FIBROSIS QUÍSTICA Y TAMIZAJE NEONATAL

NEWBORN SCREENING (NBS) AND CYSTIC FIBROSIS

Dra. María Lina Boza

Neumóloga pediatra. Hospital Clínico San Borja Arriarán, Santiago

Profesor Adjunto Pediatría Universidad de Chile

Referente Técnico para Fibrosis Quística, Ministerio de Salud, Chile

NEWBORN SCREENING (NBS) AND CYSTIC FIBROSIS

Newborn screening for cystic fibrosis is a public health strategy that has been associated with early improved nutrition and survival, and the potential for preventing severe health problems. Various protocols have been employed, being the measurement of immunoreactive trypsinogen (IRT) in the first few days of life the first step in all of them. The second tier can include IRT/IRT, IRT/DNA, IRT/PAP (pancreatitis associated protein). Protocol selection depends on the priorities for each country but at present there is no optimal strategy.

Keywords: cystic fibrosis, newborn, screening, immunoreactive, trypsinogen

RESUMEN

El tamizaje neonatal para fibrosis quística es una estrategia de salud pública que ha demostrado beneficios nutricionales, aumento de la sobrevivencia y potencialmente prevención de problemas severos de salud. En el mundo se usan variados protocolos, sin embargo en todos el primer paso es la determinación de tripsinógeno inmunorreactivo (IRT) en sangre, tomado del talón del recién nacido. El segundo paso incluye la determinación de un segundo IRT o determinación de DNA o PAP (Proteína asociada a pancreatitis). La selección del protocolo a seguir depende de cada país pero hasta ahora no hay una estrategia óptima.

Palabras clave: fibrosis quística, tamizaje, neonatal, tripsinógeno, inmunorreactivo

INTRODUCCIÓN

La Fibrosis Quística (FQ) es la enfermedad hereditaria letal más frecuente en raza blanca. Se transmite genéticamente de manera autosómica recesiva, con incidencia reportada de 1/3500 en población caucásica y de 1/8000 en hispanos. Esta patología es un problema de salud pública de importancia, es una de las mayores fuentes de enfermedad pulmonar severa sumada a compromiso pan-sinusal, alteración exocrina y endocrina del páncreas, insuficiencia hepática, íleo meconial, prolapso rectal, compromiso óseo, articular, esterilidad masculina y embarazos de alto riesgo (1).

En la mayoría de los países desarrollados, el diagnóstico se realiza en etapas preclínicas a través de pesquisa neonatal a edades menores de 5 meses. Este diagnóstico pre sintomático, en conjunto con seguimiento y tratamiento precoz, ha resultado en una sobrevivencia mayor a los 40 años. La evidencia indica que incluir FQ en tamizaje neonatal resulta en un diagnóstico precoz y actualmente hay acuerdo mundial sobre sus beneficios.

Las primeras experiencias en tamizaje para FQ en Europa comenzaron en los años 70 con la medición de albúmina en meconio. El tripsinógeno inmunorreactivo (IRT) elevado se describe por primera vez en 1979 con su introducción en Australia y algunos países europeos para diagnóstico. En 1989 se clona el gen de FQ en el brazo largo del cromosoma 7 y de allí en adelante se identifican mutaciones productoras de la

enfermedad que se incluyen en los protocolos de tamizaje (2-4). En 1985 se inicia en Wisconsin, Estados Unidos, la primera investigación prospectiva randomizada en 325.171 pacientes en un protocolo IRT/DNA a cargo del Dr. Philip Farrell, el cual posteriormente revela claros beneficios nutricionales (5) y de allí hasta la actualidad numerosos países tienen diversos protocolos para el diagnóstico neonatal en etapas preclínicas, a edades menores de 5 meses (6). Sin embargo han pasado décadas para su introducción en muchos países que demandaban costo efectividad para llevarlo adelante (Figura 1).

