

La espectrometría de masas tándem (MS/MS): un avance en el cribado de metabolopatías en el período neonatal

(An Esp Pediatr 2002; 56: 585-587)

Sr. Editor:

El diagnóstico prenatal mediante estudios de ultrasonografía de alta definición, e incluso tridimensional, y el análisis genético de las vellosidades coriales, del líquido amniótico y de las células fetales circulantes en la sangre materna han ido añadiendo herramientas muy importantes al quehacer de los perinatólogos en cuanto al diagnóstico cada vez más precoz y certero de numerosas malformaciones y cromosomopatías. En los últimos años puede concluirse que en España se ha logrado extender el cribado de la fenilcetonuria y del hipotiroidismo a porcentajes superiores al 95% de los recién nacidos, lo que nos equipara con el grupo situado a la cabeza de los países de nuestro entorno europeo¹. Sin embargo, podemos constatar, tal vez, un cierto estancamiento en cuanto a la incorporación de nuevos diagnósticos. Sólo en algunas comunidades se están haciendo intentos serios de introducir el diagnóstico precoz de la hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) y en mucha menor escala fibrosis quística (FQ). En un reciente editorial, Dulín et al¹ indicaban que el cribado neonatal de la HSC y la FQ se realiza solamente en el 24,6 y 9,8% de todos los nacidos en nuestro país cada año.

La detección de estos cuatro trastornos implica la utilización de una variada tecnología de laboratorio. Así, la detección del hipotiroidismo se realiza mediante el estudio de la tiroxina con técnicas de inmunofluorescencia a tiempo retardado (DELFI[®]), enzimoimmunoanálisis (ELISA) y radioinmunoanálisis. Para el cribado de hiperfenilalaninemias se utilizan técnicas de fluorimetría, cromatografía en capa fina y enzimáticas. El cribado neonatal de HSC por déficit de 21- α -hidroxilasa se realiza midiendo la 17- α -hidroxiprogesterona sobre el espécimen de sangre seca que se recibe en el laboratorio, utilizando técnicas de inmunofluorescencia a tiempo retardado (DELFI[®]). La determinación de aminoacidopatías en sangre se realiza mediante cromatografía en capa fina, pero en ocasiones hay que recurrir a una muestra de orina adicional para cerciorarse de que los resultados son correctos. Finalmente, el cribaje de la fibrosis quística se lleva a cabo midiendo la tripsina inmunorreactiva (TIR) en el espécimen de sangre seca mediante DELFI[®] o ELISA, seguido de un segundo TIR a los 20-30 días y posterior ADN¹.

La idea original de Guthrie², además de utilizar una muestra impregnada en papel para el cribado masivo de la población, fue el hecho de que éste sería más eficaz y global, si pudiese utilizarse un método único que permitiese la detección de trastornos muy distintos, en vez del sistema utilizado hasta entonces que consistía en un ensayo bacteriológico específico para el diagnóstico de cada trastorno individual. Sin embargo, el éxito no acompañó su empeño y tuvo que renunciar a su brillante idea. Aunque otros siguieron su camino, la cromatografía en papel no fue lo suficientemente sensible para el cribado neona-

tal en los primeros días de vida^{3,4}. Para superar estos inconvenientes se utilizó la cromatografía en capa fina para el cribado en orina neonatal⁴. Pero incluso la utilización de la misma presenta importantes inconvenientes. En primer lugar hace falta un espécimen adicional ya que la orina no puede sustituir a la sangre en el diagnóstico de la fenilcetonuria o hipotiroidismo congénito, los dos trastornos principales en cualquier programa de cribado. En segundo lugar, la recogida del espécimen de orina plantea multitud de problemas logísticos. Finalmente, la concentración de la orina es muy variable, produciendo multitud de falsos positivos en las orinas más concentradas y falsos negativos en orinas más diluidas. El método por lo tanto no reúne las características adecuadas para su generalización en el diagnóstico de los más de 1.000 diferentes errores congénitos del metabolismo que se pueden dar en la población general⁵.

