

Presejalno testiranje novorojenčkov za vrojene bolezni v Sloveniji

Newborn screening program in Slovenia

Jernej Kovač, Barbka Repič Lampret,
Žiga Izток Remec, Teja Sever Šraj,
Urh Grošelj, Razširjena delovna
skupina za PTN

Izvleček

Presejalno testiranje novorojenčkov (PTN) je ena svetovnih javnozdravstvenih zgodb o uspehu. Izvaja se v veliki večini razvitih držav sveta, razlikuje pa se le po obsegu in usmeritvah testiranja. Najbolj obsežni programi presejalnega testiranja na svetu obsegajo testiranje na več kot 50 različnih bolezni. PTN v Sloveniji je ključni del javnozdravstvenega sistema s pričetkom v letu 1979 s testiranjem na fenilketonurijo. V letu 1981 se je dodalo testiranje na kongenitalno hipotirozo. Program se je razvijal in širil z uvedbo novih tehnologij, kot so masna spektrometrija za bolezni presnove in imunoreaktivni ter genetski testi za bolezni, kot so cistična fibroza, kongenitalna adrenalna hiperplazija, spinalna mišična atrofija in primarne imunske pomanjkljivosti. Odvzem vzorca, posušen madež krvi na filter papirju, omogoča enostaven transport v laboratorij Pediatrične klinike v Ljubljani, kjer poteka analiza. Strokovno izvedeni odvzem, ki ga opravi osebje porodnišnic, zagotavlja ustrezno kakovost vzorcev in je pogoj za uspešno izvedbo testiranja. Vključenost v program je univerzalna za vse novorojenčke, z možnostjo zavrnitve s strani staršev. Do danes smo v Sloveniji uspešno odkrili in zdravili več 100 novorojenčkov, kar potrjuje njegov pomen. Z odkritjem novih zdravil in terapij bo obseg PTN naraščal. Uspešnost programa pa je neposredno odvisna od sinergije sodelujočih skupin – porodnišnic, pediatrične klinike in laboratorija.

Ključne besede: testiranje novorojenčkov, presnovne bolezni, živčno-mišične bolezni, imunske okvare, presejalno testiranje, vrojene bolezni.

Abstract

Newborn Screening (NBS) is one of the most significant and successful public health initiatives globally. Implemented in various capacities across most developed countries, NBS programs vary in scope and focus, with the most comprehensive screening for over 50 conditions. In Slovenia, NBS is a vital component of the public health system, initiated in 1979 with screenings for phenylketonuria. The program has evolved and expanded with the introduction of new technologies such as mass spectrometry for metabolic diseases and immunoreactive and genetic tests for conditions like cystic fibrosis, spinal muscular atrophy, and primary immune deficiencies. Dried blood spots on filter paper facilitate easy transportation to the University Children's Hospital Ljubljana for the analysis. Professional sample collection by maternity ward staff ensures sample quality, which is critical for successful laboratory testing. Participation in the program is universal for all newborns, with an option for parental refusal. Hundreds of Slovenian newborns have been successfully diagnosed and treated, underscoring the program's importance. With the advent of new medicines and therapies, the scope of NBS is set to expand. The program's success relies on the synergy between participating groups - maternity hospitals, the pediatric clinic, and the laboratory.

Keywords: newborn testing, metabolic disorders, neuro-muscular disorders, immune deficiencies, screening testing, inborn disorders

Bolezen	Prirojene presnovne motnje			Endokrini motnji	Težke prirojene okvare imunosti (POI)	Drugo
	organske acidemije	motnje v metabolizmu maščobnih kislin	motnje v metabolizmu aminokislin			
propionska acidemija	x					
metilmalonska acidemija	x					
izovalerična acidemija	x					
glutarična acidemija tip I	x					
pomanjkanje 3-metilkrotonil-CoA karboksilaze	x					
3-hidroksi-3-metilglutarična acidurija	x					
pomanjkanje holokarboksilaze sintaze	x					
pomanjkanje β-ketotiolaze	x					
glutarična acidemija tip II		x				
pomanjkanje zelo dolgoverižne acil-CoA dehidrogenaze		x				
pomanjkanje dolgoverižne 3OH-CoA dehidrogenaze		x				

Razvoj presejalnega testiranja novorojenčkov v Sloveniji

Razvoj presejanja novorojenčkov (PTN) je zaradi izjemnega napredka v medicinski znanosti in javnem zdravju doživel občutne spremembe. Sprva se je PTN osredinjalo na fenilketonurijo (PKU) in kongenitalno hipotirozo (CH), nato pa se je razširilo na širok spekter prirojenih bolezni, pri čemer je izkoristil ključne tehnološke in metodološke dosežke (1).

Dr. Robert Guthrie je v 60. letih 20. stol. razvil množični presejalni test za PKU, ki je pomenil začetek te poti. Ta prelomni dosežek je postavil temelje za sprejemanje programov PTN, katerih cilj je odkrivanje in zdravljenje bolezni, ki lahko pomembno vplivajo na dolgoročno zdravje. V začetku 90. let 20. stol. se je v PTN uvedla tandemska masna spektrometrija (MS/MS), ki je revolucionarno spremenila programe, saj je omogočila hkratno presejanje več bolezni iz enega samega posušenega madeža krvi (2).

Programi PTN se morajo soočiti z različnimi sistemskimi spremembami. Te vključujejo ponovno opredelitev ciljev in časovnih okvirov presejanja, zagotavljanje trajnostnega financiranja, izgradnjo infrastrukture za zagotavljanje kakovosti ter izboljšanje podatkovnih in informacijskih komunikacijskih zmogljivosti. Ta prizadevanja so ključnega pomena za ohranjanje učinkovitosti in dostopnosti programov PTN (1, 3).

