

Diagnóstico das Doenças Hereditárias do Metabolismo

- rastreio neonatal alargado -

XII Curso Básico de DHM

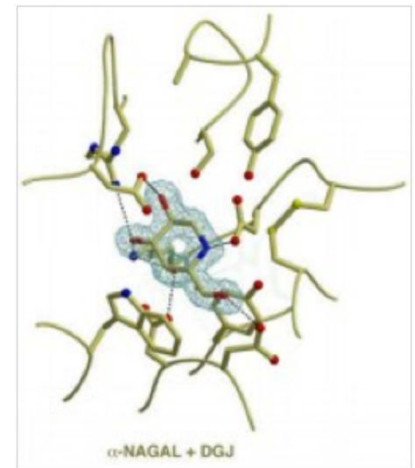
(29 setembro - 1 de outubro 2014)

Luísa Diogo

Unidade de Doenças Metabólicas

Centro de Desenvolvimento da Criança

H. Pediátrico-CHUC



Programa Nacional de Diagnóstico Precoce



Jacinto Magalhães e Rui Vaz Osório

≥1979 Fenilcetonúria (PKU)

≥1981 Hipotiroidismo congénito (HC)

Taxa de cobertura

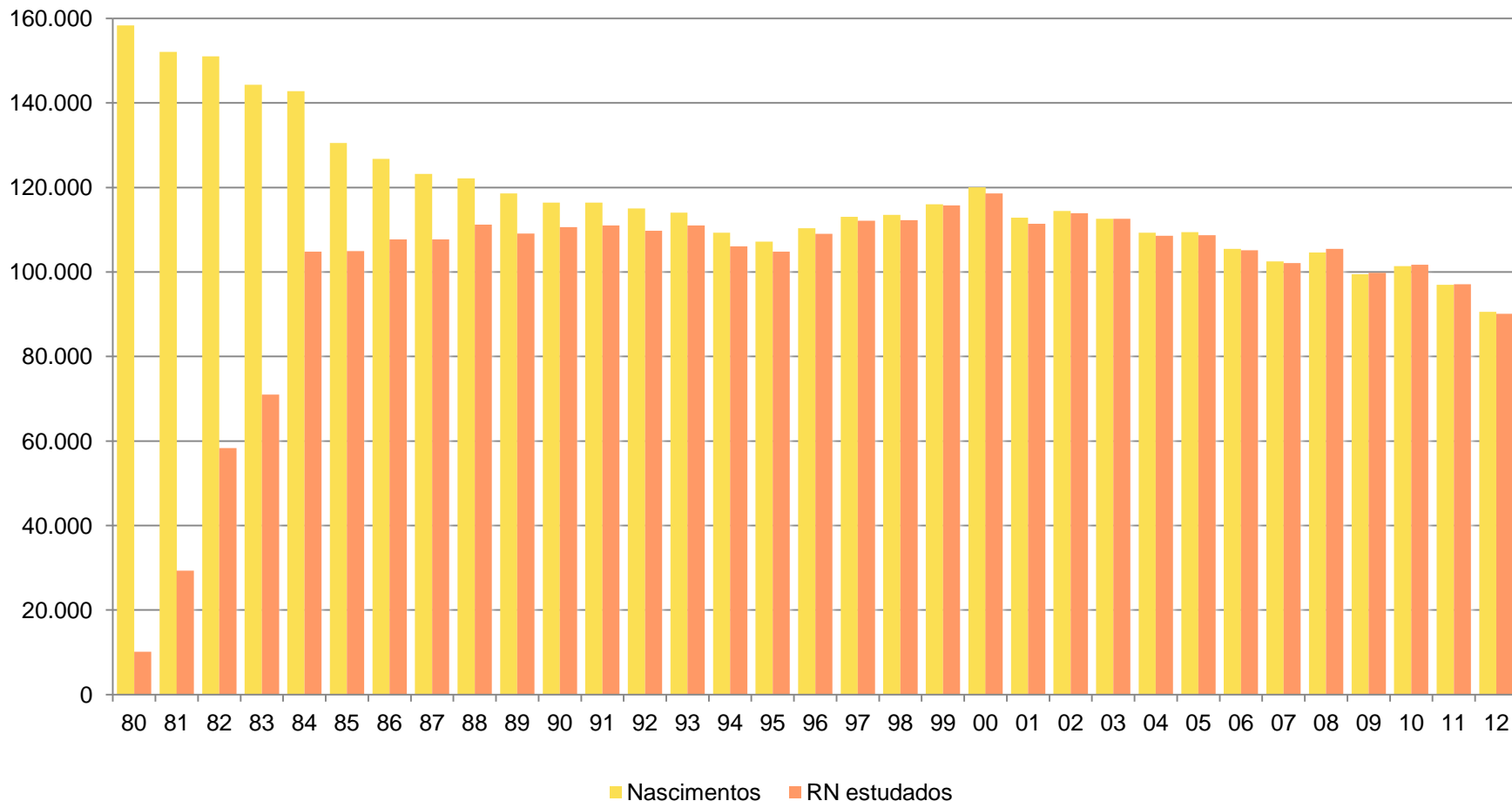
Inicial ~ 70%

1986 - 85%

Atualmente - 99,8%

Programa Nacional de Diagnóstico Precoce

Evolução da natalidade / RN Estudados: 1980 - 2012



Programa Nacional de Diagnóstico Precoce



≥1987

estudo das **biopterinas (BH₄)**

(Centro de Metabolismos da FFL^a)

