

ENFERMEDADES INCLUIDAS EN LOS PROGRAMAS DE CRIBADO NEONATAL EN ESPAÑA

M^a Dolores Bóveda, Daisy Emilia Castiñeiras Ramos, Carmen Delgado Pecellin,
José María Egea Mellado, Yolanda González Irazabal, Luis Manuel Jiménez
Jiménez, José Luis Marín Soria, Magdalena Vila Vidal y Hugo Rocha

Comisión de Diagnóstico Perinatal
Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular

INTRODUCCION

En España, los programas de cribado del recién nacido, dependientes de las Comunidades Autónomas (CCAA), incluyen diferentes pruebas de laboratorio realizadas con el fin de estudiar su salud. Todas estas pruebas están destinadas a identificar **errores congénitos o innatos del metabolismo (ECM)** antes de que estos aparezcan por medio de los síntomas clínicos, evitando el retraso mental, retraso en el crecimiento, discapacidades permanentes o incluso la muerte prematura del niño en las primeras semanas de vida.

Estos análisis se hacen a los pocos días de vida, generalmente a partir de unas gotas de sangre obtenidas tras un pinchazo en el talón, y permiten que las enfermedades incluidas en los programas puedan identificarse y ser tratadas lo más rápido posible.

La detección sistemática de errores congénitos del metabolismo en el periodo neonatal se inicia en España, al igual que en otros países de nuestro entorno, a finales de la década de los setenta. Desde entonces y durante varias décadas, la mayoría de los países desarrollados pusieron en marcha sus programas de cribado neonatal centrados fundamentalmente en la detección del hipotiroidismo congénito (HC) y de la fenilcetonuria (PKU, siglas en inglés).

En los últimos años los programas de cribado neonatal están en un proceso continuo de cambio.

Actualmente en España existen importantes diferencias entre los programas de cribado neonatal de las diferentes CCAA ya que algunos programas incluyen solo 2 ó 3 enfermedades y otros más de 20. Por ello es importante que los padres, durante

la preparación para el nacimiento de su hijo, sean bien informados de las enfermedades que incluye el programa de su CCAA.

En esta pequeña guía sobre nuestros programas trataremos de responder a las preguntas que mas frecuentemente se hacen los padres, intentando utilizar un lenguaje comprensivo, y revisaremos las enfermedades o grupos de enfermedades que en la actualidad se detectan en cualquiera de los programas españoles.

El objetivo de los análisis realizados en las muestras de sangre de los recién nacidos es identificar a aquellos que pueden tener alguna probabilidad de padecer una o más de las patologías cribadas en el contexto de una población aparentemente sana, con el mínimo número de casos falsamente positivos (muestras con el primer análisis positivo que después se normalizan).

Las pruebas positivas obtenidas en los programas de cribado neonatal no deben interpretarse, en general, como diagnósticas, por ello en muchas ocasiones los recién nacidos en cuyas muestras se obtenga un resultado positivo requerirán otros procedimientos diagnósticos posteriores y en algunos casos estos serán normales. Los padres deben saber que aunque el cribado neonatal es una gran ayuda para los niños afectados y sus familias, un falso positivo provoca estrés emocional y angustia a la familia. También pueden existir, aunque en muy inferior medida casos falsos negativos (resultado negativo en el análisis y posterior diagnóstico de la enfermedad cuando aparecen los síntomas clínicos).

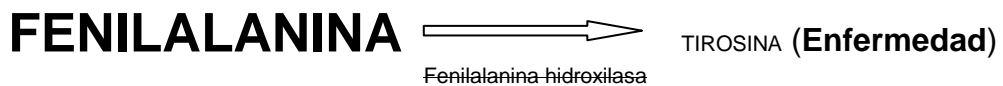
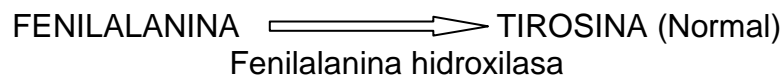
Otras cosas que deben saber los padres

¿Que son los errores congénitos del metabolismo? Los errores congénitos del metabolismo (ECM) son un grupo numeroso de enfermedades que aparecen con baja frecuencia en la población y por eso están dentro de las denominadas enfermedades raras. Son causados por alteraciones o mutaciones en el material genético (DNA) que provoca el funcionamiento incorrecto de células y órganos.

¿Qué es una mutación? Es un cambio que se produce de forma permanente en un gen (capaz de ser heredado), que causará una alteración en la síntesis de la proteína que codifica y que, por tanto, modificará la función que esta proteína realiza.

¿Qué es el metabolismo? El metabolismo es el conjunto de reacciones bioquímicas que realiza nuestro organismo para mantener la vida (nacer, crecer, reproducirse, mantener las estructuras de nuestro cuerpo y relacionarse con el entorno).

¿Qué ocurre cuando existe un ECM? Cuando hay un error en el metabolismo, alguna de estas reacciones no se produce con la eficacia necesaria, como podemos ver en la figura siguiente, los compuestos anteriores a la reacción se acumulan y los posteriores no se sintetizan correctamente.



Enlaces y páginas web para consultar:

- Guía metabólica. Hospital Sant Joan de Deu. Barcelona.
<http://www.quiametabolica.org/>
- Asociación para el estudio de los errores congénitos del metabolismo AECOM. <http://www.ae3com.es>.
- Sociedad Española de Errores Innatos del Metabolismo. SEEIM.
<http://www.eimaep.org/>

HIPOTIROIDISMO CONGÉNITO (HC).

Aspectos generales

¿Por qué hacer el análisis?:

El hipotiroidismo es la enfermedad endocrinológica más frecuente en pediatría y, primera causa de discapacidad psíquica prevenible, ya que las hormonas tiroideas son esenciales para el desarrollo cerebral actuando tanto en el periodo prenatal como postnatal. Este hecho, junto con el bajo porcentaje de niños que presentan sintomatología clínica en el periodo neonatal, obliga a su detección sistemática mediante cribado neonatal para poder instaurar el tratamiento con la mayor premura posible y evitar así la discapacidad psíquica.

¿Cuándo hacer el análisis?

Para el cribado del HC el momento idóneo para la toma de la muestra se sitúa entre las 48 horas y el 5º día de vida ya que en las primeras 24 horas de vida se produce una elevación fisiológica de los niveles de TSH, posiblemente en respuesta a la exposición al frío, que puede dar lugar a un número elevado de falsos positivos. No se recomienda demorar el cribado más allá del 4º día de vida para conseguir un inicio de tratamiento lo más precoz posible pues éste es uno de los factores determinantes del desarrollo intelectual posterior del niño hipotiroideo.

Muchos de los niños prematuros presentan una etapa con concentraciones bajas de FT4, que no se acompañan de una elevación de las concentraciones de TSH, lo que se conoce como hipotiroxinemia de la prematuridad. Estas alteraciones son más frecuentes en los primeros días o semanas de vida, siendo más prevalente y con posibles secuelas más graves en los niños nacidos con menos de 30 semanas de gestación y en niños con bajo peso al nacer.

La hipotiroxinemia transitoria de los niños prematuros se caracteriza por un descenso de las concentraciones de tiroxina a los $\geq 7-10$ días de vida y se encuentra en el 35% de los prematuros. Esta cifra se eleva a un 50% en los niños nacidos con menos de 30 semanas de gestación. En la mayoría de los casos se normaliza espontáneamente a las 6-8 semanas.

La hipotiroxinemia asociada a la prematuridad, y el hipotiroidismo transitorio (que en muchos casos aparece como consecuencia de intervenciones diversas a las que se ha sometido al niño, después de realizada la toma de muestra del cribado inicial),

pueden producir alteraciones en el desarrollo psicomotor. Por ello se recomienda el seguimiento continuado de los niños prematuros.

Después de la utilización de dopamina en niños prematuros o en recién nacidos a término críticos se recomienda repetir el cribado después de 7 a 14 días de la primera toma de muestra.

Debe tomarse también una segunda muestra en los gemelos monocigóticos ya que la mezcla de sangre fetal puede enmascarar los resultados del programa de cribado. Se recomienda una segunda toma de muestra en todos los niños ingresados en la UCI, con especial atención a los niños con enfermedad cardíaca

Por lo tanto, se recomienda una segunda toma de muestra entre la 2ª y la 4ª semana de vida en todos los niños prematuros, con peso al nacer inferior a 2500 gramos, enfermos críticos y gemelos.

¿Qué muestra se requiere?

La muestra para la detección se recoge en tarjetas de papel filtro impregnadas con sangre obtenida tras punción del talón, generalmente de dos a cinco días después del parto.

¿En que consiste?

¿Qué es lo que se analiza?

Existen dos posibles estrategias para el cribado neonatal del HC: una detección primaria de TSH y otra de T4. Cada vez más programas de cribado utilizan un método combinado de determinación primaria de TSH y T4, ésta es considerada la estrategia de cribado ideal por la Academia Americana de Pediatría (AAP).

La estrategia utilizada en España es la determinación primaria de TSH. Para la *European Society for Paediatric Endocrinology* el test de TSH es lo suficientemente sensible para distinguir entre niños normales y niños hipotiroideos. Con esta estrategia la necesidad de repetir la prueba es baja pues la tasa de rellamada es aproximadamente del 0,05%.

La sensibilidad de los métodos de TSH para el HC primario es del 97,5% y la especificidad del 99%. El cribado con TSH tiene ventajas sobre el cribado con T4 en áreas con deficiencia de yodo ya que en estas zonas los niños tienen una mayor

frecuencia de niveles elevados de TSH debido a su mayor susceptibilidad a los efectos de esa deficiencia.

En nuestro país la detección precoz de HC, se lleva a cabo en los centros e cribado existentes mediante la medición de la TSH, utilizando en la mayoría de los laboratorios el método de inmunofluorescencia resuelta en el tiempo (DELFLIA® *Dissociation Enhancement Lanthanide Fluoroimmunoassay*) o el de enzimoimmunoensayo (ELISA®: *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) en alguno de ellos.

El punto de corte, está establecido para la TSH es $\geq 10 \mu\text{UI/ml}$ en sangre.

Algún centro realiza la medición de tiroxina (T4), en la misma muestra, cuando la TSH presenta un valor superior al punto de corte establecido, utilizando técnicas de radioimmunoensayo (RIA) o inmunofluorescencia resuelto en el tiempo (DELFLIA®).

¿Cómo se obtiene la muestra para el análisis?

Los resultados obtenidos en el cribado dependen de la calidad de las muestras de sangre. La necesidad de una nueva extracción de sangre a causa de una muestra incorrecta provoca retrasos innecesarios en la detección, diagnóstico y tratamiento de los recién nacidos afectados por alguna enfermedad.

Cuando la prueba está incluida dentro del programa de cribado neonatal, la muestra de sangre se obtiene por punción del talón.

Para la toma de la muestra se debe disponer de un dispositivo de incisión y corte, de poca profundidad y un solo uso, estos proporcionan un flujo de sangre adecuado con menor dolor para el RN. Si no disponemos de estos podremos utilizar una lanceta estéril con punta de menos de 2.4 mm. Antes de realizar la punción debemos calentar la zona mediante masaje para aumentar el flujo de sangre capilar. La punción debe hacerse en la parte lateral externa del talón, nunca en la línea media. La primera gota de sangre que fluye después de la punción debe ser descartada, retirándola con una gasa estéril, ya que es probable que esté contaminada con fluidos tisulares. Esperar a que se forme una gota de sangre grande y colocar el papel contra la gota de forma que se empape y se rellene completamente el círculo. Impregnar la tarjeta llenando cada círculo impreso por completo y con una sola

aplicación por círculo. La sangre debe ser recogida de una sola vez. No presionar el papel contra el lugar en el que se realizó la punción. La sangre debe ser aplicada sólo en un lado del papel. Se deben examinar ambos lados del papel para comprobar que la sangre penetró de forma uniforme y empapó el mismo. Después de que haya sido recogida la sangre elevar el pie del niño y presionar con un apósito hasta que deje de sangrar. Dejar secar la tarjeta en una superficie horizontal plana no absorbente que esté seca y limpia, durante al menos tres horas a temperatura ambiente (15-22°C) y evitar la luz solar directa. La tarjeta no debe ser manipulada ni colocada en superficies húmedas o contaminadas. Para la obtención de muestras de sangre sobre papel se debe disponer además de guantes y un contenedor de material rígido para la eliminación del material punzante. Sólo se debe utilizar papel que cumpla con las normas del *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) (papel Whatman®903 o similar). Se debe diseñar el formato de formulario y tarjeta de la toma de sangre que mejor se adapte a las necesidades del programa. Antes de realizar la extracción se debe rellenar el formulario en el que debe constar información detallada acerca de la identificación del niño (nombre y apellidos, fecha de nacimiento, dirección y teléfono), datos clínicos del niño (peso al nacimiento, semanas de gestación, medicamentos, transfusión sanguínea) y otros datos (fecha y hora de la extracción de sangre, posibles interferencias debidas a compuestos derivados del yodo) y datos de la madre. En prematuros y niños de bajo peso se debe tener especial cuidado en la profundidad de la incisión, debido a la proximidad del hueso calcáneo a la superficie de la piel. En estas situaciones se pueden considerar otros métodos de recolección de muestra.

No es recomendable el procedimiento, relativamente extendido, de recoger la gota de sangre con un capilar y posteriormente dejar caer la gota sobre el papel secante sin tocarlo, ya que este método aumenta el número de muestras sobreimpregnadas. La recolección de sangre venosa de forma rutinaria para cribado neonatal está desaconsejada. La posibilidad de que la muestra de sangre sea de procedencia venosa debe ser tenida en cuenta por los laboratorios que realizan el análisis ya que los resultados del análisis pueden verse influidos por el origen de la sangre.

La mancha de sangre encima de una mancha anterior o una mancha doble provoca resultados no válidos por lo que la muestra no debe ser utilizada. Tampoco deben

ser analizadas las muestras con cantidades insuficientes de sangre pues pueden dar lugar a resultados falsos negativos.

¿Es necesario algún tipo de preparación previa?

Para obtener una cantidad suficiente de sangre se recomienda comenzar por calentar el lugar de la punción (superficie plantar del talón) unos tres minutos con un paño suave a una temperatura no superior a 42°C o alternativamente con un masaje energético en el talón del recién nacido, para incrementar el flujo de sangre, después hay que limpiar con alcohol de 70° y secar al aire. Los derivados yodados no deben utilizarse como desinfectante.

Acerca de la prueba

¿Cómo se utiliza?

Un paciente con niveles de TSH mayores de 20 mU/L en la prueba de cribado se considera como probable o posible caso positivo de hipotiroidismo primario y debe ser examinado inmediatamente por el endocrinólogo pediátrico. Con carácter urgente se realizarán determinaciones séricas confirmatorias para verificar el diagnóstico. Se puede iniciar el tratamiento con Levo-tiroxina en cuanto se ha extraído la sangre para la prueba de confirmación diagnóstica y antes de que los resultados de ésta estén disponibles.

En los casos en los que las concentraciones de TSH están entre 10-20 mU/L, se debe obtener otra muestra de sangre en papel para un segundo cribado.

Cuando las concentraciones están por debajo de 10 mU/L o del resultante del ajuste diario que ha de ser siempre inferior, se considera ausencia de enfermedad.

Deberían usarse valores de referencia ajustados por edad para todos los análisis. Se sugiere que el punto de corte se establezca como el percentil 97,5 para cada grupo de edad. . Cuando se utilizan puntos de corte ajustados para la edad se produce una reducción del 50% en el número de valores anormales.

¿Cuándo se solicita?

En España la detección precoz de HC se puso en marcha mediante programas de salud pública en el año 1978. En la actualidad está implantado en la totalidad de las Comunidades Autónomas. El porcentaje de cobertura actualmente se encuentra

en un 99,9%., por lo tanto desde los hospitales o desde centros de salud se extraen muestras a los niños nacidos.

Sin embargo, es importante que el pediatra de atención primaria identifique a aquellos recién nacidos que no han sido sometidos a las pruebas de cribado para HC antes de los 10-15 días de vida o incluso de mayor edad que por alguna que otra circunstancia no se le haya realizado como es el caso de niños adoptados procedentes de otros países.