Zgodovina PTN je zaznamovana z nenehnimi prizadevanji za uravnoteženje tehnološkega napredka z etičnimi, praktičnimi in finančnimi vidiki. Cilj je zagotoviti, da bodo imeli vsi novorojenčki dostop do presejalnih testov, ki jim lahko rešijo ali bistveno izboljšajo življenje. V prihodnje bo za področje PTN ključnega pomena ustrezno izkoristiti potencial genomske medicine in se hkrati spopasti z zapletenimi izzivi, ki jih prinašajo tako pomembne spremembe v praksi javnega zdravja (4, 5).

Slovenski program PTN se je pričel leta 1979 s testiranjem na PKU, leta 1981 pa je bilo uvedeno dodano testi-

ranje na CH. Program odlikava edinstveno prizadevanje države in regije za izboljšanje zdravstvenega varstva novorojenčkov v jugovzhodni Evropi (2, 6, 7). 35 let pozneje se je osnovni program nadgradil z MS/MS, presejanje pa razširilo na več prirojenih presnovnih motenj. Ta pomemben korak je vzpostavil stik s svetovnimi trendi zgodnjega odkrivanja in zdravljenja prirojenih bolezni. Pri nas se je MS/MS, v primerjavi z nekaterimi zahodnimi državami, počasneje uveljavila za sočasno presejanje več bolezni. Incidenčne stopnje presejanih stanj v Sloveniji, kot sta PKU in CH, pa omogočajo dragocen vpogled v populacijsko specifično razširjenost teh bolezni, kar osvetljuje pomembnost PTN in potrebo po prilagajanju programov PTN specifičnim zahtevam prebivalstva. Učinkovito razporejanje virov je ob tem ključnega pomena za čim večje javnozdravstvene učinke (2, 8).

Leta 2024 je bilo slovensko PTN drugič razširjeno z uvedbo disociacijsko ojačane lantanoidne fluorescenčne imunske analize (DELFI) in kvantitativne RT-P-

Bolezen	Prirojene presnovne motnje				Težke prirojene okvare imunosti (POI)	Drugo
	organske acidemije	motnje v metabolizmu maščobnih kislin	motnje v metabolizmu aminokislin	Endokrini motnji		
pomanjkanje srednjeveržne acil-CoA dehidrogenaze		x				
pomanjkanje karnitine palmitoiltransferaze I		x				
pomanjkanje karnitine palmitoiltransferaze II		x				
motnja vnosa/transporta karnitina		x				
fenilketonurija			x			
tirozinemija tip 1			x			
bolezen javorjevega sirupa			x			
kongenitalna hipotiroza				x		
kongenitalna adrenalna hiperplazija				x		
pomanjkanje γ c (common gamma chain SCID, deficienca CD132)					x	
pomanjkanje JAK3					x	
pomanjkanje IL7R α					x	
pomanjkanje CD45					x	
pomanjkanje CD3 δ					x	
pomanjkanje CD3 ϵ					x	
pomanjkanje CD3 ζ					x	
pomanjkanje Coronin-1A					x	
pomanjkanje LAT					x	
pomanjkanje RAG					x	
pomanjkanje DCLRE1C (Artemis)					x	
pomanjkanje DNA PKcs					x	
presnovne pomanjkanje Cernunnos/XLF					x	
pomanjkanje DNA ligaze IV					x	
pomanjkanje adenozin deaminaze (ADA)					x	
okvara AK2					x	
okvara aktiviranega RAC2					x	
okvara PAX1					x	
okvara SLP76					x	
X-vezana agamaglobulinemija					x	
spinalna mišična atrofija						x
cistična fibroza						x

TABELA 1. SEZNAM VSEH BOLEZNI, ZA KATERE SE V SLOVENIJI IZVAJA PROGRAM PRESEJALNEGA TESTIRANJA NOVOROJENČKOV. PRESEJANE BOLEZNI SPADAJO V SKUPINE PRESNOVNIH MOTENJ, ENDOKRINIH IN ŽIVČNO-MIŠIČNIH BOLEZNI TER TEŽKIH PRIROJENIH OKVAR IMUNOSTI.

TABLE 1. SLOVENIA CURRENTLY RUNS A NEWBORN SCREENING PROGRAMME FOR A CATEGORIZED LIST OF DISEASES, INCLUDING METABOLIC DISORDERS, ENDOCRINE AND NEUROMUSCULAR DISEASES, AND SEVERE INBORN IMMUNE DEFICIENCIES.

CR. Ta razširitev omogoča presejanje številnih dodatnih bolezni, vključno s cistično fibrozo (CF), spinalno mišično atrofijo (SMA), kongenitalno adrenalno hiperplazijo (KAH) in hudimi primarnimi imunskimi pomanjkljivostmi. Trenutno slovensko PTN zajema več kot 40 bolezni (Tabela 1).

Kljub sorazmerno pozni širitvi je slovensko PTN trenutno med tehnološko najnaprednejšimi tako v regionalnem kot tudi v globalnem merilu. Uporablja najsodobnejšo tehnologijo MS/MS, DELFIA in najnovejšo genomsko tehnologijo, vključno s sekvenciranjem naslednje generacije za potrditveno testiranje pozitivnih vzorcev (8, 9).