≥1988

Comparticipação produtos dietéticos hipoproteicos

(Ministério da Saúde)

1992

- 1^o milhão RN rastreados

- criação da ***APOFEN***

(Associação Portuguesa de Fenilcetonúria)

Programa Nacional de Diagnóstico Precoce

2004



Programa Nacional de Diagnóstico Precoce



Rastreio NN alargado (Expanded newborn screening)

Novo equipamento *espectrometria tandem-mass*:

deteção simultânea de múltiplos metabolitos numa só amostra → alargamento n^o doenças rastreadas

≥ março 2005: rastreio piloto R. Norte e Centro

≥ último semestre 2006: todo o País

PORTUGUESE PILOT STUDY FOR EXPANDED NEWBORN SCREENING

Rocha H, Marcão A, Sousa C, Fonseca H, Bogas M, Vilarinho L.

Laboratório Nacional de Rastreios, Unidade de Biologia Clínica do IGM Jacinto de Magalhães.

The recent development of electrospray tandem mass spectrometry (MS/MS) has made feasible to use a single test to screen a newborn for multiple inherited metabolic disorders. This approach, based on **amino acid and acylcarnitine profiles**, is being rapidly adopted by screening laboratories worldwide.

In 2003, ...

The main aims of the pilot study are to evaluate the effectiveness ... and readjust screening criteria based on false positive/negative results.

The **pilot study began in Mars 2005**, it covers all newborns from North and Center Portugal, and included the screen for **fourteen metabolic disorders** (phenylketonuria, MSUD, citrullinemia, argininosuccinic aciduria, propionic acidemia, methylmalonic acidemia, isovaleric acidemia, GA I, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase deficiency, MCADD, VLCADD, LCHADD, CPTI, CPTII).

Until October, approximately 42000 newborns were screened and among these, 11 babies were detected as being affected by one of the screened disorders, corresponding to an overall frequency of 1:3818.

The authors will present the preliminary results of this pilot study in our country.

Programa Nacional de Diagnóstico Precoce

MINISTÉRIO DA SAÚDE

Gabinete do Secretário de Estado
Adjunto e da Saúde

Despacho n.º 752/2010

O Programa Nacional de Diagnóstico Precoce é um programa que tem por objectivo diagnosticar, nas primeiras semanas de vida, doenças que, uma vez identificadas, permitam o tratamento precoce que evite a ocorrência de atraso mental, doença grave irreversível ou a morte da criança. A cobertura do Programa, que teve o seu início em 1979, é hoje superior a 99% dos recém-nascidos, sendo o seu sucesso indiscutível.

Assim, nos termos e ao abrigo do disposto no n.º 2 do artigo 1.º e na alínea b) do n.º 4 do artigo 3.º do Decreto-Lei n.º 271/2007, de 26 de Julho, determino:

1 — É aprovado o Programa Nacional de Diagnóstico Precoce, constante do anexo ao presente despacho, do qual faz parte integrante.

2 — O Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I. P., deve proceder à implementação do Programa agora aprovado.

1 — Órgãos de coordenação

São órgãos de coordenação do PNDP,

a) Presidente

b) Comissão Técnica Nacional

c) Comissão Executiva

Despacho n.º 4502/2012

Nomeação dos Órgãos de Coordenação do Programa Nacional
de Diagnóstico Precoce

Programa Nacional de Diagnóstico Precoce



Centros de Tratamento (Despacho n.º 4326/2008)

CH S. João, CH Porto, CH Gaia

CH Universitário de Coimbra

CH Lisboa Norte, CH Lisboa Central

Equipas multidisciplinares:

