

Pilar Roncalés Samanes

Implantación de un programa de
cribado metabólico expandido en
Aragón: nuestra experiencia tras
cinco años

Departamento

Pediatría, Radiología y Medicina Física

Director/es

García Jiménez, Inmaculada
Samper Villagrasa, María Pilar

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>



Reconocimiento – NoComercial – SinObraDerivada (by-nc-nd): No se permite un uso comercial de la obra original ni la generación de obras derivadas.

© Universidad de Zaragoza
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606



Universidad
Zaragoza

Tesis Doctoral

IMPLANTACIÓN DE UN PROGRAMA DE CRIBADO METABÓLICO EXPANDIDO EN ARAGÓN: NUESTRA EXPERIENCIA TRAS CINCO AÑOS

Autor

Pilar Roncalés Samanes

Director/es

García Jiménez, Inmaculada
Samper Villagrasa, María Pilar

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA
Pediatria, Radiología y Medicina Física

2016



**Departamento de
Pediatria, Radiología
y Medicina Física**

Universidad Zaragoza

Implantación de un programa de
cribado metabólico expandido en
Aragón: nuestra experiencia tras cinco
años.

Tesis doctoral

Pilar Roncalés Samanes

Universidad de Zaragoza

Directoras

Dra. MC. García Jiménez

Dra. P. Samper Villagrasa

Doña Inmaculada García Jiménez y Doña María Pilar Samper Villagrasa,
Profesoras del Departamento de Pediatría, Medicina y Radiología Física de la
Universidad de Zaragoza

CERTIFICAN

que Doña Pilar Roncalés Samanes, Licenciada en Medicina y especialista
en Pediatría, ha realizado bajo su dirección y en el Departamento de Pediatría,
Medicina y Radiología Física de la Universidad de Zaragoza el trabajo
***Implantación de un programa de cribado metabólico expandido en Aragón:
nuestra experiencia tras cinco años***, que se recoge en este proyecto y memoria
para optar al grado de Doctora por la Universidad de Zaragoza.

Y para que conste de acuerdo con la legislación vigente, firman este
certificado

Zaragoza, a 31 de agosto de 2016.

Dra. Inmaculada García Jiménez

Dra. María Pilar Samper Villagrasa

A mi familia

Agradecimientos

A la Dra. Pilar Samper, por su dedicación, implicación y entrega. Por ser tan minuciosa y ayudarme a pulir cada detalle.

A la Dra. Inmaculada García, por despertar en mi el gusanillo de las enfermedades metabólicas, enseñarme tanto y hacer que seguir aprendiendo sea un reto y una afición. Por animarme a empezar este trabajo y acompañarme en su desarrollo, ayudándome con todo lo que he necesitado en cada momento.

Al Dr. Antonio Baldellou, por saber transmitir su conocimiento de esa manera tan especial, por su cercanía e inestimable ayuda.

Al Dr. Javier López Pisón y al Dr. José Luis Peña, por considerarme un miembro más del equipo y hacerme sentir parte del grupo.

A la Dra. Lorena Monge, por compartir tantos ratos de aprendizaje, su experiencia y sus conocimientos conmigo.

A la Dra. Yolanda González, porque sin ella no hubiera sido posible llevar a cabo este trabajo. Porque siempre está dispuesta a dedicar un rato de su tiempo con una sonrisa.

Al Dr. Julio Montoya, por enseñarme tanto, por ayudarme en todo y por estar siempre ahí. Por haber hecho que creciera mi afición por las enfermedades metabólicas como parte de mi vida profesional, y, cómo no, por estar tan presente en mi vida personal.

Al Dr. Isidro Vitoria, por compartir experiencias y por su amabilidad y cercanía.

A todos mis maestros a lo largo de mi formación como pediatra, que me han enseñado todo lo que sé. Y a mis compañeros en este camino, que han aportado la sal.

A Pedro, por apoyarme en todo, por compartir su vida y su tiempo conmigo, por hacerme tan feliz y darme una familia maravillosa, y por hacerme tan fácil ser esposa y madre.

A Paloma, por existir.

A mis padres, por darme tanto, y a la vez mostrarme lo que es el esfuerzo y la constancia para conseguir lo que uno se propone. Por demostrarme su amor en cada momento.

A mis hermanos, por compartir tantos buenos momentos y estar siempre tan unidos, y por seguir el ejemplo de mis padres y demostrar que la dedicación y el esfuerzo tienen su fruto.

A toda mi familia, a mis abuelos, en particular al abuelo Pedro Luis, porque siempre decía que no dejara que me llamaran *Doctora* hasta que no lo fuera de verdad.

A mis amigas, por tantos momentos juntas, que han hecho que los años de colegio, carrera, residencia y trabajo fueran lo que han sido y son.

Índice

Abreviaturas	1
Introducción.....	7
1.1. Cribado neonatal.....	9
1.2. Historia del cribado neonatal.....	10
1.3. Criterios de inclusión en los programas de cribado.....	11
1.4. Situación del cribado neonatal en España.....	12
1.5. Regulación del cribado en Aragón.....	14
1.6. Características de las enfermedades que se criban en Aragón.....	17
1.6.1. Hiperfenilalaninemia/fenilcetonuria (PKU/HFA).....	17
1.6.2. Tirosinemia tipo I (TYR I).....	18
1.6.3. Tirosinemia tipo II (TYR II).....	19
1.6.4. Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (MSUD).....	20
1.6.5. Homocistinuria (HCY).....	21
1.6.6. Citrulinemia tipo I (CIT).....	22
1.6.7. Argininemia (ARG).....	23
1.6.8. Deficiencia primaria de carnitina (CUD).....	23
1.6.9. Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena corta (SCAD).....	24
1.6.10. Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCAD).....	25
1.6.11. Deficiencia de 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga (LCHAD).....	26
1.6.12. Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCAD).....	27
1.6.13. Deficiencia de carnitina palmitoil transferasa I (CPT-I).....	27
1.6.14. Deficiencia de carnitina palmitoil transferasa II (CPT-II).....	28
1.6.15. Deficiencia de carnitina/acilcarnitina traslocasa (CACT).....	29
1.6.16. Acidemia glutárica tipo I (GA I).....	29
1.6.17. Acidemia isovalérica (IVA).....	30
1.6.18. Acidemia propiónica (PA).....	31
1.6.19. Acidemia metilmalónica (MMA).....	32
1.6.20. Aciduria 3-hidroxi 3-metil glutárica (HMG).....	33
1.6.21. Deficiencia de β -cetotilasa (BKT o MAT).....	34
1.6.22. 3-metilcrotonilglicinuria (3MCC).....	35
1.6.23. 2-metilbutirilglicinuria (2MBG).....	36
1.7. Método de realización del cribado neonatal.....	37
1.7.1. Obtención y manejo de la muestra sanguínea.....	37

1.7.2. Análisis de la muestra mediante la espectrometría de masas en tándem.	39
1.7.3. Control de calidad de la prueba de cribado.	42
1.8. Posibles resultados del cribado ampliado.	43
1.8.1. Enfermedades congénitas del metabolismo.....	43
1.8.2. Alteraciones transitorias.	44
1.8.3. Déficit de vitamina B12.	44
1.8.4. Falsos positivos y falsos negativos.....	45
1.9. Diagnóstico de familiares.....	50
1.10. Nuevas perspectivas en el cribado neonatal.....	51
1.10.1. Enfermedades lisosomales.....	52
1.10.2. Galactosemia.	55
1.10.3. Enfermedades peroxisomales.....	55
1.10.4. Deficiencia de biotinidasa.....	56
1.10.5. Hemoglobinopatías.....	56
1.10.6. Inmunodeficiencias combinadas graves.	57
1.10.7. Síndrome X frágil.....	58
1.10.8. Secuenciación del genoma.....	58
Justificación.....	61
Objetivos.....	65
Hipótesis.....	69
Material y Métodos	73
5.1. Población a estudio.	75
5.2. Diagrama del funcionamiento de la Unidad.	75
5.3. Método.	79
5.4. Análisis de datos.....	82
Aspectos éticos	85
Limitaciones del estudio	89
Resultados.....	93
8.1. Población a estudio.	95
8.2. Descripción de la muestra.	97
8.2.1. Características epidemiológicas.	97
8.2.2. Consanguinidad.	97
8.2.3. Edad gestacional y peso al nacimiento.	98

8.2.4. Situación hospitalaria y clínica al diagnóstico.....	98
8.2.5. Tiempo hasta la primera visita.	99
8.2.6. Metabolitos alterados.....	100
8.2.7. Pruebas de segundo nivel.....	100
8.3. Resultados del cribado ampliado.	102
8.4. Pacientes sin alteración metabólica.	103
8.5. Alteraciones metabólicas transitorias.....	107
8.6. Deficiencias de vitamina B12 de origen materno.	109
8.7. Errores innatos del metabolismo.	110
8.7.1. Aminoacidopatías.	116
8.7.2. Defectos de la Beta oxidación de los ácidos grasos.	123
8.7.3. Acidurias orgánicas.....	129
8.7.4. Otras alteraciones.....	132
8.8. Diagnóstico de familiares.....	133
8.9. Relación entre metabolito alterado y detección o no de enfermedad.....	134
8.10. Estándares del programa de cribado neonatal.	136
8.11. Comparación de las incidencias halladas en nuestro Centro con otros Programas de Cribado.....	137
8.12. Enfermedades de expresión asintomática que se han detectado mediante el cribado.	142
8.13. Otras alteraciones metabólicas detectables mediante el cribado metabólico ampliado.	143
8.14. Debilidades del cribado en nuestra experiencia.	144
8.14.1. Falsos positivos.....	144
8.14.2. Falsos negativos.....	144
8.14.3. Tiempo de demora hasta la primera visita.	144
Discusión	147
9.1. Análisis general.	149
9.2. Descripción de la muestra.	151
9.3. Falsos positivos del cribado neonatal.....	156
9.4. Falsos negativos del cribado neonatal.....	158
9.5. Alteraciones transitorias detectadas.....	159
9.6. Deficiencias de vitamina B12 de origen materno.	160
9.7. Errores innatos del metabolismo diagnosticados.	161
9.7.1. Alteraciones del metabolismo de los aminoácidos.	163
9.7.2. Defectos de la Beta oxidación de los ácidos grasos.....	169