¿Qué significa el resultado?

Las determinaciones realizadas en sangre impregnada en papel no son diagnósticas. Todo resultado anormal en el cribado debe ser confirmado con análisis en suero, en muestras de sangre extraídas por punción venosa. El niño debe ser remitido a una unidad de endocrinología pediátrica con el objetivo de asegurar un estándar apropiado de evaluación clínica, diagnóstico, tratamiento y seguimiento.

El estudio de confirmación diagnóstica consiste en la realización de una anamnesis familiar y personal; búsqueda de síntomas y signos clínicos; determinaciones analíticas; estudio morfológico del tiroides; y valoración de la maduración ósea.

La determinación de los niveles séricos de hormonas tiroideas constituye la parte fundamental de la confirmación diagnóstica. Si los niveles son normales se establece el diagnóstico de **hipertirotropinemia transitoria** y se suspende el tratamiento si se hubiera iniciado. Si el nivel de TSH está elevado y el de FT4 descendido, el diagnóstico de **hipotiroidismo primario** es claro y se continua o inicia el tratamiento con Levo-tiroxina. Si la TSH está elevada y la FT4 es normal el diagnóstico es de **hipertirotropinemia o hipotiroidismo compensado**, en cuyo caso se trata con Levo-tiroxina si la etiología es una ectopia. En todo caso, cuando los valores de TSH se mantienen entre 10-50 $\mu\text{U/ml}$ el paciente requiere su envío a las unidades de endocrinología pediátrica para su estudio y tratamiento, si procede. La determinación de TSH es más sensible que la de T4 para el diagnóstico de hipotiroidismo primario. Si la TSH permanece elevada se confirma el diagnóstico. La T4 puede encontrarse en algunos casos en niveles normales (ectopias o defectos parciales de la síntesis de hormonas tiroideas). En cuanto a la tiroxina, es preferible determinar FT4 (T4 libre) que TT4 (T4 total), ya que en la primera no influye el nivel de proteína transportadora de tiroxina.

Los resultados dudosos de niveles séricos de hormonas tiroideas en niños con hipotiroidismo leve se deberían interpretar usando intervalos de referencia relacionados con la edad para cada ensayo específico.

Las pruebas de imagen están destinadas a establecer la etiología. Es importante definir las causas del HC porque en función de ellas existen diferencias en cuanto a la herencia y al pronóstico. La agenesia, la hipoplasia y la ectopia del tiroides son eventos esporádicos, mientras que los errores innatos del metabolismo de las hormonas tiroideas se heredan, principalmente de forma autosómica recesiva y en estos casos es necesario hacer consejo genético. Aunque las disgenesias tiroideas (ectopia, agenesia, hipoplasia) son habitualmente esporádicas, muy recientemente se ha descubierto que algunos casos tienen una causa genética, por mutaciones de genes que codifican factores de transcripción tiroideos.

La gammagrafía es una prueba útil para diagnosticar la existencia o no de tejido tiroideo. Si se demuestra la presencia de una glándula ectópica, se ha demostrado un tipo permanente de enfermedad tiroidea e HC. La ausencia de captación por la glándula tiroides se asocia a menudo con aplasia o hipoplasia. Una gammagrafía normal o un bocio indican una presencia de una glándula tiroidea funcionante (al menos en lo que respecta a la captación de yodo) y alerta al médico sobre la posibilidad de un defecto hereditario de la síntesis de tiroxina. Algunos niños con gammagrafías normales en el momento del nacimiento que no se incluyen en las categorías anteriores, pueden presentar un hipotiroidismo transitorio.

Se recomienda realizar la gammagrafía con I123 y si no se dispone de él con Tc99. La gammagrafía debe realizarse en el momento de la toma de muestra para confirmación o, todo lo más tarde en la primera semana tras el inicio del tratamiento. Éste nunca debe retrasarse ante la imposibilidad de llevar a cabo la gammagrafía. En caso de que no se pueda realizar antes o en la primera semana de tratamiento, debe posponerse hasta la reevaluación diagnóstica a los 3 años. El diagnóstico de ectopia tiroidea mediante pruebas radiológicas tiene un valor confirmatorio de HC permanente, por lo que justifica la terapia de reemplazo el resto de la vida.

La concentración de anticuerpos antiglobulina (TgAb) debería determinarse previamente al análisis de Tg, ya que pueden interferir en el análisis. Se recomienda analizar los anticuerpos antiperoxidasa y los anticuerpos bloqueantes del receptor de tirotrópina en el niño y en la madre. El estudio de la concentración urinaria de yodo orienta y/o confirma la etiología del hipotiroidismo transitorio por déficit o exceso de

yodo .El cálculo de la superficie de la epífisis distal del fémur en mm² evalúa la maduración ósea e indica la antigüedad prenatal del hipotiroidismo.

Tratamiento

El tratamiento precoz del HC es el factor clave para prevenir la discapacidad psíquica. El fármaco recomendado es la Levo-tiroxina. La T4 va a sufrir una desyodación en los tejidos periféricos convirtiéndose en T3, la hormona activa.

Se recomienda una dosis de Levo-tiroxina al inicio del tratamiento de 10 a 15 µg/kg de peso/día. No se han encontrado efectos adversos relevantes con la utilización esta dosis.

El tratamiento debe administrarse diariamente en una única dosis, por vía oral y preferentemente en ayunas. Si se olvida la administración de una de las dosis puede administrarse a cualquier hora del día o todo lo más a la mañana siguiente junto con la dosis de ese día. No es aconsejable administrar dosis distintas en días alternos. En la primera infancia se recomienda su administración 30 minutos antes de una de las tomas de alimento para asegurar su absorción. En España se dispone de Levo-tiroxina sódica en comprimidos de (25, 50, 75 100, 125, 150, 175, 200 µgr), en los que el excipiente es lactosa. Los comprimidos deben ser triturados y diluidos (en pequeñas cantidades de agua o leche). Existe un formato en gotas (1 gota = 5 µgr), para recién nacidos y lactantes, pero es un medicamento de importación.

Los puntos críticos en el tratamiento son su inicio precoz la administración de dosis suficientes y el mantenimiento de concentraciones hormonales séricas adecuadas. Sólo así se conseguirá un crecimiento, desarrollo intelectual y físico óptimo y una función neurocognitiva dentro de rangos normales.

¿Hay algo más que debería saber?

La etiología del HC transitorio se identificaba fácilmente con una buena historia clínica y midiendo la excreción de yodo urinario. La **exposición al yodo** era la causa más frecuente de HC transitorio.

La **consanguinidad** es uno de los factores analizados y ponen de manifiesto una influencia de este factor en la aparición de la enfermedad.

Debido a la repercusión de determinados **contrastes yodados** en niños diagnosticados de cardiopatías congénitas sometidos a cateterismo cardiaco, parece justificar un control de la función tiroidea después de esta exploración. Con la

administración de contrastes es importante que de forma rutinaria se supervise la función tiroidea.

La utilización de antisépticos yodados en el periodo perinatal altera los resultados de la prueba de cribado. **La povidona yodada** también debería ser evitada durante el periodo de gestación. La exposición a antisépticos yodados es una causa frecuente de hipertirotrópinemia transitoria e hipotiroidismo transitorio. La gravedad de la disfunción tiroidea es mayor en aquellos niños con una menor edad gestacional y/o bajo peso al nacer. Esto justifica una monitorización especial de sus niveles hormonales. El uso de la povidona yodada en irrigación mediastínica para infección profunda de la herida quirúrgica no produce alteraciones significativas en la función tiroidea en recién nacidos. Otra de las utilizaciones de un antiséptico yodado es en niños con un cateterismo umbilical donde puede provocar una insuficiencia tiroidea transitoria.

Otro de los factores que puede alterar la función tiroidea del recién nacido es la exposición elevada a las **policlorodibenzo-p-dioxinas**, los **policlorodibenzofuranos**, y los **bifenilos policlorados coplanares** durante la gestación o la lactancia, con sus repercusiones sobre el crecimiento y el desarrollo.

Los niños prematuros nacidos de **mujeres con preeclampsia** con insuficiencia placentaria tienen unas concentraciones más bajas de FT4 y TSH en útero (medidas en sangre de cordón), tienen también aumentadas las concentraciones de triyodotironina reversa (rT3) en la primera semana después del nacimiento, lo que sugiere un sistema de desiodonización hepática alterada temporalmente.

Los factores que han demostrado un efecto sobre los niveles de TSH y/o hormonas tiroideas pero no sobre la prueba de cribado son la **amiodarona**, el **bypass cardiopulmonar**, el **síndrome de Down** y algunas enfermedades maternas pacientes que reciben o han recibido **dopamina**.

Bibliografía.

1. Guía de Práctica Clínica de Hipotiroidismo Congénito. Santiago de Compostela: Consellería de Sanidad, Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Galicia, avalia-t; 2008. Serie de Guías de Práctica Clínica: GPC2008/01.
2. Mayayo E, Santisteban P, Labarta JI, et al. Hipotiroidismo Congénito. En: M Pombo, editor. Tratado de Endocrinología Pediátrica. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 2008. p. 54-59.
3. Van Tijn DA, De Vijlder JJM, Verbeeten B, et al. Neonatal detection of congenital hypothyroidism of central origin. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 3350-9.
4. Büyükgebiz A. Newborn screening for congenital hypothyroidism. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2006; 19(11):1291-8.
5. Kugelman A, Riskin A, Bader D, et al. Pitfalls en screening programs for congenital hypothyroidism in premature newborns. *Am J Perinatol*. 2009; 26(5):383-5.
6. Grüters A, Krude H. Update on the management of congenital hypothyroidism. *Horm Res*. 2007;68 (5):107-11.
7. Hertzberg V, Mei J, Therrell BL. Effect of laboratory practices on the incidence rate of congenital hypothyroidism. *Pediatrics*. 2010;125 (2):48-53.
8. Silva SA, Chagas AJ, Goulart, et al. Screening for congenital hypothyroidism in extreme premature and/or very low birth weight newborns: the importance of a specific protocol. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2010; 23 (1-2):45-52.
9. Pass KA, Neto EC. Update: newborn screening for endocrinopathies. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2009; 38:827-37.
10. Myreli A, Jonsson B, Guthenberg C, et al. Increased neonatal thyrotropin in Down syndrome. *Acta Paediatr*. 2009; 98(6):1010-3.

AMINOACIDOPATÍAS

Aspectos generales

¿Por qué hacer el análisis?

Para buscar desórdenes hereditarios de la síntesis o degradación de los aminoácidos (AA); que conllevan, si no se detectan en los primeros días de vida, consecuencias nefastas para la salud del recién nacido, desde crisis convulsivas, hipotonía, vómitos, hepatomegalia, olor inusual, acrodermatitis, afectación sensorial, coma, letargia, hasta retraso mental o muerte.

Las alteraciones del metabolismo de AA cuya inclusión en los programas de cribado neonatal están totalmente recomendadas son:

- hiperfenilalaninemia/ Fenilcetonuria (PKU)
- enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce
- tirosinemia tipo I
- homocistinuria.

También presentan un notable grado de recomendación, pero pendientes de mayor consenso científico son:

- citrulinemia tipo I
- argininemia
- citrulinemia tipo II
- tirosinemia tipo II y III
- aciduria argininosuccínica.

¿Cuándo hacer el análisis?

Lo ideal es que se incluya en los programas de Cribado Neonatal. El momento idóneo es entre las 48 h y el 5º día de vida.

En bebés que comen a intervalos cortos de tiempo, se tomará justo antes de la siguiente toma. Es muy importante que el RN haya tomado alimento, por lo menos en dos ocasiones, antes de realizar la toma de muestra, ya que lo que vamos a valorar es que las vías metabólicas funcionan.

¿Qué muestra se requiere?

Para el cribado neonatal, sangre impregnada en papel de filtro Whatman 903 o similares, obtenida tras punción del talón, generalmente entre dos a cinco días después del parto. Para la confirmación es necesaria sangre tomada por venopunción, con anticoagulante EDTA o heparina-litio. También puede usarse suero. Lo aconsejable es determinarlos en sangre y orina al tiempo.

La muestra de orina puede ser de 24 horas o aleatoria (la primera de la mañana). Debido a los problemas que representa la recolección de 24 horas, sobre todo en niños, se acostumbra a utilizar una sola orina y los resultados se expresan por mmol de creatinina.

¿En que consiste?

¿Qué es lo que se analiza?

Se analizan los AA, que son moléculas orgánicas que tienen un grupo amino (NH₂) y un grupo carboxilo (COOH) y son los principales constituyentes de las proteínas. En el organismo proceden de la dieta o del catabolismo de las proteínas. Existen más de 24 AA. Unos son esenciales (leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina), lo que quiere decir que son imprescindibles en la dieta ya que el organismo no los sintetiza.

Un descenso o una elevación de uno o varios AA puede ser diagnóstico o sugerir diversas patologías.

Métodos analíticos:

Para la realización de los análisis en el cribado neonatal suelen utilizarse la cromatografía en capa fina, fluorimetría, espectrofotometría y la espectrometría de masas en tándem (MS-MS), esta última se utiliza en los programas con cribado expandido.

Para diagnóstico de confirmación: HPLC, cromatografía de intercambio iónico (CIO), espectrofotometría, espectrometría de masas en tándem (MS-MS).

La sensibilidad debe permitir la detección de cantidades muy bajas de la sustancia que queremos medir. Es muy importante ya que por ej. una citrulina baja en sangre es criterio diagnóstico para algunos defectos del ciclo de la urea.

¿Cómo se obtiene la muestra para el análisis?

Los resultados obtenidos en el cribado dependen de la calidad de las muestras de sangre. La necesidad de una nueva extracción de sangre a causa de una muestra incorrecta provoca retrasos innecesarios en la detección, diagnóstico y tratamiento de los recién nacidos afectados por alguna enfermedad.

Cuando la prueba está incluida dentro del programa de cribado neonatal, la muestra de sangre se obtiene por punción del talón.

Para la toma de la muestra se debe disponer de un dispositivo de incisión y corte, de poca profundidad y un solo uso, estos proporcionan un flujo de sangre adecuado con menor dolor para el RN. Si no disponemos de estos podremos utilizar una lanceta estéril con punta de menos de 2.4 mm. Antes de realizar la punción debemos calentar la zona mediante masaje para aumentar el flujo de sangre capilar. La punción debe hacerse en la parte lateral externa del talón, nunca en la línea media. La primera gota de sangre que fluye después de la punción debe ser descartada, retirándola con una gasa estéril, ya que es probable que esté contaminada con fluidos tisulares. Esperar a que se forme una gota de sangre grande y colocar el papel contra la gota de forma que se empape y se rellene completamente el círculo. Impregnar la tarjeta llenando cada círculo impreso por completo y con una sola aplicación por círculo. La sangre debe ser recogida de una sola vez. No presionar el papel contra el lugar en el que se realizó la punción. La sangre debe ser aplicada sólo en un lado del papel. Se deben examinar ambos lados del papel para comprobar que la sangre penetró de forma uniforme y empapó el mismo. Después de que haya sido recogida la sangre elevar el pie del niño y presionar con un apósito hasta que deje de sangrar. Dejar secar la tarjeta en una superficie horizontal plana no absorbente que esté seca y limpia, durante al menos tres horas a temperatura ambiente (15-22°C) y evitar la luz solar directa. La tarjeta no debe ser manipulada ni colocada en superficies húmedas o contaminadas. Para la obtención de muestras de sangre sobre papel se debe disponer además de guantes y un contenedor de material rígido para la eliminación del material punzante. Sólo se debe utilizar papel que cumpla con las normas del *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) (papel Whatman®903 o similar). Se debe diseñar el formato de formulario y tarjeta de la toma de sangre que mejor se adapte a las necesidades del programa. Antes de realizar la extracción se debe rellenar el formulario en el que debe constar

información detallada acerca de la identificación del niño (nombre y apellidos, fecha de nacimiento, dirección y teléfono), datos clínicos del niño (peso al nacimiento, semanas de gestación, medicamentos, transfusión sanguínea) y otros datos (fecha y hora de la extracción de sangre, posibles interferencias debidas a compuestos derivados del yodo) y datos de la madre. En prematuros y niños de bajo peso se debe tener especial cuidado en la profundidad de la incisión, debido a la proximidad del hueso calcáneo a la superficie de la piel. En estas situaciones se pueden considerar otros métodos de recolección de muestra.

