

BIOKEMISK SCREENING  
FOR MEDFØDT SYGDOM  
HOS NYFØDTE

2008

Biokemisk screening for medfødt sygdom hos nyfødte  
- Principper, erfaringer, anbefalinger  
Rapport fra en arbejdsgruppe nedsat af Sundhedsstyrelsen

Kategori: Redegørelse og anbefalinger

Emneord: screening, nyfødte, medfødte sygdomme, Sundhedsstyrelsen

Sprog: dansk

Version: 1.1

Versionsdato: 27.oktober 2008

Format: pdf

Elektronisk ISBN: 978-87-7676-779-2

Den trykte version ISBN: 978-87-7676-780-8

Forsidefoto: Med tilladelse fra fotograf Per Rasmussen

Udgivet af: Sundhedsstyrelsen, december 2008

Copyright: Sundhedsstyrelsen, publikationen kan frit refereres med tydelig kildeangivelse

Sundhedsstyrelsen  
Islands Brygge 67  
2300 København S  
URL: <http://www.sst.d>

## Forord

Der er gået mere end 25 år, siden Sundhedsstyrelsen senest udsendte en faglig redegørelse og anbefalinger vedrørende den biokemiske screening for medfødt sygdom hos nyfødte. Dengang måtte bl.a. konstateres, at det ikke var teknisk muligt at undersøge for alle de sygdomme, som det ud fra et hensyn til barnets tarv var ønskeligt at opdage tidligst muligt. Selv om nogle af disse begrænsninger desværre fortsat gør sig gældende, er der i de forløbne årtier sket en række fremskridt. Ikke mindst som følge af udviklingen af tandem-massespektrometriske metoder kan der i dag undersøges for flere sjældne medfødte sygdomme, samtidig med at antallet af falsk-positive, også totalt set, kan nedbringes væsentligt.

Sundhedsstyrelsen nedsatte ultimo 2005 en arbejdsgruppe som skulle redegøre for erfaringerne og vurdere behovet for justeringer med udgangspunkt i de eksisterende praktiske, organisatoriske og administrative rammer for aktiviteten – samt i erfaringerne med den såkaldte udvidede screening, som det har vist sig at langt de fleste forældre tilvælger. En høring af udkast til arbejdsgruppens rapport i Danske Regioner, relevante videnskabelige selskaber og faglige organisationer, Det Ethiske Råd mfl., viste 2007, at der var tilslutning til de væsentlige konklusioner og anbefalinger i rapporten.

Disse anbefalinger har dannet grundlag for Sundhedsstyrelsens *Meddelelse til fødestederne mfl. om den biokemiske screening for medfødt sygdom hos nyfødte ("hælbloodprøven")*. Sidstnævnte udsendes samtidig med, at rapporten i sin endelige version hermed offentliggøres.

Else Smith  
Centerchef, Center for forebyggelse (CFF)

# Indhold

<b>1</b>	<b>Indledning og resumé af rapporten</b>	<b>3</b>
1.1	Arbejdsgruppens kommissorium, nedsættelse og sammensætning	3
1.2	Perspektivering af arbejdsgruppens opgave	4
1.3	Resumé af kapitel 2-5	7
1.4	Resumé af kapitel 6: konklusioner og anbefalinger	10
<b>2</b>	<b>Principper for screeningen</b>	<b>14</b>
2.1	Generelt om screeningstests	15
2.2	Mulige positive konsekvenser af screening for sygdom	15
2.3	Mulige negative konsekvenser af screening for sygdom	15
2.4	Et sæt af kerneværdier for nyfødtsscreeningen	17
<b>3</b>	<b>Udvælgelse af mulige screeningsmål</b>	<b>20</b>
3.1	Spektret af mulige screeningsmål	20
3.2	Uniform screening panel (USA)	20
3.3	Anvendelse af DK-kriterierne på data fra uniform screening panel	23
3.4	Forhåndshypoteser om mulige screeningsmåls styrke	23
<b>4</b>	<b>Gennemgang af udvalgte sygdomme</b>	<b>25</b>
4.1	Den anvendte systematik	25
4.2	Gennemgang af formodet primære screeningsmål ("grønne kandidaturer")	25
4.3	Gennemgang af formodet ikke-primære screeningsmål ("gule kandidaturer")	51
4.4	Gennemgang af formodet "ikke primære og ikke sekundære screeningsmål" ("orange kandidaturer")	58
4.5	Revideret klassifikation af screeningsmål	61
<b>5</b>	<b>Storskalaerfaringer med tandem-MS metoden</b>	<b>62</b>
5.1	Den tandem-massespektrometriske screeningsmetode.	62
5.2	Internationale erfaringer med neonatal tandem-MS screening.	62
5.3	Danske erfaringer med neonatal tandem-MS screening (forsøgsprojekt)	63
5.4	Screening for PKU med tandem-MS metode	67
<b>6</b>	<b>Det danske screeningsprogram – konklusioner, anbefalinger og økonomiske konsekvenser</b>	<b>68</b>
6.1	Den nuværende organisation	68
6.2	Arbejdsgruppens konklusioner og anbefalinger	70
6.3	Økonomiske konsekvenser af arbejdsgruppens forslag.	77
<b>7</b>	<b>Bilag</b>	<b>83</b>
	Bilag 1: Molekylær genetik.	84
	Bilag 2. Eksempler på medfødte stofskiftesygdomme (IEM), hvor screening har været foreslået eller gennemført.	88
	Bilag 3. Eksempler på andre tilstande, hvor screening har været foreslået eller gennemført.	89
	Bilag 4: Illustrative sygehistorier	90
	Bilag 5. Hyppigt anvendte forkortelser for sygdomsnavne.	92

# 1 Indledning og resumé af rapporten

## 1.1 Arbejdsgruppens kommissorium, nedsættelse og sammensætning

Nærværende rapport er januar 2007 afgivet af en arbejdsgruppe, som i november 2005 blev nedsat af Sundhedsstyrelsen

### 1.1.1 Arbejdsgruppens kommissorium

Arbejdsgruppens kommissorium har været:

”at redegøre for erfaringerne med den biokemiske screening for medfødt sygdom blandt nyfødte, herunder vurdere, om der er behov for justering af de nuværende retningslinjer. Der tages udgangspunkt i de eksisterende praktiske, organisatoriske og administrative rammer for aktiviteten.”

### 1.1.2 Nedsættelse og sammensætning af arbejdsgruppen

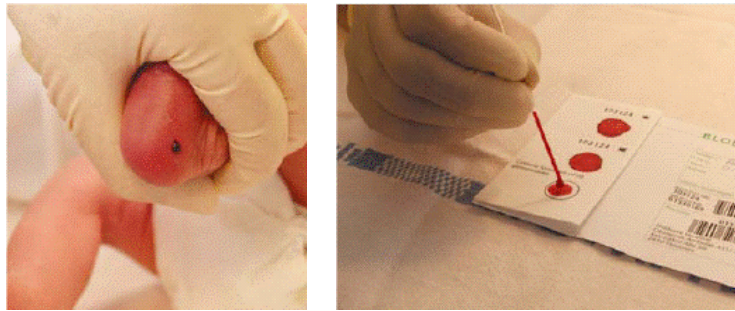
Følgende har af Sundhedsstyrelsen været udpeget som medlemmer af arbejdsgruppen: Afdelingslæge *Peter Saugmann-Jensen*, Sundhedsstyrelsen, formand for arbejdsgruppen; universitetslektor, Ph.D. *Brage Storstein Andresen*, Molekylærmedicinsk Forskningsenhed, Århus Universitet; overlæge, dr.med., cand.scient. *Jytte Bieber Nielsen*, Kennedy Institutet; afdelingslæge, Ph.D. *Christine Brot*, Center for evaluering og medicinsk teknologivurdering, Sundhedsstyrelsen; overlæge, Ph.D. *Thomas Hertel*, Børneafdeling H, Odense Universitetshospital; overlæge, dr.med. *David Hougaard*, Statens Serum Institut; overlæge, dr.med. *Kim Toftager Larsen*, gynækologisk-obstetrisk afdeling, FAS Hillerød (Sundhedsstyrelsens sagkyndige rådgiver i gynækologi-obstetrik); overlæge, dr.med. *Allan Meldgaard Lund*, Klinisk Genetisk afdeling, Juliane Marie Centret, Rigshospitalet, formand for Dansk Pædiatrisk Selskabs screeningsudvalg og formand for tandem-MS gruppen; professor, overlæge, dr.med. *Bent Nørgaard Pedersen*, Statens Serum Institut; klinikchef, overlæge, dr.med. *Freddy Karup Pedersen*, pædiatrisk klinik II, Rigshospitalet (Sundhedsstyrelsens sagkyndige rådgiver i børnesygdomme); 1.reservelæge, Ph.D. *Henrik Simonsen*, Børneafdelingen, KAS Glostrup, projektleder, projekt udvidet metabolisk screening.

Sundhedsstyrelsen indhentede før sammensætning af arbejdsgruppen råd fra Dansk Pædiatrisk Selskab og Dansk Selskab for Gynækologi og Obstetrik mfl. Arbejdsgruppen afgiver sine anbefalinger i enighed.

Arbejdet har især været baseret på elektronisk kommunikation, aftalte procedurer, klar ansvarsfordeling og overholdelse af stramme tidsfrister. Arbejdsgruppen har afholdt tre møder i Sundhedsstyrelsen, heriblandt to heldagsmøder. Arbejdsgruppen har undervejs modtaget værdifuld bistand fra klinikchef, professor, dr.med. *Gorm Greisen*, Neonatalklinikken, Rigshospitalet (opgørelse af acylkarnitin-niveauer i en kohorte af præmaturo fødte sammenlignet med en kohorte af børn født til tiden).

### 1.1.3 Baggrund for arbejdsgruppens nedsættelse

Neonatal screening i Danmark blev vurderet af et udvalg under Sundhedsstyrelsen i 1980. Udvalget anbefalede at fortsætte screeningen for PKU, som var blevet indført i 1973, samt at gøre screening for medfødt nedsat stofskifte (kongenit hypothyreose) permanent og at udføre pilotstudier til vurdering af screening for galaktosæmi (GALT) og adrenogenitalt syndrom (CAH). I forbindelse med revisionen af retningslinjer for svangreomsorgen (1998) blev screening for medfødt toxoplasmose (TOXO) anbefalet og iværksat året efter.



*Figur 1-1. Stort set alle nyfødte børn får få dage efter fødslen taget den såkaldte filterpapirblodprøve ("hælbloodprøven"): nogle dråber blod afsættes på et specielt filterpapir ("PKU"-kortet), som indsendes til Statens Serum Institut. Gennem mange år er prøven rutinemæssigt blevet screenet for phenylketonuri (PKU) og for medfødt hypothyreose (CH), senere tillige for medfødt toxoplasmose (TOXO). Siden 2002 har alle forældre inden for rammerne af et videnskabsetisk godkendt forsøgsregi kunnet tilvælge såkaldt udvidet screening, hvor der undersøges for et større antal hver for sig sjældne stofskiftesygdomme. Arbejdsgruppen har bl.a. skullet taget stilling til, om den udvidede screening bør gøres til en permanent del af det rutinemæssige tilbud (ill. venligst stillet til rådighed af Statens Serum Institut).*

Der er siden gennemført et retrospektivt (endnu upubliceret) dansk pilotstudie som belyser forudsætninger for at screene for adrenogenitalt syndrom i Danmark.<sup>1</sup> Siden 1. februar 2002 har der endvidere i samarbejde mellem Rigshospitalet, Statens Serum Institut og Molekylærmedicinsk Forskningsenhed ved Skejby sygehus været gennemført et videnskabsetisk godkendt screenings-forsøgsprojekt. Inden for rammerne af dette projekt har alle forældre kunne vælge "udvidet screening" som supplement til det rutinemæssige tilbud. Udvidet screening har omfattet undersøgelse for 20 forskellige stofskiftesygdomme, herunder galaktosæmi, med en ny undersøgelsesmetode (tandem-massespektrometri). Erfaringerne herfra er opgjort indtil 15. december 2005, hvor i alt 197000 nyfødte var blevet undersøgt. Undervejs er den traditionelle PKU-analyse fra 1. september 2003 blevet erstattet af tandem-massespektrometri. Endelig belyser en nylig Ph.D.-afhandling de foreløbige erfaringer med den rutinemæssige screening for medfødt toxoplasmose.<sup>2</sup>

Dansk Pædiatrisk Selskabs udvalg for screening og klinisk genetik opfordrede i et brev af 21. juni 2004 - bl.a. med henvisning til erfaringerne fra tandem-massespektrometrisk screening i projekt udvidet screening - Sundhedsstyrelsen til at nedsætte en arbejdsgruppe til vurdering af den neonatale screening med henblik på at opdatere og justere programmet. En tilsvarende henvendelse blev modtaget fra Dansk Selskab for Gynækologi og Obstetrik samme år. Begge selskaber har i denne forbindelse også peget på det mulige behov for en fremrykning af prøvetagningstidspunktet til 48-72 timer efter fødslen.

## 1.2 Perspektivering af arbejdsgruppens opgave

Nogle børn fødes tilsyneladende raske med en alvorlig sygdom, som kortere eller længere tid efter fødslen giver sig til kende. Sygdommene kan fx debutere i form af akutte livstruende stofskiftekriser med koma (evt. i form af pludselig uventet spædbarnsdød), eller de kan vise sig ved fremadskridende intellektuel reduktion, hjerte- lever- eller nyreskader, muskelsygdom, eller tiltagende generel vantrivsel mv. Årsagen til, at symptomerne ikke kan ses ved fødslen er, at så længe barnet endnu er i mors liv, fungerer hun via moderkagen som dets "dialyseapparat", så fosteret faktisk er under effektiv "behandling". Hverken lægen, jordemoderen eller forældrene vil derfor hæfte sig ved noget unormalt hos den nyfødte. I og med at barnet ved fødslen fysisk

1 Simonsen H. et al. Retrospective Neonatal Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia in Denmark (in preparation).

2 Remmer D. A neonatal screening programme for congenital toxoplasmosis – including observations on disease development and its treatment in infants and children. Ph.D.-afhandling 2005.

adskilles fra sin mors organisme, afbrydes imidlertid "behandlingen", uden at nogen er klar over dette. Tidligst mulig påvisning – det vil sige helst påvisning for sygdommen viser sig – kan være af afgørende betydning for barnets overlevelses- og udviklingsmuligheder. Gode eksempel herpå er PKU (phenylketonuri) og CH (medfødt hypothyreose), som vi gennem mange år har screenet alle nyfødte for ved at sende "hælbloodprøven" til undersøgelse på Statens Serum Institut. Det har imidlertid længe været kendt eller antaget, at der findes andre børn i fødselsår-gangen med lige så alvorlige sygdomme, som kunne have lige så stor gavn af screeningsprogrammet, men hvor der ikke er iværksat foranstaltninger fordi forudsætningerne for at screene for dem – økonomisk eller teknisk – har manglet.

Arbejdsgruppen har inden for sit kommissorium skullet tage stilling til, om der i lyset af nye muligheder, ud fra en sundhedsfaglig betragtning, kan og bør iværksættes screening for alle eller for nogle af disse tilstande, ligesom arbejdsgruppen har skullet tage stilling til, om alle elementer i det nuværende screeningsprogram skal videreføres.

### 1.2.1 Sygdomme uden hverdagsnavne

Ved rapportens sproglige udformning har det været erkendt som et problem, at der ikke eksisterer hverdagsproglige, genkendelige synonymer for de fleste af de sygdomme, rapporten vil komme ind på (som fx synonymet *sukkersyge* kan erstatte den systematiske betegnelse diabetes mellitus). Dette nedsætter læsbarheden.<sup>3</sup>

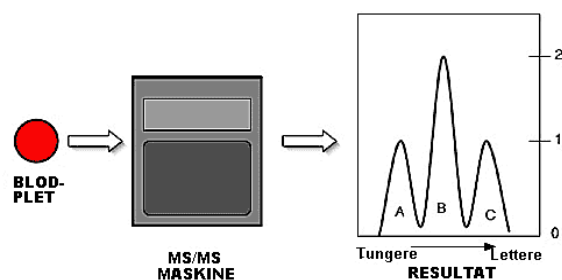
Årsagen til, at disse sygdomme for størstedelen er navnløse og hver for sig ret ukendte i befolkningen eller blandt det almindelige sundhedspersonale, må søges i, at de enkeltvis er meget sjældne, samt at de som regel arves fra raske forældre (skjult arvegang), dvs. ikke forekommer kendt i familier – hverken i tid eller rum opstår der stærke sproglige fællesskaber omkring dem.

### 1.2.2 Forældreløse sygdomme (orphan diseases)

De ovennævnte tilstande tilhører en større gruppe af sjældne sygdomme, for hvilke betegnelsen *orphan disease* (forældreløs sygdom) internationalt har vundet hævd i det seneste årti. Ofte "defineres" disse sygdomme ved, at de pga. sjældenheden har svært ved at tiltrække investeringer til målrettet lægemiddeludvikling<sup>4</sup>, hvilket sundhedspolitik er blevet erkendt de seneste år (således har såvel USA (1983) som EU (1999) vedtaget foranstaltninger, som skattemæssigt eller på anden måde favoriserer lægemiddelforskning på området). Samlet udgør de en ikke ubetydelig gruppe, og de er en væsentlig del af årsager til sygelighed og død i den tidlige barnealder – men *enkeltvis* optræder de så sporadisk blandt nyfødte, at patientpopulationen i et lille land som Danmark – selv set over en årrække - ikke opnår tilstrækkelig størrelse til, at de kan danne grundlag for en målrettet forskningsindsats, eller til, at de påkalder sig speciel interesse i den diagnostiske laboratoriesektor. En sjælden sygdom vil også som regel have en svag – eller slet ingen - interesseorganisation (patientforening) – specielt hvis der er høj dødelighed i tidlig alder, så patientpopulationen ikke vokser ud over prævalensen blandt nyfødte. Der vil således i praksis altid være svagere *lobbying* og mindre offentligt fokus på sådanne sygdomme.

3 Med enkelte undtagelser (fx Föllings sygdom for fenyylketonuri) er sygdommene alene videnskabeligt klassificeret med et nummer i Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), samt med systematiske sygdomsnavne som læger benytter, men sidstnævnte vil oftest afspejle rene biokemiske karakteristika. Eksempelvis kan anføres sygdommen mellemkædet acyl-Coenzym A dehydrogenase mangel (MCADD), som er én blandt mange andre defekter ved organismens forbrænding af fedtsyrer. Anvendelse af den lange og komplicerede systematiske betegnelse øger ikke læsbarheden. Som det mindste af to onder har arbejdsgruppen derfor valgt at omtale sygdommene ved deres accepterede forkortelser, som udspringer af engelsksproglig videnskabelig litteratur – eksempelvis MCADD for medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. Læseren vil derfor omtrent på hver side støde på udtryk som MSUD, GALT, LCHADD, CACT, PA, BIOPT. Se bilag 5 for anvendte forkortelser.

4 Orphan disease definition - Medical Dictionary definitions of popular medical terms



Figur 1-2. Ved tandem-massespektrometri (tandem-MS) kan man bestemme molekyllernes vægt før og efter sønderdeling af molekylerne. Givet de oplysninger mfl, kan man bestemme hvilket molekyle det drejer sig om – og dets mængde i prøven.

### 1.2.3 Nye muligheder for at screene for flere sygdomme på en fælles platform (tandem-MS)

Traditionelt har hver sygdom haft sin egen screeningsplatform i laboratoriet. Det var lige så dyrt at screene for en meget sjælden sygdom, som for en mindre sjældent forekommende, og hver sygdom repræsenterede et væsentligt forbrug af det begrænsede materiale i blodprøven. Samtidig var det – tildels inspireret af WHO's screeningskriterier – generelt antaget, at neonatal screening skulle være samfundsmæssigt kosteffektiv som en forudsætning for at blive iværksat. En forhåndsvurdering af manglende økonomisk kosteffektivitet ved screening for en sådan sygdom har formentligt i nogle tilfælde været årsag til, at en screeningsproblematik ikke er blevet rejst.


Indtil for få år siden, var muligheden for at gennemføre rutinescreening af nyfødte for arvelige stofskiftesygdomme af de anførte grunde begrænset til nogle få tilstande. Diagnostiske muligheder var til stede i større udstrækning, men kunne ikke udnyttes. I Sundhedsstyrelsens rapport fra 1980 blev det klart udtalt, at der var andre medfødte stofskiftesygdomme end PKU, som faktisk opfyldte kriterier for screening blandt nyfødte, men for hvilke selvstændig screening ikke ville være kost-effektiv: "de [...] forekommer så sjældent her i landet, at man generelt ikke kan anbefale at screene for dem." [...] da hver sygdom kræver sit analyseprogram, og da sygdommene formentligt forekommer med en hyppighed på under 1 pr. 100.000 nyfødte vil det ikke være hensigtsmæssigt at screene specifikt."<sup>5</sup>

Udviklingen af fællesplatform-metoder (multiplex), som er gået hånd i hånd med stigende automatisering af laboratorieprocedurer, har fulgt flere linjer (herunder også udvikling af DNA-metoder, som omtales i bilag 1. Vigtigst har foreløbig været gennembruddet i årene op mod år 2000 for såkaldt tandem-massespektrometri (tandem-MS) til bestemmelse af en række relevante metabolitter. Metoden, som arbejdsgruppen redegøre nærmere for i kapitel 5, skal på dette sted kort omtales.

Med adgang til tandem-massespektrometri (tandem-MS) er det i teorien muligt at screene i én fælles platform for omkring 40 forskellige *orphan diseases*, på grundlag af en filterpapirblodprøve. Ved massespektrometri måler man forholdet mellem de undersøgte molekyllers vægt og deres ladning ( $m/z$ -ratio) – før og efter, at molekylerne er "slået i stykker". Det tilgrundlæggende fysiske princip, som har været kendt siden begyndelsen af forrige århundrede, er, at elektromagnetiske felter afbøjer ladede molekyllers baner i større eller mindre grad afhængig af dette forholds størrelse. Molekyler med større  $m/z$ -forhold vil følge baner med større radius, end molekyler med mindre  $m/z$ -forhold. Ved at udsætte passende præpareret prøvemateriale for varierende feltstyrker i et dertil indrettet apparatur – kaldet et massespektrometer - kan man derfor få molekyler med bestemte valgte  $m/z$ -forhold til at ramme en detektor, som også regi-

5 Sundhedsstyrelsen 1980: Neonatal screening: 35-36.



- 
- Hvorfor screene nyfødte for PKU?  
- fordi:
1. Det er en alvorlig sygdom
  2. Der findes en effektiv behandling
  3. Jo tidligere, jo mere effektiv
  4. Sygdommen opdages ikke ved fødslen
  5. Den kan påvises med en skånsom og præcis test

Figur 1-3. Kerneværdier for nyfødtscreening, her eksemplificeret med PKU.

strerer deres antal.<sup>6</sup> Forudsætning for, at dette kan ske, er at prøvematerialet forinden er bragt over i gasfase (ved fordampning af prøven), samt at de molekyler, der skal bestemmes, er bibragt en positiv eller negativ nettoladning (ioniseret). Prøven indføres derefter som en strøm af ioner i massespektrometret, der sorterer molekylerne i et m/z-spektrum, hvorfra molekylvægten svt. hver enkelt værdi på simpel måde kan beregnes med få milliontedeles nøjagtighed (få ppm). Yderligere information om hvert enkelt af de undersøgte molekylers struktur (fx en fedtsyre-ester) kan derpå opnås ved at slå molekylet i stykker (fragmentere det). Dette sker i en såkaldt kollisionscelle, hvorfra de ioniserede fragmenter sendes ind til fornyet massespektrometrisk analyse. Da der således kræves to massespektrometrier – adskilt i tid og rum – kaldes denne proces også for tandem-MS.<sup>7</sup> Teknologien har – også i realistisk storskala – vist sig at være meget robust (stor målenøjagtighed, høj detektionsrate, lav falskpositivrate) for en række medfødte stofskiftesygdomme. Metoden har dannet grundlag for det forsøgsmæssige tilbud om ”udvidet screening”.

#### 1.2.4 Såkaldt Screening uden falskpositive

Udmelding af et screenpositivt undersøgelsesresultat vil for alle forældre til et nyfødt barn være stærkt belastende; selv hvor et sådant resultat hurtigt afkræftes (= falskpositivt resultat), kan følgevirkningerne i familiens liv være langvarige, hvilket støttes af undersøgelser, som arbejdsgruppen omtaler i kapitel 3. Hensynet til at sikre høj detektion for mindst mulig falskpositivrate har på den baggrund været centralt i arbejdsgruppens overvejelser. Hensynet må ses i det perspektiv, at mens der i andre typer af screeningsprogrammer ofte accepteres falskpositivrate af størrelsesorden flere procent, er falskpositivrate ved nyfødtscreeningen i Danmark, foretaget centralt på Statens Serum Institut, og pga overgang til tandem-MS screening for PKU, som arbejdsgruppen anbefaler gjort permanent, nu af størrelsesorden 0,2 procent (dvs at hos sammenlagt omkring 100 nyfødte ud af ca. 65.000 årligt nyfødte vil der blive taget en ekstra blodprøve, som viser, at den rejste mistanke er ubegrundet). Falskpositivrate ved nyfødtscreeningen er i dag så tæt på nul, at nogle ligefrem taler om ”screening uden falskpositive” som et realistisk perspektiv. Men fuldkommen elimination af falskpositive ville føre til øgede falsknegativrate, dvs. flere syge børn ville blive overset.

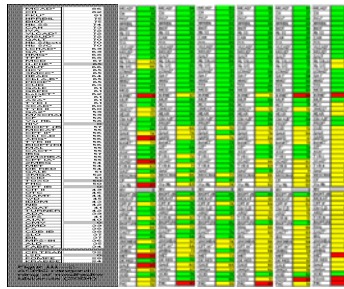
### 1.3 Resumé af kapitel 2-5

#### 1.3.1 Resume af kapitel 2: principper for screeningen

Ved at anvende den historisk veletablerede PKU-screening som paradigme, opstillede arbejdsgruppen indledningsvist et sæt kerneværdier, som ethvert forelagt *muligt screeningsmål* skulle leve op til, som en forudsætning for at indgå i en mere dybtgående vurdering af egnethed som screeningsmål; den moralske legitimering af PKU-screeningen bygger på, (a) at sygdommen er alvorlig (b) at der findes en behandling som effektivt forebygger de fleste skadevirkninger; (c) at tidligt iværksat behandling er afgørende for optimal behandlingseffekt, men (d) at sygdommen ikke klinisk manifesterer sig ved fødslen. Endelig (e) at der findes en *egnet* screening-

<sup>6</sup> American Society for Mass Spectrometry: What is Mass Spectrometry? (educational)

<sup>7</sup> <http://www.biochemj.org/bj/355/0545/3550545.pdf>



Figur 1-4. Forskellig vægtning af kriterier fører til forskellig vurdering af de enkelte screeningskandidaturs styrke (figuren forklares nærmere i kapitel 3).

test (høj detektionsrate, lav falskpositivrate), som kan påvise sygdommen ved fødslen, før den har vist sig klinisk. Arbejdsgruppen føjede hertil (f) forebyggelse af (tidlig) død. I rapporten betegnes dette sæt af kerneværdier/vurderingskriterier under ét som DK-kriterierne. Disse kriterier stiller hensynet til barnets tarv i centrum for udvælgelsen af mulige screeningsmål.

### 1.3.2 Resume af kapitel 3: udvælgelse af mulige screeningsmål

Arbejdsgruppen har anvendt de ovennævnte DK-kriterier på et større antal sygdomme, som internationalt har været bragt i forslag som mulige screeningsmål. Som dataressource for en sådan første filtrering af mulige screeningsmål er der gjort brug af en nyligt offentliggjort rapport fra det amerikanske *Uniform Screening Panel*,<sup>8</sup> som kvantiterer et stort antal sygdommes screeningspotentiale baseret på en omfattende og systematisk scoringsprocedure med omkring 300 overvejende sagkyndige respondenter, efterfulgt af en evalueringsprocedure, hvori scoreværdier for hver enkelt sygdom blev søgt videnskabeligt valideret, herunder på en række forskellige relevante kriterier, fx vedrørende incidens, sygdomsbyrde, ubehandlet forløb, behandlingsmuligheder, test, tilgængelighed etc.

Den amerikanske rapport indeholder for hver sygdom "rådata" (middelværdier af scoreværdier) fordelt på fjorten relevante kriterier, hvoraf de seks kriterier matcher de ovennævnte DK-kriterier. Rapporten rangordner også disse tilstande efter screeningspotentiale, men på grundlag af en vægtning af de forskellige kriterier, som afviger markant fra DK-kriterierne (eksempelvis vægtes mulighed for at anvende multiplexmetoder (fx tandem-MS) højere, end hensynet til behandlingens effektivitet, således at rangordningen bliver delvis teknologibestemt).

Arbejdsgruppen har importeret alle "rådata" fra denne rapport til et regneark, som blev programmeret til at muliggøre vægtning af kriterier efter arbejdsgruppens eget valg. På denne måde kunne rangordningen af sygdommes screeningspotentiale i den amerikanske rapport "oversættes" til en rangordning bestemt af arbejdsgruppens kriterier (DK-kriterierne). Et cut-off blev fastsat ved 0.75 ud fra hensynet til kun at acceptere en passende omegn af scoreværdier omkring paradigmets score (PKU). Herved blev listen over mulige screeningsmål reduceret fra godt 80 til 15 ("grønne" kandidaturer). Heraf var størsteparten sjældne recessivt arvelige stofskiftesygdomme, som ville kunne påvises på en fælles undersøgelsesplatform (tandem-MS), på trods af, at muligheden for fælles undersøgelsesplatform var tillagt vægt = 0 i arbejdsgruppens beregninger. Det drejer sig således ikke om et teknologibestemt udvalg.

De nævnte sygdomsgrupper repræsenterer et udvalg, hvor det som udgangspunkt må antages, at påvisning hurtigst muligt efter fødslen kan være af afgørende betydning for at gavne de af-ficerede børn, og hvor compliance med WHO-kriterierne 1-5, 7 og 8 er sikret.<sup>9</sup>

8 ACMG 2004. Towards af Uniform Screening Panel.

9 Jf. : Screening. Hvorfor – hvornår – hvordan. Sundhedsstyrelsen 1990.

Gruppen blev suppleret med enkelte andre sygdomme, hvor særlige forhold gjorde sig gældende (eksempelvis særlig hyppig forekomst på Færøerne eller Grønland, eller pga ny videnskabelig evidens), og defineret som *mulige screeningsmål*, der indgik i det videre arbejde, jf. resuméerne af kapitel 4 og 5. For at kvalitetssikre processen blev også en række tilstande, som scorede under cut-off værdien, men højere end 0.5, også medtaget til nærmere analyse ("gule kandidaturer").

### 1.3.3 Resumé af kapitel 4: gennemgang af udvalgte mulige screeningsmål

Kapitel 4 afspejler den mest substantielle del af arbejdsgruppens drøftelser. Kapitlet er udformet på en sådan måde, at det også vil kunne være en sundhedsfaglig ressource til gavn for kvalitets-sikring af screeningen. Prisen herfor har været et tab af umiddelbar tilgængelighed.

I kapitel 4 foretager arbejdsgruppen en mere detaljeret gennemgang af de udvalgte mulige screeningsmål. Der blev i forbindelse hermed anvendt en togrenet strategi: i den *ene gren* blev samtlige udvalgte *mulige screeningsmål* evalueret i en skematisk systematik med vægt på de af arbejdsgruppen opstillede evalueringskriterier (jf. resume af kapitel 3), hvori også indgik et skøn over det videnskabelige evidensniveau. De resulterende *factsheets* offentliggøres som rapportens del II. Drøftelserne på arbejdsgruppens møder er især sket med udgangspunkt i disse factsheets. I den *anden gren* blev en række tilstande efter skemaevalueringen udtaget til supplerende, mere detaljeret analyse<sup>10</sup>, særligt vedrørende hyppighed, erfaringer med screening for den pågældende tilstand, det ubehandlede forløb, prædiktiv værdi af screeningsfund, falskpositiv- og falsknegativrate, behandlingsmulighederne, og mulighederne for entydig diagnostisk afklaring og afgørelse af behandlingsindikation. Sygdomme, som uden at være valgt som screeningsmål, kunne forudses sporadisk identificeret som differentialdiagnostiske til primære screeningsmål, blev identificeret og gennemgået med henblik på vurdering af konsekvenser af sådanne diagnoser.

Formålet med den detaljerede gennemgang var således ikke blot at validere de udvalgte mulige screeningsmål i forhold til DK-kriterierne, men også at sikre compliance med andre anerkendte kriterier for screening.<sup>11</sup> En summarisk oversigt over konsekvenser af arbejdsgruppens detailgennemgang i forhold til den primære klassifikation af mulige screeningsmål er vist i rapportens Tabel 4-4.

### 1.3.4 Resumé af kapitel 5 : storskalaerfaringer med tandem-MS screening for udvalgte sygdomme

I kapitel 5 har arbejdsgruppen særligt redegjort for erfaringerne i det danske forsøgsprojekt med udvidet screening, og sammenholdt disse med andre tilsvarende erfaringer fra udenlandske programmer. Screening for MCADD samt en række andre mere sjældne medfødte stofskiftesygdomme (projekt udvidet screening) har levet op til forventningerne såvel mht. påvisningsevne, som mht. meget lav samlet falskpositivrate. Erfaringerne støtter konklusionerne fra kapitel 4.

I kapitel 5 har arbejdsgruppen endvidere opsummeret erfaringerne fra den rutinemæssige screening for PKU i Danmark, fordi projekt udvidet screening som afledet konsekvens har ført til, at Guthriemetoden siden 2003 har været erstattet af tandem-MS analyse.

<sup>10</sup> Hovedkriterier for udtagning til detailanalyse var: (1) tilstande, hvor hypotesen 'primært screeningsmål' fandtes bekræftet af den skematiske evaluering, og indstillingen derfor var, at de skulle inkluderes i det rutinemæssige tilbud; (2) tilstande, hvor hypotesen 'sekundært screeningsmål' fandtes bekræftet; og hvor sådanne tilstande kunne forventes at forekomme differentialdiagnostisk til tilstande nævnt under (1), eller hvor særlige forhold vurderedes at gøre sig gældende, eksempelvis at en tilstand forekommer særlig hyppigt i et etnisk eller geografisk segment af befolkningen (fx Færøerne, Grønland); samt (3) tilstande, for hvilke forhåndshypotesen var, at de ikke var egnede som primære eller sekundære screeningsmål, men havde været inkluderet fra starten i projekt udvidet screening.

<sup>11</sup> WHO-kriterier 6-9, herunder også SST supplerende kriterier 1990. Jf. ref. 9.

Resumé af anbefalinger vedrørende screeningsmål					
Tilstand(e)	Tilbud i dag?	Forv. fundne/ 100.000	Forv. falskpos/ 100.000	Lab. Metode	Anbefaling
Medfødt hypothyreose (CH)	JA (rutine-tilbud)	31	20-30	DELFI A	Videreføres u.æ.
Phenylketonuri (PKU)	JA (rutine-tilbud)	9 PKU 3 H-PHE	3-4	Tandem-MS	Videreføres, baseret på tandem-MS-metoden
"Udvidet metabolisk screening" for MCADD mfl.	JA (projekt udvidet screening)	12-15	30-40	Tandem-MS	Videreføres med modifik. som del af rutine programmet
- Tyrosinæmi	NEJ	1	5 (est.)	Separat Tandem-MS	Betinget anbefaling
- Biotinidasemangel	NEJ	1	10	Enzymatisk (fluorometri)	Indføres som del af rutinetilbud – evalueres efter fem år
Medfødt adrenogenitalt syndrom (CAH)	NEJ	10	15 (est.)	DELFI A + LC-tandem-MS	Betinget anbefaling
Medfødt toxoplasmose (TOXO)	JA (rutine-tilbud)	15-18	~ 0	IgM-assay	Revurdering anbefales

*Tabel 1-1. Sammen drag af anbefalinger vedr. screeningsmål inden for et rutinemæssigt tilbud i Danmark, jf. resumé af kapitel VI. Bemærk, at forventet antal fundne og forventet antal falsk-positive er udtrykt per 100.000 nyfødte. Den danske fødselsårgang omfatter for tiden ≈ 65.000 nyfødte.*

#### 1.4 Resumé af kapitel 6: konklusioner og anbefalinger

Kapitel 6 indeholder en beskrivelse af screeningsprogrammets nuværende organisation, en gennemgang af arbejdsgruppens anbefalinger vedrørende de enkelte dele af screeningsprogrammet (herunder også angående kvalitetssikring), samt en analyse af de økonomiske konsekvenser af anbefalingerne.

Arbejdsgruppen stiller forslag om en konsolidering og en udvidelse af det nuværende screeningsprogram, jf. oversigten i tabel 1-1 samt nedenstående pkt. 1.4.3. Fuld gennemførelse af arbejdsgruppens forslag forventes at muliggøre tidlig påvisning af behandlingskrævende sygdom hos ca. 55 nyfødte årligt, mod tidligere ca. 30 nyfødte årligt (2002-niveau). Det samlede antal falskpositive/genindkaldte med det nye program forventes at blive omkring ~ 100/100000, mod tidligere omkring ~ 400-450 (2002-niveau).

En fuld gennemførelse af arbejdsgruppens forslag vil medføre meromkostninger for det offentlige på i alt 4,9 mio. kroner årligt. En del af arbejdsgruppens forslag vil kunne iværksættes umiddelbart (vedr. udvidet screening for stofskiftesygdomme) eller inden for få måneder (vedr. screening for biotinidasemangel). Denne del af arbejdsgruppens forslag vil koste 1,8 mio. kroner årligt. En anden del af arbejdsgruppens forslag (vedr. screening for tyrosinæmi og for medfødt adrenogenitalt syndrom) er gjort betinget af, at det forinden dokumenteres, at visse supplerende krav til påvisningsevne, som arbejdsgruppen har formuleret, kan indfries. Dette vil kræve et forberedende arbejde på Statens Serum Institut og en forelæggelse af dokumentationen for Sundhedsstyrelsen, hvorfor denne del af arbejdsgruppens forslag ikke kan ventes iværksat før ultimo 2007. Denne del af arbejdsgruppens forslag vil koste 3,1 mio. kroner årligt.

#### 1.4.1 Principper for screeningen

Nyfødtscreeningen skal leve op til de samme grundlæggende principper for god screening, som andre screeningsprogrammer, herunder også vedrørende prioritering inden for givne økonomiske rammer for sundhedsvæsenet. Nyfødtscreeningens særlige karakter kan efter arbejdsgruppens vurdering kortest udtrykkes på følgende måde: *screeningens kerneværdi skal være hensynet til den nyfødtes tarv.*

Princippet er operationaliseret i de tidligere omtalte vurderingskriterier, som arbejdsgruppen har lagt til grund ved sin initiale selektion af mulige screeningsmål (DK-kriterierne). I kapitel 6 uddybes hvilke andre konsekvenser barnets tarv betragtningen bør få, herunder vedrørende størst mulig tilslutning til programmet, information mv.

#### 1.4.2 Tidspunkt for blodprøvens tagning fremrykkes

Arbejdsgruppen foreslår, at tidspunktet for blodprøvens tagning fremrykkes fra nuværende 5-7 døgn efter fødslen, til tidsrummet 48-72 timer efter fødslen. Nogle af de behandlingskrævende sygdomme, som vil kunne påvises ved screeningen, debuterer med kritisk sygdom ganske kort efter fødslen. For at have størst effekt skal behandlingen imidlertid helst påbegyndes inden sygdomsdebut, og fremrykningen af prøvetagningstidspunktet vil således gavne disse børn.

#### 1.4.3 Sygdomme, som det anbefales af screene for

Arbejdsgruppens anbefalinger vedrørende sygdomme, der bør screenes for, er,

- at screeningen for medfødt hypothyreose (CH) og medfødt fenyylketonuri (PKU) fortsætter uændret, dog at PKU-screeningen permanent baseres på tandem-MS analyse
- at det i 2002 etablerede projekt udvidet screening for en række medfødte stofskiftesygdomme, med visse justeringer<sup>12</sup> videreføres, fremover som led i det rutinemæssige tilbud til alle nyfødte

Den kvantitativt vigtigste gruppe er medfødte defekter i fedtsyreoxidationen i mitokondrierne. Fedtsyreoxidationen i mitokondrierne er en af de vigtigste energikilder for organismen, og specielt under faste dækker den op til 80% af det totale energibehov. Børn med defekt fedtsyreoxidation er derfor ekstremt sårbare under faste, specielt hvis energibehovet samtidig øges fx pga. feber og infektion. I sådanne tilfælde kan sygdommen vise sig med hurtigt indsættende bevidstløshed og stofskiftekrise, med stor risiko for død eller varig neurologisk skade. Risiko for stofskiftekrise er tilstede selv hos dem, der forbliver asymptomatiske indtil voksenalder. Undersøgelsen omfatter også en række andre, mere sjældne metaboliske sygdomme. Blandt de 8-10 nyfødte årligt, som forventes fundet ved denne screening, vil over halvdelen have MCAD-, LCHAD- eller VLCAD-mangel.

- at der også bør screenes for de sjældne medfødte stofskiftesygdomme tyrosinæmi<sup>13</sup> og biotinidasemangel

*Tyrosinæmi* skyldes en defekt i nedbrydningen af aminosyren tyrosin. Indtil for ti år siden var der næsten ingen behandlingsmuligheder. Ubehandlet ville mange udvikle leversvigt før 2-årsalderen og blandt de overlevende ville stort set alle udvikle hepatocellulært karcinom (leverkræft). De fleste ville være døde inden 10 års alderen. Med indførelse af NTBC-behandling i de senere år er udsigterne for disse børn revolutionerende ændret, specielt såfremt de diagnosticeres tidligt. Effektiviteten af behandlingen afhænger af tidspunkt for behandlingsstart,

12 Følgende tilstande vurderes som egnede primære screeningsmål i det rutinemæssige program: CTD, GAI, LCHADD/TFP, MCADD, MCD, MMA, MSUD, PA, TYR, VLCADD og ASL.

Følgende tilstande vurderes som acceptable differentialdiagnostiske screeningsmål i forhold til ovenstående samt til PKU: BIOPT, H-PHE, GA2, M/SCHAD.

13 Betinget af, at Statens Serum Institut opsætter og validerer en nylig offentliggjort analysemetode baseret på tandem-MS for succinylacetone, med meget lav falskpositivrate.

hvilket er dokumenteret i erfaring med over 300 patienter i NTBC-behandling på verdensplan. Svær *biotinidase-mangel* er en alvorlig sygdom, der ubehandlet medfører betydelige lidelser, irreversible alvorlige handikap og eventuelt død. Behandlingen er simpel, billig og effektiv, med fuldt normal udvikling, hvis den iværksættes tidligt.

- at der bør screenes for medfødt adrenogenitalt syndrom<sup>14</sup>

Medfødt adrenal hyperplasi (CAH) blev betragtet som et vigtigt screeningsmål allerede i redegørelsen fra 1980, og screening for denne sygdom blandt nyfødte indgår i en række udenlandske programmer (fx det svenske). Erfaringerne viser, at de alvorlige tidlige saltkriser hos drenge undgås, og at korrekt kønstilskrivelse hos viriliserede piger sker væsentlig tidligere. Også i forhold til mildere former af CAH er der gavnvirkninger i form af nedsat virilisering, samt normaliseret vækst og pubertet.

- at det eksisterende screeningsprogram for medfødt toxoplasmose bør revurderes mhp evt. justeringer i forbindelse med nye retningslinjer for svangreomsorgen

Screeningsprogrammet for infektionssygdommen toxoplasmose, som blev indført med revisionen af svangreomsorgens retningslinjer (1998) vurderes at have haft gavneeffekt i form af årligt faldende antal nyfødte, som har medfødt toxoplasmose, hvilket formentlig skyldes den med programmet forbundne intensiverede oplysningsindsats til gravide om smitteundgåelse. Med den af arbejdsgruppen anvendte systematik scorede Toxoplasmose lavere end forventet, hvilket formentlig afspejler, at der ikke er sikker dokumentation for virkning af den givne forebyggende medicinske behandling til nyfødte uden klinisk sygdom. Det anbefales derfor i relation til den igangværende revision af retningslinjer for svangreomsorgen og under inddragelse af relevant sagkundskab at se på, om programmet skal justeres.

#### 1.4.4 Vedrørende økonomisk kost-effektivitet mv.

De samlede direkte meromkostninger som følge af fuld realisering af arbejdsgruppens forslag er omtalt ovenstående. Mere detaljerede skøn fremgår af kapitel 6. Et principielt aspekt skal omtales her. Ved de historisk etablerede screeningsprogrammer for medfødt hypothyreose og medfødt fenyktonuri opnås pga tidlig opsporing og behandling, at børnene udvikler sig normalt som alternativ til uafvendeligt fremadskridende intelligensdefekt. Som følge heraf er derfor store afledede besparelser forbundet med screeningen for disse tilstande.

Situationen er mere kompliceret for nogle af de tilstande, som er omfattet af arbejdsgruppens forslag. Her vil tidlig opsporing og iværksættelse af behandling gavne børnene, men behandlingen vil alligevel i nogle tilfælde repræsentere et væsentligt mere omkostningskrævende alternativ, end eksempelvis ingen screening og tidlig død. Vurderingen kompliceres af, at mange af disse sygdomme er så sjældne, at gode kohorteundersøgelser ikke har kunnet etableres.