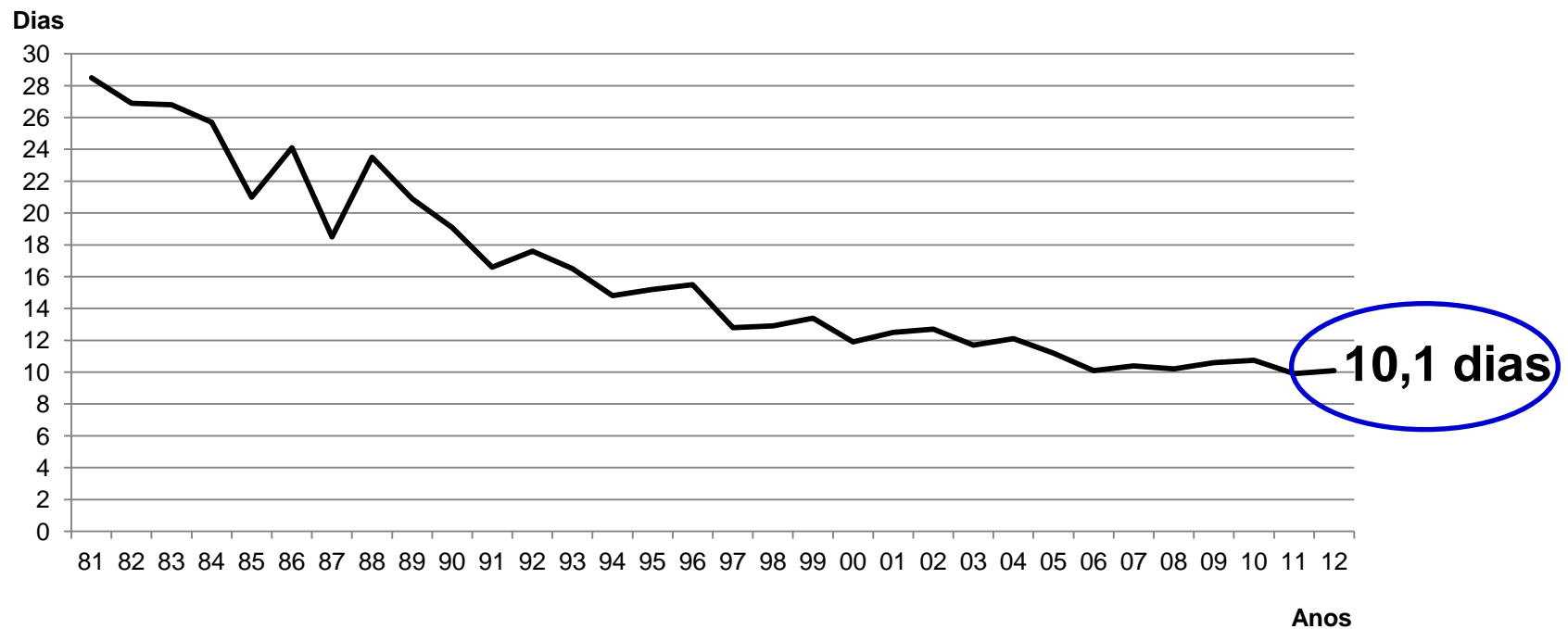
- **Médicos**
- **Nutricionistas**
- **Enfermeiros**
- **Psicólogos**
- **Assistentes Sociais**

...

Apoio de laboratórios especializados

Programa Nacional de Diagnóstico Precoce

Média da idade de início de tratamento



Programa Nacional de Diagnóstico Precoce

3º-6º dia de vida

Taxa cobertura 99,8%

>1979 PKU

>2004-05 rastreio alargado -24 doenças

Unidade de Rastreio Neonatal INSA*




Centros de Tratamento

Resultados
Teste do pezinho

Conheça aqui o resultado do teste do pezinho.

Precisa apenas de ter o seu número de código de barras.



consultar

*** FFL^a - Biopterinas**

www.diagnosticoprecoce.org

Programa Nacional de Diagnóstico Precoce

ENVIAR PARA: INSTITUTO DE GENÉTICA MÉDICA JACINTO DE MAGALHÃES
PRAÇA PEDRO NUNES, 88 - 4099-028 PORTO TEL. 226 070 300 / 226 070 328

Filho de _____
Endereço _____ C. Postal _____
Localidade _____

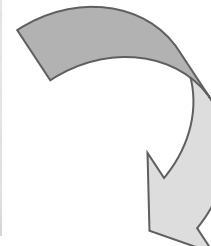
Nascimento _____ Prematuro S N A. R. S. / Seg. Soc. ADSE SAMS
Colheita _____ Peso _____ gr Outros _____
Alimentação - Peito Outra Icterícia S N N.º Beneficiário _____
Sexo M F Medicção S N Gêmeos 1º 2º 3º
Local da Colheita _____ Distrito _____

Os dados recolhidos são tratados informaticamente no âmbito da gestão do Programa Nacional de Diagnóstico Precoce, sendo garantido aos seus titulares o direito de acesso, correcção e eliminação. Das informações constantes do impresso, o nome e morada dos progenitores bem como a data de nascimento da criança poderão ser comunicados para a prestação de informações sobre alimentação e cuidados de saúde infantil. Se não desejar receber tais informações, assinale com uma cruz e assin.

