



MESA 1

Cribado neonatal. Comunidad de Murcia

M. Sánchez-Solís^a, A. Fernández^b, I. González^b, G. Glover^b,
R. Moya^b, P. Mondéjar^a y M.D. Pastor^a

^aNeumología Pediátrica, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España

^bServicio de Bioquímica y Genética Clínica, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España

En los últimos años se ha demostrado la utilidad del diagnóstico precoz mediante *screening* neonatal de la fibrosis quística (FQ), de manera que actualmente habría que justificar por qué no se practica este *screening* más que justificar su realización. De hecho, en junio de 2005 fue aprobada una moción presentada en el Senado por la que se insta al Gobierno sobre “la pertinencia de recomendar la inclusión del cribado de la fibrosis quística en los programas de detección neonatal de las diferentes comunidades autónomas”¹. Una revisión de la biblioteca Cochrane recientemente actualizada demuestra un mejor estado nutricional, mejor función pulmonar y mejor *score* radiológico, e incluso las estimaciones económicas sugieren que resulta más barato que el seguimiento tras diagnóstico clínico².

Por otro lado, hace unos pocos meses, la Sociedad Europea de Fibrosis Quística (ECFS) ha publicado una guía con recomendaciones para la realización del *screening* neonatal de FQ³.

Consideraciones sobre la metodología elegida

En Murcia se inició el programa de *screening* universal de detección de FQ a partir del día 1 de enero de 2007. En esas fechas ya se disponía de una Unidad Asistencial Multidisciplinaria de FQ, una Sección de Metabolopatías con amplia experiencia en programas de cribado neonatal que habían alcanzado una cobertura superior al 99% desde 1999 (fig. 1),

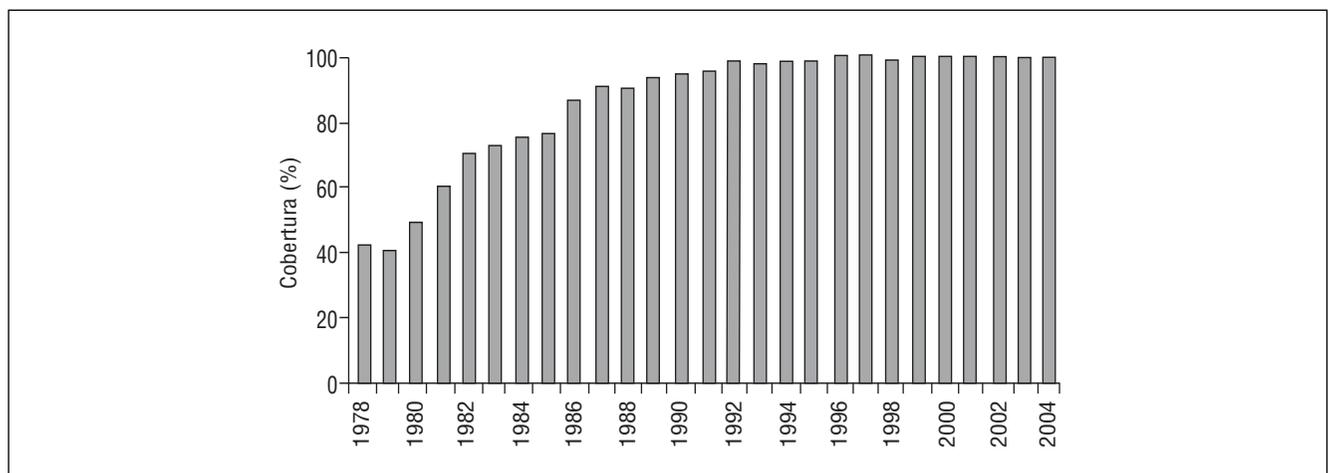


Figura 1 Cobertura de los programas de cribado neonatal (hipotiroidismo e hiperfenilalaninemia) en la Región de Murcia y Melilla desde su comienzo en 1978.