Beslutning om at screene må i sådanne tilfælde først og fremmest ses som prisen for forbedret livskvalitet og overlevelsesmuligheder for en lille gruppe af nyfødte med alvorlig medfødt sygdom, ud fra erkendelse af, at screeningen ikke eller kun delvist kan "betale for sig selv".

For den gruppe af medfødte stofskiftesygdomme, som kan diagnosticeres i en fælles tandem-MS platform, vurderes sparede omkostninger - set for denne gruppe som helhed - nogenlunde at ækvivalere omkostninger ved screeningen. For biotinidascreeningen vurderes afledte sparede udgifter at ækvivalere halvdelen af omkostningerne ved screeningen, men for de to resterende sygdomme, som kræver stand-alone analyser (tyrosinæmi og medfødt adrenogenitalt syndrom)

14 Betinget af, at Statens Serum Institut forinden opsætter og validerer en togrenet analyse (two-tier), hvor det ved retrospektiv afprøvning herunder også med prøver fra præmature nyfødte dokumentes, at den forventede falskpositivrate kan nedbringes til < 0,03 procent.

vurderes sparede omkostninger kun at udgøre en lille del af omkostninger ved screeningen. Meromkostninger er i kapitel 6 beregnet for hver enkelt anbefaling, hvorved bl.a. forskellen mellem det relativt store antal stofskiftesygdomme som det er relativt billigt at screene for (fedtsyreoxida-tionsdefekter mv), og de to stofskiftesygdomme som det er relativt dyrt at screene for (tyrosinæmi og tildels også biotinidase) understreges. Det er imidlertid arbejdsgruppens opfattelse, at gruppen af stofskiftesygdomme økonomisk snarere burde ses under ét, fordi tilstandenes alvorlighed, be-handlingsbehov og gavnvirkninger er ækvivalente – det er alene den omstændighed, at to af sygdommene af prøvetekniske grunde kræver separat analyse, som fordyrer dem i forhold til de øvrige stofskiftesygdomme. For så vidt angår screening for medfødt adrenogenitalt syndrom for-dyres denne løsning af hensynet til minimering af falskpositivraten.

## 2 Principper for screening

### 2.1 Generelt om screeningstests

Ved en screeningstest forstås en test, som kan dele populationen af undersøgte (her: nyfødte børn) i to dele, sådan at børnene i den ene delpopulation (de testpositive) har en vis, stor sandsynlighed for at have den eller de sygdom(me), der undersøges for, mens medlemmer af den anden delpopulation (de testnegative) sandsynligvis ikke har sygdommen(e). Der skal for den første gruppes vedkommende altid foretages supplerende undersøgelser for at stille den endelige diagnose.

Detektionsraten (DR) er procentandelen af de afficerede undersøgte ("syge"), som screener positivt i testen – intuitivt kan man tænke på en diagnostisk detektivs "opklaringsprocent". Et talmæssigt udtryk herfor beregnes således:

$$DR = (\text{screenpositive afficerede} / \text{samtlige afficerede}) \times 100$$

Falskpositivrate (FPR) er procentandelen af de ikke-afficerede undersøgte ("raske"), som screener positivt i testen – intuitivt kan man tænke på den del af befolkningen, som detektiven fejlagtigt mistænker. FPR beregnes således:

$$FPR = (\text{screenpositive ikke-afficerede} / \text{samtlige ikke-afficerede}) \times 100^{15}$$

Begge disse parametre er uafhængige af sygdommens hyppighed i den undersøgte befolkning. Set med den undersøgte øjne kan det være mere relevant at kende risikoen for at være syg, givet et screenpositivt testresultat. Denne betingede risiko udtrykkes bedst ved et odds for at være afficeret, givet positivt screeningsresultat (OAPR):

$$OAPR = (\text{sandtpositive} / \text{falskpositive})$$

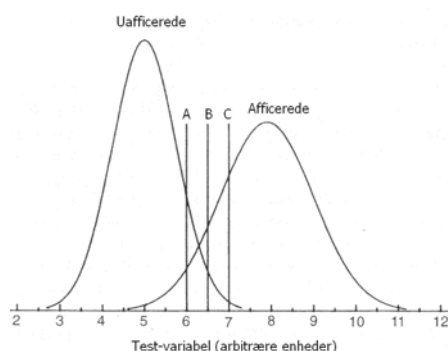
Et andet mål for det samme er den positive prædiktive værdi af testen (PPV), defineret som antallet af screenpositive afficerede børn divideret med alle screenpositive, som regel omregnet til en procentværdi.

En ideal test ville have en *detektionsrate* (DR) på 100 procent (detekterer *alle* syge), og en *falskpositivrate* (FPR) på 0 procent (mistænker *ingen* raske for at være syge). Den prædiktive værdi heraf ville være odds 1:0 (PPV 100%), og værdien ville være prævalensafhængig. Sådan en test findes ikke. For en række sygdommes vedkommende findes der imidlertid tests, som har så høj detektionsrate, og så lav falskpositivrate, at de er anvendelige i praksis.

---

15 Antallet af ikke-afficerede undersøgte vil i praksis være næsten lige så stort som antallet af samtlige undersøgte. Ofte ses også anvendt en tredje parameter, falsknegativrate (FNR), som kan sammenlignes med andelen af "fejlagtigt frikendte":  $FNR = (\text{testnegative afficerede} / \text{samtlige undersøgte}) \times 100$ .





Figur 2-1. Forholdet mellem detektionsrate (DR) og falskpositivrate (FPR) af en test afhænger af, hvilken værdi for testvariabelen man fastsætter som cut-off. I figuren er konsekvenserne af forskellige valg af cut-off (angivet ved linjerne A, B, C) illustreret.

## 2.2 Mulige positive konsekvenser af screening for sygdom

For at danne sig et overblik over mulige positive konsekvenser af screening er det mest praktisk at se på, hvilke *formål*/screeningsprogrammer historisk har haft. I Sundhedsstyrelsens rapport fra 1980 nævnes: "Formålet [...] er enten at opspore en sygdom, der kan behandles, i et asymptomatisk eller reversibelt stadium, således at barnet sikres en normal udvikling (fx medfødt hypothyreose, eller fenyketonuri), eller formålet er at opspore sygdommen hvor en tidlig diagnose, uanset sygdommens irreversible karakter, kan forbedre behandlingen med en mindskning af barnets handicap til følge (fx infektion af fostret med røde hunde (rubella)). Endelig kan screeningen have til formål at opspore såkaldte indeks-tilfælde (fx Duchenne's muskeldystrofi), således at forekomsten af nye tilfælde med den pågældende sygdom inden for familien kan undgås, enten ved genetisk rådgivning eller i visse tilfælde ved prænatal diagnostik efterfuldt af muligheden for tilbud om svangerskabsafbrydelse. Ved gennemførelse af tidsbegrænsede screeningsprogrammer kan man desuden sikre sig viden om medfødte sygdommes forekomst i befolkningen."<sup>16</sup> Her til kunne man føje andre potentielle fordele, eksempelvis undgåelse af diagnostisk forsinkelse (diagnostic delay) med unødigt Odyssé i sygehusvæsenet til følge – et velkendt problem i forbindelse med stofskiftesygdomme, hvor initialsymptomerne ofte er ukarakteristiske.

Selv om der kan beskrives flere forskellige potentielle fordele ved at screene, har arbejdsgruppen været enig om at *fokuser på barnets tarv som den afgørende værdi ved nyfødtscreeningen*. Dette fokus var også det stærkest fremtrædende i rapporten fra 1980.

## 2.3 Mulige negative konsekvenser af screening for sygdom

Det er almindeligt i drøftelser af de psykosociale konsekvenser af screening, at efterlyse yderligere undersøgelser (jf fx Det Ethiske Råd 1999<sup>17</sup>). Dette er dog ikke ensbetydende med, at området er uudforsket. Seymour et al (1997) identificerede 758 artikler om konsekvenserne, blandt hvilke 57 artikler belyste de direkte psykologiske virkninger af screening blandt nyfødte<sup>18</sup>. Green et al (2004) foretog en litteraturgennemgang bl.a. for at belyse langtidskonsekvenserne af falskpositive fund hos nyfødte. De fandt 28 artikler egnede, hvoraf dog kun to omfattede mere end 1000 personer.<sup>19</sup> De fleste af disse undersøgelser drejer sig om screening og/eller diagnostik for alvorlig sygdom, hvor effektiv behandling som kan forhindre udvikling

16 Sundhedsstyrelsen 1980. Neonatal screening – principper og organisation (redegørelse); 21.

17 Screening - en redegørelse

18 Seymour CA, et al. HTA 1997;Vol 1: No. 11. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: a systematic review

19 Green JM, et al. HTA 2004;Vol.8: No.33. Psychosocial aspects of genetic screening of pregnant women and newborns: a systematic review

af sygdommens hovedmanifestationer ikke eksisterer (fx Duchenne muskeldystrofi, cystisk fibrose). Baseret på de ovennævnte oversigter er der efter arbejdsgruppen opfattelse, ud fra en helt generel betragtning, videnskabeligt belæg for følgende mulige negative konsekvenser af screening:

### 2.3.1 Psykiske konsekvenser for barnet

#### 2.3.1.1 Følger af blodprøvens tagning

Flere undersøgelser har konkluderet, at det lille prik i hælen – specielt gentaget ved mislykket prøvetagning – er smertefuldt for barnet, hvilket bl.a. fremgår af gråd, grimasser og energiske bevægelser, samt hurtigere åndedræt og puls. I nogle undersøgelser er det fundet, at effektiv smertelindring kan opnås ved ret enkle midler, eksempelvis en teskefuld sukkervand i forbindelse med proceduren (som det er praksis i Danmark). Man har efterlyst undersøgelser, som kan belyse ”de langsigtede konsekvenser af hælprick proceduren på børnene”.<sup>20</sup> Det er dog efter arbejdsgruppens opfattelse ikke sandsynligt, at det ville være muligt at påvise en kausal forbindelse mellem en persons psykologiske tilstand på et givet tidspunkt i en persons liv, og et prik i hælen som denne person havde fået en årrække tidligere – specielt da en kontrolgruppe ville være vanskelig at etablere.

#### 2.3.1.2 Risiko for overbehandling

Det er åbenbart, at der vil kunne være potentielle skadevirkninger af, at et barn unødvendigt sættes i behandling baseret på en test, hvis betydning ikke er definitivt afklaret. Dette understreger betydningen af, at den diagnostiske algoritme vurderes kritisk, men selv forudsat perfekt diagnostik må der fortsat tages hensyn til muligheden af kun delvis penetrans af sygdomsfremkaldende alleler. Dette vil have specielt stor betydning i tilfælde, hvor behandlingen er indgribende i barnets/familiens livsførelse, eller måske ligefrem risikabel for barnet.

#### 2.3.1.3 Risiko for underbehandling

Et falsknegativt screeningsfund kan øge risikoen for diagnostisk forsinkelse, så barnets sygdom – når den begynder at vise sig klinisk – initialt miskendes.

### 2.3.2 Psykiske konsekvenser for forældrene

#### 2.3.2.1 Konsekvenser af screenpositivt fund før diagnose

Når forældre til et nyfødt barn forelægges et screenpositivt fund – med oplysning om, at der kræves yderligere undersøgelser for at afklare, om barnet *har eller ikke har* en bestemt alvorlig tilstand – konfronteres disse forældre med *muligheden af en* familiær katastrofe. Selv om dette rationelt betraget ikke er det samme som, at barnet faktisk *har* sygdommen, tyder undersøgelser på, at forældrene reagerer på tilsvarende måde.

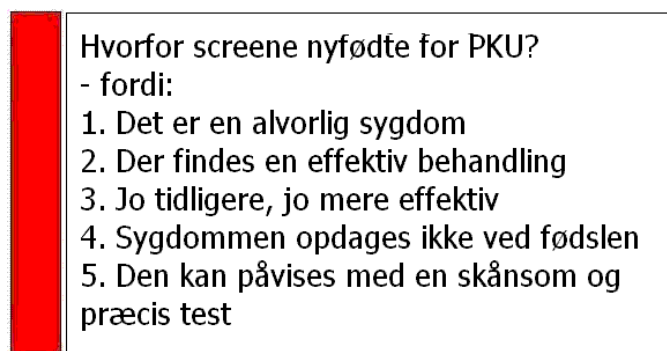
Jo større prædiktiv værdi et positivt testresultat har, jo mere nærmer det sig et diagnostisk udsagn – og desto mindre kan modtagerne af svaret gøre sig håb om, at den yderligere undersøgelse vil afkræfte mistanken. Tidsintervallet mellem screeningsfundet og det endelige diagnostiske udsagn bør derfor være så kort som muligt. Om muligt bør den diagnostiske afklaring ske på grundlag af det allerede udtagne prøvemateriale, således at retestning kan undgås, dvs. det kan evt. undgås at forelægge falsk screenpositive fund for forældrene.

#### 2.3.2.2 Konsekvenser af rask-diagnose efter screenpositivt fund

Studier af de psykologiske virkninger af raskdiagnose efter initialt screenpositivt fund (hvorved sidstnævnte kan rubriceres som falskpositivt) støtter sig på undersøgelser af forældre til børn, som er kommet sig efter livstruende sygdom. Sådanne forældre vides at kunne udvikle en langvarig frygt for, at barnet er særligt sårbart, med øget frekvens af kontakter til sundhedsvæsenet.

---

<sup>20</sup> Green et al op.cit (reference 19).



Figur 2-2. Kerneværdier for nyfødscreeningen – her eksemplificeret ved PKU.

En svensk undersøgelse fandt alvorlige psykiske eftervirkninger hos langt de fleste forældre, selv efter en årrække. De interviewede forældres udtalelser blev underkastet en transformation baseret på en teoretisk psykoanalytisk model for såkaldt angstfri viden. Forfatternes konklusion var, at der var alvorlige psykiske eftervirkninger af et falskpositivt screeningsfund hos langt de fleste forældre, og at de negative virkninger holder sig i årevis. Der var behov for ekstensiv støtte og rådgivning til modtagerne af sådanne svar – dvs. intervention med krisehjælp.

#### 2.3.2.3 Konsekvenser af syg-diagnose efter screenpositivt fund

Angst- og depressionsniveau hos forældre i forbindelse med klinisk diagnose adskiller sig ikke signifikant fra forholdene hos forældre i forbindelse med diagnose på grundlag af screening. Seymour et al konkluderede, at flere undersøgelser "tyder på, at den kliniske diagnosticering af alvorlig genetisk sygdom hos et barn er følelsesmæssigt traumatisk for forældrene"<sup>21</sup> (en konklusion, som de fleste forældre nok vil være i stand til at drage uden at søge videnskabeligt belæg for den). Der har *ikke* konsistent kunnet dokumenteres nogen negativ påvirkning af forældre-barn tilknytningen (bonding).

#### 2.3.3 Fordele kontra ulemper

De potentielle negative konsekvenser er så reelle, at nyfødscreening ikke bør gennemføres hvis de potentielle fordele for børnene kun er marginale. Såfremt forudsætningerne for at screene vurderes opfyldt, kan og bør de væsentligste negative konsekvenser af screening minimeres ved at minimere antallet af falskpositive i det størst mulige omfang, samtidig med at en høj detektionsrate fastholdes. Endvidere skal diagnostisk afklaring ske hurtigst muligt, og organisationen skal i alle henseender være velfungerende.

### 2.4 Et sæt af kerneværdier for nyfødscreeningen

Arbejdsgruppen har ved fastlæggelse af kerneværdier taget sit udgangspunkt i, at screening for PKU er veletableret med næsten 100% tilslutning, og generelt - også internationalt - betragtes som et forbillede for nyfødscreening (screeningsparadigme). Arbejdsgruppen er ikke bekendt med, at man fra nogen side finder PKU-screeningen kontroversiel (tilsvarende kunne anføres for CH-screeningen, der nok er mindre kendt i befolkningen). Drøftelse af baggrunden herfor førte til at udskille følgende kerneværdier: (a) at sygdommen er alvorlig (for PKU: udvikling af svært mentalt handicap); (b) at der findes en behandling som effektivt forebygger de fleste skadevirkninger; (c) at tidligt iværksat behandling er afgørende for optimal behandlingseffekt, men (d) at sygdommen ikke klinisk manifesterer sig ved fødslen. Endelig (e) at der findes en *egnet* screeningtest (høj detektionsrate, lav falskpositivrate), som kan påvise sygdommen ved fødslen. Ser man samlet på disse kerneværdier, så udmærker de sig ved at have moralsk karakter (samaritansk omsorg, barnets tarv).

21 <http://www.ncchta.org/fullmono/moni07.pdf> HTA 1997;Vol 1:no.7:87.

Betydning af tidlig behandling – erfaringer med PKU					
Alder ved behandlingens start (uger)	N=	Alder ved test (år+md)		Intelligens (IK)	
		Median	Yderværdier	Median	Yderværdier
<4	4	4+1	2 – 9+6	105	87-143
4-13	7	9	5+11– 12+11	89	61-108
14-52	11	9+10	6-14	83	50-107
>52	10	11	8+1-15+1	65	21-95

Tabel 2-1. Kilde: F. Güttler. *Acta Paediatr Scand. Suppl.1980;280:1-80.*

Forklaringen på, at vi screener for PKU, omfatter mere end dette – fx ville det høre med til en sådan forklaring, at de fornødne samfundsøkonomiske forudsætninger har været anset for indfriet. Men det er *høj opfyldelse på kerneværdierne*, som forklarer, at screening for PKU har så bred accept samfundsmæssigt. Arbejdsgruppen føjede hertil (f) forebyggelse af (tidlig) død. I rapporten vil vi ofte referere til dette sæt af kerneværdier som DK-kriterierne.

#### 2.4.1 KRITERIUM 1. Sygdomsbyrden er uden behandling tung.

Ubehandlet klassisk PKU vil oftest resultere i svær mental retardering. Efter screeningen med Guthrie-testen blandt nyfødte var indført, blev der også foretaget en screening af patienter bosiddende på institutioner under Statens Åndssvageforsorg, hvorved mange ubehandlede, svært mentalt retarderede tilfælde af PKU blev diagnosticeret.<sup>22</sup> Ultimo 2005 er der ved Center for PKU-behandling på Kennedy Institutet kendskab til 54 sent-diagnosticerede, ubehandlede patienter født i årene 1921-1964 (fødselsår median 1950). Hovedparten af disse opholder sig på institutioner eller mindre boenheder for psykisk udviklingshæmmede. Et par af dem kan klare sig med hjælp i egen bolig.

#### 2.4.2 KRITERIUM 2. Behandlingens effektivitet i forhold til at forhindre sygdommens skadevirkninger på barnet er stor .

Omkring 1950 indledtes det første tilfælde af diætbehandling af et 2 år gammelt barn med PKU.<sup>23</sup> Siden da er princippet i diætbehandling ikke ændret væsentligt. Følges diæten regelret med S-phenylalanin under 400 µmol/L i de 8 første leveår, sikres en intellektuel udvikling indenfor det normale. Trods god diætkontrol synes de cognitive funktioner dog at være lidt dårligere hos børn med PKU end hos jævnaldrende uden PKU.<sup>24</sup>

#### 2.4.3 KRITERIUM 3. Betydning af tidligst mulig påvisning med iværksættelse af behandling er stor.

En randomiseret kontrolleret undersøgelse heraf er aldrig udført, og bør af indlysende etiske grunde aldrig udføres. Der er dog ikke tvivl om den afgørende betydning af tidsfaktoren, hvilket også er veldokumenteret i historiske kohorteundersøgelser, jf. eksempelvis ovenstående tabel. Det er et fundamentalt princip, at for at undgå hjerneskade, er det vigtigt, at diæten indledes så tidligt som muligt.

22 Güttler F, Wamberg E (1977). Fasting serum phenylalanine in untreated institutionalised patients with fenylketonuria. *J Ment Defic Res* 21: 55-62.

23 Bickel H. The first treatment of phenylketonuria. *Eur J Pediatr*. 1996 Jul;155 Suppl 1:S2-3

24 Gassio et al. School performance in early and continuously treated phenylketonuria. *Pediatr Neurol*. 2005 Oct;33(4):267-71.

#### 2.4.4 KRITERIUM 4. Vanskeligheden ved at erkende fænotypen klinisk på fødselstidspunktet er stor.

For den klassiske form erkendes den retarderede udvikling ofte omkring ½-1-års-alderen<sup>25</sup>, dvs. længe efter at behandling skulle være påbegyndt for optimal forebyggelse af hjerneskaden. En uomgængelig forudsætning for optimal behandling af børn med PKU er derfor, at påvise tilstanden hos dem lige efter fødslen. Dette kræver en test.

#### 2.4.5 KRITERIUM 5. Egnetheden af den anvendte screeningstest, bedømt ved detektionsrate (høj) og falskpositivrate (lav), er stor.

Også dette kriterium kan eksemplificeres med PKU. Guthrie-metoden blev taget i landsdækkende brug i Danmark fra januar 1975<sup>26</sup>, og havde en detektionsrate på praktisk taget 100 procent.<sup>27</sup> Samtidig var falskpositivraten blot ca. 0,1%, hvortil dog kom ca. 0,4% genindkaldelser pga. såkaldt "klar zone" (antibiotikabetinget). I historisk lys var dette antal falskpositive/genindkaldelser meget lavt, og utvivlsomt medvirkende til den samfundsmæssige accept af screeningen. I løbet af 2003 er Guthrie-testen blevet erstattet af tandem-MS analyse, hvilket har ført til, at falskpositivraten nu er tæt ved 0 ( $\approx 0.002\%$ ), og genindkaldelser pga. klar zone slet ikke forekommer.

25 Hos enkelte kvinder er diagnosen først stillet efter at de selv har født et eller flere børn med abnormt lille kranieomfang (microcefali), andre medfødte misdannelser, og/eller abnorm intellektuel udvikling forårsaget af den ubehandlede PKU hos kvinden. Kvindens egen hjerne har i disse tilfælde tilsyneladende været relativt uberørt af påvirkningen fra phenylalanin.

26 Guttler F. Hyperphenylalaninemia: diagnosis and classification of the various types of phenylalanine hydroxylase deficiency in childhood. Acta Paediatr Scand Suppl. 1980;280:1-80

27 Siden 1975 har der kun været ét kendt dansk tilfælde, hvor et barn med PKU ikke fik stillet diagnosen som nyfødt. Diagnosen blev stillet i 3-års-alderen ved en aminosyreanalyse, der udførtes som led i en udredning pga. manglende sprogdudvikling. PKU-prøven var taget, men nåede aldrig til SSI. Da man ikke på fødestedet registrerede, om der kom svar fra SSI, blev fejlen ikke opdaget.

## 3 Udvalgelse af mulige screeningsmål

De fleste af de sygdomme, som denne rapport vil komme nærmere ind på, tilhører gruppen af medfødte stofskiftesygdomme. Dette er resultat af en udvælgelsesproces, hvor arbejdsgruppen tog udgangspunkt i et langt større spektrum af mulige screeningsmål. Hensigten med nærværende kapitel er at beskrive, hvorledes denne udvælgelsesproces har været gennemført.

Ved en medfødt stofskiftfejl (inborn error of metabolism (IEM)) forstår arbejdsgruppen en biokemisk forstyrrelse, som kan forårsage sygdom<sup>28</sup>, og hvor en specifik proteindefekt (fx. enzymdefekt) betinget af mutation i et gen ligger til grund for den biokemiske forstyrrelse. Medfødte stofskiftesygdomme er forårsaget af mangel på et funktionelt enzym eller en transmembran transporter, som resulterer i en blokade af en given metabolisk vej (pathway). Dette inkluderer sygdomme i katabolismen (nedbrydningen) eller syntesen (opbygningen) af kulhydrater, aminosyrer, organiske syrer, fedtsyrer, puriner, pyrimidiner, porphyriner, steroider, lipider, galdesyre, komplekse kulhydrater og lipider (lysosomale defekter), samt sygdomme i de processer, der påvirker optagelse, syntese og forbrug af essentielle vitaminer/co-faktorer for enzymerne i disse metaboliske veje<sup>29</sup>. Det drejer sig om monogene sygdomme, som både kan være autosomt eller X-bundet nedarvet. De er enkeltvis sjældne, men set som gruppe er incidensen af sygdommene betydelig med incidens på omkring 1:3-4000 blot for gruppen af sygdomme forårsaget af defekter i metabolismen af aminosyrer, organiske syrer og fedtsyrer<sup>30,31,32</sup>. Sidstnævnte ville svare til 20-25 ny-diagnosticerede børn om året i Danmark.

### 3.1 Spektret af mulige screeningsmål

Globalt set har et stort antal forskellige sygdomme i årenes løb været bragt på bane, hvor screening har været foreslået/diskuteret (jf. bilag 2 og bilag 3). Blandt disse er det kun et relativt fåtal, der har fundet plads i etablerede screeningsprogrammer. Men selv mellem lande og regioner, som etnisk og kulturelt er meget nærstående, udviser screeningsmønstret fortsat ganske store forskelle. Eksempelvis har man i næsten 25 år i Sverige og en række andre lande screenet alle nyfødte for medfødt adrenogenitalt syndrom (CAH), som vi ikke screener for i Danmark. Omvendt screener man i Danmark (og Sverige) for medfødt toxoplasmose, som man kun få steder i verden screener for. Det er i lyset heraf naturligt at efterlyse et evidensgrundlag og en procedure, som muliggør en rationel sammenligning mellem forskellige alternativer.

### 3.2 Uniform screening panel (USA)

Arbejdsgruppen har ved sin indledende formulering af hypoteser om screeningspotentiale gjort brug af nyligt offentliggjorte data fra det amerikanske *Uniform Screening Panel*<sup>33</sup>, som kvantiterer et stort antal sygdommes screeningspotentiale mv. Hovedformålet med denne rapport (bestilt af det amerikanske sundhedsministerium, og udarbejdet i regi af *American College of Medical Genetics* (ACMG)) var at etablere et evidensgrundlag for beslutninger om hvilke sygdomme, der bør screenes for blandt nyfødte, samt at gennemgå den videnskabelige litteratur.

28 Der er en betydelig tolerance for fejl i stofskiftet, og en enzymdefekt behøver langt fra altid medføre sygdom. Flere forskellige enzymer vil i nogle tilfælde konkurrere om at modificere det samme substrat, og for mange metaboliske intermedierer kan der være mere end én måde til at opnå det samme slutprodukt. Sygdom optræder derfor kun, hvis aktiviteten af et uerstatteligt enzym, eller et enzym i et sårbart omsætningsled påvirkes.

29 Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. *Health Technol Assess* 1997;1:i-202.

30 Zytkovicz TH, Fitzgerald EF, Marsden D et al. Tandem mass spectrometric analysis for amino, organic, and fatty acid disorders in newborn dried blood spots: a two-year summary from the New England Newborn Screening Program. *Clin Chem* 2001;47:1945-55.

31 Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D et al. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. *Pediatrics* 2003;111:1399-406.

32 Applegarth DA, Toone JR, Lowry RB. Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969-1996. *Pediatrics* 2000;105:e10.

33 Newborn Screening: Toward a Uniform Screening Panel and System. *Federal Register*: March 8, 2005 (Volume 70, Number 44).

Fjorten parametre for screeningspotentiale – ACMG-studiet	
1. Tilstandens hyppighed (incidens); max 100 points.	8. Potentiel effektivitet af eksisterende behandling; max 200 points.
2. Ingen klinisk erkendelig fødselsfænotype; max 100 points.	9. Benefit af tidlig intervention (individuelt dvs barnet); max 200 points.
3. Sygdomsbyrde; max 100 points.	10. Benefit af tidlig identifikation (familie og samfund); max 100 points.
4. Egnede test (høj DR, lav FPR); max 200 points.	11. Tidlig diagnose og behandling kan forhindre dødsfald; max 100 points.
5. Testkarakteristika (fx simpel, høj kapacitet, lav analysepris, fællesplatformtest, etc); max 500 points.	12. Tilgængelighed af diagnostisk konfirmation; max 100 points.
6. Tilgængelighed af behandling; max 50 points.	13. Tilgængelighed af akut behandling; max 100 points.
7. Økonomiske omkostninger ved behandling; max 50 points.	14. Behandlingens enkelhed; max 200 points.

*Tabel 3-1. Anvendte kriterier i ACMG-studiet. Til brug for at generere forhåndshypoteser om mulige screeningsmåls styrke, har arbejdsgruppen udtrukket en delmængde heraf (kriterium 2,3,4,8,9,11) og gennemført en uafhængig vægtningsprocedure. Tabellen er baseret på<sup>34</sup>.*

Rapporten bygger på, at der først blev udviklet et sæt *kriterier for screeningspotentiale*, som derefter dannede grundlag for en struktureret *scoringprocedure* med et stort antal ( $\approx 300$ ) overvejende medicinsk sagkyndige respondenter. Dette efterfulgtes af en *validerings- og evalueringsprocedure*, hvor den højest tilgængelige sagkyndige ekspertise blev inddraget i validering. Valideringen omfattede også bedømmelse af evidensniveauet for scoreværdier for hver enkelt sygdom på de anvendte kriterier (fx incidens, sygdomsbyrde, ubehandlet forløb, behandlingsmuligheder, test, tilgængelighed etc).

Screeningspotentiale blev af respondenterne bedømt på 19 kriterier fordelt i 14 kategorier, i forhold til en liste over medfødte sygdomme (84 tilstande). På hvert kriterium kunne tildeles et større eller mindre antal points. Scoringsskemaet omfattede således totalt  $84 \times 19 = 1596$  datafelter. De kvantificerede svar fra eksperter blev sammenlignet med de kvantificerede svar fra alle respondenter under et uden at der blev fundet væsentlig inkonsistens. Derpå blev evidensgrundlaget bedømt af udvalgte fagspecialister.

### 3.2.1 Vurdering af rapporten fra uniform screening panel

Der er en række svagheder ved ACMG-studiet. Den måde, data vægtes på i rapporten, er først og fremmest problematisk, - fx favoriserer de vægte, som anvendes, på forhånd tandem-MS og andre såkaldte multiplexmetoder, idet disse vejes tungere ind i rangscoren, end de potentielle gavnvirkninger for syge børn. Nogle af de anvendte parametre er endvidere ikke tilstrækkeligt entydigt og eksplicit defineret – eksempelvis parametre som tilgængelighed og økonomi. Hertil kommer, at det amerikanske studie reelt ikke begrundes (og ikke konsistent anvendes) et på forhånd defineret cut-off for udvælgelse. Disse indvendinger anfægter imidlertid ikke i sig selv datasættets kvalitet, som bygger på et stort antal sagkyndige vurderinger og omfattende litteratursøgning.

Det har fra nogle sider været kritiseret, at ekspertvurderinger gik forud for litteratursøgningsfasens vurdering af evidensniveauer (og ikke omvendt). Uanset dette, er der tale om en kombination af bredde og dybde i den sagkyndige ekspertise, som er uden sidestykke på dette område. Da mange af de sygdomme, som vurderes, er meget sjældne, må det accepteres, at

Resultater af anvendelse af DK-kriterier på ACMG-data

MCAD*	84	MCAD*	94	MCAD*	93	MCAD*	92	MCAD*	93	MCAD*	90
CH	91	CH	97	CH	93	CH	95	CH	87	CH	86
PKU*	92	PKU*	97	PKU*	97	PKU*	97	PKU*	88	PKU*	84
HPRBIL	96	HPRBIL	88	HPRBIL	82	HPRBIL	88	HPRBIL	89	HPRBIL	88
BIOT	82	BIOT	92	BIOT	93	BIOT	91	BIOT	90	BIOT	89
Hb S/S	83	Hb S/S	92	Hb S/S	93	Hb S/S	84	Hb S/S	85	Hb S/S	75
CAH	87	CAH	91	CAH	83	CAH	87	CAH	88	CAH	83
IVA	82	IVA	92	IVA	90	IVA	88	IVA	88	IVA	81
YLCAD*	84	YLCAD*	93	YLCAD*	91	YLCAD*	86	YLCAD*	87	YLCAD*	79
MSUD*	92	MSUD*	96	MSUD*	92	MSUD*	91	MSUD*	91	MSUD*	83
GALT	87	GALT	95	GALT	90	GALT	89	GALT	90	GALT	80
Hb S/bets	63	Hb S/bets	81	Hb S/bets	64	Hb S/bets	76	Hb S/bets	76	Hb S/bets	68
Hb S/C	66	Hb S/C	86	Hb S/C	87	Hb S/C	77	Hb S/C	77	Hb S/C	68
LCHAD*	85	LCHAD*	93	LCHAD*	81	LCHAD*	84	LCHAD*	85	LCHAD*	76
GA I*	88	GA I*	92	GA I*	91	GA I*	85	GA I*	84	GA I*	75
HMG*	81	HMG*	86	HMG*	87	HMG*	81	HMG*	82	HMG*	77
TFP	89	TFP	93	TFP	91	TFP	86	TFP	86	TFP	76
MCD	87	MCD	81	MCD	84	MCD	82	MCD	83	MCD	77
H-PHE*	11	H-PHE*	67	H-PHE*	75	H-PHE*	51	H-PHE*	44	H-PHE*	34
MUT	91	MUT	90	MUT	88	MUT	84	MUT	85	MUT	75
HCY	76	HCY	79	HCY	82	HCY	77	HCY	75	HCY	69
3MCC*	55	3MCC*	79	3MCC*	82	3MCC*	72	3MCC*	70	3MCC*	67
HEAR	73	HEAR	90	HEAR	88	HEAR	92	HEAR	79	HEAR	67
Cbl A,B*	87	Cbl A,B*	87	Cbl A,B*	87	Cbl A,B*	84	Cbl A,B*	84	Cbl A,B*	76
PROP*	91	PROP*	91	PROP*	88	PROP*	84	PROP*	85	PROP*	75
CUD	84	CUD	66	CUD	70	CUD	70	CUD	72	CUD	71
GALK	54	GALK	74	GALK	76	GALK	74	GALK	66	GALK	67
G6PD	42	G6PD	71	G6PD	74	G6PD	64	G6PD	61	G6PD	61
betsKT*	73	betsKT*	77	betsKT*	79	betsKT*	72	betsKT*	70	betsKT*	67
CIT*	88	CIT*	84	CIT*	81	CIT*	79	CIT*	79	CIT*	70
ASA*	87	ASA*	81	ASA*	80	ASA*	78	ASA*	79	ASA*	71
TYR I	87	TYR I	72	TYR I	75	TYR I	76	TYR I	78	TYR I	72
SCAD*	49	SCAD*	76	SCAD*	79	SCAD*	66	SCAD*	63	SCAD*	57
TYR II	63	TYR II	71	TYR II	76	TYR II	69	TYR II	63	TYR II	62
GA2*	88	GA2*	92	GA2*	87	GA2*	75	GA2*	71	GA2*	62
M/SCHA	73	M/SCHA	66	M/SCHA	73	M/SCHA	66	M/SCHA	66	M/SCHA	62
CF	79	CF	87	CF	85	CF	73	CF	68	CF	60
Var Hb	43	Var Hb	63	Var Hb	74	Var Hb	62	Var Hb	60	Var Hb	53
HIV	0	HIV	0	HIV	0	HIV	0	HIV	0	HIV	0
BIOPT (B	86	BIOPT (B	85	BIOPT (B	86	BIOPT (B	80	BIOPT (B	75	BIOPT (B	68
MCKAT	78	MCKAT	70	MCKAT	75	MCKAT	65	MCKAT	62	MCKAT	58
CPT II*	73	CPT II*	76	CPT II*	74	CPT II*	64	CPT II*	63	CPT II*	58
Cbl C,D	83	Cbl C,D	76	Cbl C,D	77	Cbl C,D	71	Cbl C,D	72	Cbl C,D	63
ARG*	78	ARG*	81	ARG*	81	ARG*	73	ARG*	70	ARG*	63
TYR III	52	TYR III	67	TYR III	71	TYR III	62	TYR III	57	TYR III	52
BIOPT (R)	84	BIOPT (R)	85	BIOPT (R)	86	BIOPT (R)	79	BIOPT (R)	75	BIOPT (R)	67
MAL	68	MAL	73	MAL	77	MAL	68	MAL	66	MAL	57
CACT*	85	CACT*	78	CACT*	76	CACT*	69	CACT*	69	CACT*	61
IBG	88	IBG	84	IBG	86	IBG	71	IBG	64	IBG	61
2M3HBA	71	2M3HBA	67	2M3HBA	74	2M3HBA	66	2M3HBA	64	2M3HBA	58
CPT IA*	83	CPT IA*	64	CPT IA*	67	CPT IA*	65	CPT IA*	68	CPT IA*	63
2MBG	53	2MBG	71	2MBG	77	2MBG	64	2MBG	59	2MBG	53
MET	33	MET	66	MET	73	MET	57	MET	51	MET	47
DE RED	79	DE RED	78	DE RED	78	DE RED	67	DE RED	65	DE RED	56
GALE	43	GALE	63	GALE	68	GALE	60	GALE	54	GALE	51
3MGA	66	3MGA	67	3MGA	73	3MGA	62	3MGA	56	3MGA	51
SCID	90	SCID	76	SCID	78	SCID	81	SCID	82	SCID	76
TOXD	50	TOXD	81	TOXD	80	TOXD	57	TOXD	49	TOXD	49
FHC	52	FHC	47	FHC	58	FHC	49	FHC	50	FHC	47

Figur 3-2

Figur 3-3

Figur 3-4

Figur 3-5

Figur 3-6

Figur 3-7

Delmængder (nummereret)

1	2	3	4	5	6
1 = sværhedsgrad ?, dvs. hvis man alene vægter alvorlighed af sygdommen	2 = 1 + egnet test?, dvs. hvis man foruden alvorlighed også ser på, om der findes en test med høj detektionsrate og lav falskpositiv-rate	3 = 2 + fænotype v/ fødslen?, dvs. hvis man foruden de to foregående kriterier også ser på, om sygdommen kan opdaiges ved fødslen uden biokemisk screening	4 = 3 + tidlig intervention gavner barn?, dvs. hvis man foruden de tre foregående kriterier også ser på, om tidlig intervention gavner barnet	5 = 4 + kan forebygge mortalitet?, dvs. hvis man foruden de fire foregående kriterier også ser på, om tidlig død undgås	6 = 5 + behandling effektiv?, dvs. hvis man foruden de fem foregående kriterier også ser på, hvor effektiv den langsigtede behandling er

videnskabelig evidens ved behov suppleres eller erstattes af kvalificerede sagkyndige vurderinger. Efter gruppens vurdering har man i ACMG-studiet opnået at danne den bedste foreliggende brede evidensbase for vurdering af screeningspotentiale.



Forhåndshypoteser om mulige screeningsmål		
Der screenes ikke for gule eller orange kandidaturer, medmindre særlige grunde begrundes dette tilfredsstillende.		
"Grønt kandidatur"	"Gult kandidatur"	"Orange kandidatur"
MCADD, CH, HPRBIL, BIOT, HBSS, CAH, IVA, VLCADD, MSUD, GALT, LCHADD/TFP, GA1, HMG, MCD, MUT, CbIA,B, PA, SCID, PKU	HbS/beta-thalassæmi*, Hb S/C, HCY, 3-MCC, HEAR, CTD, GALK, G6PD, BKT, CIT, ASA, TYR I:II, SCAD, GA2, M/SCHAD, CF, VAR Hb, BIOPT (Bio), MCKAT, CPT II, MAL, CACT, IBG, 2M3HBA, CPT IA, 2MBG, DE RED, GALE, ASL, 3MGA, Cb1 C,D, ARG, Tyr III	H-PHE (= HPA), TOXO, MET, og mange andre (ikke vist).

Tabel 3-8. Forhåndshypoteser om mulige screeningsmål – baseret på arbejdsgruppens vægtede analyse af delmængde fra ACMG (DK-kriterierne). Bemærk: oversigten medtager kun orange kandidaturer hvor særlig begrundelse herfor foreligger. H-PHE, TOXO: kun den samlede rangscore foreligger i ACMG-rapporten.

### 3.3 Anvendelse af DK-kriterierne på data fra uniform screening panel

Ved sin vurdering af ACMG-rapporten var arbejdsgruppen opmærksom på, at de kriterier, arbejdsgruppen har opstillet i kapitel 2, svarer til et udvalg på seks af de fjorten hovedkriterier i ACMG-studiet (se tabel 3-1). En udvælgelse og rangordning af mulige screeningsmål alene bestemt af *DK-kriterierne* ville således være mulig, såfremt scoreværdierne på disse kriterier kunne adskilles fra de øvrige i ACMG-studiet. Problemet lod sig løse på en simpel måde, idet de amerikanske data kunne importeres til et regneark, programmeret således at parametre kunne selekteres og vægtes efter arbejdsgruppens eget valg.<sup>35</sup> Programmet kunne herefter i forhold til et stort antal mulige screeningsmål anvendes til at generere hypoteser om disse mulige screeningsmåls styrke, bedømt efter arbejdsgruppens evalueringskriterier.

Til forskel fra ACMG-studiet fastsatte arbejdsgruppen endvidere et veldefineret cut-off, bestemt ud fra hensynet til, at der skulle udskilles scoreværdier i en 'passende omegn' omkring PKU-niveau.<sup>36</sup> Dette indicerede et cut-off ved  $\geq 75$ -percentilen. For tilstande som scorede over dette niveau, defineredes forhåndshypotesen som: *primært screeningsmål ("grønne kandidaturer")*. For tilstande, som lå under cut-off, men over  $> 50$ -percentilen, defineredes forhåndshypotesen som: *sekundært screeningsmål ("gule kandidaturer")*, dvs. acceptabelt screeningsmål såfremt særlige grunde måtte tilsige dette (fx at tilstanden er differentialdiagnostisk til en højerescorende tilstand). For tilstande, som lå under 50-percentilen, defineredes forhåndshypotesen som: *ikke primært eller sekundært screeningsmål ("orange kandidaturer")*.

### 3.4 Forhåndshypoteser om mulige screeningsmåls styrke

Figur 3-2 til 3-7 viser hvorledes indvægtning af DK-kriterierne enkeltvis eller i kombination ændrer rangscoren for de betragtede tilstande. Tabel 3-8 viser resultatet af arbejdsgruppens vægtning af ACMG-data med hele sættet af de udvalgte kriterier. Tabellens venstre kolonne repræsenterer de stærkeste mulige screeningsmål, ("grønne kandidaturer"). Såvel PKU som medfødt hypothyreose (CH), findes blandt disse. Den venstre kolonne omfatter endvidere en række IEM, som ville kunne påvises ved tandem-MS-screening, og som for manges vedkommende indgår i projekt udvidet screening. Endvidere medfødt adrenogenitalt syndrom (CAH) og biotinidase-mangel. For de nævnte tilstanden er *hypotesen* således, at de ville være værdifulde primære screeningsmål.

35 Regnearksprogrammet kan rekvireres ved henvendelse til Sundhedsstyrelsen psj@sst.dk

36 Rangscoren for PKU varierer afhængig af hvilket sæt af kriterier, der vægtes. Det ville være muligt at tage højde herfor, men variationen er kun lille, så dette er undladt.

Desuden optræder kernikterus som et stærkt screeningsmål, hvilket er mindre overraskende efter fremkomsten af Bjerre og Ebbesens opgørelse.<sup>37</sup> Arbejdsgruppen er bekendt med, at denne problemstilling overvejes i relation til svangreretningslinjerne, og har derfor ikke medtaget kernikterus her. Ligeledes ekskluderede arbejdsgruppen HbSS, hvilket skete efter drøftelse med Hæmoglobinopati Centeret, KAS Herlev. Endelig ekskluderedes SCID, fordi storskala erfaringer med screening herfor mangler. I det videre arbejde medtoges tilstande fra de to næste kolonner kun, såfremt de metodemæssigt var tilknyttet de stærke screeningsmål, eller særlige forhold gjorde sig gældende.

Arbejdsgruppens valg af 75-percentilen som cut-off for udvælgelse af primære screeningsmål forklarer, at cystisk fibrose - som med anvendelse af DK-kriterierne scorede væsentligt under det på forhånd valgte cut-off - ikke var blandt kandidaturer som gik videre til næste vurderingsrunde.

---

37 Bjerre JV, Ebbesen F. Genoptræden af kernikterus hos nyfødte børn i Danmark. Ugeskr Læger 2006;168(7):686-691.

## 4 Gennemgang af udvalgte sygdomme

### 4.1 Den anvendte systematik

I nærværende kapitel foretager arbejdsgruppen en mere detaljeret gennemgang af de udvalgte mulige screeningsmål. Dette må ses i lyset af en planlagt systematik, hvorefter der skulle foretages en definitiv udvælgelse blandt de mulige screeningsmål gennem den i det følgende beskrevne togrenede strategi (som også i store træk blev fulgt):

#### 4.1.1 Gren 1: Den skematiske procedure (alle udtagne)

I den ene gren anvendtes en skemavurdering støttet på de af arbejdsgruppen udarbejdede factsheets, offentliggjort som del II af nærværende rapport. Disse factsheets blev udformet med særligt henblik på at belyse parametre, som relaterede sig til arbejdsgruppens evalueringskriterier. Desuden anvendtes de til at skønne over det videnskabelige evidensniveau på hvert kriterium og tilstand (sidstnævnte baseredes på publicerede metaanalyser af evidens). Arbejdsgruppen har således på baggrund af disse factsheets vurderet, om forhåndshypotesen vedrørende hver enkelt sygdom kunne anses for *konfirmeret* eller *forkastet*.