9.7.3. Acidurias orgánicas.....	173
9.7.4. Otras alteraciones.....	177
9.8. Diagnóstico de familiares.....	178
9.9. Relación entre metabolito alterado y detección de enfermedad.....	180
9.10. Estándares del programa de cribado neonatal.....	182
9.11. Enfermedades de expresión asintomática que se han detectado mediante el cribado.....	183
9.12. Otras alteraciones metabólicas detectables mediante el cribado metabólico ampliado.....	184
9.13. Coste del cribado.....	185
9.14. Consideraciones éticas.....	189
9.15. Mejora de futuro en el cribado metabólico ampliado.....	194
9.15.1. Falsos positivos.....	194
9.15.2. Falsos negativos.....	195
9.15.3. Tiempo de demora hasta la primera visita.....	195
9.15.4. Mejora en la información a las familias.....	195
9.16. Implicaciones prácticas.....	196
Conclusiones.....	197
Bibliografía.....	201
Anexos.....	226
Anexo I. Modelo de ficha identificativa del recién nacido que contiene los círculos de papel absorbente para la recogida de sangre capilar obtenida del talón del recién nacido.....	228
Anexo II. Modelo de carta informativa a los padres.....	229
Anexo III: Gráficas de Carrascosa et al de los valores de peso y longitud al nacer de los recién nacidos según su edad gestacional.....	230
Anexo IV: Dictamen del Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón.....	232
Anexo V. Tríptico informativo a las familias.....	233

Abreviaturas

AA: aminoácidos
AC: acilcarnitinas
AG: ácidos grasos
AM: alteración metabólica
ARG: argininemia
BKT: deficiencia de β -cetotilasa
CACT: carnitina/acilcarnitina traslocasa
cblA, B, C, D, F: cobalamina A, B, C, D, F
CBS: cistationina beta sintasa
CIT: citrulinemia tipo I
CoA: coenzima A
CPT-I: carnitina palmitoil transferasa I
CPT-II: carnitina palmitoil transferasa II
CUD: deficiencia primaria de carnitina (*carnitine uptake deficiency*)
C0: carnitina libre
C2: acetilcarnitina
C3: propionilcarnitina
C3DC: malonilcarnitina
C4: butirilcarnitina
C4DC: metilmalonilcarnitina
C4OH: hidroxibutirilcarnitina
C5: isovalerilcarnitina
C5DC: glutarilcarnitina
C5OH: 3 hidroxisovalerilcarnitina
C5:1: tigililcarnitina
C6: hexanoilcarnitina
C6DC: metilglutarilcarnitina
C6OH: hidroxihexanoilcarnitina
C8: octanoilcarnitina
C8:1: octenoilcarnitina
C10: decanoilcarnitina
C10:1: decenoilcarnitina
C10:2: decadienoilcarnitina

C14: tetradecanoilcarnitina
C14:1: tetradecenoilcarnitina
C14:2: tetradecadienoilcarnitina
C14OH: hidroxitetradecanoilcarnitina
C16: hexadecanoilcarnitina
C16:1: hexadecenoilcarnitina
C16OH: hidroxihexadecanoilcarnitina
C16:1OH: hidroxihexadecenoilcarnitina
C18: octadecanoilcarnitina
C18:1: octadecenoilcarnitina
C18:2: octadecadienoilcarnitina
C18OH: hidroxioctadecanoilcarnitina
C18:1OH: hidroxioctadecenoilcarnitina
ECM: enfermedades congénitas del metabolismo
EG: edad gestacional
EIM: errores congénitos del metabolismo
EMH: enfermedad metabólica hereditaria
FA: fenotipo de hemoglobina A normal
FAC: fenotipo de hemoglobina AC
FAS: fenotipo de hemoglobina AS
FN: falso negativo
FP: falso positivo
FS: fenotipo de hemoglobina S
FSC: fenotipo de hemoglobina SC
g: gramos
GA I: acidemia glutárica tipo I
GALT: galactosil-1-P-uridil transferasa
GRD: grupos relacionados con el diagnóstico
Hb: hemoglobina
HCY: homocistinuria
HFA: hiperfenilalaninemia
HMG: acidemia 3-hidroxi 3-metil glutárica
IBD: isobutiril coA deshidrogenasa

IVA: acidemia isovalérica

L: litro

LCHAD: hidroxiacil-coA deshidrogenasa de cadena larga

LCT: triglicéridos de cadena larga

MAT: metionina adenosil transferasa

MCAD: acil-coa deshidrogenasa de cadena media / defecto Beta-oxidación ácidos grasos cadena media

MCC ó 3 MCC: 3-metilcrotonil-CoA caboxilasa

MCHAD: hidroxiacil-coA deshidrogenasa de cadena media

MCT: triglicéridos de cadena media

mg: miligramos

MMA: acidemia metilmalónica

MPS: mucopolisacaridosis

MS/MS: espectrometría de masas en tándem

MSUD: enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (*Maple Syrup Urine Disease*)

μmol: micromoles

2MBG: 2- metilbutirilglicinuria

NFCS: *Neonatal Facing Coding System*

NIPS: *Neonatal Infants Pain Scale*

NPT: nutrición parenteral total

OCT: ornitín carbamil transferasa

OTC: ornitín-transcarbamilasa

Phe: fenilalanina

PKU: fenilcetonuria

SCAD: acil-coa deshidrogenasa de cadena corta / defecto Beta-oxidación ácidos grasos cadena corta

SCHAD: hidroxiacil-coA deshidrogenasa de cadena corta

SUAC: succinilacetona

TAT: tirosina aminotransferasa

Tyr: tirosina

TYR I: tirosinemia tipo I

TYR II: tirosinemia tipo II

UCI: unidad de cuidados intensivos

VLCAD: acil-coA deshidrogenasa de cadena muy larga

Introducción

1.1. Cribado neonatal.

La palabra *cribado* o *screening* hace referencia a toda prueba de detección encaminada a descubrir problemas, trastornos o factores de riesgo no detectados clínicamente, y que se aplica a toda la población (*cribado universal*) o bien a una población de riesgo (*cribado selectivo*) (1).

Los programas de cribado neonatal se dirigen a la identificación presintomática de determinados estados genéticos, metabólicos o infecciosos, mediante el uso de pruebas que puedan aplicarse a toda la población de recién nacidos (2). Se trata de la aplicación de procedimientos de selección a poblaciones de individuos aparentemente “sanos” con objeto de identificar, en la fase de latencia, a aquellos que pueden estar enfermos o que presentan un riesgo incrementado de padecer una determinada enfermedad, porque muestran un factor de riesgo (3).

Se conoce como *cribado metabólico neonatal* al conjunto de actuaciones encaminadas a la detección sistemática de enfermedades congénitas del metabolismo en edad neonatal (4).

Gracias a la espectrometría de masas en tándem, es posible, como se verá más adelante, el análisis de aminoácidos y acilcarnitinas en una muestra de sangre, lo que permite detectar más de treinta errores congénitos del metabolismo, en lo que se conoce como el ***cribado metabólico ampliado*** (4). El *cribado neonatal metabólico ampliado* consiste, pues, en la realización de un “perfil metabólico” en la misma gota de sangre seca, mediante el uso de la espectrometría de masas en tándem, con el objetivo de detectar errores innatos del metabolismo en fase preclínica, y así evitar sintomatología, descompensaciones y desenlaces fatales (5).

1.2. Historia del cribado neonatal.

La historia del cribado neonatal empieza en los años 60, gracias al trabajo de Robert Guthrie, al desarrollar un test de screening para la fenilcetonuria (PKU), mediante un sistema de recogida y transporte de pequeñas muestras de sangre en papel de filtro (6). Inicialmente, esta prueba se basaba en la inhibición bacteriana producida por un determinado componente bioquímico, que a su vez era contrarrestada por un aminoácido o estructura similar a la sustancia inhibitoria. Cuando una muestra de sangre contiene cantidades anormalmente grandes de este aminoácido o metabolito, se produce un gran crecimiento de la bacteria.

A partir de este momento, se inició la era del cribado neonatal, ampliándose así a las diferentes alteraciones metabólicas. Sin embargo, históricamente, cada enfermedad debía ser cribada individualmente, mediante diferentes test, con el consecuente coste y necesidad de una mayor muestra sanguínea, lo que limitaba el número de patologías a cribar a un pequeño número de alteraciones (7). La cromatografía en papel, pretendía ampliar el número de enfermedades cribadas con una pequeña muestra (8), pero tampoco fue lo suficientemente sensible para el cribado neonatal en los primeros días de vida.

La técnica de la espectrometría de masas en tándem (MS/MS) se propuso por primera vez en 1990 por Millington et al, utilizando técnicas de ionización secundaria (9). Este método consistía en la separación de los iones en función de su peso y carga mediante separaciones cromatográficas con procesos de preparación de muestras laboriosos y tiempos de análisis superiores a 30 minutos (4,10).

El desarrollo de una espectrometría de masas mediante la aplicación de ionización con electrospray, gracias a su capacidad de realizarse de manera automática, hizo posible llevar a cabo el screening de un gran volumen de muestras, para la detección de aminoácidos y acilcarnitinas, y poder así detectar

alteraciones en el metabolismo de los aminoácidos, ácidos orgánicos y ácidos grasos (11,12).

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 clínico (13). Fundamentalmente, los tres pasos que se llevan a cabo en la técnica son la ionización de la muestra, el análisis de la muestra ionizada y la detección de los compuestos formados (14).