y una Sección de Genética y Biología Molecular que, entonces, realizaba la identificación de mutaciones mediante el kit PCR-OLA V3 de Abbott. Como disponíamos de las mutaciones de la población de enfermos que atendíamos en la Unidad (aproximadamente 75 pacientes), se evaluó qué capacidad de diagnóstico disponíamos con el kit referido y resultó que incluye únicamente el 42,1% (16/38) de las mutaciones halladas en la población murciana por lo permitiría diagnosticar (por encontrar las 2 mutaciones) sólo el 57,5% de los pacientes. No se encontraban en este kit mutaciones relativamente frecuentes en nuestra población, como era el caso de las mutaciones L206W en 7 pacientes (1 homocigoto); la A1006E en 5 pacientes; la K710X en 5 pacientes (1 homocigoto); la 2869insG en 4 pacientes y la 1811 + 1.6kba > G en 3 pacientes (tabla I). La European Concerted Action on Cystic Fibrosis (ECACF)⁴ había propuesto que el estudio de mutaciones debe identificar al menos al 80% de los cromosomas portadores de mutaciones. Así pues, hubo que desarrollar el diagnóstico mediante otras técnicas y, en la actualidad, podemos realizar la secuenciación completa del gen.

En esas fechas, el cribado, se dirigía a una población diaria de unos 19.000 RNV/año, de los que unos 1.100 corresponden a niños nacidos en Melilla, ciudad que por razones diversas desde el comienzo de los programas de cribado neonatal de Murcia, también realiza sus *screenings* en nuestro centro.

La elección del protocolo fue también motivo de controversia porque en 2000 se había propuesto por la European Concerted Action on Cystic Fibrosis (ECACF)⁴ la realización de la siguiente forma: *Estudio del TIR*: se cuantifica el TIR en las muestras de sangre embebidas en papel absorbente utilizadas para el resto de las determinaciones incluidas en el programa de screening (TSH y fenilalanina). El método utilizado es el AutoDELFIA_ Neonatal IRT (Wallac Oy, Turku, Finlandia). Se consideran positivas las muestras con niveles de TIR superiores a 60 ng/ml, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Si resultara el valor elevado, se realiza *Estudio de mutaciones en CFTR*: la ECACF recomienda que el estudio de mutaciones identifique al menos al 80% de los cromosomas portadores de mutaciones. De seguir este protocolo, si tras la primera detección de tripsina inmunorreactiva (TIR) elevada se realiza el estudio de mutaciones, el número de falsos positivos es muy elevado y, habida cuenta que, como se ha explicado, para identificar al menos el 80% de mutaciones en nuestra población necesitábamos recurrir a procedimiento más caros y complejos que el kit comercial, decidimos un protocolo tipo TIR/TIR.

Los protocolos que realizan un doble estudio de TIR, el inicial y otro entre la tercera y la quinta semana de vida, previo al análisis de las mutaciones, tienen la ventaja de que el número de falsos positivos se reduce muy significativamente; sin embargo, presentan el inconveniente de que cabe la posibilidad de que algún afectado de FQ pueda presentar niveles normales en el segundo estudio. De hecho, la tasa de falsos negativos con el método de TIR/TIR, usado en el estado de Colorado (EE.UU.), se ha estimado en el 5,4% en, aproximadamente, 1.150.000 RN cribados⁵. No obstante, en el programa de Colorado, hasta 1996, la tasa de pérdidas de la segunda muestra resultaba del 20,1% y tras introducir un cambio en el protocolo por el que a todos los

Tabla I Mutaciones conocidas en la población de pacientes de Murcia antes del comienzo del programa de cribado