La espectrometría de masas tándem (en sus siglas inglesas MS/MS), es el avance más significativo en el campo del cribaje neonatal desde la década de 1970. En el campo de la llamada bioquímica genética es la herramienta más poderosa y versátil que ha aparecido en los últimos 30 años. Aunque su utilización en un principio estuvo vedada a unos pocos centros de élite debido a los problemas de coste, disponibilidad de espacio y complejidad de manejo las cosas han cambiado. En la actualidad existen máquinas *bench-top* cuatripolares más asequibles económicamente. Además, la utilización de la ionización mediante electronebulizadora como interfaz entre la cromatografía líquida y la espectrometría de masas, ha facilitado enormemente la utilización y el impacto de esta tecnología en el campo de la ciencia básica aplicada al laboratorio clínico⁶. Por lo tanto, ¿cuáles serían las razones para afirmar categóricamente que existe la necesidad de incorporar sin demora esta tecnología en nuestro país?

En primer lugar, la MS/MS permite expandir el campo del cribado neonatal de una forma extraordinariamente amplia (tabla 1), incluyendo, además de las hiperfenilalaninemias, la detección de al menos otras 10 aminoacidopatías, incluyendo dos que no pueden incorporarse al cribado habitual, ya que requieren técnicas propias, como la enfermedad por orina de jarabe de arce y la homocistinuria y la detección de trastornos de la degradación de ácidos orgánicos y de la oxidación de ácidos grasos⁷. Estos 20-25 trastornos, que incluso pueden llegar a 40 con técnicas novedosas (*batch type process*) y el uso de algoritmos informatizados, se analizan en un solo espécimen de sangre, evitando así la necesidad de especímenes adicionales. Por lo tanto pasamos del concepto de que un test único determina un trastorno único, al de que un test único es capaz de diagnosticar numerosos trastornos.

En segundo lugar, se disminuye de forma notable el número de falsos positivos a pesar del incremento en el número de trastornos diagnosticados, como avala la experiencia de algunos laboratorios pioneros en el campo^{7,8}. Ello ocurre incluso cuando las muestras se han tomado antes de las primeras 24 h de vida. El grupo con mayor experiencia en la actualidad, el Neo Gen Screening Program en Pittsburgh, uno de los pocos grupos que aplica de forma sistemática el MS/MS al cribado neonatal tiene solamente un índice del 0,26% de falsos positivos⁷. Todos los que nos dedicamos a la atención de recién nacidos en los hospitales, pero sobre todo a nivel extrahospitalario, sabemos que los falsos positivos son el auténtico problema de las técnicas actuales. La importancia de reducir el número de falsos positivos

TABLA 1. Errores innatos del metabolismo detectables mediante el análisis por espectrometría de masas tándem (MS/MS) de aminoácidos y acilcarnitinas*

Defectos	Metabolito diagnosticado
Aminoacidemias	
Fenilcetonuria	Fenilalanina
Enfermedad jarabe de arce	Leucina e isoleucina
Homocistinuria	Metionina
Citrulinemia	Citrulina
Tirosinemia	Tirosina
Arginin-succínico aciduria	Deficiencia de citrulina-OCT, glutamina
Hiperglicinemia no cetósica	Glicina
Acidemias orgánicas	
Acidemia propiónica	C ₃ acilcarnitina
Acidemia metilmalónica (s)	C ₃ acilcarnitina
Acidemia isovalérica	Isovalercarnitina
3-metilcrotonglicinemia aislada	3-hidroisovalericarnitina
Acidemia glutélica tipo1	Glutarilcarnitina
Acidemia hidroximetilglutárica	Hidroximetilglutaril carnitina
Trastornos de la oxidación de los ácidos grasos	
Deficiencia SCAD	C _{1,6} acilcarnitina
Deficiencia MCAD	C _{8,10:1} acilcarnitina
Deficiencia VLCAD	C _{14,14:1,16,18} acilcarnitinas
Deficiencia de LCHAD y proteína trifuncional	C _{14,14:1,16,18} acil y 3 hidroxiaxil carnitinas
Acidemia glutárica de tipo 2	Glutarilcarnitina
Deficiencia CPT-II	C _{14,14:1,16:1} acilcarnitinas
Deficiencia CPT-I	C ₂ acilcarnitinas