El incremento en el uso de la espectrometría de masas en tándem en los últimos años ha facilitado la introducción de programas de cribado neonatal ampliado en muchos países (15). Esta tecnología ha aumentado la capacidad de los test de detectar enfermedades metabólicas durante el periodo neonatal (16).

1.3. Criterios de inclusión en los programas de cribado.

En 1968, Wilson y Jungner establecen unos criterios para determinar qué enfermedades deberían incluirse en el cribado neonatal (17):

- La enfermedad debería estar clínica y bioquímicamente bien definida.
- La incidencia de la enfermedad debería ser relativamente frecuente.
- La patología debería asociarse con elevada morbimortalidad.
- Debería existir un tratamiento disponible.
- Debería haber un periodo previo al desarrollo de la enfermedad durante el cual una intervención mejorara el resultado final.
- El cribado para detectar la enfermedad debería ser a la vez simple, éticamente seguro y fiable.
- Además, este cribado debería tener un coste-efectividad adecuado.

En 1998, Thomason et al modifican estos criterios que debe cumplir una alteración para ser incluida en el cribado de errores innatos del metabolismo (18):

- Debe tratarse de una anomalía relativamente frecuente, al menos 1:15.000 recién nacidos.
- Debe producir una grave anomalía metabólica.
- Debe ser difícil de diagnosticar clínicamente en período neonatal.
- El diagnóstico clínico debe producirse tras una fase preclínica asintomática, cuando el pronóstico es malo.
- Debe existir un marcador bioquímico con una buena sensibilidad y especificidad, que permita discriminar a los recién nacidos sanos de los enfermos durante la fase preclínica.
- Debe ser posible realizar un tratamiento de la enfermedad de forma precoz, que mejore sensiblemente el pronóstico de la misma.
- El coste del programa de prevención debe ajustarse a los criterios de evaluación económica, como todo programa de salud pública.

1.4. Situación del cribado neonatal en España.

Los programas de cribado neonatal en España tuvieron sus comienzos a finales de la década de los sesenta, iniciándose en Granada, y seguido por programas similares como el de Barcelona en 1969, Madrid en 1973, Murcia en 1975, o el de Santiago de Compostela en 1978 (19).

En 1982 los Programas de Detección Precoz de Alteraciones Metabólicas-Congénitas pasan a depender de las distintas Comunidades Autónomas, existiendo ya en ese año 12 centros de cribado neonatal (4). Desde 2012 existen 18 centros de cribado, y actualmente 22, uno por cada comunidad autónoma, a excepción de Andalucía y la Comunidad Valenciana, donde existen dos. El cribado neonatal de los recién nacidos de La Rioja se realiza en Aragón y el de Ceuta y Melilla, en Sevilla y Murcia, respectivamente. En todos los centros de

cribado se realiza como mínimo el diagnóstico de fenilcetonuria (14,19). La cobertura de esta enfermedad en España es del 99'7% (20).

España es uno de los países europeos con mayor número de centros de cribado diferentes, por detrás de Finlandia y similar a Francia, y con mayor variabilidad entre unos y otros (21).

Galicia fue la primera comunidad autónoma que adquirió nueva tecnología para posibilitar el desarrollo del cribado neonatal ampliado en el año 2000. Murcia y el País Vasco lo hicieron en 2007, y en 2008 lo incorporaron Andalucía y Extremadura. Aragón la adquirió al año siguiente, en 2009, y posteriormente Madrid, en 2010. Cada comunidad autónoma determina de forma independiente las patologías y los procedimientos de cribado para sus programas. Por este motivo, no existe uniformidad en el panel de enfermedades a cribar, pudiendo cribar desde sólo la fenilcetonuria y la deficiencia en la Acil CoA deshidrogenasa de cadena media como realiza Bilbao, hasta más de 30 como en el caso de Aragón, Murcia y Galicia (19,22).

Galicia incorporó, además, en el año 1987 tecnología para llevar a cabo la detección precoz del déficit de Biotinidasa (23).

No existe tampoco uniformidad en el tipo de toma de muestra, pues Extremadura, Galicia y Murcia recogen una muestra de orina impregnada en papel junto con la de sangre, lo que permite realizar un diagnóstico diferencial en un segundo tipo de muestra sin necesidad de solicitar nueva muestra a los padres, disminuyendo así la ansiedad de los progenitores (19).

La toma de orina en el cribado es de gran utilidad para el diagnóstico de las acidurias orgánicas, de la cistinuria, de las galactosemias, etc. y permite valorar su posible utilización para programas de cribado de neuroblastomas (identificando los ácidos homovanílico y vanililmandélico) y/o de las enfermedades lisosomales e incluso infecciones (23).

1.5. Regulación del cribado en Aragón.

El cribado neonatal en Aragón se encuentra regulado por la ORDEN de 13 de julio de 2007, del Departamento de Salud y Consumo (24).

Según las Instrucciones de 21 de enero de 2011 por las que se regula el cribado neonatal en la cartera de servicios del Sistema de Salud de Aragón y la designación de servicios de referencia para el diagnóstico definitivo, tratamiento y seguimiento de las alteraciones y enfermedades objeto de cribado, las pruebas dirigidas a la identificación presintomática de deficiencias de estados genéticos, metabólicos, endocrinológicos o infecciosos, están consideradas como una actividad esencial en el contexto de la salud pública, siendo su objetivo la identificación precoz y el tratamiento de aquellos individuos afectados (25).

Las Instrucciones de 21 de enero de 2011 por las que se regula el cribado neonatal en la cartera de servicios del Sistema de Salud de Aragón y la designación de servicios de referencia para el diagnóstico definitivo, tratamiento y seguimiento de las alteraciones y enfermedades objeto de cribado designan al Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza como centro de referencia para el cribado neonatal de enfermedades congénitas, endocrinológicas y metabólicas (25).

Se recomienda realizar el cribado neonatal antes del alta hospitalaria del recién nacido, siempre que sea técnicamente posible, con el objetivo de alcanzar una cobertura del 100% (24). Este debe realizarse a partir de las 48 horas de vida extrayendo muestra de sangre capilar obtenida del talón del recién nacido, impregnando los seis discos de papel absorbente de la Ficha de Cribado Neonatal (25) (Anexo I).

En los hospitales del Servicio Aragonés de Salud y Consorcio de Salud en los que se realizan partos, esta ficha se cumplimentará informáticamente, puesto que el cuerpo principal de la Ficha figurará en un “formulario informático” al que se podrá acceder en cada Hospital. En este formulario se cumplimentará toda la

información que contiene el cuerpo principal de la Ficha, incluido el Código de Identificación Autonómico (CIA), que será el elemento por el que se identificará de forma unívoca al recién nacido. Una vez cumplimentado el formulario, el sistema generará un informe con los datos introducidos en este formulario en el que vendrá impreso un código de barras identificativo. Este informe se imprimirá y será entregado a los padres del recién nacido como documento acreditativo de haberle sido extraída la muestra para la realización del cribado. Junto con este informe se imprimirán además dos etiquetas autoadhesivas con el mismo código de barras del informe en cada una de ellas. Una de estas etiquetas se incluirá en la historia clínica de la madre o del niño en el caso de que éste la tenga. La otra etiqueta se adherirá en la parte del rectángulo con los seis discos de papel absorbente para la identificación del recién nacido. Así, este rectángulo con los discos de papel absorbente es el único elemento que se utilizará en soporte físico (26).

A los padres o tutores se les informará de los motivos de la realización del cribado, de la obtención de las muestras, de los resultados y posibles repeticiones de las pruebas para confirmación de diagnóstico y de los tratamientos disponibles, así como del seguimiento en los servicios de referencia en el caso de que los niños resulten afectados por alguna de las enfermedades contempladas en el cribado (24).

Una vez realizadas las pruebas solicitadas, el Laboratorio creará una “Carta para los padres” informativa del resultado de las pruebas realizadas (Anexo II).

De forma global, los resultados de la prueba de cribado podrán ser:

- NEGATIVOS. Todas las determinaciones muestran resultados normales. Cada hospital podrá imprimir el resultado en el documento *pdf* con la carta para comunicar a los padres tal circunstancia.
- DUDOSOS. El Laboratorio considera recomendable repetir alguna de las pruebas. Cada hospital podrá imprimir el resultado en el documento *pdf* con la carta solicitando a los padres que se pongan en contacto con el centro para repetir la extracción.

- POSITIVOS. Alguna de las pruebas ha dado resultado positivo. En este caso, los Servicios de referencia para el diagnóstico definitivo, tratamiento y seguimiento de los niños con enfermedades endocrino-metabólicas congénitas, genéticas y otras enfermedades congénitas iniciarán el protocolo de diagnóstico definitivo, tratamiento y seguimiento del neonato, que incluye la llamada telefónica a los padres (25).

Previo consentimiento expreso y por escrito de los padres o, en su caso representantes legales del recién nacido, las muestras obtenidas podrán ser almacenadas, sin límite de tiempo, para su uso futuro en la investigación relacionada con enfermedades congénitas, endocrinológicas y metabólicas y otras enfermedades congénitas del niño, incluyendo la realización de pruebas genéticas (26).

Las alteraciones metabólicas que contempla la ORDEN de 13 de julio de 2007, del Departamento de Salud y Consumo, por la que se regula el Cribado Neonatal en la Comunidad Autónoma de Aragón en la realización del cribado metabólico son las siguientes (24):

- Hiperfenilalaninemia
- Hipotiroidismo congénito
- Hiperplasia congénita suprarrenal
- Fibrosis quística
- Galactosemia*
- Defectos de la beta-oxidación de ácidos grasos de cadena media
- Aciduria isovalérica
- Aciduria propiónica
- Aciduria metilmalónica por déficit de metilglutaril-CoA mutasa
- Aciduria Glutárica Tipo I
- Tirosinemia tipo I
- Leucinosis o enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce
- Defectos del transporte de carnitina

*Aunque inicialmente se incluyó la galactosemia como una de las enfermedades a cribar, la realidad es que nunca se ha realizado el cribado por falta del software necesario.