Assinatura _____

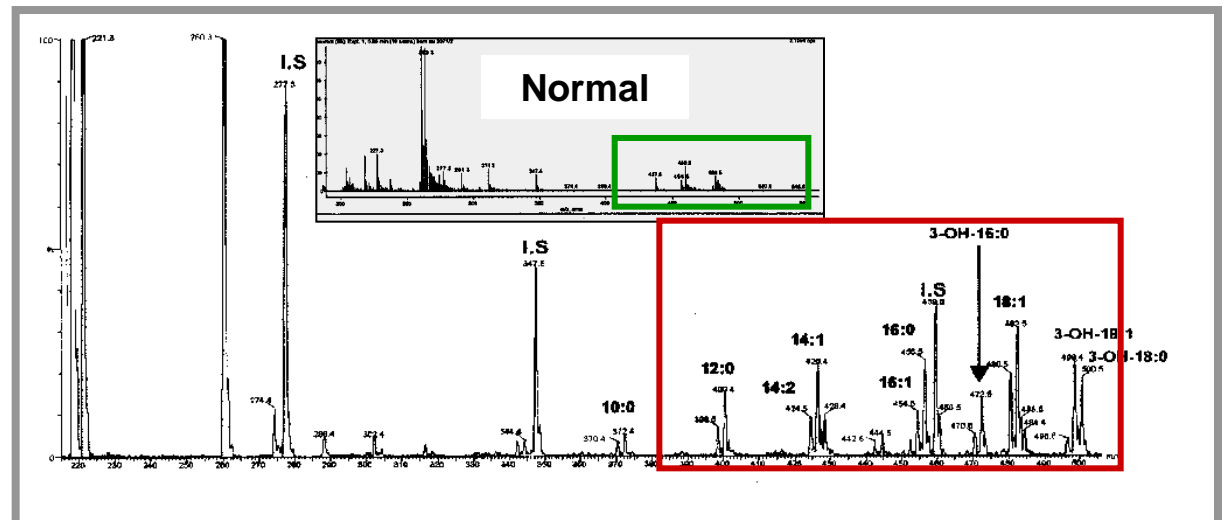
52005014257520

Espectrometria de massa em *tandem*



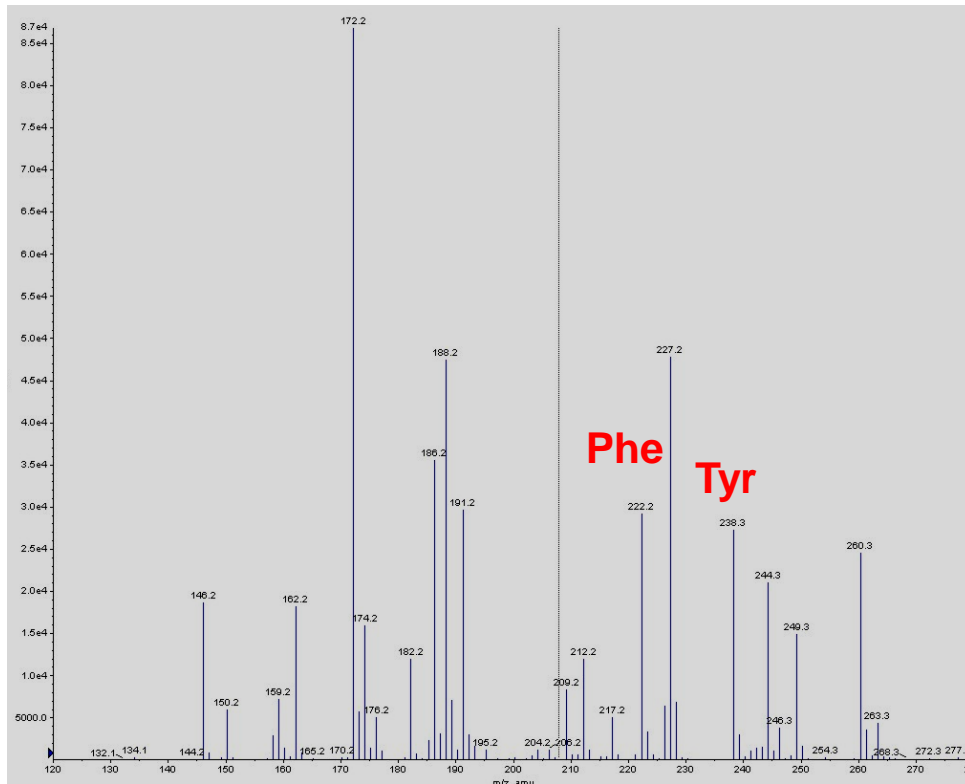
**aminoácidos
acilcarnitinas**

www.diagnosticoprecoce.org



