

Cribado neonatal de la fibrosis quística en la Comunidad Autónoma del País Vasco

*Jaioberrien fibrosi
kistikoaren bahetzea
Euskal Autonomia
Erkidegoan*

Consejo Asesor de Cribado Neonatal de Enfermedades Congénitas de la CAPV

(Mercedes Estébanez Carrillo, Juan Zuazagoitia Nubla, Justino Rodríguez-Alarcón Gómez, Jose María Arena Ansótegui, Gabriel Saitúa Muñiz, Mercedes Martínez Ayúcar, Ignacio Díez López, Mercedes Fraca Padilla, Enrique Peiro Callizo, Mercedes Espada Sáez Torre)

El Programa de Cribado Neonatal es uno de los programas preventivo-asistenciales esenciales de Salud Pública. El objetivo principal es la prevención de discapacidades asociadas a **enfermedades endocrinometabólicas** mediante su identificación precoz y la intervención sanitaria correspondiente para evitar el daño neurológico y reducir la morbi-mortalidad y las posibles discapacidades asociadas a dichas enfermedades. El **Departamento de Sanidad** aplica, con **carácter universal**, desde el año 1982 en los hospitales públicos y clínicas privadas este programa a los más de veinte mil bebés que nacen en Euskadi cada año. Se basa en la extracción de una muestra de sangre por punción en el talón a las 48 horas de vida (*"la prueba del talón"*) y el análisis posterior en el Laboratorio de Salud Pública para el cribado de 3 enfermedades, una endocrina, el hipotiroidismo congénito con una incidencia de 1 caso por cada 3.704 nacimientos en la CAPV y 2 errores congénitos del metabolismo, la hiperfenilalaninemia-fenilcetonuria-PKU, con una incidencia de 1 caso por cada 13.068 nacimientos, y la Deficiencia de Acil CoA deshidrogenada de cadena media, introducida en el 2007 en el Programa, con una incidencia estimada en Europa de 1 por 15.000 nacimientos.

La Comisión asesora del Programa de Cribado Neonatal, en su reunión de 23 de junio de 2008 acordó la recomendación de inclusión de la Fibrosis Quística en el Programa de Cribado Neonatal de enfermedades endocrino-metabólicas de la CAPV, estableciéndose un cronograma de actividades dirigidas a poder elaborar un Programa de Cribado Neonatal de la Fibrosis Quística, así como garantizar el correcto seguimiento de bebés recién nacidos que presenten la enfermedad, incluyendo, por parte de Osakidetza, el Consejo genético familiar también en el caso de identificación de personas portadoras sanas de la enfermedad.

La FQ es la enfermedad genética grave con patrón de herencia autosómico-recesivo más frecuente en la población de origen europeo con una incidencia muy variable a nivel mundial que oscila entre 1/2.000 en el norte de Europa y 1/17.000 en población afroamericana.

La alteración del transporte de electrolitos a través de las membranas celulares, particularmente de iones cloruro, es la anomalía principal en la FQ. Como consecuencia de esta alteración las secreciones de las glándulas exocrinas de diversos órganos como los conductos del páncreas, las glándulas salivares, el epidídimo, el intestino, los bronquios y los bronquiolos, son anormalmente espesas y deshidratadas produciendo su obstrucción.

El cribado neonatal contribuye a evitar carencias diagnósticas y a asegurar la precocidad de los cuidados médicos a los pacientes, mejorando su estado nutricional y crecimiento, mediante la prevención de las deficiencias prolongadas de micronutrientes, como la vitamina E y las complicaciones que ello conlleva, como anemia y alteraciones cognitivas. Empieza a haber también evidencias en cuanto a mejoras pulmonares.

El diagnóstico definitivo de una FQ corresponde a los centros de seguimiento y se realizará según sea el resultado del test de sudor: positivo, intermedio o negativo.

La enfermedad

La fibrosis quística es una enfermedad genética autosómica recesiva. Las personas con FQ tienen mutaciones en el gen que codifica la "proteína reguladora de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística" (CFTR) en ambos alelos del cromosoma 7. Se han identificado más de 1.500 mutaciones del gen CFTR, pero los 2/3 de los casos de FQ en todo el mundo se deben a una sola mutación: la $\Delta F508$. Esta es especialmente frecuente en personas con as-

cendencia del norte de Europa, que además es donde hay mayor incidencia de FQ. Dado que las diferentes poblaciones tienen distintos tipos y distribución de mutaciones, los programas de cribado más adecuados serán los que en su “panel de mutaciones” incluyan la detección de las mutaciones específicas de acuerdo con la composición u origen de su población⁽¹⁾.