En las Instrucciones de 21 de enero de 2011 por las que se regula el cribado neonatal en la cartera de servicios del Sistema de Salud de Aragón y la designación de servicios de referencia para el diagnóstico definitivo, tratamiento y seguimiento de las alteraciones y enfermedades objeto de cribado, se incluyen además las siguientes (25):

- Defectos de la beta-oxidación de ácidos grasos de cadena corta
- Defectos de la beta-oxidación de ácidos grasos de cadena larga
- Defectos de la beta-oxidación de ácidos grasos de cadena muy larga

1.6. Características de las enfermedades que se criban en Aragón.

Las principales enfermedades que se incluyen en el cribado ampliado de nuestra comunidad, detectables mediante la espectrometría de masas en tándem, son las que se describen a continuación.

1.6.1. Hiperfenilalaninemia/fenilcetonuria (PKU/HFA).

La hiperfenilalaninemia (HFA) y fenilcetonuria (PKU) se **sospechan** por elevación del aminoácido fenilalanina (Phe) y de la ratio fenilalanina/tirosina (Phe/Tyr) en el cribado.

Está **causada** principalmente por mutaciones en el gen PAH, que dan lugar a alteraciones en la enzima fenilalanina hidroxilasa, aunque una pequeña proporción de casos (2%) es debida a defectos en la síntesis y regeneración del cofactor tetrahidrobiopterina o BH4, encontrándose alterados los genes GCH, PTS o SPR. Puede hacerse el **diagnóstico diferencial** mediante la cuantificación de pterinas (neopterina y biopterina) en orina. El **estudio del gen** se realizará en función de la alteración sospechada (4,20).

Incidencia de la patología: En Estados Unidos, la incidencia de la PKU varía entre 1 por cada 13.500 y 1 por cada 19.000, mientras que la HFA es menos frecuente, con una prevalencia estimada de 1 por cada 48.000 (27). En México, la frecuencia descrita en algunos estados es menos frecuente a la hallada en Estados Unidos, siendo 1:25.000 (28). En la Toscana italiana describen una incidencia hasta de 1:4.000 en el cribado metabólico, contando PKU e HFA (16). En Portugal, la incidencia de la PKU desde que se inició el cribado está sobre 1:11.031 (29). Destaca la baja incidencia en la población Taiwanesa, siendo 1 por cada 59.805 para PKU y 1 por cada 23.002 para HFA (30). Entre 1988 y 2013 se diagnosticaron en España 598 casos de PKU (1:18.280), 934 casos de HFA (1:11.704) y 5 casos de HFA por déficit del cofactor tetrahydrobiopterina, según datos de AECNE (Asociación Española de Cribado Neonatal) (31). En algunas publicaciones españolas las frecuencias observadas oscilan entre 1 por cada 11.565 (incluidas PKU e HFA), publicada por el grupo de Galicia (23), o 1:14.319 (en el caso de la PKU) y 1:4.773 (la HFA) en Murcia (22).

En función de los niveles de fenilalanina antes del tratamiento se establecen cuatro **formas** distintas. Los puntos de corte son los siguientes (20):

- Forma grave de PKU: >1200 µmol/L
- Forma moderada de PKU: entre 600 y 1200 µmol/L
- Forma leve de PKU: entre 360 y 600 µmol/L
- Hiperfenilalaninemia: entre 120 y 360 µmol/L

El **tratamiento** de la PKU consiste en iniciar de manera precoz una dieta restringida en fenilalanina, y/o el tratamiento con sapropterina (análogo de la tetrahydrobiopterina) en pacientes respondedores.

1.6.2. Tirosinemia tipo I (TYR I).

Detectándose por una elevación de la tirosina en el cribado ampliado, esta enfermedad se debe a mutaciones en el **gen** FAH, que dan lugar a alteraciones en

la fumarilacetoacetato hidrolasa. En el **estudio** de la alteración, se observa una elevación de la succinilacetona (SUAC) en sangre y orina.

Para su **confirmación**, puede llevarse a cabo la determinación de la actividad de la fumarilacetoacetato hidrolasa y genotipado (lo que proporciona el diagnóstico de certeza) en linfocitos, fibroblastos de piel cultivados, biopsia hepática y/o eritrocitos, que se encuentra muy disminuida (< 5% del valor control) (20).

La **incidencia** estimada se encuentra alrededor de 1:100.000 (32). En Galicia, sin embargo, la incidencia publicada fue 1 por cada 233.113 (23). En Portugal, Vilarinho et al observaron una frecuencia de 1:79.061 (29). La incidencia hallada en Dinamarca es de 1 por cada 140.565 (33). En Taiwan no se ha detectado ninguna tirosinemia desde la implementación del cribado ampliado (30), por el contrario, en la región de Saguenay Lac St Jean de la provincia de Quebec, Canadá, la incidencia de la enfermedad es de 1 cada 1.800 (34).

La **importancia** del cribado neonatal radica en la detección precoz, para evitar el fallo hepático progresivo que caracteriza a esta enfermedad, el cáncer e incluso la muerte en etapas precoces.

El **tratamiento** se llevará a cabo mediante una dieta restringida en tirosina y fenilalanina, unido a la administración de nitisinona (NTBC) (35).

1.6.3. Tirosinemia tipo II (TYR II).

La tirosinemia tipo II, **se debe a** una deficiencia de tirosina aminotransferasa (TAT). Para el **diagnóstico diferencial** con la Tirosinemia tipo I, deberá hacerse la confirmación diagnóstica con secuenciación del **gen** que codifica para la TAT (36).

Es una enfermedad muy poco frecuente, por lo que su **incidencia** no ha sido establecida. En Portugal se ha detectado un paciente con esta patología desde el

inicio del cribado (incidencia 1:316.243) (29), y en la serie publicada por Fita et al en Murcia existe otro paciente, siendo la incidencia observada 1:71.595 (22).

El **tratamiento** de esta patología es, como en la anterior, la dieta restringida en tirosina y fenilalanina.

1.6.4. Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (MSUD).

Producida por una alteración en la actividad de la deshidrogenasa de alfa-cetoácidos de cadena ramificada, da lugar al acúmulo de aminoácidos de cadena ramificada (leucina, isoleucina y valina), siendo estos los que se **detectan** alterados en el cribado ampliado. Además, es patognomónica la elevación de la alloseucina (37).

Los **genes** afectados en esta enfermedad son BCKDHA, BCKDHB, DBT y DLD (38).

La **incidencia** aproximada de esta patología a nivel mundial es 1 por cada 185.000 recién nacidos (37). En los diferentes trabajos que recogen la experiencia desde la implantación del cribado ampliado, se han detectado incidencias de 1:177.000 en California (39), en Portugal detectaron 3 casos (incidencia 1:105.141) (29) con una frecuencia similar a la hallada en Taiwan (1:101.624) (30). Mucho mayor la incidencia en la región de Murcia, siendo 1:71.595 (22) y en Galicia, donde se detectaron 1 por cada 33.302 hasta 2000 y 1 por cada 42.457 a partir de 2001 (23). La mayor incidencia se encuentra en países con alto grado de consanguinidad, como el caso de Qatar, donde se detectaron 2 casos entre 25.214 recién nacidos cribados (1:12.607) (40), también en Egipto detectaron un caso entre 25.276 recién nacidos, en el estudio piloto realizado (41).

El **tratamiento** se debe iniciar de manera precoz, con una dieta baja en proteínas, y suplementada con complementos proteicos exentos en aminoácidos de cadena ramificada (27).

1.6.5. Homocistinuria (HCY).

El término “homocistinuria” describe una alteración metabólica, en la que la homocisteína se encuentra elevada, no una enfermedad en sí, existiendo muchas causas de homocistinuria. En todas ellas lo que **se ve afectado** es uno de los pasos de la conversión del átomo sulfurado de metionina en cisteína (27).

La homocistinuria clásica se debe a **alteraciones** de la cistationina beta sintasa (CBS), codificada por el **gen** del mismo nombre, CBS.

Su **detección** a través del cribado ampliado se lleva a cabo al observarse elevación de la metionina, aunque en pacientes no cribados será la sintomatología la que pueda hacer sospechar tanto a pediatras como médicos de atención primaria, por su elevada variabilidad clínica y edad de presentación (42). Para el **diagnóstico** será necesaria la cuantificación de homocisteína, y la **confirmación** puede realizarse mediante el estudio del gen CBS (43).

La **incidencia** de esta enfermedad varía según las series. Yap et al describían una prevalencia de 1:344.000 a nivel mundial en el año 1998, siendo de 1:65.000 en Irlanda tras la introducción del cribado para esta patología (44). La incidencia descrita por Vilarinho et al en Portugal fue de 1:316.243 (29), mientras que en México se diagnosticó un paciente de un total de 42.264 recién nacidos cribados (28). Igual que ocurre con otras alteraciones, la incidencia de esta patología fue muy elevada entre los niños cribados en Qatar (1:12.607) (40).

El **tratamiento** de estos pacientes dependerá en parte del punto de la vía metabólica afectado. Debe comprobarse la respuesta a la piridoxina (vitamina B6), presente en aproximadamente el 50% de los pacientes. Aquellos que no responden, se tratarán con dieta restringida en metionina y con suplementos de cistina, y puede además administrarse ácido fólico, betaína e hidroxocobalamina como coadyuvante en algunas de las formas (27).

1.6.6. Citrulinemia tipo I (CIT).

Esta enfermedad forma parte de los denominados trastornos del ciclo de la urea. También se le conoce como **deficiencia** de arginin succinato sintetasa (enzima codificada por el gen ASS) (20). Es una de las patologías que más precoz y gravemente puede debutar, por lo que su diagnóstico mediante el cribado es de alta importancia.