Tehnologija

Masna spektrometrija (MS) je zmogljiva analitična tehnika, ki se uporablja za merjenje razmerja med maso in nabojem ionov, kar omogoča identifikacijo in količinsko opredelitev posameznih spojin v vzorcu na podlagi njihove molekulske mase. V okviru PTN je MS, zlasti tandemsko masna spektrometrija (MS/MS), povzročila revolucijo na tem področju, saj je omogočila hkratno presejanje več presnovnih motenj iz enega samega posušenega krvnega vzorca. To je mogoče doseči z analizo majhnih molekul, kot so aminokisline in acilkarnitini, ki so biološki označevalci za številne prirojene presnovne motnje. Zaradi visoke občutljivosti, specifičnosti in zmogljivosti je MS/MS idealno orodje za PTN, saj omogoča zgodnje odkrivanje in ukrepanje pri boleznih, kot so PKU, bolezen javorjevega sirupa, motnje oksidacije maščobnih kislin in organske acidemije, s čimer se preprečijo hude motnje v razvoju obolenih novorojenčkov.

Tehnologija DELFIA se uporablja pri presejanju novorojenčkov, zlasti pri boleznih, kot sta KAH in CF. Ta metoda, ki temelji na fluorescenci lantanoidnih kelatov, zagotavlja visoko občutljivost in specifičnost. Čeprav ima nizko

pozitivno napovedno vrednost, zaradi česar je treba opraviti obsežno potrditveno diagnosticiranje, njena uporaba v programih PTN pomeni pomemben napredek pri zgodnjem odkrivanju prirojenih motenj (10).

Molekulske genetske tehnologije, vključno s sekvenciranjem naslednje generacije (NGS), so bistveno izboljšale programe presejanja novorojenčkov, saj omogočajo hitro in natančno prepoznavanje genetskih sprememb, povezanih s prirojenimi boleznimi. Zlasti NGS služi kot učinkovit potrditveni test ali drugostopenjska metoda pri presejanju novorojenčkov, saj omogoča podrobno analizo posameznikovega genetskega zapisa za potrditev primarnih rezultatov presejanja. Ta tehnologija lahko zagotovi dokončno postavitev diagnoze za stanja, ki jih je težko opredeliti s tradicionalnimi biokemičnimi metodami, kar omogoča pravočasno in ustrezno ukrepanje za oboleni novorojenčke.

Vloga porodnišnic

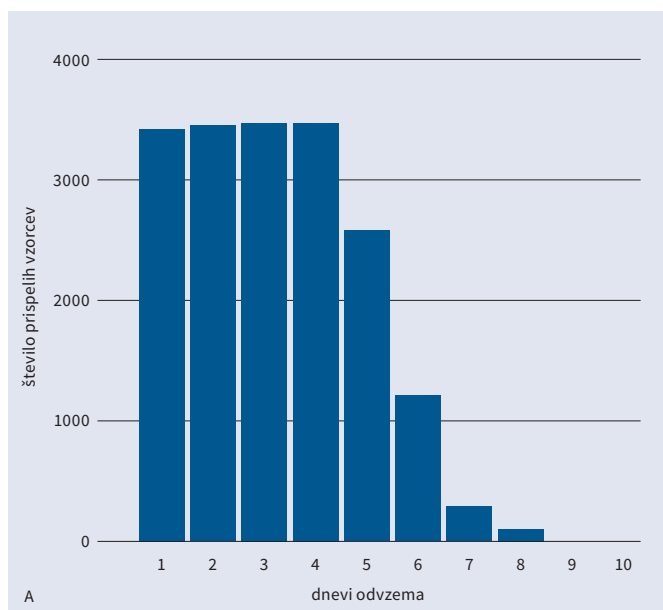
Porodnišnice v Sloveniji so prva kontaktna točka v procesu PTN in izvajajo v predanalitskem postopku ključno vlogo pri zagotavljanju, da novorojenčki opravijo presejalni test v priporočenem časovnem okviru. Standardni protokol predvideva, da se vzorci krvi za PTN novorojenčkom odvzamejo 48-72 ur po rojstvu oz. vsaj 24 ur po prvem hranjenju, da se zagotovi točnost rezultatov testa, predvsem kar zadeva presnovne motnje. Posebno pozornost je treba nameniti prezgodaj rojenim otrokom in tistim, ki se zdravijo na oddelkih za intenzivno terapijo, pri čemer so na voljo protokoli, ki zagotavljajo, da se presejalni testi pri njih izvajajo posebej skrbno.

Zdravstveni delavci v porodnišnicah so usposobljeni za pravilen odvzem vzorcev, ki zmanjšuje možnost kontaminiranja vzorca. Upoštevajo protokole za ustrezno identifikacijo in označevanje,

da ne bi prišlo do zamenjave vzorcev. Postopek vključuje uporabo standardiziranega filtrirnega papirja za odvzem kapilarne krvi, običajno iz pete ali vene na glavi, in zagotovitev, da je kartica z vzorcem ustrezno označena s črtno kodo, da se ohrani sledljivost v celotnem postopku presejanja. Ta temeljit pristop k odvzemu vzorcev in ravnanju z njimi je ključnega pomena za ohranjanje integritete programa PTN in za zagotavljanje zanesljivosti rezultatov presejanja.

