



ASSEGNO DI RICERCA

“Screening neonatale allargato per le malattie metaboliche ereditarie. Valutazione dei casi diagnosticati. Ruolo della tipizzazione genetica nella conferma diagnostica e nella correlazione genotipo-fenotipo”

Dott.ssa Giulia Rodella

Relazione attività di ricerca dal 01/05/2019 al 30/04/2020

Le Malattie Metaboliche Ereditarie (MME)

Le Malattie Metaboliche Ereditarie (MME) comprendono un gruppo fenotipicamente e geneticamente eterogeneo di disturbi causati da un enzima difettoso, cofattore o trasportatore in una via metabolica, che porta a malfunzionamento metabolico e / o accumulo di metaboliti intermedi tossici. Questo gruppo di disturbi comprende disordini degli aminoacidici, difetti del ciclo dell'urea, acidemie organiche, difetti dell'ossidazione degli acidi grassi, disordini mitocondriali, disordini del metabolismo dei carboidrati, disordini perossisomali, disturbi del metabolismo delle purine e della pirimidine, disordini neurotrasmettitori, disturbi del trasporto e dei minerali, mucopolisaccaridosi, mucolipidosi, colesterolo e disturbi del metabolismo dei lipidi neurali, disturbi della memoria lipidica, disturbi lisosomiali e altri difetti vari. Le MME possono presentarsi a qualsiasi età, dallo stadio fetale all'età avanzata. Può influenzare qualsiasi tipo di cellula, o organo, o può verificarsi in combinazioni. Le presentazioni cliniche sono proteiforme e spesso non specifiche. Le MME sono singolarmente rare, ma sono comuni come gruppo. Molte di queste sono suscettibili di un intervento dietetico e rispondono all'integrazione di metaboliti carenti, alla prevenzione dello stress metabolico e alla rimozione di metaboliti tossici. Inoltre, le MME non trattate possono essere altamente dannose, con conseguenti gravi disabilità e decessi.

Lo Screening Neonatale Esteso (SNE) delle MME mediante spettrometria di massa tandem

Nell'ultimo decennio, grazie all'avvento della spettrometria di massa tandem, lo Screening Neonatale Esteso (SNE) è diventato una strategia obbligatoria di salute pubblica in molti paesi. La tecnologia consente la rilevazione simultanea ed economica di oltre 40 diversi disordini metabolici in un singolo campione di sangue su cartoncino lasciato essicare “dried blood spot” (DBS) con costi contenuti, con una precisione analitica elevata. Gli effetti negativi dei risultati falsamente positivi sono da non trascurare ma possono essere contenuti grazie all'aumento e al miglioramento della precisione del risultato, un buon grado di comunicazione ed un buon supporto psicologico.

La Next Generation Sequencing (NGS) e lo SNE

L'avvento delle tecnologie molecolari (NGS) ha reso l'approccio genomico tecnicamente fattibile. La possibilità di eseguire programmi di SNE usando un approccio genomico è stato oggetto di discussione dal 2006. Alcuni autori hanno ipotizzato che il sequenziamento dell'intero genoma poteva essere utilizzato come servizio di routine nei programmi di SNE. È probabile che il costo di



condurre SNE usando un approccio genomico diventerà più ragionevole, e questo metodo potrebbe coprire molti più disturbi che attualmente non possono essere identificati con le tecnologie odierne. Insieme alle informazioni farmacogenetiche, ciò rappresenterebbe una nuova fase nell'era della medicina personalizzata. In teoria, potrebbe anche minimizzare i falsi negativi causati dalla compensazione fisiologica, e quando non richiede un particolare tempo di campionamento, i risultati, e quindi il trattamento, possono essere dati in precedenza. Tuttavia, numerosi problemi etici e tecnici devono ancora essere risolti, molti dei quali hanno generato un dibattito. Le principali questioni riguardano la decisione delle condizioni da segnalare, le relative soglie di segnalazione, i carichi psicosociali causati dalle condizioni di segnalazione con implicazioni cliniche incerte e la conservazione, la protezione e l'utilizzo della grande quantità di informazioni genetiche generate. Altre preoccupazioni riguardano la potenziale violazione dell'autonomia dell'individuo testato se vengono scoperti anche alcuni disordini a insorgenza tardiva. Tecnicamente, ci sono anche difficoltà inerenti all'interpretazione di varianti non classificate, la necessità di analisi e interpretazione veloci, l'importanza di prestazioni analitiche accettabili e la quantità limitata di DNA disponibile dai neonati.