No es recomendable el procedimiento, relativamente extendido, de recoger la gota de sangre con un capilar y posteriormente dejar caer la gota sobre el papel secante sin tocarlo, ya que este método aumenta el número de muestras sobreimpregnadas. La recolección de sangre venosa de forma rutinaria para cribado neonatal está desaconsejada. La posibilidad de que la muestra de sangre sea de procedencia venosa debe ser tenida en cuenta por los laboratorios que realizan el análisis ya que los resultados del análisis pueden verse influidos por el origen de la sangre.

La mancha de sangre encima de una mancha anterior o una mancha doble provoca resultados no válidos por lo que la muestra no debe ser utilizada. Tampoco deben ser analizadas las muestras con cantidades insuficientes de sangre pues pueden dar lugar a resultados falsos negativos.

¿Es necesario algún tipo de preparación previa?

Para obtener una cantidad suficiente de sangre se recomienda comenzar por calentar el lugar de la punción (superficie plantar del talón) unos tres minutos con un paño suave a una temperatura no superior a 42°C o alternativamente con un masaje enérgico en el talón del recién nacido, para incrementar el flujo de sangre, después hay que limpiar con alcohol de 70° y secar al aire. Los derivados yodados no deben utilizarse como desinfectante.

En bebés que comen a intervalos cortos de tiempo, se tomará justo antes de la siguiente toma. Es muy importante que el RN haya tomado alimento, por lo menos en dos ocasiones, antes de realizar la toma de muestra, ya que lo que vamos a valorar es que las vías metabólicas funcionan.

Acerca de la prueba

¿Cómo se utiliza?

Para la detección de desórdenes hereditarios de la síntesis o degradación de los aminoácidos (AA).

¿Cuándo se solicita?

En los programas de Cribado Neonatal. Actualmente se está imponiendo el Cribado Neonatal Expandido, con el que en la misma muestra de sangre en papel de filtro homologado pueden detectarse más de 25 errores congénitos, en función del panel que decida cada CCAA.

De no ser así, en niños que presentan clínica sugestiva de alguna alteración del metabolismo de los AA como: acidosis metabólica, hiperamoniemia, letargia, coma, hipotonía, crisis convulsivas, hepatomegalia, vómitos, olor inusual de la orina o del sudor, afectación sensorial o alcalosis respiratoria, como en la mayoría de casos de defectos del ciclo de la urea. En éste caso por ej. el patrón de AA en sangre y orina , así como el ác. orótico en orina , son diagnósticos.

¿Qué significa el resultado?

Las determinaciones realizadas en sangre impregnada en papel no son diagnósticas. Todo resultado anormal en el cribado debe ser confirmado con análisis en suero, en muestras de sangre extraídas por punción venosa.

Dependerá de que AA/s presentan concentraciones elevadas o bajas en sangre y/u orina, de los signos clínicos, parámetros bioquímicos y antecedentes personales e historia familiar del paciente.

La interpretación se hará siempre con mucha cautela, evaluando todos los factores que pueden afectar a ésta determinación (condiciones de extracción, fármacos, etc), comentados en otros apartados.

Tratamiento

El tratamiento precoz es clave para evitar los síntomas y secuelas de las diferentes patologías.

De forma genérica el tratamiento es dietético, evitando la ingesta proteínas que contienen los AA que por acumulo causarán la toxicidad en el niño, y farmacológico, aportando los nutrientes necesarios para un desarrollo normal.

¿Hay algo más que debería saber?

La nutrición parenteral o el tratamiento parenteral con AA, altera su patrón tanto en sangre como en orina.

En recién nacidos, particularmente pre-término, la cantidad y calidad de la ingesta proteica incide directamente en la concentración plasmática de AA. La subida postprandial de AA es más pronunciada si dicha ingesta es elevada. Si es excesiva puede ocasionar una hipertirosinemia e hipermetioninemia transitoria.

La concentración de AA presenta ritmo circadiano, siendo por la tarde entre un 10-15 % más elevada.

La hospitalización puede provocar una ligera hiperaminoaciduria generalizada.

Vómitos e inanición de 1-2 días, pueden causar en plasma aumento de hasta dos o tres veces de los AA ramificados.

Las alteraciones del perfil de AA pueden ser secundarias a otros trastornos metabólicos como la galactosemia, acidemias orgánicas y defectos metabólicos del piruvato.

La concentración anómala de un AA puede sugerir varios errores congénitos. Y a la inversa, algunos trastornos se caracterizan por cambios en varios AA diferentes

Hiperfenilalaninemia, fenilcetonuria (PKU)

Defecto en el catabolismo de la fenilalanina (Phe) debido a una deficiencia primaria de la fenilalanina-hidroxilasa hepática, lo que da lugar a elevadas concentraciones de Phe en sangre.

Trastorno congénito autosómico recesivo. Se manifiesta de diversas formas clínicas, en función del grado de actividad residual de la enzima, de ahí que pueda variar desde una forma severa, la clásica PKU, a formas moderadas y leves. La clasificación se basa en las concentraciones de Phe al diagnóstico y en la tolerancia a la Phe, es decir a la cantidad de Phe de la dieta capaz de mantener las concentraciones plasmáticas del AA dentro del rango recomendado. Los diferentes tipos son:

- Forma grave o PKU clásica cuando el valor de Phe al diagnóstico es $>1200 \mu\text{M}$ ($> 20 \text{ mg/dL}$) y la tolerancia es inferior a 350 mg/día de Phe en la dieta.
- Forma moderada de PKU : Phe entre 600 y $1200 \mu\text{M}$ (10 y 20 mg/dL) y la tolerancia entre 350 - 400 mg/día

- Forma leve de PKU: Phe entre 360 y 600 μ M (6 y 10 mg/dL) y la tolerancia entre 400-600 mg/día

- Hiperfenilalaninemia (HPA): Phe entre 150 y 360 μ M (2.5 y 6 mg/dL) y la tolerancia >600 mg/día

Se inicia la sintomatología clínica hacia los 6 meses de edad, si no se trata desde el nacimiento. Cursa con retraso mental y motor grave, comportamiento psicótico, hiperactividad severa, déficit de atención, EEG anormal, convulsiones, hipopigmentación, cabello rubio, ojos azules, eccema, olor característico a moho (aliento, sudor y orina). Las formas menos graves cursan con disminución de la capacidad de concentración, mal rendimiento escolar, y sus consiguientes repercusiones psicológicas.

La incidencia, con amplias variaciones geográficas (Irlanda 1/4.000) y raciales, es en los caucásicos del orden de 1/12.000 para hiperfenilalaninemias moderadas y benignas y de 1/20.000 para PKU clásica.

Su detección esta incluida en todos los Programas de Cribado Neonatal. Determinación de Phe en sangre impregnada en papel. Los métodos analíticos son: cromatografía en capa fina, fluorimetría, espectrofotometría, espectrometría de masas en tándem (MS-MS). El punto de corte en función de cada Centro está entre 2 y 2.5 mg/dL

El diagnóstico de confirmación se puede llevar a cabo por cromatografía de intercambio iónico (CIO), HPLC o espectrometría de masas en tándem (MS-MS). Cuantificación de ácidos orgánicos en orina mediante cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/MS) y el análisis molecular de mutaciones de la PAH en sangre EDTA

Es importante que el paciente reciba una adecuada ingesta proteica en el momento de la determinación, para evitar falsos negativos. La nutrición parenteral puede dar falsos positivos.

Debe realizarse el diagnóstico diferencial con los defectos del metabolismo de la BH₄, cuantificando las pterinas en orina protegida de la luz por HPLC. Y la dihidropterina reductasa (DHPR) en sangre periférica (sirve el mismo cartón del cribado).

El tratamiento consiste en restricción dietética de fenilalanina en mayor o menor grado según la tolerancia de cada paciente a dicho aminoácido. El tratamiento con cofactor (BH₄) puede mejorar ésta tolerancia en algunos individuos. El tratamiento

es sencillo y de bajo coste pero difícil de llevar a la práctica; requiere un seguimiento estricto.

Bibliografía

- Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases (2nd edition 2003, Corr.2nd printing 2005). N. Blau, M. Duran, M.E. Blaskovics and K.M. Gibson. Springer
- Programas de cribado neonatal en España: Actualización y propuestas de futuro. Documento de consenso. J.L. Marín Soria, L. Aldamiz-Echevarría, D.E. Castiñeiras Ramos, J. Dalmau Serra, A. Fernández Sánchez, D. González Lamuño, M^a.J. Juan Fita, L.M. Jiménez Jiménez y C. Pérez-Cerdá. Edit. Real Patronato sobre Discapacidad. 2010
- Curso on-line de formación en Enfermedades Raras Metabólicas, 2^a ed. Módulo 3. Trastornos del metabolismo de los aminoácidos II. M^a C. García Jiménez y A. Baldellou Vázquez. UEM. H.I. Miguel Servet. Zaragoza.
- Protocolos de diagnóstico y tratamiento de los errores congénitos del metabolismo. AECOM 2007

DEFECTOS DE LA β -OXIDACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS

ASPECTOS GENERALES

¿Por qué hacer el análisis?

Los defectos congénitos de la β -oxidación de los ácidos grasos (AG), es un grupo muy importante de enfermedades neurometabólicas con serias consecuencias clínicas, incluyendo convulsiones, hipoglucemia, daño muscular, cardiomiopatía, acidosis metabólica y disfunciones hepáticas.

La β -oxidación de los ácidos grasos genera la cetogénesis hepática que constituye la principal fuente de energía para los tejidos periféricos cuando los depósitos de glucógeno se han agotado, durante un ayuno prolongado o en períodos de mayor demanda energética.

En niños, la β -oxidación de los ácidos grasos representa alrededor del 80% de las necesidades energéticas después de 12-24 horas de ayuno y en situaciones de estrés metabólico como ejercicio prolongado, infecciones, fiebre, y otras, en las cuales se precisa movilizar los ácidos desde el tejido adiposo después que los depósitos de glucógeno han sido deplecionados. Este proceso es de vital importancia en los primeros días de la vida donde el recién nacido en situación de estrés de transición fetal sufre una fase de relativo ayuno en la que la falta de adecuado aporte glucosa le hace depender de las grasas como fuente principal de energía. Los AG constituyen la energía preferida del corazón (60-70%) después del nacimiento siendo también fuente energética importante para el músculo esquelético y para el hígado. El cerebro en períodos de ayuno prolongado usa como principal fuente de energía los cuerpos cetónicos formados en el hígado a partir de la β -oxidación de los ácidos grasos.

Una presentación clínica típica en un niño previamente sano se puede caracterizar por:

- Hipoglucemia hipocetósica, letargia, convulsiones y coma, desencadenados por una enfermedad intercurrente común
- Hepatomegalia con disfunción hepática aguda (elevación de las cifras de transaminasas, de amonio y de lactato, con encefalopatía aguda e infiltración grasa del hígado – Síndrome de Reye)
- Muerte súbita, inexplicada

Los recientes avances tecnológicos en la espectrometría de masas dirigidos, dentro su vertiente clínica, hacia el cribado neonatal, han permitido la cuantificación de marcadores concretos para la detección, durante el periodo neonatal, de recién nacidos afectados de diferentes defectos de la β -oxidación de los ácidos grasos, obteniendo la identificación presintomática de estos pacientes, lo que permite su control y tratamiento a la mayor rapidez posible y evitar así secuelas irreversibles y desenlaces fatales.

Los defectos de la β -oxidación de los ácidos grasos que se pueden detectar de esta manera son:

- Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCAD).
- Deficiencia primaria de carnitina (CUD).
- Deficiencia de L-3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga (LCHAD).
- Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCAD).
- Déficit de carnitina palmitoil transferasa I (CPT I).
- Déficit de carnitina palmitoil transferasa II (CPT II).
- Aciduria glutárica tipo II o deficiencia múltiple de acil CoA deshidrogenasa (MADD).
- Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena corta (SCAD).
- Deficiencia de carnitina/acilcarnitina translocasa (CACT).

¿Cuándo hacer el análisis?

El análisis se hace entre las 48 y 72 horas de vida, junto a las demás pruebas del cribado neonatal.

¿Qué muestra se requiere?

La muestra utilizada para el análisis es sangre capilar recogida en papel de filtro Whatman 903 o similares y obtenida a través de una punción en el talón del recién nacido.

¿En qué consiste?

¿Qué es lo que se analiza?

Con la espectrometría de masas, se determina la concentración de diferentes acilcarnitinas en la muestra de sangre recogida sobre el papel de filtro. Cada uno de los defectos de la β -oxidación de los ácidos grasos presenta un patrón característico de concentraciones estas acilcarnitinas. En la siguiente tabla se recogen los parámetros más característicos y base de diagnóstico de los diferentes defectos de la β -oxidación de los ácidos grasos.

Defecto de la β-oxidación de los ácidos grasos	Patrón de concentraciones de acilcarnitinas
Déficit de acilCoA deshidrogenasa de cadena media (MCAD)	↑ C6 ↑ C8 ↑ C10 ↑ C10:1 ↑ C8/C10
Déficit primaria de carnitina (CUD)	↓ C0
Déficit de L-3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga (LCHAD).	↑ C16-OH ↑ C16:1-OH ↑ C18:1-OH ↑ C18-OH ↑ C16-OH/C16
Déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCAD)	↑ C14:2 ↑ C14:1 ↑ C14 ↑ C14:1/C16
Déficit de carnitina palmitoil transferasa I (CPT I).	↑ C0 ↓ C16 ↓ C18 ↑ C0/(C16+C18)
Déficit de carnitina palmitoil transferasa II (CPT II).	↑ C16 ↑ C18 ↑ C18:1 ↑ C18:2
Aciduria glutárica tipo II o Déficit múltiple de acil CoA deshidrogenasa (MADD).	↑ C4 ↑ C5 ↑ C6 ↑ C8 ↑ C10
Déficit de AcilCoA deshidrogenasa de cadena corta (SCAD)	↑ C4 ↑ C4/C2 ↑ C4/C3 ↑ C4/C8
Déficit de carnitina/acilcarnitina translocasa (CACT)	↑ C16 ↑ C18 ↑ C18:1 ↑ C18:2

¿Cómo se obtiene la muestra para el análisis?

Los resultados obtenidos en el cribado dependen de la calidad de las muestras de sangre. La necesidad de una nueva extracción de sangre a causa de una muestra incorrecta provoca retrasos innecesarios en la detección, diagnóstico y tratamiento de los recién nacidos afectados por alguna enfermedad.

Cuando la prueba está incluida dentro del programa de cribado neonatal, la muestra de sangre se obtiene por punción del talón.

Para la toma de la muestra se debe disponer de un dispositivo de incisión y corte, de poca profundidad y un solo uso, estos proporcionan un flujo de sangre adecuado con menor dolor para el RN. Si no disponemos de estos podremos utilizar una lanceta estéril con punta de menos de 2.4 mm. Antes de realizar la punción debemos calentar la zona mediante masaje para aumentar el flujo de sangre capilar. La punción debe hacerse en la parte lateral externa del talón, nunca en la línea media. La primera gota de sangre que fluye después de la punción debe ser descartada, retirándola con una gasa estéril, ya que es probable que esté contaminada con fluidos tisulares. Esperar a que se forme una gota de sangre grande y colocar el papel contra la gota de forma que se empape y se rellene completamente el círculo. Impregnar la tarjeta llenando cada círculo impreso por completo y con una sola aplicación por círculo. La sangre debe ser recogida de una sola vez. No presionar el papel contra el lugar en el que se realizó la punción. La sangre debe ser aplicada sólo en un lado del papel. Se deben examinar ambos lados del papel para comprobar que la sangre penetró de forma uniforme y empapó el mismo. Después de que haya sido recogida la sangre elevar el pie del niño y presionar con un apósito hasta que deje de sangrar. Dejar secar la tarjeta en una superficie horizontal plana no absorbente que esté seca y limpia, durante al menos tres horas a temperatura ambiente (15-22°C) y evitar la luz solar directa. La tarjeta no debe ser manipulada ni colocada en superficies húmedas o contaminadas. Para la obtención de muestras de sangre sobre papel se debe disponer además de guantes y un contenedor de material rígido para la eliminación del material punzante. Sólo se debe utilizar papel que cumpla con las normas del *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) (papel Whatman®903 o similar). Se debe diseñar el formato de formulario y tarjeta de la toma de sangre que mejor se adapte a las necesidades del programa.