Programa Nacional de Diagnóstico Precoce

Perfil de aminoácidos

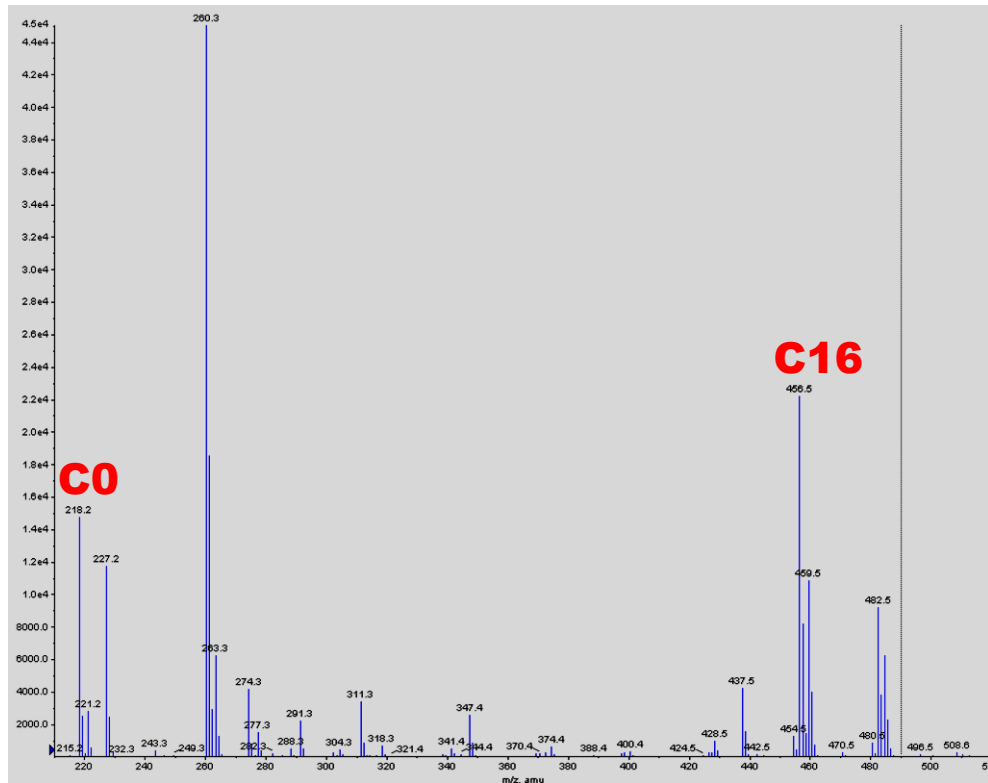


Cit
Val
Met
XLeu
Phe
Tyr
Arg

ASA

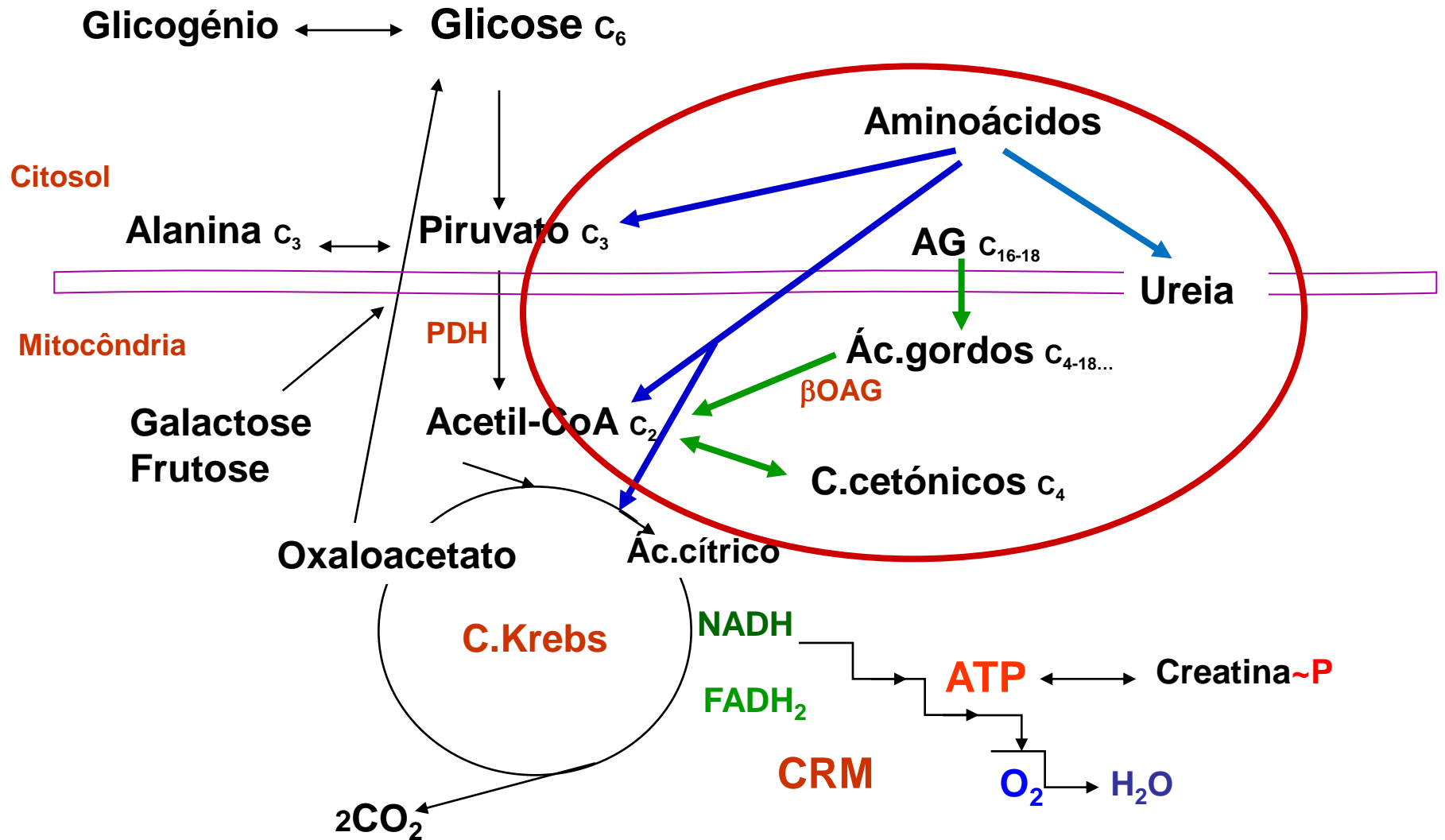
Programa Nacional de Diagnóstico Precoce