Esperienza del Centro Regionale per lo Screening, la Diagnosi e la Terapia delle Malattie Metaboliche Congenite ed Endocrinologiche.

Secondo la legge del 19 agosto 2016 n. 169 e DGR 1308/13, lo screening metabolico allargato nel Centro Regionale per lo Screening, la Diagnosi e la Terapia delle Malattie Metaboliche Congenite ed Endocrinologiche indaga un pannello di 45 malattie metaboliche ereditarie, in particolare:

Malattie Metaboliche Ereditarie oggetto di Screening Neonatale Allargato

1. Malattie Metabolismo Aminoacidi

- Fenilchetonuria/Iperfenilalanemia (PKU/H-PHE)
- Malattia delle Urine a Sciroppo d'Acero (MSUD)
- Tirosinemia tipo 1 e II (TYR 1 e 2)
- Citrullinemia (CIT I e II)
- Argininemia (ARG)
- Acidemia Argininsuccinica (ASA)
- Omocistinuria (CBS)
- Omocistinuria (MTHFR severo)

2. Malattie del Metabolismo degli Acidi Organici

- Deficit beta-chetotilasi (BKT)
- Acidemia 3-idrossi-3 metil glutarica (HMG)



- Deficit di 2-Metilbutiril-CoA deidrogenasi (2MBG)
- Aciduria Malonica (MAL)
- Acidemia Glutarica tipo I (GA 1)
- Acidemia Isovalerica (IVA)
- Acidemia Propionica (PA)
- Acidemia Metilmalaonica (MMA)
- Deficit di Cobalamina (A,B,C,D)
- Deficit di 3-idrossi-3 Metilglutaril CoA liasi (HMG)
- Deficit di 3 metil Crotonil CoA carbossilasi (3MCC)

3. Malattie del Metabolismo degli acidi grassi

- Deficit Trasportatore Carnitina (CUD)
- Deficit Carnitina Palmitoil Transferasi I (CPTI)
- Deficit Carnitina Palmitoil Transferasi II (CPT II)
- Deficit Carnitina-Acilocarnitina Traslocasi (CACT)
- Deficit dell'acil CoA deidrogenasi a Catena Media (MCAD)
- Deficit dell'acil CoA a Catena Lunga (VLCAD)
- Deficit dell'idrossi acil CoA a Catena Lunga (LCHAD)
- Deficit Multiplo di Acil CoA Deidrogenasi (GA II)
- Deficit di 3 Idrossi-Acil-CoA deidrogenasi a catena media/corta (M/SHAD)
- Deficit di Proteina Trifunzionale Mitocondriale

4. Galattosemia

5. Difetto di Biotinidasi

Malattie metaboliche ereditarie che potrebbero essere identificate perché in diagnosi differenziale con le patologie indicate nel pannello principale, ma che non sono obiettivo primario dello screening:



- ✓ Tirosinemia tipo III Il marcatore, la tirosina alta, è lo stesso della tirosinemia tipo I e II
- ✓ Deficit di glicina N Metiltransferasi (GNMT) Il marcatore, la metionina, è lo stesso della omocistinuria
- ✓ Deficit di Metionina Adenosil transferasi (MAT) Il marcatore, la metionina, è lo stesso della omocistinuria
- ✓ Deficit di S Adenosilomocisteina idrolasi (SAHH) il marcatore, la metionina, è lo stesso della omocistinuria
- ✓ Deficit di 3 Metil crotonil Co A Carbossilasi (3-MCC) rientra nel nostro pannello principale, marcatore C5OH
- ✓ Deficit di 2 Metil 3 idrossibutiril CoA deidrogenasi (2M3HBA) il marcatore C5OH è lo stesso del deficit multiplo di carbossilasi (3MCC)
- ✓ Deficit di Isobutiril CoA Deidrogenasi (IBG) il marcatore C4 è lo stesso della GAI
- ✓ Deficit di Acil CoA a catena corta (SCAD) il marcatore C4 è lo stesso della GAI