#### 4.1.2 Gren 2: detaljeret gennemgang (nogle udtagne)

I den anden gren blev en del af de skemavurderede tilstande udtaget til supplerende analyser, som blev støttet på gennemgang af originallitteraturen herunder vedrørende behandlingsmuligheder, screeningspotentiale og -erfaringer.

Nærværende kapitel afspejler denne del af proceduren. Hovedkriterier for udtagning til detalanalyse var: (1) tilstande, hvor hypotesen 'primært screeningsmål' fandtes bekræftet eller afkræftet af den skematiske evaluering, og indstillingen derfor var, at de skulle inkluderes i eller ekskluderes fra det rutinemæssige tilbud; (2) tilstande, hvor hypotesen 'sekundært screeningsmål' fandtes bekræftet; og hvor sådanne tilstande kunne forventes at forekomme differentialdiagnostisk til tilstande nævnt under (1)<sup>38</sup>, eller hvor særlige forhold vurderedes at gøre sig gældende, eksempelvis at en tilstand forekommer særlig hyppigt i et etnisk eller geografisk segment af befolkningen (fx Færøerne, Grønland); samt (3) tilstande, for hvilke forhåndshypotesen var, at de ikke var egnede som primære eller sekundære screeningsmål, men havde været inkluderet fra starten i projekt udvidet screening.

### 4.2 Gennemgang af formodet primære screeningsmål ("grønne kandidaturer")

Gruppen omfatter tilstande som indgår i de tre grupper af medfødte stofskiftesygdomme, der vedrører metabolismen af aminosyrer (AA, herunder PKU), organiske syrer (OA) og fedtsyrer (FAO). Endvidere omfatter gruppen biotinidasemangel (BIOT), medfødt hypothyreose (CH), og medfødt adrenogenitalt syndrom (CAH).

#### 4.2.1 Phenylketonuri (PKU, Føllings sygdom) (AA)

PKU nedarves autosomt recessivt. Der kendes i dag næsten 500 mutationer i *PAH*-genet. Nogle mutationer er specielt hyppige i Danmark og sjældne i andre lande pga. founder effect, mens andre ikke optræder her i landet. Der er overordentlig god overensstemmelse mellem hvilke 2 mutationer, patienten har arvet, og serum-niveauet af phenylalanin. Således medfører 2 mutationer, der ændrer *PAH*-enzymet til ikke at have enzymaktivitet (null mutationer), den svære klassiske form, mens 1 null mutation sammen med en mutation, der levner en vis en-

38 Pga anvendelsen af ret snæver flagging har disse kunne begrænses betydeligt i projekt udvidet screening. Der vil blive gennemgået BIOPT, GA2, 3-MCC, M/SCHAD og MCHAT.

Tilstande med forhåndshypotesen: primære screeningsmål ("grønne kandidaturer")		
Sygdom/tilstand:	Konfirmeret ved skema-vurdering	Udtaget til detailgennemgang
PKU, MSUD, MCADD, LCHADD/TFP, VLCADD, GAI, HMG, MCD, MMA (MUT, CblA, CblB) , PA , BIOT, CH, CAH	JA	JA
GALT, IVA	NEJ	JA

*Tabel 4-1. Tilstande med forhåndshypotesen: primære screeningsmål ("grønne kandidaturer").*

zymfunktion, medfører en mildere form for PKU. Forhøjelsen af phenylalanin kan være så let, at tilstanden ikke kræver behandling. Denne form kaldes non-PKU HPA, ofte bare HPA.

Den uomdannede phenylalanin eller dens metabolitter er toksiske for hjernen, specielt for den umodne hjerne. Dette fører ubehandlet til irreversibel hjerneskade. Tillige er koncentrationen af de biogene metabolitter i CSF nedsat, formentlig fordi hjernens syntese af neurotransmitterne dopamin, noradrenalin og serotonin er kompromitteret. Dette forårsages dels af den nedsatte dannelse af tyrosin, der er precursor for syntesen af dopamin og noradrenalin, dels fordi phenylalanin i høj koncentration virker som en kompetitiv inhibitor ved det første trin i neurotransmittersyntesen, hydroxyleringen af henholdsvis tyrosin og tryptofan.<sup>39</sup>

Fra 1990 – 2005 er der i Danmark født 87 børn med PKU, 10 børn med mild hyperphenylalaninæmi, der har krævet behandling i de første leveår, og 32 børn med ikke-behandlingskrævende mild HPA. I samme periode er antallet af levendefødte ca. 1.069.000. Dette giver en incidens for de behandlingskrævende former på ca. 1:11.000 og på ca. 1:33.000 for den ikke-behandlingskrævende form.

Debutfidspunkt afhænger til dels af sværhedsgraden. For den klassiske form erkendes den retarderede udvikling ofte omkring ½-1-års-alderen. Hos enkelte kvinder er diagnosen først stillet efter fødsel af et eller flere børn med microcefali, andre medfødte misdannelser samt abnorm intellektuel udvikling forårsaget af den materielle ubehandlede PKU. Kvindens egen hjerne har tilsyneladende været relativt uberørt af påvirkningen fra phenylalanin.

Ubehandlet klassisk PKU vil oftest resultere i svær mental retardering. Efter screeningen med Guthrie-testen var indført, blev der foretaget en screening af patienter bosiddende på institutioner under Statens Åndssvageforsorg, hvorved mange ubehandlede, svært retarderede patienter blev diagnosticeret.<sup>40</sup> Der kendes aktuelt i Danmark 54 sent-diagnosticerede, ubehandlede patienter født i årene 1921-1964 (median 1950). Hovedparten af disse opholder sig på institutioner eller mindre boenheder for psykisk udviklingshæmmede. Et par af patienterne kan klare sig med hjælp i egen bolig. Af ukendt årsag er der stor forskel på graden af hjerneskade trods samme niveau af phenylalanin i blodet. Det kan måske forklares ved individuelle forskelle på optagelsen af phenylalanin over blod-hjerne-barrieren.<sup>41</sup>

39 Butler et al. Neurotransmitter defects and treatment of disorders of hyperphenylalaninemia. J Pediatr. 1981 May;98(5):729-33

40 Güttler F, Wamberg E. Fasting serum phenylalanine in untreated institutionalised patients with phenylketonuria. J Ment Defic Res 1977;21:55-62.

41 Leuzzi et al. Clinical significance of brain phenylalanine concentration assessed by in vivo proton magnetic resonance spectroscopy in phenylketonuria. J Inherit Metab Dis. 2000 Sep;23(6):563-70

Behandlingens hovedprincip er, at indtaget af phenylalanin reduceres stærkt ved at udelade det meste protein i kosten. Diæten er meget omfattende, og den griber ind i hele familiens livsførelse. En mindre belastende behandling har vist sig lovende.<sup>42</sup>

Da phenylalanin er en essentiel aminosyre er tilførsel af en nøje afmålt mængde nødvendig af hensyn til barnets vækst og udvikling. Dette gives i form af genuine kostproteiner, der suppleres med en blanding af de nødvendige vitaminer og mineraler, samt de andre aminosyrer så proteinbehovet dækkes. Herved kan et passende niveau af phenylalanin opnås i blod og hjerne. Behandlingen kræver hyppig måling af S-phenylalanin, der bruges til justering af diæten og kontrol af compliance.

Følges diæten regelret med S-phenylalanin under 400 µmol/L i de 8 første leveår, sikres en intellektuel udvikling indenfor det normale. Efterfølgende kan accepteres lidt højere værdier.<sup>43</sup> Trods god diætkontrol synes de kognitive funktioner dog at være lidt dårligere hos børn med PKU end hos jævnaldrende uden PKU.<sup>44</sup> Der er en vis korrelation mellem S-phenylalaninniveau i de første 6 leveår og opnået IQ. Sammenhængen er ikke 100%, sandsynligvis fordi der er individuelle forskelle på hjernens følsomhed for den toksiske effekt af phenylalanin og dens metabolitter.<sup>45</sup>

For at undgå hjerneskade, er det vigtigt, at diæten indledes så tidligt som muligt. I takt med at hjernen modnes bliver den mindre følsom for den skadelige virkning af phenylalanin. Derfor troede man tidligere, at det var tilstrækkeligt at holde diæt i de første 6-10 leveår. Men opfølgning viste risiko for cognitiv og emotionel dysfunktion samt indlæringsvanskeligheder hos de patienter, der ophørte med diæten.<sup>46,47</sup> I dag er holdningen internationalt, at diæten skal startes tidligt og bør være livslang.<sup>48</sup> Desværre viser erfaringen, at compliance ofte bliver væsentlig dårligere hos unge og voksne.<sup>49</sup>

Et særligt problem udgør behandlingen af de kvinder, der ønsker at få børn. For at undgå alvorlige fosterskader skal de holde en meget streng diæt under hele graviditeten. Store studier over maternel PKU har vist, at høj compliance resulterer i fødsel af børn, der udvikler sig normalt.<sup>50</sup> I Danmark har 16 kvinder med PKU eller HPA i årene 2001-2005 gennemgået i alt 19 graviditeter og født 21 børn. Kun i én af graviditeterne var diætoverholdelsen ikke til-

42 Behandlingen udgøres af en diæt med en kun moderat proteinrestriktion samt et supplement i tabletform af essentielle, store, neutrale aminosyrer uden phenylalanin, men med store mængder tyrosin og tryptofan. Denne diæt-form er mindre besværlig at overholde end den konventionelle og kan lettere accepteres af patienter med en ringe diætoverholdelse. Et kontrolleret follow-up studie af en relativ stor gruppe danske patienter behandlet efter dette princip igennem flere år er afsluttet, men endnu ikke publiceret. Dette studie viser, at PreKUnil behandling er et effektivt og forsvarligt alternativ ikke kun for de patienter, hvor den traditionelle diætbehandling ikke kan gennemføres, men generelt for voksne patienter med PKU. Da denne diætform meget lettere kan passes ind i dagligdagen, giver den en øget frihed for patienten, hvorved livskvaliteten øges. På nuværende tidspunkt følger en meget stor andel af de danske patienter over 18 år denne diætform. En undtagelse er kvinder, der ønsker at være gravide. De kan ikke nøjes med PreKUnil, da dette primært sænker mængden af phenylalanin i hjernen, men ikke i blodet. Fosteret ville derfor blive udsat for uacceptabelt høje koncentrationer af phenylalanin.

43 Koch et al. Paired comparisons between early treated PKU children and their matched sibling controls on intelligence and school achievement test results at eight years of age. *J Inherit Metab Dis.* 1984;7(2):86-90.

44 Gassio et al. School performance in early and continuously treated phenylketonuria. *Pediatr Neurol.* 2005 Oct;33(4):267-71.

45 Brumm et al. Neuropsychological outcome of subjects participating in the PKU adult collaborative study: a preliminary review. *J Inherit Metab Dis.* 2004;27(5):549-66.

46 Lou et al. Decreased vigilance and neurotransmitter synthesis after discontinuation of dietary treatment for phenylketonuria (PKU) in adolescents. *Eur J Pediatr* 1985;144:17-20.

47 Fisch et al. Phenylketonuric patients decades after diet. *J Inherit Metab Dis* 1995;18:347-53.

48 National Institutes of Health Consensus Development Panel. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: phenylketonuria: screening and management, October 16-18, 2000. *Pediatrics.* 2001 Oct;108(4):972-82.

49 Levy et al. PKU in adolescents: rationale and psychosocial factors in diet continuation. *Acta Paediatr Suppl.* 1994 Dec;407:92-7

50 Koch R et al. The Maternal Phenylketonuria International Study: 1984-2002. *Pediatrics.* 2003 Dec;112(6 Pt 2):1523-9.

fredsstillende, og barnet blev født med et hovedomfang i underkanten af normalområdet. Opfølgning af barnet har ikke været mulig.

Screeningssituationen er drøftet andetsteds i denne rapport. Sammenfattende anbefales at screening for PKU fortsætter uændret.

#### 4.2.2 Ahornsirupuri (MSUD (AA))

Autosomal recessiv arvelig defekt i branched chain -ketoacid dehydrogenase (BCKAD), som katalyserer den oxidative dehydrogenering af alfa-ketosyrer i katabolismen af de grenede aminosyrer leucin, isoleucin og valin. En defekt i enzymet medfører ophobning af de grenede aminosyrer og deres ketosyrer. BCKAD består af 3 subunits og kodes af flere gener: *BCKDHA*, *BCKDHB*, *DBT* og *DLD*.

Sygdommen er meget sjælden med forventet incidens under 1:100.000. Blandt 13 millioner screenet i USA neonatalt fandtes incidens på 1:230.000<sup>51</sup>. Der er dog populationer, med højere incidens<sup>52</sup>.

Der er fire forløbsformer af MSUD: klassisk/svær, intermediær, intermitterende og tiamin-responsiv. Ved den klassiske form fødes børnene normale, men begynder på 4.-7. dag at sutte dårligt, bliver sløve og encefalopatiske og efterhånden komatøse. Herefter er progressionen af sygdommen hurtig med kramper, udsættende respiration og død. Biokemisk er der ketoacidose.

Hvis behandling iværksættes sent, overlever barnet med svær mental reduktion, spasticitet og blindhed. Ved de øvrige typer er der en vis restaktivitet af *BCKAD*, som gør, at sygdommen debuterer senere, er mildere og ofte intermitterende med kriser udløst af interkurrente sygdomme. Den tiamin-responsive type er ekstremt sjælden, men tiamin behandling bør forsøges hos alle.

De metaboliske kriser i forbindelse med svær MSUD behandles med dialyse for at fjerne leucin, og øget kalorie tilbud med både kulhydrat og lipid for at hindre katabolisme. Langtidsbehandlingen består i protein-begrænset diæt med tilskud af specielt diætprodukt uden grenede aminosyrer og ofte med yderligere tilskud af glutamin, isoleucin og valin. Behandlingen er særdeles krævende både diætetisk og kontrolmæssigt (tæt klinisk og biokemisk kontrol i metabolisk specialistcenter, som for PKU)<sup>53</sup>. Prognosen er dårlig, såfremt behandling iværksættes efter 14 dage postnatalt, mens iværksættelse af behandling i første leveuge overbevisende er associeret med normal IQ og vækst.<sup>54,55</sup>

Screening for MSUD har været udført først med anvendelse af bakterielt inhibitions assay og senest med tandem-MS<sup>56</sup>, som har haft høj detektionsrate ved analyse for leucin+isoleucin (skelner ikke de to aminosyrer), meget lav falskpositivrate, og indtil videre ingen falsknegative

51 American College of Medical Genetics. Newborn Screening: toward a uniform screening panel and system. 2005. Rockvill, Md.: Maternal and Child Health Bureau.

52 Morton DH, Strauss KA, Robinson DL et al. Diagnosis and treatment of maple syrup disease: a study of 36 patients. *Pediatrics* 2002;109:999-1008.

53 Chuang DT, Shih VE. Maple Syrup Urine Disease (branched-chain ketoaciduria). In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:1971-2006.

54 Morton DH, Strauss KA, Robinson DL et al. Diagnosis and treatment of maple syrup disease: a study of 36 patients. *Pediatrics* 2002;109:999-1008.

55 Kaplan P, Mazur A, Field M et al. Intellectual outcome in children with maple syrup urine disease. *J Pediatr* 1991;119:46-50.

56 Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns. *Clin Chem* 2003;49:1797-817.

blandt de screenede.<sup>57,58,59</sup> Det er dog muligt, at en andel af de intermitterende typer ikke vil blive diagnosticeret ved neonatal tandem-MS. Falskpositivrate i projekt udvidet screening har været 0.011%. Der foreligger accepteret og konklusiv algoritme for bekræftelse af diagnosen ved bestemmelse af plasma aminosyrer, U-ketosyrer og enzymaktivitet.

Det er *essentielt*, at *prøvetidspunkt er 48-72 timer* mhp iværksættelse af tidlig behandling. Behandling og langtidsopfølgning er tilgængelig via den specialiserede landsfunktion for metaboliske sygdomme på Rigshospitalet. Sammenfattende anbefales neonatal screening for MSUD.

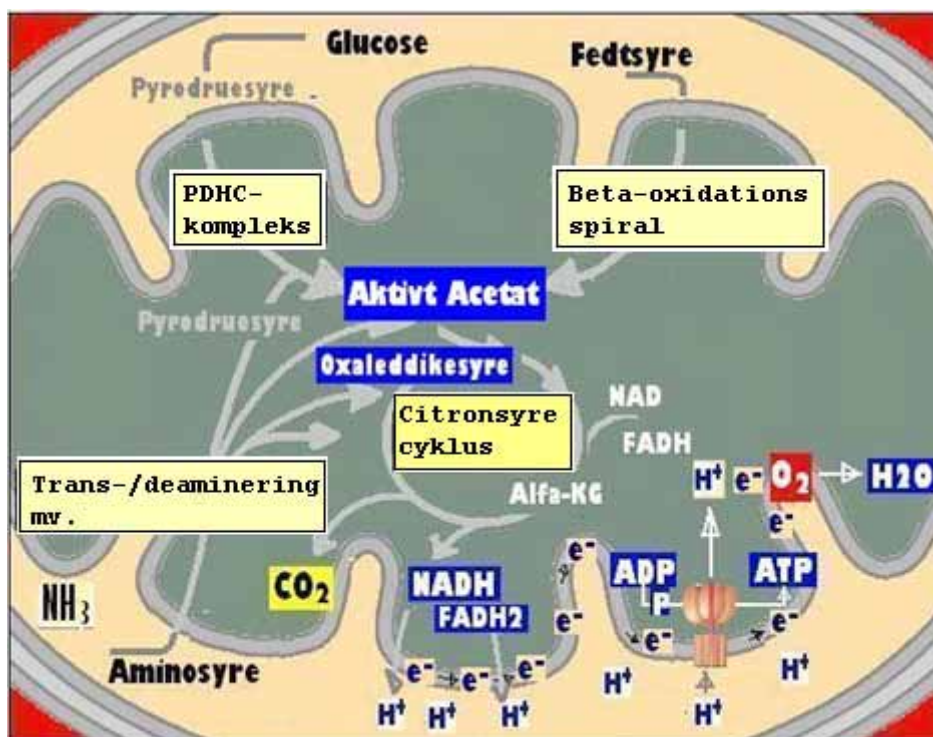
#### 4.2.3 Mellemkædet acyl-CoA dehydrogenase mangel (MCADD (FAO))

Autosomal recessiv arvelig defekt i medium-chain acyl-CoA dehydrogenase, som katalyserer beta-oxidationen af mellemkædede fedtsyrer, dvs fedtsyrer med kædelængde C6-C12. Herved ophobes acylkarnitiner af mellemkædede fedtsyrer, specielt octanoylkarnitin. Genet for MCAD er *ACADM* på kromosom 1. En speciel hyppig mutation, 985A>G, udgør >90% af sygdoms alleler i Nordeuropa, men der kendes mange andre mutationer.<sup>60,61,62</sup>

Incidensen kendes fra flere screenings studier<sup>63,64,65,66,67,68,69,70</sup> og varierer fra 1:23000-1:8900. Sygdommen er specielt hyppig blandt nordeuropæere.

Vurderet ud fra data i projekt udvidet screening er incidensen i Danmark omkring 1:10000. Dette er mere end en fordobling af antallet af diagnosticerede før screening.

- 57 Zytkovicz TH, Fitzgerald EF, Marsden D et al. Tandem mass spectrometric analysis for amino, organic, and fatty acid disorders in newborn dried blood spots: a two-year summary from the New England Newborn Screening Program. *Clin Chem* 2001;47:1945-55.
- 58 Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D et al. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. *Pediatrics* 2003;111:1399-406.
- 59 Wilcken B, Wiley V, Hammond J et al. Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *N Engl J Med* 2003;348:2304-12.
- 60 Andresen BS, Dobrowolski SF, O'Reilly L et al. Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) mutations identified by MS/MS-based prospective screening of newborns differ from those observed in patients with clinical symptoms: identification and characterization of a new, prevalent mutation that results in mild MCAD deficiency. *Am J Hum Genet* 2001;68:1408-18.
- 61 Andresen BS, Bross P, Jensen TG et al. Molecular diagnosis and characterization of medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1995;220:9-25.
- 62 Andresen BS, Bross P, Udvari S et al. The molecular basis of medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency in compound heterozygous patients: is there correlation between genotype and phenotype? *Hum Mol Genet* 1997;6:695-707.
- 63 Zytkovicz TH, Fitzgerald EF, Marsden D et al. Tandem mass spectrometric analysis for amino, organic, and fatty acid disorders in newborn dried blood spots: a two-year summary from the New England Newborn Screening Program. *Clin Chem* 2001;47:1945-55.
- 64 Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D et al. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. *Pediatrics* 2003;111:1399-406.
- 65 Wilcken B, Wiley V, Hammond J et al. Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *N Engl J Med* 2003;348:2304-12.
- 66 Roscher A, Olgemöller B. Newborn screening for inborn errors of metabolism with tandem mass spectrometry in Bavaria, Germany. *J Lab Med* 2004;28:521-4.
- 67 Andresen BS, Dobrowolski SF, O'Reilly L et al. Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) mutations identified by MS/MS-based prospective screening of newborns differ from those observed in patients with clinical symptoms: identification and characterization of a new, prevalent mutation that results in mild MCAD deficiency. *Am J Hum Genet* 2001;68:1408-18.
- 68 Carpenter K, Wiley V, Sim KG et al. Evaluation of newborn screening for medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in 275 000 babies. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2001;85:F105-F109.
- 69 Chace DH, Hillman SL, Van Hove JL et al. Rapid diagnosis of MCAD deficiency: quantitative analysis of octanoylcarnitine and other acylcarnitines in newborn blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1997;43:2106-13.
- 70 Pourfarzam M, Morris A, Appleton M et al. Neonatal screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Lancet* 2001;358:1063-4.



Figur 4-1. Skitse af et mitokondrie for at illustrere principper i den cellulære energimetabolisme. Fra de oxiderbare substrater (glukose<sup>71</sup>, fedtsyrer, aminosyrer) dannes bl.a. Acetyl-coA og oxaledikesyre, som via citronsyrecyklus og respirationskæde genererer ATP. Det grafiske forlæg til mitokondriets kontur findes i Siegel.<sup>72</sup>

Der er andre enzymer, der vikarierer for et defekt MCAD-enzym, og patienter med MCADD har således en betydelig kapacitet for at forbrænde fedt, så længe kravet til beta-oxidation er begrænset. I situationer hvor patienten faster, har febril interkurrent sygdom, opkastninger, bliver anæstetiseret eller udøver hård fysisk aktivitet stiger kravet til beta-oxidation. Det er i sådanne situationer, at MCADD bliver manifesteret oftest med forskellige grader af encefalopati, kramper, apnoe, kardielle symptomer og leverpåvirkning. Biokemisk ses hypoketotisk hypoglykæmi og evt. hyperammoniæmi. Dødeligheden i sådanne kriser er 20% og risikoen for udvikling af blivende neurologisk skade 30%.<sup>73,74,75</sup>

Debut med pludselig uventet spædbarnsdød er også set.<sup>76,77</sup> Nogle kan forblive asymptomatiske, men risikoen for pludselig stofskiftekrise er tilstede også i voksenalderen.<sup>78</sup>

Den akutte krise behandles med store doser glukose indgivet intravenøst, eventuelt kombineret med karnitinbehandling. Langtidsbehandlingen består i at undgå faste med regelmæssige,

71 Andre monohexoser (galaktose, frukose) nedbrydes via samme vej som glukose.  
 72 Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, et al (eds). Basic Neurochemistry. Molecular, cellular and medical aspects. Lippincott, Williams & Wilkins 1999.  
 73 Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. Health Technol Assess 1997;1:1-202.  
 74 Wilson CJ, Champion MP, Collins JE et al. Outcome of medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency after diagnosis. Arch Dis Child 1999;80:459-62.  
 75 Derks TGJ, Rejnoud D-J, Waterham HR et al. The natural history of medium chain acyl CoA dehydrogenase deficiency in the Netherlands: Clinical presentation and outcome. Pediatr 2006;148:665-70.  
 76 Ding JH, Roe CR, lafolla AK et al. Medium-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency and sudden infant death. N Engl J Med 1991;325:61-2.  
 77 lafolla AK, Thompson RJ, Jr., Roe CR. Medium-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency: clinical course in 120 affected children. J Pediatr 1994;124:409-15.  
 78 Ruitenbeek W, Poels PJ, Turnbull DM et al. Rhabdomyolysis and acute encephalopathy in late onset medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1995;58:209-14.



hyppige måltider. Diæten er normal og skal blot overholde almindelige rekommendationer for fedtindtag (max 30E%). Nogle centre giver rutinemæssigt karnitin, men regelmæssig biokemisk kontrol af plasma karnitin og substitution, hvis plasma karnitin er lavt, er sufficient. Patienter, hos hvem behandling iværksættes før optræden af stofskiftekrise, har god prognose både mht overlevelse og udvikling af komplikationer. Ved den neonatale screening for MCADD, der aktuelt udføres i mange lande med tidlig indsættelse af behandling er dødsfald særdeles sjældne. Det kendes også fra opfølgning af MCADD søskende til kendte MCADD patienter. Det danske screenings projekt har indtil 15. december 2005 ført til diagnose af 20 MCADD børn og alle er forblevet raske; et enkelt barn var dog indlagt på neonatalafdeling på diagnosetidspunktet med symptomer uspecifikke for MCADD. 2 børn blev ikke screenet og udviklede begge stofskiftekrise før de blev diagnosticeret.

Screening for MCADD er bla. beskrevet i, <sup>79,80,81,82,83,84,85,86</sup> I disse arbejder fandtes falskpositivitet fra 0 til 0.004%. Der er ikke rapporteret falsknegative. Positive prædiktive værdier var fra 50-100%. I det danske projekt var falskpositiviteten 0.0005%, og der er foreløbig ikke observeret falsknegative. Der er igangværende diskussioner verden over omkring niveau for cut-off mhp ikke at diagnosticere de patienter, som måske kan forventes at forblive asymptomatiske. Med det cut-off, der hidtil er anvendt i det danske projekt har 31 af 32 sygdomsal-ler tidligere været set hos symptomatiske MCADD patienter.

Der foreligger accepteret og utvetydig algoritme for bekræftelse af diagnosen ved bestemmelse af U-organiske syrer, acylkarnitiner i plasma og molekylær-genetisk analyse. Mutationsanalyse er nationalt tilgængelig (Skejby, Århus).

Sammenfattende anbefales neonatal screening for denne tilstand. Det er essentielt, at prøvetidspunkt er 48-72 timer mhp iværksættelse af tidlig behandling, da enkelte børn med MCADD har tidlig neonatal debut. Behandling og langtidsopfølgning er tilgængelig via den specialise-rede landsfunktion for metaboliske sygdomme på Rigshospitalet.

#### 4.2.4 Langkædet 3-OH acyl-CoA dehydrogenase/trifunctional protein mangel (LCHADD/TFP (FAO))

Dette er autosomal recessive arvelige defekter i long-chain 3-hydroxy acyl-CoA dehydrogenase (LCHAD), hhv. trifunctional protein (TFP), som begge katalyserer beta-oxidationen af langkædede fedtsyrer. Defekten medfører ophobning af acylkarnitiner af hydroxylerede derivater af C16-C18 fedtsyrer. Der er betydelig klinisk og biokemisk lighed mellem LCHADD og TFP, hvorfor de beskrives samlet. Genet for LCHADD er *HADHA* og for TFP *HADHB*. Der er en speciel hyppig mutation: 1528 C>G i *HADHA*-genet, som ses hos over 90% af patienterne.

79 Zytkovicz TH, Fitzgerald EF, Marsden D et al. Tandem mass spectrometric analysis for amino, organic, and fatty acid disorders in newborn dried blood spots: a two-year summary from the New England Newborn Screening Program. Clin Chem 2001;47:1945-55.

80 Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D et al. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. Pediatrics 2003;111:1399-406.

81 Wilcken B, Wiley V, Hammond J et al. Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. N Engl J Med 2003;348:2304-12.

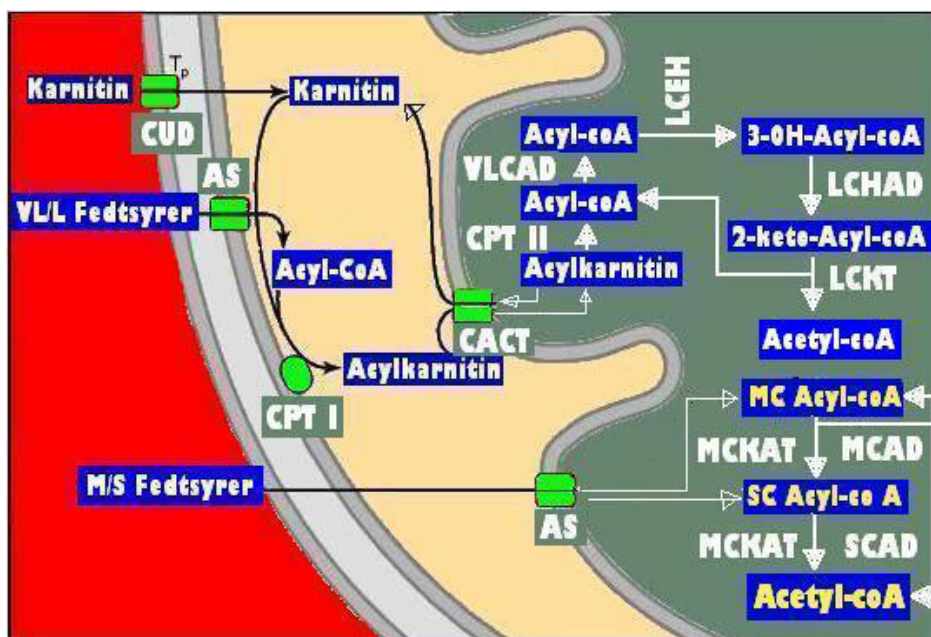
82 Roscher A, Olgemöller B. Newborn screening for inborn errors of metabolism with tandem mass spectrometry in Bavaria, Germany. J Lab Med 2004;28:521-4.

83 Andresen BS, Dobrowolski SF, O'Reilly L et al. Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) mutations identified by MS/MS-based prospective screening of newborns differ from those observed in patients with clinical symptoms: identification and characterization of a new, prevalent mutation that results in mild MCAD deficiency. Am J Hum Genet 2001;68:1408-18.

84 Carpenter K, Wiley V, Sim KG et al. Evaluation of newborn screening for medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in 275 000 babies. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2001;85:F105-F109.

85 Chace DH, Hillman SL, Van Hove JL et al. Rapid diagnosis of MCAD deficiency: quantitative analysis of octanoylcarnitine and other acylcarnitines in newborn blood spots by tandem mass spectrometry. Clin Chem 1997;43:2106-13.

86 Pourfarzam M, Morris A, Appleton M et al. Neonatal screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. Lancet 2001;358:1063-4.



Figur 4-2. Skitse af mitokondriet med ydre og indre membran – illustrerer karnitincykus-defekter og fedtsyreoxidationsdefekter (forenklet): Substrater og intermediære forbindelser er angivet med hvid tekst på blå baggrund; enzymer og transportproteiner er anført med hvid tekst på grøn baggrund. Karnitincykus omfatter transport af langkædede fedtsyrer over cellemembran og over mitokondriernes ydre og indre membran. Fedtsyrer med kædelængde <10 kulstofatomer passerer direkte ind (ikke karnitin-krævende transport). Slutresultatet af betaoxidationen er acetyl-coA (kædelængde 2 kulstof-atomer), som i citronsyre-cyklus oxideres til kuldioxid og vand. Bemærk: TFP = LCEH+LCHADD+LCKT.

Der er ingen konsensus omkring incidens, men denne angives til at være > 1:75000.<sup>87</sup> I Danmark kendes 7 patienter med LCHADD.

Debut ofte fra neonatal perioden til halvt års alderen med stofskiftekrise: hypoketotisk hypoglykæmi med tiltagende hypotoni, leverpåvirkning og kardiomyopati. Et mere langtsomt forløb kan ses med dårlig trivsel, hypotoni, kardiomyopati og mentalt handicap. Ubehandlet vil de fleste dø i løbet af få måneder. På langt sigt udvikles hos overlevende perifer neuropati, retinitis pigmentosa og perioder med rhabdomyolyse. Mødre til børn med LCHADD har under graviditeten med disse børn overhyppighed af AFLP (acute fatty liver of pregnancy) og HELLP (hemolysis, elevated liverenzymes, low platelets).

Den akutte krise behandles med store mængder intravenøs glukose, tilførsel af mellemkædede fedtsyrer, samt alment understøttende behandling specielt rettet mod kardiomyopati. Behandling med karnitin er omdiskuteret. Langtidsbehandlingen består i hyppige måltider (dag og nat) af en diæt rig på kulhydrat og begrænset i langkædede fedtsyrer og med tilskud af mellem-kædede fedtsyrer. Behandlingen minimerer både mortalitet og morbiditet hos mange om end data som belyser langtidsresultater endnu er sparsomme. Fire tidligt behandlede danske børn udvikler sig normalt (observationstid 2-9 år). Perifer neuropati og retinitis pigmentosa, som nogle udvikler, synes ikke at blive forhindret af behandlingen, men de er relativt symptomfattede tilstande ved LCHADD; fx er LCHADD relateret retinitis pigmentosa formentlig ikke synsbegrænsende.

87 American College of Medical Genetics. Newborn Screening: toward a uniform screening panel and system. 2005. Rockvill, Md.: Maternal and Child Health Bureau.

Screening for LCHADD er beskrevet<sup>88,89,90,91</sup>, og flere børn er fundet i screeningsprogrammer med lave falskpositivrater<sup>92,93,94</sup>. I projekt udvidet screening var falskpositivraten 0%. Blandt ikke screenede danske børn blev fundet 2 med LCHADD, hvoraf en døde og en nåede at udvikle stofskiftekrise med kardiomyopati. Det overlevende barn har det godt i dag på relevant behandling. Begge børn havde abnorm retrospektiv tandem-MS analyse på PKU-kortet og ville således være blevet fundet ved rutinescreening. Siden opfølgelsesdatoen (15/12-05) for projekt udvidet screening er der diagnosticeret 2 nyfødte med LCHAD, som begge er raske.

Der foreligger accepteret algoritme for bekræftelse af diagnosen ved bestemmelse af U-organiske syrer, acylkarnitiner i plasma og molekylær-genetisk analyse. Formentlig kan enkelte børn med LCHADD blive overset, da der i første uge efter fødslen kan ske en hurtig normalisering af acylkarnitinerne, så både analyse for U-organiske syrer og acylkarnitiner af nyt PKU-kort kan være negativ.

Det er derfor dels *vigtigt, at prøven tages tidligt (48-72 timer)*, dels at overveje om molekylær-genetiske test skal anvendes parallelt med biokemiske test ved opfølgningen af screeningsresultatet. Med den lave falskpositivrate og den høje prævalens af en hyppig mutation ville det være gennemførligt og er nationalt tilgængeligt (Skejby, Århus). Behandling og langtidsopfølgning er tilgængelig via den specialiserede og nationale funktion for metaboliske sygdomme på Rigshospitalet. Sammenfattende anbefales neonatal screening for LCHADD.

#### 4.2.5 Meget langkædet acyl-CoA dehydrogenase mangel(VLCADD (FAO))

Autosomal recessiv arvelig defekt i very long-chain acyl-CoA dehydrogenase (*VLCAD*), som katalyserer beta-oxidationen af meget langkædede fedtsyrer. Defekten medfører ophobning af acylkarnitiner af C14-C20 fedtsyrer. Genet for VLCAD er *ACADVL* på kromosom 17. Der er ingen konsensus om incidensen. ACMG<sup>95</sup> angiver > 1:75000, og at antallet af diagnosticerede ved tandem-MS er større end forventet ud fra antal klinisk diagnosticerede. Det er muligt, at et antal potentielt varigt asymptomatiske bliver diagnosticeret<sup>96</sup>, således som det er kendt for MCADD.

Der er 3 forløbsformer<sup>97</sup>. En hyppig tidlig infantil form (50%) debuterer tidligt i spædbarnsåret med nonketotisk hypoglykæmi, kardiomyopati og skeletmyopati, samt leverpåvirkning. Ca 30% debuterer senere i spædbarnsåret og disse børn har oftest ikke kardiomyopati, men skeletmyopati og hypoglykæmi. De sidste 20% debuterer senere i barnealderen eller som voksne med muskeltræthed, myoglobinuri og rhabdomyolyse<sup>98</sup>. Ubehandlet vil alle børn med tidlige

88 Millington DS, Kodo N, Norwood DL et al. Tandem mass spectrometry: a new method for acylcarnitine profiling with potential for neonatal screening for inborn errors of metabolism. *J Inher Metab Dis* 1990;13:321-4

89 Millington DS, Terada N, Chace DH et al. The role of tandem mass spectrometry in the diagnosis of fatty acid oxidation disorders. *Prog Clin Biol Res* 1992;375:339-54.

90 Van Hove JL, Kahler SG, Feezor MD et al. Acylcarnitines in plasma and blood spots of patients with long-chain 3-hydroxyacyl coenzyme A dehydrogenase deficiency. *J Inher Metab Dis* 2000;23:571-82.

91 Matern D, Strauss AW, Hillman SL et al. Diagnosis of mitochondrial trifunctional protein deficiency in a blood spot from the newborn screening card by tandem mass spectrometry and DNA analysis. *Pediatr Res* 1999;46:45-9.

92 Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D et al. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. *Pediatrics* 2003;111:1399-406.

93 Wilcken B, Wiley V, Hammond J et al. Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *N Engl J Med* 2003;348:2304-12.

94 Sander J, Janzen N, Sander S et al. Tandemmassenspektrometrie. Beitrag zum neugeborenen screening auf angeborene Störungen des Stoffwechsels. *Monatsschr Kinderheilkd* 2000;148:771-7.

95 American College of Medical Genetics. Newborn Screening: toward a uniform screening panel and system. 2005. Rockville, Md.: Maternal and Child Health Bureau. Report.

96 Spiekerkoetter U, Huener G, Baykal T et al. Silent and symptomatic primary carnitine deficiency within the same family due to identical mutations in the organic cation/carnitine transporter OCTN2. *J Inher Metab Dis* 2003;26:613-5.

97 Roe CR, Ding J. Mitochondrial fatty acid oxidation disorders. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:2297-326.

98 Roe CR, Ding J. *ibid.*

infantile typer dør og mange med sene infantile type<sup>99</sup>. Pludselig uventet spædbarnsdød er beskrevet.

Den akutte krise behandles med store mængder intravenøs glukose, tilførsel af mellemkædede fedtsyrer, evt. karnitintilskud samt alment understøttende behandling specielt rettet mod kardiomyopati. Langtidsbehandlingen består i hyppige måltider (dag og nat) af diæt rig på kulhydrat og begrænset i langkædede fedtsyrer og med tilskud af mellemkædede fedtsyrer og karnitin. En ny behandlingsform med triheptanoin synes lovende<sup>100</sup>. Der er klar evidens for, at behandlingen minimerer både mortalitet og morbiditet hos mange<sup>101,102</sup>.

Screening for VLCAD er beskrevet i<sup>103,104,105,106</sup>. Falskpositivrater er generelt lave og var i det danske tandem-MS projekt 0.002%. Der foreligger accepteret algoritme for bekræftelse af diagnosen ved bestemmelse af U-organiske syrer, acylkarnitiner i plasma, fedtsyreoxidation i fibroblaster og molekylær-genetisk analyse. Formentlig kan enkelte børn med VLCAD blive overset, da der i første uge efter fødslen kan ske en hurtig normalisering af acylkarnitinerne, således som man kan se det ved LCHADD/TFP, så både analyse for U-organiske syrer og plasma acylkarnitiner kan være negativ. Wiley et al.<sup>107</sup> publicerede et tilfælde af VLCADD, hvor initial tandem-MS analyse var positiv, mens gentagen prøve var normal. Det er derfor dels vigtigt, at analysen tages tidligt (48-72 timer), dels at overveje om molekylær-genetiske test skal anvendes tidligt ved den konfirmerende testning. Der vil være nationale muligheder for det (Skejby, Århus). Behandling og langtidsopfølgning er tilgængelig via den specialiserede funktion for metaboliske sygdomme på Rigshospitalet. Sammenfattende anbefales neonatal screening for VLCADD.

#### 4.2.6 Glutaracidæmi type I (GA1 (OA))

Autosomal recessiv defekt af det mitokondrielle enzym glutaryl-CoA dehydrogenase, som medvirker ved katabolismen af tryptofan, lysin og hydroxylysin. En defekt i enzymet medfører ophobning af glutarsyre og 3-hydroxyglutarsyre i kroppen. GA1 forårsages af mutationer i genet *GCDH*<sup>08</sup>. Incidens angives varierende. ACMG<sup>109</sup> angiver >1:75000, andre 1:50000<sup>110,111</sup>,

99 Roe CR, Ding J. *ibid*

100 Roe CR, Sweetman L, Roe DS et al. Treatment of cardiomyopathy and rhabdomyolysis in long-chain fat oxidation disorders using an anaplerotic odd-chain triglyceride. *J Clin Invest* 2002;110:259-69.

101 Brown-Harrison MC, Nada MA, Sprecher H et al. Very long chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: successful treatment of acute cardiomyopathy. *Biochem Mol Med* 1996;58:59-65.

102 Cox GF, Souril M, Aoyama T et al. Reversal of severe hypertrophic cardiomyopathy and excellent neuropsychologic outcome in very-long-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency. *J Pediatr* 1998;133:247-53.

103 Zytkovicz TH, Fitzgerald EF, Marsden D et al. Tandem mass spectrometric analysis for amino, organic, and fatty acid disorders in newborn dried blood spots: a two-year summary from the New England Newborn Screening Program. *Clin Chem* 2001;47:1945-55.

104 Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D et al. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. *Pediatrics* 2003;111:1399-406.

105 Wilcken B, Wiley V, Hammond J et al. Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *N Engl J Med* 2003;348:2304-12.

106 Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns. *Clin Chem* 2003;49:1797-817.

107 Wiley V, Carpenter K, Bayliss U et al. Newborn screening--is it really that simple? *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2003;34 Suppl 3:107-10.

108 Goodman SI, Ferman FE. Organic acidemias due to defects in lysine oxidation: 2-ketoadipic acidemia and glutaric acidemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:2195-204.

109 American College of Medical Genetics. *Newborn Screening: toward a uniform screening panel and system*. 2005. Rockville, Md.: Maternal and Child Health Bureau.

110 Goodman SI, Ferman FE. Organic acidemias due to defects in lysine oxidation: 2-ketoadipic acidemia and glutaric acidemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:2195-204.

111 Hoffmann GF, Bohles HJ, Burlina A et al. Early signs and course of disease of glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *J Inher Metab Dis* 1995;18:173-6.

atter andre 1:40000<sup>112</sup>. To nylige studier baseret på screeningsdata finder en incidens på 1:100000.<sup>113,114</sup>

Oftest debuterer GA1 akut med stofskiftekrise hos et rask barn. Krise udløses af interkurrent sygdom, vaccination eller lignende og optræder omkring 12 måneders alderen (range 3-37 måneder). Som følge af krisen udvikles tab af motoriske færdigheder, svær og progressiv dystoni og dyskinesi pga basalganglieskade, mens de kognitive funktioner hos mange forbliver intakte<sup>115,116,117</sup>. Hvis patienterne forbliver ubehandlede vil der komme nye kriser (om end de er sjældne efter 5-6 års alderen) og medføre progressive neurologiske sequelae og død<sup>118,119,120</sup>. Ca 20 % af patienterne har mildere og mindre akut forløb med langsomt progredierende dystoni. Ganske få er asymptomatiske<sup>121</sup>. Macrocefali er ofte tilstede fra fødslen<sup>122</sup>.

For at have effekt må behandling<sup>123,124,125,126,127,128,129,130,131,132,133</sup> iværksættes før debut af den metaboliske krise; efter en sådan er behandlingseffekten kun begrænset. Præsymptomatiske bør behandles med proteinrestriktion med anvendelse af specielt diætprodukt med eksklusion af lysin og i noget mindre omfang af tryptofan. Patienterne skal have supplement af karnitin og et behandlingsforsøg med riboflavin bør gennemføres om end eksistensen af riboflavin responsiv GA1 betvivles. Under interkurrent sygdom gives ekstra energi i form af kulhydrat for at reducere katabolisme. Antiepileptika og neuroprotektive medicamina kan også anvendes.