Mutaciones	Cromosomas		Pacientes	
	N.º	%	N.º	%
F508del *	50	34,2	40	54,8
G542X *	18	12,3	17	23,3
L206W	8	5,5	7	9,6
K710X	6	4,1	5	6,8
A1006E + 5T	5	3,4	5	6,8
N1303K *	4	2,7	4	5,5
2869insG	4	2,7	4	5,5
G85E *	4	2,7	2	2,7
3849 + 10kbC > T *	4	2,7	4	5,5
1811 + 1.6kba > G	3	2,05	3	4,1
R334W *	3	2,05	3	4,1
2789 + 5G > A *	2	1,4	2	2,7
21833AA > G *	2	1,4	2	2,7
Q890X	2	1,4	2	2,7
711 + 1G > T *	2	1,4	2	2,7
No encontrado	9	6,2	7	9,6
No hecho	6	4,1	3	4,1

*Incluidas en el kit PCR-OLA V3 de Abbott.

niños se les obtenía una segunda muestra, las pérdidas se redujeron al 2% y la de falsos negativos al 2,4%⁵.

Con estas consideraciones decidimos implementar el programa que se recoge en la figura 2.

Resultados tras los dos primeros años

El programa se inició con la búsqueda del punto de corte que mejor se adaptara a nuestra población que se estableció, con las primeras 3.000 muestras (en realidad correspondió a 3.089 muestras), en 61,63 ng/ml para la primera muestra y en 45,47 para la segunda muestra (que corresponde a niños de entre 21 y 30 días de vida). Se decidió usar 60 ng/ml y 44 ng/ml como puntos de corte.

En estos 2 años se han realizado 48.392 test de cribado. El 3,01% de los RN tuvieron elevada la 1.ª TIR, por lo que se solicitó nueva muestra. Se ha estudiado a 48 RN con la segunda TIR también elevada (0,09%) y el número de diagnosticados de FQ ha sido de 9, lo que representa una incidencia de 1/5.376 y un valor predictivo positivo de las dos TIR positivas del 18,75%. Ha habido únicamente un falso negativo; este paciente había tenido una primera muestra de TIR [+] y una segunda muestra de TIR negativa, pero aun así su pediatra indicó la realización del test del sudor fuera de protocolo, cuyo resultado fue, tras repetirlo en 3 ocasiones, 55, 63 y 60 mEq/l, por lo que, finalmente, se decidió realizar el estudio de mutaciones que identificó I507del/L206W. Se han identificado dos heterocigotos, uno de ellos con la mutación 3849 + 10kbCT, uno con la mutación en cis 5T + I148T y otros 3 pacientes con el politrack 5T en sólo uno de sus cromosomas y sin otra mutación identificada.