Se **sospechará** al detectarse una cifra elevada de citrulina, pudiendo determinarse ácido orótico y uracilo en orina, y se **confirmará** al detectarse mutaciones en el gen ASS (45).

Según un trabajo multicéntrico que engloba al total de la población española en 2013, existían 22 casos de citrulinemia tipo I (46). Las **incidencias** descritas es los trabajos que recogen los resultados de los diferentes programas de cribado son muy variables, apareciendo cifras de 1 por cada 118.543 halladas en Taiwan (30), 1 caso en 42.264 en México (28) y otro en Qatar (1:25.214) (40), o en Portugal 2 casos desde la implantación del cribado (incidencia 1:158.122) (29). En la Toscana -Italia- , esta incidencia fue de 1:80.000 (16). En Australia, la frecuencia observada en el cribado neonatal fue de 1:105.927 (47). En Dinamarca, la frecuencia de citrulinemias detectadas en el cribado neonatal era de 1 por cada 363.538 recién nacidos, y sin embargo, hubo un falso negativo, aumentando esta frecuencia a 1:148.823 (33).

El **tratamiento** de la citrulinemia se basa en una restricción proteica desde el diagnóstico, con suplementos de aminoácidos esenciales y arginina. Además, se administrará benzoato sódico, fenilbutirato sódico, fenilacetato sódico y/o N-carbamilglutamato para la hiperamonemia que se produce en estos pacientes. El tratamiento con carnitina favorece también la eliminación de productos tóxicos. El transplante hepático es otra opción terapéutica en los casos de debut neonatal y difícil manejo (20,48).

1.6.7. Argininemia (ARG).

La argininemia o déficit de arginasa es otro de los defectos del ciclo de la urea, que se **detecta** en el cribado neonatal por la elevación de la arginina y se **confirma** mediante el estudio de la actividad enzimática de la enzima arginasa y el **gen** ARG1 (49,50).

Es una patología muy poco frecuente, se estima una **incidencia** de 1 por cada 360.000 recién nacidos (20). Hasta el año 2013 existían en España únicamente 2 casos de esta patología (46). En la historia del cribado ampliado en California la incidencia coincide con la estimada, detectándose 1 caso por 354.000 recién nacidos (39), también similar a la hallada en Portugal (1:316.243) (29).

El **manejo** inicial es similar a los otros defectos del ciclo de la urea, disminuyendo la ingesta proteica, así como farmacológico para disminuir la hiperamoniemia.

1.6.8. Deficiencia primaria de carnitina (CUD).

Dentro de las alteraciones de la beta-oxidación de los ácidos grasos, la deficiencia primaria de carnitina o deficiencia del transportador de carnitina, **se debe a** la pérdida funcional de los transportadores de membrana plasmática de carnitina OCTN2 (51). Esta enzima está codificada por el **gen** del mismo nombre.

Existen diferentes **formas de presentación**, siendo más grave aquella de debut en el periodo neonatal, y por tanto de mayor importancia su **detección** mediante el cribado, donde se observará una disminución en la carnitina libre (C0). Normalmente esta disminución se acompaña de un descenso global del resto de acilcarnitinas (52).

La **incidencia** estimada es menor a 1:100.000, aunque desde la introducción del cribado neonatal se han publicado series hasta de 1:40.000, y se cree que podría alcanzar la incidencia de 1:20.000 (53,54). Menos elevada fue la observada en Portugal (1:105.141) (29) o en Taiwan (1:118.543) (30). En Qatar, por el

contrario, se detectó un paciente entre 25.214 recién nacidos cribados (40), así como en Egipto, donde se detectó un caso entre los 25.276 recién nacidos incluidos en el estudio piloto de su cribado neonatal ampliado (41).

En el **tratamiento** de esta alteración es fundamental administrar suplementos de carnitina, así como evitar periodos de ayuno (55).

1.6.9. Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena corta (SCAD).

La deficiencia de acilCoA deshidrogenasa de cadena corta (SCAD) es otra de las alteraciones de la beta-oxidación de los ácidos grasos, aunque para algunos autores no está considerada una enfermedad en sí, puesto que muchos de los recién nacidos en los que se detecta permanecen asintomáticos toda su vida (52).

Debida a mutaciones en el **gen** ACADS, se **sospecha** por elevación de butirilcarnitina (C4), y los cocientes C4/C2 (butirilcarnitina/acetilcarnitina), C4/C3 (butirilcarnitina/propionilcarnitina) y C4/C8 (butirilcarnitina/octanoilcarnitina) en el cribado neonatal. En cuanto a **estudios complementarios**, además del análisis molecular del gen, los ácidos orgánicos en orina pueden revelar excreción aumentada de ácidos etilmalónico, metilsuccínico, adípico, butirilglicina y hexanoilglicina (56).

Es una de las patologías cuya **incidencia** observada se ha disparado desde la introducción del cribado metabólico ampliado. En 1990 se habían descrito únicamente 3 casos en el mundo (57,58). La incidencia estimada actualmente de esta alteración es 1:40.000-1:100.000 (20). En las diferentes series publicadas, estas frecuencias oscilan bastante, observándose incidencias de 1:118.543 en Taiwan (30), 1:190.287 en Dinamarca (1:54.643 si incluyen los casos diagnosticados entre los no cribados) (33), similar en Italia –en la Toscana–: 1:53.333 (16), siendo mucho más elevada (1 por cada 20.000) en California (39) o en nuestro país, con una incidencia en Galicia 1 por cada 36.125 (23).

El **manejo** consiste en evitar periodos de ayuno prolongado, así como tratamiento en crisis metabólicas (59), administrando suplementos de carnitina y riboflavina si es preciso (60).

1.6.10. Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCAD).

Esta alteración de la beta-oxidación de los ácidos grasos sí tiene implicaciones **clínicas**, pudiendo dar lugar a hipoglucemias, retraso mental e incluso fallecimiento (61).

El **gen** implicado en esta patología es MCAD, y lo que se **detectará** en el cribado ampliado es elevación de octanoilcarnitina (C8), normalmente acompañada de elevaciones de decanoilcarnitina (C10), hexanoilcarnitina (C6) y decenoilcarnitina (C10:1), así como de la relación C8/C10. En la **ampliación del estudio** se podrán hallar concentraciones bajas de cetonas y elevadas de ácidos dicarboxílicos de cadena media (procedentes de la omegaoxidación microsomal y peroxisomal de los ácidos grasos), así como conjugados de glicina: suberilglicina y hexanoilglicina (20).

La **incidencia** de esta enfermedad es la mayor del grupo de los defectos de la beta-oxidación (62). Previamente a la implantación del cribado ampliado, se estimaba una incidencia de 1:6.400 a 1:46.000 (63), mientras que desde la introducción de la MS/MS, esta se sitúa alrededor de 1:10.000-1:18.000 (64). En California detectaron mediante el cribado una incidencia de 1 por cada 27.000 (39), en Australia 1:33.750 (61), en la Toscana italiana 1:26.666 (16), en Dinamarca 1:10.120 (33), en Taiwan, sin embargo, ésta fue 1 de cada 330.281 recién nacidos (30). En Murcia, la cifra está en 1:23.865 (22), en Galicia 1:18.176 (65) y en Portugal la incidencia asciende hasta 1 por cada 9.036 recién nacidos (29), y en Qatar a 1:4.202, debido probablemente al elevado grado de consanguinidad (40).

El **tratamiento** consiste en evitar el ayuno y la hipoglucemia, evitar ingesta de ácidos grasos de cadena media y larga, así como suplementos con L-carnitina y riboflavina (20,60,61).

1.6.11. Deficiencia de 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga (LCHAD).

Es otra de las alteraciones de la beta-oxidación de los ácidos grasos que da lugar a clínica, y, por tanto, de mayor importancia en el cribado neonatal. El **gen** afectado en este caso es HADHA, y las acilcarnitinas que se ven elevadas en este caso y llevarán a la **detección** mediante el cribado son hidroxihexadecanoilcarnitina (C16OH), hidroxihexadecenoilcarnitina (C16:1OH), hidroxioctadecenoilcarnitina (C18:1OH), hidroxioctadecanoilcarnitina (C18OH) y el cociente C16OH/C16 (20).

La **incidencia** de esta patología es relativamente alta también, con respecto a otros errores del metabolismo, desde la introducción del cribado neonatal ampliado. En 1997 se habían descrito unos 30 casos de esta enfermedad (66). Desde la introducción del cribado ampliado se estima una incidencia de hasta 1:50.000 (67). En Galicia se detectó 1 caso por cada 48.167 niños cribados (23), en Murcia 1:71.595 (22), en Portugal 1:105.141 (29), en Dinamarca 1:117.396 (33), en California 1 por cada 354.000 (39) y en otras series no se ha diagnosticado ningún recién nacido con esta enfermedad.

El **manejo** de la deficiencia de 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga es similar a otras enfermedades de este grupo, con la particularidad de restringir la ingesta de LCT (triglicéridos de cadena larga), y suplementar con MCT (triglicéridos de cadena media) (68).

1.6.12. Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCAD).

Esta enfermedad, debida a mutaciones en el **gen** ACADVL, puede tener también diferentes **formas de presentación**, siendo la de debut infantil la que presenta mayor morbimortalidad. Igual que ocurre en otros errores del metabolismo, este es el motivo por el cual el cribado neonatal ampliado es de vital importancia (69). Además, se ha visto que los pacientes diagnosticados en periodo asintomático con el cribado neonatal, presentan desarrollo psicomotor prácticamente igual al resto de la población (70), y puede evitarse mediante manejo dietético el desarrollo de crisis encefalopáticas y descompensaciones metabólicas (71).