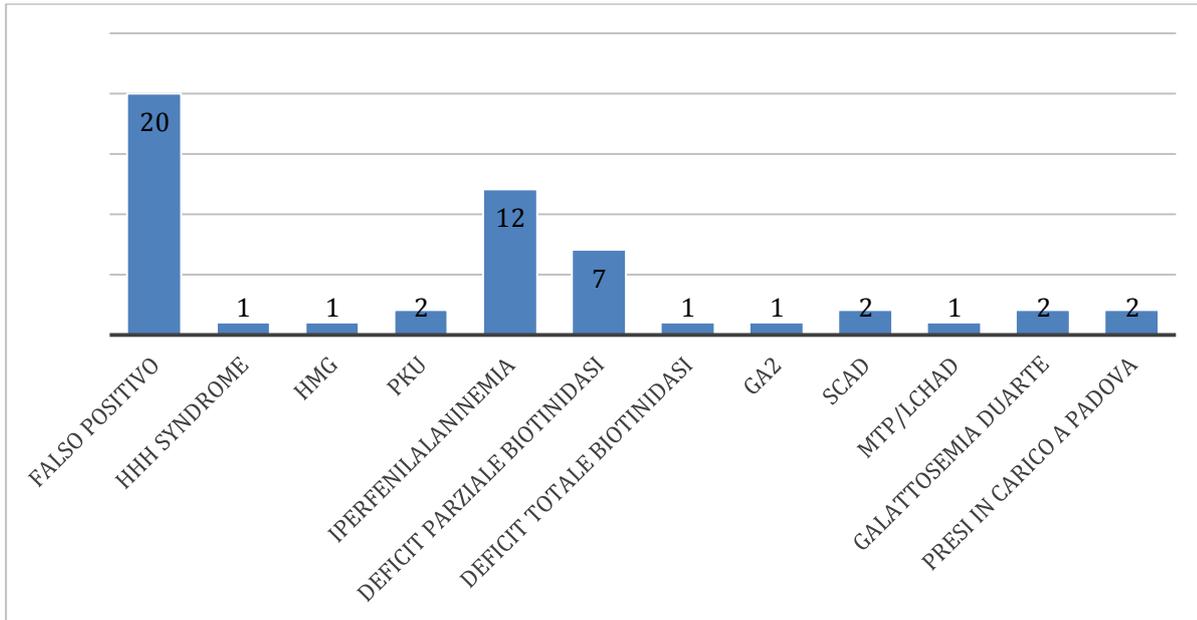
Lo screening neonatale per malattie metaboliche ereditarie nella regione Veneto è affidato a due laboratori: il laboratorio dell'UOC di Malattie Metaboliche Ereditarie di Padova per i nati nelle province di Venezia, Belluno, Treviso, Padova e la Provincia autonoma di Trento e il Centro di Riferimento Regionale per gli screening neonatali, la diagnosi e cura delle malattie metaboliche ed endocrinologiche congenite di Verona per i nati nelle province di Rovigo, Vicenza e Verona e la Provincia autonoma di Bolzano.

Di seguito viene discussa l'analisi dei dati raccolti riguardanti i neonati sottoposti a screening neonatale per Malattie Metaboliche Ereditarie dal 01.01.2019 al 31.03.2020 e presi in carico presso il Centro di Verona per verificare le alterazioni riscontrate.



Risultati screening neonatale presi in carico dal centro MME di Verona dal 01.01.2019 al 31.03.2020

Risultati delle conferme screening eseguite:



Dal 01 gennaio 2019 al 31 marzo 2020 sono stati presi in carico per effettuare accertamenti diagnostici in seguito a DBS dello screening neonatale alterato dal centro di Verona 50 bambini mentre 2 sono stati presi in carico dal centro di Padova.