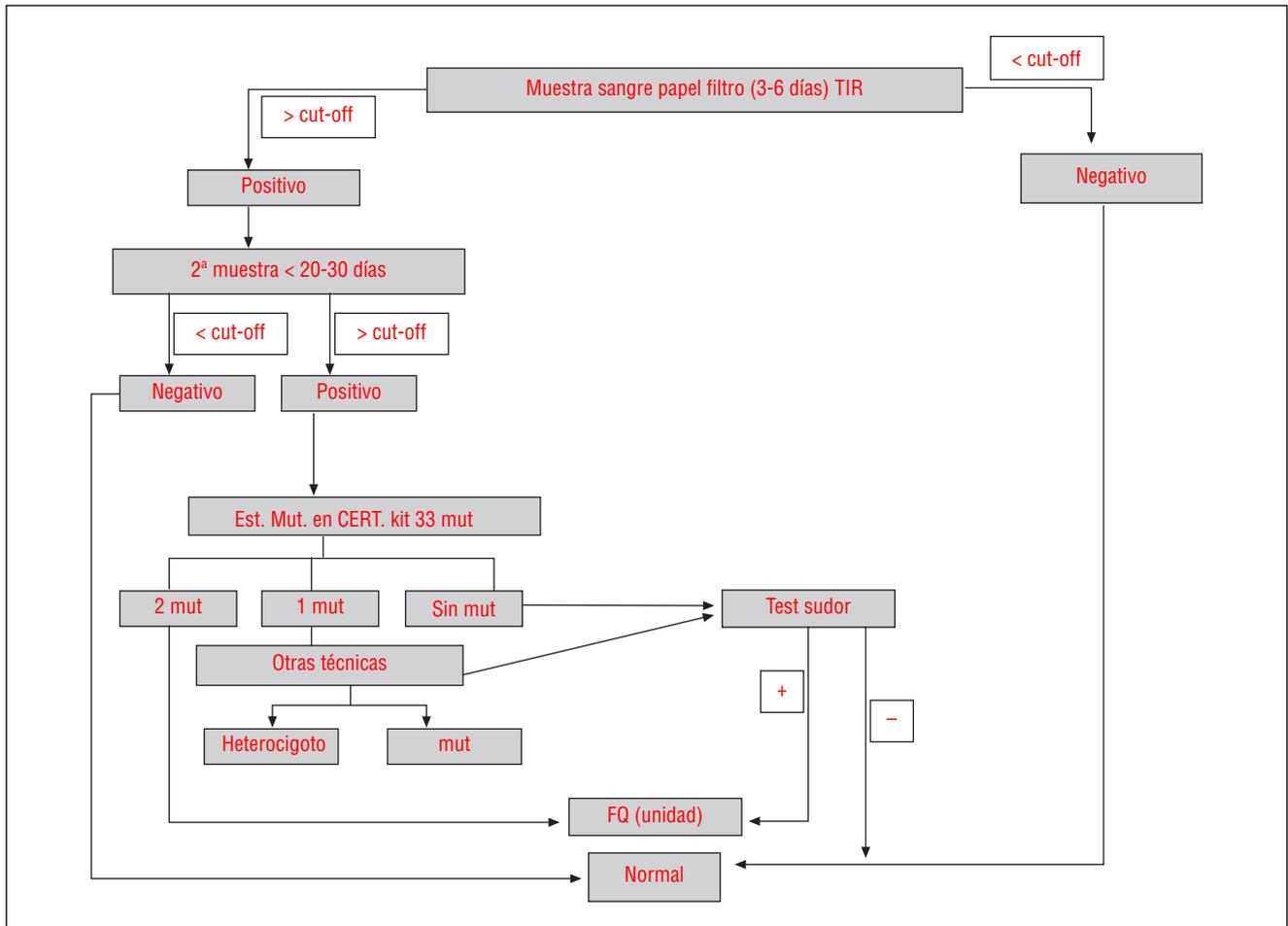


Figura 2 Protocolo de cribado que se realiza actualmente en la Región de Murcia y Melilla.

Bibliografía

1. Comunicación de la aprobación con modificaciones por la Comisión de Sanidad y Consumo de la moción suscrita por el Partido Popular en el Senado por la que se insta al Gobierno a la adopción de determinadas medidas en relación con el diagnóstico y tratamiento de la fibrosis quística (661/000137) Boletín Oficial de las Cortes Generales. Senado de 1 de Julio de 2005.
2. Southern KW, Mérelle MME, Dankert-Roelse JE, Nagelkerke A. Newborn screening for cystic fibrosis. Cochrane Database of Systematic Reviews 2009, Issue 1. Art. No.: CD001402. DOI: 10.1002/14651858.CD001402.pub2.
3. Castellani C, Southern KW, Brownlee K, Dankert Roelse J, Duff A, Farrell M, et al. European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening. *J Cyst Fibros.* 2009;8(3):153-73.
4. Dequeker E, Cuppens H, Dodge J, Estivill X, Goosens M, Pignatti PF, et al. Recommendations for quality improvement in genetic testing for cystic fibrosis. European Concerted Action on Cystic Fibrosis. *Eur J Hum Genet.* 2000;8:S2-S24.
5. Sontag MK, Hammond KB, Zielenski J, Wagener JS, Accurso FJ. Two-tiered immunoreactive trypsinogen-based newborn screening for cystic fibrosis in Colorado: screening efficacy and diagnostic outcomes. *J Pediatr.* 2005;147(3 Suppl): S83-8.