- 
- 112 Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. *Health Technol Assess* 1997;1:i-202.
- 113 Lindner M, Kölker S, Schulze A et al. Neonatal screening for glutaryl-coA dehydrogenase deficiency. *J Inherit Metab Dis* 2004;27:851-9.
- 114 Kölker S, Garbade SF, Boy N, et al. Decline of acute encephalopathic crises in children with glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency identified by newborn screening in Germany. *Ped Res* 2007;62:357-363.
- 115 Hoffmann GF, Bohles HJ, Burlina A et al. Early signs and course of disease of glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *J Inherit Metab Dis* 1995;18:173-6.
- 116 Hoffmann GF, Trefz FK, Barth PG et al. Glutaryl-coenzyme A dehydrogenase deficiency: a distinct encephalopathy. *Pediatrics* 1991;88:1194-203.
- 117 Kyllerman M, Skjeldal OH, Lundberg M et al. Dystonia and dyskinesia in glutaric aciduria type I: clinical heterogeneity and therapeutic considerations. *Mov Disord* 1994;9:22-30.
- 118 Hoffmann GF, Bohles HJ, Burlina A et al. Early signs and course of disease of glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *J Inherit Metab Dis* 1995;18:173-6.
- 119 Hoffmann GF, Trefz FK, Barth PG et al. Glutaryl-coenzyme A dehydrogenase deficiency: a distinct encephalopathy. *Pediatrics* 1991;88:1194-203.
- 120 Kyllerman M, Skjeldal OH, Lundberg M et al. Dystonia and dyskinesia in glutaric aciduria type I: clinical heterogeneity and therapeutic considerations. *Mov Disord* 1994;9:22-30.
- 121 Amir N, Elpeleg ON, Shalev RS et al. Glutaric aciduria type I: enzymatic and neuroradiologic investigations of two kindreds. *J Pediatr* 1989;114:983-9.
- 122 Goodman SI, Ferman FE. Organic acidemias due to defects in lysine oxidation: 2-ketoadipic acidemia and glutaric acidemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:2195-204.
- 123 Hoffmann GF, Athanassopoulos S, Burlina AB et al. Clinical course, early diagnosis, treatment, and prevention of disease in glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *Neuropediatrics* 1996;27:115-23.
- 124 Kölker S, Greenberg CR, Lindner M et al. Emergency treatment in glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *J Inherit Metab Dis* 2004;27:893-902.
- 125 Monavari AA, Naughten ER. Prevention of cerebral palsy in glutaric aciduria type 1 by dietary management. *Arch Dis Child* 2000;82:67-70.
- 126 Naughten ER, Mayne PD, Monavari AA et al. Glutaric aciduria type I: outcome in the Republic of Ireland. *J Inherit Metab Dis* 2004;27:917-20.
- 127 Morton DH, Bennett MJ, Seargeant LE et al. Glutaric aciduria type I: a common cause of episodic encephalopathy and spastic paralysis in the Amish of Lancaster County, Pennsylvania. *Am J Med Genet* 1991;41:89-95.
- 128 Strauss KA, Puffenberger EG, Robinson DL et al. Type I glutaric aciduria, part 1: natural history of 77 patients. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2003;121:38-52.
- 129 Kölker S, Garbade SF, Boy N, et al. Decline of acute encephalopathic crises in children with glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency identified by newborn screening in Germany. *Ped Res* 2007;62:357-363.
- 130 Kölker S, Christensen E, Leonard JV et al. Guideline for the diagnosis and management of glutaryl-coA dehydrogenase deficiency (glutaric aciduria type I) *J Inherit Metab Dis* 2007;30:5-22.
- 131 Kölker S, Garbade SF, Boy N, et al. Decline of acute encephalopathic crises in children with glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency identified by newborn screening in Germany. *Ped Res* 2007;62:357-363.
- 132 Lindner M, Ho S, Fang-Hoffmann J et al. Neonatal screening for glutaric aciduria type I: strategies to proceed. *J Inherit Metab Dis* 2006;29:378-382.
- 133 Strauss KA, Lazovic J, Wintermark M, Morton DH. Multimodal imaging of striatal degeneration in Amish patients with glutaryl-coA dehydrogenase deficiency. *Brain* 2007;130:1905-1920.

Behandlingsresultaterne i flere af ovenstående arbejder, herunder<sup>134,135,136</sup>, tyder overbevisende på, at præsymptomatisk behandling kan forhindre sygdom hos mange. Et nyligt screeningsstudie og to kliniske opgørelser dokumenterer også dette om end andelen af screenede børn, der på trods af screening udvikler symptomer, fortsat er ca. 10-30%.<sup>137,138,139</sup>

Flere børn med GA1 er fundet ved tandem-MS screening<sup>140,141,142,143</sup>. Antallet af falskpositive har generelt ligget lavt både i udenlandske studier og i det danske studie (0%), men omfanget af falsknegative er ikke klart. Detektionsraten angives af Pollitt et al. til >95%<sup>144</sup>. Der er publiceret enkelte børn med GA1, som ikke blev fundet ved screening<sup>145,146</sup>. Ét barn, som ikke blev diagnosticeret, var positiv i initiale PKU-kort, men negativ i opfølgende PKU-kort. Dette betoner *vigtigheden af tidlig prøvetagning* (48-72 timer) og formentlig også, at der bør iværksættes behandling allerede ved initiale positive screeningsresultat. Der foreligger accepteret algoritme for bekræftelse af diagnosen ved bestemmelse af U-organiske syrer, plasma acylkarnitiner, aktivitetsbestemmelse af glutaryl CoA dehydrogenase i leukocytter og molekylær-genetisk analyse. Behandling og langtidsopfølgning er tilgængelig via den specialiserede landsfunktion for metaboliske sygdomme på Rigshospitalet. Sammenfattende anbefales neonatal screening for GA1.

#### 4.2.7 3-Hydroxy 3-Methyl Glutaraciduri (HMG (OA))

Autosomal recessiv defekt i 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA lyase, som medvirker ved omsætningen af leucin og ketonstoffer. Genet for enzymet er *HMGCL*. Der er ingen konsensus om incidensen. ACMG<sup>147</sup> angiver <1:100000. Formodningen om at den er meget sjælden understøttes af, at ingen tilfælde er diagnosticeret i Danmark de seneste 25 år.

Hos 20-50% ses debut i første leveage, mens resten har debuteret inden 2 årsalderen. Symptomer er stofskiftekrise med sløvhed, hypotoni, opkastning, leverpåvirkning, hypoketotisk hypoglykæmi, acidose og hyperammoniami, som ubehandlet leder til neurologiske sequelae og død hos 20%<sup>148</sup>. Flere patienter har macrocefali.

- 
- 134 Naughten ER, Mayne PD, Monavari AA et al. Glutaric aciduria type I: outcome in the Republic of Ireland. *J Inherit Metab Dis* 2004;27:917-20.
- 135 Morton DH, Bennett MJ, Seargeant LE et al. Glutaric aciduria type I: a common cause of episodic encephalopathy and spastic paralysis in the Amish of Lancaster County, Pennsylvania. *Am J Med Genet* 1991;41:89-95.
- 136 Strauss KA, Puffenberger EG, Robinson DL et al. Type I glutaric aciduria, part I: natural history of 77 patients. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2003;121:38-52.
- 137 Kölker S, Garbade SF, Greenberg CR, Leonard JV, et al. Natural history, outcome, and treatment efficacy in children and adults with glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *Pediatr Res*. 2006 Jun;59(6):840-7.
- 138 Kölker S, Garbade SF, Boy N, et al. Decline of acute encephalopathic crises in children with glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency identified by newborn screening in Germany. *Ped Res* 2007;62:357-363.
- 139 Strauss KA, Lazovic J, Wintermark M, Morton DH. Multimodal imaging of striatal degeneration in Amish patients with glutaryl-coA dehydrogenase deficiency. *Brain* 2007;130:1905-1920.
- 140 Zytovicz TH, Fitzgerald EF, Marsden D et al. Tandem mass spectrometric analysis for amino, organic, and fatty acid disorders in newborn dried blood spots: a two-year summary from the New England Newborn Screening Program. *Clin Chem* 2001;47:1945-55.
- 141 Lindner M, Kolker S, Schulze A et al. Neonatal screening for glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *J Inherit Metab Dis* 2004;27:851-9.
- 142 Wilcken B, Wiley V, Hammond J et al. Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *N Engl J Med* 2003;348:2304-12.
- 143 Millington DS, Roe CR, Maltby DA. Characterization of new diagnostic acylcarnitines in patients with beta-ketothiolase deficiency and glutaric aciduria type I using mass spectrometry. *Biomed Environ Mass Spectrom* 1987;14:711-6.
- 144 Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. *Health Technol Assess* 1997;1:i-202.
- 145 Wiley V, Carpenter K, Bayliss U et al. Newborn screening--is it really that simple? *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2003;34 Suppl 3:107-10.
- 146 Smith WE, Millington DS, Koeberl DD et al. Glutaric acidemia, type I, missed by newborn screening in an infant with dystonia following promethazine administration. *Pediatrics* 2001;107:1184-7.
- 147 American College of Medical Genetics. Newborn Screening: toward a uniform screening panel and system. 2005. Rockville, Md.: Maternal and Child Health Bureau.
- 148 Sweetman L, Williams JC. Branched chain organic acidurias. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:2125-64.

Akutte kriser behandles med intravenøs indgift af glukose og korrektion af acidose. Langtidsbehandlingen involverer protein- og fedtrestriktion samt hyppige måltider med undgåelse af faste. Supplement af karnitin kan være nødvendigt. Behovet for diætæssig restriktion varierer mellem patienterne. Tidlig indsat, præsymptomatisk behandling kan forventes af mindre mortalitet og morbiditet<sup>149,150</sup>.

Erfaring med screening for HMG er sparsom. Der forefindes accepterede screeningsalgoritmer med anvendelse af flere metabolitter herunder C5OH<sup>151</sup>. Formentlig lille falskpositivrate. I det danske projekt var raten  $\approx 0\%$  sat i forhold til markøren C5OH. Detektionsraten er reelt ukendt, men sættes af Pollitt et al. til 90%<sup>152</sup>. Der foreligger accepteret algoritme for bekræftelse af diagnosen ved bestemmelse af U-organiske syrer, plasma acylkarnitiner og aktivitetsbestemmelse af HMG-CoA lyase aktivitet. Behandling og langtidsopfølgning er tilgængelig via den specialiserede landsfunktion for metaboliske sygdomme på Rigshospitalet.

Screening for HMG giver mulighed for en effektiv behandling af patienterne, hvorfor screeningen ud fra det synspunkt kan anbefales. Imidlertid kan screening for HMG kun gennemføres ved anvendelse af C5OH som markør. Denne markør anvendes også ved sygdomme som 3-MCC, methylglutaconyl-CoA hydratase mangel og holokarboxylase syntase mangel. De to førstnævnte af disse sygdomme er benigne med en meget lav penetrans. Derudover er et screenpositivt resultat for C5OH i øjeblikket vanskeligt at udrede til bunds og med fornøden hurtighed. Screening for 3-MCC anbefales derfor ikke (se også afsnittene om 3-MCC og holokarboxylase syntase mangel). Afledt af dette kan screening for HMG ikke gennemføres.

#### 4.2.8 Multipel carboxylase defekt (MCD (OA))

Autosomal recessiv arvelig defekt i enzymet holokarboxylase syntase, som katalyserer inkorporeringen af biotin i fire karboxylaser: acetyl-CoA karboxylase, pyruvat karboxylase, propionyl-CoA karboxylase og 3-methylkrotonyl-CoA karboxylase. Ved MCD er alle 4 enzymer defekte og medfører ophobning af acylkarnitiner deriveteret fra de fire enzymeres substrater. MCD forårsages af mutationer i genet *HLC5*.

ACMG<sup>153</sup> angiver incidensen  $<1:100000$ . En nylig opgørelse fra Færøerne<sup>154</sup> finder bærerhyppighed på ca. 5% svarende til prævalens på 1:1700, hvorfor sygdommen her er specielt vigtig at screene for.

Sygdommen debuterer oftest i neonatalperioden med ketoacidose, dehydrering, koma og død. Hud- og hårforandringer er hyppige<sup>155</sup>. Få tilsyneladende asymptomatiske personer med den biokemiske defekt er beskrevet.

149 American College of Medical Genetics. Newborn Screening: toward a uniform screening panel and system. 2005. Rockvill, Md.: Maternal and Child Helath Bureau.

150 Sweetman L, Williams JC. Branched chain organic acidurias. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The metabolic & molecular bases of inherited disease. McGraw-Hill 2001:2125-64.

151 Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns. Clin Chem 2003;49:1797-817.

152 Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. Health Technol Assess 1997;1:i-202.

153 American College of Medical Genetics. Newborn Screening: toward a uniform screening panel and system. 2005. Rockvill, Md.: Maternal and Child Helath Bureau.

154 Lund AM, Joensen F, Hougaard DM et al. Carnitine transporter and holocarboxylase synthetase deficiencies in The Faroe Islands. J Inherit metab Dis 2007;30:341-349.

155 Burri BJ, Sweetman L, Nyhan WL. Heterogeneity of holocarboxylase synthetase in patients with biotin-responsive multiple carboxylase deficiency. Am J Hum Genet 1985;37:326-37

Behandling består i daglig supplement med biotin. Såfremt neurologisk skade ikke er tilstede vil næsten alle symptomer forsvinde på denne behandling<sup>156</sup>. Mortalitet forhindres effektivt<sup>157,158</sup>. Relativt høje doser af biotin må anvendes hos nogle patienter før respons. Respons er oftest meget hurtigt indtrædende.

Screeningsprocedure er beskrevet i<sup>159,160</sup> men udenlandsk erfaring er endnu begrænset. MCD indgik ikke direkte i projekt udvidet screening, men 1 barn blev diagnosticeret pga udslag på den markør, der anvendes ved bl.a. 3-MCC. Pga den høje incidens på Færøerne er der gennemført retrospektiv analyse af PKU-kort på kendte færøske patienter, og tandem-MS ville med aktuelle cut-off diagnosticere 4 ud af 5 patienter. ACMG<sup>161</sup> angiver, at tandem tandem-MS for MCD er sensitiv og specifik. Falskpositivtaten på markøren "C5OH" har været lav på 0.01% i det danske projekt. Pga. overvejelserne omkring 3-MCC (se dette afsnit) gennemføres screening som two-tier screening: ved forhøjet C5OH undersøges filterpapirblodprøven for den hyppige skandinaviske mutation – og kun ved fund af minimum 1 mutation vil familien blive kontaktet. Der foreligger accepteret algoritme for bekræftelse af analysen ved bestemmelse af U-organiske syrer og molekylær-genetisk analyse for den hyppige færøske mutation (IVS10+5G>A)<sup>162</sup> er nationalt tilgængelig. Sammenfattende anbefales neonatal screening for MCD.

#### 4.2.9 Methylmalonsyreæmi (MMA (OA))

En øget P/U-methylmalonsyre (methylmalonsyreæmi/uri) ses ved en række biokemiske defekter, der påvirker aktiviteten af methylmalonyl-CoA mutase<sup>163,164</sup>. De hyppigste årsager er 1) en defekt i methylmalonyl-CoA apoenzymet (mutase defekt forårsaget af *MUT* gendefekter) eller 2) en defekt i metabolismen af hydroxycobalamin til adenosylcobalamin, som er en co-faktor for mutasen (herunder defekterne CblA, CblB, CblC og CblD, forårsaget af defekter i *MMAA*, *MMAB*, *MMACHC* og *CBLD*). Uanset årsag forårsager en abnormitet af methylmalonyl-CoA mutase en defekt nedbrydning af isoleucin, valin, threonin, methionin, kolesterol og uligekædede fedtsyrer. Er der tale om en cobalamin defekt, kan metabolismen af homocystein også være påvirket. De forskellige typer gennemgås her samlet.

Den samlede hyppighed er af Pollitt et al.<sup>165</sup> angivet til mellem 1:25000 og 1:50000 baseret på<sup>166,167</sup>. Som nævnt er den hyppigste type mutase defekten, fulgt af CblA og CblB.

Nyfødte med sygdommen er raske, men mange bliver syge i løbet af den første leveuge, når amningen er etableret<sup>168</sup>. På dette tidspunkt bliver barnet sløvt, sutter dårligt, bliver irriteret, udvikler kramper og hypotoni. Ubehandlet udvikles metabolisk acidose, hyperammoniæmi

156 Wolf B, Feldman GL. The biotin-dependent carboxylase deficiencies. *Am J Hum Genet* 1982;34:699-716.

157 Wolf B, Feldman GL. *ibid*.

158 Wolf B. Disorders of biotin metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:3935-64.

159 Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D et al. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. *Pediatrics* 2003;111:1399-406

160 Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns. *Clin Chem* 2003;49:1797-817.

161 American College of Medical Genetics. *Newborn Screening: toward a uniform screening panel and system*. 2005. Rockville, Md.: Maternal and Child Health Bureau.

162 Yang X, Aoki Y, Li X et al. Structure of human holocarboxylase synthetase gene and mutation spectrum of holocarboxylase synthetase deficiency. *Hum Genet* 2001;109:526-34.

163 Fenton WA, Gravel RA, Rosenblatt DS. Disorders of propionate and methylmalonate metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:2165-94.

164 Rosenblatt DS, Fenton WA. Inherited disorders of folate and cobalamin transport and metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:3897-934.

165 Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. *Health Technol Assess* 1997;1:1-202.

166 Coulombe JT, Shih VE, Levy HL. Massachusetts Metabolic Disorders Screening Program. II. Methylmalonic aciduria. *Pediatrics* 1981;67:26-31.

167 Mahoney MJ, Bick D. Recent advances in the inherited methylmalonic acidemias. *Acta Paediatr Scand* 1987;76:689-96.

168 Matsui SM, Mahoney MJ, Rosenberg LE. The natural history of the inherited methylmalonic acidemias. *N Engl J Med* 1983;308:857-61.



og død. Andre har senere debut og intermitterende forløb med metaboliske kriser udløst af interkurrente infektioner, vaccination etc. En sidste gruppe har kronisk progredierende forløb med dårlig trivsel og regression. Mange patienter udvikler uden behandling neurologiske symptomer og mental reduktion<sup>169</sup>, nyreinsufficiens<sup>170</sup> samt tidlig død.<sup>171,172</sup>

Den akutte behandling involverer at standse al proteinindtag, korrigerer acidose, fjerne toksiske metabolitter ved dialyse og hindre yderligere katabolisme med stor intravenøs indgift af glukose evt kombineret med insulin<sup>173,174,175</sup>. Hyperammoniaemi behandles medikamentelt eller ved dialyse. Langtidsbehandlingen afhænger af typen af methylmalonsyreæmi. Drejer det sig om en defekt i metabolismen af cobalamin kan vitamin B12 behandling evt kombineret med let proteinrestriktion være tilstrækkeligt. Ved defekt mutase må anvendes mere udtalt proteinrestriktion evt i kombination med artificielle aminosyreblandinger for at sikre sufficient indtag af essentielle aminosyrer, øget indtag af kulhydrat for at øge anabolisme, samt hyppige måltider med begrænset fastetid; medikamentelt gives tilskud af karnitin mhp at øge udskillelsen af propionylkarnitin og herudover bør responsen på vitamin B12 undersøges. Hos nogle meget svære varianter har levertransplantation været forsøgt med varierende resultat<sup>176,177,178</sup>. Effekten af tidlig indsat og præsymptomatisk behandling varierer med typen af sygdom<sup>179,180,181</sup>: ved CblA er der fuldt respons, ved CblB rimeligt respons hos 2/3, ved CblC+D dårligt respons og ved mutase defekten meget varierende respons, men formentlig vil omkring 50% dø trods intensiv behandling<sup>182</sup>.

Screening har været udført med tyndtlagskromatografi og gaskromatografi flere steder i verden<sup>183</sup>. Senest er også tandem-MS anvendt<sup>184,185,186</sup>, men endnu er relativt få børn med sygdommen diagnosticeret med metoden. Der er mulighed for at visse typer af MMA med lave metabolit mængder, fx CblC, ikke vil blive opdaget ved tandem-MS, men overordnet sættes

- 
- 169 van der Meer SB, Poggi F, Spada M et al. Clinical outcome of long-term management of patients with vitamin B12-unresponsive methylmalonic acidemia. *J Pediatr* 1994;125:903-8.
- 170 Walter JH, Michalski A, Wilson WM et al. Chronic renal failure in methylmalonic acidemia. *Eur J Pediatr* 1989;148:344-8.
- 171 Fenton WA, Gravel RA, Rosenblatt DS. Disorders of propionate and methylmalonate metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:2165-94.
- 172 Rosenblatt DS, Fenton WA. Inherited disorders of folate and cobalamin transport and metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:3897-934.
- 173 Fenton WA, Gravel RA, Rosenblatt DS. Disorders of propionate and methylmalonate metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:2165-94.
- 174 Leonard JV. The early detection and management of inborn errors presenting acutely in the neonatal period. *Eur J Pediatr* 1985;143:253-7.
- 175 Leonard JV. The management and outcome of propionic and methylmalonic acidemia. *J Inherit Metab Dis* 1995;18:430-4.
- 176 Fenton WA, Gravel RA, Rosenblatt DS. Disorders of propionate and methylmalonate metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:2165-94.
- 177 Leonard JV, Walter JH, McKiernan PJ. The management of organic acidemias: the role of transplantation. *J Inherit Metab Dis* 2001;24:309-11.
- 178 van't Hoff W, McKiernan PJ, Surtees RA et al. Liver transplantation for methylmalonic acidemia. *Eur J Pediatr* 1999;158 Suppl 2:S70-S74.
- 179 Fenton WA, Gravel RA, Rosenblatt DS. Disorders of propionate and methylmalonate metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:2165-94.
- 180 Rosenblatt DS, Fenton WA. Inherited disorders of folate and cobalamin transport and metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:3897-934.
- 181 Baumgartner ER, Viardot C. Long-term follow-up of 77 patients with isolated methylmalonic acidemia. *J Inherit Metab Dis* 1995;18:138-42.
- 182 Leonard JV. The management and outcome of propionic and methylmalonic acidemia. *J Inherit Metab Dis* 1995;18:430-4.
- 183 Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. *Health Technol Assess* 1997;1:1-202.
- 184 Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D et al. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. *Pediatrics* 2003;111:1399-406.
- 185 Wilcken B, Wiley V, Hammond J et al. Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *N Engl J Med* 2003;348:2304-12.
- 186 Chace DH, DiPerna JC, Kalas TA et al. Rapid diagnosis of methylmalonic and propionic acidemias: quantitative tandem mass spectrometric analysis of propionylcarnitine in filter-paper blood specimens obtained from newborns. *Clin Chem* 2001;47:2040-4.

detektionsraten til >90%. Falskpositivraten er lav, i projekt udvidet screening 0.011%. Der screenes for markøren propionylkarnitin ved positivt screeningsvar, hvorfor propionsyreæmi og methylmalonsyreæmi er differentialdiagnoser ved screeningen. Der foreligger accepteret algoritme for bekræftelse af diagnosen ved bestemmelse af U-organiske syrer, acylkarnitiner i plasma, komplementationsanalyse, aktivitetsbestemmelse af methylmalonyl CoA mutase (+/- B12) i fibroblaster samt molekylær-genetisk analyse. Behandling og langtidsopfølgning er tilgængelig via den specialiserede landsfunktion for metaboliske sygdomme på Rigshospitalet.

Arbejdsgruppen fremhæver, at screening er rettet mod patienter med cobalamin-responsive MMA-typer samt op til 50% af børn med mutase-defekt, hos hvem mortalitet kan undgås og nogle kliniske problemstillinger begrænses. Sammenfattende anbefales neonatal screening for MMA.

#### 4.2.10 Propionsyreæmi (PA (OA))

Autosomal recessiv defekt i propionyl-CoA karboxylase forårsaget af genetiske defekter i *PCCA* og *PCCB*. Dette forårsager defekt nedbrydning af isoleucin, valin, threonin, methionin, kolesterol og uligekædede fedtsyrer, med resulterende ophobning af 3-hydroxypropionat, methylcitrat og propionylglycin. Sekundær påvirkning af andre enzymer leder til hyperammoniæmi, ketose og inhibition af glycin katabolismen<sup>187,188</sup>. Der er begrænset viden om incidens, men ACMG angiver >1:75000<sup>189</sup>, og Pollitt et al. angiver 1:35000 til 1:70000<sup>190</sup>. Sygdommen er hyppig i Grønland (1:1000).

Nyfødte med sygdommen er raske, men mange bliver syge i løbet af den første leveuge, når amningen er etableret<sup>191</sup>. På dette tidspunkt bliver barnet sløvt, sutter dårligt, bliver irriteret, udvikler kramper og hypotoni. Ubehandlet udvikles metabolisk acidose, hyperammoniæmi og død. Andre har senere debut og intermitterende forløb med metaboliske kriser udløst af interkurrente infektioner, vaccination etc. Mange patienter udvikler ubehandlet neurologiske symptomer, mental reduktion og tidlig død<sup>192</sup>. Flere patienter har mildere, men signifikante symptomer<sup>193</sup>.

Den akutte behandling involverer at stoppe al proteinindtag, korrigerer acidose, fjerne toksiske metabolitter ved dialyse og hindre yderligere katabolisme med stor intravenøs indgift af glukose evt kombineret med insulin<sup>194,195,196</sup>. Hyperammoniæmi behandles medikamentelt eller ved dialyse. Langtidsbehandlingen involverer proteinrestriktion evt i kombination med artificielle aminosyreblandinger for at sikre sufficient indtag af essentielle aminosyrer, øget indtag af kulhydrat for at øge anabolisme, hyppige måltider med begrænset fastetid; medikamentelt gives tilskud af karnitin mhp at øge udskillelsen af propionylkarnitin og herudover bør respon-

187 Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. *Health Technol Assess* 1997;1:1-202.

188 Fenton WA, Gravel RA, Rosenblatt DS. Disorders of propionate and methylmalonate metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:2165-94.

189 American College of Medical Genetics. *Newborn Screening: toward a uniform screening panel and system*. 2005. Rockville, Md.: Maternal and Child Health Bureau. Ref Type: Report

190 Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. *Health Technol Assess* 1997;1:1-202.

191 Fenton WA, Gravel RA, Rosenblatt DS. Disorders of propionate and methylmalonate metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:2165-94.

192 Fenton WA, Gravel RA, Rosenblatt DS. Disorders of propionate and methylmalonate metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:2165-94.

193 Rousson R, Guibaud P. Long term outcome of organic acidurias: survey of 105 French cases (1967-1983). *J Inher Metab Dis* 1984;7 Suppl 1:10-2.

194 Fenton WA, Gravel RA, Rosenblatt DS. Disorders of propionate and methylmalonate metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:2165-94.

195 Leonard JV. The early detection and management of inborn errors presenting acutely in the neonatal period. *Eur J Pediatr* 1985;143:253-7.

196 Leonard JV. The management and outcome of propionic and methylmalonic acidaemia. *J Inher Metab Dis* 1995;18:430-4.

set på biotin undersøges, da defekter i propionyl-CoA karboxylasen i sjældne tilfælde er biotin-responsive. Hos nogle meget svære varianter har levertransplantation været forsøgt med varierende resultat<sup>197,198,199</sup>. Effekten af tidlig indsat og præsymptomatisk behandling varierer<sup>200,201,202</sup>, men ACMG konkluderer, at mange negative konsekvenser bestemt forhindres om end psykomotorisk retardering og neurologiske konsekvenser ikke kan forhindres hos alle. Heller ikke morbiditet forhindres fuldstændigt.

Screening har været udført med tyndtlagskromatografi og gaskromatografi flere steder i verden<sup>203</sup>. Senest er også tandem-MS anvendt<sup>204,205,206</sup>, men endnu er relativt få børn med denne sygdom diagnosticeret med metoden. Overordnet sættes detektionsraten til >90%. Falskpositivt-raten er lav, i projekt udvidet screening 0.011%. Der screenes på markøren propionylkarnitin, hvorfor propionsyreæmi og methylmalonsyreæmi er differentialdiagnoser ved screeningen. Der foreligger accepteret algoritme for bekræftelse af diagnosen ved bestemmelse af U-organiske syrer, acylkarnitiner i plasma og aktivitetsbestemmelse af propionyl CoA mutase i fibroblaster samt molekylær-genetisk analyse. Behandling og langtidsopfølgning er tilgængelig via den specialiserede landsfunktion for metaboliske sygdomme på Rigshospitalet.

Arbejdsgruppen gør klart at screening er rettet mod at reducere morbiditet og mortalitet, mens et fuldt respons kun kan forventes hos mildere afficerede patienter. Sammenfattende anbefales neonatal screening for PA.

#### 4.2.11 Galaktosæmi (GALT, "klassisk galaktosæmi")

Autosomal recessiv defekt i enzymet galaktose-1-fosfat uridyl transferase forårsaget af mutationer i *GALT* genet.<sup>207</sup> To mutationer i *GALT* er specielt hyppige: Q188R og K285N, hvoraf Q188R er tilstede hos størstedelen af danske galaktosæmi patienter. Den ligeledes hyppige mutation N314D er i homozygot form forbundet med ca. 25% nedsat aktivitet af galaktose-1-fosfat uridyltransferase, men er ikke sygdomsfremkaldende (er associeret med såkaldt Duarte-galaktosæmi – se nedenfor). Ved klassisk galaktosæmi medfører defekten i galaktose-1-fosfat uridyl transferasen en manglende/begrænset evne til at omsætte exogent og endogent galaktose.<sup>208</sup> Galaktose kan fosforyles, men herefter medfører enzymløst ophobning af primært galaktose-1-fosfat, foruden galaktitol og galaktose. Både galaktitol og galaktose-1-fosfat formodes at være toksiske for kroppen. Incidensen bedømt ud fra flere europæiske studier og screeningsprogrammer er ca 1:50000.<sup>209</sup>

197 Fenton WA, Gravel RA, Rosenblatt DS. Disorders of propionate and methylmalonate metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The metabolic & molecular bases of inherited disease. McGraw-Hill 2001:2165-94.

198 Leonard JV, Walter JH, McKiernan PJ. The management of organic acidurias: the role of transplantation. J Inherit Metab Dis 2001;24:309-11.

199 van't Hoff W, McKiernan PJ, Surtees RA et al. Liver transplantation for methylmalonic aciduria. Eur J Pediatr 1999;158 Suppl 2:S70-S74.

200 Leonard JV. The management and outcome of propionic and methylmalonic aciduria. J Inherit Metab Dis 1995;18:430-4.

201 Rousson R, Guibaud P. Long term outcome of organic acidurias: survey of 105 French cases (1967-1983). J Inherit Metab Dis 1984;7 Suppl 1:10-2.

202 van der Meer SB, Poggi F, Spada M et al. Clinical outcome and long-term management of 17 patients with propionic aciduria. Eur J Pediatr 1996;155:205-10.

203 Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. Health Technol Assess 1997;1:i-202.

204 Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D et al. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. Pediatrics 2003;111:1399-406.

205 Wilcken B, Wiley V, Hammond J et al. Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. N Engl J Med 2003;348:2304-12.

206 van der Meer SB, Poggi F, Spada M et al. Clinical outcome and long-term management of 17 patients with propionic aciduria. Eur J Pediatr 1996;155:205-10.

207 Holtton JB, Walter JH, Tyfield LA. Galactosemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The metabolic & molecular bases of inherited disease. McGraw-Hill 2001:1553-88.

208 ibid.

209 ibid.

Sygdommens naturhistorie er belyst i flere arbejder<sup>210,211,212</sup> Nyfødte med galaktosæmi er normale, men i takt med, at amningen etableres, oftest i løbet af de første 4-5 dage efter fødslen, udvikler børnene opkastninger og taber i vægt. Der tilkommer icterus, leverforstørrelse, leverinsufficiens og koagulopati. Katarakt udvikles i løbet af de første leveuger. Behandles sygdommen ikke vil mange børn dø i lever- og nyresvigt. Mange børn dør i E.coli sepsis, som er en hyppig komplikation til galaktosæmi. En stor del af de børn, som overlever vil udvikle mentalt handicap. Behandlingen består i eksklusion af galaktoseholdige fødeemner. Verden over gøres det med meget forskellig stringens; den danske behandling følger engelske rekommendationer i form af mælkefri diæt, mens visse fødeemner med begrænset galaktoseindhold, såsom frugt og grøntsager, tillades.<sup>213</sup> Denne holdning begrundes i, at den endogene produktion af galaktose er betydeligt større end indholdet af galaktose i disse fødemidler.<sup>214,215</sup> Den endogene produktion af galaktose er formentlig også ansvarlig for, at størstedelen af relevant behandlede patienter på langt sigt udvikler varierende grader af mentalt handicap<sup>216</sup> og de fleste kvinder ovarieinsufficiens.<sup>217</sup> Det mentale handicap er progressivt med lineært tab af IK point med alderen og synes at være uafhængigt af, hvornår diæten iværksættes.<sup>218,219</sup> Det hyppigste og ofte tidligste neurologiske symptom i tidlig barnealder er taleproblemer.<sup>220</sup> Flere studier indikerer en betydelig reduktion af livskvalitet<sup>221,222</sup>. Homozygoti for den hyppige Q188R mutation er i særlig grad forbundet med dårlig mental prognose,<sup>223</sup> og meget tyder på, at det er genotypen snarere end diæten, der bestemmer prognosen. Enkelte patienter, der ikke har været diætmæssigt behandlet gennem lange tider, fx 35 år som beskrevet af Lee et al.<sup>224</sup> har ikke haft flere (eller færre) problemer end behandlede. Der er således fortsat stor usikkerhed om hvilken rolle diæten har, og hvor streng den bør være. Der er dog ingen tvivl om, at galaktoserestriktion effektivt behandler spædbørnenes katarakt og leverinsufficiens og dermed reducerer mortaliteten.<sup>225</sup> Derimod er det uvist i hvor høj grad den mentale udvikling påvirkes.

Screening for galaktosæmi har været gennemført i flere programmer verden over, dels ved bestemmelse af aktiviteten af galaktose-1-fosfat-uridyltransferase (Beutlers metode), dels ved måling af koncentrationen af fri galaktose eller galaktose-1-fosfat, begge i blod fra

210 *ibid.*

211 Walker FA, Hsia DY, Slatis HM et al. Galactosemia: a study of twenty-seven kindreds in North America. *Ann.Hum. Genet.* 1962;25:287-311.

212 Waggoner DD, Buist NR, Donnell GN. Long-term prognosis in galactosaemia: results of a survey of 350 cases. *J.Inherit. Metab.Dis.* 1990;13:802-18.

213 Walter JH, Collins JE, Leonard JV. Recommendations for the management of galactosaemia. UK Galactosaemia Steering Group. *Arch.Dis.Child.* 1999;80:93-6.

214 Berry GT, Nissim I, Lin Z et al. Endogenous synthesis of galactose in normal men and patients with hereditary galactosaemia. *Lancet* 1995;346:1073-4.

215 Berry GT, Palmieri M, Gross KC et al. The effect of dietary fruits and vegetables on urinary galactitol excretion in galactose-1-phosphate uridyltransferase deficiency. *J.Inherit.Metab.Dis.* 1993;16:91-100.

216 Schweitzer S, Shin Y, Jakobs C et al. Long-term outcome in 134 patients with galactosaemia. *Eur.J.Pediatr.* 1993;152:36-43.

217 Holton JB, Walter JH, Tyfield LA. Galactosemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease.* McGraw-Hill 2001:1553-88.

218 Waggoner DD, Buist NR, Donnell GN. Long-term prognosis in galactosaemia: results of a survey of 350 cases. *J.Inherit. Metab.Dis.* 1990;13:802-18.

219 Schweitzer S, Shin Y, Jakobs C et al. Long-term outcome in 134 patients with galactosaemia. *Eur.J.Pediatr.* 1993;152:36-43.

220 *ibid.*

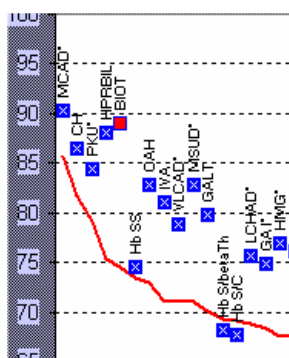
221 Bosch AM, Grootenhuis MA, Bakker HD et al. Living with classical galactosemia: health-related quality of life consequences. *Pediatrics* 2004;113:e423-e428.

222 Lambert C, Boneh A. The impact of galactosaemia on quality of life--a pilot study. *J.Inherit.Metab.Dis.* 2004;27:601-8.

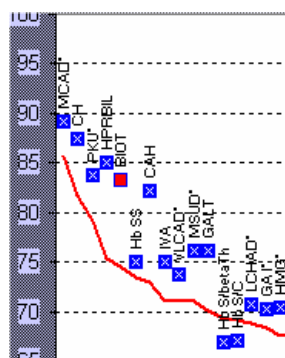
223 Shield JP, Wadsworth EJ, MacDonald A et al. The relationship of genotype to cognitive outcome in galactosaemia. *Arch.Dis.Child.* 2000;83:248-50.

224 Lee PJ, Lilburn M, Wendel U et al. A woman with untreated galactosaemia. *Lancet* 2003;362:446.

225 Schweitzer-Krantz S. Early diagnosis of inherited metabolic disorders towards improving outcome: the controversial issue of galactosaemia. *Eur.J.Pediatr.* 2003;162 Suppl 1:S50-S53.



Figur 4-3. Biotinidasemangel scoret på alle PKU-kriterier. Rød linje indikerer scoreværdier på samtlige ACMG-kriterier.



Figur 4-4. Biotinidasemangel scoret på PKU-kriterier + hyppighedskriterium. Rød linje indikerer scoreværdier på samtlige ACMG-kriterier.

filterpapir.<sup>226,227,228</sup> Herhjemme er udviklet en metode til bestemmelse af galaktose-1-fosfat ved tandem-MS.<sup>229</sup> Screening for galaktosæmi i DK har været udført fra 1. februar 2002 til 1. januar 2004. Et barn med galaktosæmi blev fundet ved tandem-MS samtidig med klinisk diagnose. Falskpositivraten var 0.01%, hvilket afspejlede fund af børn med Duarte galaktosæmi, hvoraf de fleste havde den kendte mutation forbundet med Duarte galaktosæmi. Da der i Danmark (og de fleste andre lande) ikke er fundet belæg for at behandle børn med Duarte galaktosæmi må disse børn betragtes som falskpositive. Ved en justering af cut-off ville en frasortering af børn med Duarte galaktosæmi i vid udstrækning være mulig. Den danske tandem-MS metode til påvisning af hexosemonofosfat kræver en separat kørsel på et separat tandem-massespektrometer.

Følgende skal afvejes ved stillingtagen til screening: 1) at effekten af behandlingen på de neurologiske konsekvenser af sygdommen er for dårlige, specielt med henvisning til den i DK prævalente genotype; 2) at man får for sent resultat og ikke tidligere end klinisk debut, medmindre screeningstidspunktet fremrykkes væsentligt, 3) at screeningsmetoden er god og at cut-off kan indstilles, så antallet af falsk positive (incl. børn med Duarte galaktosæmi) kan minimeres, men at screeningsmetoden er ressourcekrævende. Specielt under hensyntagen til den utilfredsstillende behandlingseffekt finder arbejdsgruppen ikke tilstrækkeligt grundlag for at anbefale screening for galaktosæmi.

#### 4.2.12 Isovaleriansyreæmi (IVA)

Der henvises til facts-sheet. Sygdommen opfylder stort set alle krav til en god screening. Imidlertid gør den danske anvendelse af pivaloyl-holdige antibiotika tandem-MS metoden uanvendelig, hvorfor arbejdsgruppen ikke finder, at screening for IVA er gennemførlig herhjemme.

#### 4.2.13 Biotinidasemangel (BIOT)

Arbejdsgruppens opmærksomhed blev særskilt rettet mod den sjældne sygdom biotinidasemangel under delmængdeanalyserne af ACMG's parameterscoringer, hvor rangsumscoren for BIOT alene overgås af fedtsyreoxidaionsdefekten MCADD, og således overgik PKU. Det var overraskende, at selv såfremt hyppighedskriteriet inkluderedes, bevarede BIOT en solid topplacering i rangsumscoringen (se ovenstående figurer).

226 Schweitzer-Krantz S. Early diagnosis of inherited metabolic disorders towards improving outcome: the controversial issue of galactosaemia. *Eur.J.Pediatr.* 2003;162 Suppl 1:S50-S53.

227 Beutler E, Baluda M, Donnell GN. A new method for the detection of galactosemia and its carrier state. *J.Lab.Clin. Med.* 1964;64:694-705.

228 Paigen K, Pacholec F, Levy HL. A new method of screening for inherited disorders of galactose metabolism. *J.Lab Clin. Med.* 1982;99:895-907.

229 Jensen UG, Brandt NJ, Christensen E et al. Neonatal screening for galactosemia by quantitative analysis of hexose monophosphates using tandem mass spectrometry: a retrospective study. *Clin.Chem.* 2001;47:1364-72.

Enzymet biotinidase<sup>230</sup> er en amidohydrolase, der katalyserer spaltning af biotin fra biocytin og biotinylerede peptid-rester. Enzymet er til stede i de fleste væv med højest aktivitet i lever, nyre og serum. Biotinidase spiller en afgørende rolle for kroppens udnyttelse af vitaminet biotin.

Biotin fungerer som co-enzym i fire karboxylaser, hvis inaktive apoenzymer alle biotinyleres af enzymet holokarboxylase syntase. Ved biologisk degradering af karboxylaserne frigøres biotin ved hjælp af biotinidase. Frit biotin kan herved returnere til biotin poolen og genanvendes. På samme måde er biotinidase sandsynligvis ansvarlig for fraspaltningen af biotin bundet til proteiner i føden.

Biotinidasemangel kan således medføre generel mangel på tilgængeligt frit biotin og dermed nedsat aktivitet af de biotin afhængige karboxylaser. Karboxylaserne er vigtige for gluconeogenesen, fedtsyre syntesen og aminosyre katabolismen.<sup>231</sup>

Biotinidasemangel nedarves autosomt recessivt. Det humane biotinidase gen er lokaliseret til kromosom 3. Der er beskrevet mere end 100 forskellige mutationer i genet, som resulterer i svært nedsat aktivitet af enzymet (<10 %), samt en lang række mutationer der resulterer i partiel nedsættelse af enzymaktiviteten (10-30 %). To af de mest almindelige mutationer c.98:d7i3 og R538C står for godt halvdelen af symptomgivende tilfælde af biotinidase-mangel. Den mest almindelige årsag i USA til svær biotinidase-mangel fundet ved screening af nyfødte er mutationen Q456H i exon 4. Forældre der bidrager med dette allel er hovedsagelig af nord-europæisk afstamning<sup>232</sup>.

Den internationalt rapporterede incidens af biotinidasemangel varierer; der ses en generel stigning med etablering af neonatal screening for sygdommen i flere lande. Baseret på resultater fra screening af nyfødte estimeres incidensen af svær symptomgivende biotinidase-mangel (rest enzymaktivitet <10%) til 1: 85.000-145.000, og incidensen af partielt nedsat enzymaktivitet til ca. 1:110.000-180.000. I enkelte lande er der for nyligt rapporteret særlig høje incidenser (Ungarn 1:23.000, Brasilien 1:9.000)<sup>233,234</sup>. I Sverige er der ud af 300.000 screenede børn fundet 4 med svær biotinidase-mangel, svarende til en incidens på 1:75.000. I Danmark er der 3 kendte tilfælde med symptomgivende biotinidase-mangel<sup>235</sup>. Det er således sandsynligt, at vi i her i landet har flere udiagnosticerede tilfælde.

Symptomerne ved biotinidasemangel (og holokarboxylase syntase mangel) opstår hovedsagelig som følge af nedsat aktivitet af de mitokondrielle biotinafhængige karboxylaser. Tidspunktet for debut af symptomer ved biotinidasemangel varierer fra en uge til flere år med en gennem-

230 Wolf B. Disorders of biotin metabolism. In: The metabolic and molecular bases of inherited disease. Eight edition. Eds. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D.

231 Tre af enzymerne, pyruvat karboxylase, propionyl-CoA karboxylase og β-metylkrotonyl-CoA karboxylase er mitokondrielle enzymer, mens det fjerde enzym, acetyl-CoA karboxylase er cytoplasmatisk. Pyruvat karboxylase katalyserer omdannelsen af pyruvat til oxaloacetat, som indgår i biosyntesen af glukose. Propionyl-CoA karboxylase er involveret i katabolismen af forgrenede aminosyrer samt fedtsyrekæder med ulige antal kulstofatomer, idet det katalyserer omdannelse af propionyl-CoA til metylmalonyl-CoA. β-Metylkrotonyl-CoA karboxylase er involveret i leucin katabolismen via katalyse af β-metylkrotonyl-CoA's omdannelse til β-metylglutaconyl CoA. Acetyl-CoA karboxylase katalyserer omdannelsen af acetyl-CoA til malonyl-CoA, som er hovedsubstrat i biosyntesen af fedtsyrer. Nedsat aktivitet af de biotin afhængige karboxylaser, med deraf følgende abnorm akkumulering af relaterede metabolitter, kan have gennemgribende indflydelse på andre metaboliske systemer. Det vil i nogle tilfælde afspejle sig i acylkarnitin profiler bestemt ved neonatal screening med tandem-MS.

232 Broda E, Baumgartner R, Scholl S, Stopsack M, Horn A, Rhode H. Biotinidase determination in serum and dried blood spots-high sensitive fluorimetric ultramicro-assay. Clin Chem Acta 2001; 314: 175-185.

233 Laszlo A, Schuler EA, Sallay E, Endrefy E, Somogyi Cs, Varkonyi A, Havass Z, Jansen KP, Wolf B. Neonatal screening for biotinidase deficiency in Hungary: Clinical, biochemical and molecular studies. J Inherit Metab Dis 2003; 26: 693-698

234 Neto EC, Schulte J, Rubin R, Lewis E, DeMari J, Castilhos C, Brites A, Giugliani R, Jensen KP, Wolf B. Newborn screening for biotinidase deficiency in Brazil: Biochemical and molecular characterizations. Braz J Med Biol Res 2004; 37: 295-299.