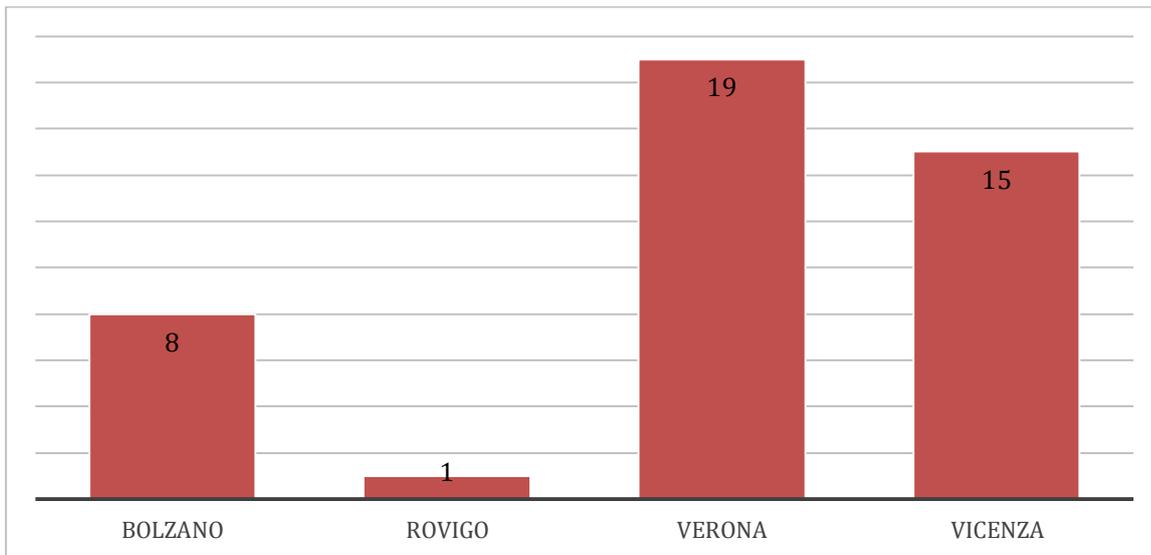
In 20 di questi neonati il sospetto dello screening non è stato confermato risultando falsi positivi. Tra le malattie metaboliche ereditarie identificate mediante lo screening neonatale le più frequenti sono l'iperfenilalaninemia e il deficit parziale di biotinidasi.

Non sono stati presi in considerazione i pazienti affetti da deficit di carnitina del prematuro e deficit di B12 materno perché non sono patologie metaboliche ereditarie e all'interno del percorso di conferma diagnostica non è stato necessario eseguire l'analisi molecolare.

Il sospetto diagnostico di tali difetti è stato confermato mediante riverifica del dosaggio della carnitina libera dopo supplementazione con 100 mg/kg/die di carnitina nel caso del deficit di carnitina del prematuro e dosaggio della vitamina B12, omocisteina plasmatica e acido metilmalonico su DBS al richiamo e dopo 15 giorni dalla somministrazione intramuscolo di 1 mg di Neocytamen nel caso dei difetti di B12 materno.