Previo a considerar la validez para iniciar tamizaje se deben revisar los criterios de Wilson Junger modificados por Petros (7), para establecer un puntaje cuantitativo usado para todas enfermedades susceptibles de incorporación a programas de tamizaje. Este debe cumplir varias premisas:

1. Estar inmerso en un sistema o estructura existente
2. El estrés para la familia debe reducirse o eliminarse
3. Los costos del tratamiento deben estar cubiertos, tanto en el ámbito público como privado
4. El tamizaje puede ser rechazado por la familia
5. Debe existir una organización para otorgar información y consejo para la familia
6. Poseer una infraestructura para el tamizaje, confirmación diagnóstica y las intervenciones necesarias
7. Proveer consejo genético
8. Proporcionar información completa sobre falsos positivos y negativos

Correspondencia:

Dra. María Lina Boza

Hospital San Borja – Arriarán

Santa Rosa 1234 – Santiago

Correo electrónico: bozaml@gmail.com

Figura 1. Distribución tamizaje neonatal en el mundo.

At : Philip Farrell MD PhD. Cystic Fibrosis Foundation's facilitator nationwide implementation of cystic fibrosis newborn screening.

BENEFICIOS DEL TAMIZAJE EN FQ

Son múltiples.

La presencia de malabsorción por insuficiencia pancreática puede ser corregida precozmente, antes de los 2 meses (8). Se ha demostrado un claro beneficio nutricional con efecto positivo en peso y talla, lo que ha resultado en aumento de sobrevida (5, 9), retraso en el compromiso pulmonar con mejor función pulmonar a largo plazo (10), menor número de hospitalizaciones con reducción de costos comparativos (11), reconocimiento precoz de infección por *Pseudomona* y su tratamiento y erradicación, disminución del estrés familiar comparados con las familias de pacientes diagnosticados tardíamente (11).

Aumento de la sobrevida

Un estudio australiano de seguimiento en 25 años comparando recién nacidos con tamizaje versus aquellos diagnosticados por síntomas antes de implementar programa de tamizaje neonatal demostró una marcada diferencia en la sobrevida de los pacientes (12). Adicionalmente provee consejo genético precoz, abre la posibilidad para el paciente de ser referido a centros especializados, asegura el diagnóstico desde el inicio de la enfermedad con el paciente "sano". Sin embargo, se deben considerar algunos aspectos negativos, los cuales se describen más adelante.

FALSOS NEGATIVOS

El paciente con tamizaje negativo no necesariamente está sano y por lo tanto se debe estar alerta ante la posibilidad que presente síntomas y signos compatibles con FQ. Los niños diagnosticados precozmente corren el riesgo de infectarse con

Pseudomona si asisten a control en centros ambulatorios de pacientes con FQ (5) y existe el potencial efecto discriminatorio en países con gran diversidad étnica (13). Se debe destacar que los programas de tamizaje no pretenden diagnosticar a todos los pacientes y se acepta un 5-10% de falsos negativos.

PROTOCOLOS

El diseño del protocolo a usar debe reflejar las características de la población, la prevalencia de la enfermedad, condiciones socioeconómicas, mutaciones encontradas, capacidad instalada para hacer el seguimiento luego del diagnóstico y de aportar el tratamiento necesario.

La planificación sistemática de un programa de tamizaje tiene numerosos componentes y se han establecido guías especiales que se deben consultar previamente antes de iniciar un programa (13,14).

ESTRATEGIA PARA TAMIZAJE

Primer paso

IRT (tripsinógeno inmunorreactivo) como prueba diagnóstica temprana con determinación de los valores de corte para la población a estudiar y replicación en duplicado en resultados positivos o valores levemente menores al valor definido para cada población. La replicación de los resultados es importante para minimizar los efectos de diferencias en volumen de sangre tomados de la tarjeta, variación en la calibración diaria o contaminación.

El laboratorio debe mantener control de calidad con valores de corte para determinar la sensibilidad y especificidad del método en la población a estudiar con evaluación periódica.