Prevalencia

Es variable según las razas. Datos procedentes de EEUU a partir de los programas de cribado neonatal (CN) en distintas zonas, y a título de ejemplo⁽²⁾ muestran:

- Blancos No-Hispanos: 1/2.500-3.500
- Hispanos: 1/4.000-10.000
- Negros No-Hispanos: 1/15.000-20.000

Como más del 90% de su población testada es de personas blancas no hispanas, esta distribución produce una prevalencia media estimada en EEUU de 1/3700 (semejante a la del hipotiroidismo congénito y a la de las hemoglobinopatías, y más alta que la de la fenilcetonuria y la de la galactosemia, incluidas en sus programas de CN).

En un cribado sobre 1.014.010 bebés recién nacidos en Cataluña entre los años 2.000-2.007 han estimado una incidencia global de FQ en su medio de 1/3.449 (www.aecne.es) que podría reflejar la propia incidencia en la CAPV.

Mecanismo

Las mutaciones en el gen CFTR pueden alterar la estructura, la función o la producción de la proteína CFTR, una proteína transmembrana, regulada por adenosina-5-monofosfato cíclico (cAMP), que actúa como canal de cloro y controla también la regulación de otras vías de transporte de electrolitos. Esta regulación es necesaria para el funcionamiento de muchos órganos (tracto respiratorio superior, pulmón, tracto gastrointestinal, páncreas, hígado, glándu-

las sudoríparas y tracto genitourinario)⁽³⁾. Pacientes FQ que tienen conservada la función pancreática, referidos como con “suficiencia pancreática”, tienen mejor pronóstico y menor mortalidad. Tanto pacientes con insuficiencia como pacientes con suficiencia pancreática se asocian a genotipos específicos de mutación CFTR. Se han descrito cuatro Clases de mutaciones (I-IV)⁽⁴⁾. Las tres primeras (I-II-III) se asocian a ausencia completa de función del canal del cloro regulado por el cAMP; se conocen como mutaciones severas y presentan insuficiencia pancreática. La mutación más común, $\Delta F508$, es de Clase II, y se asocia a insuficiencia pancreática. No todas las mutaciones han podido ser clasificadas hasta ahora en estos grupos y la correlación genotipo/fenotipo no es siempre tan satisfactoria.

Evolución

- El 15-20% debutan con Ileo Meconial con clínica neonatal. Su presencia es diagnóstica de FQ por lo que el CN no aumenta su detección precoz. Estos pacientes tienen evolución adversa.
- Los demás muestran un fenotipo variable siendo frecuente en la infancia la presencia de tos recurrente, fatiga respiratoria, dolor crónico abdominal, deposiciones blandas y nutrición pobre. La nutrición se afecta mucho en los niños.
- Los síntomas respiratorios se acentúan con la edad. Se complican con infecciones virales y bacterianas. Alrededor del 20% ya tienen cultivos positivos a *Pseudomonas Aeruginosa* al año de vida, aunque el momento de inicio es muy variable. La infección con *Pseudomonas Aeruginosa* mucóide produce lesión pulmonar irreversible y muerte.
- La mortalidad de la FQ en más del 90% se asocia con enfermedad pulmonar y fracaso respiratorio.

- La edad media de muerte se ha ido retrasando: hasta los años 80 era en la infancia o la adolescencia. En el 2000 en EEUU la media fue de 24 años (5% antes de los 10 años, 25% antes de los 17 años y 75% antes de los 35 años).
- El diagnóstico precoz no mejora la afectación pulmonar ni el pronóstico vital.

Criterios diagnósticos

- El cribado neonatal generalmente se inicia a partir de la determinación del TIR (tripsinógeno inmunorreactivo) en una muestra de sangre impregnada en papel. En los que presentan tasas elevadas se procede a la confirmación diagnóstica mediante el test del sudor.
- Clásicamente, la definición de “caso” de FQ se basaba en un nivel de Cloro en el sudor ≥ 60 mEq/L medido por iontoforesis tras aplicar pilocarpina (Test del sudor), en presencia de afectación pulmonar y/o de insuficiencia pancreática.
- En 1999, en el Panel de Consenso de la FQ se establecen criterios múltiples: Presencia de ≥ 1 caracteres fenotípicos o el antecedente de un hermano afectado junto con evidencia genotípica (CFTR anormal) documentada por:
 - Cloro en sudor elevado.
 - Identificación de 2 mutaciones CFTR.
 - Demostración *in vivo* de las alteraciones características del transporte iónico a través del epitelio nasal.