*La tecnología MS/MS permite mediante algunas modificaciones ampliar notablemente el espectro de detección de enfermedades metabólicas. SCAD: deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena pequeña; MCAD: deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media; VLCAD: deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga; LCHAD: deficiencia de 3-hidroxiaxil-CoA deshidrogenasa de cadena larga; CPT-I y PT-II: deficiencia de carnitín-palmitoil transferasa tipo I y tipo II.

puede reducir de forma notable el gasto del cribado neonatal, ya que evita gran número de repeticiones de analíticas dudosas con la consiguiente citación del paciente para una nueva determinación, la repetición de las pruebas analíticas, y el estado de gran ansiedad que se genera en los padres que, incluso cuando se les confirma que su hijo/a es normal, siguen durante mucho tiempo preocupados por si ha existido algún error. Finalmente, el hecho de que las muestras se recojan en el hospital dentro de las primeras 24 h de vida evita problemas logísticos respecto a la toma de muestras en las consultas ambulatorias y el envío posterior de las muestras por correo o entrega en mano.

Finalmente, un aspecto adicional de la MS/MS que consideramos de gran trascendencia es el hecho de procurar que ninguna enfermedad metabólica quede sin diagnóstico. Es muy común encontrar familias que han experimentado la tragedia de la muerte de un recién nacido con una enfermedad no diagnosticada aunque se trate de una enfermedad intratable en la actualidad. En nuestra sociedad la gente espera nuestra información, aunque ello no reporte una utilidad inmediata.

En el momento actual algunos centros europeos ya la vienen utilizando y con gran aprovechamiento en investigación, pero también en un nivel asistencial⁹. La logística basada en cálculos de coste/beneficio se basaría en la disponibilidad de un centro de MS/MS por cada 100.000 nacidos. Este centro se dedicaría ex-

clusivamente a la parte analítica del proceso. En combinación con este centro de análisis bioquímico estarían las Unidades Clínicas de Errores Innatos del Metabolismo de los distintos hospitales terciarios, que se encargarían del control clínico de los pacientes. Ello supone que, dada la natalidad de nuestro país, harían falta unos 4 centros de MS/MS adscritos a departamentos de bioquímica o a unidades de diagnóstico precoz de metabolopatías, que abastecerían de información a las distintas unidades clínicas de los hospitales regionales.

Deseamos dejar constancia de que la MS/MS no sustituiría a las técnicas de detección actuales que se sigue en el caso del hipotiroidismo, de la fibrosis quística o de la hiperplasia suprarrenal congénita, sino que incorpora una metodología altamente fiable y rápida para la detección de multitud de aminoacidopatías y alteraciones del metabolismo de los ácidos grasos. Es importante también decir que el número de diagnósticos se incrementaría de manera notable y, por lo tanto, la dotación de personal tanto técnico en el laboratorio como clínico en las consultas de metabolismo vería aumentada la afluencia de pacientes para su control periódico. Por lo tanto, no es una tecnología que pudiera iniciarse sin un estudio serio y riguroso previo en el que tendrían que implicarse investigadores, clínicos y gestores económicos, para asentar su viabilidad con visos de éxito.

Al igual que ocurre con otras muchas tecnologías modernas, el ECMO es un ejemplo, deberíamos tener una visión de estado, y de acuerdo con la distribución de la natalidad, tener unos pocos laboratorios de alta cualificación que abasteciesen a áreas estratégicas definidas por densidad de natalidad y no por motivos de otra índole. La optimización de recursos es el único camino que va a posibilitar la incorporación de los nuevos y cada vez más costosos avances tecnológicos en el campo de la neonatología. La introducción de la MS/MS para el diagnóstico precoz de errores innatos del metabolismo no sólo puede mejorar de forma significativa y ampliar de forma espectacular nuestros programas de cribado neonatal, sino también facilitar la incorporación de multitud de nuestros jóvenes a tareas de investigación en un campo que combina aspectos básicos y clínicos, y que cuenta con un brillante futuro. El impulso que podría proporcionar a especialidades como la genética clínica, genética molecular, bioquímica, nutrición, metabolismo, etc., podría ser espectacular. Es más, podría servir de aliciente para la incorporación de programas de I + D en los que colaborasen la ciencia y la industria de una vez por todas en nuestros departamentos de pediatría.