Perfil de acilcarnitinas



C0
C3
C3DC
C4
C5
C5:1
C5DC
C5OH
C6
C6DC
C8
C10
C12
C14
C14:1
C14:2
C14OH
C16
C16OH
C18
C18OH
C4OH

Programa Nacional de Diagnóstico Precoce



Programa Nacional de Diagnóstico Precoce

Diagnóstico

**Marcador 1º
(marcador 2º)**



Confirmação bioquímica



Confirmação genética

Identification: 3317785

Date : 2013-9-17

Plate: B Date of plate: 2013-9-10 Spectrometer: 2

Maker name	Value	Limit -	Limit +
Asp	80.546	0	200
Gly	633.602	0	3400
Cit	13.319	3	50
Met	20.373	7	57
Tyr	98.951	17	210
Orn	147.512	0	570
Phe/Tyr	0.494	0.18	1.5
Val/phe	2.394	0	4
Met/XLeu	0.148	0	0.4
ORN D2	1579	400	
XLeu D3 Intensity	37582	5000	
C2	28.167	7	49.06
C3DC	0.05	0	0.35
C4DC	0.148	0	1
C5:1	0.052	0	0.15
C5-OH	0.158	0	0.57
C6DC	0.107	0	0.12
C8:1	0.281	0	0.45
C10:1	0.099	0	0.36
C12	0.153	0.02	0.51
C14	0.26	0.05	0.59
C14:1OH	0.172	0	0.35
C14-OH	0.015	0	0.15
C18:1	0.213	0	0.57
C18	1.758	0.23	2.28
C18:1-OH	0.087	0	0.15
C18-OH	0.028	0	0.07
C4/C2	0.007	0	0.04
C3/C2	0.046	0	0.3
C5/C2	0.006	0	0.07
C14:1/C12:1	0.924	0	4
C16/C14:1	41.16	0	94
C2 D3 Intensity	6620	2500	
C5 Intensity	2370	800	
C0/(C16+C18)	6.818	3	30
C3/Met	0.064	0	0.3
Ala D4 intensity	12949	600	
Glu D3 intensity	7544	1500	
Cit/Arg	0.678	0	15
Met D3 intensity	15801	3000	
C3 intensity	1229	350	
C14 intensity	1362	800	
C5DC/C16	0.026	0	0.09
Argininosuccinico	0.316	0	1.15
GAA conc	2.223	0	20
C5-OH/C5	0.818	0.471	2.257
C5-OH/C0	0.004	0.003	0.015
C6OH	1.65	0	80
C8/C2	0.002	0.001	0.008