Problemas acerca del diagnóstico

- Aunque la mayoría de los bebés pueden ser testados para el cloro en sudor a las 2-3 semanas de vida, en algunos no se consigue una muestra suficiente a estas edades.
- El nivel de 60 mEq/L de Cl en sudor es diagnóstico, pero hay pacientes con FQ que presentan valores iniciales de 30-59 mEq/L.

- La forma clásica se manifiesta precozmente. Las de expresión tardía o atenuada se han denominado “no clásicas o atípicas” y se caracterizan por tener un test del sudor por debajo de la línea de corte y dos mutaciones *CFTR*⁽⁵⁾. El test del sudor con valores de 30 a 59 mEq/L se considera finalmente ambiguo puesto que puede presentarse en pacientes con la forma clásica, con la no clásica y en individuos sanos sin FQ.
- Cuando se realiza el cribado neonatal, se detectan más individuos con forma no clásica con fenotipos leves por lo que los beneficios del screening pueden ser sobrestimados.
- Se requiere mejor conocimiento de la historia natural que presentarán los bebés con 2 mutaciones *CFTR* y test del sudor normal o en el límite, para poder proporcionarles educación, consejo, tratamiento y seguimiento adecuados⁽⁶⁾.

La “carga” de los falsos positivos por TIR positiva debe ser considerada en la planificación del programa de cribado neonatal⁽⁷⁾.

PROTOCOLO CONSENSUADO EN LA
REUNIÓN DE LA COMISIÓN DE CRIBADO
NEONATAL DEL 23 DE JUNIO DEL 2008
SOBRE EL CRIBADO DE LA FQ.
ESTIMACIÓN DE CASOS

Determinación del Tripsinógeno Inmunoreactivo en muestra de sangre de bebés recién nacidos con 48 horas de vida (TIR1). Las muestra se consideran positivas si la concentración de TIR es superior a 65 ng/ml. Dichas muestras positivas se pasan a estudio genético con el Kit de 32 mutaciones de Abbot que alcanza el 83% de los alelos mutantes FQ en la población del País Vasco, cumpliendo así las recomendaciones europeas que indican que el estudio genético debe ser capaz de identificar al menos el 80% de las mutaciones, lo que supone

TABLA I. CUADROS DE RESULTADOS POSIBLES.

Análisis TIR		Resultado	Nº casos/año	Nº RN/año
		+	200	20.000
		–	19.800	

Estudio genético		Prueba sudor	Casos/año		Tasa
	positivo (2 mutaciones)	6	Confirmación diagnóstica (a)	6	1/3.000 RN
	portador (1 mutación)	11	Prueba necesaria (b)	11	
	negativo	183	Algunos casos (c)	4	
	Total	200	Total	21	

RN: bebés recién nacidos

(a) Algunos programas aceptan el diagnóstico de FQ con TIR elevado y 2 mutaciones sin necesidad de realizar el test del sudor, estrategia no aceptada por la Cystic Fibrosis Foundation. No es necesario hacerlo en los casos de 2 mutaciones, pero se puede realizar como confirmación diagnóstica.

(b) Se realiza para discernir si son portadores sanos o son personas enfermas.

(c) En algunos casos se puede realizar por dar un valor muy alto en el análisis TIR.

identificar al menos una mutación en el 96% de los pacientes.

A pesar de todo, se asume que con esta estrategia la tasa de falsos negativos puede ser del orden del 3,5% debido a niveles ocasionalmente bajos del TIR1 en pacientes con FQ.

Estimación de casos

Cuadros de resultados posibles (véase Tabla I).

C. PROCEDIMIENTO DEL CRIBADO NEONATAL DE LA FQ

1. JUSTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE LOS PASOS DEL CRIBADO, VALORES ANALÍTICOS DE CORTE, ALGORITMO ACORDADO Y DIAGNÓSTICO FINAL

El cribado neonatal de la fibrosis quística

El cribado neonatal es un “screening”, no un test diagnóstico, que identifica tan solo RNs con riesgo de FQ. Un screening positivo basado en una hipertripsinogene-

mia permanente y la detección de dos mutaciones del gen *CFTR* debe seguirse de un test diagnóstico, el test del sudor, para confirmar el diagnóstico. El cribado de la FQ se basa en la determinación del TIR, y el diagnóstico en el test del sudor.

No siempre se puede realizar un diagnóstico de certeza y el cribado se enfrenta a situaciones “borderline” con 1 ó 2 mutaciones y valores de Cloro en sudor no claramente patológicos que obligan a un seguimiento personalizado con protocolos especiales. Son las llamadas FQ atípicas.

