed indicatori di processo)
- Regolamentazione di livello regionale attraverso il lavoro del **Centro di Coordinamento Regionale**
- **Decisioni** assunte secondo criteri non condizionati da fattori esterni impropri, in un contesto di "silenzio mediatico".

Grazie a tutte le persone coinvolte nel Sistema Screening Lombardo

Screening:

"…una goccia di sangue per una migliore qualità di vita…"

"…we must work to ensure that every child has an optimal chance for a healthy start in life…"

Surgeon General David Satcher, February 2001