235 Personlig meddelelse. Ernst Christensen, Metabolisk Laboratorium, Rigshospitalet.

snitsalder på ca. 4 måneder. De mest almindelige debutsymptomer inkluderer myoklone kramper, hypotoni, forsinket udvikling, ataxi, problemer med vejrtrækning, seborroisk eller atopisk dermatit, dermale svampeinfektioner, conjunctivitis og alopeci. Hertil kan komme tab af hørelse, nervus opticus atrofi, påvirket kognitiv funktion og ultimativt, koma og død<sup>236,237,238,239</sup>. Der er hos symptomatiske børn rapporteret abnormaliteter i hjernen<sup>240</sup>, herunder irreversible neurologiske skader (bl.a. cerebral atrofi), med forskellige grader af høretab, synsforstyrrelser og forsinket udvikling, herunder mental retardering<sup>241</sup>. Nogle børn med uerkendt svær biotinidasemangel udvikler først symptomer senere i barndommen eller i tidlig voksenalder. Det er formodentligt kun børn med enzymaktiviteter <1 %, der udvikler kliniske symptomer tidligt i livet<sup>242</sup>.

Patienter med symptomer på nedsat karboxylase aktivitet blev tidligere klassificeret som neonatal eller juvenil multipel karboxylase mangel, alt afhængig af tidspunktet for sygdommens debut. De fleste patienter med den neonatale form har vist sig at have nedsat aktivitet af holokarboxylase syntase, mens de fleste børn med den juvenile form har biotinidasemangel.

Behandlingen består i peroral indgift af frit biotin. Der administreres typisk 5-20 mg dagligt, men væsentligt mindre doser afhængig af mængden af frit biotin i føden er sandsynligvis nok. Alle patienter responderer godt med sædvanligvis hurtig forbedring af deres kramper, ataxi og hudsymptomer. Høretabet og nervus opticus atrofien er tilsyneladende kun i mindre grad reversibel. Behandling af nyfødte med svær biotinidasemangel erkendt ved neonatal screening forhindrer efter alt at dømme udvikling af symptomer og skader senere i livet<sup>243,244,245</sup>. Det er uklart om asymptomatiske børn med partiel biotinidase-mangel behøver behandling<sup>246,247,248</sup>.

Der screenes for biotinidasemangel ved fødslen i en lang række lande. Enzym aktiviteten kan bestemmes på forskellig måde i neonatale filterpapirblodprøver og i serum ved anvendelse af

- 
- 236 Laszlo A, Schuler EA, Sallay E, Endrefy E, Somogyi Cs, Varkonyi A, Havass Z, Jansen KP, Wolf B. Neonatal screening for biotinidase deficiency in Hungary: Clinical, biochemical and molecular studies. *J Inherit Metab Dis* 2003; 26: 693-698 McGraw-Hill 2001, vol 3, 3935-3962.
- 237 Moslinger D, Muhl A, Suormala T, Baumgartner R, Stocker-Ipsiroglu S. Molecular characterisation and neuropsychological outcome of 21 patients with profound biotinidase deficiency detected by newborn screening and family studies. *Eur J Pediatr* 2003; 162: s46-s49.
- 238 Neto EC, Schulte J, Rubin R, Lewis E, DeMari J, Castilhos C, Brites A, Giugliani R, Jensen KP, Wolf B. Newborn screening for biotinidase deficiency in Brazil: Biochemical and molecular characterizations. *Braz J Med Biol Res* 2004; 37: 295-299.
- 239 Wolf B. Disorders of biotin metabolism. In: *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. Eight edition. Eds. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. McGraw-Hill 2001, vol 3, 3935-3962.
- 240 Wolf B. Disorders of biotin metabolism. In: *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. Eight edition. Eds. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. McGraw-Hill 2001, vol 3, 3935-3962.
- 241 Moslinger D, Muhl A, Suormala T, Baumgartner R, Stocker-Ipsiroglu S. Molecular characterisation and neuropsychological outcome of 21 patients with profound biotinidase deficiency detected by newborn screening and family studies. *Eur J Pediatr* 2003; 162: s46-s49.
- 242 Moslinger D, Muhl A, Suormala T, Baumgartner R, Stocker-Ipsiroglu S. Molecular characterisation and neuropsychological outcome of 21 patients with profound biotinidase deficiency detected by newborn screening and family studies. *Eur J Pediatr* 2003; 162: s46-s49.
- 243 Laszlo A, Schuler EA, Sallay E, Endrefy E, Somogyi Cs, Varkonyi A, Havass Z, Jansen KP, Wolf B. Neonatal screening for biotinidase deficiency in Hungary: Clinical, biochemical and molecular studies. *J Inherit Metab Dis* 2003; 26: 693-698
- 244 Moslinger D, Muhl A, Suormala T, Baumgartner R, Stocker-Ipsiroglu S. Molecular characterisation and neuropsychological outcome of 21 patients with profound biotinidase deficiency detected by newborn screening and family studies. *Eur J Pediatr* 2003; 162: s46-s49.
- 245 Wolf B. Disorders of biotin metabolism. In: *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. Eight edition. Eds. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. McGraw-Hill 2001, vol 3, 3935-3962.
- 246 Laszlo A, Schuler EA, Sallay E, Endrefy E, Somogyi Cs, Varkonyi A, Havass Z, Jansen KP, Wolf B. Neonatal screening for biotinidase deficiency in Hungary: Clinical, biochemical and molecular studies. *J Inherit Metab Dis* 2003; 26: 693-698. McGraw-Hill 2001, vol 3, 3935-3962.
- 247 Moslinger D, Muhl A, Suormala T, Baumgartner R, Stocker-Ipsiroglu S. Molecular characterisation and neuropsychological outcome of 21 patients with profound biotinidase deficiency detected by newborn screening and family studies. *Eur J Pediatr* 2003; 162: s46-s49.
- 248 Wolf B. Disorders of biotin metabolism. In: *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. Eight edition. Eds. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. McGraw-Hill 2001, vol 3, 3935-3962.

en række artificielle og naturlige biotinidase substrater<sup>249,250</sup>. En meget anvendt simpel colorimetrisk semikvantitativ neonatal screeningstest er baseret på fraspaltning af p-aminobenzoat fra biotinylnyl p-aminobenzoat, hvilket kan visualiseres ved tilsætning af en fremkalder. Et kvantitativt fluorimetrisk screenings assay er baseret på anvendelse af biotin 6-amidoquinoline som substrat for enzymet<sup>251</sup>. Cut-off værdien ved kvantitative assays sættes typisk ved enzymaktivitet under 20 % af medianen for dagens analyser. Disse analyser vil uden besvær kunne ibrugtages på Statens Serum Institut. Falsk positivraten betragtes generelt som værende meget lav. Disse få falskpositive er især associeret til lav fødselsvægt og præmaturitet<sup>252</sup>. En gentaget prøve vil i langt de fleste af disse tilfælde være normal. I Sverige har man siden 2002 som forsøg screenet for biotinidasemangel. Her anvendes et fluorimetrisk assay og en cut-off værdi på <20 % af den daglige median. Ud af 300.000 nyfødte er der fundet 4 med total biotinidasemangel, 1 med partiel mangel og 8 falsk positive.

Hos nyfødte, der er fundet positive ved neonatal screening, stilles diagnosen på grundlag af bestemmelse af biotinidase aktiviteten i serum<sup>253</sup>. Der findes en række kvantitative enzymatiske assays til formålet. Udredning og opfølgning kan her i landet finde sted på Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet. Mutationsanalyse kan bidrage yderligere til udredningen af behandlingsbehov<sup>254,255</sup>.

Svær biotinidasemangel er en alvorlig sygdom, der ubehandlet medfører betydelige lidelser, irreversible neurologiske handikap og eventuelt død. Der findes veletablerede effektive neonatale screeningsmetoder og udredningsalgoritmer der uproblematisk kan implementeres i Danmark. Behandlingen er simpel, billig og effektiv. Sammenfattende anbefales derfor neonatal screening for biotinidase-mangel.

#### 4.2.14 Kongenit Hypothyreose (CH)

Medfødt hypothyreose (CH) er en stofskiftesygdom, som skyldes manglende eller stærkt reduceret produktion af stofskiftehormonet Thyroxin. Dette kan skyldes manglende anlæg eller nedsat hormonproduktion pga. af enzymdefekter. Den hyppigste årsag til CH er en defekt i udviklingen af kirtlen (athyreose, ektopisk thyroidea eller hypoplasi af thyroidea) med en mindre del forårsaget af en defekt hormonsyntese<sup>256</sup>. Sekundær hypothyreose som også kan være medfødt skyldes mangel på TSH evt. i kombination med mangel på andre hypofysefor-lapshormoner.

249 Broda E, Baumgartner R, Scholl S, Stopsack M, Horn A, Rhode H. Biotinidase determination in serum and dried blood spots-high sensitive fluorimetric ultramicro-assay. *Clin Chem Acta* 2001; 314: 175-185.

250 Wolf B. Disorders of biotin metabolism. In: *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. Eight edition. Eds. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. McGraw-Hill 2001, vol 3, 3935-3962.

251 Broda E, Baumgartner R, Scholl S, Stopsack M, Horn A, Rhode H. Biotinidase determination in serum and dried blood spots-high sensitive fluorimetric ultramicro-assay. *Clin Chem Acta* 2001; 314: 175-185

252 Wolf B. Disorders of biotin metabolism. In: *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. Eight edition. Eds. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. McGraw-Hill 2001, vol 3, 3935-3962.

253 Wolf B. Disorders of biotin metabolism. In: *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. Eight edition. Eds. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. McGraw-Hill 2001, vol 3, 3935-3962.

254 Moslinger D, Muhl A, Suormala T, Baumgartner R, Stocker-Ipsiroglu S. Molecular characterisation and neuropsychological outcome of 21 patients with profound biotinidase deficiency detected by newborn screening and family studies. *Eur J Pediatr* 2003; 162: s46-s49.

255 Wolf B. Disorders of biotin metabolism. In: *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. Eight edition. Eds. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. McGraw-Hill 2001, vol 3, 3935-3962.

256 Grüters A, Jenner A, Krude H: Long-term consequences of congenital hypothyroidism in the era of screening programmes. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002; 16:369-382.



CH er en af de hyppigste årsager til endokrin stofskiftesygdom med en incidens på 1:3 000 – 4 000<sup>257,258</sup>. I den danske population er incidensen fundet til 1:3400<sup>259</sup>. Piger er oftere ramt end drenge med en ratio på 2:1 til 4:1. Incidensen af sekundær hypothyreose er angivet som 1:100 000<sup>260</sup>.

Det fulde kliniske billede af medfødt hypothyreose indbefatter oligofreni, vækstreardering, ødematøst udseende med myxødem, flad og umoden næseryg, stor tunge, mikrognathi, åbentstående fontanelle (stærkt forsinket lukning af denne), stort abdomen med umbilikal-hernie, kraftig hårvækst, tør og skællende hud, persisterende neonatal ikterus, sløvhed, trivselsproblemer, forstoppelse og et hæst skrig. Medfødt hypothyreose vil imidlertid kun sjældent kunne diagnosticeres klinisk umiddelbart efter fødslen og en forsinkelse af diagnostikken resulterer i psykomotorisk retardering<sup>261</sup>.

Tilstanden behandles effektivt med peroralt thyroxin. Behandling bør startes så hurtigt som muligt for at opnå det bedste resultat. En startdosis på 8-10 mikrogram/kg har vist sig sufficient til at sikre en normal psykomotorisk udvikling<sup>262</sup>. Behandlingen skal kontrolleres ved at holde TSH i normalområdet. Undersøgelser peger på, at det er bedst at holde hormon-niveauet i den øvre del af normalområdet for at opnå den bedste psykomotoriske udvikling<sup>263,264</sup>. Behovet for thyroxin er nogenlunde stabilt omkring 100 mikrogram/kg igennem barnealderen. Behandlingen bør kontrolleres ofte (4-6 gange årligt) i de første leveår ved børneendokrinolog. Senere fra 3-4 års alderen kan kontrolintervallerne øges til hver 6. måned.

Der har i Danmark været screenet for hypothyreose ved hjælp af TSH analyse i mere end 25 år. Det har ført til diagnosticeringen af 539 børn med CH ud af 1.733.020 screenede nyfødte (1977-2004). Desværre foreligger dog ikke opfølgning af samtlige screeningspositive. Andre grupper har vist samme fund og en meget positiv cost-benefit ratio. På årsbasis er der med den nuværende screeningsmetode (Delfia) 30-40 screeningspositive med TSH-værdier >15 mIE/l. Blandt disse findes ca. 20 med kongenit hypothyreose. SSI er ikke bekendt med falske screeningsnegative, når blodprøven er indsendt.

Behandlingen er som ovenfor beskrevet let tilgængelig og ikke kostbar eller indgribende.

Amerikanske erfaringer har vist at et screeningsprogram er uhyre kost-effektivt med en ratio på 10:1 for udgifterne<sup>265</sup>. Sekundær hypothyreose diagnosticeres ikke ved TSH-screening, men antallet af disse patienter er meget lavt og mange vil udvise øvrige tegn på dysfunktion af hypofysen. Den overordnede vurdering af screeningspotentialer er, at der i Danmark eksisterer

257 Grüters A, Jenner A, Krude H: Long-term consequences of congenital hypothyroidism in the era of screening programmes. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002; 16:369-382.

258 Alm J, Hagenfeldt L, Larsson A, Lundberg K: Incidence of congenital hypothyroidism: retro-spective study of neonatal laboratory screening versus clinical symptoms as indicators leading to diagnosis. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1984; 289(6453):1171-1175.

259 Simonsen H, Brandt NJ, Nørgaard-Pedersen B: Neonatal screening i Danmark. Status og fremtidige perspektiver. *Ugeskr Laeger* 1998; 160:5777-5782.

260 Fisher DA: Disorders of the thyroid in the newborn and infant; in: Sperling MA, (ed): *Pediatric Endocrinology*. Philadelphia, Saunders, 1996, pp 51-70.

261 Grüters A, Jenner A, Krude H: Long-term consequences of congenital hypothyroidism in the era of screening programmes. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002; 16:369-382.

262 Grüters A, Jenner A, Krude H: Long-term consequences of congenital hypothyroidism in the era of screening programmes. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002; 16:369-382.

263 Bongers-Schokking JJ, Koot HM, Wiersma D, Verkerk PH, de Muinck Keizer-Schrama SM: Influence of timing and dose of thyroid hormone replacement on development in infants with congenital hypothyroidism. *J Pediatr* 2000; 136(3):292-297.

264 Bongers-Schokking JJ, de Muinck Keizer-Schrama S: Influence of Timing and Dose of Thyroid Hormone Replacement on Mental, Psychomotor, and Behavioral Development in Children with Congenital Hypothyroidism. *The Journal of Pediatrics* 2005; 147:768-774.

265 Leutwyler K: The price of prevention. *Sci Am* 1995; 10:122-129.

en velfungerende screening for kongenit hypothyreose gennem mere end 25 år. Sammenfattende findes at neonatal screening for CH fortsætter uændret.

#### 4.2.15 Adrenogenitalt syndrom (CAH)

Kongenit adrenal hyperplasi er en samlebetegnelse for en række autosomal recessive lidelser, som skyldes defekter i syntesen af binyrebarkhormoner. En patient med sygdommen er første gang beskrevet i 1800-tallet, men først i 1950'erne blev effektiv behandling mulig med opdagelsen af kortison<sup>266</sup>.

Den hyppigste årsag (> 90 %) til CAH er en defekt i 21-hydroxylase genet. Dette forårsager nedsat eller manglende dannelse af kortisol og/eller aldosteron. Produktionen af pregnenolone og 17-OH progesteron ophører ikke, men øges på grund af manglen på kortisol, der øger ACTH stimulationen, som igen medfører binyrebarkhyperplasi. Den overskydende del tvinges over i en øget produktion af androgener (DHEAS og androstendion).

Genet for 21-hydroxylase er placeret på kromosom 6<sup>267</sup>. Genet (*CYP21 (CYP21A2)*) ligger ved siden af et pseudogen (*CYP21P (CYP21A1P)*). I de to gener er 98 % af nucleotid-sekvenserne ens, men mutationer i pseudogenet inaktiverer genproduktet. De fleste mutationer der forårsager 21-hydroxylase defekt (ca. 75 %) skyldes skadelige mutationer i *CYP21P*, der overføres til *CYP21*. Mutationsmønsteret er i Danmark fundet til være det samme som i den øvrige nordeuropæiske population<sup>268</sup>. De fleste afficerede er compound heterozygote.

Incidensen af CAH udviser stor variation i forskellige populationer. Globalt er incidensen omkring 1:15000 varierende fra 1:280 i en eskimopopulation til 1:42000 i den afroamerikanske befolkning. I den svenske befolkning er incidensen 1:9800<sup>269</sup>, hvilket svarer til, at der i Danmark er fundet incidensen 1:11000<sup>270</sup>.

CAH kan klinisk deles ind i klassisk (salttabende eller simpelt viriliserende) og non-klassisk, forskellen skyldes forskellig restaktivitet af 21-hydroxylasen. Der er generelt god fænotype-genotype korrelation, hvor mildeste mutation bestemmer fænotypen<sup>271,272</sup>.

Den salttabende klassiske CAH skyldes komplet eller næsten komplet tab af enzymaktivitet. Salttabet skyldes manglen på aldosteron, der medfører stor udskillelse af natrium.

Det store overskud af androgener medfører hos piger virilisering af ydre genitalia. Denne virilisering af ydre genitalia kan medføre ambivalente genitalia (intersex) og usikkerhed om barnets køn. Denne situation er meget belastende for nybakte forældre. Hos drenge ses ingen specielle ydre kendetegn, bortset fra en lidt øget pigmentering af skrotalområdet.

266 Wilkins L, Lewis RA, Klein R, Roseburg E: The suppression of androgen secretion by cortison in a case of congenital adrenal hyperplasia. Bull Johns Hopkins Hosp 1950; 86:245-252.

267 Ohlsson G, Muller J, Schwartz M: Genetic diagnosis of 21-hydroxylase deficiency: DGGE-based mutation scanning of CYP21. Hum Mutat 1999; 13(5):385-389.

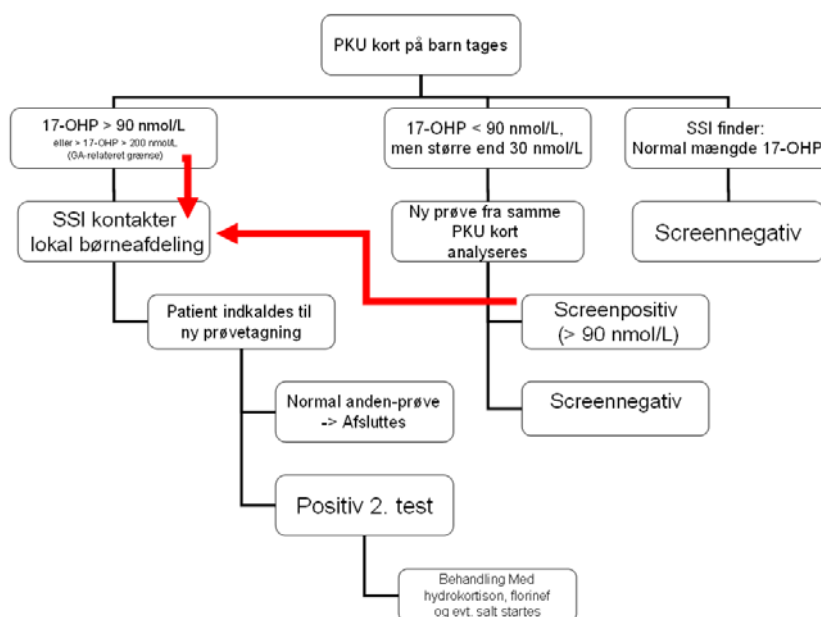
268 Ohlsson G, Muller J, Skakkebaek NE, Schwartz M: Steroid 21-hydroxylase deficiency: mutational spectrum in Denmark, three novel mutations, and in vitro expression analysis. Hum Mutat 1999; 13(6):482-486.

269 Thil'en A, Nordenstrom A, Hagenfeldt L, von DU, Guthenberg C, Larsson A: Benefits of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase deficiency) in Sweden. Pediatrics 1998; 101(4):E11.

270 Simonsen H, Ohlsson G, Schwartz M, Nørgaard-Pedersen B, Müller J: Retrospective neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia in Denmark. Horm Res. In press.

271 Merke DP, Bornstein SR: Congenital adrenal hyperplasia. Lancet 2005; 365(9477):2125-2136.

272 Speiser PW, White PC: Congenital adrenal hyperplasia. N Engl J Med 2003; 349(8):776-788.



Figur 4-5. Arbejdsgruppens forslag til algoritme for screening for medfødt adrenogenitalt syndrom.

I tidligere undersøgelser er der fundet en kønsforskel med flere piger end drenge med klassisk salttabende CAH<sup>273</sup>. Man formoder, at det skyldes manglende diagnose af drengebørn med CAH, der er døde i det sepsislignende billede ved den salttabende krise.

Tidspunkt for præsentation afhænger bl.a. af barnets køn. Den salttabende gruppe vil (uden screening) præsentere sig med sepsis-lignende krise med lavt natrium, højt kalium, lavt blodtryk og hypoglykæmi i 2.-3. leveuge. Hos piger vil mistanken ofte være rejst forinden, pga. virilisering af ydre kønsorganer.

Senere manifestationer af sygdommen er en accelereret vækst og for tidlig pubertetsudvikling hos ubehandlede og underbehandlede patienter. Hos piger har man yderligere fundet en tendens til en vis maskulinisering af deres adfærd<sup>274</sup>. De patienter der debuterer senere, vil ofte have karakteristika som øget vækst, for tidlig pubertet, øget vægt og hirsutisme. Enkelte vil først i voksenalder præsentere sig med hirsutisme (hyperandrogenisme).

Diagnosen stilles ved måling af 17-OH progesteron (17-OHP) i blod, eventuelt suppleret med måling af DHEAS og androstendion samt måling af 17-OHP (synacthen test).

Behandling af nyfødte med CAH består i peroral tilførsel af hydrokortison og fludrocortison. Endvidere kan salttilskud være nødvendigt. Tidlig behandling forhindrer hos de sværest ramte den såkaldte "salttabende" krise, som ubehandlet kan være livstruende. Endvidere forhindrer fortsat behandling en abnorm accelereret vækst og pubertetsudvikling. Overvægt og fedme er dog et problem blandt behandlede børn og unge med CAH<sup>275</sup>. Børnene skal ses ofte til kontrol og bør ses hos børneendokrinologisk specialist på lands-landsdelsafdeling<sup>276</sup>. Opfølgningen af

273 Nordenstrom A, Ahmed S, Jones J, Coleman M, Price DA, Clayton PE, Hall CM: Female preponderance in congenital adrenal hyperplasia due to CYP21 deficiency in England: implications for neonatal screening. *Horm Res* 2005; 63(1):22-28.

274 Nordenstrom A, Servin A, Bohlin G, Larsson A, Wedell A: Sex-typed toy play behavior correlates with the degree of prenatal androgen exposure assessed by CYP21 genotype in girls with congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(11):5119-5124.

275 Volkl TM, Simm D, Beier C, Dorr HG: Obesity among children and adolescents with classic congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Pediatrics* 2006; 117(1):e98-105.

276 Consensus Statement on 21-Hydroxylase Deficiency from The European Society for Paediatric Endocrinology and The Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society.

disse vil initialt foregå i pædiatrisk regi, men voksne patienter bør følges livslangt og regelmæssigt<sup>277</sup>. Behandlingen kontrolleres biokemisk ved måling af 17-OHP, renin samt elektrolyter<sup>278</sup> og evt. pregnantriol.

Ved en prænatal viden om barnets køn og mutationsstatus (ved graviditet hos mødre der tidligere har født et barn med CAH) kan behandling med dexamethason komme på tale for at hindre viriliseringen af et evt. pigefoster<sup>279</sup>. Denne behandling er dog endnu under vurdering for eventuelle sene komplikationer pga. den kraftige steroidpåvirkning af fostret.

Gennem de sidste 20 år er der flere steder i verden startet screening for CAH. I Sverige har man således screenet siden 1986<sup>280</sup> og i Holland siden 2000<sup>281</sup>. Undersøgelser fra Sverige, Holland og USA har alle vist, at salttabende krise hos patienter med CAH kan forebygges ved en neonatal screening<sup>282,283</sup>. Endvidere formindskes tiden til endelig diagnose signifikant og sværhedsgraden af eventuelle saltkriser hos afficerede nedsættes.

Screeningsmetoden er analyse (radioimmunoassay eller DELFIA) af 17-OH progesteron i fuld-blod fra PKU-kort<sup>284</sup>. Disse metoder er veldokumenterede, med en god detektionsevne, men også med falskpositive fund. Falskpositivrate er øget hos præmature, som generelt har højere niveauer af 17OHP<sup>285</sup>.

Nyere studier har anvendt tandem-MS ved bestemmelse af 17-OHP<sup>286</sup> eller gaskromatografi-MS<sup>287</sup>. Den europæiske børneendokrinolog organisation (ESPE) anbefaler en cut-off grænse på 90 nmol/l for sikker CAH diagnose<sup>288</sup>. Ved værdier mellem 30 og 90 nmol/l bør der foretages yderligere udredning (evt. analyse af ekstra prøve). Værdier under 30 nmol/l anses for normale. Hos præmature anbefales særlige værdier afstemt efter lokale laboratoriemæssige forhold. I den svenske screening anvendes 400 nmol/l som recall grænse for præmature med gestationsalder på 33-36 uger. Ved gestationsalder < 32 uger er grænsen 600 nmol/l. Hos alle præmature reanalyseres ved værdier over 200 nmol/l<sup>289</sup>.

Et retrospektivt studie på et dansk materiale har vist, at screening er mulig ud fra PKU-kort materialet<sup>290</sup>. I dette studie fandt man en detektionsrate på 100 % og en falskpositivrate på 0,07 %

277 Kruse B, Riepe FG, Krone N, Bosinski HA, Kloehn S, Partsch CJ, Sippell WG, Monig H: Congenital adrenal hyperplasia - how to improve the transition from adolescence to adult life. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2004; 112(7):343-355.

278 Consensus Statement on 21-Hydroxylase Deficiency from The European Society for Paediatric Endocrinology and The Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society.

279 Lajic S, Nordenstrom A, Ritzen EM, Wedell A: Prenatal treatment of congenital adrenal hyperplasia. *Eur J Endocrinol* 2004; 151 Suppl 3:U63-U69.

280 Larsson A, Hagenfeldt L, von DU, Curstedt T, Gustafsson J, Svensson E: Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia using 17-hydroxyprogesterone assay in filter paper blood spots. *Horm Res* 1988; 30(6):235-240.

281 van der Kamp HJ, Noordam K, Elvers B, van BM, Otten BJ, Verkerk PH: Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in the Netherlands. *Pediatrics* 2001; 108(6):1320-1324.

282 Thil'en A, Nordenstrom A, Hagenfeldt L, von DU, Guthenberg C, Larsson A: Benefits of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase deficiency) in Sweden. *Pediatrics* 1998; 101(4):E11.

283 van der Kamp HJ, Noordam K, Elvers B, van BM, Otten BJ, Verkerk PH: Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in the Netherlands. *Pediatrics* 2001; 108(6):1320-1324.

284 Larsson A, Hagenfeldt L, von DU, Curstedt T, Gustafsson J, Svensson E: Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia using 17-hydroxyprogesterone assay in filter paper blood spots. *Horm Res* 1988; 30(6):235-240.

285 Nordenstrom A, Wedell A, Hagenfeldt L, Marcus C, Larsson A: Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia: 17-hydroxyprogesterone levels and CYP21 genotypes in preterm infants. *Pediatrics* 2001; 108(4):E68.

286 Minutti CZ, Lacey JM, Magera MJ, Hahn SH, McCann M, Schulze A, Cheillan D, Dorche C, Chace DH, Lypm JF, Zimmerman D, Rinaldo P, Matern D: Steroid profiling by tandem mass spectrometry improves the positive predictive value of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(8):3687-3693

287 Deng C, Ji J, Zhang L, Zhang X: Diagnosis of congenital adrenal hyperplasia by rapid determination of 17alpha-hydroxyprogesterone in dried blood spots by gas chromatography/mass spectrometry following microwave-assisted silylation. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2005; 19(20):2974-2978.

288 Procedure for neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: *Horm Res* 2001; 55(4):201-205.

289 Nordenstrom A: Congenital adrenal hyperplasia, CYP21 deficiency, screening and clinical aspects. 2001. Karolinska Institute, Stockholm, Sweden. Ref Type: Thesis/Dissertation

290 Simonsen H, Ohlsson G, Schwartz M, Nørgaard-Pedersen B, Müller J: Retrospective neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia in Denmark. *Horm Res*. In press.

Tilstande med forhåndshypotesen: sekundære screeningsmål ("gule kandidaturer")			
Sygdom/tilstand:	konfirmeret v/ skema-vurdering	Særlige forhold	Udtaget til gennemgang
SCADD, ARG mfl.	NEJ	NEJ	NEJ
TYR	NEJ	JA (NTBC)	JA
CTD	JA	JA (FÆRØER)	JA
BIOPT, GA2, M/SCHAD, MCKAT, 3-MCC, ASL		JA (DX)	JA
CIT, CPT1, CPT2/CACT, BETAKT	JA	NEJ	NEJ

*Tabel 4-2. Tilstande med forhåndshypotesen: sekundære screeningsmål ("gule kandidaturer").*

for børn med fødselsvægt over 2500 g og 0,9 % ved fødselsvægt under 2500 g. Ved anvendelse af vægt/GA bestemte cut-off værdier ville den samlede falskpositiv rate være 0,01%. I et stort prospektivt Hollandsk studie (Delfia) baseret herpå fandt man en falskpositivrate på 0,03%<sup>291</sup>

Screeningstidspunkt bør være samtidig med den øvrige prøvetagning til PKU-kort. Prøvetagning på 3-5. dagen har vist sig tidligt nok til at kunne diagnosticere CAH i tide, inden en evt. salttabende krise<sup>292,293</sup>.

På baggrund af ovenstående er det arbejdsgruppens vurdering, at screening med meget lav falskpositivrate < 0,03% i dag er teknisk mulig med en kombination af Delfia og LC-tandem-MS, ligesom der foreligger en effektiv behandling. Ved screening vil diagnosetidspunktet fremrykkes betydeligt for afficerede individer og man vil undgå et muligt svært salttab, som kan føre til et sepsislignende billede med risiko for død eller CNS-sequelae. Screening for CAH vil også fremskynde tidspunktet for sikker kønsbestemmelse hos piger med intersex-tilstande. Behandlingen vil endelig kunne startes tidligere med forbedret vækst og udvikling til følge. Sammenfattende anbefaler arbejdsgruppen screening for medfødt adrenogenitalt syndrom, såfremt Statens Serum Institut forinden opsætter og validerer en sådan togrenet analyse (two-tier), hvor det ved retrospektiv afprøvning herunder også med prøver fra præmature nyfødte dokumentes, at den forventede falskpositivrate kan nedbringes til < 0,03 procent.

#### 4.3 Gennemgang af formodet ikke-primære screeningsmål ("gule kandidaturer")

På baggrund af skemavurdering (se factsheets) ekskluderedes blandt disse tilstande følgende uden yderligere gennemgang: citrullinæmi (CIT), kortkædet acyl-CoA dehydrogenase mangel (SCAD), arginasemangel (ARG), karnitin palmitoyltransferase I mangel (CPT I), karnitin palmitoyltransferase II mangel (CPT II), karnitin/acylkarnitin translokase mangel (CACT), samt beta-ketothiolase mangel (BKT). Nogle kandidaturer i denne gruppe ekskluderedes uden skemavurdering eller eksplicit gennemgang (HCY mfl.).

For visse af de øvrige tilstande i denne kategori viste skemavurdering, at der kunne gøre sig særlige forhold gældende, der kunne begrunde inklusion i screeningspanelet – eksempelvis at en tilstand kunne forekomme differentialdiagnostik til et af de grønne kandidaturer. Formålet med gennemgangen var i sådanne tilfælde at vurdere behandlingsmulighederne for at afgøre, om et barn, hvor en sådan tilstand påvises, kunne forventes at få gavn af påvisningen. Endvidere kunne der være tale om andre særlige forhold (se tabel 4-2).

291 van der Kamp HJ, Noordam K, Elvers B, et al. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in the Netherlands. *Pediatrics* 2001;108(6):1320-1324.

292 van der Kamp HJ. Congenital adrenal hyperplasia: Treatment and national screening. 2001. Maastricht, Shaker Publishing. Ref Type: Thesis/Dissertation

293 Procedure for neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency: *Horm Res* 2001; 55(4):201-205.

#### 4.3.1 Argininoravsyreuri (ASL)

Autosomal recessiv defekt i argininosuccinat lyase forårsaget af mutationer i ASL genet på kromosom 7. En defekt i argininosuccinat lyase fører til nedsat funktion af urinstofcyklus<sup>294</sup>. Dette medfører reduceret plasma koncentration af arginin og forhøjet ammoniak, som er ansvarlig for de kliniske symptomer. Incidensen er uklar og sættes af ACMG til <1:100000. Der kendes 2 danske patienter.

Det kliniske billede er varierende. Nogle børn har neonatal debut i et billede klassisk for andre urinstofcyklusdefekter: 2-3 dage efter fødslen tilkommer over kort tid encephalopati og kramper med samtidig respiratorisk alkalose og forhøjet ammoniak. Størstedelen af disse børn dør eller overlever med svære nerologiske sequelae<sup>295</sup>. Andre har mere protraheret forløb og debuterer senere i barndommen med langsom progressiv mental retardering, kramper og karakteristiske hårforandringer eller med intermitterende symptomer som periodevis opkastninger, ataksi, hovedpine og sløvhed.

Behandlingen afhænger af den kliniske debut. Akut debuterende børn behandles med hæmodialyse, medikamina til at shunte nitrogen uden om urinstofcyklus (natriumphenylbutyrat og natriumbenzoat), argininsupplement og høje doser af intravenøs glukose, hvorimod sent debuterende og milde tilfælde behandles med argininsupplement og en let proteinrestriktion<sup>296,297</sup>. Prognosen for de akut debuterende tilfælde er dårlig, og for de sent debuterende tilfælde vil en revertering af den mentale retardering ikke være mulig. En gruppe af patienter fundet ved neonatal screening er derimod forblevet raske<sup>298,299</sup>. Det er sandsynligt, at tidlig identifikation og behandling afgørende vil kunne reducere morbiditet og mortalitet.

Screening er beskrevet i flere arbejder<sup>300,301,302</sup>. Screening for argininoravsyreuri indgik i projekt udvidet screening og i data opgjort indtil 15/12-2005 var ikke fundet falskpositive. Efter opfølgelsen er 2 patienter diagnosticeret, og der er fortsat ingen falskpositive. De syge børn udvikler sig normalt på relevant behandling. Der foreligger accepteret algoritme for bekræftelse af diagnosen ved bestemmelse af urin organiske syrer og plasma aminosyrer samt molekylærgenetisk analyse. Behandling og langtidsopfølgning er tilgængelig via den specialiserede landsfunktion for metaboliske sygdomme på Rigshospitalet. Sammenfattende anbefales, at neonatal screening for argininoravsyreuri "opjusteres" til et primært screeningsmål i det rutinemæssige screeningstilbud. Dette begrundes først og fremmest i den formentligt gode prognose ved tidlig behandling, og fravær af falskpositive ved screeningen.

#### 4.3.2 Karnitin transporter defekt (CtD (FAO))

Autosomal recessiv arvelig defekt i den natrium-afhængige karnitin transportør (OCTN2), som er forårsaget af mutationer i *SLC22A5* genet på kromosom 5. Transportøren er udtrykt i plasmamembranen i muskelceller, renale tubulus celler og fibroblaster. Defekt OCTN2 medfører betydelig reduktion af karnitin koncentrationen i skelet og hjerte muskel. Da karnitin er

294 Brusilow SW, Horwich AL. Urea Cycle Enzymes. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS et al., eds. The metabolic & molecular bases of inherited disease. McGraw-Hill 2001:1909-64.

295 *ibid.*

296 Brusilow SW, Horwich AL. Urea Cycle Enzymes. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS et al., eds. The metabolic & molecular bases of inherited disease. McGraw-Hill 2001:1909-64.

297 Brusilow SW, Maestri NE. Urea cycle disorders: diagnosis, pathophysiology, and therapy. *Adv Pediatr* 1996;43:127-70.

298 Widhalm K, Koch S, Schreiberreiter S et al. Long-term follow-up of 12 patients with the late-onset variant of argininosuccinic acid lyase deficiency: no impairment of intellectual and psychomotor development during therapy. *Pediatrics* 1992;89:1182-4.

299 Stadler S, Gempel K, Bieger I et al. Detection of neonatal argininosuccinate lyase deficiency by serum tandem mass spectrometry. *J Inherit Metab Dis* 2001;24:370-8.

300 Stadler S, Gempel K, Bieger I et al. Detection of neonatal argininosuccinate lyase deficiency by serum tandem mass spectrometry. *J Inherit Metab Dis* 2001;24:370-8.

301 Chase DH, Kalas TA, Naylor EW. Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns. *Clin Chem* 2003;49:1797-1817.

302 Wilcken B, Wiley V, Hammond J et al. Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *N Engl J Med* 2003;348:2304-12.

nødvendig for transporten af langkædede fedtsyrer over mitokondriemembranen, hæmmes fedtsyreoxidationen.

Incidensen varierer meget på verdensplan. ACMG<sup>303</sup> angiver <1:100000, men i Japan ses incidens 1:40000<sup>304</sup>. En nylig opgørelse fra Færøerne (reference 154) finder bærerhyppighed på 5% svarende til prævalens på 1:1300, hvorfor sygdommen er specielt vigtig at screene for i Danmark.

Sygdommen debuterer oftest i spædbarnet eller tidlig barnealder med pludselig død eller leverpåvirkning, myopati, dilateret kardiomyopati (hyppig) og hypoketotisk hypoglykæmi. Der kendes til asymptomatiske tilfælde også blandt de færøske patienter, men de har alle lav plasma karnitin og er formentlig alle i risiko for udvikling af pludselig krise og død.

Behandlingen består i daglig supplement med karnitin 100-200 mg/kg/dag. Såfremt neurologisk skade ikke allerede er indtrådt, vil næsten alle symptomer forsvinde på denne behandling<sup>305</sup>. God overholdelse af behandlingen er vigtig, da plasma karnitin hurtigt reduceres til værdier nær nul, hvis karnitin supplement ikke indtages.

Screening for CTD er beskrevet af Wilcken et al.<sup>306</sup>. CTD indgik ikke i projekt udvidet screening, men retrospektiv analyse af PKU-kort på kendte færøske patienter har vist, at 85% ville blive diagnosticeret med aktuelle cut-off. Falskpositivraten på markøren "lav karnitin" har været 0.001% i det danske projekt. Der foreligger accepteret algoritme for bekræftelse af analysen ved bestemmelse af U-karnitin, plasma karnitin og karnitin-uptake i fibroblaster. Molekylær-genetisk analyse for den hyppige Færøske mutation (N32S)<sup>307,308</sup> er nationalt tilgængelig (Rigshospitalet) Behandling og langtidsopfølgning er tilgængelig via den specialiserede landsfunktion for metaboliske sygdomme på Rigshospitalet. Sammenfattende anbefales, at neonatal screening for CTD indgår som et primært screeningsmål i det rutinemæssige screeningstilbud.

#### 4.3.3 Tilstande, som er differentialdiagnostiske til primære screeningsmål

##### 4.3.3.1 Biopterin cofaktor defekt (BIOPT)

Den enzymatiske proces for omdannelsen af phenylalanin til tyrosin er afhængig af co-faktoren tetrahydrobiopterin, BH4, der under processen oxideres til dihydrobiopterin. BH4 er tillige co-faktor ved syntesen af flere neurotransmittere. Der kendes defekter ved 5 forskellige enzymatiske reaktioner i biosyntesen af BH4. Disse nedarves autosomal recessivt. Desuden kan reduktasen, der gendanner BH4 ved reduktion af dihydrobiopterin, være defekt. Denne defekt nedarves autosomal dominant. Kun 4 af disse 6 tilstande medfører hyperphenylalaninæmi, således at de vil kunne påvises ved det danske program for PKU-screening. Hyperphenylalaninæmien er oftest mild. Et barn med positiv screeningstest for PKU screenes efterfølgende for mutationer i PAH-genet. Findes der ikke mindst 1 mutation, kan det dreje sig om en BH4-defekt. I så tilfælde analyseres for pterinforbindelser i urin, som rutinemæssigt opsamles ved

303 American College of Medical Genetics. Newborn Screening: toward a uniform screening panel and system. 2005. Rockvill, Md.: Maternal and Child Helath Bureau. Ref Type: Report

304 Roe CR, Ding J. Mitochondrial fatty acid oxidation disorders. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The metabolic & molecular bases of inherited disease. McGraw-Hill 2001:2297-326.

305 Pierpont ME, Brenningstall GN, Stanley CA et al. Familial carnitine transporter defect: A treatable cause of cardiomyopathy in children. Am Heart J 2000;139:S96-S106.

306 Wilcken B, Wiley V, Sim KG et al. Carnitine transporter defect diagnosed by newborn screening with electrospray tandem mass spectrometry. J Pediatr 2001;138:581-4.

307 Christensen E, Holm J, Hansen SH et al. Sudden infant death following pivampicillin treatment in a patient with carnitine deficiency. J Inher Metab Dis 2005;23:117.

308 Goodman SI, Ferman FE. Organic acidemias due to defects in lysine oxidation: 2-ketoadipic acidemia and glutaric acidemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The metabolic & molecular bases of inherited disease. McGraw-Hill 2001:2195-204.

den første indlæggelse på PKU-centret og opbevares nedfrosset.<sup>309</sup> Der er ved neonatalscreeningen kun identificeret ét tilfælde af biopterindefekter født i Danmark i den årrække, hvor der har været foretaget screening blandt nyfødte. Patienten er født i 1981, og har en pyruvoyl-tetrahydrobiopterin synthase defekt. Desuden er to patienter med forbigående neonatal hyperphenylalaninæmi blevet identificeret som *anlægsbærere* for sidstnævnte defekt. Et søskendepar, indvandret til Danmark fra Jugoslavien, er efterfølgende blevet diagnosticeret som havende defekten.

De tidligste kliniske symptomer udvikler sig allerede i de første 6 levemåneder i form af dårlig trivsel, abnorm muskeltonus, kramper og progressivt afvigende psykomotorisk udvikling, trods en eventuel diætbehandling for PKU. Der kan i nogle tilfælde ses symptomer allerede i neonatalperioden. Behandlingen er oral tilførsel af BH4 samt neurotransmitterforstadierne L-DOPA og 5-hydroxytryptofan. Nogle tilfælde kræver diæt som for PKU.

I mange lande med høj incidens af BH4-defekter gives rutinemæssigt som led i udredningen en testdosis af BH4 til alle nyfødte med hyperphenylalaninæmi, idet markant effekt heraf (koncentrationsfald) indikerer defekt BH4-biosyntese.<sup>310</sup> Testen foretages ikke rutinemæssigt i Danmark, men vil måske senere blive indført, da BH4 tillige har vist sig at kunne sænke phenylalaninniveauet hos nogle patienter med mild PKU.<sup>311,312</sup>

Biopterin cofaktor defekt opfylder ikke kravene til et primært screeningsmål, men anbefales som sekundært screeningsmål (differentialdiagnostisk til PKU).

#### 4.3.3.2 Glutaracidæmi type 2 (GA2 (FAO))

GA2 består af en gruppe af sygdomme, hvor dehydrogeneringen af flere forskellige acyl-CoA estre er defekt. Årsagen er defekter i elektrontransportkæden, nærmere bestemt de elektrontransporterende flavoproteiner ETF og ETF-Q0. Sygdommen kaldes også multipel acyl-CoA dehydrogenerings defekt, da dehydrogenaserne er intakte, selv om dehydrogeneringen er defekt. Sygdommen er autosomal recessiv arvelig og de ansvarlige gener er *ETFA*, *ETFBog* *ETFDH*<sup>313,314</sup>. Pollitt et al. angiver incidensen 1:50000<sup>315</sup>, mens ACMG angiver <1:100000<sup>316</sup>.

Sygdommens kliniske manifestationer er meget varierende. De mest påvirkede børn debuterer perinatalt med kongenitte misdannelse (især renale) og dør kort efter fødslen. Andre debuterer i første leveuge/måned med stofskiftekrise med acidose, hypoketotisk hypoglykæmi, leverinsufficiens og hjertepåvirkning. Andre debuterer senere primært med myopati eller leverpåvirkning. Nogle kan evt være helt asymptomatiske.

309 Tidligere blev en foreløbig Urin-pterin-analyse foretaget på alle nydiagnosticerede på Kennedy Institutet, men analysen blev nedlagt i 1998, da mutationsscreeningen bedømtes til at være tilstrækkelig. Ud af 306 mutationsscreenede patienter har 291 haft to mutationer, ni én mutation – kun 6 har ikke haft nogen påviste mutationer i PAH-genet. Ingen af disse har fået påvist en defekt i pterin-stofskiftet. Institutet har ikke haft en PKU-patient helt uden mutationer siden 1996.

310 Ponzzone A, Guardamagna O, Spada M, Ferraris S, Ponzzone R, Kierat L, Blau N. Differential diagnosis of hyperphenylalaninaemia by a combined phenylalanine-tetrahydrobiopterin loading test. *Eur J Pediatr* 1993 Aug;152(8):655-61.