Zdravstveno osebje v porodnišnicah predstavlja tudi prvi stik staršev s PTN. Informacije o PTN so na voljo bodočim staršem že v šolah za starše, kasneje pa dobijo več informacij ob samem obisku v porodnišnici. Bistvene informacije dobijo od babic in medicinskih sester, v kolikor pa potrebujejo podrobnejšo razlago, so jim na voljo oddelčni neonatologi. Informiranje staršev je pomemben del PTN, saj tako starši spoznajo številne koristi, ki jih presejanje nudi njihovim novorojenčkom. Prav tako tudi spoznajo, da stranskih ali celo škodljivih učinkov za novorojenčka pri odvzemu vzorca za PTN ni. Informiranost pomembno zmanjša možno zavrnitev presejalnega testiranja s strani staršev, kar je pomembno za dobrobit vseh novorojenčkov. Poleg tega je potrebno v redkih primerih, ko starši zavrnejo PTN, pristopiti do njih taktno in spoštljivo ter starše ponovno seznaniti z morebitnimi posledicami zavrnitve. Poleg tega je v takih primerih pomembno, da se ustrezno izpolni vsa potrebna dokumentacija, ki se pošlje v laboratorij PEK, kjer je ta odločitev staršev ustrezno dokumentirana in arhivirana.

Po odvzemu se vzorci pošljejo v analizo v specializirani laboratorij Pediatrične klinike UKC Ljubljana, kjer na Kliničnem inštitutu za specialno laboratorijsko diagnostiko, opremljenem s tandemsko masno spektrometrijo (MS/MS), aparati DELFIA in qPCR ter sekvenciranjem NGS skrbno izvajajo nadaljnje postopke. Te tehnologije omogočajo hkratno presejanje več bolezni iz enega samega



SLIKA 1. A) PRIKAZ RAZPOREDITVE ČASA OD ODVZEMA VZORCA DO SPREJETA TEGA VZORCA V LABORATORIJ PEDIATRIČNA KLINIKE. POVPREČNI ČAS OD ODVZEMA DO SPREJEMA JE 77 UR. B) PRIKAZ RAZPOREDITVE ČASA OD SPREJEMA VZORCA DO IZDAJE REZULTATOV PRESEJALNEGA TESTIRANJA. POVPREČEN ČAS JE 53 UR IN ZAJEMA TUDI ČAS VIKENDOV, KO STA DOSTAVA VZORCEV IN DELOVANJE LABORATORIJA OMEJENA.

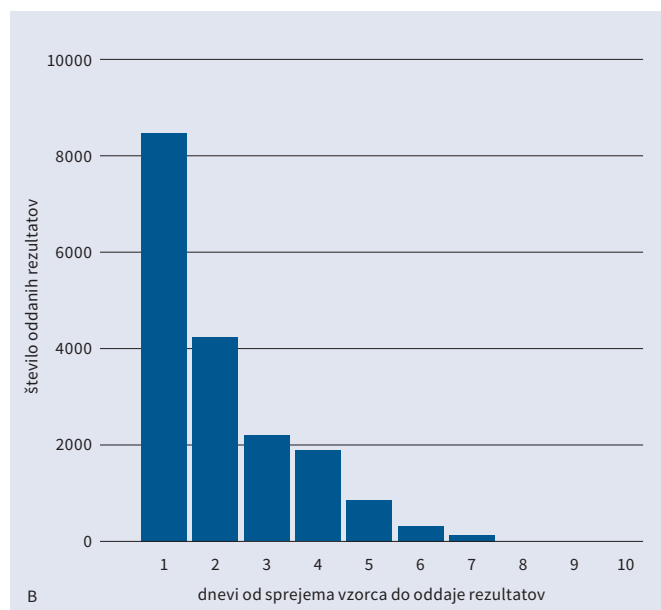


FIGURE 1. A) PLOT OF THE TIME DISTRIBUTION FROM THE COLLECTION OF THE DBS SAMPLE TO ITS ADMISSION TO THE UNIVERSITY CHILDREN'S HOSPITAL LABORATORY. THE AVERAGE TIME FROM COLLECTION TO ADMISSION IS 77 HOURS. B) TIME DISTRIBUTION FROM RECEIPT OF THE SAMPLE TO REPORTING THE SCREENING RESULTS. THE AVERAGE TIME IS 53 HOURS AND INCLUDES WEEKENDS WHEN SAMPLE DELIVERY AND LABORATORY OPERATIONS ARE LIMITED.

krvnega vzorca, kar omogoča obsežno testiranje novorojenčka na bolezni, vključene v presejalni panel.

Sistem za upravljanje podatkov PTN v Sloveniji je zasnovan tako, da zagotavlja učinkovit pretok informacij od porodnišnic do laboratorija in nazaj do izvajalcev zdravstvenih storitev. To vključuje elektronski prenos podatkov o vzorcih, uporabo laboratorijskih in bolnišničnih informacijskih sistemov za upravljanje in analizo podatkov ter poročanje o rezultatih. Pozitivni rezultati presejalnega testa sprožijo vrsto nadaljnjih ukrepov, vključno z izpeljavo potrditvenih testov, postavitvijo diagnoze, po potrebi tudi z začetkom zdravljenja.

Postopek presejanja novorojenčkov v Sloveniji

Protokol PTN v Sloveniji je strukturiran tako, da zagotavlja učinkovito in uspešno presejanje vsakega novorojenčka. Po rojstvu otroka pediater neonatolog ob prvem pregledu v porodnišnici star-

šem pojasni pomen presejalnega testiranja novorojenčkov.

Postopek samega presejanja se začne v porodnišnici z odvzemom vzorcev krvi, sledi skrbno označevanje, vpis v elektronski informacijski sistem in prevoz vzorcev do nacionalnega laboratorija za presejalno testiranje. Po sprejemu vzorcev se opravi natančna analiza z uporabo tehnologij MS/MS, RT-PCR, DELFIA in NGS, da se ugotovijo morebitna odstopanja, ki kažejo na prisotnost bolezni. Odvzem krvi na t. i. kartico, ki vsebuje krožce filter papirja, se opravi 48–72 ur po porodu ter hkrati vsaj 24 ur po pričetku hranjenja.