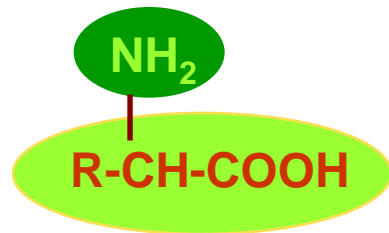
Maker name	Value	Limit -	Limit +
Glu	359.627	0	1369
Ala	323.499	100	934
Val	117.253	57	285
XLeu	136.836	82	270
Phe	48.975	23	148
Arg	19.625	0	45
Cit/Orn	0.09	0	2
XLeu/Phe	2.794	0	5
Tyr 13C6 Intensity	15755	2500	
CIT D2	2670	500	
C0	37.816	9.13	68.45
C3	1.306	0	6.23
C4	0.213	0	0.97
C5	0.193	0	1.8
C5DC	0.099	0	0.2
C6	0.114	0	0.2
C8	0.082	0	0.3
C10	0.066	0	0.44
C10:2	0.265	0	0.35
C12:1	0.099	0	0.46
C14:1	0.092	0.01	0.46
C14:2	0.122	0	0.17
C16	3.788	0.83	7.99
C16-OH	0.058	0	0.15
C18:1	2.379	0.34	3.42
C18:2	0.485	0.03	0.8
C5/C3	0.148	0	0.97
C4/C3	0.163	0	0.6
C8/C10	1.254	0	2.5
C16-OH/C16	0.015	0	0.04
C14:1/C16	0.024	0	0.15
C0 Intensity	5020	2500	
C4 D3 Intensity	1466	500	
C16 D3 Intensity	4295	1500	
(Phe+Tyr)/XLeu	1.081	0	3
Phe C6 intensity	47748	15000	
Asp D3 intensity	12719	2000	
Val D8 intensity	17319	1900	
Arg CD4 intensity	4131	1000	
Gly NC2 intensity	54404	100	
C8 intensity	1259	550	
C5DC/C8	1.207	0	3.5
C3/C16	0.344	0	2.5
C4OH	0.256	0	0.95
C5DC MRM1	0.171	0	0.2
C5-OH/C8	1.926	0.984	7.102
(C16+C18:1)/C2	0.218	0	0.5
Gln NL 186	47.688	0	120

Diseases: empty

Ana Marcão, in: XI Curso de DHM, 2013

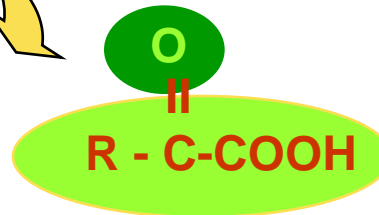
Diagnosis: Normal

Programa Nacional de Diagnóstico Precoce

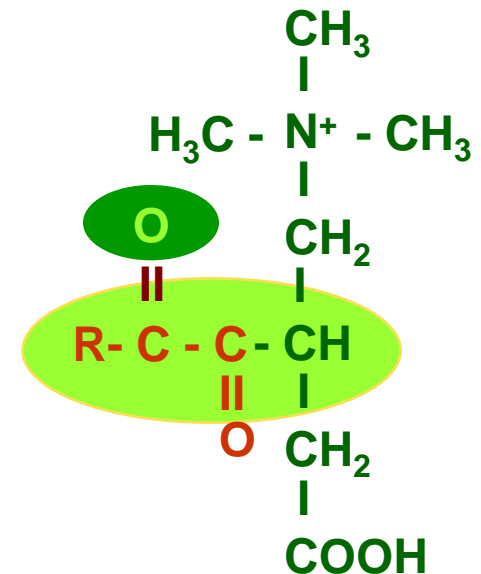


➤ Aminoácidos (HPLC) plasma, urina, LCR...

➤ Ácidos orgânicos
(cromatografia gasosa e
espectrometria de massa)
urina, LCR...



➤ Acilcarnitinas
(espectrometria de massa em *tandem*)
sangue em cartão



Programa Nacional de Diagnóstico Precoce



1. Metabolismo dos aminoácidos

A1 - Catabolismo esqueleto carbonado

Fenilcetonúria/ Hiper phe

Leucínose

Tirosinémia tipo 1 e 2

Hipermetioninémia (MAT)

Homocistinúria

Programa Nacional de Diagnóstico Precoce



1. Metabolismo dos aminoácidos

A2 - Catabolismo esqueleto carbonado

3 metilcrotonil glicinúria (3 MCC)

Acidúria propiónica (PA)

Acidúria metil malónica (MMA)

Acidúria malónica (MA)

Acidúria isovalérica (IVA)

Acidúria glutárica tipo I (GA1)