Antes de realizar la extracción se debe rellenar el formulario en el que debe constar información detallada acerca de la identificación del niño (nombre y apellidos, fecha de nacimiento, dirección y teléfono), datos clínicos del niño (peso al nacimiento, semanas de gestación, medicamentos, transfusión sanguínea) y otros datos (fecha y hora de la extracción de sangre, posibles interferencias debidas a compuestos derivados del yodo) y datos de la madre. En prematuros y niños de bajo peso se debe tener especial cuidado en la profundidad de la incisión, debido a la proximidad del hueso calcáneo a la superficie de la piel. En estas situaciones se pueden considerar otros métodos de recolección de muestra.

No es recomendable el procedimiento, relativamente extendido, de recoger la gota de sangre con un capilar y posteriormente dejar caer la gota sobre el papel secante sin tocarlo, ya que este método aumenta el número de muestras sobreimpregnadas. La recolección de sangre venosa de forma rutinaria para cribado neonatal está desaconsejada. La posibilidad de que la muestra de sangre sea de procedencia venosa debe ser tenida en cuenta por los laboratorios que realizan el análisis ya que los resultados del análisis pueden verse influidos por el origen de la sangre.

La mancha de sangre encima de una mancha anterior o una mancha doble provoca resultados no válidos por lo que la muestra no debe ser utilizada. Tampoco deben ser analizadas las muestras con cantidades insuficientes de sangre pues pueden dar lugar a resultados falsos negativos.

¿Es necesario algún tipo de preparación previa?

Para obtener una cantidad suficiente de sangre se recomienda comenzar por calentar el lugar de la punción (superficie plantar del talón) unos tres minutos con un paño suave a una temperatura no superior a 42°C o alternativamente con un masaje enérgico en el talón del recién nacido, para incrementar el flujo de sangre.

Acerca de la prueba

¿Cómo se utiliza?

Un paciente con niveles de acilcarnitinas elevados y con un patrón característico y asociable a alguno de los defectos de la β -oxidación de los ácidos grasos detectables por esta tecnología, es sospechoso de padecer la enfermedad, y se

remite al facultativo especialista para realizar un estudio más exhaustivo del paciente.

¿Cuándo se solicita?

La detección precoz de defectos de la β -oxidación de los ácidos grasos sólo entra en el conjunto de enfermedades metabólicas incluidas en los programas de cribado neonatal en algunas CCAA del territorio español. En estas comunidades, la detección precoz de defectos de la β -oxidación de los ácidos grasos es una actividad de salud pública que se realiza de forma universal a todos los recién nacidos de la población, sin la necesidad de una petición expresa de este análisis.

¿Qué significa el resultado?

Las determinaciones realizadas en sangre impregnada en papel no son diagnósticas. Todo resultado anormal en el cribado debe ser confirmado. El niño debe ser remitido a una unidad de diagnóstico y tratamiento de alteraciones metabólicas con el objetivo de asegurar un estándar apropiado de evaluación clínica, diagnóstico, tratamiento y seguimiento.

El estudio de confirmación diagnóstica consiste en la realización de una anamnesis familiar y personal, búsqueda de síntomas y signos clínicos y determinaciones analíticas.

El grupo de pruebas analíticas adicionales que nos dirigen hacia el diagnóstico diferencial y a la caracterización de cada una de las enfermedades de este grupo son:

- Análisis en sangre de carnitina (total y libre) y acilcarnitinas
- Análisis en sangre de ácidos grasos libres y 3-hidroxi-ácidos
- Análisis en orina de ácidos orgánicos y acilglicinas

El diagnóstico definitivo se debe realizar con la medición de la actividad enzimática en cultivo de fibroblastos.

Tratamiento

Dentro de las medidas terapéuticas generales de los trastornos de la β -oxidación de los ácidos grasos hay que remarcar la gran importancia de las medidas preventivas como el aporte extra de glucosa intravenosa para prevenir la lipólisis del tejido

adiposo, con mayor importancia en periodo neonatal y situaciones de estrés, aunque los valores de glucemia estén en el rango control. Entre las medidas dietéticas preventivas el concepto general es de evitar el ayuno superior a 12 horas. En estas situaciones existe una falta de oxidación de ácidos grasos y de producción de cuerpos cetónicos y, por tanto, una completa dependencia de la glucólisis. También se recomienda la restricción del aporte graso con un incremento del aporte de carbohidratos, ingiriendo suficientes ácidos grasos esenciales y manteniendo un aporte calórico adecuado e ininterrumpido.

Desde el punto de vista farmacológico, el tratamiento con L-carnitina es ampliamente utilizado en los trastornos de la β -oxidación de los ácidos grasos aunque un claro beneficio no ha sido absolutamente demostrado. En general se recomienda el aporte de L-carnitina para corregir el frecuentemente observado déficit secundario de carnitina y para aumentar la eliminación de metabolitos tóxicos, también se puede usar como detoxificante la glicina.

Algunos pacientes con defectos de la β -oxidación de los ácidos grasos responden a la suplementación con riboflavina, ya que es cofactor de las enzimas defectuosas.

Varios grupos han utilizado el 3-hidroxi-butirato oral (en forma de la mezcla racémica de las formas D y L) y se han descrito mejorías clínicas en algunos pacientes, probablemente por su utilización preferencial por tejidos diana como cerebro y corazón.

Bibliografía

1. Rinaldo P, Matern D, Bennett MJ. Fatty acid oxidation disorders. *Ann Rev Physiol* 2002; 64: 477-502
2. Michelle kompare, MD, William B. Rizzo, MD. *Seminars in Pediatric Neurology*. Volumen 15, Issue 3, September 2008, pages 140-149. *Advances in Clinical Genetics*.
3. Chace DH, Kalas TA, Naylor EW: Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns. *Clin Chem* 49:1797-1817, 2003
4. Peña Quintana L, Sanjurjo Crespo P: Alteraciones de la β -oxidación y del sistema carnitina. En: Sanjurjo P, Baldellou A. *Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias*. 2ª Ed. Ergon. 2006. p. 407-428.

ÁCIDOS ORGÁNICOS

Aspectos generales

¿Por qué hacer el análisis?

Para detectar precozmente aquellas acidemias orgánicas que se expresan bioquímicamente en conjugados con la carnitina formando acilcarnitinas de distinta longitud. Las enfermedades susceptibles de detección por espectrometría de masas en tándem (MS/MS) son: aciduria glutárica tipo I, acidemia isovalérica, aciduria 3-hidroxi 3-metil glutárica, deficiencia de β -cetotiolasa, acidemia propiónica, aciduria metilglutacónica, deficiencia de isobutiril-CoA deshidrogenasa (IBD), metilcrotonilglicinuria y metilbutirilglicinuria.

El diagnóstico permite la instauración de una terapia preventiva ó paliativa dependiendo de la patología detectada.

¿Cuándo hacer el análisis?

Se realiza conjuntamente con las demás pruebas del cribado neonatal, recomendadas generalmente a partir de las 48 horas y hasta el 5º día de vida.

¿Qué muestra se requiere?

Se requiere muestra de sangre impregnada en papel. Cuando la prueba está incluida dentro del programa de cribado metabólico neonatal, esta muestra se obtiene por punción del talón. El material suministrado, dentro de estos programas para la toma de muestra de sangre del recién nacido incluye tarjetas de papel de filtro (Whatman®903 o similar) con círculos impresos para este fin.

¿En que consiste?

¿Qué es lo que se analiza?

Se analizan las acilcarnitinas por MS/MS utilizando el extracto obtenido a partir de la muestra de sangre impregnada en papel. Dentro de este grupo de analitos están las llamadas acilcarnitinas orgánicas que son derivadas generalmente de los ácidos orgánicos dicarboxílicos. Se consideran orgánico-acidemia las alteraciones del

metabolismo de los ácidos orgánicos en general, independientemente de que muchas veces provienen de otras implicaciones metabólicas, mayoritariamente con aminoácidos. Dentro de este grupo tenemos las acidemias propiónica (PA) y metilmalónicas (MMA) que cursan ambas con una elevación de propionilcarnitina. En general los derivados de los ácidos dicarboxílicos pueden esterificarse como butilésteres permitiendo la detección de la glutarilcarnitina y la malonilcarnitina, marcadores de la acidemia glutárica tipo I (GAI) y la acidemia malónica respectivamente. Otro grupo de patologías potencialmente detectables a partir del perfil acilcarnitinas en sangre son: la beta cetotiolasa (principal marcador la tiglicarnitina), la acidemia isovalérica (marcador isovalerilcarnitina) y un grupo de tres alteraciones que tiene como principal marcador la 3 hidroxisivalerilcarnitina, la deficiencia de 3-metilcrotonil CoA carboxilasa (MCC), en 3-hidroxi-3metilglutaril CoA liasa (HMG) y la 3-metilglutaconil CoA hidratasa (MGA).

¿Cómo se obtiene la muestra para el análisis?

Los resultados obtenidos en el cribado dependen de la calidad de las muestras de sangre. La necesidad de una nueva extracción de sangre a causa de una muestra incorrecta provoca retrasos innecesarios en la detección, diagnóstico y tratamiento de los recién nacidos afectados por alguna enfermedad.

Cuando la prueba está incluida dentro del programa de cribado neonatal, la muestra de sangre se obtiene por punción del talón.

Para la toma de la muestra se debe disponer de un dispositivo de incisión y corte, de poca profundidad y un solo uso, estos proporcionan un flujo de sangre adecuado con menor dolor para el RN. Si no disponemos de estos podremos utilizar una lanceta estéril con punta de menos de 2.4 mm. Antes de realizar la punción debemos calentar la zona mediante masaje para aumentar el flujo de sangre capilar. La punción debe hacerse en la parte lateral externa del talón, nunca en la línea media. La primera gota de sangre que fluye después de la punción debe ser descartada, retirándola con una gasa estéril, ya que es probable que esté contaminada con fluidos tisulares. Esperar a que se forme una gota de sangre grande y colocar el papel contra la gota de forma que se empape y se rellene completamente el círculo. Impregnar la tarjeta llenando cada círculo impreso por completo y con una sola

aplicación por círculo. La sangre debe ser recogida de una sola vez. No presionar el papel contra el lugar en el que se realizó la punción. La sangre debe ser aplicada sólo en un lado del papel. Se deben examinar ambos lados del papel para comprobar que la sangre penetró de forma uniforme y empapó el mismo. Después de que haya sido recogida la sangre elevar el pie del niño y presionar con un apósito hasta que deje de sangrar. Dejar secar la tarjeta en una superficie horizontal plana no absorbente que esté seca y limpia, durante al menos tres horas a temperatura ambiente (15-22°C) y evitar la luz solar directa. La tarjeta no debe ser manipulada ni colocada en superficies húmedas o contaminadas. Para la obtención de muestras de sangre sobre papel se debe disponer además de guantes y un contenedor de material rígido para la eliminación del material punzante. Sólo se debe utilizar papel que cumpla con las normas del *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) (papel Whatman®903 o similar). Se debe diseñar el formato de formulario y tarjeta de la toma de sangre que mejor se adapte a las necesidades del programa. Antes de realizar la extracción se debe rellenar el formulario en el que debe constar información detallada acerca de la identificación del niño (nombre y apellidos, fecha de nacimiento, dirección y teléfono), datos clínicos del niño (peso al nacimiento, semanas de gestación, medicamentos, transfusión sanguínea) y otros datos (fecha y hora de la extracción de sangre, posibles interferencias debidas a compuestos derivados del yodo) y datos de la madre. En prematuros y niños de bajo peso se debe tener especial cuidado en la profundidad de la incisión, debido a la proximidad del hueso calcáneo a la superficie de la piel. En estas situaciones se pueden considerar otros métodos de recolección de muestra.

No es recomendable el procedimiento, relativamente extendido, de recoger la gota de sangre con un capilar y posteriormente dejar caer la gota sobre el papel secante sin tocarlo, ya que este método aumenta el número de muestras sobreimpregnadas. La recolección de sangre venosa de forma rutinaria para cribado neonatal está desaconsejada. La posibilidad de que la muestra de sangre sea de procedencia venosa debe ser tenida en cuenta por los laboratorios que realizan el análisis ya que los resultados del análisis pueden verse influidos por el origen de la sangre.

La mancha de sangre encima de una mancha anterior o una mancha doble provoca resultados no válidos por lo que la muestra no debe ser utilizada. Tampoco deben

ser analizadas las muestras con cantidades insuficientes de sangre pues pueden dar lugar a resultados falsos negativos.

¿Es necesario algún tipo de preparación previa?

Para obtener una cantidad suficiente de sangre se recomienda comenzar por calentar el lugar de la punción (superficie plantar del talón) unos tres minutos con un paño suave a una temperatura no superior a 42°C o alternativamente con un masaje enérgico en el talón del recién nacido, para incrementar el flujo de sangre, después hay que limpiar con alcohol de 70° y secar al aire. Los derivados yodados no deben utilizarse como desinfectante.

Acerca de la prueba

¿Cómo se utiliza?

La prueba se utiliza para detectar neonatos con sospecha de padecer de una acidemia orgánica. Un neonato con alteraciones en el perfil de acilcarnitinas compatible con una enfermedad de este grupo, se remite a un hospital de referencia en enfermedades metabólicas, para que se confirme o no la sospecha inicial.

¿Cuándo se solicita?

La detección precoz de acidemias orgánicas se realiza a todos recién nacidos de algunas CCAA donde están incluidas en el conjunto de enfermedades de su programa de cribado neonatal de enfermedades metabólicas

En el resto de las CCAA la prueba es solicitada por el pediatra ante un paciente con clínica compatible con estas deficiencias.

¿Qué significa el resultado?

La presencia de alteraciones compatibles con una aciduria orgánica significa que el individuo es sospecho de padecer de una enfermedad de este grupo.

Las determinaciones realizadas en sangre impregnada en papel no son diagnósticas. Todos los resultados anormales en el cribado deberán ser confirmados con pruebas analíticas adecuadas. Las pruebas analíticas adicionales aplicables para el diagnóstico diferencial/confirmación son:

- Análisis de la excreción de ácidos orgánicos en orina.

- Análisis de aminoácidos en plasma/suero.
- Análisis enzimáticos e/o de mutaciones.

Tratamiento

Las acidurias orgánicas son un grupo de errores congénitos de metabolismo de base tóxica. En estas enfermedades ocurre la producción por el organismo, de sustancias tóxicas, por defectos en la correcta metabolización de algunas sustancias, en su mayoría aminoácidos de la dieta.

El abordaje terapéutico general a las acidurias orgánicas tiene dos principales enfoques: la eliminación del metabolito tóxico y la disminución de su producción. Para la maximización de la eliminación es fundamental mantener un estado de hidratación adecuado y se puede recurrir a detoxificadores fisiológicos (ej. carnitina). La disminución de producción del metabolito tóxico se obtiene por: a) limitación de aporte de lo sustrato, normalmente aminoácidos, lo que se consigue por restricción en la ingestión de proteínas; b) la suplementación con coenzimas (ej. vitamina B12 y biotina) es útil en determinadas acidurias orgánicas donde estas están deficitarias; c) prevención del catabolismo, a través de un adecuado aporte calórico.

Bibliografía.

- Sanjurjo P, Baldellou A. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias. 2ª Ed. Ergon. 2006.

FIBROSIS QUÍSTICA (FQ).