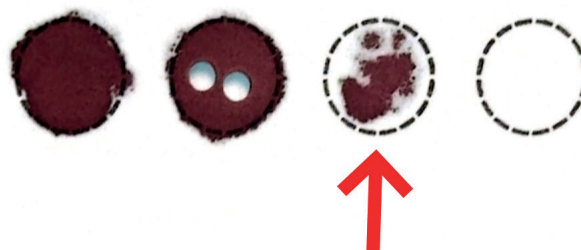
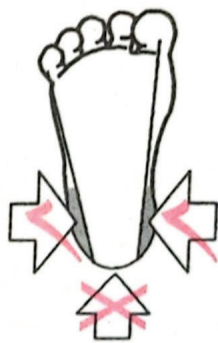
V primerih, ko začetni rezultati presejalnega testa kažejo na morebitno prisotnost bolezni, se izvede potrditveno testiranje, da se ugotovitve preverijo. To lahko vključuje dodatne biokemične teste ali genetsko analizo, odvisno od narave bolezni. Ko je diagnoza potrjena, zdravstvena ekipa začne izvajati ustrezen načrt zdravljenja, pri čemer tesno sodeluje z otrokovimi starši in strokovnjaki za učinkovito obvladova-

nje stanja. Med celotnim postopkom PTN je zelo pomembna komunikacija s starši. Obveščamo jih o presejalnem programu, boleznih, za katere se izvaja presejanje, ter o pomenu zgodnjega odkrivanja in zdravljenja. V primeru pozitivnega izvida presejalnega testa zdravstveni delavci ponudijo podrobne informacije o stanju, posledicah za otrokovo zdravje in razpoložljivih možnostih zdravljenja, s čimer zagotovijo, da so starši v celoti podprti in obveščeni na vseh stopnjah obravnave njihovega otroka. Vloga porodnišnic, skrbno upravljanje podatkov PTN ter celovit protokol za presejanje in nadaljnjo oskrbo poudarjajo pomen programa pri varovanju zdravja in dobrega počutja najmlajših in najranljivejših članov družbe. Ker se program še naprej razvija in vključuje najnaprednejše tehnologije zgodnjega prepoznavanja bolezenskih stanj ter širi nabor presejanih bolezni, se bo vpliv PTN na javno zdravje še povečeval, kar je odraz stalne predanosti vseh sodelujočih partnerjev v programu k izboljšanju neonatalne oskrbe v Sloveniji.

Navodilo za odvzem vzorca krvi pri novorojenčku

1. Z mehko krpico, omočeno v vodi z 41 °C, 5 min grejte peto.
2. Peto razkužite s sterilno alkoholno gazo.
3. Alkohol naj se osuši.
4. Obrišite s sterilno gazo.
5. S sterilno lanceto vbodite v peto (označena mesta).
6. S sterilno gazo odstranite kapljico krvi.
7. Na filter papir odvedite naslednjo kapljico krvi.
8. Z eno kapljico napolnite cel krog.
9. Napolnite vse kroge.
10. Sušite 3 ure na ravni podlagi.

Opozorilo: Krogi na filter papirju morajo biti v celoti prepojeni s krvjo. Dodatne kapljice na prepojene dele niso dovoljene.



SLIKA 2. PRIMER SLABO ODVZETEGA VZORCA MADEŽA KRVJI. UPORABNA STA SAMO 2 MADEŽA KRVJI, TRETJI PA JE NEPOPOLNO PREPOJEN IN NI PRIMEREN ZA UPORABO V PRESEJALNIH ANALIZAH. S POVEČEVANJEM ŠTEVILA TESTOV V OKVIRU PRESEJALNEGA TESTIRANJA NOVOROJENČKOV SE POTREBA PO ŠTEVILU VZORCEV POVEČUJE, ZATO JE ZA VSAK MADEŽ KRVJI POMEMBNO, DA JE USTREZEN.

FIGURE 2. AN EXAMPLE OF A POORLY COLLECTED BLOOD SPOT SAMPLE. ONLY TWO BLOOD SPOTS ARE USABLE, AND THE THIRD IS INCOMPLETELY SOAKED AND NOT SUITABLE FOR USE IN SCREENING TESTS. AS THE NUMBER OF TESTS IN NEWBORN SCREENING INCREASES, THE NEED FOR MORE SAMPLES INCREASES, SO EACH BLOOD SPOT NEEDS TO BE OF ADEQUATE QUALITY.

Praktični izzivi programa presejalnega testiranja novorojenčkov

Ker so rezultati vsake analize kakovostni le toliko, kolikor je kakovosten vhodni vzorec, je potrebno posvetiti posebno pozornost odvzemu le-tega (Slika 2). Za presejalno testiranje novorojenčkov je najprimernejši kapilarni odvzem iz stranskega dela pete ali venski odvzem iz vene na glavi (11). Pri kapilarnem odvzemu iz pete je pomembno uporabljati specializirane lancete za novorojenčkov z ravnim rezilom, ki ne predrejo kože v globino, saj je podkožje pri novorojenčkih debelo le malo več kot 3 mm. S takšnimi lancetami naredimo daljšo, a bolj plitvo zarezo v kožo, kar povzroči tudi večje kapljice, bolj primerne za vzorčenje na filtrirni papir. Venski odvzem lahko izvaja samo za to usposobljeni kader, vendar je glede na priporočila Svetovne zdravstvene organizacije (WHO) to priporočeni odvzem pri novorojenčkih. V nekaterih porodnišnicah si pri odvzemih pomagajo z brizgami, kapi-

larami in drugimi pripomočki, ki pa v nobenem primeru ne smejo vsebovati kakršnega koli preparata proti strjevanju krvi ali drugih primesi. Kapljice krvi, ki jih nabiramo ob odvzemu, morajo v celoti prepočiti okrogla polja filtrirnega papirja. Filtrirni papir je potrebno sušiti na zraku, na sobni temperaturi, na ravni podlagi in ne sme biti izpostavljen visokim temperaturam ali sončnim žarkom, v trajanju vsaj 3 ure. Kartica s filtrirnim papirjem se označi s črtno kodo, ki vsebuje podatke novorojenčka in njegove matere, kar zagotavlja ustrezno stopnjo sledljivosti v vseh fazah testiranja.