Los marcadores analíticos para el cribado de la enfermedad son:

1. El TIR (Tripsinógeno Inmunorreactivo)

Habitualmente está aumentado en el recién nacido con FQ. Expresa la obstrucción de los conductos pancreáticos con reflujo de la tripsina a la sangre.

Los valores de TIR se normalizan cuando se produce la destrucción de los acinis, habitualmente hacia los 6 meses.

El cribado de la FQ se basa en el estudio del TIR

Estudio del tripsinógeno inmunoreactivo

El TIR se cuantifica en la misma muestra de sangre obtenida por punción en el talón que se recoge en el papel de filtro para el cribado endocrinometabólico neonatal del HC, PKU y MCAD a las 48 horas de vida y el método analítico utilizado es el Auto DELFIA.

Aproximadamente el 0.5 y el 1% de los RN tienen unos niveles de TIR por encima del valor de corte, pero menos del 10% de ellos tendrá la enfermedad.

Los valores del TIR disminuyen pasadas las primeras semanas de vida por lo que se debe tener muy en cuenta la edad del paciente, tanto que se recomienda utilizar valores de corte específicos para cada edad.

El TIR en muestras muy precoces y en RN con íleo meconial con FQ puede ser negativo, y por el contrario podría elevarse en RN prematuros, con asfisia perinatal o de raza negra sin FQ. Hay un aumento significativo, doble riesgo de TIR elevado, entre los RN afroamericanos y entre los norteamericanos residentes en Europa en relación con la población general a pesar de una significativa menor incidencia de FQ entre ellos (1/17.000), lo que podría tener una base genética común.

A pesar de estas consideraciones no se recomienda una estrategia especial para los prematuros y recién nacidos enfermos. Sin embargo puede ser útil registrar la raza del RN para poder relacionarlo con posibles desviaciones de los resultados analíticos.

Los valores de corte a las 48 horas de vida se pueden establecer de distintas maneras: un valor absoluto, habitualmente 60-65 ng/mL aunque se pueden aceptar valores de hasta 90-105 ng/mL, o un valor cambiante en función de los resultados obtenidos en un período de tiempo determinado que puede ser un día o un mes aceptando

como patológicos los valores superiores al P90, P95 ó 98 para ese período.

Los portadores de una sola mutación del CFTR (heterocigotos) presentan unos valores de TIR significativamente superiores a los no portadores, aunque en la mayor parte de los casos dentro de rango. Esta diferencia es mayor en los portadores de mutaciones con insuficiencia pancreática. Se estima que el TIR solo detecta aproximadamente el 1.5% de los heterocigotos.

2. El reconocimiento de las mutaciones del gen CFTR

Aunque la FQ es un defecto genético único, existen numerosas posibles mutaciones en el gen. El gen FQ se localiza en 7q 31.3 es decir en el cromosoma 7, brazo largo, región 3, banda 1,3, y su expresión está restringida a las células epiteliales exocrinas.

La frecuencia de las distintas mutaciones es distinta en las diferentes partes del mundo, por lo que cada programa de cribado basado en el estudio del DNA deberá conocer las mutaciones más frecuentes en su país para elegir el panel ideal.

Como ya se ha dicho, hasta la fecha han sido identificadas más de 1.500 mutaciones. El uso de un panel amplio de mutaciones aumenta la sensibilidad del test y la predicción de la FQ pero a costa de aumentar el número de portadores identificados.

Estudio de las mutaciones del gen CFTR

Después de identificar un valor del TIR1 anormal, la mayoría de los programas de cribado realizan un estudio del DNA en la misma muestra para identificar las mutaciones seleccionadas del gen CFTR (estrategia TIR/DNA), y otros repiten el TIR en una segunda muestra de sangre hacia las dos semanas de vida (estrategia TIR/TIR) antes de realizar el estudio genético.

El estudio del DNA puede limitarse a la mutación más frecuente, la F508del, o seleccionar un panel con las mutaciones más

frecuentes en la región, lo que permite reconocer la mayor parte de las mutaciones estudiando sistemáticamente más de 30 posibles mutaciones. El objetivo de la estrategia elegida sería evitar los falsos negativos con el menor número posible de falsos positivos.

El estudio genético en España exige el consentimiento informado de la familia (LEY 14/2.007 de 3 de julio, de Investigación Biomédica) lo que obliga a una detallada información del estudio, y la firma del consentimiento podría recogerse en el mismo cartón con la muestra de sangre.