311 Kure et al. Tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *J Pediatr* 135:375-378.

312 Belanger-Quintana et al. Spanish BH4-responsive phenylalanine hydroxylase-deficient patients: evolution of seven patients on long-term treatment with tetrahydrobiopterin. *Mol Genet Metab* 2005 Dec;86 Suppl 1:S61-66.

313 Ferman FE, Goodman SI. Defects of electron transfer flavoprotein and electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:2357-66.

314 Goodman SI, Ferman FE. Glutaric acidemia type II (multiple acyl-CoA dehydrogenation deficiency). *J Inher Metab Dis* 1984;7 Suppl 1:33-7.

315 Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. *Health Technol Assess* 1997;1:i-202.

316 American College of Medical Genetics. *Newborn Screening: toward a uniform screening panel and system*. 2005. Rockvill, Md.: Maternal and Child Health Bureau.



Behandling kan ikke hjælpe de svære former, men mildere varianter responderer på en diæt med højt indhold af kulhydrat og lavt indhold af lipid og protein samt tilskud af karnitin. Nogle responderer på riboflavin. Hos disse mildere afficerede børn er der en reel mulighed for at reducere mortalitet og morbiditet, om end nogen morbiditet består<sup>317</sup>.

Screening er beskrevet i Chace et al.<sup>318</sup>, men der er meget sparsom erfaring med screening for sygdommen i screeningsprogrammer. Falskpositivraten har været lav og var i projekt udvidet screening 0.001%. Pollitt et al. angiver detektionsraten til >90%<sup>319</sup>. ACMG angiver, at falskpositivrate og detektionsrate ikke kendes.<sup>320</sup> Der foreligger accepteret algoritme for bekræftelse af diagnosen ved bestemmelse af U-organiske syrer, acylkarnitiner i plasma, fedtsyreoxidation i fibroblaster og molekylær-genetisk analyse. Behandling og langtidsopfølgning er tilgængelig via den specialiserede landsfunktion for metaboliske sygdomme på Rigshospitalet.

Sammenfattende opfylder GA2 ikke kravene til et primært screeningsmål, men GA2 er differentialdiagnose til vigtige primære screeningsmål, og nogle børn vil desuden kunne hjælpes, hvorfor GA2 anbefales inkluderet som sekundært screeningsmål.

#### 4.3.3.3 3-methyl crotonyl-CoA karboxylase mangel (3-MCC (oa))

Autosomal recessiv defekt i 3-methylcrotonyl-CoA karboxylasen, som påvirker katabolismen af leucin. Enzymet katalyserer karboxyleringen af 3-methylcrotonyl-CoA til 3-methylglutacoyl-CoA. Enzymet er biotin-afhængigt og er derfor også defekt ved holokarboxylase syntase defekt samt biotinidasedefekt. ACMG angiver incidens >1:75000, men der er ingen reel konsensus. Neonatal tandem-MS screening medfører diagnose af flere med 3-MCC end der diagnosticeres klinisk<sup>321</sup>.

3-MCC debuterer sjældent ved fødslen og hyppigere i løbet af spædbarnsåret eller tidlig barndom. Symptomerne er meget variable. Meget få debuterer akut med stofskiftekrise med encefalopati og kramper. Nogle udvikler aldrig kriser, men har forsinket psyko-motorisk udvikling<sup>322</sup>. De fleste er asymptomatiske, fx er der ved neonatal screening fundet raske mødre med tilstanden. De fleste – også asymptomatiske – udvikler karnitinmangel.

Akutte kriser behandles med intravenøs glukose og korrektion af acidose og hyperammoniaemi. Langtidsbehandlingen består i mild proteinrestriktion og karnitin supplement. Tidligt indsættende, præsymptomatisk behandling kan minimere mortalitet og morbiditet<sup>323,324</sup> hos denne subgruppe af børn med 3-MCC og tidlig debut, som formentlig udgør under 10% af alle med biokemisk defekt.<sup>325</sup> Det er uklart, om behandling af asymptomatiske børn og mødre gavner disse.

317 Frerman FE, Goodman SI. Defects of electron transfer flavoprotein and electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The metabolic & molecular bases of inherited disease. McGraw-Hill 2001:2357-66.

318 Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns. Clin Chem 2003;49:1797-817.

319 Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. Health Technol Assess 1997;1:i-202.

320 American College of Medical Genetics. Newborn Screening: toward a uniform screening panel and system. 2005. Rockville, Md.: Maternal and Child Health Bureau.

321 Koeberl DD, Millington DS, Smith WE et al. Evaluation of 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency detected by tandem mass spectrometry newborn screening. J Inher Metab Dis 2003;26:25-35.

322 Smith WE, Millington DS, Koeberl DD et al. Glutaric acidemia, type I, missed by newborn screening in an infant with dystonia following promethazine administration. Pediatrics 2001;107:1184-7.

323 Sweetman L, Williams JC. Branched chain organic acidurias. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The metabolic & molecular bases of inherited disease. McGraw-Hill 2001:2125-64.

324 Baumgartner MR, Almashanu S, Suormala T et al. The molecular basis of human 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency. J Clin Invest 2001;107:495-504.

325 Stadtler et al. Hum Mut 2006; 27(8):748-759)

Screening er gjort flere steder i verden med C5OH som markør<sup>326,327,328,329</sup>. Falskpositivrate har været lav og var i projekt udvidet screening 0.0015%. Falskpositivrate modsvares især af maternel 3-MCC. Der er ikke rapporteret falsk negative. Der er ikke valide data for detektionsrate. Størstedelen af de fundne patienter er forblevet asymptomatiske. Der foreligger accepteret algoritme for bekræftelse af analysefundet ved bestemmelse af U-organiske syrer, acylkarnitinprofil og aktivitetsbestemmelse af 3-MCC, men dette efterlader alligevel et antal børn uden konklusiv diagnose. Behandling og langtidsopfølgning er tilgængelig via den specialiserede landsfunktion for metaboliske sygdomme på Rigshospitalet.

Naturhistorien ved 3MCC er uklar, men screeningen formentlig god. Sammenfattende vurderes ikke, at 3-MCC kan inkluderes som primært screeningsmål, og det er ikke rimeligt med de forhåndenværende data at acceptere 3-MCC som sekundært screeningsmål. Vedrørende konsekvenser heraf henvises til afsnittene om HMG og holokarboxylase syntase defekt.

#### 4.3.3.4 M/SCHAD og MCKAT

På grund af det meget begrænsede antal patienter med disse diagnoser henvises alene til factsheet. De er kun medtaget her, da de er differentialdiagnoser til primære screeningsmål.

#### 4.3.4 Tyrosinæmi (TYR I;II;III).

Autosomal recessiv defekt i enzymet fumarylacetoacetathydrolase (FAH), som katalyserer det sidste trin i katabolismen af aminosyren tyrosin. Nogle metabolitter proksimalt for det defekte FAH, bl.a. tyrosin, ophobes herved, mens andre videreomdannes til succinylacetone (SA) og succinylacetoacetat (SAA), som er primært ansvarlige for nyre- og leverskaderne. Herudover hæmmer SA enzymet porphobilinogen syntase og forårsager herigennem symptomer på porfyri med neurologiske symptomer, hypertension og respirationspåvirkning.

Incidensen, bedømt ud fra flere europæiske studier bl.a. svenske, er ca 1:100000.<sup>330</sup> Sygdommen har 3 hovedforløbsformer<sup>331,332,333,334,335</sup>. En *akut form* debuterer før 6 måneders alderen med akut leversvigt. I den hyppigste, såkaldt *subakutte form*, debuterer sygdommen i tidlig barnealder (½-1 år) med dårlig trivsel, leverinsufficiens og renalt Fanconi syndrom med hypofosfatæmisk rachitis. Ubehandlet vil mange udvikle leversvigt før 2-årsalderen. De overlevende vil udvikle hepatocellulært karcinom (HCC), og der kan tilkomme kriser med porfyri. De fleste med denne form vil være døde inden 10 års alderen. Endelig kan der ses en mere *protraheret forløbsform* med langsom udvikling af nyre- og leverskade og efterhånden hepatocellulært karcinom; der ses overlevelse til omkring 20 årsalderen. Før NTBC (se nedenfor) blev tilgængelig var eneste medicinske mulighed for behandling en tyrosin- og phenylalaninbegrænset diæt. Denne behandling var på langt sigt utilstrækkelig, og de fleste måtte levertransplanteres i løbet af første årti for at undgå udvikling af hepatocellulært karcinom.

326 Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D et al. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. *Pediatrics* 2003;111:1399-406.

327 Wilcken B, Wiley V, Hammond J et al. Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *N Engl J Med* 2003;348:2304-12.

328 Baumgartner MR, Almashanu S, Suormala T et al. The molecular basis of human 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency. *J Clin Invest* 2001;107:495-504.

329 Dantas MF, Suormala T, Randolph A et al. 3-Methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency: mutation analysis in 28 probands, 9 symptomatic and 19 detected by newborn screening. *Hum Mutat* 2005;26:164.

330 Mitchell GA, Grompe M, Lambert M, Tanguay RM. Hypertyrosinemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:1777-806.

331 Mitchell GA, Grompe M, Lambert M, Tanguay RM. Hypertyrosinemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill 2001:1777-806.

332 Holme E, Lindstedt S. Diagnosis and management of tyrosinemia type I. *Curr Opin Pediatr*. 1995;7:726-32.

333 Kvittingen EA. Tyrosinaemia--treatment and outcome. *J Inher Metab Dis*. 1995;18:375-9.

334 Kvittingen EA. Tyrosinaemia type I--an update. *J Inher Metab Dis*. 1991;14:554-62.

335 Kvittingen EA. Hereditary tyrosinemia type I--an overview. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 1986;184:27-34.

I 1992 blev behandling med 2(2-nitro-4-(3-trifluoromethylbenzoyl)-1,3-cyclohexanedion (NTBC) beskrevet.<sup>336</sup> NTBC hæmmer enzymet 4-hydroxyphenyl-pyruvatdioxxygenase (HPPD), som katalyserer det andet trin i katabolismen af tyrosin. NTBC blokerer således tyrosinkatabolismen proksimalt for det defekte FAH og forhindrer derved dannelsen af SA og SAA. NTBC gives peroralt i dosis på 1 mg/kg/dag fordelt på 2 doser. Efter start af NTBC vil plasma niveauet af SA falde. Herved reduceres risikoen for nyre- og leverskader, HCC samt komplikationer til porfyri-kriser.<sup>337,338</sup> Effektiviteten af behandlingen afhænger af tidspunkt for behandlingsstart: ved start før 6 måneders alderen vil risikoen for død, leversvigt, hepatocellulært karcinom (0.6%) og levertransplantation være betydeligt reduceret. Risikoen for hepatocellulært karcinom er lille (2%), hvis behandling startes før 12 måneders alderen, men stiger efter 1 års alderen, den er fx 7% hvis behandling startes mellem 1 og 2 års alderen.<sup>339,340</sup> NTBC reducerer ikke niveauet af tyrosin i blodet. Derfor er en tyrosin- og phenylalaninbegrænset diæt fortsat nødvendig. Der er nu erfaring med over 300 patienter i NTBC behandling verden over.

Screening for tyrosinæmi har været forsøgt i flere screeningsprogrammer med tyrosin som screeningsmarkør, men med høje både falskpositiv og falsknegativrate.<sup>341,342,343</sup> Ligeledes var screening på basis af måling af FAH eller 5-aminolevulinat dehydratase forbundet med høj falskpositivrate.<sup>344,345</sup> Det synes ud fra disse erfaringer ikke muligt at gennemføre screening på baggrund af disse markører. Sander et al.<sup>346</sup> har nyligt publiceret metode til tandem-MS bestemmelse af succinylacetone (SA) på basis af Allards metode.<sup>347</sup> Bestemmelse af SA har tidligere været forsøgt anvendt i screeningsammenhæng uden forekomst af falsknegative, men metoderne var tidskrævende og ikke egnede til masse-screening.<sup>348</sup> Sanders data dokumenterer høj detektionsrate og lav falskpositivrate, og set ud fra danske forhold burde en sådan teknik relativt nemt kunne adderes til det allerede eksisterende tandem-MS-screeningsprogram. Det vil dog kræve en separat kørsel (tandem-MS). Endnu er erfaringer dog begrænset til prospektiv screening af godt 60.000 nyfødte.<sup>349</sup>

Tyrosinæmi er et særdeles relevant screeningsmål, og diagnosticeres ved kliniske metoder for sent. Der er gode data, der tyder på, at sygdommens prognosen afhænger af tidlig start af behandlingen. Med Sanders beskrivelse af en tandem-MS metode til bestemmelse af succinylacetone i filterpapir synes der nu at være en reel mulighed for tandem-MS baseret screening. Arbejdsgruppen anbefaler

- 
- 336 Lindstedt S, Holme E, Lock EA et al. Treatment of hereditary tyrosinaemia type I by inhibition of 4-hydroxyphenylpyruvate dioxxygenase. *Lancet* 1992;340:813-7.
- 337 Holme E, Lindstedt S. Nontransplant treatment of tyrosinemia. *Clin.Liver Dis.* 2000;4:805-14.
- 338 Holme E, Lindstedt S. Tyrosinaemia type I and NTBC (2-(2-nitro-4-trifluoromethylbenzoyl)-1,3-cyclohexanedione). *J.Inherit.Metab.Dis.* 1998;21:507-17.
- 339 Holme E, Lindstedt S. Nontransplant treatment of tyrosinemia. *Clin.Liver Dis.* 2000;4:805-14.
- 340 Holme E, Lindstedt S. Tyrosinaemia type I and NTBC (2-(2-nitro-4-trifluoromethylbenzoyl)-1,3-cyclohexanedione). *J.Inherit.Metab.Dis.* 1998;21:507-17.
- 341 Mitchell GA, Grompe M, Lambert M, Tanguay RM. Hypertyrosinemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease.* McGraw-Hill 2001:1777-806.
- 342 Goulden KJ, Moss MA, Cole DE et al. Pitfalls in the initial diagnosis of tyrosinemia: three case reports and a review of the literature. *Clin.Biochem.* 1987;20:207-12.
- 343 Sander J, Janzen N, Peter M et al. Newborn screening for hepatorenal tyrosinemia: tandem mass spectrometric quantification of succinylacetone. *Clin.Chem.* 2006;52:482-7.
- 344 Schulze A, Frommhold D, Hoffmann GF et al. Spectrophotometric microassay for delta-aminolevulinat dehydratase in dried-blood spots as confirmation for hereditary tyrosinemia type I. *Clin.Chem.* 2001;47:1424-9.
- 345 Laberge C, Grenier A, Valet JP et al. Fumarylacetoacetase measurement as a mass-screening procedure for hereditary tyrosinemia type I. *Am.J.Hum.Genet.* 1990;47:325-8.
- 346 Sander J, Janzen N, Peter M et al. Newborn screening for hepatorenal tyrosinemia: tandem mass spectrometric quantification of succinylacetone. *Clin.Chem.* 2006;52:482-7.
- 347 Allard P, Grenier A, Korson MS et al. Newborn screening for hepatorenal tyrosinemia by tandem mass spectrometry: analysis of succinylacetone extracted from dried blood spots. *Clin.Biochem.* 2004;37:1010-5.
- 348 Jakobs C, Dorland L, Wikkerink B et al. Stable isotope dilution analysis of succinylacetone using electron capture negative ion mass fragmentography: an accurate approach to the pre- and neonatal diagnosis of hereditary tyrosinemia type I. *Clin.Chim.Acta* 1988;171:223-31.
- 349 Sander J, Janzen N, Peter M et al. Newborn screening for hepatorenal tyrosinemia: tandem mass spectrometric quantification of succinylacetone. *Clin.Chem.* 2006;52:482-7.

Tilstande med forhåndshypotesen: hverken primære eller sekundære screeningsmål ("orange kandidaturer")		
Sygdom/tilstand	Inkluderet v/ skemavurdering?	Udtaget til gennemgang
H-PHE	JA	JA
TOXO	NEJ	JA
Alle øvrige orange kandidaturer	NEJ	NEJ

Tabel 4-3. Tilstande med forhåndshypotesen: hverken primære eller sekundære screeningsmål.

faler, at SSI påbegynder et arbejde med opsætning af en dansk screeningsmetode for tyrosinæmi og at tyrosinæmi inkluderes som primært screeningsmål, så snart det teknisk kan lade sig gøre.

#### 4.4 Gennemgang af formodet 'ikke primære og ikke sekundære screeningsmål' ("orange kandidaturer")

Tilstande, hvis vægtede pointscore lå under 50-percentilen (med de af arbejdsgruppen valgte vægte, jf. herom kapitel 3) blev som udgangspunkt betragtet som 'ikke egnet som primært eller sekundært screeningsmål ("orange kandidaturer")'. Sådanne tilstande blev uden detailanalyse ekskluderet fra fortsat analyse, med undtagelse af to tilstande, hvor arbejdsgruppen *forkastede hypotesen*. Den ene tilstand er en mild form for hyperphenylalaninæmi (non-PKU HPA), den anden er medfødt toxoplasmose (TOXO), som på analysetidspunktet begge indgik i det danske rutineprogram.

Begge de nævnte tilstande scorede så tæt på 50-percentilen, at det måtte betragtes som mere eller mindre arbitrært, om de skulle klassificeres over eller under percentilen. Endvidere var fordelingen af totalscore værdier for disse tilstande i ACMG-studiet ikke oplyst, så en skønnet fordeling af den samlede ACMG-score måtte foretages. Dette introducerer et tildels arbitrært element og et potentielt bias.

At hyperphenylalaninæmi opnår en lav samlet score kunne forklares ved, at det drejer sig om en mild tilstand, så der ikke opnås point på en af hovedvægtene (tilstandens alvorlighed). Derimod var det ikke på forhånd ventet, at medfødt toxoplasmose ville score lavt. I det følgende kommenteres begge tilstande nærmere.

##### 4.4.1 Hyperphenylalaninæmi (HPA, H-PHE)

En forhøjet phenylalaninkoncentration, fundet ved PKU-screeningen i det danske program, kan være så let, at tilstanden enten ikke kræver behandling eller kun kræver behandling i småbarnsalderen. Denne form kaldes non-PKU HPA (non-PKU hyperphenylalaninæmi), ofte bare HPA. Ved denne form er der en betydelig restaktivitet af PAH. Af de 129 børn med positiv PKU test, der blev identificeret i årene 1990 – 2005, havde de 42 en mild form for hyperphenylalaninæmi, non PKU HPA. Heraf havde de 10 behov for diætbehandling i deres første leveår, mens 32 børn ikke krævede behandling. Selv om en voksen ikke selv er behandlet som barn, kan en vis proteinrestriktion blive aktuel for de voksne kvinders vedkommende i forbindelse med graviditet.

Den samlede incidens for HPA i Danmark er omkring 1:25.000. Med den nuværende cut off grænse ved den neonatale screening må man formode, at alle tilfælde af HPA detekteres.<sup>350</sup>

Der er international konsensus for, at patienter med phenylalanin under 360 µmol/L på en fri diæt ikke skal behandles, og at patienter med phenylalanin over 600 µmol/L skal behandles. I Danmark er grænsen for at behandle sat ved 420 µmol/L. I Tyskland anvendes 600 µmol/L

<sup>350</sup> Let til moderat hyperphenylalaninæmi kan også ses ved nogle tilfælde af defekter i BH4-stofskiftet (se herom pkt. 4.3.2).

som grænse ved 4 af de 10 behandlingscentre. En tysk opgørelse viste ingen forskel på intelligens og uddannelsesniveau mellem en gruppe af 31 voksne med ubehandlet HPA med phenylalanin mellem 360-600 µmol/L og en aldersmatchet gruppe uden HPA<sup>351</sup>, mens en spansk gruppe fandt, at 35 børn med ubehandlet HPA scorede lavere på de eksekutive funktioner end en aldersmatchet gruppe.<sup>352</sup>

Sammenfattende vurderes at non-PKU HPA ikke opfylder kravene til at være primært screeningsmål, men undersøgelse for hyperphenylalaninæmi er en integreret del af PKU-screeningen, hvorved non-PKU HPA opstår differentialdiagnostik. Af denne grund accepteres tilstanden som sekundært screeningsmål.

#### 4.4.2 Medfødt Toxoplasmose (TOXO)

Medfødt toxoplasmose skyldes en parasit (*Toxoplasma gondii*), som katten er hovedvært for. Hvis primær infektion finder sted under graviditeten, kan den gravide smitte fostret gennem placenta. Risikoen for mor-barn transmission stiger med gestationsalder på tidspunktet for maternel serokonversion, mens risikoen for udvikling af kliniske tegn på infektion omvendt falder med gestationsalder på tidspunktet for den gravides serokonversion.<sup>353</sup> I screeningen er der fundet en hyppighed af medfødt toxoplasmose i Danmark på 1:4-5000.<sup>354</sup>

Der hersker ikke international konsensus om screening, herunder om prænatal versus neonatal screening.<sup>355</sup> I undersøgelser, som tog højde for confounding fra gestationsalder på infektionstidspunktet, kunne der ikke påvises effekt af prænatal behandling.<sup>356,357</sup> Postnatal behandling har vist dokumenteret effekt under kontrollerede omstændigheder hos HIV-inficerede, hvor der er risiko for dissemineret toxoplasmose<sup>358</sup>. Hos raske immunkompetente børn synes en sådan effekt imidlertid ikke dokumenteret. Hovedmålet med at screene neonatalt er at forebygge forekomst af chorioretinitis med synshandicap, intrakranielle kalcifikationer og hydrocefalus efter fødslen. At postnatal behandling i tre måneder har en sådan effekt sandsynliggøres ikke af en nylig dansk opgørelse.<sup>359</sup> Kontrollerede randomiserede undersøgelser er foreslået for at afgøre, om postnatal behandling har effekt hos børn uden tegn på aktiv sygdom ved fødslen.<sup>360</sup> Behandling er endvidere ikke uden komplikationer.<sup>361,362,363</sup> Betydende neurologisk

351 Weglage J, Pietsch M, Feldmann R, Koch HG, Zschocke J, Hoffmann G, Muntau-Heger A, Denecke J, Guldborg P, Guttler F, Moller H, Wendel U, Ullrich K, Harms E. Normal clinical outcome in untreated subjects with mild hyperphenylalaninemia. *Pediatr Res*. 2001 Apr;49(4):532-6.

352 Gassio R, Artuch R, Vilaseca MA, Fuste E, Boix C, Sans A, Campistol J. Cognitive functions in classic phenylketonuria and mild hyperphenylalaninaemia: experience in a paediatric population. *Dev Med Child Neurol*. 2005 Jul;47(7):443-8.

353 Gilbert RE, Peckham CS. Congenital toxoplasmosis in the United Kingdom: to screen or not to screen? *J Med Screen* 2002;9(3):135-141.

354 Oplyst af Statens Serum Institut.

355 Gilbert RE, Peckham CS. Congenital toxoplasmosis in the United Kingdom: to screen or not to screen? *J Med Screen* 2002;9(3):135-141.

356 Gilbert RE, Gras L, Wallon M, et al. Effekt of prenatal treatment on mother to child transmission of *Toxoplasma gondii*: a cohort study of 554 mother-child pairs in Lyon, France. *Int J Epidemiol* 2001;30:1303-1308.

357 Foulon W, Villena I, Stray-Pedersen B, et al. Treatment of toxoplasmosis during pregnancy: a multicentre study of impact on fetal transmission and children's sequelae at age 1 year. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:410-5.

358 Bucher HC, Grith L, Guyatt GH, et al. Meta-analysis of prophylactic treatments against *Pneumocystis carinii* pneumonia and toxoplasma encephalitis in HIV infected patients. *J of Acquired Immune Deficiency Syndrome and Human Retrovirology* 1997;15:104-14.

359 Schmidt, D R. A neonatal screening programme for congenital toxoplasmosis – observations on disease development and its treatment in infants and children. Ph.D.-afhandling 2005.

360 National Screening Committee (NSC). Antenatal and Newborn Screening for Toxoplasmosis. Report of the Working Group, October 2001.

361 Guerina NG, Hsu HW, Meissner HC, et al. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. *N Engl J Med* 1994;353:1834-37.

362 Mombro M, Perathoner C, Leone A, et al. Congenital toxoplasmosis: 10 year follow-up. *Eur J Pediatr* 1995;154:635-39.

363 Kieffer F, Thulliez P, Brezin A, et al. Treatment of subclinical congenital toxoplasmosis by sulfadiazine and pyrimethamine continuously during 1 year: apropos of 46 cases. *Arch Pediatr* 2002;9:7-13.

Revideret klassifikation af screeningmål						
Sygdom/tilstand	Klassifikation					
	Før gennemgang			Efter gennemgang		
	Primær	Sekund	Ej	Primær	Sekundær (dx)	Ej anbef.
<b>"Grønne kandidaturer"</b>						
PKU	X			X		
MSUD	X			X		
MCADD	X			X		
LCHADD/TFP	X			X		
VLCADD	X			X		
GA1	X			X		
HMG	X					X
MCD	X			X		
MMA	X			X		
PA	X			X		
GALT	X					X
IVA	X					X
BIOT	X			X		
CH	X			X		
CAH*	X			X		
<b>"Gule kandidaturer"</b>						
CTD		X		X		
BIOPT		X			X	
GA2		X			X	
3MCC		X				X
M/SCHAD		X			X	
MCKAT		X				X
TYR*		X		X		
HCY		X				X
CIT		X				X
ASL		X		X		
CPT I		X				X
CPT II		X				X
CACT		X				X
BKT		x				X
<b>"Orange kandidaturer"</b>						
H-PHE			X		X	
TOXO			X	?)		?)

*Tabel 4-4. Arbejdsgruppens anbefalinger på baggrund af gennemgangen, herunder skemavurderinger, som drøftet ved gruppens andet møde. \*) Betinget anbefaling se tekst. \*\*) Anbefales revurderet i forbindelse med nye retningslinjer for Svangreomsorgen.*

deficit synes endelig kun at forekomme hos en meget lille del af smittede børn ~2%.<sup>364,365</sup> Det anførte belyser en væsentlig del af baggrunden for, at tilstanden scorer lavt såvel i ACMG-studiet, som i arbejdsgruppens vægtning.

364 Gilbert R, Dunn D, Wallon M, et al. Ecological comparison of the risks of mother-to-child transmission and clinical manifestations of congenital toxoplasmosis according to prenatal treatment protocol. *Epidemiol Infect* 2001;127:113-20.

365 Gras L, Gilbert RE, Wallon M, et al. Effect of prenatal treatment on the risk of intracranial and ocular lesions in children with congenital toxoplasmosis. *Inf J Epidemiol* 2001;30:1309-30.

Screening i Danmark for medfødt toxoplasmose blev indført som rutine i 1999 efter et forudgående projekt, som belyste, at en nyudviklet toxoplasmose IgM-analyse kunne påvise IgM i trækpapir-prøverne fra nyfødte, som tegn på ikke symptomgivende toxoplasmose-infektion hos det nyfødte barn<sup>366,367</sup>. I lyset af ovenstående er det tvivlsomt, om arbejdsgruppens screeningskriterier er opfyldt. Arbejdsgruppen er ekspertisemæssigt ikke sammensat til at foretage en dybtgående vurdering af screening for infektionssygdomme, som ikke forudsås problematiseret ved arbejdsgruppens nedsættelse. Arbejdsgruppen finder, at spørgsmålet fortjener at overvejes i samråd med den relevante ekspertise, med henblik på afklaring i forbindelse med den forestående revision af svangreretninglinjerne.<sup>368</sup> (Note tilføjet efter at arbejdsgruppen har afsluttet sit arbejde: screeningen ophørte per 1. august 2007), jf. Sundhedsstyrelsens meddelelse herom af 13. juli 2007.<sup>369</sup>

#### 4.5 Revideret klassifikation af screeningsmål

I tabel 4.4 har arbejdsgruppen resumeret sin vurdering af screeningsmål. Følgende kan anbefales som primære screeningsmål ("kernetargets"): PKU, MSUD, MCADD, LCHADD/TFP, VLCADD, GA1, ASL, MCD, MMA, PA, CTD, BIOT, CH. Betinget anbefaling som primært screeningsmål: TYR (anbefaling betinget af, at falskpositivrate kan minimeres ved tandem-MS for succinylacetone) og CAH (anbefaling betinget af, at falskpositivrate kan yderligere nedbringes med second-tier analyse (tandem-MS)).

Følgende kan accepteres som differentialdiagnostiske screeningsmål ("sekundære targets"): BIOPT, GA2, M/SCHAD, H-PHE.

Følgende foreslås revurderet i forbindelse med revision af svangreomsorgens retningslinjer TOXO.

366 Lebech M, Andersen O, Christensen NC, Nielsen HE, Hertel J, Peitersen B, Rechnitzer C, Larsen SO, Nørgaard-Pedersen B, Petersen E. Feasibility of neonatal screening for toxoplasmosis in the absence of prenatal treatment. *Lancet* 1999;353:1834-1837.

367 Sørensen T, Spenter J, Jaliashvili I, Christiansen M, Nørgaard-Pedersen B, Petersen E. Automated time-resolved immunofluorometric assay for *Toxoplasma gondii*-specific IgM and IgA antibodies: Study of more than 130 000 filter-paper blood-spot samples from newborns. *Clin Chem* 2002;48:1981-1986.

368 ...

369 Sundhedsstyrelsen 2007: Meddelelse om ophør af screening for toxoplasmose hos nyfødte.

## 5 Storskalaerfaringer med tandem-MS metoden

### 5.1 Den tandem-massespektrometriske screeningsmetode.

Tandem-massespektrometri er en moderne analysemetode, som anvender elektriske felter til at adskille og bestemme mængden af ønskede kemiske forbindelser i en kompleks blanding.

#### 5.1.1 Metodens princip

Man kan betragte et enkelt massespektrometer som et filter, der ved en given indstilling tillader kemiske forbindelser i ladet form (ioner) med én bestemt molekylvægt at blive filtreret væk fra de andre ioner for derefter at blive målt. Signalet fra et enkelt massespektrometer vil derfor repræsentere bidraget fra en blanding af kemiske forbindelser, som deler ét karakteristiskum: samme molekylvægt. Tandem-MS forbedrer dette analyseprincip. Instrumentet består af to sammenbyggede massespektrometre.

Det første massespektrometer ("massefilter") anvendes til at isolere den ønskede forbindelse sammen med de iøvrigte ioner med samme masse. For at kunne skelne den ønskede forbindelse fra de øvrige, accelereres ionerne videre ind i et kollisionskammer mellem massespektrometrene. I kammeret støder ionerne sammen med en inaktiv gas og fragmenterer til mindre ioner. Denne nedbrydning er ikke en tilfældig proces, men er afhængig af styrken i de enkelte ioners kemiske bindinger. Hver ion giver derfor ophav til nogle specifikke fragmenter, der har en bestemt molekylvægt.

*Det andet massespektrometer* ("massefilter") anvendes derefter til at trække en fragment-ion ud af kollisionscellen, som hidrører fra den ønskede forbindelse, og styre ionen hen til en detektor, som måler mængden. Resultatet er, at man ved samtidig indstilling af massespektrometer 1 på den ønskede forbindelses masse og massespektrometer 2 på fragment-ionens masse kun får signal som stammer fra den ønskede forbindelse. Ved hurtigt at veksle mellem indstillingerne mens prøve sprøjtes ind i tandem-massespektrometret kan der opnås måling af mange forbindelser i én analyse.

I modsætning til kemiske og immunologiske analyseprincipper stiller tandem-MS relativt få krav til analytter og reagenser: analytterne skal være ladede ioner, således at de kan trækkes hen mod detektionssystemet og filtreres. En manglende ladning kan ofte tilføres den ønskede forbindelse ved kemisk derivatisering eller en ekstra, uønsket ladet gruppe kan blokeres på tilsvarende vis.

#### 5.1.2 Metodens anvendelse ved neonatal screening

Til screening af nyfødte har en metode, der måler aminosyrer og acylkarnitiner i samme arbejdsgang, vundet indpas<sup>370</sup>. Metoden er følsom, præcis, specifik og hurtig. En komplet metabolisk profil omfattende aminosyrer og acylkarnitiner kan bestemmes på 3 mikroliter blod på 2 minutter. Metoden er dermed velegnet til populationsscreening.

### 5.2 Internationale erfaringer med neonatal tandem-MS screening.

Helt overordnet synes tandem-MS at være en meget robust metode med et lavt antal falsk positive, få falsknegative og en høj prædiktiv værdi af screenpositive resultater. Blandt de lidt større opgørelser screenede *Wilcken et al.* 362000 nyfødte og fandt incidens af non-PKU syg-

370 Rolinski B, Arnecke R, Dame T, Kreischer J, Olgemoller B, Wolf E, Balling R, Hrabe de Angelis M, Roscher AA. The biochemical metabolite screen in the Munich ENU Mouse Mutagenesis Project: determination of amino acids and acylcarnitines by tandem mass spectrometry. *Mamm Genome* 2000; 11(7):547-51



domme på 1/6600 med falskpositivrate på 0.15% og positiv prædiktiv værdi på 10%. Detektionsraten var 95.9% med 5 falsknegative (GA1 (1), VLCADD (1), non-ketotisk hyperglycinæmi (1), cobalamin C defekt (1) og tyrosinæmi (1)).<sup>371,372</sup> Schulze *et al.* screenede 250000 nyfødte og fandt incidens af non-PKU sygdomme på 1/5200 med falskpositivrate på 0.33% og positiv prædiktiv værdi på 11%. Der var ingen falsknegative for non-PKU sygdomme.<sup>373</sup> Zytkovicz *et al.* screenede 164000 nyfødte og fandt incidens af non-PKU sygdomme på 1/7100 med falskpositivrate på 0.3% (med PKU) og gennemsnitlig positiv prædiktiv værdi på 8% (med PKU). Ingen falsknegative er omtalt.<sup>374</sup> Roscher *et al.* screenede 524287 nyfødte og fandt incidens af non-PKU sygdomme på 1:3700 med falskpositivrate på 0.1% (ved slutningen af studiet). Ingen falsknegative er omtalt.<sup>375</sup> Sander *et al.* screenede 128225 nyfødte og fandt incidens af non-PKU sygdomme på 1/3900 med falskpositivrate på 0.38%.<sup>376</sup>

Screening for MCADD er beskrevet i en række publikationer<sup>377,378,379,380,381,382,383,384</sup>, hvor incidenser ligger fra 1:23000-1:8900 og falskpositivrate fra 0 til 0.004%. Der er ikke rapporteret falsknegative. Positive prædiktive værdier fra 50-100%.

### 5.3 Danske erfaringer med neonatal tandem-MS screening (forsøgsprojekt)

I perioden 1998-2005 er der herhjemme indvundet erfaringer med screening ved tandem-massespektrometri i to faser: den første fase var en retrospektiv pilotundersøgelse af supplerende screening af nyfødte ved tandem-massespektrometri; i den anden fase er der gennemført et videnskabetisk godkendt projekt, hvor alle fødende efter forudgående information er tilbudt "udvidet screening" i perioden 2002-2005.<sup>385,386,387,388</sup>

- 
- 371 Wilcken B, Wiley V, Hammond J *et al.* Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *N Engl J Med* 2003;348:2304-12.
- 372 Wiley V, Carpenter K, Bayliss U *et al.* Newborn screening--is it really that simple? *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2003;34 Suppl 3:107-10.
- 373 Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D *et al.* Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. *Pediatrics* 2003;111:1399-406.
- 374 Zytkovicz TH, Fitzgerald EF, Marsden D *et al.* Tandem mass spectrometric analysis for amino, organic, and fatty acid disorders in newborn dried blood spots: a two-year summary from the New England Newborn Screening Program. *Clin Chem* 2001;47:1945-55.
- 375 Roscher A, Olgemöller B. Newborn screening for inborn errors of metabolism with tandem mass spectrometry in Bavaria, Germany. *J Lab Med* 2004;28:521-4.
- 376 Sander J, Janzen N, Sander S *et al.* Tandemmassenspektrometrie. Beitrag zum neugeborenen screening auf angeborene Störungen den stoffwechsels. *Monatsschr Kinderheilkd* 2000;148:771-7.
- 377 Zytkovicz TH, Fitzgerald EF, Marsden D *et al.* Tandem mass spectrometric analysis for amino, organic, and fatty acid disorders in newborn dried blood spots: a two-year summary from the New England Newborn Screening Program. *Clin Chem* 2001;47:1945-55.
- 378 Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D *et al.* Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. *Pediatrics* 2003;111:1399-406.
- 379 Wilcken B, Wiley V, Hammond J *et al.* Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *N Engl J Med* 2003;348:2304-12.
- 380 Roscher A, Olgemöller B. Newborn screening for inborn errors of metabolism with tandem mass spectrometry in Bavaria, Germany. *J Lab Med* 2004;28:521-4.
- 381 Andresen BS, Dobrowolski SF, O'Reilly L *et al.* Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) mutations identified by MS/MS-based prospective screening of newborns differ from those observed in patients with clinical symptoms: identification and characterization of a new, prevalent mutation that results in mild MCAD deficiency. *Am J Hum Genet* 2001;68:1408-18.
- 382 Carpenter K, Wiley V, Sim KG *et al.* Evaluation of newborn screening for medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in 275 000 babies. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2001;85:F105-F109.
- 383 Chace DH, Hillman SL, Van Hove JL *et al.* Rapid diagnosis of MCAD deficiency: quantitative analysis of octanoylcarnitine and other acylcarnitines in newborn blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1997;43:2106-13.
- 384 Pourfarzam M, Morris A, Appleton M *et al.* Neonatal screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Lancet* 2001;358:1063-4.
- 385 Simonsen H. [Screening of newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry]. *Ugeskr Laeger* 2002;164:5607-12.
- 386 Jensen UG, Brandt NJ, Christensen E *et al.* Neonatal screening for galactosemia by quantitative analysis of hexose monophosphates using tandem mass spectrometry: a retrospective study. *Clin Chem* 2001;47:1364-72.
- 387 Simonsen H, Brandt NJ, Norgaard-Pedersen B. [Neonatal screening in Denmark. Status and future perspectives]. *Ugeskr Laeger* 1998;160:5777-82.
- 388 Simonsen H, Jensen UG, Brandt NJ *et al.* Design of a pilot study to evaluate tandem mass spectrometry for neonatal screening. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1999;30 Suppl 2:166-9.

### 5.3.1 Projektdesign

#### 5.3.1.1 Design af retrospektiv pilotundersøgelse

I projektets første fase blev der på baggrund af litteraturen udvalgt stofskiftesygdomme, som potentielt detekteres ved tandem-MS. Indgangsvinklen for denne udvælgelse var de sygdomme, som fører til ophobning af aminosyrer eller acylkarnitiner, idet en kombineret analyse, der detekterer begge typer metabolitter i samme arbejdsgang, havde vist sit potentiale i udenlandske screeningscentre (jvf. pkt. 5.2). Herudover besluttedes at udforske mulighederne for screening for galaktosæmi.

Patienter med sygdomme indenfor dette spektrum, som var blevet diagnosticeret på baggrund af kliniske symptomer, blev identificeret. Patienternes oprindelige neonatale screeningsprøver blev derpå fremfundet i PKU biobanken, hvor flertallet af neonatale screeningsprøver opbevares nedfrosset efter rutinescreening. Tandem-MS analyse af neonatalscreeningsprøverne fra patienterne og fra raske kontroller blev anvendt til at uddrage metaboliske profiler og verificere nøglemetabolitterne for de enkelte sygdomme. Aktionsgrænserne for abnorme metabolitniveauer blev fastlagt ud fra en samlet vurdering af de undersøgte patientprøver, normative data fra raske nyfødte og faglitteraturen på området .

#### 5.3.1.2 Design af projektet "Udvidet screening" som tilbud til fødende

På baggrund af det retrospektive pilotprojekt blev supplerende screening for de 20 metaboliske sygdomme listet i tabel 5.1 tilbudt som projekt i forbindelse med rutinescreeningen af nyfødte. Forældre til nyfødte blev informeret om muligheden for at deltage i projektet af fødestedet og via en informationsfolder. Mere detaljerede oplysninger var tilgængelige på projektets hjemmeside mv.

Forældrenes accept eller fravalg blev afkrydset på PKU kortene. Hvis det ønskedes, blev prøverne screenet ved tandem-MS.

#### 5.3.1.3 Opfølgende konfirmerende testning

Normale screeningsresultater blev svaret ud på vanlig vis. Abnorme screeningsresultater blev først verificeret ved en omkørsel i screeningslaboratoriet. Herefter kontaktedes den lokale børneafdeling, som indkaldte de nyfødte til klinisk vurdering, information og diagnostiske undersøgelser. Den diagnostiske udredning bestod i konventionelle biokemiske undersøgelser (organiske syrer i urin, metabolitter i blod). Såfremt disse undersøgelser også var positive, blev diagnosen endeligt bekræftet ved mutationsdiagnostik og/eller enzymaktivitetsmåling.

Der er 3 principielt forskellige former for konfirmerende testning, og deres anvendelse er afhængig af hvilken enzymdefekt og hvilket metabolit mønster, der er påvist i den oprindelige screening. Det drejer sig om: 1) metabolitundersøgelser, 2) protein/enzym analyser og 3) molekylær-genetiske undersøgelser (DNA). For hver enkelt sygdom er det vigtigt hurtigt og sikkert at kunne skelne mellem falskpositive og sandtpositive; det betyder, at det ofte vil være nødvendigt at inddrage flere former for testning. Det har ikke kun betydning for det enkelte barn og familie, men også for en samlet og løbende justering af de algoritmer, der indgår i den samlede screening. De tre forskellige former for konfirmatorisk testning skal kort gennemgås:

*Metabolit analyser* belyser den samlede virkning af en given defekt i en metabolisk vej og kan i nogle tilfælde opfattes som den bedste test for den funktionelle betydning af defekten. I de tilfælde, hvor der ikke er en klar genotype-fænotype korrelation vil metabolit analyser være den bedste analyse til at forudsige om en given defekt vil være forbundet med sygdom eller ej. En ulempe er at en given metabolit kan optræde ved flere forskellige defekter og om end et mønster kan være patognomont ved mange sygdomme er det ikke altid tilfældet. Eksempler på de metabolitter, der kan testes er organiske syrer, aminosyrer, acylkarnitiner. Alle disse undersøgelser udføres på Klinisk Genetisk Afdeling, Metabolisk Laboratorium, Rigshospitalet.

Tandem-MS projekt (DK): erfaringer fra screening (197.000 nyfødte)						
Sygdom	Syge	Falsk positive			Falsk negative	Dx blandt ej screenede
		n	%	1:n(scr)		
CPT1	0	9	0.0046%	1:21889	0	0
CPT2/CACT	0	4	0.0020%	1:49313	0	0
SCADD	0	1	0.0005%	1:197251	0	0
MCADD	20	1	0.0005%	1:197251	0	2
LCHADD	0	0	0	0	0	2
VLCADD	0	0	0	0	0	0
GA1	0	0	0	0	0	0
GA2	0	2	0.001%	1:98625	0	0
MMA/PA	0	22	0.011%	1:8966	0	1 (PA)
HMG	0	0	0,00151	1:6170	0	0
BETAKT	0	0	0	0	0	0
3MCC	4	3	0.0015%	1:65750	0	0
MSUD	0	22	0.011%	1:8966	0	0
CITRULLINÆMI	0	8	0.0041%	1:24656	0	0
ARGINOSUCINIC	0	0	0	0	0	0
ARGINASE	0	0	0	0	0	0
HHH	0	2	0.001%	1:98625	0	0
GALACTOSÆMI	1	18	0.019%	1:5263	0	0
Sygdomme uden for panel						
Isobutyryl-CoA dehydrogenase mangel	1	NA	NA	NA	0	0
Methylglutaconyl CoA hydratase mangel	1	NA	NA	NA	0	0
Holocarboxylase syntase mangel	1	NA	NA	NA	0	0

Tabel 5-1. Erfaringer fra det danske tandem-MS projekt.

*Enzym/protein analyser* tester aktiviteten af et specifikt enzym og resultatet vil afspejle i hvor høj grad en strukturel defekt påvirker enzymets arbejdshastighed. Da der testes for specifikke enzymer er analysen specifik og ofte, men ikke altid relateret til hvorvidt sygdom udvikles eller ej. Eksempler på enzymer der i forbindelse med neonatal screening kan testes er 3-methylcrotonyl-CoA karboxylase, biotinidase og glutaryl-CoA dehydrogenase. Undersøgelserne udføres enten på Klinisk Genetisk Afdeling, Metabolisk Laboratorium, Rigshospitalet eller for enkelte analyser i udlandet (vedr denne sidste gruppe kan konklusiv diagnostik for de i neonatal screening inkluderede stofskiftesygdomme opnås ad anden vej).

*Molekylær genetiske analyser (DNA)*. Både ved metabolit-analyser og enzym-analyser måles der på følgerne af et ødelagt gen. Ved DNA baseret diagnostik undersøger man i stedet direkte for den sygdomsfremkaldende mutation i det/de relevante gen (er) i DNA udvundet fra den oprindelige neonatale filterpapirblodprøve.

Påvisning af kendte sygdomsfremkaldende mutationer ved DNA diagnostik er således når det er muligt en hurtig og sikker form for konfirmatorisk testning og vil ved f.eks. MCADD og LCHADD føre til en definitiv diagnose i størstedelen af de screeningspositive prøver. Ved påvisning af mutationer med ukendte konsekvenser, ved manglende påvisning af mutationer samt ved en lang række af sygdomme, som der screenes for, men hvor mutationsanalyse pt. ikke er tilgængelig, hviler den confirmerende testning på metabolit screening og enzym/protein analyser.