No me considero un experto en el área, y tal vez el motivo de escribir este comentario es que me gustaría se abriese un debate serio y profundo que moviese a los responsables a iniciar acciones para la incorporación de la MS/MS en el cribado neonatal de los recién nacidos.

M. Vento Torres

Hospital Virgen del Consuelo. Valencia

Correspondencia: Dr. M. Vento Torres. Hospital Virgen del Consuelo. Valencia. Correo electrónico: maximo.vento@uv.es

BIBLIOGRAFÍA

1. Dulín E, Cortés E, Chamorro F, Eguileor I, Espada M, Pampols T et al. Estado actual de los programas de cribado en España. Acta Pediatr Esp 2001; 59: 467-478.

2. Guthrie R. Screening for "inborn error of metabolism" in the newborn infant – a multiple test program. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1968; 4: 92-98.
3. Efron ML, Young D, Moser HW, MacCreedy RA. A simple chromatographic screening test for the detectino of disorders of amino acid metabolism. *N Engl J Med* 1964; 270: 1378-1383.
4. Scriver CR, Davies E, Cullen AM. Application of a simple micro-method to the screening of plasma for a variety of amino-acidopatías. *Lancet* 1964; 2: 230-232.
5. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B, Kinzler KW et al. *The metabolic bases of inherited disease*, 8ª ed. Nueva York: McGraw Hill, 2001.
6. Rinaldo P. The impact of tandem mass spectrometry on Biochemical Genetics. *Ital J Pediatr* 2001; 696-697.
7. Levy HL. Newborn screening by Tandem Mass Spectrometry: A new era. *Clin Chem* 1998; 44: 2401-2402.
8. Chace DH, Sherwin JE, Hillman SL, Loery F, Cunningham GC. Use of phenylalanine-to-tyrosine ratio determined by tandem mass spectrometry to improve newborn screening for phenylketonuria of early discharge specimens collected during the first 24 hours. *Clin Chem* 1998; 44: 2405-2409.
9. Burlina AB, Giordano G, Catuogno S, Zachchello F. The role of tandem mass spectrometry in the diagnosis of metabolic disease: The experience in the Veneto area. *Ital J Pediatr* 2001; 27: 766-773.

Pielonefritis aguda con síntomas compatibles con artritis de cadera

(*An Esp Pediatr* 2002; 56: 587-588)

Sr. Editor:

Habitualmente la pielonefritis aguda cursa con fiebre, deterioro del estado general, dolor abdominal lumbosacro y ocasionalmente hematuria y proteinuria¹. Pero la realidad clínica a menudo varía y se observa un dolor referido a región inguinal, perineo y cara interna del muslo indicativo de otros procesos patológicos.

Por ello creemos de interés presentar el caso de un paciente con aparente sintomatología de artritis de cadera que resultó ser una pielonefritis aguda.

Varón de 8 años que fue remitido al servicio de ortopedia de nuestro hospital con la sospecha de artritis de cadera izquierda. Presentaba picos de fiebre de 39 °C y dolor en la cadera izquierda de 6 días de evolución, sin otro foco objetivable. La exploración del aparato locomotor evidenció una contractura antiálgica con deformidad en flexión y rotación externa de la cadera derecha acompañada de una movilidad dolorosa. En los datos de laboratorio se objetivó la presencia de leucocitosis (14.600/ml) con desviación izquierda, y un hemocultivo positivo para *Staphylococcus aureus*. El estudio radiológico simple bilateral no evidenció signos de osteonecrosis en la epífisis femoral ni otros hallazgos patológicos. En el estudio ecográfico destacó únicamente un pequeño derrame articular de cadera derecha. Las imágenes ecográficas y radiológicas de la cadera izquierda fueron normales.