La sensibilidad del cribado varía fundamentalmente en función de la estrategia utilizada alcanzando en el mejor de los casos al 99% de los enfermos FQ, y aceptándose un 3-5% de falsos negativos.

A pesar de las 32 mutaciones estudiadas es posible que en un enfermo FQ con TIR elevado no se detecte ninguna mutación, es decir se podría considerar como un falso negativo. Para intentar reducir los falsos negativos algunos programas utilizan un "fail-safe" protocolo que acepta como positivo un test de cribado si el TIR a las 48 horas es muy elevada (superior a 100 ng/mL) o se mantiene elevado en muestras sucesivas durante el primer mes de vida a pesar de un estudio genético negativo de las 32 mutaciones estudiadas, y se determinaría el diagnóstico con un test del sudor.

3. Diagnóstico de la FQ: Test del Sudor

El "Test del sudor" sigue siendo el método diagnóstico principal de la FQ.

Un resultado positivo del cribado (TIR elevado y 1 ó 2 mutaciones) debe ser confirmado mediante el test del sudor. Algunos programas aceptan el diagnóstico de FQ con TIR elevado y 2 mutaciones sin necesidad de realizar el test del sudor, estrategia no aceptada por la *Cystic Fibrosis Foundation*.

Las células secretoras de las glándulas sudoríparas de los individuos sanos producen una secreción isotónica que en su curso por el conducto excretor, impermeable al agua, se va haciendo más hipotónica. La secreción de las glándulas sudoríparas de los pacientes con FQ es isosmolar, igual que en los sujetos sanos, pero en los pacientes con FQ la secreción es más escasa y la impermeabilidad del conducto excretor al ión cloro hace que su concentración aumente en el sudor.

En el test del sudor se estimula la producción de sudor por iontoforesis con pilocarpina y se recoge en un colector (Macroduct) o en otro soporte para su procesamiento (la iontoforesis es un método terapéutico que consiste en la introducción de distintos medicamentos en los tejidos por medio de corrientes eléctricas). De momento ni la conductividad del sudor ni su osmolaridad deberán usarse para diagnosticar la FQ, aunque en un futuro podrían aceptarse.

Para garantizar una buena muestra de sudor se recomienda que el RN tenga al menos 2 semanas de vida y un peso superior a los 2 Kg. El *Clinical and Laboratory Standards Institute* de los EEUU permite realizar un test del sudor a partir de las 48 horas de vida.

Protocolo de Cribado Neonatal de Fibrosis Quística en la CAPV

Las muestras de sangre del recién nacido se obtienen a las 48 h de vida y se conservan en un papel de filtro que se utiliza como soporte. Se obtendrá la firma del documento de consentimiento informado exigido por la legislación española para los estudios genéticos, consentimiento que también quedará registrado en el reverso del papel de filtro. El protocolo de cribado tiene tres fases. En primer lugar se mide el TIR a las 48 horas de vida (TIR1), y cuando el valor del TIR1 sea superior al valor de corte (65 ng/ml), se analiza el DNA en la misma muestra usando un panel de 32 mutacio-

nes. Los RN con 1 ó 2 mutaciones identificadas son referidos inmediatamente a la Unidad de Fibrosis Quística de Referencia para realizar el test del sudor y una evaluación clínica. Si no se encuentra ninguna mutación tras un TIR1 > 100 ng/ml o la familia no acepta el estudio del DNA se ofertará una nueva determinación del TIR a las 3 semanas de vida (TIR2). Si el valor de este segundo TIR fuera superior 40 ng/ml (valor de corte para esa edad) el niño será referido para realizar un test del sudor.

El diagnóstico o no de una FQ corresponde a los centros de seguimiento y se realizará según sea el resultado del test de sudor, positivo, intermedio o negativo.

2. LABORATORIO: ESTRATEGIA, APARATAJE, REACTIVOS Y CONTROLES EXTERNOS DE CALIDAD

La Unidad de Química Clínica del Laboratorio Normativo de Salud Pública es la Unidad Central y la responsable de los análisis del programa de cribado neonatal.

Estrategia

TIR/DNA: Determinación de Tripsinógeno Inmunoreactivo (TIR1) en una muestra de sangre de recién nacidos con 48 horas de vida. Consideramos positivos valores de TIR1 superiores a 65 ng/ml. Dichas muestras se pasan a estudio genético con el Kit de 32 mutaciones de Abbot. Con ello se alcanza el 83% de los alelos mutantes FQ en la población motivo del Programa, cumpliendo así las recomendaciones europeas que indican que el estudio genético debe ser capaz de identificar al menos el 80% de las mutaciones, lo que supone identificar al menos una mutación en el 96% de los pacientes.