Pomembno je, da se vzorci pošiljajo v laboratorij sproti, saj se tako skrajša čas do izdaje izvida in s tem do morebiti potrebne klinične obravnave novorojenčka. To je lahko težava v porodnišnicah z manjšim številom porodov in v bolj oddaljenih krajih. Priporočene rešitve vključujejo transport s kurirji, ki lahko kartice dostavijo skupaj z drugimi vzorci, ali pa pošiljanje s Pošto Slovenije pod oznako »prednostno«, kar zagotavlja dostavo nas-

lednji delovni dan. Občasno so vzorci tudi neustrezno odvzeti, zato se v teh primerih zavrnejo, hkrati pa se zaprosi za ponovni odvzem. Običajni razlogi za zavrnitev zajemajo: pomanjkljivo označene kartice, poškodovana kartica (strgana, zmečkana ali drugače poškodovana), kontaminirani vzorci, premajhna količina krvi, prevelika količina krvi ali neposušeni vzorec krvi. Hitrost izvedbe PTN je pomembna, saj se lahko nekatere bolezni izrazijo že nekaj dni po rojstvu in hudo prizadenejo otroka. Poleg tega je v primeru prisotnosti bolezni potrebno čim prej začeti zdravljenje. Iz razpoložljivih podatkov je razvidno (Slika 1), da je večina vzorcev dostavljenih v laboratorij v 4 dneh od odvzema, več kot 1/3 vseh vzorcev pa prejmemo v laboratorij prej kot v 48 urah. Za večino teh vzorcev je rezultat na voljo naslednji delovni dan, pribl. 90 % vzorcev pa je obdelanih in oddanih znotraj intervala 96 ur od prejema. Trenutni časi so v veliki meri posledica dejstva, da med vikendi ni dostavljanja vzorcev v laboratorij in zato laboratorij v tem času ne deluje.

Po zaključku PTN se vzorci hranijo v varovanem arhivu do dopolnjenega 24. leta starosti preiskovancev. Strategije hranjenja vzorcev PTN po svetu so zelo različne, vendar večina držav vzorce hrani vsaj do polnoletnosti preiskovancev, nekatere pa celo doživiljsko. Sekundarna uporaba PTN vzorcev je strogo regulirana in se uporablja le za preverjanje oziroma izboljšave obstoječih in uvedenih novih metod PTN (Uradni list RS 18-445/2024, stran 1341).

Koristi presejalnega testiranja so številne in so bile že večkrat dokazane. Že pri prvi bolezni, s katero se je začelo presejalno testiranje novorojenčkov, PKU, se s preprosto dieto prepreči huda duševna manjrazvitost in se s tem omogoči otroku normalen razvoj in življenje. Pri CH s hormonsko nadomestno terapijo preprečimo intelektualni primanjkljaj in nizko rast. Pri presnovnih boleznih je klinično ukrepanje v večini primerov dietno zdravljenje, vendar se s tem preprečijo hude razvojne nepravilnosti in pogosto tudi smrt.

Z novimi možnostmi zdravljenja se širijo tudi možnost presejalnega testiranja. Vsako leto se tako odkrije več novorojenčkov s prirojenimi boleznimi, ki jim lahko z zgodnjim odkrivanjem omogočimo boljše življenje. Od začetka 60. let prejšnjega stoletja, ko se je začelo PTN, se je s tem programom izboljšal kakovost življenja pri več milijonih v svetu. Med letoma 1991 in 2012 se je v Sloveniji ugotovilo 57 primerov PKU in 184 CH (7). Prav tako je bilo od leta 2021 do 2023 179 novorojenčkov pozitivnih na metabolnem presejalnem testiranju, od katerih so pri 8 primerih potrdili presnovno bolezen. Prevladovalo je pomanjkanje srednjeveržne acil-CoA dehidrogenaze (MCADD, 5 primerov), potrjena pa sta bila še 2 primera pomanjkanja kratkoveržne acil-CoA dehidrogenaze (SCADD) in 1 primer pomanjkanja zelo dolgoveržne acil-CoA dehidrogenaze (VLCADD). Potrjen je bil tudi 1 primer spinalne mišične atrofije (SMA).