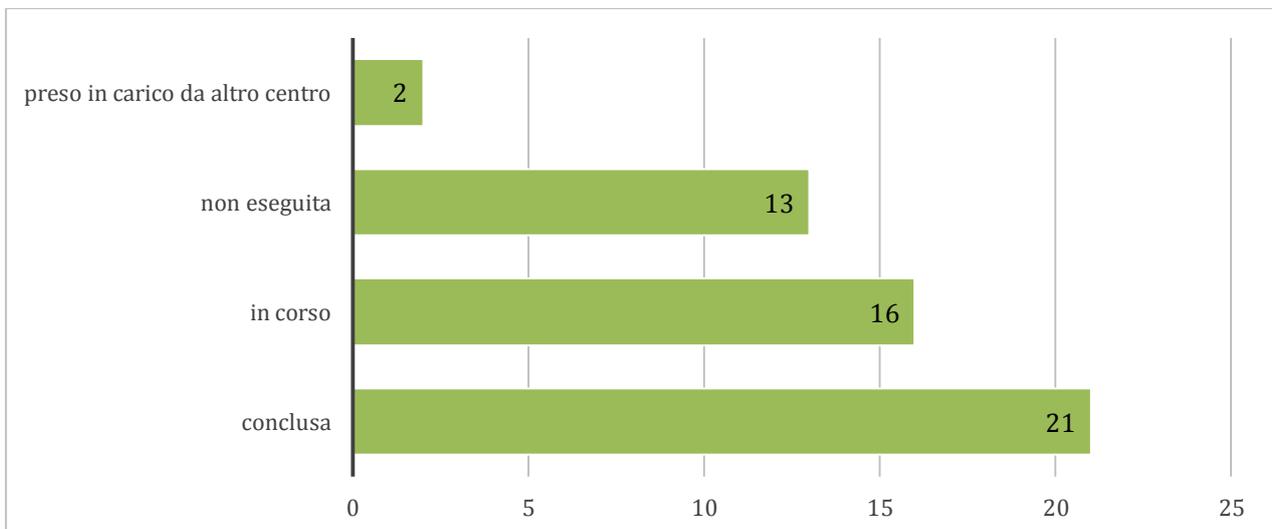


Neonati con screening neonatale alterato richiamati per conferme diagnostiche divisi per provincia:



Le conferme biochimiche sono state affiancate dal test genetico in 37 neonati. Ad oggi l'analisi è stata conclusa per 21 casi permettendo di identificare 14 neonati affetti da malattia metabolica ereditaria, 4 portatori sani e 3 falsi positivi.

Analisi molecolari eseguite nei pazienti presi in carico per screening neonatale alterato:





Mutazioni e patologie dei neonati con screening confermato e analisi molecolare conclusa:

ID	Patologia	gene	mutazioni	letteratura
PZ1	PKU	PAH	c.116_118delTCT p.Phe39del in omozigosi	R. Trunzo et al. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry 2015
PZ2	Iperfenilalaninemia	PAH	c.842C>T p.Pro281Leu	Sterl E et al. Journal of inherited metabolic disease 2013
			c.734T>C p.Val245Ala	Jeannesson-Thivisol et al. Orphanet Journal of Rare Diseases 2015
PZ3	Galattosemia Duarte	GALT	p.Leu74Valfs c.220_221delCT	Kozak et al, Hum Mutat 1999
			p.Asn314Asp c.940A>G	Suzuki et al. Hum Genet, 2001
PZ4	Iperfenilalaninemia	PAH	c.1208C>T p.Ala403Val in omozigosi	Polak E.et al., Gene 2013
PZ5	Galattosemia Duarte	GALT	c.563A>G p.Gln188Arg	Viggiano E. et al. Gene 2015
			p.Asn314Asp c.940A>G	Suzuki et al. Hum Genet, 2001
PZ6	PKU	PAH	c.473G>A p.Arg158Gln	Jeannesson-Thivisol E. et al, Orphanet journal of rare diseases 2015
			c.782G>A p.Arg261Gln	Danecka MK et al, Journal of medical genetics 2015
PZ7	Iperfenilalaninemia	PAH	c.734T>C p.Val245Ala	Jeannesson-Thivisol et al. Orphanet Journal of Rare Diseases 2015
			c.1208C>T p.Ala403Val	PolakE.et al.,Gene 2013
PZ8	Iperfenilalaninemia	PAH	c.734T>C p.Val245Ala	Jeannesson-Thivisol et al. Orphanet Journal of Rare Diseases 2015
			c.1066-11G>A IVS10-11 G>A	Jeannesson-Thivisol et al. Orphanet Journal of Rare Diseases 2015
PZ9	MADD/GA2	ETFDH	c.1448C>T p.Pro483Leu in omozigosi	Cornelius N et al, Human molecular genetics, 2012
PZ10	Iperfenilalaninemia	PAH	c.299A>G p.His100Arg	Mallolas J et al, Hum Genet. 1999
			c.782G>A p.Arg261Gln	Danecka MK et al, Journal of medical genetics 2015
			c.898G>T p.Ala300Ser	Shen N et al, Molecular genetics and metabolism 2016
PZ11	HMG	HMGCL	c.206_207del CT p.Ser69Cysfs*11 in omozigosi	Mitchell GA et al, The Journal of biological chemistry, 1993
PZ12	Deficit Parziale Biotinidasi	BTD	c.98_104delinsTCC p.Cis33Phefs36	Wolf B et al Biotinidase Deficiency, 2016
			c.1330G>C p.Asp444His	Swango KL et al, Hum Genet., 1998
PZ13	PKU mild	PAH	c.275C>T p.Thr92Ile	Per Guldberg et al Human Molecular Genetics, 1993
			c.1315+1G>A	Bayat A et al, Clin Genet. 2016
PZ14	MTP/LCHAD	HADHA	c.1712T>C p.Leu571Pro	Djouadi F et al, Journal of inherited metabolic disease, 2016
		HADHB	c.269G>A p.Arg90Gln	non riportata in letteratura