El **perfil de acilcarnitinas** en la espectrometría de masas en tándem mostrará una elevación de C14 (tetradecanoilcarnitina), C14:1 (tetradecenoilcarnitina), C14:2 (tetradecadienoilcarnitina), y, en menor medida, C16 (hexadecanoilcarnitina) y C18 (octadecanoilcarnitina) (49,72).

La **incidencia** de esta enfermedad es variable entre las diferentes poblaciones (73): en Taiwan, se detectó una incidencia de 1:592.717 recién nacidos (30), en California 1:177.000 (39), en Dinamarca 1:168.016 (33), 1:160.000 en Italia (en la Toscana) (16) o en Portugal 105.141 (29).

El **tratamiento** es similar a la patología anterior (52).

1.6.13. Deficiencia de carnitina palmitoil transferasa I (CPT-I).

La CPT-I es un enzima responsable de la conversión de la carnitina a acilcarnitinas (4). La **clínica** de esta patología es similar a la que se produce en el defecto del transportador de carnitina (52).

El defecto de esta enzima provoca una disminución de las acilcarnitinas de cadena larga: C16 (hexadecanoilcarnitina), C18 (octadecanoilcarnitina), C18:1 (octadecenoilcarnitina)..., y en el screening ampliado, además de esta

disminución se **observará** un aumento del ratio C2 (acetilcarnitina)/C16, o C2/C18 (74), o C0 (carnitina libre)/(C16+C18) (49).

El **gen** que codifica esta enzima es el CPT1A y, por lo tanto, su estudio confirmará el diagnóstico de la enfermedad (20).

La **incidencia** de esta alteración es mucho menor, habiéndose descrito pocos casos. En Dinamarca fue 1:363.538 (33) y 1:316.243 fue la frecuencia hallada en Portugal (29).

El **manejo** consistirá en evitar ayunos prolongados, dieta rica en hidratos de carbono y restringir la ingesta de LCT (59).

1.6.14. Deficiencia de carnitina palmitoil transferasa II (CPT-II).

De **clínica** similar a la anterior (aunque existen formas del adulto más leves), esta patología se caracteriza, al contrario que la anterior, por una acumulación de ácidos grasos de cadena larga y una deficiencia relativa de las acilcarnitinas de cadenas corta y media.

Aparecerán **elevadas** en el cribado ampliado la C16 (hexadecanoilcarnitina), C18 (octadecanoilcarnitina), C18:1 (octadecenoilcarnitina) y, en algunos casos, la C14 (tetradecanoilcarnitina), aunque en menor grado (4), y se producirá un aumento del ratio (C16+C18)/C2 (acetilcarnitina) o (C16+C18)/C0 (carnitina libre) (49).

La **incidencia** de esta alteración es también baja, no habiéndose diagnosticado casos en la mayoría de las series publicadas. En Taiwan se detectó 1 recién nacido en 592.717 (30), en Portugal la incidencia fue algo mayor (1:158.122) (29). En Philadelphia (Estados Unidos) se publicó recientemente el diagnóstico de un nuevo caso en un paciente de 4 años, que no había sido detectado mediante el cribado neonatal (75).

El **tratamiento** será similar al de la CPT-I.

1.6.15. Deficiencia de carnitina/acilcarnitina traslocasa (CACT).

Esta infrecuente alteración, puede también **presentarse** de diferente forma, en función de la actividad residual del enzima. Como ocurre en las enfermedades anteriores, las formas neonatales son más graves, y su diagnóstico en el cribado de vital importancia (76).

El **gen** afecto en esta patología es el CACT, y en el **perfil de acilcarnitinas**, lo que veremos será una elevación de las de cadena larga, similar a la CPT-II (49).

De **frecuencia** mucho menor a las alteraciones previas, de esta patología hay muy pocos casos diagnosticados: 59 publicados en 2015, incluyendo 4 casos españoles diagnosticados por presentar síntomas en periodo perinatal (77). En China se detectaron 3 casos entre 2002 y 2006, ninguno de ellos por cribado neonatal (78).

El **manejo** consiste en seguir dieta rica en carbohidratos y baja en grasas, suplementada con triglicéridos de cadena media (MCT) (20).

1.6.16. Acidemia glutárica tipo I (GA I).

Una de las acidurias orgánicas que se detectan en el cribado ampliado es la acidemia glutárica tipo I o deficiencia de glutaril-CoA deshidrogenasa.

Debido al acúmulo de ácido glutárico y 3-OH-glutárico, **se produce** un importante deterioro neurológico, con daño agudo bilateral estriatal, trastornos del movimiento -como distonía y espasticidad y ataxia-, generalmente tras una infección intercurrente. El hecho de diagnosticar a estos pacientes de manera precoz, puede mejorar notablemente el desarrollo neurológico, como publican Couce et al en 2008 (permaneciendo asintomáticos los pacientes diagnosticados por cribado y tratados precozmente) (79), y más tarde Brown et al en 2015 (80).

En el cribado ampliado **se detectará por** una elevación de glutarilcarnitina (C5-DC) (49), y en orina se detectará una excreción aumentada de ácido glutárico, glutacónico y 3-OH-glutárico. El diagnóstico de confirmación se hará al hallar mutaciones en el **gen** implicado: GCDH (81).

La **incidencia** de esta patología es más uniforme en las diferentes series publicadas, con una estimada a nivel mundial de 1:100.000 (82), en Taiwan describen una frecuencia de 1:71.461 (83), 1:72.007 en Dinamarca (33), 1:52.707 fue la publicada en Portugal (29), 1:71.595 en Murcia (22). Destaca la alta incidencia en Galicia (1:35.027) (84).

El **tratamiento** consistirá en restricción proteica y fórmula libre de aminoácidos precursores (lisina y triptófano), con suplementos de carnitina y riboflavina (85,86).

1.6.17. Acidemia isovalérica (IVA).

La acidemia isovalérica o deficiencia de la isovaleril-CoA deshidrogenasa es otra acidemia orgánica. En este caso, se trata de un defecto en el metabolismo de la leucina.

El **desarrollo** de la enfermedad da lugar a dificultades para la alimentación, vómitos, hipotonía, crisis y a deterioro neurológico, debido al acúmulo de tóxicos. El diagnóstico precoz de estos pacientes mediante el screening permitirá un adecuado manejo, con una menor morbimortalidad y un mejor desarrollo psicomotor (87,88).

Su **detección** en el cribado se llevará a cabo por elevación de la C5 acilcarnitina (isovalerilcarnitina). Sin embargo, puede existir una interferencia debida al uso de terapia antibiótica tanto en la madre, como en el propio recién nacido, que obliga a repetir la determinación y a realizar una confirmación mediante análisis de ácidos orgánicos en orina, o bien separar las isoformas de C5, como hacen algunos grupos (89).

El **perfil de ácidos orgánicos** en orina revelará una elevación de las excreciones de isovalerilglicina y ácido 3-OH-isovalérico, así como de otros metabolitos asociados a la acumulación de isovaleril-CoA (4-OH-isovalérico, metilsuccínico, metilfumárico, isovalerilglucurónido). El análisis molecular del **gen** IVD dará el diagnóstico definitivo (87).

La **incidencia** de esta patología desde la introducción del cribado metabólico ampliado oscila entre 1:62.500 en Alemania (90) a 1:660.562 en Taiwan (30). En Australia, la frecuencia observada fue de 1:141.236 (47), 1:160.000 en la Toscana (16), en Portugal 1:105.141 (29) y en nuestro país, en Murcia se ha detectado 1 caso por 71.595 recién nacidos (22). Destaca la elevada incidencia hallada en el estudio piloto que se realizó en Egipto entre 25.276 recién nacidos, detectándose 2 casos, con una incidencia total de 1:12.500 (41).

El **manejo** consistirá en una restricción dietética de proteínas (particularmente leucina), suplementos de carnitina y/o glicina, así como evitar periodos prolongados de ayuno (87).

1.6.18. Acidemia propiónica (PA).

Esta alteración, también conocida como deficiencia de propionil-CoA carboxilasa, se debe a mutaciones en los **genes** PCCA y PCCB, **dando lugar** a defectos en el metabolismo de los aminoácidos isoleucina y valina. El propionil-CoA se desvía por rutas alternativas hacia la formación de numerosos metabolitos, fundamentalmente ácidos orgánicos, especialmente metilcitrato y 3-OH-propionato, que podrán detectarse en orina (91).

Como en muchas de estas enfermedades, existen diferentes **formas de presentación**. La más frecuente y grave es la de inicio en periodo neonatal, presentándose como encefalopatía severa, intolerancia digestiva, afectación neurológica rápidamente progresiva, y fallecimiento por fallo multiorgánico (91). De nuevo, por este motivo es fundamental la detección en el cribado

neonatal, que será posible mediante la **detección** de C3 acilcarnitina (propionilcarnitina) (92), y elevación de los ratios C3/C2 (acetilcarnitina) y C3/C16 (hexadecanoilcarnitina) (49).

Con una **incidencia** global estimada de 1:100.000 (93), las descritas en los diferentes trabajos que recogen la experiencia del cribado ampliado varían entre 1:316.243 en Portugal (29), 1:660.562 en Taiwan (30), 1:65.219 en Dinamarca (33), o 1:80.000 en Italia (en la Toscana) (16). En Australia, la frecuencia observada en el cribado neonatal fue de 1:141.236 (47) y 1:32.000 en California (39). En estos dos últimos centros la incidencia es conjunta con la acidemia metilmalónica.

El **manejo** consistirá en establecer una dieta hipoproteica y normo o ligeramente hipercalórica, evitar ayunos prolongados, y administrar suplementos con L-carnitina, biotina con o sin metronidazol, junto con un adecuado manejo de las crisis (94).

1.6.19. Acidemia metilmalónica (MMA).

La acidemia metilmalónica **se produce** por un defecto en la conversión del metilmalonil-CoA a succinil-CoA, reacción que lleva a cabo la metilmalonil-CoA mutasa, como parte del metabolismo de la isoleucina y valina (88).