Con esta estrategia podemos encontrar un 3.4% de falsos negativos

Aparataje

Para la determinación del Tripsinógeno Inmunoreactivo se utilizará el equipo DEL-

FIA utilizado habitualmente para los otros cribados.

El estudio genético se realiza con un secuenciador de 4 capilares de Apply Biosystem ligado al kit de las 32 mutaciones

Controles externos del Laboratorio de Salud Pública

Todas las técnicas de La Unidad de Química Clínica están acreditadas bajo la norma UNE EN ISO 15189 "Laboratorios Clínicos: Requisitos particulares relativos a la calidad y la competencia" por la Entidad Nacional de Acreditación (ENAC) que realiza auditorías de seguimiento anualmente.

3. DESCRIPCIÓN DE LOS PROCESOS Y

ACTIVIDADES, INCLUYENDO EL CONSENTIMIENTO INFORMADO: ESTRATEGIA, RECURSOS HUMANOS Y COORDINACIÓN

A. Información a la mujer gestante de que se le va a ofrecer la realización de la "Prueba del talón" a su bebé recién nacido con el fin de detectar diversas patologías entre las que se encuentra la FQ y se le entrega un folleto informativo sobre la FQ. Se realiza en los Centros de Atención Primaria durante los cursos de preparación al parto en el tercer trimestre de la gestación y en las maternidades privadas donde exista seguimiento de embarazos.

B. Información a la mujer puérpera: En la maternidad se entrega de nuevo el folleto informativo sobre la FQ y la solicitud del permiso para la realización del estudio genético. El/la pediatra cuando realiza la exploración del niño preguntará a los padres si tienen alguna duda con relación al cribado de la enfermedad de la que previamente les habrá informado el personal sanitario, debiendo cumplimentar y firmar el documento de Consentimiento Informado con la opción *SI doy mi consentimiento preferiblemente ya en ese momento,*

- tanto los padres o el representante legal como el testigo.
- C. Extracción de la muestra** de sangre del bebé en presencia de la madre y tomando pecho, a ser posible. Se realizará a partir de las 48 horas cumplidas de vida del bebé antes del alta hospitalaria en todas las maternidades públicas y privadas para los RNs de peso ≥ 1.500 g y edad de gestación ≥ 33 semanas. En los demás casos se realiza según los protocolos previamente acordados. La extracción la realiza el personal de enfermería de la maternidad.
- D. En caso de no desear** la madre o representante legal del bebé la realización de la prueba, firma la opción *No doy mi consentimiento* del documento "Consentimiento informado". La información y el requerimiento de la firma del documento lo realiza el/la pediatra coordinador, responsable del programa de cribado.
- E. Remisión de las muestras a las Secretarías de las Áreas-Base**, donde se introducen los datos de los bebés y sus madres en la aplicación informática. Los datos del bebé, de la madre, y posteriormente los resultados de las analíticas realizadas se introducen en una aplicación informática específica. Dicho fichero informático, propiedad del Departamento de Sanidad (Registro de Recién Nacidos de la CAPV), está oficialmente declarado en el BOPV y garantiza la confidencialidad de los datos contenidos en él y el uso exclusivo de los mismos para los fines del programa.
- F. Remisión de las muestras** desde las Secretarías de las Áreas-Base al Laboratorio Normativo de Salud Pública, a la Unidad de Química Clínica. El personal técnico y administrativo del Laboratorio de Salud Pública realiza un chequeo diario de las muestras recibidas en papel de filtro con los datos introducidos en la aplicación informática.
- G. El personal técnico del Laboratorio de Salud Pública** analiza las muestras y emite los resultados, que son validados por el/la jefe/a de la Unidad. En el caso de la FQ se determina el Tripsinógeno Inmunorreactivo (TIR1). Se consideran positivas las muestras con concentraciones de TIR superiores a 65 ng/ml.
- H. Pauta ante casos positivos de TIR1:** las muestras cuyo resultado exceda el valor límite prefijado por el Laboratorio, y que se estima que sería como máximo de un 1% del total de las muestras, se catalogarán como "positivas" y se seleccionarán para estudio genético siempre y cuando se encuentre la firma del consentimiento en el reverso de la tarjeta de papel.
- I. En el caso de no consentimiento** para el estudio genético, el coordinador/a oferta la prueba alternativa que consiste en la extracción de una segunda muestra de sangre para realizar el análisis del TIR a las 3 semanas de vida del bebé (TIR2). Si la familia no accede a la realización de la prueba alternativa, se tomará nota y firma de la persona responsable.
- Si el resultado del TIR2 es negativo (valor inferior a 40 ng/ml), el coordinador/a informa del resultado, entregando a la familia un informe con los resultados de las pruebas.
 - Si el resultado es positivo (valor superior a 40 ng/ml), el coordinador/a informa del resultado y refiere a la familia a la Unidad de Referencia de la Fibrosis Quística (Hospital de Cruces) para la realización del test del sudor.
- J. La secretaria de la Unidad Central del Laboratorio de Salud Pública** informa a la secretaria del área base del resultado del estudio por correo electrónico y telefónicamente. Este coordinador/a actúa de la siguiente manera, según el resultado de la prueba:
- **2 mutaciones genéticas.** El coordinador/a informa del resultado y refiere a la familia a la Unidad de Referencia de la Fibrosis Quística (Hospital de Cruces). También informa por correo electrónico y por teléfono al jefe de la Unidad de referencia de la Fibrosis Quística de la remisión del caso y deja constancia de dicha remisión en la aplicación informática del programa.
 - **1 mutación genética.** El coordinador/a informa del resultado y refiere a la familia a la Unidad de Referencia de la Fibrosis Quística (Hospital de Cruces). También informa por correo electrónico y por teléfono al jefe de la Unidad de Referencia de la Fibrosis Quística de la remisión del caso y deja constancia de dicha remisión en la aplicación informática del programa.
 - **0 mutaciones genéticas** y habiendo sido el valor inicial del TIR mayor de 100 ng/ml, el coordinador/a propone a la familia la realización de una segunda extracción de sangre para repetir el análisis de la TIR cuando el bebé cumpla las 3 semanas de vida.
 - a. Si el resultado del TIR2 es negativo (< 40 ng/ml) informa del resultado a la familia y se da por terminado el cribado.
 - b. Si el resultado es positivo (≥ 40 ng/ml) refiere a la familia a la Unidad de Referencia de la Fibrosis Quística (Hospital de Cruces). También informa por correo electrónico y por teléfono al jefe de la Unidad de referencia de la Fibrosis Quística de la remisión del caso y deja constancia de dicha remi-