Sodelovanje med različnimi vejami in podsistemi javnega zdravstva v programu presejanja novorojenčkov

Zaradi vedno večje kompleksnosti sistema PTN je za uspešen razvoj tega potrebno zagotoviti sinergistično sodelovanje vseh udeležениh. Glavni v sistemu so Ministrstvo za zdravje RS, ZZSZ, Pediatrična klinika UKCL kot izvajalec, slovenske porodnišnice, NIJZ, programske hiše zdravstvenih informacijskih sistemov, specialistični oddelki za obravnavo odkritih bolnikov, starši otrok in predstavniki interesnih združenj ter številni drugi. Od leta 2018, ko smo izvedli prvo večjo širitev programa, razvijamo nove komunikacijske kanale, tako za zdravstveno dokumentacijo kot za organizacijsko usklajevanje. Nadgrajujemo informacijsko tehnologijo, ki zdaj omogočajo sledljivost od naročnika do izvajalca in nazaj k naročniku. Z drugo širitvijo smo zaradi novih specifik programa posodobili pravne podlage, ki urejajo PTN. Še naprej sodelujemo z ministrstvi, da bi zagotovili pravne okvire za nemoteno izvajanje in sprotno posodabljanje sistema. Poleg tega sodelujemo z Nacionalnim inštitutom za javno zdravje, kjer se PTN vključuje v preventivni program zdravstvenega varstva za otroke in mladostnike – ZDAJ. Vsak dan sodelujemo s porodnišnicami, s katerimi rešujemo operativne težave in skupaj skrbimo za optimalnost pri odvzemu vzorcev in nemoten prenos vzorcev in rezultatov testiranja. Pri nadaljnjih odločitvah se trudimo vključiti mnenja vseh interesnih skupin in tako zagotoviti čim širši konsenz za prihodnji razvoj programa, da bomo še naprej v samem svetovnem vrhu glede oskrbe novorojenčkov.

Prihodnost presejalnega testiranja novorojenčkov

Prihodnost PTN je na prelomnici, ko nanj pomembno vplivata hiter tehnološki napredek, vse boljše razumevanja

genetskih bolezni ter spreminjajočih se etičnih, pravnih in družbenih vidikov. V prihodnosti bodo ti večplastni premiki zaznamovali pot PTN, saj bodo prinesli več možnosti za zgodnje odkrivanje bolezni, hkrati pa tudi nove izzive in polemiko. Eden od pomembnih dejavnikov, ki vplivajo na prihodnost PTN, je tehnološki in metodološki napredek v presejanju. Transformacijski učinek novih tehnologij je nesporen in poudarja potencial za še večji napredek v prihodnosti z uvedbo NGS in digitalne mikrofuidike (12). Z uvedbo tehnik NGS v programe presejanja se obeta nadaljnja širitev seznama bolezni, ki jih bo mogoče testirati. To pa bo omogočilo celovitejši pristop k zgodnjemu prepoznavanju bolezni in njihovem zdravljenju (5, 13). Interpretiranje ugotovljenih genetskih razlik in tveganje za čezmerno diagnosticiranje pa kljub vsem prednostim tehnologije sproža velike etične, socialne in pravne izzive. Pomembno je, da so rezultati presejanja zanesljivi in klinično ukrepanje upravičeno in v skladu z jasnimi koristmi za bolnike. V obratnem primeru bi lahko PTN vodilo le v nepotrebno vznemirjane družin (14, 15).

Razširitev PTN in vključitev večjega števila bolezni je ključno področje razvoja. V ta namen tudi v Sloveniji že teče raziskovalni projekt genomskega presejanja novorojenčkov, ki ga financira ARIS (J3-50122). Raziskuje področja etičnih, pravnih, socioloških in tehnoloških rešitev, ki so potrebne za uvedbo genomskega presejanja v rutinski program PTN. Potrebno se je zavedati, da NGS ne more nadomestiti sedanjih presejalnih metod za nekatere bolezni, kot je CH, ki nimajo vedno jasne molekularno-genetske osnove, ki bi jo bilo mogoče prepoznati z genomskim testiranjem. Poleg tega je treba skrbno razmisliti o posledicah širitve PTN s pomočjo genomskega testiranja, kot so morebitne neenakosti v zdravstvenem varstvu ter psihološki in finančni učinki na družine in javnozdravstveni sistem. Odločitev o vključitvi novih bolezni v programe PTN je kompleksna, saj je treba

uravnovežiti koristi zgodnjega odkrivanja z možnostjo obvladovanja lažno pozitivnih rezultatov in z etičnimi posledicami presejanja na bolezn, ki so brez izrazito učinkovitega zdravljenja. Segment etike, ki zadeva PTN, se hitro razvija, vendar lahko trdimo, da sta informiranost staršev in varovanje pravic staršev in otrok v PTN najpomembnejše kategorije. Ker se PTN širi in vključuje stanja, ki jih je mogoče odkriti z genomskim presejanjem, je potrebno reševati problematiko zasebnosti, varnosti podatkov in možnosti genetske diskriminacije. Preglednost programov, njihova zakonska podlaga in vzpostavljeni procesi varovanja osebnih podatkov pa so nujni za spoštovanje avtonomije staršev, hkrati pa morajo omogočati čim večje koristi za novorojenčke (12, 16, 17).

Zaključek

Program PTN je eden najbolj uspešnih javnozdravstvenih programov, ki se osredinja na najmlajše in najbolj ranljive člane naše družbe. Uspešnost programa temelji na multidisciplinarnem sodelovanju vseh členov verige, od odvzema vzorca v porodnišnici, njegovega transporta v laboratorij, obdelave in analize posameznih vzorcev, pa do poročanja negativnih in pozitivnih rezultatov, ter nadaljnje klinične obravnave novorojenčkov, pri katerih je bil rezultat testiranja pozitiven. Prihodnost presejanja novorojenčkov bo temeljila na preobrazbi, ki jo poganjajo farmacevtske inovacije v obliki novih možnosti zdravljenja, tehnološki napredek, ki ima za posledico širjenje spektra bolezni, ki jih je mogoče presejati, in razvoj etičnih standardov.

Največji kapital PTN programa pa niso aparature in tehnologija, ampak požrtvovalni ljudje, ki skrbijo, da vsak od naštetih elementov programa poteka nemoteno. Zato bomo tudi v prihodnje skrbeli, da bodo vsi udeleženci ustrezno obveščeni in vključeni v delovanje PTN v Sloveniji.