Screening for PKU (DK) 1990-2002 (= 866.620 nyfødte)*						
Sygdom	Syge	Falsk positive			Falsk negative	Bemærkninger
		n	%	1:n(scr)		
Klassisk PKU	76	4550*)	0,52%	1:190	0	*)Hovedsagelig pga "klar zone" (antibiotika mor/barn)
H-PHE	39				0	
BIOPT	0				0	
Tandem-MS Screening for PKU (DK) 2003-2005 (= 194.000 nyfødte)						
Klassisk PKU	11	4*)	0,002%			*)Let forhøjet værdi
H-PHE	3					
BIOPT	0					

Tabel 5-2. Erfaringer med screening for PKU i Danmark.

DNA analyser er nærmere gennemgået i appendix 1, og der henvises til dette. DNA analyserne udføres på Klinisk Genetisk Afdeling, Molekylær-Genetisk laboratorium, Rigshospitalet og på Molekylær-Medicinsk Forskningsenhed, Skejby Sygehus.

### 5.3.2 Erfaringer fra tandem-MS-projektet

Screening startede 1. februar 2002 og er for arbejdsgruppen opgjort indtil 15. december 2005, hvor i alt 197000 nyfødte var blevet screenet. Af tabel 5-1 fremgår antallet af diagnosticerede i perioden. Sammenfattende blev indenfor det valgte screeningspanel fundet 20 med MCADD (heraf 18 probander og 2 søskende til kendte MCADD-probander), 4 med 3-MCC og 1 med galaktosæmi (sidstnævnte fundet simultant med klinisk diagnose).

Udenfor det valgte screeningspanel fandtes 1 med isobutyryl-CoA dehydrogenase mangel, 1 med methyl glutaconyl CoA hydratase mangel og 1 med holocarboxylase syntase defekt. Antallet af diagnosticerede svarer til 1:7000 screenede. Den positive prædiktive værdi var ved starten af projektet (2002-2004) knapt 20%, senere steget til aktuelt 40-50%.

Falskpositivt var samlet 0.05% svarende til 1:1992 screenede eller 32 årligt ved et fødselstal på 65000. Set over hele perioden har falskpositivt været faldende, aktuelt omkring 0,03% svt. ca. 1 per 3000 screenede eller 20-25 falskpositive årligt ved fødselstal på 65.000. Falskpositivt var forskellig for forskellige sygdomme, som vist i tabel 5-1. Der har indtil videre ingen falsknegative været indenfor det valgte screeningspanel. Tilslutningsprocenten var ved slutningen af projektet 86%.

Blandt de 14% ikke screenede blev fundet 2 med MCADD (begge debut med stofskiftekrise), 2 med LCHADD (1 med debut i stofskiftekrise med kardiomyopati og 1 død af kardiomyopati) og 1 med propionacidæmi (debut med stofskiftekrise med svær acidose og dehydrering). Alle 5 børn have ved retrospektiv tandem-MS testning karakteristiske fund for deres respektive sygdom og ville være blevet fundet.

Opfølgningstiden for de fundne børn er endnu lille, men indtil videre er alle børn, som var screenpositive og diagnosticeret i præsymptomatisk stadie, raske på den givne behandling. 31/32 alleler hos 18 probander med MCADD er patogene og tidligere set hos symptomatiske MCADD-børn.

## 5.4 Screening for PKU med tandem-MS metode

Neonatal screening for PKU på blodspots vha. Guthrie-metoden blev taget i brug i Danmark i 1967, men blev først landsdækkende fra januar 1975.<sup>389</sup> Siden har der kun været ét kendt dansk tilfælde, hvor et barn med PKU ikke fik stillet diagnosen som nyfødt.<sup>390</sup> Fra 1990 - 2002 inkl. blev der i Danmark født 76 børn med PKU, samt 10 børn med mild hyperphenylalaninæmi, der vurderedes som behandlingskrævende de første leveår, og 32 børn med ikke-behandlingskrævende mild HPA. I samme periode er antallet af levendefødte ca 866620 (Danmarks Statistik). Dette giver en incidens for de behandlingkrævende former på ca. 1:11000 og for den ikke-behandlingskrævende form på 1:33.000.

I forbindelse med tandem-MS projektet blev Guthrie-testen i 2003 erstattet af tandem-MS. Der blev i en 6 måneders kontrolperiode fundet fuldstændig overensstemmelse mellem de 2 metoder, men tandem-MS kunne til forskel fra Guthrie testen også fungere for prøver, hvor børnene/mødrene fik antibiotika. Det medførte, at de 3-400 genindkaldelser pr. år p.gr.a. manglende vækst ("klar zone") ved Guthrie-testen kunne undgås. Det har medført en betydelig lettelse for forældrene og for personale og afdelinger, som ellers skulle sørge for, at prøve nummer 2 blev taget efter endt antibiotika-behandling. Antallet af falskpositive prøver, hvor phenylalanin-koncentrationen er forhøjet af andre årsager, er også reduceret: indkaldelse til undersøgelse på Kennedy Institutet med efterfølgende negativt svar er nu omkring én pr. år blandt 65.000 nyfødte (mod tidligere omkring 100)<sup>391</sup>.

---

389 Guttler F. Hyperphenylalaninemia: diagnosis and classification of the various types of phenylalanine hydroxylase deficiency in childhood. *Acta Paediatr Scand Suppl.* 1980;280:1-80

390 Diagnosen blev stillet i 3-års-alderen ved en aminosyreanalyse, der udførtes som led i en udredning pga. manglende sprogudvikling. PKU-prøven var taget, men nåede aldrig til SSI. Da man ikke på fødestedet registrerede, om der kom svar på SSI, blev fejlen ikke opdaget.

391 I det tidsrum, hvor screeningen er foretaget med tandem-MS har der været 4 lettere forhøjede falskpositive prøver, mens 14 har været sandtpositive. I årene 2003-2005 er ca. 194.000 børn levendefødt, hvilket giver en FPR på ca. 0.002%.

## 6 Det danske screeningsprogram – konklusioner, anbefalinger og økonomiske konsekvenser

Arbejdsgruppen er i kommissoriet pålagt at tage udgangspunkt i den eksisterende organisation for screeningen, som indledningsvist vil blive gennemgået i det følgende. Arbejdsgruppen har ikke forslag til ændring af organisationen, men under henvisning til de anførte begrundelser i kapitel 4 foreslås det, at prøvetagningstidspunktet for filterpapirblodprøven inden for rammerne af den nuværende organisation fremrykkes fra i dag 4.-6. levedøgn, til 48-72 timer efter fødslen.

### 6.1 Den nuværende organisation

I Danmark blev neonatal screening indført i 1967 (først landsdækkende siden 1. januar 1975) ved et samarbejde mellem Kennedy Institutet og Statens Serum Institut. PKU-analysen blev baseret på filterpapirblodprøven fra nyfødte<sup>392,393</sup>. Den samme blodprøve blev senere i 1977 anvendt i forbindelse med screening for medfødt hypothyreose, og fra 1999 for medfødt toxoplasmose. I forbindelse med projekt udvidet screening blev Guthrie-testen i 2003 erstattet af tandem-MS analyse.

#### 6.1.1 Nuværende tidspunkt for prøvetagningen

Efter de nuværende retningslinjer bør prøven tages tidligst efter 3 døgn mælkeernæring, bedst i barnets 4.-6. levedøgn, og ikke senere end 10. levedøgn<sup>394</sup> (jf. pkt. 6.2.2).

#### 6.1.2 Screening for medfødt hypothyreose (CH)

Screeningen foregår ved TSH analyse (radioimmunoassay eller DELFIA) af fuldblod fra et udstanset 3 mm område fra filterpapirblodprøven. Disse prøver tages i dag ved hælprøve på barnet i 4.-6. levedøgn jf. pkt. 6.1.1.1, men ville uden tab af analysekvalitet kunne tages fra 48 timer efter fødslen. Svaret foreligger højst 2 hverdage dage efter, at prøven er taget.

Ved positivt resultat, dvs. TSH>15 mIE/l. kontaktes den lokale børneafdeling af Klinisk Biokemisk Afdeling, SSI såvel telefonisk som med fax og brev. Den lokale børneafdeling indkalder patienten akut og starter behandling, efter der er taget konfirmerende test på veneblod (TSH og T4). Resultatet af prøve og evt. konfirmerende prøve vil være til stede inden kliniske symptomer har udviklet sig.

Den videre opfølgning af patienten foregår i den lokale børneafdeling ved børneendokrinolog eller børneendokrinologisk interesseret læge. Opfølgningen foregår frem til 15-18 års alder, hvorefter de fleste afsluttes til deres praktiserende læge.

#### 6.1.3 Screening for medfødt fenyylketonuri (PKU)

Hvis en PKU-test er *sikkert forhøjet*, orienteres Center for PKU på Kennedy Centeret, telefonisk fra SSI. Samme dag informerer Center for PKU familien telefonisk, og barnet ankommer som oftest til centeret dagen efter. S-Phenylalanin kontrolleres ved en kvantitativ fotometrisk analyse på en faste-blodprøve, der tages på barnet så hurtigt som muligt efter ankomsten til centeret.

392 Simonsen H, Brandt NJ, Nørgaard-Pedersen B. Neonatal screening i Danmark. Ugeskr Læger,1988;160,40:5777-5782

393 Sundhedsstyrelsen. Neonatal screening. Principper og organisation. Redegørelse afgivet december 1980 af et udvalg under Sundhedsstyrelsens Planlægnings- og visitationsudvalg. København: Sundhedsstyrelsen, 1980.

394 Jf. Sundhedsstyrelsens meddelelser af 24. maj 1974 og 7. marts 1986 til landets sygehuse, fødeklinikker, jordemødre, sundhedsplejersker, embedslæger og landets læger om PKU-prøven, samt jf. retningslinier for svangreomsorg af 1. juli 1998.

Hvis screeningstesten kun er marginalt forhøjet indkalder SSI en ny prøve til tandem-MS-analyse. I årene 2003-2005 var 18 prøver positive. Heraf var 4 negative ved retestning. Kun en af disse fire familier nåede at blive indkaldt til Center for PKU.

Det endelige testresultat foreligger omkring 10.-12. levedag, og behandlingen er som oftest sat i værk inden udgangen af 2. leveuge. Dette er ganske vist langt tidligere end sygdommen manifesterer sig klinisk, men da hver dag med ubehandlet PKU vil påvirke barnets hjerne negativt, bør diagnosen ikke stilles senere end aktuelt, og gerne tidligere.

#### 6.1.4 Udvidet metabolisk screening (projekt)

Ved abnormt screeningsfund tager det Neonatale Screenings Afsnit, Statens Serum Institut kontakt til Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet og Molekylær-Medicinsk Forskningsenhed, Skejby Sygehus. Klinisk Genetisk Afdeling tager herefter kontakt til den lokale børneafdeling med oplysning om, hvilke prøver der skal tages i forbindelse med konfirmerende/dis-konfirmerende udredning af barnet samt oplysning om akut behandling. Molekylær-Medicinsk Forskningsenhed, Skejby Sygehus modtager udstansning fra initiale neonatale filterpapirblodprøve ved visse sygdomme, mens øvrige konfirmerende analyser udføres på Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet. Når konklusion foreligger udfærdiger Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet et samlet svar til den lokale børneafdeling.

De børn, hos hvem der diagnosticeres sygdom ved konfirmatoriske analyser, henvises til Klinisk Genetisk afdeling, Rigshospitalet, som har landsfunktion for metaboliske sygdomme. Tandem-MS screeningen for stofskiftesygdomme overvåges af tandem-MS arbejdsgruppen.

#### 6.1.5 Screening for medfødt toxoplasmose

Ved positivt fund (toxoplasmaspecifikke IgM-antistoffer påvist i filterpapirblodprøven) kontakter Statens Serum Institut den lokale børneafdeling. Børneafdelingen indkalder mor og barn til blodprøvetagning til kontrol af toxoplasmoseantistoffer (konfirmatoriske analyser). Blodprøverne sendes til undersøgelse i Parasitologisk Laboratorium, Statens Serum Institut. Svar på analyserne foreligger efter 1-2 uger. Mor og barn indkaldes til børneambulatoriet. Når diagnosen er bekræftet, foretages en klinisk pædiatrisk undersøgelse af barnet, og der bestilles øjenundersøgelse og UL-scanning af cerebrum. Samtidig påbegyndes den tre måneder varende behandling af barnet (kombination af sulfadiazin og pyrimethamin, suppleret med folinintabletter).

#### 6.1.6 Akkreditering og kvalitetssikring

Siden 1999 har de laboratiemæssige screeningsmetoder for nyfødte (Statens Serum Institut) været akkrediterede i DANAK (Dansk akkrediterings enhed) først i henhold til EN 45001 og senere med den nye standard EN ISO<sup>395</sup>. Dette indebærer inspektion (audit) af assessorer fra DANAK ca. én gang årligt. Her skal afdelingen dokumentere dels analyse-mæssig kompetence og dels kunne fremvise et velfungerende kvalitetssikringsprogram. Den eksterne kvalitetssikring omfatter kontrolprøver på filterpapir fra Center of Disease Control (CDC), Atlanta, USA og fra Ringversuch, Tyskland<sup>396,397</sup>. Disse kontrolprøver leveres på 903 filterpapir (Schleicher & Schuell), som også anvendes i det danske screeningsprogram. Efter endt analyse opbevares prøverne ved +20°C i en biobank, især med henblik på dokumentation og kvalitetssikring, men også for at kunne forbedre og indføre nye screeningsanalyser<sup>398</sup>. For at kunne gennemføre et "state of the art" neonatalt screeningsprogram anbefales det internationalt at det årlige prøve-

395 Dansk Standard. Generelle krav til prøvnings- og kalibreringslaboratoriernes kompetence. DS/EN ISO/IEC 17025, 1. udgave. 27.04.2000

396 Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) LA4-A4, 2003 Fourth Edition. Blood Collection on Filter Paper for Newborn Screening Programs: Approved Standard.

397 Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) I/LA27-P, 2005. Newborn Screening Follow-up: Approved standard.

398 Nørgaard-Pedersen B, Simonsen H. Biological specimen banks in neonatal screening. Acta Paediatr Suppl 1999;88:106-109.

antal for et screeningslaboratorium er på mindst 50-100.000. Der fødes for tiden ca. 65.000 børn årligt i Danmark. For de konfirmerende metaboliske analyser udført på Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet, gælder at kvalitetssikring sikres gennem det Europæiske ERNDIM samarbejde.

## 6.2 Arbejdsgruppens konklusioner og anbefalinger

### 6.2.1 Principper for screeningen

#### 6.2.1.1 Screeningsprogrammets kerneværdi skal være hensynet til barnets tarv

Arbejdsgruppen peger på følgende kriterier som særligt relevante for en stillingtagen til, om screening for en sygdom bør iværksættes: (a) sygdommen alvorlighed; (b) behandlingens effektivitet; (c) betydningen af tidlig påvisning for optimal behandlingseffekt; (d) sandsynligheden for at overse sygdommen ved klinisk undersøgelse omkring fødselstidspunktet; samt (e) screeningstestens egnethed (høj detektionsrate og lav falskpositivrate). Endvidere (f) mulighed for at forebygge tidlig død. Hvis en tilstand scorer højt på en kombination af disse kriterier, kan screeningen *som udgangspunkt* antages at være moralsk legitimeret, idet barnets tarv står i centrum. En række andre almindeligt anerkendte betingelser for iværksættelse af screening vil dog også skulle være opfyldt, hvilket fremgår af det følgende.

### 6.2.2 Tidspunkt for tagning af filterpapir blodprøve

For at optimere udbyttet af screeningen anbefales, at tidspunktet for tagning af filterpapirblodprøve ændres til intervallet 48-72 timer efter fødslen, fra nuværende 96-144 timer efter fødslen.

### 6.2.3 Sygdomme, der bør screenes for, og hvor det nødvendige beslutningsgrundlag er etableret

#### 6.2.3.1 Screening for medfødt hypothyreose bør videreføres

Screening for medfødt hypothyreose har i Danmark fundet sted i mere end 25 år. Ubehandlet CH medfører svær mental retardering, vækstretardering og en række andre alvorlige følger. Hvis der *ikke* blev screenet for medfødt hypothyreose, ville årligt omkring 19 børn nå at udvikle varierende grad af udviklingsdeficit, før de blev klinisk diagnosticeret, og som følge af den forsinkede diagnose ville behandlingen ikke kunne sikre fuldt ud normal psykomotorisk udvikling. Arbejdsgruppen foreslår ikke ændringer vedrørende screeningen for medfødt hypothyreose, som videreføres i nuværende regi.

##### 6.2.3.1.1 Forløb efter screenpositivt fund.

Der henvises til afsnit 6.1.2 vedrørende nuværende screening for medfødt hypothyreose.

#### 6.2.3.2 PKU-Screening bør videreføres, fremover permanent baseret på Tandem-MS metoden.

Screening for PKU blev indført i Danmark i 1973. Ubehandlet PKU medfører svær mental retardering. Hvis der *ikke* blev screenet for Fenylylketonuri (PKU), ville årligt omkring 5-6 nyfødte udvikle varierende grader af udviklingsdeficit, før de kom i behandling, og som følge af den forsinkede diagnose ville behandlingen ikke være fuldt effektiv.

Screening baseret på Guthrie-metoden har i mange år vist meget høj effektivitet og pålidelighed. I relation til projekt udvidet screenings gennemførelse har det dog vist sig, at en meget stor reduktion af falskpositivraten (uden tab af detektionsevne) kan opnås ved at gå over til tandem-MS metoden også for PKU-screeningens vedkommende. Med *Guthrie*-metoden var der op mod 0,5 % falskpositive prøvesvar, som væsentligt skyldtes antibiotikaindgift til mor og/eller barn. Dette svarede til, at op mod 400 årligt måtte indkaldes til fornyet prøve. Erfaringerne siden 2003 har vist, at falskpositivrate ved tandem-MS kan nedbringes til omkring 1-2 årlige genindkaldelser. Arbejdsgruppen anbefaler derfor, at tandem-MS screeningen for PKU gøres til en permanent del af det rutinemæssige tilbud.



#### 6.2.3.2.1 Forløb efter screenpositivt fund.

Der henvises til afsnit 6.1.3 vedrørende nuværende screening for medfødt fenylketonuri.

#### 6.2.3.3 Screening for MCADD og andre sjældne stofskifte-sygdomme bør videreføres som en del af det rutinemæssige tilbud

Som et forsøg har man i perioden 2002-2005 tilbudt 'udvidet metabolisk screening' til alle fødende (tandem-MS projektet), med undersøgelse for tyve forskellige stofskiftesygdomme, som kan detekteres ved tandem-MS-analyse. En meget stor andel af forældre til nyfødte har tilvalgt denne mulighed inden for forsøgsprojektets rammer. Den diagnostiske effektivitet har levet op til forventningerne, og antallet af falskpositive svar har været meget lille. Arbejdsgruppen anbefaler, at udvidet metabolisk screening gøres til permanent del af det rutinemæssige tilbud.

Ud fra erfaringerne i forsøgsprojektet forventer arbejdsgruppen, at den udvidede metaboliske screening vil muliggøre tidlig påvisning af alvorlig metabolisk sygdom hos årligt 8-10 nyfødte. Over halvdelen af disse vil have MCADD, LCHADD eller VLCADD (som alle er fedtsyreoxida-tions defekter), mens de resterende vil fordele sig på en række andre mere sjældne diagnoser blandt dem, som arbejdsgruppens analyse har peget på som relevante screeningsmål.<sup>399</sup>

Fælles for sygdommene er, at de fører til ophobning af en eller flere aminosyrer og/eller acyl-karnitiner, og/eller organiske syrer. Den kvantitativt vigtigste gruppe er medfødte defekter i fedtsyreoxidationen i mitokondrierne. Fedtsyreoxidationen i mitokondrierne er en af de vigtigste energikilder for organismen, og specielt under faste dækker den op til 80% af det totale energibehov. Børn med defekt fedtsyreoxidation er derfor ekstremt sårbare under faste, hvis energibehovet samtidig øges fx pga. feber og infektion. I sådanne tilfælde kan sygdommen vise sig med hurtigt indsættende stofskiftekrise med bevidstløshed, med stor risiko for død eller varig neurologisk skade. Risiko for stofskiftekrise er tilstede selv hos dem, der forbliver asymp-tomatiske indtil voksenalder. Undersøgelsen omfatter også en række andre metaboliske sygdomme, hvoraf nogle er så sjældne, at de hver for sig kun vil blive diagnosticeret med flere års mellemrum.

#### 6.2.3.3.1 Forløb efter screenpositivt fund

Ved et abnormt resultat af den neonatale tandem-MS screening sender den daglige ansvarlige på det Neonatale Screenings Afsnit, Statens Serum Institut/Det centrale biokemiske screeningslaboratorium en email til Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet, attesteret overlæge Allan Meldgaard Lund, professor, overlæge Flemming Skovby, laboratorieleder Ernst Christensen og kemiker Mette Christensen. Modtagelsen af mailen bekræftes af den læge, der er daglig ansvarlig for den videre udredning. Herudover kontaktes, også via email, Molekylær-Medicinsk Forskningsenhed, Skejby Sygehus, ved alle fedtsyreoxida-tionsdefekter og GA2. Emailen indeholder det primære svar på den neonatale screening, som ikke sendes ud til lokalafdelingen før det er bekræftet modtaget på Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet. Allan Meldgaard Lund er den primært ansvarlige for koordineringen af udredningen. Ved et abnormt screeningsresultat, der indikerer MCAD defekt, LCHADD, VLCADD eller GA2 sender Statens Serum Institut/ Det centrale biokemiske screeningslaboratorium samme dag udstanset blod-spot fra den oprindelige filterpapirblodprøve til, Molekylær-Medicinsk Forskningsenhed, Skejby Sygehus. Resultatet af mutationsanalysen meldes tilbage til Statens Serum Institut/ Det centrale biokemiske screeningslaboratorium og Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet.

<sup>399</sup> Følgende tilstande vurderes som egnede primære screeningsmål i det rutinemæssige program: CTD, GAI, ASL, LCHADD/TFP, MCADD, MCD, MMA, MSUD, PA, TYR, VLCADD

Følgende tilstande vurderes som acceptable differentialdiagnostiske screeningsmål i forhold til ovenstående samt til PKU: BIOPT, H-PHE, GA2, M/SCHAD.

Umiddelbart efter, at den initiale email fra SSI er modtaget, kontakter Klinisk Genetisk Afdeling den lokale børneafdeling ved opringning til bagvagten. Der informeres mundtligt og ved efterfølgende fax om 1) screeningsresultatet, 2) sygdommens karakter, 3) udredning i forhold til konfirmation af diagnose, hvilket altid involverer dels at sende prøvemateriale til Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet og - ved ovenstående sygdomme - Molekylær-Medicinsk Forskningsenhed, Skejby Sygehus, dels at sende en ny filterpapirblodprøve til Statens Serum Institut/det centrale biokemiske screeningslaboratorium, 4) udredning i forhold til eventuelle allerede tilstedeværende manifestationer af sygdommen og deres behandling, 5) kontaktadresser for yderligere information og vejledning omkring behandling.

Den lokale børneafdeling indkalder herefter barnet til klinisk vurdering, prøvetagning og information.

Den opfølgende, konfirmerende testning udføres på Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet og Molekylær-Medicinsk Forskningsenhed, Skejby Sygehus. Ved den konfirmatoriske testning sendes altid en ny filterpapirblodprøve til Statens Serum Institut/ det centrale biokemiske screeningslaboratorium mhp gentagen tandem-MS analyse.

Når der er opnået afklaring omkring barnets diagnose samler Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet analysesvarerne og afgiver et *samlet* svar til den lokale børneafdeling. Er en given sygdom bekræftet ved analyserne henvises barnet til Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet mhp behandling, information og genetisk rådgivning i henhold til Sundhedsstyrelsens vejledning om lands- og landsdelsfunktioner. Langtidsopfølgningen sker i et samarbejde mellem Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet og den lokale børneafdeling i en ramme som skitseret for andre sjældne handicap (i henhold til Sundhedsstyrelsens redegørelse: Sjældne handicap. Den fremtidige tilrettelæggelse af indsatsen i sygehusvæsenet, 2001, samt den tilsvarende organisation for behandlingen af PKU).

Alle resultater af biokemiske, molekulære og kliniske test rapporteres til tandem-MS arbejdsgruppen, der overvåger den neonatale screening for stofskiftesygdomme (excl. PKU). Det foreslås, at der jævnlige udarbejdes opgørelser af resultaterne af den neonatale screening, som fx slås op på Statens Serum Instituts /det centrale biokemiske screeningslaboratoriums, Klinisk Genetisk Afdelings og Molekylær-Medicinsk Forskningsenheds hjemmesider og herudover sendes til Dansk Pædiatrisk Selskabs udvalg for klinisk genetik og screening, Dansk Selskab for Medicinsk Genetik og Dansk Selskab for Obstetrik og Gynækologi samt Regionsadministrationerne.

#### 6.2.3.3.2 Hos præmature nyfødte anbefales at gentage filterpapirblodprøven

Flere udenlandske neonatale screeningsprogrammer anbefaler, at der tages en ny prøve fra præmature børn, fx når de har nået en gestationsalder på 32 uger, når de udskrives fra hospitalet, eller 2-4 uger efter første prøve, idet et tidspunkt hvor normal oral ernæring (amning) er etableret anses for bedst. De tyske regler anbefaler, at alle børn uanset gestationsalder får taget en blodprøve i tredje levedøgn, og at præmature børn født før 32. gestationsuge får taget en ny prøve, når de når en alder af 32 gestationsuger<sup>400</sup>

Der er ikke entydigt belæg for, at præmaturitet komplicerer screeningen. Zytovicz et al. fandt en markant overrepræsentation af børn med meget lav fødselsvægt blandt dem som blev *flagged* ("markeret") for acylkarnitiner. Men dette må ses i lyset af en samlet falskpositivrate på 0.3% i denne undersøgelse, hvilket kunne indicere, at cut-offs var for lidt stringente.<sup>401</sup> Mey-

400 Personlig kommunikation – Andreas Schulze, Weisloch, Tyskland.

401 Zytovicz TH, Fitzgerald EF, Marsden D et al. Tandem mass spectrometric analysis for amino, organic, and fatty acid disorders in newborn dried blood spots: a two-year summary from the New England Newborn Screening Program. Clin Chem 2001;47:1945-55.

burg et al. fandt ved systematisk måling af acylkarnitinprofiler over tid, at postnatale karnitinværdier (frit karnitin og total karnitin) var højere hos meget umodne præterme børn sammenlignet med fuldbårne børn. Forskellen var størst for børn født før 28 uger GA. Men deres fund viste samtidig, at forskellene ikke kunne forventes at spille en signifikant rolle i forhold til tærskelværdier for almindeligt anvendte metabolitratioer (fx C8/C10 ratio).<sup>402</sup>

Rigshospitalet og Statens Serum Institut har for arbejdsgruppen foretaget en opgørelse af acylkarnitin niveauer målt i 3.-12. levedøgn hos 119 danske børn fordelt på 33 præmatur-SGA, 27 præmatur-AGA, 27 matur-SGA, og 32 matur-AGA. Denne opgørelse viser, at niveauerne af frit karnitin og flere acylkarnitiner er lavere - for nogles vedkommende signifikant lavere - hos de præmature, end hos de mature. Oktanoylkarnitin, der er hovedmarkør for MCADD, er dog signifikant lidt højere hos de præmature, end hos de mature. Ligeledes findes de i de danske screeningsalgoritmer anvendte ratioer mellem respektive hovedmarkør-acylkarnitiner og frit karnitin generelt signifikant højere hos de præmature børn i undersøgelsen. Forskellene er dog ikke så store, at de ville være af væsentlig betydning i forhold til de anvendte cut-off værdier i projekt udvidet screening. Det må antages, at såvel prøvetagningstidspunkt som ernæringsregimen (oral/parenteral) er confoundere ved en sammenligning mellem præmature og mature børn. Præmature danske børn ernæres som regel med modermælk eller modermælks-erstatning. Når der tages hensyn hertil samt til prøvetagningstidspunkterne, vurderer arbejdsgruppen, at fundene hos de danske børn er konsistente med Meyburg et al.<sup>403</sup>

Så længe problemstillingen ikke er éntydigt afklaret, finder arbejdsgruppen, at en ordning svarende til den i Tyskland anvendte bør etableres også herhjemme. Det betyder, at hos alle bør filterpapirblodprøven tages i tidsrummet 48-72 timer efter fødslen, men for børn født før gestationsuge 32 gentages prøven når barnet når alder *svarende til* 32 gestationsuger. Der bør ske evaluering af erfaringerne efter to år for at afgøre, om ordningen med fornyet prøve kan ophøre.

#### 6.2.3.4 Screening for biotinidase-mangel anbefales

Den af arbejdsgruppen anvendte systematik førte til at identificere biotinidase-mangel som et screeningsmål af høj værdi, trods sygdommens sjældenhed og den omstændighed, at diagnostikken kræver opsætning af en speciel analyse. Svær biotinidase-mangel er en alvorlig sygdom, der ubehandlet medfører betydelige lidelser, irreversible neurologiske handicap og eventuelt død. Behandlingen er simpel, billig og effektiv. Der findes veletablerede effektive neonatale screeningsmetoder og udredningsalgoritmer, som uproblematisk kan implementeres i Danmark. Sygdommen forekommer hyppigere blandt mennesker af nordeuropæisk afstamning. Dette bekræftes af erfaringerne fra det svenske screeningsprogram, hvor man foreløbig ud af 300.000 screenede børn har fundet 4 med svær biotinidase-mangel (<10% restaktivitet), svarende til en incidens på 1:75.000. I Danmark kendes kun få klinisk diagnosticerede tilfælde, hvilket alt andet lige tyder på, at sygdommen klinisk underdiagnosticeres. Med de vurderingskriterier, som arbejdsgruppen har anvendt, bør screening for biotinidase-mangel iværksættes som led i det rutinemæssige tilbud, med stillingtagen til videreførelse efter en periode på mindst fem år.

##### 6.2.3.4.1 Forløb efter screenpositivt fund.

Dette følger samme retningslinjer som gælder for udredning af de tandem-MS påviselige stofskiftesygdomme (excl. PKU), hvortil der henvises (se under pkt. 6.2.3.3.1).

402 Meyburg J, Schulze A, Kohlmüller D et al. Acylcarnitine Profiles of Preterm Infants Over the First Four Weeks of Life. *Pediatr Res* 2002, 52:720-723

403 Meyburg J, Schulze A, Kohlmüller D et al. Acylcarnitine Profiles of Preterm Infants Over the First Four Weeks of Life. *Pediatr Res* 2002, 52:720-723

#### 6.2.4 Anbefalinger vedrørende screeningsmål, som er betinget af, at beslutningsgrundlaget udbygges.

##### 6.2.4.2 Screening for tyrosinæmi anbefales, såfremt falskpositivrate kan minimeres ved tandem-MS for succinylacetone

Tyrosinæmi skyldes en defekt i nedbrydningen af aminosyren tyrosin. Indtil for få år siden var der kun få behandlingsmuligheder. Ubehandlet vil mange udvikle leversvigt før 2-årsalderen og blandt de overlevende vil stort set alle udvikle hepatocellulært karcinom (leverkræft). De fleste vil være døde inden 10 års alderen.

Med indførelse af NTBC-behandling i de senere år er udsigterne for disse børn revolutionerende ændret, specielt såfremt de diagnosticeres tidligt. Effektiviteten af behandlingen afhænger af tidspunkt for behandlingsstart, hvilket er dokumenteret i erfaring med over 300 patienter i NTBC-behandling på verdensplan. Tyrosinæmi er derfor blevet et klart screeningsmål, men screening for tyrosinæmi med *tyrosin* som screeningsmarkør er vanskeliggjort af både høje falskpositiv- og høje falsknegativrate. For nyligt er imidlertid offentliggjort en tandem-MS metode til bestemmelse af *succinylacetone* – en langt bedre screeningsmarkør - i filterpapirblodprøven. Der synes derfor nu at være en reel mulighed for tandem-MS baseret screening, som kombinerer høj detektionsrate med lav falskpositivrate, dog i en selvstændig kørsel hvilket fordyrer analysen. Arbejdsgruppen anbefaler, at SSI påbegynder et arbejde med opsætning af en dansk screeningsmetode for tyrosinæmi, og verificerer analysen i et retrospektivt studie baseret på PKU-biobankens materiale.

##### 6.2.4.1.1 Forløb efter screenpositivt fund.

Dette følger samme retningslinjer som gælder for udredning af de tandem-MS påviselige stofskiftesygdomme (excl. PKU), hvortil der henvises (se under pkt. 6.2.3.3.1).

##### 6.2.4.2 Screening for medfødt adrenogenitalt syndrom (CAH) anbefales, såfremt falskpositivrate kan minimeres yderligere (delfia og LC-tandem-ms)

Medfødt adrenogenitalt syndrom (CAH) blev betragtet som et vigtigt screeningsmål allerede i redegørelsen fra 1980, og undersøgelse herfor indgår i dag i en række udenlandske screeningsprogrammer (fx det svenske). Der hersker bred international enighed om, at sygelighed og dødelighed ved medfødt adrenogenitalt syndrom (CAH) som følge af 21-hydroxylase defekt (den hyppigste årsag) reduceres ved identifikation af afficerede børn få dage efter fødslen. Erfaringerne fra det svenske program viser, at de alvorlige tidlige saltkriser hos drenge undgås, og at korrekt kønstilskrivelse hos viriliserede piger sker væsentlig tidligere. Også i forhold til mildere former af CAH er der gavnvirkninger i form af nedsat virilisering, samt normaliseret vækst og pubertet.

Neonatal screening for CAH med immunoassay for markøren 17-OH-progesteron udføres i en række lande verden over. En svaghed ved denne screening er dog forekomst af et forholdsvis stort antal falskpositive resultater – af størrelsesorden 1% eller mere. De senere år tyder flere undersøgelser på, at de fleste falskpositive prøvesvar uden tab af detektionsevne kan elimineres ved at kombinere gestationsalder-afhængigt cut-off med såkaldt *two-tier* (to-trins) teknik. Sidstnævnte kan gøres på to måder. Arbejdsgruppen har vurderet, at der er ekspertise og udstyr tilstede på Statens Serum Institut til at kunne foretage begge typer af *two-tier* (to-trins) strategier. Den bedste løsning kunne efter arbejdsgruppens vurdering være, at anvende to gestationsalder afhængige cut-off værdier for 17-OH-progesteron immunoassayet kombineret med en second-tier LC-tandem-MS bestemmelse af 17-OH-progesteron, androstendion og cortisol. Teoretisk ville dette kunne nedbringe falskpositivrate til < 0,03 %. Der er imidlertid behov for at verificere eller afkræfte dette baseret på opsætning af en sådan analyse og retrospektiv afprøvning, herunder på prøver fra præmature nyfødte (PKU-biobanken). Arbejdsgruppen anbefaler, at Statens Serum Institut påbegynder dette sidstnævnte arbejde.

#### 6.2.4.2.1 Forløb efter screenpositivt fund

Ved screenpositivt fund bør strategien være, at den screenende institution (SSI) kontakter den lokale børneafdeling, som derefter indkalder patienten akut til konfirmering af diagnosen og yderligere udredning. Evt. med viderehenvisning til lands-landsdelsafdeling. Den opfølgende behandling vil som nævnt tidligere skulle foretages på lands-landsdelsafdeling for børneendokrinologi og denne mulighed forefindes to steder i Danmark - på Rigshospitalets afdeling for Vækst og Reproduktion samt på Odense Universitetshospitals børneafdeling H. Endvidere vil opfølgning i voksenalder kunne foregå på medicinsk endokrinologiske afdelinger, for de kvindelige patienters vedkommende i samarbejde med gynækologisk afdeling.

#### 6.2.4.3 I Tilslutning til revisionen af svangreomsorgens retningslinjer anbefales at revurdere screening for medfødt toxoplasmose.

Screening for medfødt toxoplasmose ("harsyge") blev indført i Danmark 1999. Erfaringerne har vist, at der praktisk taget ikke forekommer falskpositive svar ved denne screening. Det iværksatte screeningsprogram synes i sig selv at have haft en gavnlig forebyggende effekt, idet antallet af diagnosticerede tilfælde af medfødt toxoplasmose blandt nyfødte har udvist årligt faldende tendens siden screeningens iværksættelse. Den mest sandsynlige forklaring herpå er, at screeningen og den i forbindelse hermed iværksatte oplysningskampagne har ført til, at flere gravide tager forholdsregler mod udsættelse for smitten.

Derimod synes det uafklaret, om den medicinske behandling reelt ændrer prognosen for de børn, som diagnosticeres. Arbejdsgruppen er ikke sammensat til at afgøre dette spørgsmål, men anbefaler, at der finder en genvurdering sted i forbindelse med de kommende nye retningslinjer for svangreomsorgen.

### 6.2.5 Vigtige målsætninger for screeningen

#### 6.2.5.1 Kvalitetssikre ydelserne.

Nytteværdien af neonatal screening afhænger af, at alle led fungerer: den primære screeningsorganisation, den efterfølgende af- eller bekræftelse af et abnormt screeningsresultat, tilgængelighed og iværksættelse af relevant, højt specialiseret behandling samt at kommunikationsveje, der forbinder disse punkter er velfungerende.

Sundhedsstyrelsen har i relation til svangreomsorgen præciseret, at

*"..det er fødestedets ansvar, at alle mødre får tilbud om, at der tages blodprøve fra den nyfødte [til nyfødscreeningen] Dette gælder også, hvis fødslen foregår ambulant, eller hvis udskrivelse fra fødestedet finder sted før [det fastsatte prøvetagningstidspunkt]. Det er endvidere fødestedets ansvar, at ikke-modtagne prøvesvar efterlyses, samt at den praktiserende læge underrettes om svaret, såfremt dette er positivt."*<sup>404</sup>

Erfaringen viser imidlertid, at systemsvigt kan forekomme.<sup>405</sup> Det er arbejdsgruppens vurdering, at såfremt fødestedet blev tilpligtet at indsende PKU-kort fra *alle* nyfødte (det vil sige også et PKU-kort, såfremt prøven ikke ønskes taget), kunne dette, kombineret med en central kontrolprocedure (samkøring mellem modtagne PKU-kort med CPR for nye fødsler, eksempelvis hver 14. dag), muliggøre at identificere systemsvigt. Mulighederne herfor bør undersøges.

Vedrørende kvalitetssikring af den *laboratoriemæssige* del af screeningen henvises til pkt. 6.1.6 om nuværende akkreditering og kvalitetssikring.

<sup>404</sup> Sundhedsstyrelsen. Svangreomsorg. Retningslinjer og redegørelse; 55.

<sup>405</sup> Da de sygdomme der screenes for, er sjældne, vil et systemsvigt formentligt oftest ikke altid blive erkendt. Jf. et memento i Ugeskrift for Læger 1. december 1986.

Behovet for kvalitetssikring retter sig ikke alene mod screeningslaboratoriet, men også mod prøveindsamling og logistik i fødeafdelinger mv, kommunikation med forældrene, gennemførelse af konfirmatoriske undersøgelser, samt iværksættelse af behandling og opfølgning herunder tilbagemelding til screeningslaboratoriet, se afsnit om konfirmatorisk testning. Udredningen i forbindelse med et abnormt resultat ved den primære screeningsanalyse af den neonatale filterpapirblodprøve bør være karakteriseret ved følgende

- Klare og aftalte nedskrevne procedurer for hver sygdom
- De analyser, der anvendes bør som udgangspunkt være rutinemæssigt tilgængelige på national basis
- Det endelige svar bør meldes *samlet ud*, også selvom, der indgår flere analyser fra forskellige laboratorier
- Det endelige svar bør inkludere vejledning om den evt videre udredning af barnet
- Det endelige svar bør inkludere vejledning om den evt videre behandling af barnet
- Det endelige svar bør inkludere vejledning om den evt. videre udredning af barnets familie
- De analyser og procedurer, der anvendes bør være kvalitetssikrede
- Alle svar rapporteres tilbage til Statens Serum Institut/det centrale biokemiske screeningslaboratorium med henblik på kvalitetssikring af den primære screening enten løbende eller i form af jævnlige opgørelser
- Alle med en bekræftet stofskiftesygdom bør behandles efter ensartede retningslinier og tilbydes behandling på ekspertniveau<sup>406</sup>
- Resultater af behandling bør rapporteres tilbage til Statens Serum Institut/det centrale biokemiske screeningslaboratorium med kopi til de involverede afdelinger enten løbende eller i form af jævnlige opgørelser.
- Endvidere bør der – eksempelvis i Dansk Pædiatrisk Selskabs regi – for hvert screeningsmål/gruppe udpeges en klinisk ankerperson/følgegruppe, som sikrer den løbende opfølgning, særlig tilbagerapportering til Statens Serum Institut/det centrale biokemiske screeningslaboratorium.

#### 6.2.5.2 Minimere antallet af falskpositive screeningsfund

Et positivt screeningsfund – selv hurtigt afkræftet - kan pga. den én gang rejste mistanke gribe dybt ind i en families liv, idet perioden omkring fødslen er et specielt sårbart vindue, og mange forældre vil reagere med større sorg pga. en sygdomsmistanke rejst i forhold til deres nyfødte barn, end på en sygdomsmistanke rejst i forhold til dem selv. Flere undersøgelser støtter dette synspunkt. Falskpositivrater ved neonatalscreeningen har traditionelt også været langt mindre end ved andre former for screening, men det er et vigtigt løbende mål at nedbringe falskpositivraterne yderligere.

I mange internationale screeningscentre er den overordnede prædiktive værdi af et abnormt resultat ikke over 20%. Det er således et afgørende led i neonatal screening, at der foreligger udredningsalgoritmer, som konklusivt kan afgøre, om det abnorme screeningsfund er sandt- eller falskpositivt. Mhp at iværksætte behandling for sandtpositive så hurtigt som muligt og afkorte ventetiden for falskpositive så meget som muligt, bør disse sygdomsspecifikke algoritmer være klare, nemt og hurtigt gennemførlige og sikre et konklusivt resultat. De enkelte sygdomsspecifikke algoritmer er nævnt i fact-sheets, hvortil der henvises.

#### 6.2.5.3 Maksimere tilslutningen til nyfødtscreeningen.

Maksimal tilslutning til et screeningsprogram er som udgangspunkt ikke et mål i sig selv. I nogle typer af screeningsprogrammer vil fordele og ulemper kunnes vægtes individuelt forskelligt bl.a. afhængigt af livsanskuelse og holdninger, og i sådanne tilfælde kan der være tale om et forholdsvis kompliceret valg med store krav til informationsdybden.

<sup>406</sup> Jævnfør i denne forbindelse også Sundhedsstyrelsens vejledning om lands- og landsdelsfunktioner og Sundhedsstyrelsens redegørelse: Sjældne handicap. Den fremtidige tilrettelæggelse af indsatsen i sygehusvæsenet, 2001, samt den tilsvarende organisation af behandlingen af PKU.

Med nyfødscreeningen forholder det sig efter arbejdsgruppens vurdering anderledes, særligt hvor programmet efter systematisk evaluering kun omfatter sygdomme, hvor tidlig opsporing og iværksættelse af behandling kan være af afgørende betydning for barnets livsudsigter (øget livskvalitet, undgåelse eller formindskelse af sygelighed og dødelighed). Et sådant entydigt "barnets tarv"-perspektiv afspejler sig i de vægtningskriterier, der er anvendt i nærværende redegørelse. Hertil kommer, at falskpositivraten ved nyfødscreeningen, såfremt det her anbefalede metodevalg følges, er 1-2 størrelsesordner lavere, end i mange "almindelige" screeningsprogrammer. På det grundlag bør nyfødscreeningen først og fremmest anskues som en del af samfundets omsorg for de nyfødte, og maksimering af tilslutning til nyfødscreeningen bør være en klart erkendt prioritet – som man fx også bestræber sig for at maksimere tilslutningen til de foranstaltninger i svangreomsorgen, der tager sigte på at gavne såvel fostret, som den gravide.

Betydningen af frafald fra nyfødscreeningen kan illustreres med erfaringerne fra projekt udvidet screening, hvor tilslutningen set over hele projektperioden har været omkring ca. 80% (høj tilslutning, men dog markant lavere end tilslutningen til rutineprogrammet, hvilket delvist kan afspejle et lille mindretal af forældres utryghed ved at "deltage i et forsøg"). Blandt de børn, som *ikke* blev screenet, er der efterfølgende foreløbig diagnosticeret to børn med MCADD, som begge debuterede med stofskiftekrise, to børn med LCHADD (1 med debut i stofskiftekrise med kardiomyopati og 1 død af kardiomyopati) samt ét barn med propionacidæmi – sidstnævnte debuterede med stofskiftekrise ledsaget af svær acidose og dehydrering. Disse fem børn har ved retrospektiv tandem-MS testning af deres hælblodprøver alle vist sig at have karakteristiske fund for deres respektive sygdom, og børnene ville således være blevet fundet straks efter fødslen, hvis de var blevet screenet.