Algunos laboratorios pueden elegir un valor absoluto de IRT y otros un porcentaje del valor diario (floating numbers), esto último evita las variaciones en los resultados por cambios de temperatura estacionales especialmente cuando el envío de la muestra al laboratorio puede estar sujeto a demora (14). En Chile el año 2013 en un plan piloto financiado por el Ministerio de Salud (MINSAL) se determinó en 3000 muestras de recién nacidos (RN) con técnica Autodelfia, un valor de corte fijo de 56.7 (99,5) con especificidad del 99% (15). Bajar el percentil a 95 reduce dramáticamente la especificidad y el valor predictivo positivo (PPV).

La determinación de IRT se realiza en una gota de sangre del talón del recién nacido que se coloca en un papel absorbente en una tarjeta especialmente diseñada (Tarjeta Guthrie) y se envía a un laboratorio previamente definido y validado para la técnica implementada.

Dado que los niveles de IRT disminuyen rápidamente después del nacimiento se recomienda que la muestra de sangre del talón en el RN sobre 37 semanas de gestación se deberá tomar entre 48 a 72 hrs. En RN de 36 a 37 semanas de gestación tomar muestra a los 7 días de edad y RN menor o igual a 35 semanas de gestación a los 7 días de edad y repetir a los 15 días (16).

Causas de IRT elevado no FQ

Trisomía 13 y 18, stress perinatal, infección congénita, insuficiencia renal, atresia intestinal, diabetes insípida nefrogénica (13).

Situaciones especiales

Los pacientes con ileo meconial por razones que no están claras, frecuentemente tienen IRT normal, es decir pueden ser falsos negativos y por tanto en todos debe realizarse test del sudor para confirmar el diagnóstico (13). Debe informarse de esta situación al laboratorio que realiza tamizaje.

Segundo paso

Existen varias alternativas: IRT, DNA, PAP.

La alta tasa de falsos positivos del primer IRT (superior al 1%) (19) determina la necesidad de una segunda muestra, esta puede ser IRT, DNA o PAP. Si la muestra es un segundo IRT debe tomarse entre las 2 a 3 semanas de nacido, dado que la disminución del IRT en niños con FQ disminuye lentamente en relación al paciente sano (17). Cuando la elección es DNA o PAP se procesa en la misma primera muestra.

La mayoría de los protocolos están basados en una combinación de determinación de IRT seguido de análisis genético con un panel adaptado a la población a estudiar, incluyendo alelos que presentan las minorías étnicas. Esta última tecnología ha demostrado alta sensibilidad y especificidad con alto valor predictivo positivo. Sin embargo países como Chile en que los resultados positivos en los alelos estudiados en un panel de 36 mutaciones, revela que las delecciones mayores al 1% son deltaF508 (30.6 %), p.R334W (3.3%), p.G542X (2.4%), c.3849+10Kb CNT(1.3%) p.R553X (1.2%) (18), acompañado de gran heterogeneidad geográfica (Figura 2). Esto determina que el protocolo a seguir en nuestro país deberá ser IRT/IRT o IRT/PAP.

Figura 2. Distribución de mutaciones en Chile (18)

Algunos problemas de IRT/DNA (13)

- Aumento de portadores sanos determina altos índices de ansiedad en los padres, depresión, disminución del apego al recién nacido y la apreciación de tener un niño sano pero "no tan sano", lo que hace fundamental el seguimiento y apoyo, lo cual implica una infraestructura adicional de ayuda a la familia.
- Aumenta el número de niños con diagnóstico no concluyente definidos como "Síndrome metabólico relacionado al CFTR" (CRMS) en Estados Unidos y como "Diagnóstico tamizaje neonatal FQ no concluyente", en Europa, los cuales deberán ser referidos al especialista en FQ. Los test ambiguos, en algunos casos se deben a una variante de FQ que más adelante presenta

los clásicos síntomas y signos, otros nunca expresarán la enfermedad, otros tendrán un fenotipo más leve (ej. esterilidad por obstrucción del vas deferens). En esta espera la familia puede experimentar gran ansiedad que debe ser apoyada por un equipo altamente calificado.