Aspectos generales

¿Por qué hacer el análisis?:

La Fibrosis Quística es una de las enfermedades discapacitantes más comunes entre población caucásica. Se estima que la incidencia de la FQ en nuestro país es de un caso cada 4.000-6.000 nacidos vivos, según las regiones.

Esta enfermedad, también llamada mucoviscidosis, es un trastorno multisistémico y muestra su impacto principalmente sobre el crecimiento, la función respiratoria y la función pancreática. El periodo neonatal se caracteriza por un pobre aumento de peso y por obstrucción intestinal producida por heces densas y voluminosas (íleo meconial). Otros síntomas aparecen, más tarde, durante la niñez y al inicio de la etapa adulta. Éstos incluyen retardo del crecimiento, advenimiento de la enfermedad pulmonar, y dificultades crecientes por la malabsorción de vitaminas y nutrientes en el tracto gastrointestinal. La enfermedad pulmonar resulta del bloqueo de las vías aéreas más pequeñas con el moco espeso característico de la Fibrosis Quística.

La inflamación y la infección producen daño a los pulmones y cambios estructurales que conducen a una variedad de síntomas. Muchos de estos síntomas ocurren cuando ciertas bacterias (fundamentalmente, *Pseudomonas aeruginosa*), que normalmente viven en el moco espeso, crecen de forma descontrolada y causan infección (neumonía).

Se ha comprobado que la implantación precoz de los tratamientos en pacientes con Fibrosis Quística mejora de forma significativa la calidad de vida de los mismos. Aquellos individuos diagnosticados de FQ a través de los programas de cribado neonatal tienen un estado nutricional mejor que aquellos cuyo diagnóstico se ha producido más tarde, asimismo tienen un mayor crecimiento y muchas menos hospitalizaciones. En los lugares en donde no se incluye esta enfermedad en sus programas de cribado neonatal, el diagnóstico de pacientes con FQ se produce de media a los 15 meses desde la aparición de los primeros síntomas, con todo lo que ello supone tanto para la salud del paciente como la ansiedad de los padres hasta que se produce el diagnóstico definitivo de la enfermedad.

La Fibrosis Quística tiene un patrón de herencia autosómica recesiva, afectando al gen que codifica la proteína CFTR (regulador de la conductancia transmembrana de

la Fibrosis Quística) localizada en la membrana celular de las células epiteliales. El gen CFTR está localizado en el brazo largo del cromosoma 7 y se han descrito más de 1800 mutaciones, siendo una de ellas una mutación prevalente de esta enfermedad denominada $\Delta F508$.

¿Cuándo hacer el análisis?

El objetivo de cualquier Programa de Cribado Neonatal es la de proporcionar a los niños con Fibrosis Quística la oportunidad de recibir de forma precoz un tratamiento médico adecuado que les permita tener un crecimiento y desarrollo normal así como un retraso de las infecciones pulmonares. La toma de muestra en la mayoría de los Programas de Cribado Neonatal se sitúa entre las 48 horas y el 5º día de vida del recién nacido.

Hay que tener en cuenta que la concentración de tripsina inmunoreactiva (IRT) tiene una dependencia con la edad del recién nacido a la hora de la toma de muestra. Debido a que los niveles de IRT descienden después de la primera semana de vida, la edad del neonato en la toma de muestra es un aspecto importante a tener en cuenta ya que el laboratorio debe establecer puntos de corte dependientes de la edad de toma.

Esta prueba se debe realizar preferentemente antes del mes de vida del neonato ya que a partir de dicha fecha la capacidad de discriminación de la concentración de tripsina inmunoreactiva (IRT) entre pacientes con FQ y bebés sin la enfermedad baja de forma significativa, ya que se ha observado que en los pacientes con FQ se produce un bloqueo de los conductos que hace que la concentración de IRT disminuya a niveles similares al resto de población no FQ.

¿Qué muestra se requiere?

La muestra para la detección se recoge en tarjetas de papel filtro homologado (Whatman®903 o similar) impregnadas con sangre obtenida tras punción del talón, generalmente de dos a cinco días después del parto.

¿En que consiste?

¿Qué es lo que se analiza?

Se analiza la tripsina inmunoreactiva (IRT), una proteína pancreática, como marcador primario de Fibrosis Quística. Dicha proteína se analiza actualmente mediante una técnica que consiste en un fluoroinmunoensayo con lantano. La presencia de elevados niveles de IRT es característica de los pacientes con FQ. Debido a que la concentración de IRT es dependiente de la edad del neonato, es necesario estudiar dicha dependencia con el objeto de establecer los puntos de corte adecuados, para así conseguir una adecuada sensibilidad y selectividad de la prueba en los neonatos de más de dos semanas de vida. Algunos laboratorios de cribado, en vez de establecer puntos de corte fijos, fijan un porcentaje de los valores diarios obtenidos en los ensayos, de forma que todos aquellos valores que estén por encima de dicho porcentaje se consideran como positivos para esta prueba. De esta forma se evitan variaciones estacionales como consecuencia de la labilidad de la muestra.

Como marcador secundario, en algunos Programas de Cribado Neonatal se realiza un estudio de las mutaciones del gen CFTR en la misma muestra de sangre impregnada en papel que se utiliza para la cuantificación de IRT. Algunos buscan sólo la mutación prevalente $\Delta F508$, y otros utilizan un panel de mutaciones más amplio de dicho gen que mejora la selectividad de la prueba. En la elección del panel de mutaciones a detectar se deben tener en cuenta factores científicos (relación fenotipo-genotipo), utilidad clínica (beneficios para el paciente y la familia) y prácticos (coste de la prueba así como la capacidad del sistema sanitario para absorber de forma adecuada el aumento de niños con test positivo). Idealmente, el panel de mutaciones a utilizar en el cribado de FQ debería basarse en la frecuencia de mutaciones presente en la población objeto de cribado.

¿Cómo se obtiene la muestra para el análisis?

Los resultados obtenidos en el cribado dependen de la calidad de las muestras de sangre. La necesidad de una nueva extracción de sangre a causa de una muestra incorrecta provoca retrasos innecesarios en la detección, diagnóstico y en el tratamiento del recién nacido con FQ.

Para la toma de la muestra se debe disponer de un dispositivo de incisión y corte, de poca profundidad y un solo uso, estos proporcionan un flujo de sangre adecuado con menor dolor para el RN. Si no disponemos de estos podremos utilizar una lanceta

estéril con punta de menos de 2.4 mm. Antes de realizar la punción debemos calentar la zona mediante masaje para aumentar el flujo de sangre capilar. La punción debe hacerse en la parte lateral externa del talón, nunca en la línea media. La primera gota de sangre que fluye después de la punción debe ser descartada, retirándola con una gasa estéril, ya que es probable que esté contaminada con fluidos tisulares. Esperar a que se forme una gota de sangre grande y colocar el papel contra la gota de forma que se empape y se rellene completamente el círculo. Impregnar la tarjeta llenando cada círculo impreso por completo y con una sola aplicación por círculo. La sangre debe ser recogida de una sola vez. No presionar el papel contra el lugar en el que se realizó la punción. La sangre debe ser aplicada sólo en un lado del papel. Se deben examinar ambos lados del papel para comprobar que la sangre penetró de forma uniforme y empapó el mismo. Después de que haya sido recogida la sangre elevar el pie del niño y presionar con un apósito hasta que deje de sangrar. Dejar secar la tarjeta en una superficie horizontal plana no absorbente que esté seca y limpia, durante al menos tres horas a temperatura ambiente (15-22°C) y evitar la luz solar directa. La tarjeta no debe ser manipulada ni colocada en superficies húmedas o contaminadas. Para la obtención de muestras de sangre sobre papel se debe disponer además de guantes y un contenedor de material rígido para la eliminación del material punzante. Sólo se debe utilizar papel que cumpla con las normas del *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) (papel Whatman®903 o similar). Se debe diseñar el formato de formulario y tarjeta de la toma de sangre que mejor se adapte a las necesidades del programa. Antes de realizar la extracción se debe rellenar el formulario en el que debe constar información detallada acerca de la identificación del niño (nombre y apellidos, fecha de nacimiento, dirección y teléfono), datos clínicos del niño (peso al nacimiento, semanas de gestación, medicamentos, transfusión sanguínea) y otros datos (fecha y hora de la extracción de sangre, posibles interferencias debidas a compuestos derivados del yodo) y datos de la madre. En prematuros y niños de bajo peso se debe tener especial cuidado en la profundidad de la incisión, debido a la proximidad del hueso calcáneo a la superficie de la piel. En estas situaciones se pueden considerar otros métodos de recolección de muestra.

No es recomendable el procedimiento, relativamente extendido, de recoger la gota de sangre con un capilar y posteriormente dejar caer la gota sobre el papel secante

sin tocarlo, ya que este método aumenta el número de muestras sobreimpregnadas. La recolección de sangre venosa de forma rutinaria para cribado neonatal está desaconsejada. La posibilidad de que la muestra de sangre sea de procedencia venosa debe ser tenida en cuenta por los laboratorios que realizan el análisis ya que los resultados del análisis pueden verse influidos por el origen de la sangre.

La mancha de sangre encima de una mancha anterior o una mancha doble provoca resultados no válidos por lo que la muestra no debe ser utilizada. Tampoco deben ser analizadas las muestras con cantidades insuficientes de sangre pues pueden dar lugar a resultados falsos negativos.

¿Es necesario algún tipo de preparación previa?

Para obtener una cantidad suficiente de sangre se recomienda comenzar por calentar el lugar de la punción (superficie plantar del talón) unos tres minutos con un paño suave a una temperatura no superior a 42°C o alternativamente con un masaje enérgico en el talón del recién nacido, para incrementar el flujo de sangre, después hay que limpiar con alcohol de 70° y secar al aire. Los derivados yodados no deben utilizarse como desinfectante.

Acerca de la prueba

¿Cómo se utiliza?

Existen varias estrategias para el cribado neonatal de FQ, aunque dos son las más importantes:

Algoritmos IRT/IRT → Ante una concentración elevada de IRT se solicita nueva muestra para descartar elevaciones transitorias de esta proteína en los neonatos analizados. Dicha muestra se suele recoger a los 15 días de vida y siempre antes del mes de vida del neonato. Ante la persistencia de elevadas concentraciones de IRT en esta segunda muestra, se deriva al neonato para la realización del test del sudor así como a los servicios médicos especializados (Unidad de Fibrosis Quística).

Este protocolo tiene la ventaja de evitar la detección de portadores de la enfermedad, por el contrario tiene la desventaja de presentar un elevado número de elevaciones transitorias en el primer análisis que requieren nueva muestra para confirmación. Se ha visto que los recién nacidos que han sufrido un estrés perinatal significativo o puntuaciones bajas en el test de Apgar, así como neonatos de raza

negra pueden tener elevadas concentraciones de IRT, resultando en falsos positivos. Asimismo, se ha visto que aquellos que son portadores de la enfermedad suelen tener concentraciones de IRT mayores que aquellos que no lo son, lo que da lugar también a numerosos falsos positivos.

Este algoritmo se ha visto que es más efectivo en el diagnóstico de FQ en todas las comunidades raciales y étnicas que algoritmo IRT/DNA.

Algoritmos IRT/DNA → Ante una concentración elevada de IRT se realiza un análisis del gen CFTR en la misma muestra, y así detectar las mutaciones más comunes de esta enfermedad, así como aquellas mutaciones asociadas con la forma severa de Fibrosis Quística. En este caso el punto de corte de IRT suele ser más bajo, de forma que el análisis de ADN es el factor determinante para obtener una sensibilidad y selectividad adecuadas. La European Concerted Action on Cystic Fibrosis ha propuesto que el panel de mutaciones abarque un mínimo del 80% de las mutaciones de la población estudiada de forma que los falsos negativos sean los menos posibles.

Cuando se decide aplicar un panel de mutaciones en vez de la detección de la mutación prevalente $\Delta F508$ se consigue aumentar de forma significativa el porcentaje de niños afectados detectados y se reduce mucho en índice de falsos negativos. Por el contrario, aumenta bastante el número de recién nacidos portadores de la enfermedad que necesita de asesoramiento genético a los padres. Este protocolo suele ser muy eficaz en la detección de FQ en poblaciones caucásicas no hispanas, cubiertas en su mayoría por los paneles de mutaciones de FQ que se utilizan en los programas de cribado neonatal, pero que pueden rendir un alto número de falsos negativos en otros tipos de poblaciones.

En algunos programas de cribado se opta por definir concentraciones de IRT muy elevadas que se consideran como positivas para el cribado, independientemente de los resultados obtenidos en el análisis de DNA. De esta forma, con este protocolo “a prueba de fallos”, se evitan los falsos negativos de aquellos niños con FQ cuyas mutaciones no están contempladas en el panel de mutaciones utilizado.

La cuantificación de IRT en sangre impregnada en papel no es una prueba diagnóstica de Fibrosis Quística, por lo que, ante un resultado positivo de la prueba, se debe confirmar mediante el test del sudor (método de Gibson-Cooke) que es el “gold estándar” para el diagnóstico de la Fibrosis Quística y cuya positividad indica

una probabilidad muy elevada de padecer dicha enfermedad. La prueba consiste en la cuantificación de iones cloruro (Cl^-) en muestras de sudor obtenidas mediante la administración transdérmica de pilocarpina mediante iontoforesis para estimular la secreción de las glándulas sudoríparas, de forma que concentraciones elevadas de Cl^- es indicativo de padecer FQ.

Esta prueba tiene ciertas limitaciones en cuanto a la edad y el peso del recién nacido. La concentración de electrolitos en sudor es elevada durante las primeras 24 horas de vida del neonato disminuyendo paulatinamente hasta el tercer día de vida a concentraciones normales. Se recomienda hacer la prueba después de las 48 h de vida en neonatos con ileo meconial y a las dos semanas de vida en aquellos recién nacidos con test positivos en el cribado neonatal. En este caso el factor más determinante es el peso del neonato el cual se recomienda que sea superior a 2 Kg.

Esta prueba puede ser muy costosa cuando se utilizan protocolos que rinden muchos falso negativos. Se han propuesto protocolos alternativos que intentan aunar las ventajas de los dos protocolos anteriores (baja detección de portadores y evitar pedir nueva muestra para confirmación de resultados) con el fin de disminuir en lo posible el número de test de sudor a realizar. Dichos protocolos se denominan IRT/IRT/DNA y IRT/DNA/IRT.

¿Cuándo se solicita?

El cribado neonatal para la Fibrosis Quística empezó a ser planteada en los años 60 y 70, cuando el único método aplicable era la medida de la albúmina en el meconio, pero dicho test era muy poco sensible y específico. En 1979 se estableció que la Tripsina Inmunelectiva (IRT) estaba elevada en los recién nacidos con Fibrosis Quística. El problema de un ensayo basado en la concentración de IRT es su poca especificidad en los primeros días de vida, aunque su sensibilidad es bastante elevada (aprox. 98%). El valor predictivo positivo (PPV) de este ensayo es de aproximadamente el 3-10% a los 2-5 días de vida; por lo que al poco tiempo se optó por una doble estrategia IRT/IRT, obteniéndose de esta forma un PPV del 50%.

En 1989 se identificó y clonó el gen CFTR, situado en el brazo largo del cromosoma 7, describiéndose asimismo la existencia de una mutación prevalente, la ΔF508 . Todo esto hizo posible que se pudiera realizar el análisis de la mutación prevalente en la misma muestra del recién nacido que daba positiva en el análisis de la concentración de IRT evitándose de esta forma el tener que solicitar nueva muestra de sangre impregnada en papel. Así, en áreas donde la mutación ΔF508 es

particularmente frecuente (poblaciones procedentes principalmente del norte de Europa) es posible realizar el cribado utilizando sólo esta mutación. En aquellas regiones donde dicha mutación es menos frecuente es necesario incluir más mutaciones en los programas de cribado neonatal para Fibrosis Quística.