El origen de esta alteración, que dará lugar a **elevación** de la C3 acilcarnitina (propionilcarnitina) y de la ratio C3/C2 (acetilcarnitina) en el cribado neonatal, y excreción aumentada de metilmalónico y metilcítrico en orina, puede ser debido a **múltiples causas**. Por un lado, mutaciones en el **gen** MUT (que codifica la enzima metilmalonil-CoA mutasa), producirán acidemia metilmalónica clásica, con retraso del desarrollo, hipotonía muscular y significativa mortalidad. Esta enzima, requiere para su correcto funcionamiento adenosilcobalamina como coenzima, por lo que el metabolismo del ácido metilmalónico se encuentra estrechamente unido a la vitamina B12. Por este motivo, disminuciones en la ingesta de esta vitamina o defectos en su metabolismo (cblA, B, C, D, F)

producirán acidemia metilmalónica, generalmente más leve que la forma clásica (95). Será importante, por tanto, en el estudio de la elevación de propionilcarnitina, solicitar niveles de vitamina B12 al recién nacido, así como a la madre, puesto que son numerosos los casos descritos de MMA, como consecuencia de una pobre ingesta materna de esta vitamina (96).

La **incidencia** estimada de esta patología es entre 1:50.000 y 1:100.000 (97). En Galicia, la frecuencia observada en el cribado neonatal fue de 1 por cada 116.557 (hasta 2000) y 1: 33.965 desde 2001 (23). 1:7.955 fue la descrita en Murcia (22). En Portugal, la frecuencia de MMA debido a mutaciones en MUT fue 1:316.243, y similar la de origen Cbl C y D, la frecuencia total fue 1:158.121 (29). En China describen una incidencia de 1:26.000 (98) y en Taiwan, 1:101.625 (30). En la Toscana italiana la frecuencia total fue de 1:80.000, al detectarse un caso por MUT y uno Cbl C y D (16). Las incidencias de MMA y propiónica fueron 1:65.219 en Dinamarca (33) y 1:32.000 en California (39).

Llama la atención la incidencia de MMA como consecuencia de déficit de vitamina B12 materno descrita por Scolamiero et al en Nápoles –Italia-, de 1 por cada 5.000 recién nacidos (96).

El **tratamiento** de esta patología consistirá en restricción proteica, con suplementos de fórmulas libres de precursores, L-carnitina y manejo de las crisis agudas en la MMA clásica, o cobalamina si se detecta déficit de esta vitamina en sus diversas formas (99,100).

1.6.20. Aciduria 3-hidroxi 3-metil glutárica (HMG).

Esta aciduria forma parte de los defectos del metabolismo de la leucina. Mutaciones en el **gen** HMGCL dan lugar a la deficiencia de 3-hidroxi 3-metil glutaril-CoA liasa (101).

La **clínica** de esta enfermedad en los pacientes no tratados consistirá en hipoglucemia hipocetósica severa y acidosis, hiperamonemia, epilepsia, o incluso muerte en el 20 % de los casos (102).

En el cribado se **detectará** por elevación de C5OH (3-hidroxi-isovalerilcarnitina) y C6DC (3-metilglutarilcarnitina), y los ácidos orgánicos revelarán excreción aumentada de 3-OH 3-metilglutárico, 3-OH-isovalérico, 3-metilglutacónico, 3-metilglutárico o 3-metilcrotonilglicina (49,101).

La **incidencia** estimada de esta patología es menor a 1:100.000 (20). La descrita en México en el cribado neonatal fue 1:42.264 al hallarse 1 paciente en la serie publicada por Torres-Sepúlveda et al (28) y es de 1:105.141 en Portugal (29).

El **manejo** es similar al de las patologías anteriores, siguiendo una dieta baja en proteínas, suplementos de carnitina y evitar ayunos (102).

1.6.21. Deficiencia de β-cetotiolasa (BKT o MAT).

También conocida como deficiencia de la acetoacetil-CoA tiolasa mitocondrial o metilacetato tiolasa (MAT), se trata de una rara alteración tanto del metabolismo de la isoleucina, como de los cuerpos cetónicos, y es producida por mutaciones en el **gen** ACAT1 (103).

En este caso, la **clínica** no suele ser de debut neonatal. Permaneciendo generalmente asintomáticos entre crisis, en situaciones de estrés catabólico se produce una cetoacidosis que puede llevar a alterar el nivel de conciencia e incluso al fallecimiento (104).

En el cribado neonatal se **observará** una elevación de C5OH (2-metil-3-hidroxi-butirilcarnitina o 3-hidroxi-isovalerilcarnitina) y C5:1 (tiglilcarnitina). Al ampliar el estudio con los ácidos orgánicos en orina podrá detectarse un aumento en la excreción de 2-metil-3-OH-butírico, 2-metilacetoacético, 3-OH-butírico, 6-metiluracilo, butanonona, tiglilglicina o metilacetoacetato (20).

Con una **incidencia** estimada incluso menor a 1:1.000.000, en Minnesota publicaron 3 casos entre 2001 y 2010, con una incidencia de 1:232.000 (105).

El **tratamiento** de esta patología consistirá en evitar ayuno, así como las dietas cetogénicas e hiperproteicas, con un adecuado manejo de las situaciones agudas de cetoacidosis (103).

1.6.22. 3-metilcrotonilglicinuria (3MCC).

La deficiencia de 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC ó 3MCC) forma parte de los errores del metabolismo de la leucina, siendo producida por mutaciones en los **genes** MCCC1 y MCCC2 (106).

La presentación **clínica** es muy variable, existiendo desde formas completamente asintomáticas a variantes neonatales con encefalopatía necrotizante y evolución fatal. Por lo general, suele presentarse como síndrome de Reye, en forma de descompensaciones metabólicas (102).

En el cribado se podrá **detectar** por elevación de la C5OH acilcarnitina (3-OH-isovalericarnitina) y C5:1 (3-metilcrotonilcarnitina, isómero de la tiglicarnitina), y en los ácidos orgánicos en orina aparecerá aumentada la excreción de beta-metilcrotonilglicina y ácido 3-OHisovalérico (107). Según un trabajo publicado recientemente en el que se revisaron los casos detectados mediante cribado neonatal, no es posible la correlación entre los niveles de estas sustancias al diagnóstico y el desarrollo de sintomatología o complicaciones metabólicas (108).

Mientras que antes de la introducción de la MS/MS apenas se diagnosticaba (unos 30 casos en el mundo), la **incidencia** de esta alteración desde que se detecta mediante cribado metabólico es más alta que las previas, siendo uno de los errores congénitos más frecuentes (109). En Qatar, esta incidencia alcanza 1:25.214 recién nacidos (40), en Taiwan 1:42.337 (30), similar a la incidencia

detectada con el cribado en México (1:42.264) (28) y en Portugal: 1:45.178 (29). En California la incidencia es algo menor, 1:118.000 (39), y en Italia describen en la Toscana un caso entre 160.000 (16).

El **manejo** será de tipo dietético, con moderada restricción proteica y administración de carnitina (20).

1.6.23. 2-metilbutirilglicinuria (2MBG).

La deficiencia de 2-metilbutiril-CoA deshidrogenasa es otra de las acidurias orgánicas, producida en este caso por mutaciones en el **gen** ACADSB (110).

Generalmente estos pacientes se detectan por el cribado neonatal, permaneciendo asintomáticos. Los que se manifiestan con **clínica**, generalmente consiste en retraso del crecimiento, hipotonía, crisis convulsivas y alteraciones en el desarrollo psicomotor (111).

En el cribado se **detectará** por elevación de C5 (2-metilbutirilcarnitina)(49) y en los ácidos orgánicos aparecerá 2-metilbutirilglicina(110).

La **incidencia** de esta enfermedad es muy baja a nivel global. Sin embargo, en Wisconsin se halló una incidencia de 1:12.285 recién nacidos, siendo entre la población Hmong -procedente del sudeste asiático- 1:223, mientras que en la población caucásica era 1:325.593 (112). La observada en Taiwan por cribado metabólico ampliado fue 1:330.281 recién nacidos (30).

El **tratamiento** está basado en evitar períodos prolongados de ayuno, dieta hipoproteica (con restricción de isoleucina), y suplementos de L-carnitina (113).

1.7. Método de realización del cribado neonatal.

1.7.1. Obtención y manejo de la muestra sanguínea.

1.7.1.1. Forma y lugar de punción.

Para la extracción de la muestra se puncionará la porción medial o lateral de la superficie plantar del talón (114). Debe evitarse siempre el área central del pie, por la eventual posibilidad de dañar nervios, tendones o incluso el cartílago (4).

La punción se realizará sobre el pie convenientemente masajeados para aumentar el flujo sanguíneo y en una zona previamente desinfectada. Con una lanceta estéril, se debe realizar una incisión de aproximadamente 2mm. de profundidad para que el flujo sanguíneo sea suficiente. Desechada la primera gota de sangre, se dejan fluir las gotas para que caigan sobre el papel, presionando suavemente el pie (4).