Tra i 14 pazienti affetti da malattia metabolica ereditaria l'analisi molecolare ha identificato 11 mutazioni a carico del gene PAH, 3 a carico del gene GALT, 2 a carico del gene BTD, 1 a carico del gene ETFDH, una a carico del gene HMGCL e 1 rispettivamente a carico del gene HADHA e HADHB. Tutte le mutazioni sono risultate già descritte nella letteratura scientifica ad eccezione di c.269G>A p.Arg90Gln a carico del gene HADHB.

Questo dato ha permesso di dare alcune informazioni importanti riguardanti la correlazione genotipo-fenotipo e la presa in carico.

- Nei 3 pazienti con mutazioni a carico del gene PAH che hanno necessitato di intraprendere dieta a ridotto contenuto di fenilalanina perché i valori su plasma erano superiori a 360 uM, l'analisi genetica ha mostrato che almeno una delle 2 mutazioni identificate è responsiva alla tetraidrobiopterina (BH4) cofattore dell'enzima fenilalanina idrossilasi e tale dato è stato confermato in almeno uno dei pazienti mediante test al kuvan negli altri 2 è ancora in corso.
- I 2 pazienti con mutazioni a carico del gene GALT non hanno necessitato di intraprendere una dieta a ridotto contenuto di galattosio perché portatori della variante Duarte in eterozigosi composta, che assicura una attività enzimatica sufficiente a mantenere buoni valori di galattosio; ma è stato deciso di seguirli con controllo annuale.
- La presenza della mutazione c.1330G>C p.Asp444His nel paziente con mutazioni a carico del gene BTD ha confermato il dato biochimico del dosaggio dell'attività enzimatica che mostrava una forma parziale di deficit di biotinidasi.
- La mutazione c.1448C>T p.Pro483Leu in omozigosi a carico del gene ETFDH riscontrata nel paziente affetto da Glutarico aciduria tipo 2 è responsiva alla riboflavina e al coenzima Q10 e questo ha permesso di migliorare la terapia permettendo anche di essere meno restrittivi con la dieta e durante lo svezzamento.
- La mutazione c.206_207del CT p.Ser69Cysfs*11 in omozigosi a carico del gene HMGCL ha permesso di confermare il dato biochimico riscontrato con il dosaggio degli acidi organici urinari e spiegare la presenza già nelle prime 48ore di vita di sintomatologia clinica caratterizzata da ipoglicemia ipochetotica, iperammoniemia e acidosi metabolica poiché l'enzima deficitario è coinvolto sia nella via di degradazione della leucina sia nella produzione di chetoni.
- Il riscontro delle mutazioni nel paziente affetto da MTP/LCHAD ha permesso di dare una diagnosi certa della malattia, di attuare interventi utili e non invasivi, ma di tipo palliativo data la prognosi poco favorevole che alla fine ha portato a decesso il piccolo paziente, e la possibilità di eseguire diagnosi prenatale o pre-impianto mediante procreazione medicalmente assistita qualora i genitori desiderino un'altra gravidanza.

Come dimostrato dalla letteratura più recente e confermato dai dati sopra la genetica molecolare ed il ruolo del genetista clinico stanno assumendo un ruolo sempre più importante nel campo della diagnostica di queste e di altre patologie rare.