sión en la aplicación informática del programa.

- **0 mutaciones genéticas** y habiendo sido el valor del TIR1 menor de 100 ng/ml se considera NEGATIVO y se da por terminado el cribado.

K. La Unidad de Referencia de la Fibrosis Quística de la CAPV, perteneciente al Servicio de Pediatría del Hospital de Cruces, asume la responsabilidad del seguimiento del caso detectado y realiza las pruebas diagnósticas de segundo nivel (test del sudor, etc.) Con los resultados establece el diagnóstico definitivo: paciente con FQ; paciente portador de FQ; recién nacido normal.

L. El jefe de la Unidad de Referencia de la Fibrosis Quística notifica el diagnóstico definitivo al coordinador/a del programa de cribado neonatal del laboratorio de salud pública. Éste/a introduce en la aplicación informática el diagnóstico definitivo y la fecha del mismo.

M. La Unidad de Genética del Hospital de Cruces realiza el consejo genético a las familias que lo deseen. Realiza los estudios genéticos familiares a ambos progenitores, a los hermanos/as y a otros familiares que pudieran estar afectados. Si ambos progenitores son portadores, oferta el diagnóstico prenatal para la futura descendencia de la pareja.

El seguimiento y tratamiento del caso se realiza por la Unidad de Referencia de la Fibrosis Quística en coordinación con el/la pediatra de cabecera

D. SEGUIMIENTO DE CASOS POSITIVOS Y PORTADORES

1. Hospital de Cruces - Servicio de Pediatría - Unidad de Fibrosis Quística

- 1) En el Servicio de Pediatría del Hospital de Cruces está reconocida actualmente

la única Unidad de referencia de Fibrosis Quística de la CAV, también reconocida a nivel estatal por la Sociedad Española de FQ (www.fibrosisquistica.com).

- 2) La información a las familias en las que se haya detectado alguna mutación genética se realizará de forma inmediata en la Unidad de Fibrosis Quística por personal experto en esta enfermedad.
- 3) A todos los RNs a los que se identifique 1 o 2 mutaciones se les debe practicar un test de sudor validado para confirmar el diagnóstico.
- 4) Se informará también al Pediatra de Atención Primaria a cuyo cargo está el RN de todo resultado positivo.