Screening forudsætter forældrenes informerede samtykke, og dette forudsætter på sin side information ikke blot om gavnperspektiverne, men også om den (meget lille) sandsynlighed for et falskpositivt fund. Det ville imidlertid efter arbejdsgruppens opfattelse være forkert, såfremt stillingtagen blev gjort afhængig af et kompliceret valg med stor informationsdybde. Situationen omkring selve fødselstidspunktet er heller ikke gunstigt herfor, hverken set med forældrenes eller det sundhedsfaglige personales øjne. Kravet til information må være, at den sagligt og i stærkt koncentreret form fokuserer forældrenes opmærksomhed på barnets tarvperspektivet, herunder således at tilvalg eller fravalg på barnets vegne ikke bliver bestemt af andre faktorer, fx forældrenes generelt positive eller negative syn på teknologi, eller på al screening under ét. Arbejdsgruppen *foreslår* på den baggrund, at Sundhedsstyrelsen udarbejder et kortfattet informationsparadigme for det rutinemæssige tilbud om neonatal screening. Informationen foreslås også at omfatte oplysning om mulighed for at begrænse prøvens anvendelse eksempelvis forskningsmæssigt ved henvendelse til Sundhedsstyrelsens vævsanvendelsesregister. Endvidere foreslår arbejdsgruppen, at mere detaljeret information om hver enkelt af de sygdomme, som der screenes for, fortsat skal være tilgængelig på Statens Serum Institut/det centrale biokemiske screeningslaboratoriums hjemmeside.

### 6.3 Økonomiske konsekvenser af arbejdsgruppens forslag.

I det følgende beskrives direkte mer-/mindre-omkostninger til opsporing, ligesom arbejdsgruppen har forsøgt at skønne, om opsporing af de enkelte screeningsmål vil være kosteffektiv. Ved opgørelse af direkte meromkostningerne medtages såvel udgifter til laboratoriescreeningen, som udgifter til konfirmatorisk/afkræftende diagnostik af børn med falskpositive screeningsfund. Udgifter til konfirmatorisk diagnostik af børn med sandtpositive screeningsfund medtages ikke, da de ville skulle afholdes fuldt ud, selv om der ikke blev screenet. Udgifter i forbindelse med indsamling og opbevaring af prøver påvirkes ikke væsentligt af arbejdsgruppens forslag, og omtales derfor ikke i det følgende.

### 6.3.1 Screening for medfødt hypothyreose: økonomi

Arbejdsgruppens forslag har ikke økonomiske konsekvenser i forhold til screening for medfødt hypothyreose. Internationalt er der konsensus om, at screening for medfødt hypothyreose betaler for sig selv, med en stor benefit-cost ratio.<sup>407</sup>

### 6.3.2 Økonomi ved Screening for PKU med tandem-MS metoden i stedet for Guthrie test

Arbejdsgruppen har taget udgangspunkt i, at prisen for den laboratoriemæssige screeningsandel af det nuværende samlede rutinemæssige screeningsprogram (CH, PKU og TOXO) i henhold til Statens Serum Instituts prislister fra 2006 er 199 kroner per prøve (i forbindelse med overførslen af PKU-screening fra Guthrie metode til tandem-MS i 2003 blev der lagt 7 kroner på analyseprisen, sv. årligt kr. 455.000 ved 65.000 analyser, hvortil kommer almindelig P/L regulering).

Baseret på oplysninger fra Statens Serum Institut vurderer arbejdsgruppen, at PKU-screeningen kunne videreføres baseret på tandem-MS analyse inden for samme prisramme, og følges arbejdsgruppens forslag herom vil dette således ikke afføde merudgifter for det offentlige.

For god ordens skyld bemærkes, at det ikke heraf kan udledes, at afskaffelse af Guthrie metoden til fordel for tandem-MS bestemmelse ved PKU-screeningen i sig selv har været økonomisk neutral. En engelsk MTV fra 2004 viste, at overgang til tandem-MS *alene* med det formål at screene for PKU ikke kan betragtes som kosteffektiv<sup>408</sup>, medmindre man er villig til at betale for at opnå reduktion af falskpositivt. Forklaringen er, at detektionsraten med de to metoder er den samme. Imidlertid er reduktionen af falskpositivt efter arbejdsgruppens opfattelse en særdeles væsentlig kvalitetsforbedring af det nuværende tilbud, som har reduceret antallet af genindkaldelser til næsten nul. Med til vurdering hører også, at de bedste økonomiske vurderinger af PKU-screening med Guthrie metoden peger på, at benefit/cost ratio er omkring 2.0.<sup>409</sup> Selv efter overgang til tandem-MS må det derfor fortsat antages, at screeningen for PKU *samlet* set er en økonomisk fordelagtig investering for det offentlige.

### 6.3.3 Økonomi ved udvidet screening for metaboliske sygdomme med tandem-MS metoden.

Screening for MCAD o.a. metaboliske sygdomme vil – forudsat at kapacitet for tandem-MS-undersøgelse allerede er etableret, jf. pkt. 6.3.2 – koste ekstra 0,62 millioner kroner årligt (jf. tabel 6-1 for detaljer). Dette svarer til en kostpris per undersøgt barn på ca. 10 kroner. Når udvidet screening tilføjes som supplement til tandem-MS analyse for PKU, er den fornødne apparaturkapacitet allerede tilvejebragt, og kapitalinvesteringen til apparatur bredes således ud på flere formål.

Konfirmatoriske/diskonfirmatoriske tests (dvs. tests som kan bekræfte eller udelukke diagnosen blandt de screenpositive) omfatter dels biokemiske analyser (metabolit- og enzymanalyser), dels molekylære analyser, samt hertil knyttet koordinering. Arbejdsgruppens skøn over prisen for konfirmerende biokemisk testning baserer sig på gennemgang af de screenpositive, der har været i projekt udvidet screening.

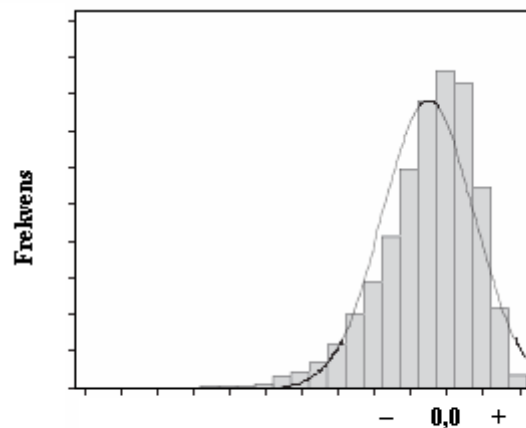
Det totale årlige antal af screenpositive har i projektperioden været gennemsnitligt 32 med 7 sandtpositive og 25 falskpositive. Med forventet øgning af tilslutningen fra 86% til tæt ved 100% (fordi tilbuddet ændres fra forsøgsregi til rutinetilbud), baseres det prismæssige overslag

407 Leutwyler K. The Price of Prevention. *Sci Am* 1995;10:122-129.

408 Pandor A, Eastham J, Beverley C, Chilcott J, Paisley S. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of neonatal screening for inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry: a systematic review. *Health Technology Assessment* 2004; 8 (12).

409 Seymour CA, Thomason MJ, Chalmers RA et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: a systematic review. *Health Technology Assessment* 1997; 1(11).





**Incrementale omkostninger ved MS/MS for PKU+MCAD**

Figur 6-1. Inkrementale omkostninger for screening for PKU+MCAD med tandem-MS-metode – Monte Carlo analyse som indregner usikkerheden på en række antagelser. Modifieret efter Pandor et al 2004. Kvalitativt viser analysen, at der er størst sandsynlighed for, at ordningen vil være kost-effektiv med et økonomisk nettobenefit (størst samlet areal på minus-siden af 0,0).

på forventet 40 screenpositive årligt, heraf 10 sandtpositive<sup>410</sup>. Sidstnævnte medregnes ikke, fordi udgifterne under alle omstændigheder ville skulle afholdes, og senest ved klinisk sygdomsdebut. Da falskpositivrate i de seneste opgørelser synes at være faldet yderligere, svt. estimeret 20-25 falskpositive årligt, kan de anvendte værdier evt. vise sig at være i overkanten, men omvendt kan en mindre øgning i falskpositivrate evt. fremkomme som resultat af fremrykket prøvetagningstidspunkt.

Arbejdsgruppen skønner på ovenstående baggrund, at prisen for konfirmatorisk testning i gennemsnit udgør 10.000 kroner per barn, dvs. årligt (baseret på 30 falskpositive screeningsfund) 300.000 kroner. De molekylærgenetiske undersøgelser, som omfatter barnet og første-gradsslægninge, har hidtil i vidt omfang været udført gratis for rekvirenten, fordi dette har kunnet kombineres med en interesse i grundforskningen. Formaliseres screeningen, kan der forventes krav om betaling for de nødvendige undersøgelser. Arbejdsgruppens skøn er, at der hertil bør afsættes 150.000 kroner årligt.

Selv om de marginale omkostninger ved at supplere tandem-MS screeningen for PKU med screening for MCADD og gruppen af andre sjældne stofskiftesygdomme er forholdsvis beskedne, indikerer dette ikke nødvendigvis, at screeningen bliver mere kosteffektiv. Hvis screeningen eksempelvis væsentlig nedsætter den tidlige dødelighed, vil et større antal børn overleve med sygdommen og dermed med varierende grad af invaliditet eller handicap, som koster samfundet penge.

Der knytter sig betydelig usikkerhed til mange af de parametre, som indgår i en vurdering af kost-effektivitet af screening for det spektrum af sygdomme, arbejdsgruppen anbefaler at screene for – eksempelvis angående vundne leveår, behandlingsomkostninger mv. Pandor et al. (MTV 2004) anvendte en økonomisk model kombineret med probabilistisk analyse, som kan afspejle disse usikkerheder. Arbejdsgruppen tager udgangspunkt i denne MTV som den mest omfattende analyse af screeningsøkonomien, der forefindes.

<sup>410</sup> Et heraf afledet ressourcetræk fra Klinisk genetisk afdeling til akademiker samt klinisk diætist indgik ikke ved arbejdsgruppens beregning, men vurderes at kunne tilgodeses inden for de efterfølgende afsatte midler til screeningen (note tilføjet efter afslutning af arbejdsgruppens arbejde).

Udgiftskategori	Udv. metabolisk screening (tandem-MS)		Biotinidasemangel (kolorimetrisk)	
Kapitalinvestering	-		300.000	
Afskrivning 7 år (forrentning 6% p.a.)			41.609	
Vedligeholdelse			26.790	
Laborant	0,1	40.000	0,7	280.000
Akademiker	0,3	165.000	0,1	55.000
Materialer	360.000		150.000	
Faciliteter	50.000		65.000	
Omkostninger per prøve (N=65000)	9,50		9,51	
Meromkostninger p.a.	615.000		618.399	
Forventet antal sandtpositive/år	10		1	

*Tabel 6-1. Arbejdsgruppens beregning af laboratorieomkostninger forbundet med udvidet metabolisk screening og biotinidasemangel på SSI.*

I denne MTV'en anlægges en rent forretningsmæssig vurdering – de alternativer som giver økonomisk overskud anbefales, andre alternativer anbefales ikke. Pandor et al. fandt<sup>411</sup>, at der er en høj sandsynlighed for, at tandem-MS screening for PKU+MCAD-mangel er kost-effektivt ved et prøvevolumen på 50-60.000, endog med en moderat økonomisk nettogevinst for samfundet (se tabel 6-1). Det vil sige, at selv om betalingsvilligheden i forhold til at finde disse børn tidligt antages at være nul, er der økonomisk set sundt fornuft i at gøre det. Endvidere fandt de, at udvidelse af programmet med GA1, HCY samt langkædede fedtsyreoxidaionsdefekter (LCHADD, VLCADD) ville være kost-effektivt hvis samfundet er villig til at betale en meget beskedne pris for at hjælpe børnene – eller sagt på en anden måde, hvis samfundet er villig til at investere den økonomiske gevinst ved at inkludere MCADD programmet, til at betale for dette.

Blandt de øvrige sygdomme, som arbejdsgruppen foreslår inkluderet i den udvidede screening, vil særligt MSUD, MMA og PA ifølge den engelske MTV gøre screeningen mindre kosteffektiv. Forfatterne vil dog ikke udelukke, at MTV-analysen "signifikant underestimerer kosteffektiviteten af neonatal screening for disse sygdomme"<sup>412</sup> Dette skyldes, at man ved beregningerne udelod potentielle fremtidige omkostningsbesparelser pga. undgået invaliditet, fordi systematiske oplysninger herom i litteraturen manglede.

Samlet – ud fra en rent forretningsmæssig betragtning, tilstandens hyppighed, behandlingsomkostningerne, undgåede fremtidige omkostninger, potentielle helbredsgevinster og vundne leveår, er det arbejdsgruppens vurdering, at udvidet screening for stofskiftesygdomme formentlig er en økonomisk neutral eller omtrent økonomisk neutral samfundsmæssig investering.

#### 6.3.4 Økonomi ved screening for biotinidasemangel

Screening for biotinidasemangel kræver et stand-alone assay, som vil koste 0,6 millioner kroner årligt, heri indregnet en kapitalinvestering på 300.000 kroner, som forudsættes afskrevet med årligt 41.609 kroner i syv år. Konfirmatoriske/diskonfirmatoriske undersøgelser af de forventet

411 Pandor A, Eastham J, Berveley C, Dhilcott J, Paisly S. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of neonatal screening for inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry: a systematic review. Health Technology Assessment 2004; Vol 8: number 12.

412 Pandor et al. 2004; 97 (se reference 402).

meget få falskpositive består i enzymatisk måling af biotinidaseaktiviteten i en blodprøve, samt tilfælde mutationsanalyse. Samlet skønner arbejdsgruppen at der hertil skal afsættes ikke over ca. 75.000 kroner årligt. Behandlingen af biotinidasemangel er enkel og billig, hvilket skal vejes op mod omkostningerne ved et stand-alone assay. Det kan forventes, at alle børn med svær biotinidasemangel, som opdages tidligt ved screening og sættes i behandling, udvikler sig normalt, hvorimod en væsentlig del af symptomatisk fundne og behandlede vil få lettere eller sværere, permanente neurologiske eller mentale deficit (bl.a. syns- og hørenedsættelse). En analysepris på godt 9 kroner per nyfødt er, selv med korrektion for prisudvikling siden 1997, væsentligt højere end de ca. 5 kroner per analyse (omregnet), som efter et tentativt sundhedsøkonomisk skøn kunne gøre analysen økonomisk neutral.<sup>413</sup> En nylig oversigt støtter, at screening for biotinidasemangel er blandt de mere kosteffektive screeningsmål.<sup>414</sup> Samlet vurderer arbejdsgruppen imidlertid ikke, at screeningen vil kunne betale for sig selv, specielt når der tages hensyn til, at den nøjagtige incidens i Danmark ikke kendes. Arbejdsgruppen finder som det mest sandsynlige skøn med væsentlig usikkerhed, at afledede sparede udgifter vil ækvivalere halvdelen af omkostningerne ved screeningen.

### 6.3.5 Økonomi ved screening for tyrosinæmi

De forberedende undersøgelser, som vil kræves før en endelig stillingtagen, forudsættes afholdt som en forsknings- og udviklingsaktivitet. Iværksættelse af screening efter de retningslinjer arbejdsgruppen har skitseret ville i givet fald – efter arbejdsgruppens foreløbige beregninger – koste årligt 1,06 million kroner, heri indregnet en kapitalinvestering på 2 millioner kroner, som forudsættes afskrevet med 277.000 kroner per år. Det vil være et stand-alone assay, som forudsætter selvstændigt etableret kapacitet for tandem-MS.

Dette svarer til en analysepris på 16 kroner per nyfødt. Til analyseprisen skal lægges udgifter til konfirmatoriske/diskonfirmatoriske undersøgelser af de børn, som viser sig at være falskpositive. Den forventelige falskpositivrate kan først endeligt afklares efter det forberedende arbejde, som arbejdsgruppen har stillet forslag om, som en forudsætning for endelig stillingtagen til analysens indførelse i rutineprogrammet. Antages det, at falskpositivrate kan holdes <0,01 procent (jf. erfaringerne med de fleste andre stofskiftesygdomme som indgik i projekt udvidet screening), vil udgifterne til konfirmatoriske/diskonfirmatoriske undersøgelser være af størrelsesorden 60-75.000 kroner.

Det er ikke sandsynligt, at screeningen vil være kost-effektiv, medmindre betalingsvilligheden for tidlig opsporing af børnene er betydelig. NTBC-behandlingen kan, hvis den iværksættes tidligt, hos de fleste forhindre leversvigt, så lever-transplantation undgås eller udskydes langvarigt. Men behandlingen er dyr, og med udsigten til markant – muligvis mangeårigt - forlænget overlevelse for disse børn, vil de akkumulerede omkostninger til behandling blive betragtelige.

413 Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ, Both A, Cooper NJ. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. Health Technology Assessment 1997:Vol.1:No 7; 164.

414 Carroll AE, Downs SM. Comprehensive Cost-Utility Analysis of Newborn Screening Strategies. Pediatrics 2006;117:287-295.

Udgiftskategori	Tyrosinæmi (tandem-MS for succinylacetone)	CAH med second-tier analyse (tandem-MS)
Kapitalinvestering	2.000.000	906.250
Afskrivning 7 år (forrentning 6% p.a.)	277.394	125.694
Vedligeholdelse	180.000	73.294
Laborant	200.000	400.000
Akademiker	110.000	275.000
Materialer	200.000	812.500
Faciliteter	90.000	200.000
Samlede omkostninger p.a.	1.057.394	1.886.488
Omkostninger per prøve (N=65000)	16,27	29,02

*Tabel 6-2. Arbejdsgruppens beregning af omkostninger for SSI ved screening for biotinidasemangel, for tyrosinæmi (tandem-MS for succinylacetone), samt for CAH med second tier.*

Da behandlingsprognosen på langt sigt ikke kendes, kan fordyrende komplikationer heller ikke på forhånd udelukkes. *Alene* ud fra en rent forretningsmæssig betragtning (dvs. udelukkende ud fra økonomisk cost-benefit) kan der således ikke argumenteres for at iværksætte screeningen, men øvrige hensyn er efter arbejdsgruppens vurdering så stærke, at screeningen bør iværksættes, såfremt falskpositivt-raten kan minimeres ved tandem-MS for succinylacetone, hvilket arbejdsgruppen vurderer er muligt (jf 6.2.4.1).

### 6.3.6 Økonomi ved screening for medfødt adrenogenitalt syndrom (CAH)

De forberedende undersøgelser, som vil kræves før en endelig stillingtagen, forudsættes afholdt som en forsknings- og udviklingsaktivitet. Iværksættelse af screening baseret på en løsning efter de retningslinjer arbejdsgruppen har skitseret, ville i givet fald - efter arbejdsgruppens foreløbige beregninger - koste 1.9 millioner kroner årligt, heri indregnet en kapitalinvestering på ca. 1 million kroner, som forudsættes afskrevet med årligt ca. 125.000 kroner i 7 år. Hertil vil skulle lægges omkostninger forbundet med konfirmatoriske/afkræftende undersøgelser hos de børn, der viser sig at være falskpositive screeningsfund – estimeret ca. 15 årligt, hvis erfaringerne fra en retrospektiv analyse på Statens Serum Institut bekræftes. Da undersøgelsesalgoritmen er simpel, skønner arbejdsgruppen at udgifterne hertil ikke vil overstige 60.000 kroner (svt. en gennemsnitspris for konfirmatoriske analyser på ~ 4000 kr).

Dødeligheden ved symptomatisk diagnosticeret CAH er formentligt lav, og screeningen kan ikke forventes at betale for sig selv. Det er vanskeligt at prissætte de gevinster, som det svenske program viser, at screeningen giver: at de alvorlige tidlige saltkriser hos drenge undgås, at korrekt kønstilskrivelse hos viriliserede piger sker væsentlig tidligere, og at der (hos de mildere former) opnås nedsat virilisering, samt normaliseret vækst og pubertet.

#### 6.3.6.1 Økonomi ved screening for medfødt toxoplasmose

Da arbejdsgruppen ikke stiller konkrete forslag om ændringer heri, har arbejdsgruppens forslag ikke umiddelbare økonomiske konsekvenser.

## 7 Bilag

Bilag 1: Molekylær genetik

Bilag 2: Eksempler på medfødte stofskiftesygdomme (IEM), hvor screening har været foreslået eller gennemført

Bilag 3: Eksempler på andre tilstande, hvor screening har været foreslået eller gennemført

Bilag 4: Illustrative sygehistorier

Bilag 5: Hyppigt anvendte forkortelser for sygdomsnavne

## Bilag 1: Molekylær genetik.

For hver enkelt af alle de medfødte stofskiftesygdomme, som der kan screenes for ved hjælp af tandem-MS gælder det, at sygdommen skyldes, at et gen, der koder for et nødvendigt enzym er helt eller delvist ødelagt som følge af en mutation. For eksempel skyldes langt hovedparten af tilfældene af MCADD, en mutation, hvor et bestemt A nukleotid i position 985 på MCAD genet er ændret til et G<sup>415, 416,417,418</sup>. Det mutante MCAD enzym er ustabil, hvilket fører til, at der ikke er nok MCAD enzym til at klare omsætningen af de mellemkædede fedtsyrer.

Ved DNA baseret diagnostik undersøger man direkte for den sygdomsfremkaldende mutation i DNA udvundet fra barnets PKU-kort. Der er såvel en metodisk som en principiel forskel i forhold til tandem-MS, hvor man identificerer enzym defekten ved at påvise dens konsekvenser i form af opbyggede stoffer i blodet (indirekte diagnostik).

### 7.1.1 DNA-baseret hurtig og sikker konfirmatorisk test.

Den DNA baserede undersøgelse er mere specifik end den biokemiske, idet den ikke influeres af barnets alder, dets metaboliske status eller eventuelle tilstedeværelse af medikamenter i blodet. Den er dog endnu ikke egnet til simultant at screene for mutationer i de mange forskellige gener i det store antal prøver, som en rutinemæssig screening af alle nyfødte kræver. Derimod er det muligt, hurtigt og uden store omkostninger at undersøge for mutationer i et eller nogle få gener i de screeningspositive prøver. Dette giver nogle gode muligheder for supplerende og verifikation af fundene fra den primære tandem-MS baserede screening, således at en endelig diagnose kan stilles hurtigere og sikrere.

Traditionelt er tandem-MS positive screeningsfund blevet søgt bekræftet dels ved gentagelse af tandem-MS analysen på en ny blodprøve, samt ved GC/MS baseret påvisning af diagnostiske metabolitter i urin og evt. ved måling af enzymaktivitet i leukocyter eller i celler fra en hudbiopsi. DNA baseret diagnostik er i denne forbindelse ofte først udført på den blodprøve, der tages på barnet i forbindelse med det udredende diagnostiske arbejde.

Med den udvikling, der har fundet sted i de senere år, er det nu muligt umiddelbart efter det screeningspositive fund, at udføre mutationsanalyser på DNA udvundet direkte fra det originale PKU-kort. Den DNA baserede diagnostik adskiller sig således fra de andre konfirmatoriske analyser, idet den kan udføres umiddelbart efter det positive screeningsfund, uden at der skal indhentes nye prøver fra den nyfødte. Det gør det muligt at fremkomme med en diagnostisk afklaring hurtigere, hvis tandem-MS positive screeningsresultater umiddelbart efter fundet bekræftes ved mutationsanalyse udført på det oprindelige PKU-kort.

### 7.1.2 Anvendelser

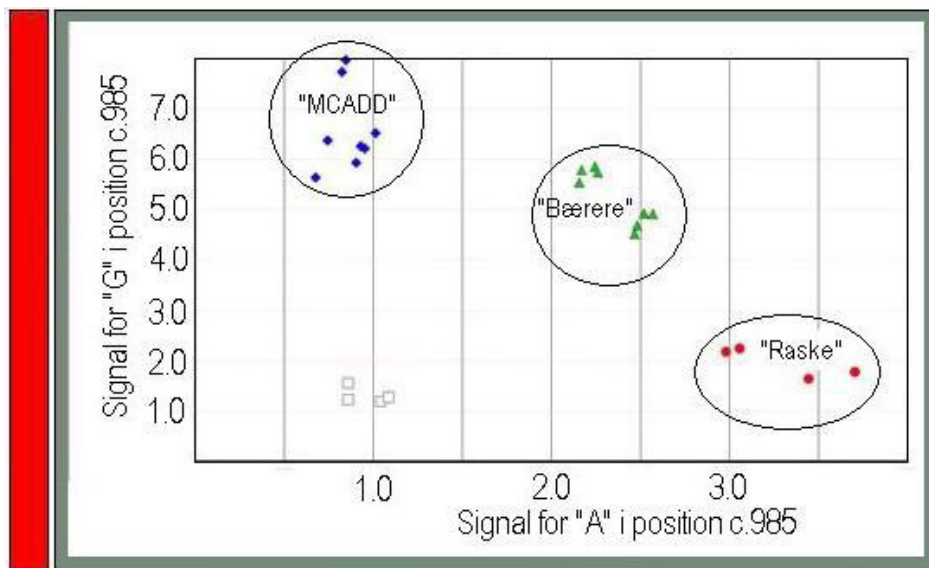
Brugen af mutationsdiagnostik giver udover denne umiddelbare diagnostiske anvendelse også nogle andre muligheder.

415 Matsubara, Y.; Narisawa, K.; Miyabayashi, S.; Tada, K.; Coates, P. M. : Molecular lesion in patients with medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. (1990) Lancet 335: 1589.

416 Yokota, I.; Indo, Y.; Coates, P. M.; Tanaka, K. (1990) Molecular basis of medium chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency: an A-to-G transition at position 985 that causes a lysine-304 to glutamate substitution in the mature protein is the single prevalent mutation. J. Clin. Invest. 86: 1000-1003.

417 Kelly DP, Whelan AJ, Ogden ML, Alpers R, Zhang ZF, Bellus G, Gregersen N, Dorland L, Strauss AW (1990) Molecular characterization of inherited medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. Proc Natl Acad Sci (U S A) 87:9236-9240.

418 Gregersen et al 1991??



Figur 7-1. Mutationsspecifikt assay for MCAD c.985 A>G mutation (output af analysen).

#### 7.1.2.1 Familie undersøgelser:

Når de sygdomsfremkaldende mutationer er identificeret hos en nyfødt, der er fundet screeningspositiv giver dette ikke blot en sikker diagnose, men åbner også flere muligheder for hurtig og specifik undersøgelse af andre familiemedlemmer.

**Søskende:** For mange af sygdommene er det velkendt, at der i familier kan findes ældre afficerede søskende, hvor sygdommen ikke er opdaget, enten fordi den endnu ikke er kommet til udtryk eller fordi symptomerne ikke har været erkendt som hidrørende fra sygdommen.<sup>419,420</sup> Disse asymptomatiske afficerede søskende har dog ved nogle sygdomme en betydelig risiko for at sygdommen kan bryde frem, og det er derfor vigtigt, at de får stillet en diagnose og behandles. Ved analyse af DNA fra en almindelig blodprøve for den(de) mutation(er), der blev fundet hos den screeningspositive nyfødte, kan søskende nemt og hurtigt undersøges. Der er således i en af de danske familier fra projekt udvidet screening fundet 2 ældre søskende (hhv. 7 og 10 år gamle) med uerkendt, hidtil asymptomatisk MCAD mangel forårsaget af homozygoti for en kendt sygdomsfremkaldende mutation.

#### 7.1.2.2 Prænatal diagnose

I nogle familier, hvor et barn er blevet diagnosticeret, kan der være et ønske om at få foretaget prænatal diagnose i en efterfølgende graviditet. I sådanne tilfælde er det en stor fordel, hvis den(de) sygdomsfremkaldende mutation(er) i familien allerede er identificeret i forbindelse med diagnosen af det første afficerede barn. Prænatal diagnose kan når mutationen er kendt foregå ved mutationsanalyse af DNA udvundet fra en chorion villus biopsi (moderkage biopsi) eller

419 Andresen BS, Bross P, Udvari S, Kirk J, Gray G, Kmoch S, Chamoles N, Knudsen I, Winter V, Wilcken B, Yokota I, Hart K, Packman S, Harpey JP, Saudubray JM, Hale DE, Bolund L, Kølvrå S, Gregersen N (1997) The molecular basis of medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency in compound heterozygous patients: Is there correlation between genotype and phenotype? *Hum. Mol. Genet.* 6:695-707.

420 Spiekerkoetter U, Sun B, Zytovicz T, Wanders R, Strauss AW, Wendel U (2003) MS/MS-based newborn and family screening detects asymptomatic patients with very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *J Pediatr.* 143(3):335-42.

fra celler fra fostervæsken. Dette er at foretrække frem for de noget mere langsommelige biokemiske analyser, der desuden er behæftet med større usikkerhed.<sup>421,422,423</sup>

#### 7.1.2.3 Neonatal diagnose

Analyse af navlestrengsblod: I familier med kendt mutation er det muligt at stille diagnosen allerede indenfor det første levedøgn ved DNA baseret undersøgelse af navlestrengsblod. I en enkelt dansk familie med MCAD mangel er der udført diagnose på basis af mutationsanalyse af DNA udvundet fra navlestrengsblod. En sådan meget tidlig diagnose afkorter væsentlig forældrenes ventetid på en afklaring og giver desuden, såfremt barnet skulle vise sig at være rask, mulighed for hurtigt at standse den behandling, som altid startes på mistanke.

#### 7.1.2.4 Diagnostik af anlægsbærere

Det faktum, at der i en familie findes et barn med en medfødt arvelig stofskiftesygdom medfører ofte bekymring hos andre fødedygtige medlemmer af familien, heriblandt oftest forældrenes søskende. Det er for de fleste sygdomme ikke muligt at diagnosticere anlægsbærere ved biokemiske analyser. Derimod er det meget nemt og hurtigt at undersøge for bærerstatus i DNA fra en blodprøve fra de relevante familiemedlemmer, når den sygdomsfremkaldende mutationen i en familie er kendt.

#### 7.1.2.5 Prognostisk vurdering

For nogle af de sygdomme, som det er muligt at screene for, er der en vis sammenhæng mellem mutationstypen og alvorligheden af sygdomsudtrykket hos patienterne – dvs. en sammenhæng mellem *genotype* og *fænotype*. Ved VLCADD er det for eksempel således, at der hos de børn, hvor sygdommen har ført til tidlig død, ofte i forbindelse med udvikling af svær hjertesygdom (kardiomyopati) findes alvorlige mutationer, der fuldstændig ødelægger VLCAD enzymet, så der slet ikke er nogen restaktivitet tilbage.<sup>424</sup> Derimod finder man hos børn med et mildere sygdomsforløb, samt hos voksne, mutationer, som ikke ødelægger enzymet fuldstændigt. Det er derfor til en vis grad muligt at udtale sig om prognosen på grundlag af viden om de mutationer, der er fundet hos et barn. Blandt de screeningspositive nyfødte med MCADD har det i de seneste år vist sig, at der også er en genotype – fænotype sammenhæng. Her vides det, at en relativt mild mutation (c.199T>C) har en lavere risiko for at sygdommen kommer til udtryk.<sup>425,426</sup> Det må forventes, at der i de kommende år for flere af screeningskandidatsygdommene vil generes mere viden om eventuelle sammenhænge mellem mutationernes art og risikoen for sygdomsudvikling. Mutationsdiagnostik vil derfor for nogle af sygdommene kunne bidrage til, at man vil kunne udtale sig mere sikkert omkring sygdommens prognose hos de identificerede nyfødte.

421 Gregersen N, Winter V, Jensen PK, Holmskov A, Kolvraa S, Andresen BS, Christensen E, Bross P, Lundemose JB, Gregersen M (1995) Prenatal diagnosis of medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency in a family with a previous fatal case of sudden unexpected death in childhood. *Prenat Diagn* 15(1):82-6.

422 Andresen BS, Olpin S, Kvittingen EA, Augoustides-Savvopoulou P, Lindhout D, Halley DJ, Vianey-Saban C, Wanders RJ, Ijlst L, Schroeder LD, Bolund L, Gregersen N (1999) DNA-based prenatal diagnosis for very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *J Inherit Metab Dis* 22(3):281-5.

423 Olsen RK, Andresen BS, Christensen E, Mandel H, Skovby F, Nielsen JP, Knudsen I, Vianey-Saban C, Simonsen H, Gregersen N. (2005) DNA-based prenatal diagnosis for severe and variant forms of multiple acyl-CoA dehydrogenation deficiency. *Prenat Diagn*. 25(1):60-64.

424 Andresen BS, Olpin S, Poorthuis BJ, Scholte HR, Vianey-Saban C, Wanders R, Ijlst L, Morris A, Pourfarzam M, Bartlett K, Baumgartner ER, deKlerk JB, Schroeder LD, Corydon TJ, Lund H, Winter V, Bross P, Bolund L, Gregersen N (1999) Clear correlation of genotype with disease phenotype in very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Am J Hum Genet* 64(2):479-94.

425 Andresen BS, Dobrowolski SF, O'Reilly L, Muenzer J, McCandless SE, Frazier DM, Udvari S, Bross P, Knudsen I, Banas R, Chace DH, Engel P, Naylor EW, Gregersen N (2001) Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) mutations identified by MS/MS-based prospective screening of newborns differ from those observed in patients with clinical symptoms: identification and characterization of a new, prevalent mutation that results in mild MCAD deficiency. *Am J Hum Genet*. 68(6):1408-18.

426 O'Reilly L, Bross P, Corydon TJ, Olpin SE, Hansen J, Kenney JM, McCandless S, Frazier D, Winter V, Gregersen N, Engel PE, Andresen BS (2004) The Y42H mutation in medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD), which is prevalent in babies identified by MS/MS based newborn screening, is temperature sensitive. *Eur J Biochemistry*. 271(20):4053-63.



### 7.1.3 Tilgængelighed

Der er pt. i Danmark (Skejby Sygehus og Rigshospitalet) etableret metoder, som giver mulighed for identifikation af de sygdomsfremkaldende mutationer i den oprindelige filterpapir-blodprøve i løbet af mindre end en uge ved følgende sygdomme: MCADD, LCHADD, VLCADD, MTP defekt og GA2 (*ETFa*, *ETFB* og *ETFQO* generne, samt. samt mutationsspecifikke assays for *OCTN2* og holokarboxylase syntase. Det vil være muligt at udvikle tilsvarende tilbud for de øvrige screeningskandidater, samt evt. at reducere svartiderne helt ned til 3 dage.

Etablering af hurtig mutationsdiagnostik for de øvrige screeningskandidater vil ligeledes kunne give en bedre sikkerhed og en hurtigere diagnose. Da alle screeningskandidatgenerne er kendte og der kan anvendes det samme mutationsdetektionsudstyr (fælles platform) vil omkostningerne ved også at udføre mutationsdetektion ved disse sygdomme være begrænsede, når metoderne er etablerede.

Ydermere skal det pointeres, at den rivende udvikling af metoder til mutationsdetektion på ingen måde er stagneret og at man derfor også i de kommende år må forventes, at der udvikles bedre, billigere og hurtigere metoder.

## Bilag 2. Eksempler på medfødte stofskiftesygdomme (IEM), hvor screening har været foreslået eller gennemført.

Aminosyre defekter	Phenylketonuri (PKU), benign hyperphenylalaninæmi (H-PHE), biopterin cofaktor syntese defekt (BIOPT BS), biopterin cofaktor regenerations defekt (BIOPT REG), homocystinuri (HCY), hypermethioninæmi (MET), Ahornsirupuri, (MSUD), Tyrosinæmi (TYR I, TYR II, TYR III), carbamylfosfat syntetase mangel (CPS), ornithin transcarbamylase mangel (OTC), Citrullinæmi (CIT, CIT II), argininravsyre acidæmi (ASL), argininæmi (ARG)
Kulhydrat defekter	Klassisk galaktosæmi (GALT), galaktokinase mangel (GALK), galaktose epimerase mangel (GALE), medfødt glycosylerings-defekt type Ib (CDG Ib)
Fedtsyreoxidations defekter	Karnitin transporter defekt (CTD), karnitin palmitoyltransferase Ia mangel (CPT IA), karnitin palmitoyltransferase Ib mangel (CPT IB), karnitin/acylkarnitin translokase mangel (CACT), karnitin palmitoyltransferase II mangel, meget langkædet acyl-CoA dehydrogenase mangel (VLCADD), langkædet 3-OH acyl-coA dehydrogenase mangel (LCHADD), trefunktionel proteinmangel (TFP), dienoyl-CoA reductase mangel (DERED), glutarsyreæmi type II (GA2), mellemkædet acyl-coA dehydrogenase mangel (MCADD), mellem-kortkædet 3-OH acyl-CoA mangel (M/SCHADD), mellemkæde ketoacyl-coA dehydrogenase mangel (MCKAT), kortkædet acyl-coA dehydrogenase mangel (SCADD).
Lysosomale defekter	Fabry sygdom (FABRY), Krabbe sygdom (KRABBE), Pompe sygdom (POMPE), Hurler-Scheie sygdomme (MPS)
Organisk syre defekter	Propionsyreæmi (PROP eller PA), multipel carboxylase mangel (MCD), methylmalonsyreæmi (MUT, Cbl A,B, Cbl C,D), isobutyryl-coA dehydrogenase mangel (IBG), 2-methylbutyryl-coA dehydrogenase mangel (2MBG), 2-methyl 3-hydroxy smørsyreuri (2M3HBA), β-ketothiolase mangel (BKT), isovaleriansyreæmi (IVA), 3-methylcrotonyl-coA carboxylase mangel (3MCC), 3-methylglutaconsyreuri (3MGA), 3-hydroxy 3-methyl glutarsyreuri (HMG), glutarsyreæmi type I (GA1), malonsyreuri (MAL)
Diverse IEM	Biotinidase mangel (BIOT), X-bundet adrenoleukodystrofi (ALD), Smith-Lemli-Opitz syndrom (SLO), guanitidineddikesyre metyltransferase mangel (GAMT), creatin transportør defekt (CR TRANS)

**Bilag 3. Eksempler på andre tilstande, hvor screening har været foreslået eller gennemført.**

Endokrine sygdomme	Medfødt adrenogenitalt syndrom (CAH), medfødt hypothyroidisme (CH), insulinafhængig diabetes mellitus (IDDM)
Hæmoglobin-sygdomme mv.	Seglcelleanæmi (HbSS), Hb S/C sygdom (Hb S/C), beta-thalassæmi (HbS/beta Thal), andre variant Hb-pathier (Var Hb), glukose-6-phosphat dehydrogenasemangel (G6PD)
Infektions-sygdomme	Medfødt HIV infektion (HIV), medfødt toxoplasmose (TOXO), medfødt cytomegalovirusinfektion (CMV)
Diverse monogene sygdomme	alfa-1-antitrypsinmangel (alfa-1AT), adenosin deaminasemangel (ADA), biliær atresi (BIL), cystisk fibrose (CF), Duchenne og Becker muskeldystrofi (DMD), familiær hyperkolesterolæmi (heterozygot) (FHC), Fragil X (FX eller FRAXA), medfødt høretab (HEAR), Kernicterus (HPRBIL), neuroblastom (NB), svær kombineret immunmangel (SCID), Turner syndrom (TURNER), Wilson sygdom (WD)

## Bilag 4: Illustrative sygehistorier MCADD

### Sygehistorie nr. 1: MCAD

Lille pige, som intet unormalt har frembudt siden fødslen. Kort efter sin 1-års fødselsdag bliver hun sløj med opkastning og diarré, spiser intet og drikker kun lidt i løbet af dagen. Næste morgen fundet bevidstløs i sin seng. Indlægges på det lokale sygehus, hvorfra hun visiteres til større sygehus med intensivafsnit. Man finder meget lavt blodsukker, samt ketonstoffer i urinen. I efterforløbet udvikler hun tegn på svær hjerneskade med blivende mentalt og motorisk deficit samt en behandlingskrævende epilepsi. Resultat af GC/MS undersøgelse af en urinprøve taget to dage efter indlæggelsen giver mistanke om medfødt defekt i fedtstofskiftet. Ved DNA-analyse på blodprøve påvises to karakteristiske mutationer i *ACADM*-genet på kromosom nr. 1. Diagnose: MCADD.

Fem år senere fødes en lillebror til pigen. Straks efter fødslen påviser man ligeledes MCAD hos dette barn (samme mutationer). Behandles efter sædvanlige retningslinjer og har indtil nu (seks år senere) intet frembudt. Neonatal screening kunne have forhindret de blivende svære neurologiske skader på storesøster.

### Sygehistorie nr. 2: LCHADD

Barn født i gestationsuge 33. De første uger mange opkastninger, herefter udskrevet i trivsel. 4 måneder gammel får han lungebetændelse, taber spiselysten, bliver irritabel og grædende. Derpå sløv med glasagtigt blik. Forinden haft tendens til morgensløvhed, specielt efter han begyndte at sove igennem. Ved indlæggelsen findes barnet slapt og let cyanotisk. Der påvises hjerteforstørrelse med væske i hjertesækken og tegn på hjertemusksygdom samt leverforstørrelse. Ved metabolisk udredning stilles diagnosen LCHADD. Behandles med regelmæssig kulhydratrig, MCT-beriget diæt døgnet rundt. Suppleres med DHA og holdes på 5-8% langkædede fedtsyrer. Der kommer hurtig bedring af hjertesygdommen. Den ikke helt nemme diæt overholdes fint, og drengen udvikler sig i efterforløbet normalt. Under almindelige interkurrente sygdomme ses tendens til genopblussen af nogle af symptomerne på leverpåvirkning, men disse kan behandles effektivt under indlæggelse eller i hjemmet. Har tidvis muskelsmerter kombineret med forhøjelse af creatinkinase og har udviklet mild retinitis (sygdom i øjets retina) – begge velkendte fund ved LCHADD. Ti år gammel er han en normal, alderssvarende udviklet dreng. Neonatal screening kunne have forhindret den livstruende stofskiftekrise.

### Sygehistorie nr. 3: MMA

En pige, som er normal ved fødslen. Udvikler sig fint indtil fire-måneders alderen, hvor hun i forbindelse med en forkølelse mister spiselysten. Der tilstøder opkastninger, og hun bliver hurtigt slap og medtaget. Ved indlæggelsen kritisk syg med udtalt metabolisk acidose, er ketotisk, encefalopatisk og respiratorkrævende. Hun behandles omgående med glukose 10% i.v., som hun retter sig på. De opfølgende undersøgelser viser, at hun har en delvis B12-afhængig MMA (methylmalonsyreæmi).

Da pigen er tre år gammel, får hun en lillebror, som straks undersøges og viser sig at have samme sygdom. Dette barn behandles fra diagnosetidspunktet med proteinrestriktion og vitamin B12, og har endnu fem år senere intet frembudt. Neonatal screening kunne have forhindret storesøsters livstruende stofskiftekrise.

#### Sygehistorie nr. 4: CTD

Barn født til terminen, normal udvikling til fire-måneders alder, dog med tendens til sløvhed om morgenen. Der kommer en morgen opkastninger med tiltagende sløvhed. Under indlæggelse findes tegn på let retarderet udvikling, han er slap med lavt blodsukker og leverforstørrelse. Der findes meget lavt karnitinniveau i blodet, og videre undersøgelser påviser CTD (karnitin transporter defekt). Der iværksættes karnitinbehandling, og siden er der ikke set hypoglykæmiepisoder, ligesom han udvikler sig normalt intellektuelt. Periodevis ses dog muskelsvaghed og besvær med at matche jævnaldrende motorisk.

En storesøster til denne dreng døde fire år gammel, efter en tilsyneladende banal luftvejsinfektion hvor der udvikledes svære neurologiske sequelae. Retrospektiv undersøgelse stillet på hendes filterpapirblodprøve viser, at hun ligesom broderen havde CTD. Neonatal screening kunne have forhindret storesøsters død.

## Bilag 5. Hyppigt anvendte forkortelser for sygdomsnavne.

3-MCC: 3-methyl crotonyl-coA karboxylasemangel

ARG: argininæmi

ASL: argininoravsyreuri

BIOPT: biopterin cofaktor defekt

BIOT: biotinidasemangel

CAH: medfødt adrenogenitalt syndrom

CH: medfødt hypothyreose

CIT: citrullinæmi

CTD: karnitin transporter defekt

GA1: glutaracidæmi type 1

GA2: glutaracidæmi type 2

GALE: galaktose epimerasemangel

GALK: galaktokinasemangel

GALT: galaktosæmi ("klassisk" galaktosæmi)

HCY: homocystinuri

HMG: 3-hydroxy-3-methyl glutaracidæmi

IVA: isovalerianesyreæmi

LCHADD/TFP: langkædet 3-OH acyl-CoA dehydrogenase/trifunctional protein mangel

M/SCHADD: mellem-kortkædet 3-OH acyl-CoA mangel

MCADD: mellemkædet acyl-CoA dehydrogenase mangel

MCD: multipel karboxylase defekt

MCKAT: mellemkædet ketoacyl-CoA dehydrogenase mangel

MMA: methylmalonsyreæmi

MSUD: ahornsirupuri

PA: propionsyreæmi

PKU: fenyلكetonuri

SCADD: kortkædet acyl-CoA dehydrogenase mangel

TYR: tyrosinæmi

VLCADD: meget langkædet acyl-CoA dehydrogenasemangel

[www.sst.dk](http://www.sst.dk)

Sundhedsstyrelsen  
Islands Brygge 67  
2300 København S  
Tlf. 72 22 74 00  
[www.sst.dk](http://www.sst.dk)