Literatura

1. la Marca G, Carling RS, Moat SJ, Yahyaoui R, Ranieiri E, Bonham JR et al. Current state and innovations in newborn screening: continuing to do good and avoid harm. *Int J Neonatal Screen* 2023; 17: 9(1).
2. Repič Lampret B, Remec ŽI, Torkar Drole A, Tanšek Žerjav M, Šmon A, Koračin V et al. Expanded Newborn Screening Program in Slovenia using Tandem Mass Spectrometry and Confirmatory Next Generation Sequencing Genetic Testing. *Zdr Varst* 2020; 59(4): 256–63.
3. Andrews SM, Porter KA, Bailey DB, Peay HL. Preparing newborn screening for the future: a collaborative stakeholder engagement exploring challenges and opportunities to modernizing the newborn screening system. *BMC Pediatr* 2022; 22(1): 90.
4. Friedman JM, Cornel MC, Goldenberg AJ, Lister KJ, Sénécal K, Vears DF et al. Genomic newborn screening: public health policy considerations and recommendations. *BMC Med Genomics* 2017; 10(1): 9.
5. Bick D, Ahmed A, Deen D, Ferlini A, Garnier N, Kasperaviciute D et al. Newborn screening by genomic sequencing: opportunities and challenges. *Int J Neonatal Screen* 2022; 15: 8(3).
6. Groselj U, Tanšek Žerjav M, Šmon A, Angelkova N, Anton D, Baric I et al. Newborn screening in southeastern Europe. *Mol Genet Metab* 2014; 113(1–2): 42–5.
7. Šmon A, Groselj U, Žerjav Tanšek M, Biček A, Oblak A, Zupančič M et al. Newborn screening in Slovenia. *Zdr Varst* 2015; 54(2): 86–90.
8. Šmon A, Repič Lampret B, Groselj U, Žerjav Tanšek M, Kovac J, Perko D et al. Next generation sequencing as a follow-up test in an expanded newborn screening programme. *Clin Biochem* 2018; 52: 48–55.
9. Remec ŽI, Groselj U, Drole Torkar A, Žerjav Tanšek M, Čuk V, Perko D et al. Very Long-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency: High Incidence of Detected Patients With Expanded Newborn Screening Program. *Front Genet* 2021; 12: 648493.
10. White PC. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. *Nat Rev Endocrinol* 2009; 5(9): 490–8.
11. WHO Guidelines on Drawing Blood: Best Practices in Phlebotomy. Geneva: World Health Organization; 2010.
12. Chien Y-H, Hwu W-L. The modern face of newborn screening. *Pediatr Neonatol* 2023; 64(1): S22–9.
13. Wojcik MH, Gold NB. Implications of genomic newborn screening for infant mortality. *Int J Neonatal Screen* 2023; 28: 9(1).
14. Watson MS, Lloyd-Puryear MA, Howell RR. The progress and future of US newborn screening. *Int J Neonatal Screen* 2022; 18: 8(3).
15. Wasserstein MP, Orsini JJ, Goldenberg A, Caggana M, Levy PA, Breilyn M et al. The future of newborn screening for lysosomal disorders. *Neurosci Lett* 2021; 24: 760: 136080.
16. Blom M, Bredius RGM, van der Burg M. Future perspectives of newborn screening for inborn errors of immunity. *Int J Neonatal Screen* 2021; 7(4).
17. Bailey DB. A window of opportunity for newborn screening. *Mol Diagn Ther* 2022; 26(3): 253–61.

doc. dr. Jernej Kovač

Klinični inštitut za specialno laboratorijsko diagnostiko, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana, Slovenija in

Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

doc. dr. Barbka Repič Lampret, dr. med.

Klinični inštitut za specialno laboratorijsko diagnostiko, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana, Slovenija in Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

Žiga Iztok Remec

Klinični inštitut za specialno laboratorijsko diagnostiko, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

Teja Sever Šraj, dipl. m. s.

Klinični oddelek za endokrinologijo, diabetes in bolezni presnove, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

izr. prof. Urh Grošelj, dr. med.

Klinični oddelek za endokrinologijo, diabetes in bolezni presnove, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana, Slovenija in Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

Razširjena delovna skupina za presejalno testiranje novorojencev:

Tadej Avčin, Tadej Battelino, Sara Bukovnik, Sara Colja, Vanja Čuk, Maruša Debeljak, Ana Drole Torkar, Maja Ficko, Tanja Golli, Urh Grošelj, Tinka Hovnik, Primož Kotnik, Blaž Krhin, Tomaž Križnar, Jernej Kovač, Eva Kozjek, Uroš Krivec, Polona Lindič, Tanja Loboda, Gašper Markelj, Matej Mlinarič, Karolina Mužina, Gregor Nosan, Damjan Osredkar, Daša Perko, Tina Perme, Marko Pokorn, Žiga Iztok Remec, Barbka Repič Lampret, Jasna Rodman Berlot, Gaja Setnikar Kimovec, Karin Šket, Tine Tesovnik, Domen Trampuž, Polonca Truden, Blanka Ulaga, Mojca Žerjav Tanšek, Alenka Trampuž Bakija.

prispelo / received: 18. 4. 2024
sprejeto / accepted: 26. 4. 2024

Kovač J, Repič Lampret B, Remec Ž I, Sever Šraj T, Grošelj U. Presejalno testiranje novorojenčkov za vrojene bolezni v Sloveniji. *Slov Pediatr* 2024; 31(2): 77–84. <https://doi.org/10.38031/slovpediatr-2024-2-06>.