- Hay países en los cuales no se acepta el estudio genético (ej Alemania) dado que esto podría significar discriminación para aquellos pacientes que presentan la enfermedad.

- En los países donde el aborto es legal las familias pueden optar por el término del embarazo cuando hay diagnóstico genético prenatal, como se ha evidenciado en Escocia, donde se ha visto un descenso del 50% de neonatos con FQ (14).

- En lugares con diversidad étnica no es aconsejable la determinación de IRT/DNA.

Determinación de PAP

Estudios en pancreatitis aguda han demostrado que es posible usar una proteína conocida como PAP, la cual se encuentra elevada en casos de estrés pancreático. Se sintetiza en el páncreas de neonatos con FQ y se detecta en la sangre después del nacimiento. Los primeros estudios los ha realizado el Dr. Sarles en Francia (19) y posteriormente ha sido evaluado por otros grupos europeos.

La estrategia IRT-PAP es más eficiente que IRT-IRT, porque reduce el tiempo para la confirmación de la enfermedad en caso de pesquisa positiva, con la gran ventaja de eliminar la necesidad de una segunda muestra de sangre con la potencial pérdida de pacientes y en segundo lugar elimina el estrés familiar de la espera entre primera y segunda determinación. Solo se informa a los padres cuando las 2 muestras están positivas. Ambos proporcionan un valor predictivo positivo menor comparados con la determinación genética.

Para mejorar la especificidad, el grupo colaborativo de Dinamarca combinó IRT/PAP con determinación extendida de DNA como tercera muestra cuyos resultados determinaron un valor predictivo más alto (87%).

CONFIRMACIÓN DIAGNÓSTICA

La medición de cloro en sudor con técnica de Gibson y Cooke es considerada como *gold standard*.

La confirmación diagnóstica debe hacerse siempre, aún en pacientes con estudio de DNA con 1 o 2 alelos positivos. La determinación de cloro en sudor considerada como normal es menor a 30 meq/l al tercer día de nacido (estos valores deben mantenerse hasta las 6 semanas de vida). Cualquier valor entre 30 y 60 meq/l deberá repetirse 1 a 2 meses después. Los RN deben tener un peso sobre los 2 kg para la toma de la muestra de sudor y tener presente que la sudoración en pacientes de poco peso puede ser escasa, debiendo repetir la muestra. Los niños prematuros tienen frecuencias más altas de "muestra insuficiente".

Cada país donde se inicia tamizaje tiene varias alternativas para elegir (Tabla 1), con niveles de sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo distinto (14). Una vez diagnosticado, el paciente debe continuar control en centros especializados siguiendo guías clínicas que incluyen aspectos generales, soporte nutricional, seguimiento de la enfermedad pulmonar y extrapulmonar, complicaciones y apoyo psicológico familiar (14).

Tabla 1. Alternativas para realizar tamizaje neonatal para Fibrosis Quística

Protocolo
IRT / IRT
IRT / DNA panel limitado
IRT / DNA panel extendido **
IRT / DNA / IRT *
IRT / IRT / DNA
IRT / PAP
IRT / PAP / DNA
IRT / PAP / DNA panel extendido #

IRT: tripsinógeno inmunoreactivo

PAP: proteína asociada a pancreatitis

* Combinaciones de mayor sensibilidad

Combinaciones de mayor especificidad

En Chile actualmente en un programa piloto en 110.000 RN se están evaluando distintos protocolos de tamizaje neonatal, IRT/IRT en 30.000 RN e IRT/PAP en 80.000 RN. El protocolo está en ejecución y se esperan resultados próximamente.