En los últimos años, la detección de Fibrosis Quística ha sido introducida en los Programas Nacionales de Cribado Neonatal de algunos países de Europa como Francia, Reino Unido, Austria y Rusia. En España, en 2008 habían siete Comunidades Autónomas que ya lo habían introducido en sus programas de Cribado Neonatal desde hace algunos años, lo que implica tener datos reales de la incidencia de FQ en dichas regiones: desde 1999 Cataluña (1:5840), Castilla y León (1:4339) e Islas Baleares (1:6602); desde 2003 Galicia (1:4430), y Extremadura; desde 2006 Aragón y desde 2007 la Región de Murcia (1:5376) consiguiéndose una cobertura nacional del 29.42% de la población neonatal de 2008. Recientemente se han implantado protocolos de detección precoz de la FQ en los programas de cribado neonatal de las Islas Canarias (2009) y la Comunidad de Madrid (2010).

En el resto de CCAA la prueba se solicita ante la sospecha clínica del pediatra.

¿Qué significa el resultado?

La consideración de cribado negativo para la detección de FQ dependerá del protocolo que se aplique:

- **Protocolo IRT/IRT** → cuando la concentración de IRT está por debajo del punto de corte que cada laboratorio establezca bien en la muestra inicial o en la segunda muestra de confirmación.
- **Protocolo IRT/DNA** → cuando la concentración de IRT está por debajo del punto de corte en la muestra inicial o cuando no se encuentra ninguna mutación en la confirmación de una muestra con IRT positiva.

Cualquier otra consideración distinta a las anteriores supondrá la realización del test del sudor en el recién nacido con sospecha de Fibrosis Quística, así como una valoración clínica inicial del mismo y asesoramiento a los padres por un especialista de la Unidad de Fibrosis Quística correspondiente. Dependiendo del resultado obtenido en el test del sudor se tomarán diferentes actuaciones, así:

En caso de test del sudor positivo ($[Cl^-]$ > 60 mEq/L) se realiza un estudio completo del gen en busca de mutaciones, en el caso de que éstas no hayan sido detectadas

anteriormente (protocolo IRT/IRT o detección de sólo una mutación en el protocolo IRT/DNA), así como una valoración clínica completa del recién nacido y un seguimiento posterior y en su caso establecimiento del tratamiento correspondiente.

En caso de test de sudor dudoso o “borderline” ($[Cl^-]$ entre 30 y 60 mEq/L) se realizaría un estudio del gen, se le repetiría de nuevo el test y se sometería a un seguimiento clínico del neonato. Los resultados obtenidos de algunos programas de cribado neonatal indica que recién nacidos con Fibrosis Quística de 1 a 6 semanas de edad tienden a tener niveles de Cl^- mas bajos que los encontrados en pacientes con FQ con mayor edad, por lo que se recomienda considerar que el límite inferior de $[Cl^-]$ sea de 30 mEq/L y no 40 mEq/L.

En caso de test de sudor negativo ($[Cl^-]<30$ mEq/L), si no se han detectado mutaciones (protocolo IRT/IRT) el niño se considera como negativo para FQ, en el caso de la detección de sólo una mutación (protocolo IRT/DNA) se realizaría el asesoramiento genético correspondiente a un paciente portador de mutación para FQ. Si se hubieran detectado dos mutaciones en el cribado, se repetiría el test de sudor y se sometería a control clínico en la Unidad de Fibrosis Quística.

Los recién nacidos con íleo meconial y que padecen FQ pueden presentar unos valores iniciales de IRT bajos, lo que conduce a falso negativo en la detección. El 10% de los recién nacidos con Fibrosis Quística presentan esta condición; por tanto, se recomienda que todos los pacientes con íleo meconial se les realice el test del sudor sin tener en cuenta los resultados del cribado neonatal.

Tratamiento

La expectativa de vida de estos pacientes ha mejorado enormemente en los últimos 30 años. La detección precoz de la enfermedad en el periodo neonatal permite la instauración de un tratamiento adecuado, en cuanto se detecta la primera colonización bronquial por el patógeno *Pseudomonas aeruginosa*, lo que permite en muchos casos su erradicación, y por tanto se retrasa la colonización crónica que se produce en estos pacientes. Todo esto tiene como consecuencia más importante una mejor evolución de esta patología. Así, una detección precoz de la Fibrosis Quística y un plan de tratamiento integral pueden mejorar tanto la supervivencia como la calidad de vida de estos pacientes.

Los pulmones de las personas con FQ son colonizados e infectados por bacterias desde edades tempranas. En una primera etapa, ciertas bacterias ordinarias como

Staphylococcus aureus y *Haemophilus influenzae* colonizan e infectan los pulmones. Más tarde, sin embargo, prevalecen *Pseudomonas aeruginosa*. Una vez diseminadas por las vías respiratorias, estas bacterias se adaptan al medio y desarrollan resistencia a los antibióticos convencionales. *Pseudomonas* puede adquirir ciertas características especiales, dando lugar a la formación de grandes colonias, estas cepas son conocidas como *Pseudomonas* "mucoide" y son raras en personas libres de la enfermedad. Además de la infección bacteriana, los pacientes con FQ están predispuestos a la colonización fúngica por la capacidad que tienen algunos hongos (*Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*) de colonizar la vía respiratoria inferior y por los frecuentes ciclos de antibióticos que precisan para el control de la enfermedad.

Un aspecto fundamental en la terapéutica de la Fibrosis Quística es el control y tratamiento del daño pulmonar causado por el moco espeso y por las infecciones, con el objeto de mejorar la calidad de vida del paciente. El tratamiento para los problemas pulmonares abarca:

- Antibióticos para prevenir y tratar infecciones sinusales y pulmonares. Éstos se pueden tomar por vía oral o aplicarse por vía intravenosa o por medio de tratamientos respiratorios.
- Medicamentos inhalados para ayudar a abrir las vías respiratorias.
- Terapia sustitutiva de la enzima DNAasa para diluir el moco y facilitar la expectoración.
- Vacuna antigripal y vacuna antineumocócica polisacárida (PPV) de forma anual.
- El trasplante de pulmón es una opción en algunos casos.
- La oxigenoterapia se puede necesitar a medida que la enfermedad pulmonar empeora.

Una dieta sana, ejercicio y tratamiento con antibióticos está aumentando la esperanza de vida de los enfermos.

¿Hay algo más que debería saber?

- La FQ es una enfermedad con manifestaciones clínicas muy dispares.
- Hay niños diagnosticados de FQ con muy poca afectación orgánica, buena calidad de vida y alta expectativa de longevidad.

- En algunos casos la enfermedad es grave.
- Ante un diagnóstico de FQ hay que consultar con los pediatras especializados de una Unidad Clínica de Referencia.
- La búsqueda de información en páginas web inadecuadas proporciona un muy alto grado de ansiedad a los padres.

Bibliografía.

11. C. Vazquez Cordero, J. Erloz Lambarri. "Fibrosis quística de páncreas (mucoviscidosis): diagnóstico y tratamiento". Cap 62 del libro "Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias". Coord. Pablo Sanjurjo y Antonio Baldellou. 2ª edición (2006). Editorial Ergon.
12. Comeau AM, Accurso FJ, White TB et al. "Guidelines for implementation of Cystic Fibrosis Newborn Screening Programs: Cystic Fibrosis Foundation Workshop Report". *Pediatrics* 2007; 119; e495-e518.
13. Ross LF. "Newborn Screening for Cystic Fibrosis: A Lesson in public health disparities". *J. Pediatr.* 2008; 153(3): 308-313.
14. Southern KW, Mérelle MME et al. "Newborn Screening for Cystic Fibrosis (Review)". *Cochrane Database Syst Rev* 2009; 21(1):CD001402.
15. Farrell PM, Rosenstein BJ et al "Guidelines for Diagnosis of Cystic Fibrosis in Newborns through Older Adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report". *J Pediatr* 2008; 153(2): S4-S14.
16. Mayell SJ, Munk A et al "A European consensus for the evaluation and management of infants with an equivocal diagnosis following newborn screening for cystic fibrosis" *J Cyst Fibros* 2009; 8: 71-78.
17. Wilken B. "Newborn screening for Cystic fibrosis: Techniques and strategies". *J Inherit Metab Dis* 2007; 30: 537-543.
18. Kloosterboer M, Hoffman G et al "Clarification of Laboratory and Clinical Variables That Influence Cystic Fibrosis Newborn Screening With Initial Analysis of Immunoreactive Trypsinogen". *Pediatrics* 2009; 123: e338-e346.
19. Gartner S, Cobos N. "Cribado neonatal para la fibrosis quística". *An Pediatr (Barc)* 2009; 71(6): 481-482.
20. Sontag MK, Wrigth D et al "A New Cystic Fibrosis Newborn Screening Algorithm: IRT/IRT1 \uparrow /DNA". *J Pediatr* 2009; 155(5): 68-622.
21. McKay KO. "Cystic fibrosis: Benefits and clinical outcome". *J Inherit Metab Dis* 2007; 30: 544-555

DEFICIENCIA DE BIOTINIDASA

Aspectos generales

¿Por qué hacer el análisis?

Para detectar precozmente la deficiencia de biotinidasa. Se trata de un desorden genético en el que el niño afectado no exhibe síntomas al nacer pero paulatinamente se van produciendo severos daños que se manifiestan en la infancia. Sus consecuencias metabólicas características son debidas al papel que las carboxilasas juegan en la gluconeogénesis, síntesis de ácidos grasos y catabolismo de aminoácidos. Su espectro clínico es amplio e inespecífico, predominando los signos neurológicos y dermatológicos.

El diagnóstico precoz permite la instauración de una terapia con biotina que evita las secuelas irreversibles.

¿Cuándo hacer el análisis?

Se realiza conjuntamente con las demás pruebas del cribado neonatal, recomendadas generalmente a partir de las 48 horas de vida, de todas formas esta prueba se podría realizar en el momento del nacimiento pues lo que se determina es una actividad enzimática y no es dependiente de la alimentación.

Ante un paciente con clínica compatible con esta deficiencia que no haya sido analizado en el período neonatal, se debe realizar la determinación de biotinidasa a cualquier edad.

¿Qué muestra se requiere?

Se requiere muestra de sangre impregnada en papel. Cuando la prueba está incluida dentro del programa de cribado metabólico neonatal, esta muestra se obtiene por punción del talón. El material suministrado, dentro de estos programas para la toma de muestra de sangre del recién nacido incluye tarjetas de papel de filtro (Whatman®903 o similar) con círculos impresos para este fin.

¿En que consiste?

¿Qué es lo que se analiza?

Se analiza la biotinidasa que es un enzima cuya deficiencia produce una alteración del metabolismo de la biotina que origina una deficiencia múltiple en carboxilasas.

El método más común para medir este enzima es un ensayo colorimétrico. Se basa en la reacción que este enzima produce sobre un sustrato artificial añadido a la muestra (ácido N-biotinil-p-aminobenzoico), éste provoca la liberación del ácido p-aminobenzoico que posteriormente es diazotizado y acoplado a un naftol derivado para formar un azocompuesto cromógeno, se produce un color rosa-púrpura que es valorado mediante lectura visual. La ausencia de color se interpreta como ausencia de actividad enzimática. Existe la posibilidad de realizar una lectura fotométrica a 530 nm.

Interferencias del método: medicamentos administrados a la madre inmediatamente antes del parto o al recién nacido que aporten de forma primaria o bien por hidrólisis un grupo amino aromático, como es el caso de las sulfonamidas, la fenitoina, ampicilina, sulfato de gentamicina, vitamina K, penicilina G potásica, y sulfato de kanamicina debido a las concentraciones en las que se encuentra en suero.

¿Cómo se obtiene la muestra para el análisis?

Los resultados obtenidos en el cribado dependen de la calidad de las muestras de sangre. La necesidad de una nueva extracción de sangre a causa de una muestra incorrecta provoca retrasos innecesarios en la detección, diagnóstico y tratamiento de los recién nacidos afectados por alguna enfermedad.

Cuando la prueba está incluida dentro del programa de cribado neonatal, la muestra de sangre se obtiene por punción del talón.

Para la toma de la muestra se debe disponer de un dispositivo de incisión y corte, de poca profundidad y un solo uso, estos proporcionan un flujo de sangre adecuado con menor dolor para el RN. Si no disponemos de estos podremos utilizar una lanceta estéril con punta de menos de 2.4 mm. Antes de realizar la punción debemos calentar la zona mediante masaje para aumentar el flujo de sangre capilar. La punción debe hacerse en la parte lateral externa del talón, nunca en la línea media. La primera gota de sangre que fluye después de la punción debe ser descartada, retirándola con una gasa estéril, ya que es probable que esté contaminada con

fluidos tisulares. Esperar a que se forme una gota de sangre grande y colocar el papel contra la gota de forma que se empape y se rellene completamente el círculo. Impregnar la tarjeta llenando cada círculo impreso por completo y con una sola aplicación por círculo. La sangre debe ser recogida de una sola vez. No presionar el papel contra el lugar en el que se realizó la punción. La sangre debe ser aplicada sólo en un lado del papel. Se deben examinar ambos lados del papel para comprobar que la sangre penetró de forma uniforme y empapó el mismo. Después de que haya sido recogida la sangre elevar el pie del niño y presionar con un apósito hasta que deje de sangrar. Dejar secar la tarjeta en una superficie horizontal plana no absorbente que esté seca y limpia, durante al menos tres horas a temperatura ambiente (15-22°C) y evitar la luz solar directa. La tarjeta no debe ser manipulada ni colocada en superficies húmedas o contaminadas. Para la obtención de muestras de sangre sobre papel se debe disponer además de guantes y un contenedor de material rígido para la eliminación del material punzante. Sólo se debe utilizar papel que cumpla con las normas del *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) (papel Whatman®903 o similar). Se debe diseñar el formato de formulario y tarjeta de la toma de sangre que mejor se adapte a las necesidades del programa. Antes de realizar la extracción se debe rellenar el formulario en el que debe constar información detallada acerca de la identificación del niño (nombre y apellidos, fecha de nacimiento, dirección y teléfono), datos clínicos del niño (peso al nacimiento, semanas de gestación, medicamentos, transfusión sanguínea) y otros datos (fecha y hora de la extracción de sangre, posibles interferencias debidas a compuestos derivados del yodo) y datos de la madre. En prematuros y niños de bajo peso se debe tener especial cuidado en la profundidad de la incisión, debido a la proximidad del hueso calcáneo a la superficie de la piel. En estas situaciones se pueden considerar otros métodos de recolección de muestra.

No es recomendable el procedimiento, relativamente extendido, de recoger la gota de sangre con un capilar y posteriormente dejar caer la gota sobre el papel secante sin tocarlo, ya que este método aumenta el número de muestras sobreimpregnadas. La recolección de sangre venosa de forma rutinaria para cribado neonatal está desaconsejada. La posibilidad de que la muestra de sangre sea de procedencia venosa debe ser tenida en cuenta por los laboratorios que realizan el análisis ya que los resultados del análisis pueden verse influidos por el origen de la sangre.

La mancha de sangre encima de una mancha anterior o una mancha doble provoca resultados no válidos por lo que la muestra no debe ser utilizada. Tampoco deben ser analizadas las muestras con cantidades insuficientes de sangre pues pueden dar lugar a resultados falsos negativos.

La actividad de biotinidasa se ve afectada con el tiempo y la temperatura ambiente, por ello es recomendable, una vez recogida la muestra, enviarla al laboratorio sin demora y no exponerla a temperaturas elevadas, minimizando así la posibilidad de falsos positivos derivados de la degradación del enzima

¿Es necesario algún tipo de preparación previa?

Para obtener una cantidad suficiente de sangre se recomienda comenzar por calentar el lugar de la punción (superficie plantar del talón) unos tres minutos con un paño suave a una temperatura no superior a 42°C o alternativamente con un masaje enérgico en el talón del recién nacido, para incrementar el flujo de sangre, después hay que limpiar con alcohol de 70° y secar al aire. Los derivados yodados no deben utilizarse como desinfectante.

Acerca de la prueba

¿Cómo se utiliza?

Para la detección de la deficiencia primaria biotinidasa y secundariamente la deficiencia múltiple de carboxilasas.

¿Cuándo se solicita?