In un prossimo futuro è probabile che lo screening genetico sostituisca lo screening biochimico attuale o per lo meno venga implementato con esso.



Il lavoro di raccolta dati svolto grazie a questo assegno di ricerca ha permesso la partecipazione con Poster e/o presentazioni orali a congressi nazionali e internazionali:

- Biotinidasi deficiency. From neonatal screening to clinical. Experience of a Regional Center (SIMMESN Roma 2017)
- Galactosemia with a happy ending: importance of neonatal screening (Unforgettable cases in outpatient pediatrics services Vicenza 2018)
- Our experience in the molecular characterization of patients with hyperphenylalaninemia with focusing onto the characterisation of a new intronic variant as a disease causing mutation (SSIEM 2018)
- Mild variant of MSUD detected by newborn screening or benign form? (SSIEM Atene 2018)
- A case of Hypervalinemia and hyperleucine-isoleucinemia due to branched chain aminoacids aminotransferase gene mutation(BCAT2) highlights the challenges in newborn screening practices and gives important clinical insights in the pathway of branched chain aminoacids metabolism (SSIEM Atene 2018)
- Synergistic heterozygosity in fatty acids oxidation disorders detected with expanded newborn screening (SIGU Catania 2018)
- Long-term clinical characterization of a case of CDG type IIB (SIMMESN Catania 2018)
- Role of narrative medicine in the therapeutic relationship: the experience of a center of Hereditary Metabolic Diseases (SIMMESN Catania 2018)
- Role of nutrition in patients with early-onset mitochondrial diseases (SIMMESN Catania 2018)
- Glycomal profile of the serum proteins in a patient with the enzyme Glucosidase I deficiency (MOGS.CDG) (SIMMESN Catania 2018)
- Impact of expanded newborn screening on diagnosis and treatment of mitochondrial fatty acid oxidation disorders. A Centre experience. (SSIEM Rotterdam 2019)
- Treatment of Congenital Cobalamin Disorders with in situ subcutaneous device: reducing pain and improving compliance (SSIEM Rotterdam 2019)
- Lo screening neonatale allargato e il deficit di biotinidasi. Luci e ombre. Esperienza di un Centro Regionale. (SIMMESN 2019)
- Iperinsulinismo congenito da eterozigosi sinergica dei geni HADH e HNF1A in due fratelli: il ruolo della eterozigosi sinergica in forme ultra-rare di disturbi della regolazione insulinica. (SIMMESN 2019)
- Glutarico aciduria tipo 2 associata a Diabete mellito tipo I: connessioni fisiopatologiche e difficoltà terapeutiche (SIMMESN 2019)
- Il ruolo del ragionamento clinico nell'era dello screening neonatale allargato: l'importanza del metabolic network (SIMMESN 2019)
- Congenital hyperinsulinism caused by heterogenous genetic mutations in two brothers (SIGU 2019)



Alcuni dei dati raccolti grazie all'assegno di ricerca hanno permesso la realizzazione di un articolo scientifico dal titolo "Diagnosis, genetic characterization and clinical follow up of mitochondrial fatty acid oxidation disorders in the new era of expanded newborn screening: a single center experience." in corso di sottomissione alla rivista Journal of Inherited Metabolic Disease.

Bibliografia:

- ✓ Barić I. et al. *Consensus recommendations for the diagnosis, treatment and follow-up of inherited methylation disorders*. J. Inherit Metab Dis (2017) 40:5–20
- ✓ Bayat A et al, Mutational and phenotypical spectrum of phenylalanine hydroxylase deficiency in Denmark. Clin Genet. 2016 Sep;90(3):247-51. doi: 10.1111/cge.12692. Epub 2015 Dec 12.
- ✓ Cornelius N et al, Molecular mechanisms of riboflavin responsiveness in patients with ETF-QO variations and multiple acyl-CoA dehydrogenation deficiency. Hum Mol Genet. 2012 Aug 1;21(15):3435-48. doi: 10.1093/hmg/dds175. Epub 2012 May 18.
- ✓ Danecka MK et al Mapping the functional landscape of frequent phenylalanine hydroxylase (PAH) genotypes promotes personalised medicine in phenylketonuria. J Med Genet. 2015 Mar;52(3):175-85. doi: 10.1136/jmedgenet-2014-102621. Epub 2015 Jan 16.
- ✓ De Biase I et al Diagnosis, Treatment, and Clinical Outcome of Patients with Mitochondrial Trifunctional Protein/Long-Chain 3-Hydroxy Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency. JIMD Rep. 2017;31:63-71. doi: 10.1007/8904_2016_558. Epub 2016 Apr 28.
- ✓ Djouadi F et al Mitochondrial trifunctional protein deficiency in human cultured fibroblasts: effects of bezafibrate. J Inherit Metab Dis. 2016 Jan;39(1):47-58. doi: 10.1007/s10545-015-9871-3. Epub 2015 Jun 25
- ✓ Francescatto L. et al. *Newborn screening and the era of medical genomics* Seminars in Perinatology 39 (2015)617 – 622
- ✓ Friedman et al. *Genomic newborn screening: public health policy considerations and recommendations* BMC Medical Genomics (2017) 10:9
- ✓ Howard H C et al *Whole-genome sequencing in newborn screening? A statement on the continued importance of targeted approaches in newborn screening programmes* European Journal of Human Genetics (2015) 23, 1593–1600
- ✓ Kozak et al,
- ✓ Jeannesson-Thivisol et al Genotype-phenotype associations in French patients with phenylketonuria and importance of genotype for full assessment of tetrahydrobiopterin responsiveness. Orphanet J Rare Dis. 2015 Dec 15;10:158. doi: 10.1186/s13023-015-0375-x.
- ✓ Mak CM et al *Inborn errors of metabolism and expanded newborn screening: review and update* Crit Rev Clin Lab Sci, 2013; 50(6): 142–162
- ✓ Smon A. et al. *Next generation sequencing as a follow-up test in an expanded newborn screening programme* Clin Biochem. 2018 Feb; 52:48-55
- ✓ Suzuki M et al. Large-scale molecular screening for galactosemia alleles in a pan-ethnic population. Hum Genet 2001, 109:210-215
- ✓ Swango KL et al Partial biotinidase deficiency is usually due to the D444H mutation in the biotinidase gene. Human Genetics (1998) 102:571-575
- ✓ Trbunsek M et al *Galactosemia: deletion in the 5' upstream region of the GALT gene reduces promoter efficiency*. Hum Genet 2001, 109:210-215



UNIVERSITÀ
di VERONA

Dipartimento
di **SCIENZE CHIRURGICHE
ODONTOSTOMATOLOGICHE
E MATERNO-INFANTILI**

- ✓ Trunzo R et al Phenylalanine hydroxylase deficiency in south Italy: Genotype-phenotype correlations, identification of a novel mutant PAH allele and prediction of BH4 responsiveness. *Clinica Chimica Acta* 450 (2015) 51–55
- ✓ Viggiano E. et al. Clinical and molecular spectra in galactosemic patients from neonatal screening in northeastern Italy: structural and functional characterization of new variations in the galactose-1-phosphate uridylyltransferase (GALT) gene. *Gene*. 2015 Apr 1;559(2):112-8. doi: 10.1016/j.gene.2015.01.013. Epub 2015 Jan 13.
- ✓ Yilmaz O. et al. 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyase deficiency: a case report and literature review. *Nutr Hosp*. 2018 Jan 10;35(1):237-244. doi: 10.20960/nh.1329
- ✓ Yubero D et al *Targeted Next Generation Sequencing in Patients with Inborn Errors of Metabolism* PLOS ONE DOI:10.1371/journal.pone.0156359 May 31, 2016
- ✓ Yuval E. Landau et al *Genomics in Newborn Screening* The Journal of Pediatrics Vol. 164, No. 1 _ January 2014
- ✓ Welling L. et al. *International clinical guideline for the management of classical galactosemia: diagnosis, treatment, and follow-up*. *J Inherit Metab Dis*. 2017 Mar;40(2):171-176. doi: 10.1007/s10545-016-9990-5. Epub 2016 Nov 17.

Verona, 08 aprile 2020
Dott.ssa Giulia Rodella