2. Hospital de Cruces - Servicio de Bioquímica

El Consenso Europeo de FQ al igual que el correspondiente a la Cystic Fibrosis Foundation (EEUU) hace especial hincapié en que el test de sudor debe realizarse siguiendo la siguiente metodología: recogida del sudor mediante el método de Gibson y Cooke o Macroduct y posterior determinación de la concentración de cloro mediante cloridómetro de micromuestras ("método culombimétrico"). Esta técnica sólo está disponible en el Hospital de Cruces.

3. Hospital de Cruces - Consulta de Genética

- 1) Los pediatras de la Unidad de FQ derivarán a la Consulta de Genética a todas las familias en las que los estudios genéticos sean positivos.
- 2) Se realizarán los estudios genéticos familiares a ambos progenitores, a los hermanos y a otros familiares que pudieran estar afectados.
- 3) En el caso de que los dos progenitores sean portadores de FQ, se ofrecerá la posibilidad de diagnóstico prenatal.

BIBLIOGRAFÍA

1. Comeau AM, Parad RB, Dorkin HL, et al. Population-based newborn screening for genetic disorders when multiple mutation DNA testing is incorporated: a cystic fibrosis newborn screening model demonstrating increased sensitivity but more carrier detections. *Pediatrics*. 2004; 113: 1573-81.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Newborn screening for cystic fibrosis: evaluation of benefits and risks and recommendations for state newborn screening programs. *MMWR*. 2004; 53(No. RR-13): all issue.
3. Welsh MJ, Ramsey BW, Accurso F, Cutting GR. Cystic fibrosis. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, et al., eds. *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. 8th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2001. p. 5121-88.
4. Ahmed N, Corey M, Forstner G, et al. Molecular consequences of Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator (CFTR) gene mutations in the exocrine pancreas. *Gut*. 2003; 52: 1159-64.
5. Parad RB, Comeau AM, Dorkin HL, et al. Sweat testing newborn infants detected by cystic fibrosis newborn screening. *J Pediatr*. 2005; 147(3 Suppl): S69-72.
6. Boyle MP. Nonclassic cystic fibrosis and CFTR-related diseases. *Curr Opin Pulm Med*. 2003; 9: 498-503.
7. Giusti R, Badgwell A, Iglesias AD, and the New York State Cystic Fibrosis Newborn Screening Consortium. New York State Cystic Fibrosis Consortium: The First 2.5 Years of Experience With Cystic Fibrosis Newborn Screening in an Ethnically Diverse Population. *Pediatrics*. 2007; 119: e460-e467.
8. Farrell Ph, Rosenstein B, White T, Accurso F, Castellani C, et al. Guidelines for Diagnosis of Cystic Fibrosis in Newborns through Older Adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report. *J Pediatr*. 2008; 153: S4-S14.
9. Grosse S, Boyle C, Botkin J, Comeau AM, Kharrazi M, et al. Newborn Screening for Cystic Fibrosis. Evaluation of Benefits and Risks and Recommendations for State Newborn Screening Programs. *MMWR*. 2004; 53 (RR13): 1-36.
10. Comeau AN, Parad R, Dorkin H, Dovey M, Gerstle R, et al. Population-Based Newborn Screening for Genetic Disorders When Multiple Mutation DNA Testing Is Incorporated: A cystic Fibrosis Newborn Screening model Demonstrating Increased Sensivity but More Carrier Detections. *Pdiatrics*. 2004; 113: 1573-1581.

11. Munck A, Dhondt JL, Sahler C, Roussey M. Implementation of the French Nationwide Cystic Fibrosis Newborn Screening Program. *J Pediatr*. 2008; 153: 228-233.
12. Tellería JJ, Alonso MJ, Blanco A. Cribado neonatal de la fibrosis quística *An Pediatr Contin* 2005;3:168-172.
13. Parad R, Comeau AM, Dorkin H, Dovey M, Gerstle R, et al. Sweat testing infants detected by cystic fibrosis newborn screening *J Pediatr* 2005;147:S69-S72.
14. LeGrys V, Yankasaskas J, Quittell, Marshall B, Mogayzel P. Diagnostic Sweat Testing: The Cystic Fibrosis Foundation Guidelines. *J Pediatr*. 2007; 151: 85-89.
15. Comeau AM, Accurso F, White T, Campbell P, Hoffman G, et al. Guidelines for Implementation of Cystic Fibrosis Newborn Screening Programs: Cystic Fibrosis Foundation Workshop Report. *Pediatrics*. 2007; 119: 495-518.
16. Parad R, Comeau AM. Diagnostic Dilemmas Resulting from the Immunoreactive Trypsinogen Cystic Fibrosis Newborn Screening Algorithm. *J Pediatr*. 2005; 147: S78-S82.