En España la detección precoz de la deficiencia de biotinidasa se realiza únicamente en la comunidad gallega, incluida dentro del conjunto de enfermedades del cribado neonatal de enfermedades metabólicas, por ello esta prueba no se solicita como prueba independiente por un facultativo sino que es una actividad de salud pública que se realiza a todos recién nacidos de la población.

Ante un paciente con clínica compatible con esta deficiencia que no haya sido analizado en el período neonatal, se debe realizar la determinación de biotinidasa a cualquier edad.

¿Qué significa el resultado?

Las determinaciones realizadas en sangre impregnada en papel no son diagnósticas. Todo resultado anormal en el cribado debe ser confirmado con análisis en suero, en muestras de sangre extraídas por punción venosa. El niño debe ser remitido a una unidad de diagnóstico y tratamiento de alteraciones metabólicas con el objetivo de asegurar un estándar apropiado de evaluación clínica, diagnóstico, tratamiento y seguimiento.

El estudio de confirmación diagnóstica consiste en la realización de una anamnesis familiar y personal, búsqueda de síntomas y signos clínicos y determinaciones analíticas.

La determinación de los niveles séricos de actividad de biotinidasa constituye la parte fundamental de la confirmación diagnóstica. Si los niveles son normales (rango de referencia 6.9 ± 1.7 nmol/min/ml suero) es considerado como un falso positivo del cribado. Si la actividad sérica de biotinidasa es menor del 10% del rango de normalidad, se considera que el paciente presenta una deficiencia total de biotinidasa, en aquellos casos que la actividad se encuentra entre el 10-30% se trata de una actividad parcial de biotinidasa.

Tratamiento

Los pacientes son tratados con dosis farmacológicas de biotina, evitando las graves secuelas irreversibles y permitiendo un desarrollo normal. La simplicidad y eficacia del tratamiento hace que la detección precoz en periodo neonatal de esta patología sea altamente recomendable.

Bibliografía.

- 1- "A Screening Method for Biotinidase Deficiency in Newborns" Gregory S. Heard, Julie R. Secor McVoy and Barry Wolf. Clin.Chem.30/1 125-127(1984)
- 2- "Biotinidase deficiency: the enzymatic defect in late-onset multiple carboxylase deficiency" Barry Wolf, Robert E. Grier, Richard J. Allen, Stephen I. Goodman. Clin.Chem Act.131 (1983) 273-281.
- 3- Tría Neonatal de Biotinidasa. Distribución de valores de absorbancia en la comprobación de actividad sobre muestras en fase sólida. Castiñeiras Ramos DE, Bóveda Fontán MD, Cocho de Juan JA, Alonso Fernández JR.
Póster en el VII International Congress on Automation and New Technology in Clinical Laboratory

4.- Procedimiento para la obtención y recogida de especímenes de sangre sobre papel de filtro en los programas de detección precoz neonatal de errores congénitos del metabolismo. Comisión de Errores Metabólicos SEQC. Química Clínica 2001; 20(2) 81-88.

GALACTOSEMIA

Aspectos generales

¿Por qué hacer el análisis?:

La galactosa es un azúcar simple obtenido a partir de la hidrólisis o ruptura de de otra molécula compuesta, la lactosa, presente en grandes cantidades en la leche. Se absorbe en el intestino y se transforma en glucosa en el hígado.

La **galactosemia** es una enfermedad hereditaria que se caracteriza por la incapacidad de utilizar la galactosa por el organismo donde se acumula y si no se trata de forma precoz y adecuada puede provocar lesiones en el hígado, insuficiencia renal, afectación del sistema nervioso central, retraso en el crecimiento y cataratas entre otras.

Se conocen tres trastornos del metabolismo de la galactosa que producen galactosemia. Los tres son de herencia autosómica recesiva y causan algún tipo de síndrome tóxico. Por ello, es esencial establecer un diagnóstico y un tratamiento rápidos.

¿Cuándo hacer el análisis?

Se puede realizar conjuntamente con las demás pruebas del cribado neonatal. La toma de muestra se recomienda realizarla a partir de las 48 horas y antes del 5º día de vida. Es necesario que el recién nacido (RN) haya comenzado a alimentarse con leche para que la lactosa presente en la misma se rompa y libere galactosa y glucosa. El niño afectado por la enfermedad no es capaz de metabolizar la galactosa y esta comienza a acumularse, por lo que es urgente retirar completamente la galactosa de la dieta. Hay que actuar lo más rápidamente posible para evitar los daños y sus secuelas.

Nota: Ante un paciente con clínica compatible con esta enfermedad que no haya sido analizado en el período neonatal, se debe realizar investigar una galactosemia a cualquier edad.

¿Qué muestra se requiere?

Se requiere muestra de sangre recogida con un anticoagulante o bien impregnada en papel. Cuando la prueba está incluida dentro del programa de cribado metabólico

neonatal, esta muestra se obtiene por punción del talón. El material suministrado, dentro de estos programas para la toma de muestra de sangre del recién nacido incluye tarjetas de papel de filtro (Whatman®903 o similar) con círculos impresos para este fin.

¿En que consiste?

¿Qué es lo que se analiza?

Como se ha dicho, existen tres tipos de galactosemia debidas a diferentes “errores” metabólicos. La más frecuente es la llamada **Galactosemia clásica** debida a la deficiencia de galactosa-1-P-uridil transferasa (GALT). Se trata de un error congénito del metabolismo de los carbohidratos o “azúcares” causado por mutaciones en el gen *GALT*.

Para su detección en los programas de cribado neonatal se mide la actividad GALT o la concentración de galactosa o de galactosa-1-fosfato en sangre impregnada en papel mediante métodos colorimétricos, fluorimétricos, cromatográficos o de espectrometría de masas en tándem..

Si la detección es “positiva”, y para confirmar el diagnóstico de la enfermedad en todos los casos, deberemos medir la concentración de galactosa-1-fosfato y la actividad GALT en eritrocitos del niño. La demostración del defecto enzimático y el estudio de las mutaciones genéticas permiten, además, realizar el consejo genético a las familias.

¿Cómo se obtiene la muestra para el análisis?

Los resultados obtenidos en el cribado dependen de la calidad de las muestras de sangre. La necesidad de una nueva extracción de sangre a causa de una muestra incorrecta provoca retrasos innecesarios en la detección, diagnóstico y en el tratamiento del recién nacido con galactosemia.

Para la toma de la muestra se debe disponer de un dispositivo de incisión y corte, de poca profundidad y un solo uso, estos proporcionan un flujo de sangre adecuado con menor dolor para el RN. Si no disponemos de estos podremos utilizar una lanceta

estéril con punta de menos de 2.4 mm. Antes de realizar la punción debemos calentar la zona mediante masaje para aumentar el flujo de sangre capilar. La punción debe hacerse en la parte lateral externa del talón, nunca en la línea media. La primera gota de sangre que fluye después de la punción debe ser descartada, retirándola con una gasa estéril, ya que es probable que esté contaminada con fluidos tisulares. Esperar a que se forme una gota de sangre grande y colocar el papel contra la gota de forma que se empape y se rellene completamente el círculo. Impregnar la tarjeta llenando cada círculo impreso por completo y con una sola aplicación por círculo. La sangre debe ser recogida de una sola vez. No presionar el papel contra el lugar en el que se realizó la punción. La sangre debe ser aplicada sólo en un lado del papel. Se deben examinar ambos lados del papel para comprobar que la sangre penetró de forma uniforme y empapó el mismo. Después de que haya sido recogida la sangre elevar el pie del niño y presionar con un apósito hasta que deje de sangrar. Dejar secar la tarjeta en una superficie horizontal plana no absorbente que esté seca y limpia, durante al menos tres horas a temperatura ambiente (15-22°C) y evitar la luz solar directa. La tarjeta no debe ser manipulada ni colocada en superficies húmedas o contaminadas. Para la obtención de muestras de sangre sobre papel se debe disponer además de guantes y un contenedor de material rígido para la eliminación del material punzante. Sólo se debe utilizar papel que cumpla con las normas del *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) (papel Whatman®903 o similar). Se debe diseñar el formato de formulario y tarjeta de la toma de sangre que mejor se adapte a las necesidades del programa. Antes de realizar la extracción se debe rellenar el formulario en el que debe constar información detallada acerca de la identificación del niño (nombre y apellidos, fecha de nacimiento, dirección y teléfono), datos clínicos del niño (peso al nacimiento, semanas de gestación, medicamentos, transfusión sanguínea) y otros datos (fecha y hora de la extracción de sangre, posibles interferencias debidas a compuestos derivados del yodo) y datos de la madre. En prematuros y niños de bajo peso se debe tener especial cuidado en la profundidad de la incisión, debido a la proximidad del hueso calcáneo a la superficie de la piel. En estas situaciones se pueden considerar otros métodos de recolección de muestra.

No es recomendable el procedimiento, relativamente extendido, de recoger la gota de sangre con un capilar y posteriormente dejar caer la gota sobre el papel secante

sin tocarlo, ya que este método aumenta el número de muestras sobreimpregnadas. La recolección de sangre venosa de forma rutinaria para cribado neonatal está desaconsejada. La posibilidad de que la muestra de sangre sea de procedencia venosa debe ser tenida en cuenta por los laboratorios que realizan el análisis ya que los resultados del análisis pueden verse influidos por el origen de la sangre.

La mancha de sangre encima de una mancha anterior o una mancha doble provoca resultados no válidos por lo que la muestra no debe ser utilizada. Tampoco deben ser analizadas las muestras con cantidades insuficientes de sangre pues pueden dar lugar a resultados falsos negativos.

¿Es necesario algún tipo de preparación previa?

Para obtener una cantidad suficiente de sangre se recomienda comenzar por calentar el lugar de la punción (superficie plantar del talón) unos tres minutos con un paño suave a una temperatura no superior a 42°C o alternativamente con un masaje enérgico en el talón del recién nacido, para incrementar el flujo de sangre, después hay que limpiar con alcohol de 70° y secar al aire. Los derivados yodados no deben utilizarse como desinfectante.

Acerca de la prueba

¿Cómo se utiliza?

El análisis tiene como finalidad determinar la deficiencia de galactosa-1-P-uridil transferasa (GALT) o, más raramente, de los otros dos enzimas cuya infrecuente deficiencia causa también galactosemia (galactoquinasa y UDP-galactosa 4 epimerasa).

¿Cuándo se solicita?

En España la detección precoz de galactosemia se realiza únicamente en la comunidad gallega, incluida dentro del conjunto de enfermedades del programa de cribado neonatal de enfermedades metabólicas. En realidad hay controversia al respecto y muchos países no incluyen la galactosemia en sus programas neonatales debido a la muy temprana manifestación de síntomas clínicos; normalmente cuando se detecta un caso positivo, el niño afecto ha sido ya ingresado en el hospital, en general a causa de su ictericia.

Por ello, en el resto de las CCAA la prueba es solicitada por el pediatra ante un paciente con clínica compatible con esta deficiencia. El cuadro clínico de las galactosemias es el resultante de la toxicidad de la galactosa o sus derivados. En la deficiencia de galactoquinasa es más leve y suele limitarse al desarrollo de cataratas. En las deficiencias de transferasa y epimerasa aparece un cuadro agudo caracterizado por rechazo del alimento, vómitos, diarreas, fallo de crecimiento, ictericia, hepatopatía, retraso mental y cataratas.

¿Qué significa el resultado?

Las determinaciones realizadas en sangre impregnada en papel no son diagnósticas. Todo resultado anormal en el cribado debe ser confirmado con análisis en muestras de sangre no coagulada extraídas por punción venosa. El niño debe ser remitido a una unidad Clínica de Referencia para ECM con el objetivo de establecer el diagnóstico y realizar el tratamiento y seguimiento adecuados.

El estudio de confirmación diagnóstica consiste en la realización de una anamnesis familiar y personal con búsqueda de síntomas y signos clínicos. Las determinaciones analíticas pueden incluir la valoración de galactosa y galactitol en plasma y orina, de galactosa-1-fosfato en eritrocitos y, finalmente deben demostrar el defecto enzimático de GALT (o de los otros enzimas) en los hematíes. El estudio de las mutaciones en el correspondiente gen completa el estudio. Ante un paciente con un cuadro clínico sugestivo de galactosemia es importante tener en cuenta que si se le ha retirado la galactosa de la dieta, no detectaremos galactosa en plasma ni en orina, y por lo tanto tampoco será positivo el análisis de cuerpos reductores en orina. También es importante tener en cuenta que si se han realizado transfusiones sanguíneas, las determinaciones en eritrocitos pueden resultar modificadas durante 3-4 meses.

Tratamiento

El tratamiento es fundamentalmente dietético y consiste en una dieta libre de galactosa, sin leche ni productos lácteos, con la que se normalizan los síntomas agudos.

El tratamiento debe instaurarse lo más precozmente posible y mantenerse de por vida. El cumplimiento debe controlarse de forma rigurosa. Para ello es aconsejable valorar periódicamente la galactosa-1-fosfato y/o el galactitol. Estos metabolitos,

aunque disminuyen notablemente con la dieta, nunca se normalizan y conviene que su concentración se mantenga lo más baja posible. Una vez instaurado el tratamiento, el cuadro clínico severo revierte, y en muchos de los casos las cataratas desaparecen. Sin embargo, en la galactosemia clásica, estudios de pacientes tratados muestran que, en cierto número de casos, la dieta exenta de galactosa no es capaz de prevenir totalmente un cierto daño neurológico y que la mayoría de las mujeres afectas presentan fallo ovárico. La aparición de esas patologías a largo plazo parece ser independiente de la precocidad de la instauración del tratamiento,

Bibliografía.

1. Gitzelman R. Estimation of galactose-1-phosphate in erythrocytes: a rapid and simple enzymatic method. *Clin Chim Acta* 1969; 26(2): 313-6.
2. Misuma H, Wada H, Kawakami N, Ninomiya H, Shohmori T. Galactose and galactose-1-phosphate spot test for galactosemia screening. *Clin Chim Acta* 1981; 111(1):27-32.
3. Bowling FG, Brown AR. Development of a protocol of newborn screening for disorders of the galactose metabolic pathway. *J Inherit Metab Dis* 1986; 99(1):99-104.
4. Jensen UG, Brandt NJ, Christensen E, Skovby F, Norgaard-Pedersen B, Simonsen H. Neonatal screening for galactosemia by quantitative analysis of hexose monophosphates using tandem mass spectrometry: a retrospective study. *Clin Chem* 2001; 47(8):1364-72.
5. Zaffanello M, Zamboni G, Schadewaldt P, Borgiani P, Novelli G. Neonatal Screening, clinical features and genetic testing for galactosemia. *Genet Med* 2005; 7(3):211-2.
6. Bosch AM. Classical galactosaemia revisited. *J Inherit Metab Dis* 2006; 29(4):516-25.
7. Gort L, Boleda MD, Tyfield L, Vilarinho L, Rivera I, Cardoso ML et al. Mutational spectrum of classical galactosaemia in Spain and Portugal. *J Inherit Metab Dis*. 2006; 29(6):739-42.
8. Loeber JG. Neonatal screening in Europe; the situation in 2004. *J Inherit Metab Dis*. 2007; 30(4):430-8.
9. Calderon FR, Phansalkar AR, Crockett DK, Miller M, Mao R. Mutation database for the galactose-1-phosphate uridylyltransferase (GALT) gene. *Hum Mutat*. 2007; 28(10):939-43.
10. Briones P, Dominguez M^aC y Girós M. Glucogenosis y otras alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono. Farreras-Rozman; decimosexta edición, volumen II, pág: 1948-1954.

HEMOGLOBINOPATÍAS.

Nombre de la enfermedad: Anemia falciforme. Drepanocitosis. Anemia de células drepanocíticas.

Tipo de trastorno metabólico: Hemoglobinopatía.

Aspectos generales.

Existen diferentes enfermedades hereditarias originadas como consecuencia de la producción de hemoglobinas anormales que afectan a millones de personas en todo el mundo. Entre estas, las más importantes son aquellas que están relacionadas con alteraciones en la cadena beta de la hemoglobina, siendo la más importante la drepanocitosis o anemia falciforme, que se origina por la producción de una hemoglobina anormal, la Hb S.