CONCLUSIÓN

El tamizaje neonatal en FQ en los países donde se ha implementado demuestra claros beneficios. Cada país debe elegir el protocolo a seguir.

El autor declara no presentar conflicto de intereses

REFERENCIAS

1. Elborn J. How can we prevent multisystemic complications of Cystic Fibrosis. *Semin Respir Crit Care Med* 2007;28:303-311
2. Prosser R, Owen H, Bull F, Parry B, Smerkinich J, Goodwin HA, Dathan J. Screening for cystic fibrosis by examination of meconium. *Arch Dis Child* 1974;49:597-601
3. Crossley JR, Elliott RB, Smith PA. Dried-blood spot screening for cystic fibrosis in the newborn. *Lancet* 1979;1:472-474
4. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean M et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989;245:1059-1065
5. Farrell PM, Kosorok MR, Rock MJ, Laxova A, Zeng L, Lai HC, et al. Early diagnosis of cystic fibrosis through neonatal screening prevents severe malnutrition and improves long-term growth. *Wisconsin Cystic Fibrosis Neonatal Screening Study Group. Pediatr* 2001;107:1-13

6. Dijk, FN, Fitzgerald DA. The impact of newborn screening and earlier intervention on the clinical course of cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev* 2012; 13: 220-225
7. Petros M. Revisiting the Wilson-Jungner criteria: how can supplemental criteria guide public health of genetic screening? *Genet Med* 2012 ;14: 129-134
8. Cipolli M, Castellani C, Wilcken B, , Massie J, McKay K, Gruca M et al. Pancreatic phenotype in cystic fibrosis patients identified by mutation screening. *Arch Dis Child* 2007;92:842-846
9. Mérelle ME, Schouten JP, Gerritsen J, Dankert-Roelse JE. Influence of neonatal screening and centralized treatment on long-term clinical outcome and survival of CF patients. *Eur Respir J* 2001;18:306-315
10. McKay KO, Waters DL, Gaskin KJ. The influence of newborn screening for cystic fibrosis on pulmonary outcomes in New SouthWales. *J Pediatr* 2005;147(3 Suppl):S47-50
11. Balfour-Lynn IM. Newborn screening for cystic fibrosis: evidence of benefit. *Arch Dis Child* 2008;93:7-9
12. Vernooij-van Langen AM, Loeber JG, Elvers B, Triepels RH, Gille JJ, Van der Ploeg CP et al. Novel strategies in newborn screening for cystic fibrosis. *Thorax* 2012; 67:289-295
13. Castellani C, Southern K, Browlee K, Dankert Roelse J, Duff A, Farrell M et al. European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening. *J Cyst Fibros* 2009; 8:153-173
14. Mehta A, Sommerburg O, Southern K. Newborn screening for cystic fibrosis : opportunities and remaining challenges. *ERS Monograph* 2014;64:65-76
15. Boza ML, Lobo G, Navarro S. Valores de tripsinógeno inmunorreactivo en sangre seca para tamizaje neonatal en Chile. *Neumol Pediatr* 2012 ;7:86
16. Laboratory Standards and Guidelines for Population-based Cystic Fibrosis Carrier Screening. *Genet Med* 2001;3:149-154
17. Crossley JR, Smith PA, Edgar BW, Gluckman PD, Elliott RB. Neonatal screening for cystic fibrosis using immune reactive trypsin assay in dried blood spots. *Clin Chim Acta* 1981;113:111-121
18. Lay-Son G, Puga A, Astudillo P, Repetto G et al. Cystic fibrosis in Chilean patients: Analysis of 36 common gene mutations. *J Cyst Fibros* 2011; 1:66-70
19. Sarles J, Giorgi R, Berthézène P, Munck A, Cheillan D, Dagorn JC, Roussey M . Neonatal screening for cystic fibrosis: Comparing the performances of IRT/DNA and IRT/PAP . *J Cyst Fibros* 2014;13:384-390