Ante la sospecha diagnóstica de artritis séptica de cadera derecha se realizó una artrotomía extrayendo escaso líquido claro no purulento. A continuación se instauró una inmovilización con yeso pel-

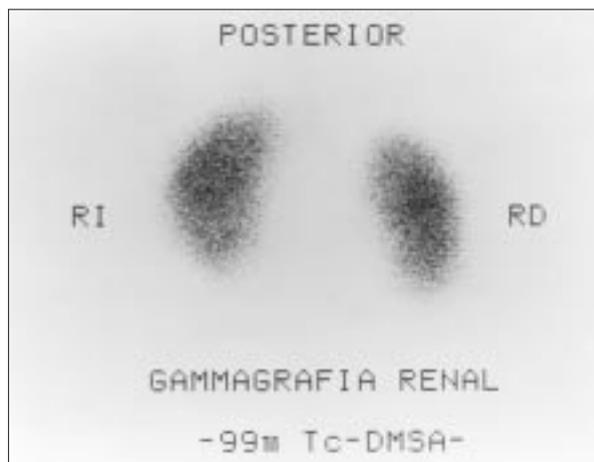


Figura 1. ^{99m}Tc-DMSA posterior. Aumento del riñón izquierdo indicativo de pielonefritis aguda.

vipédico. El cultivo microbiológico del líquido articular fue negativo. Durante su estancia hospitalaria se presentó un episodio de macrohematuria con 250 eritrocitos/campo, densidad 1.025, nitritos negativos y 20 leucocitos/campo en el sedimento, con urinocultivos negativos, estando bajo tratamiento con amoxicilina-clavulánico y vancomicina desde hacía 1 semana, que posteriormente se cambió a ceftriaxona. Ante este hallazgo se insistió en la recogida de datos anamnésticos encontrándose antecedentes de litiasis renal y una sintomatología de poliuria y disuria que acompañó al inicio del cuadro. El paciente evolucionó de manera favorable.

La imposibilidad de haber realizado pruebas de imagen en la fase aguda, por la presencia del yeso pelvipédico, hizo que se practicara, una vez retirado, una ^{99m}Tc-ácido dimercaptosuccínico (DMSA) que mostró un ligero aumento del riñón izquierdo compatible con pielonefritis difusa (fig. 1). No se objetivaron alteraciones anatómicas ni analíticas que justificaran el antecedente de litiasis renal.

El diagnóstico y tratamiento precoz de la pielonefritis es importante para evitar las secuelas a largo plazo en forma de insuficiencia renal e hipertensión arterial. Es razonable iniciar un tratamiento con una cefalosporina de tercera generación parenteral seguida de antibioticoterapia por vía oral durante 10-14 días y profilaxis hasta que se descarte algún condicionamiento anatómico de la infección urinaria^{2,3}.

Ante una cadera dolorosa hay que pensar en primer lugar en una artritis séptica⁴, sin olvidar los abscesos del psoas, abscesos de los obturadores, osteomielitis pélvica, piomiositis del iliaco, piomiositis de los aductores, apendicitis aguda, absceso retroperitoneal, artritis microcristalina⁵⁻⁷ y/o... pielonefritis aguda.

Con este caso insistimos en la importancia de realizar una anamnesis detallada ante cualquier historia clínica, evitando la influencia de una etiqueta diagnóstica inicial.

**B. López Montesinos, A. Ortí Martín,
A. Pérez Tamarit, F. Asensi Botet
y M.ªC. Otero Reigada**

Sección de Infectocontagiosos.
Hospital Infantil La Fe. Valencia.

Correspondencia: Dra. B. López Montesinos.
Sección de Infectocontagiosos. Hospital Infantil La Fe.
Avda. Campanar, 21. 46009 Valencia.
Correo electrónico: berlomon@yahoo.com