La hemoglobina es una proteína que tiene en su estructura un componente proteico (globina) y otro no proteico (grupo hemo). El componente proteico de la hemoglobina está formado por 4 subunidades, 2 cadenas alfa y 2 cadenas beta del tipo de las globinas. La hemoglobina normal (Hb A) es una proteína que contiene hierro en su molécula, se encuentra localizada en el interior de los hematíes y es la encargada del transporte de oxígeno por la sangre desde los pulmones a otras partes del organismo liberándolo a las diferentes células y tejidos, necesario para que realicen su propio metabolismo.

La producción de Hb S proviene de la existencia de una alteración (mutación) en el gen que codifica la producción de la cadena β de la hemoglobina que da lugar a la sustitución del aminoácido glutámico por la valina en la posición 6 de la citada cadena β resultando la producción de esa hemoglobina anormal.

La presencia en los hematíes de este tipo de hemoglobina anormal (Hb S), que puede formar polímeros entre sus moléculas, va a originar una modificación en la forma de los mismos que pasa de ser un disco normal, a adoptar forma de media luna (forma de hoz). Este cambio en la forma de los hematíes altera su capacidad de movimiento libre por todo el organismo limitando asimismo la capacidad de la hemoglobina para transportar oxígeno y disminuyendo la vida media de los mismos, que pasa de ser unos 120 días a tan sólo 10 a 20 días.

La persona afectada puede padecer una anemia, puesto que el organismo no puede sintetizar hematíes a una velocidad mayor a la que son destruidos.

Tipos de hemoglobinopatías S.

La hemoglobinopatía S puede existir bajo diferentes formas:

* Forma heterocigota o “rasgo falciforme”. La mutación afecta a un solo alelo de los dos que codifican la cadena β de la molécula de hemoglobina y presentará un genotipo $\beta^A \beta^S$. Estos individuos contienen un porcentaje de Hb cercano al 40% y no presentan manifestaciones clínicas.

* Forma homocigota o “anemia falciforme”. La mutación afecta a los dos alelos que codifican a la cadena β de la molécula de hemoglobina y presentará un genotipo $\beta^S \beta^S$. Estos individuos presentan el denominado “síndrome drepanocítico” que conlleva la aparición de graves síntomas clínicos.

* Forma doble heterocigota HbS/ β -Talasemia. En este caso coexisten en el paciente dos alelos anormales del gen que codifica la cadena β , uno presenta la mutación de la Hb S y otro una mutación de β -talasemia. En este caso, la clínica no es tan grave como en el caso anterior.

* Forma doble heterocigota Hb S/Hb C. En el paciente coexisten 2 alelos anormales del gen de la cadena β , uno presenta la mutación de la Hb S y otro la mutación de la Hb C (Glu26Lys) con un genotipo $\beta^S \beta^C$. En este caso la expresión clínica es menos severa.

También existen otras formas de asociación de la Hb S con otras hemoglobinas anormales como la Hb E ó Hb D, e incluso con la α -talasemia, presentando una variabilidad clínica diversa.

¿Por qué hacer el análisis?

La anemia de células falciformes es una enfermedad hereditaria que presenta una serie de complicaciones secundarias, frecuentes durante los 3 primeros años de la vida, que pueden originar fatales consecuencias para los niños por lo que es recomendable su diagnóstico precoz para evitarlas y/o disminuirlas.

¿Cuándo hacer el análisis?

Tras el nacimiento, conjuntamente con la denominada “prueba del talón” o cribado neonatal de enfermedades metabólicas hereditarias. Se suele realizar de modo sistemático a partir de las 48 horas de vida en el propio hospital donde se haya producido el parto o bien en los Centros de Salud correspondientes.

¿Qué muestra se requiere?

Muestra de sangre capilar obtenida del recién nacido, recogida sobre un papel cromatográfico especial S &S 903 o similar, siempre que cumpla las normas del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

¿En qué consiste?

¿Qué es lo que se analiza?

Se analiza la presencia en la sangre de hemoglobinas anormales. Aquí nos vamos a referir exclusivamente a la presencia de Hb S cuya composición y propiedades particulares se han descrito previamente.

Existen diferentes métodos analíticos para la determinación de hemoglobina S. De ellos, los más utilizados son la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la electroforesis capilar. Tanto uno como otro consiguen una perfecta separación de los diferentes tipos de hemoglobina que pueden existir en el recién nacido: F, A, S, C, D, E, etc. aunque es el HPLC el más empleado en los diferentes laboratorios especializados, por su total automatización y el menor tiempo de análisis.

También pueden usarse otras metodologías como el isoelectroenfoco e incluso el fluoroinmunoanálisis.

¿Cómo se obtiene la muestra para el análisis?

Los resultados obtenidos en el cribado dependen de la calidad de las muestras de sangre. La necesidad de una nueva extracción de sangre a causa de una muestra incorrecta provoca retrasos innecesarios en la detección, diagnóstico y tratamiento de los recién nacidos afectados por alguna enfermedad.

Cuando la prueba está incluida dentro del programa de cribado neonatal, la muestra de sangre se obtiene por punción del talón.

Para la toma de la muestra se debe disponer de un dispositivo de incisión y corte, de poca profundidad y un solo uso, estos proporcionan un flujo de sangre adecuado con menor dolor para el RN. Si no disponemos de estos podremos utilizar una lanceta estéril con punta de menos de 2.4 mm. Antes de realizar la punción debemos calentar la zona mediante masaje para aumentar el flujo de sangre capilar. La punción debe hacerse en la parte lateral externa del talón, nunca en la línea media.

La primera gota de sangre que fluye después de la punción debe ser descartada, retirándola con una gasa estéril, ya que es probable que esté contaminada con fluidos tisulares. Esperar a que se forme una gota de sangre grande y colocar el papel contra la gota de forma que se empape y se rellene completamente el círculo. Impregnar la tarjeta llenando cada círculo impreso por completo y con una sola aplicación por círculo. La sangre debe ser recogida de una sola vez. No presionar el papel contra el lugar en el que se realizó la punción. La sangre debe ser aplicada sólo en un lado del papel. Se deben examinar ambos lados del papel para comprobar que la sangre penetró de forma uniforme y empapó el mismo. Después de que haya sido recogida la sangre elevar el pie del niño y presionar con un apósito hasta que deje de sangrar. Dejar secar la tarjeta en una superficie horizontal plana no absorbente que esté seca y limpia, durante al menos tres horas a temperatura ambiente (15-22°C) y evitar la luz solar directa. La tarjeta no debe ser manipulada ni colocada en superficies húmedas o contaminadas. Para la obtención de muestras de sangre sobre papel se debe disponer además de guantes y un contenedor de material rígido para la eliminación del material punzante. Sólo se debe utilizar papel que cumpla con las normas del *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) (papel Whatman®903 o similar). Se debe diseñar el formato de formulario y tarjeta de la toma de sangre que mejor se adapte a las necesidades del programa. Antes de realizar la extracción se debe rellenar el formulario en el que debe constar información detallada acerca de la identificación del niño (nombre y apellidos, fecha de nacimiento, dirección y teléfono), datos clínicos del niño (peso al nacimiento, semanas de gestación, medicamentos, transfusión sanguínea) y otros datos (fecha y hora de la extracción de sangre, posibles interferencias debidas a compuestos derivados del yodo) y datos de la madre. En prematuros y niños de bajo peso se debe tener especial cuidado en la profundidad de la incisión, debido a la proximidad del hueso calcáneo a la superficie de la piel. En estas situaciones se pueden considerar otros métodos de recolección de muestra.

No es recomendable el procedimiento, relativamente extendido, de recoger la gota de sangre con un capilar y posteriormente dejar caer la gota sobre el papel secante sin tocarlo, ya que este método aumenta el número de muestras sobreimpregnadas. La recolección de sangre venosa de forma rutinaria para cribado neonatal está desaconsejada. La posibilidad de que la muestra de sangre sea de procedencia

venosa debe ser tenida en cuenta por los laboratorios que realizan el análisis ya que los resultados del análisis pueden verse influidos por el origen de la sangre.

La mancha de sangre encima de una mancha anterior o una mancha doble provoca resultados no válidos por lo que la muestra no debe ser utilizada. Tampoco deben ser analizadas las muestras con cantidades insuficientes de sangre pues pueden dar lugar a resultados falsos negativos.

¿Es necesario algún tipo de preparación previa?

No es necesario ningún tipo de preparación previa para el niño no precisando que se encuentre en ayunas. No obstante, para obtener una cantidad suficiente de sangre, es recomendable calentar previamente el lugar de la punción con un paño suave o simplemente mediante masaje suave talón para incrementar el flujo sanguíneo.

Asimismo, tenemos que limpiar la superficie de extracción con alcohol de 70º dejándolo secar al aire antes de realizar la punción.

Acerca de la prueba.

¿Cómo se utiliza?

Un niño, o persona adulta en la que se sospeche la existencia de hemoglobinopatía S, que en la determinación analítica se demuestre la presencia de una hemoglobina anormal, deberá ser examinado con carácter de preferencia por un hematólogo para que inicie el tratamiento oportuno con objeto de evitar la aparición de una serie de síntomas clínicos que llevan aparejado un incremento en la morbimortalidad.

¿Cuándo se solicita?

La solicitud de esta prueba debe realizarse en el mismo momento del nacimiento. La prueba que se realice depende del objetivo que se persiga, ya sea el cribado poblacional o la confirmación de la enfermedad.

El cribado en los recién nacidos suele realizarse en la mayoría de los países desarrollados. En España, aunque esta enfermedad ha sido considerada anecdótica hasta fechas recientes, el aumento en la inmigración ha supuesto un notable incremento en su diagnóstico.

¿Qué significa el resultado?

La presencia en el paciente de una hemoglobina anormal, Hb S, en un paciente nos alerta sobre la aparición de una serie de síntomas clínicos, fundamentalmente a partir del 6º mes de vida y durante los 2 primeros años, que provocan un incremento en la mortalidad.

Las complicaciones más graves son el accidente vascular cerebral, el síndrome torácico agudo y las infecciones. Otras complicaciones más crónicas incluyen un daño multiorgánico asociado a la vaso-oclusión aguda y crónica (obstrucción de vasos sanguíneos pequeños), enfermedades de la vesícula biliar, crecimiento retardado, etc.

De entre todas ellas, son las infecciones las que contribuyen a una mayor mortalidad. Así, la posibilidad de reducirlas mediante la realización precoz de una profilaxis con penicilina, y la educación a los padres para reconocer los signos tempranos de complicaciones potencialmente graves, sugieren que el diagnóstico precoz de la anemia falciforme podría reducir la morbilidad y la mortalidad.

La detección puede ofrecerse en varios estadios de la vida de una persona y el periodo neonatal es uno de ellos. La detección realizada en el periodo neonatal para cualquier trastorno hereditario no sólo tiene consecuencias inmediatas para el lactante que la padece, sino también consecuencias a más largo plazo para el niño y otros miembros de la familia.

El retraso al comunicar los resultados causa no sólo una espera ansiosa, sino también un retraso en el inicio del tratamiento y posiblemente el fracaso para reconocer complicaciones graves debidas a la falta de conocimiento.

¿Cuál es el tratamiento?

El tratamiento tiene como objetivo aliviar el dolor, minimizar las complicaciones y las lesiones en los órganos, y prevenir la aparición de infecciones.

Los recién nacidos con anemia falciforme generalmente son sometidos a un tratamiento a largo plazo con penicilina para prevenir la aparición de neumonía u otras infecciones. En niños y adultos se puede utilizar la hidroxiurea, un fármaco que reduce el número de crisis así como su intensidad, en caso de que sucedan. El número de crisis también puede disminuirse evitando todas aquellas situaciones que a menudo las desencadenan, como el sobre esfuerzo, la deshidratación, las temperaturas extremas, los cambios de altitud, el tabaquismo y el estrés.

El accidente vascular cerebral, las crisis aplásicas, el síndrome torácico agudo, la hinchazón del bazo y, en algunas ocasiones, las crisis intensas pueden requerir tratamiento mediante transfusiones sanguíneas. A la larga, algunos sujetos sometidos a múltiples transfusiones necesitarán un tratamiento dirigido a tratar la sobrecarga de hierro que se produce como consecuencia de ello. Los sujetos con lesiones orgánicas y/o fallo orgánico requieren tratamientos adicionales.

¿Hay algo más que debería saber?

Las alteraciones o mutaciones genéticas de la anemia falciforme se encuentran fundamentalmente entre los individuos de origen africano, aunque también pueden encontrarse en aquellos cuyo origen sea la zona mediterránea, América del Sur y Central, el Oriente Medio, la India, y la zona del Caribe.

En nuestro país, y en una evaluación efectuada en la Comunidad de Madrid mediante un estudio prospectivo realizado desde Mayo de 2003 hasta Diciembre de 2005, se analizaron 190.238 niños y se detectaron 1060 variantes de hemoglobinas (5.57 por cada 1.000 nacimientos).

Un total de 31 de ellos presentaban enfermedad grave (homocigotos o doble heterocigotos) lo que supone un 0.16 por cada 1.000 nacimientos.

Bibliografía.

1. Tsevat J, Wong JB, Pauker SG, Steinberg MH. Neonatal screening for sickle cell disease: A cost-effectiveness analysis. *J Pediatrics* 1991; 118(4):546-54.
2. Cronin EK, Normand C, Henthorn M, Davies SC. Costing model for neonatal screening and diagnosis of haemoglobinopathies. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* Ed 1998; 79:F161- F167.
3. Davies SC, Cronin E, Gill M, Greengross P, Hickman M, Normand C. Screening for sickle cell disease and thalassaemia: a systematic review with supplementary research. *Health Technology Assessment* 2000; vol. 4: nº 3.
4. Kaye C, Committee on Genetics. Accurso F, LaFranchi S, Lane PA, Northrup H, Pang S, Schaefer GB et al. Introduction to the newborn screening fact sheets. *Pediatrics* 2006; 118(3):1304-12.
5. Cela E, Dulin E, Guerrero M, Arranz M, Galarón P, Meléndez C et al. Evaluación en el tercer año de implantación del cribado neonatal universal de anemia falciforme en la Comunidad de Madrid. *Ann Pediatr* 2007; 66(4):382-6.
6. Lees CM, Davies S, Dezateux C. Detección neonatal de la anemia de células falciformes. *The Cochrane Collaboration. Biblioteca Cochrane Plus* 2008, núm. 2, p. 1-9.
7. Programas de cribado neonatal en España: Actualización y propuestas de futuro. Documento de consenso. Real Patronato sobre Discapacidad, Madrid, 2010.

Enlaces.

- * American Sickle Cell Association.
- * Sickle Cell Information Center.
- * Sickle Cell Disease Association of America.
- * National Heart, Lung and Blood Institute Information Center: What is Sickle Cell Anemia?.
- * Michigan Department of Community Health: Interpretation of Newborn Hemoglobin Screening Results.

Páginas webs.

- * ¿Qué es la anemia de células drepanocíticas?
http://www.nhlbi.nih.gov/health/dci/Diseases/Sca/SCA_WhatIs.html
- * Guía de Evaluación. ARUP's sobre la Hemoglobina. Tests del Laboratorio Clínico.
<http://www.aruplab.com/guides/ug/tests/0050610.jsp>
- * Interpretación de los resultados de la determinación de hemoglobinas en recién nacidos
http://www.michigan.gov/documents/finalinterpretation_71834_7.pdf#search='hemoglobin%20solubility'
- * Enfermedad de Células drepanocíticas.
http://www.marchofdimes.com/professionals/14332_1221.asp
- * Anemia de células drepanocíticas.
<http://www.ghr.nlm.nih.gov/condition=sicklecellanemia>
- * Acerca de la Anemia de células drepanocíticas.
http://www.sicklecelldisease.org/about_scd/
- * Enfermedad de Células drepanocíticas: Recomendaciones prácticas para prevenir una crisis de la enfermedad de células drepanocíticas.
<http://familydoctor.org/550.xml>