Acidúria 3-hidroxi-3-metil-glutárica

Programa Nacional de Diagnóstico Precoce

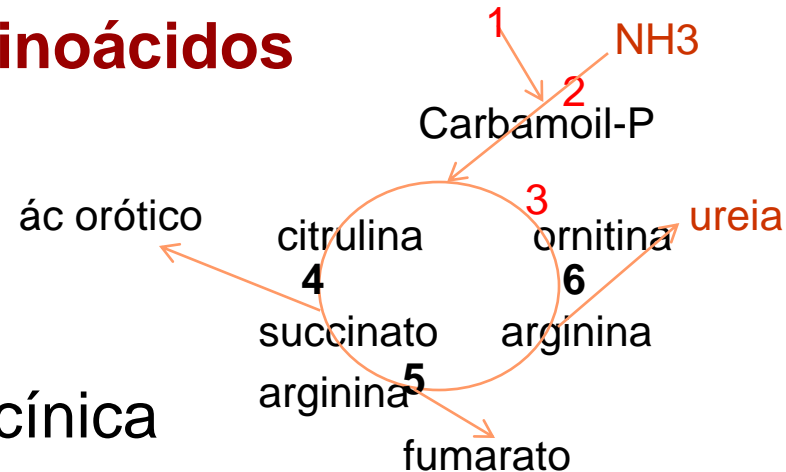
1. Metabolismo dos aminoácidos

B - Ciclo da ureia

Citrulinemia

Acidúria argininossuccínica

Hiper-argininemia



- 1- N-acetilglutamato sintetase (NAGS)
- 2- carbamoil-P-sintetase (CPS)
- 3- ornitina transcarbamilase (OTC)
- 4- argininasuccinato sintetase (citruinemia)
- 5- argininasuccinato liase (ASL)
- 6- arginase (hiper-argininemia)

Programa Nacional de Diagnóstico Precoce

↘ Intoxicação (proteica) aguda e/ou progressiva

Intervalo livre variável

- ✓ Início agudo de vômitos, letargia, coma, insuficiência hepática
- ✓ Evolução insidiosa de ADPM e atingimento de órgãos alvo (olhos, coração, fígado, SNC)

ex: Aminoacidopatias

Acidúrias orgânicas

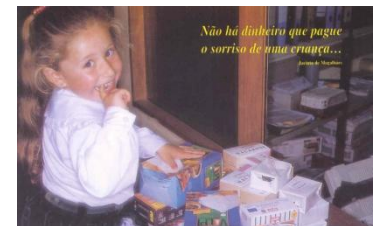
Doenças do ciclo da ureia

Programa Nacional de Diagnóstico Precoce

Produtos dietéticos hipoproteicos:
fundamentais para a dieta dos doentes PKU e outras DH do
catabolismo proteico - durante toda a vida
Comparticipação 50% → 100%

O IGM importa, armazena e distribui para todo o país
(localmente ou CTT) estes produtos
Fim do IGM: em estudo um novo esquema de distribuição
(APOFEN) - criação de núcleos locais?

Suplementos de AAs não tóxicos e misturas alimentares
isentas de proteínas - 100%



Programa Nacional de Diagnóstico Precoce

2 β - oxidação dos ácidos gordos

def. desidrogenase AG cadeia média (**MCADD**)

def. desidrogenase AG cadeia muito longa (**VLCADD**)

def. desidrogenase 3-hidroxi-acilCoA de cadeia longa (**LCHADD**)

def. carnitina-palmitoil transferases I e II (**CPT I e II**)

déf. da captação da carnitina (**CUD**)

déf múltiplo acilCoA-desidrogenases dos AG (**MADD/AG2**)



Defeitos da β - oxidação dos ácidos gordos

Hipoglicémia hipocetótica

jj longo/ stress metabólico/ ingestão lípidos

Hepatite e/ou

Cardio/miopatia (rabdomiólise)

Importante: colheitas em crise

Prevenção/ tº vigoroso das crises

→ melhor prognóstico na maioria

D^{as} cadeia longa: MCToil – 100%

Programa Nacional de Diagnóstico Precoce

Rastreio voluntário - taxa cobertura ~ 100%

Idade média início tratamento 10,1 dias

**Prevalência desde o início do rastreio
até 31-08-2013**

Nº RN	Doença	Nº de casos	Prevalência
3.314.710	HC	1110	1 / 2.986
3.346.878	PKU	320	1 / 10.459
792.673	Outras DHM	242	1 / 3.276

Programa Nacional de Diagnóstico Precoce



Novas tecnologias (MS/MS)

→ detecção > 30 doenças...

Rastreio sistemático

Frequência

Custos

Sensibilidade/especificidade

...*tratabilidade*

Incidência 1/4500 → 1/2400 RN

MCAD +++

Metilcrotonilglicinúria

Acidúria malónica

Programa Nacional de Diagnóstico Precoce



> nº diagnósticos

deteção doenças sujeitas a
descompensação aguda

Antecipar/prevenir a descompensação →
melhorar prognóstico

Grau de deteção:

Marcadores 1^{os} (2^{os})

Presentes no período NN precoce

Valores de “corte” (cutt-off) adequados

Muito altos- falsos negativos

Muito baixos – falso positivos – elevada tx de chamada (“reca

Programa Nacional de Diagnóstico Precoce



- Detecção em fase pré-sintomática
 - < sensibilidade famílias para a potencial gravidade da doença
 - Dificuldade na aceitação da doença
- Tratamento de casos eventualmente nunca sintomáticos
- Doenças tratáveis (ainda ?) não abrangidas pelo rastreio