Las desventajas de realizar la toma de la muestra en el talón son el dolor, y su posible asociación con la osteocondritis -debido a la posibilidad de puncionar el calcáneo-, equimosis, hematomas, obtención de muestras hemolizadas o lesiones accidentales en el personal (115,116). Por este motivo, en algunos centros, como el Servicio de Pediatría del Hospital Lluís Alcanyís de Xàtiva, se ha planteado sustituir la punción del talón por la venopunción (117). Sus ventajas incluyen un menor riesgo de que la muestra se hemolice o coagule, la obtención de un mayor volumen de muestra y, posiblemente, menos dolor (118). La desventaja atribuida a la venopunción es la necesidad de contar con personal experimentado y que la cantidad de tiempo necesaria para la obtención de la muestra dependa en parte de la capacidad del individuo. Correcher et al trataron de determinar en un estudio la eficacia y la respuesta al dolor en recién nacidos practicando venopunción versus punción del talón (117). Utilizaron como medida del dolor la escala NIPS (Neonatal Infants Pain Scale), que incluye 5 grupos conductuales (expresión facial, llanto, movimiento de brazos y piernas y estado de conciencia) y un indicador fisiológico (patrón de respiración). La puntuación total varía de 0 (relajado y tranquilo) a 7 (recién nacido insatisfecho, lloroso) (119). Llegaron a

la conclusión de que la extracción por venopunción fue menos dolorosa que la técnica usual de puncionar el talón, según la escala NIPS, con scores de 2 vs 5, siendo esta diferencia significativa. Además, habían iniciado llanto en el primer minuto el 57,8% de los niños a los que se practicó venopunción frente al 90,2% de los niños con punción de talón ($p < 0,0001$). También los niños del primer grupo lloraron menos tiempo (58 segundos) que los niños con extracción por punción de talón (104 segundos). Además, observaron que la duración de la prueba y el número de pinchazos necesarios fueron también menores con la venopunción (60 versus 120 segundos).

Otros grupos, como Aguirre et al, del Hospital de Basurto (Bilbao), lo que hicieron fue llevar a cabo un estudio en el que se determinaba el dolor de los recién nacidos al puncionar el talón de manera estándar, con mecanismos de contención como paliativo del dolor (grupo 1), frente a aplicar otras medidas adicionales, como la succión no nutritiva con placebo (grupo 2) o la succión con solución de sacarosa al 24 % (grupo 3). En este caso la escala de dolor utilizada fue la escala de malestar NFCS (Neonatal Facing Coding System), que puntúa la expresión facial y el comportamiento del lactante, así como el tiempo de llanto generado por un procedimiento, sumando puntuaciones en una escala del 0 al 5, siendo el 5 dolor intenso, y el 0 ausencia de dolor (120). Lo que ellos observaron fue un mayor tiempo de llanto y puntuación en la escala de malestar en los recién nacidos pertenecientes al grupo 1 frente al grupo 2 y 3, sin observarse diferencias entre los 2 últimos grupos. Concluyen pues, que para minimizar el dolor al realizar la punción del talón, debe unirse a las técnicas de contención y el calentamiento del talón una extracción progresiva de la muestra, así como la succión no nutritiva (121).

1.7.1.2. Características del papel de filtro.

Las características del papel de filtro que se usa en el cribado neonatal son la alta pureza de sus fibras de algodón, manufacturadas para dotarlo de una alta reproductibilidad y precisión, y se deben monitorizar además la capacidad de absorción (en volumen y tiempo), la apariencia física y su homogeneidad (122).

La estandarización se ve afectada por el tipo de papel, el volumen de sangre impregnado, el hematocrito y la parte de la mancha de sangre de donde es tomado un disco para realizar las pruebas. En contrapartida, se trata de muestras que, una vez secas, se mantienen estables durante largos períodos de tiempo, debido a que los procesos de degradación biológica tienen lugar habitualmente por vía húmeda. La sangre debe impregnar bien el papel para permitir una adecuada estandarización de las técnicas. Se debe dejar secar a temperatura ambiente y fuera de luz solar directa, y asegurar su almacenamiento en condiciones adecuadas si no va a ser procesada en las 24-48 horas siguientes. Además, sería recomendable repetir la toma de muestra a los 15 días en recién nacidos de bajo peso, aquellos que han recibido nutrición parenteral o ante la presencia de patología que pueda alterar el resultado (14).

1.7.1.3. Tiempo de la toma de la muestra.

La muestra debe tomarse una vez iniciada la nutrición, y alrededor de las 48 horas de vida. Esto se debe a que las concentraciones sanguíneas de carnitina y acilcarnitinas son más altas en los primeros días de vida y disminuyen rápidamente en las primeras semanas. En el caso de la carnitina libre y la total esta diferencia puede ser hasta del 50% cuando se comparan los valores de las primeras 48 horas de vida y los de una semana (123).

1.7.1.4. Almacenaje y envío de la muestra.

Un adecuado secado de la sangre en el cartón a temperatura ambiente es fundamental para prevenir la degradación, así como el rápido envío de la muestra al laboratorio (124).

1.7.2. Análisis de la muestra mediante la espectrometría de masas en tándem.

Como ya se ha explicado, el cribado metabólico ampliado es posible gracias a la espectrometría de masas en tándem (MS/MS). Los metabolitos que se analizan

mediante esta técnica y las enfermedades que se pueden detectar gracias a la misma se recogen en la Tabla 1.

Tabla 1. Metabolitos que se pueden detectar mediante la espectrometría de masas en tándem y enfermedades que se diagnostican

Enfermedad	Metabolito detectado
Alteraciones de los aminoácidos y del ciclo de la urea	
Fenilcetonuria / hiperfenilalaninemia	Fenilalanina, tirosina y fenilalanina / tirosina
Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (leucinosis)	Leucina, valina e isoleucina
Hiperprolinemia	Prolina
Hipermetioninemia	Metionina
Homocistinuria (defecto CBS)	Metionina
Citrulinemia (tipos I y II)	Citrulina
Aciduria argino-succínica	Citrulina, glutamina
Tirosinemias	Tirosina
Hiperglicinemia	Glicina
Síndrome HHH (hiperornitinemia, hiperamonemia, homocitrulinuria)	Ornitina
Argininemia	Arginina
OTC (deficiencia de ornitina transcarbamilasa)	Citrulina
Acidemias orgánicas	
Acidemia propiónica (deficiencia de propionil-CoA carboxilasa)	Propionilcarnitina (C3)
Acidemias metilmalónicas	Propionilcarnitina (C3), metilmalonilcarnitina (C4DC)
Acidemia malónica (deficiencia de malonil-CoA descarboxilasa)	Malonilcarnitina (C3DC)

Acidemia isovalérica (deficiencia de isovaleril-CoA deshidrogenasa)	Isovalerilcarnitina (C5)
Deficiencia de isobutiril-CoA deshidrogenasa	Butirilcarnitina (C4)
3-metilcrotonilglicinuria (deficiencia de 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa)	3-Hidroxiisovalerilcarnitina (C5OH)
Deficiencia de 2-metilbutiril-CoA deshidrogenasa	Isovalerilcarnitina (C5)
Aciduria metilglutacónica (deficiencia de 3-hidroxi-3metilglutaril-CoA liasa)	3-Hidroxiisovalerilcarnitina (C5OH), metilglutarilcarnitina (C6DC)
Acidemia glutárica tipo I (deficiencia de glutaril-CoA deshidrogenasa)	Glutarilcarnitina (C5DC)
Acidemia hidroximetilglutárica	Hidroximetilglutarilcarnitina
Deficiencia de beta ketotilasa (o acetoacetyl-CoA tiolasa mitocondrial)	Tigilglicina (C5:1) y/o 3-hidroxiisovalerilcarnitina (C5OH)
Deficiencia múltiple de carboxilasas	C5OH y/o C3 acilcarnitinas
Defectos de la beta oxidación de los ácidos grasos	
Deficiencia de carnitina/acilcarnitina translocasa	Carnitina libre (C0)
Defecto de SCAD	Butirilcarnitina (C4)
Defecto de SCHAD/MCHAD	C4OH acilcarnitina
Defecto de MCAD	C6, C8, 10:1 acilcarnitinas
Defecto de VLCAD	C14, 14:1, 16:1
Defecto de LCHAD	C14OH, C16, C16OH, 18, C18:10H acilcarnitinas
Deficiencia de la proteína trifuncional (TFP)	C14OH, C16OH, C18:10H acilcarnitinas
Acidemia glutárica tipo II	C4, C5, C6, C8, C10 acilcarnitinas

(deficiencia múltiple de acil-CoA deshidrogenasas)	
Deficiencia de CPT1	C0, C2, C16, C18, C18:1 acilcarnitinas
Deficiencia de CPT2	C16, 18:1, C18:2 acilcarnitinas
Deficiencia de Carnitina Acilcarnitina Translocasa	C16, C18, C18:1 acilcarnitinas

CBS: cistationina beta sintasa, C0: carnitina libre, C2: acetilcarnitina, C3: propionilcarnitina, C3DC: malonilcarnitina, C4: butirilcarnitina, C4DC: metilmalonilcarnitina, C4OH: hidroxibutirilcarnitina, C5: isovalercarnitina, C5:1: tigilcarnitina, C5OH: hidroxisovalerilcarnitina, C5DC: glutarilcarnitina, C6: hexanoilcarnitina, C6DC: metilglutarilcarnitina, C8: octanoilcarnitina, C10: decanoilcarnitina, C10:1: decenoilcarnitina, C14: tetradecanoilcarnitina, C14:1: tetradecenoilcarnitina, C14OH: hidroxitetradecanoilcarnitina, C16: hexadecanoilcarnitina, C16:1: hexadecenoilcarnitina, C16OH: hidroxihexadecanoilcarnitina, C18: octadecanoilcarnitina, C18:1: octadecenoilcarnitina, C18:2: octadecadienoilcarnitina, C18:10H: hidroxioctadecenoilcarnitina, SCAD: acil-coA deshidrogenasa de cadena corta, SCHAD: hidroxiacil-coA deshidrogenasa de cadena corta, MCHAD: hidroxiacil-coA deshidrogenasa de cadena media, MCAD: acil-coA deshidrogenasa de cadena corta, VLCAD: acil-coA deshidrogenasa de cadena muy larga, LCHAD: hidroxiacil-coA deshidrogenasa de cadena larga, CPT1: carnitina palmitoil transferasa 1, CPT 2: carnitina palmitoil transferasa 2

(3,4,10,23,26,125,126)

1.7.3. Control de calidad de la prueba de cribado.

Un programa de cribado debe establecer a priori los estándares mínimos de calidad de la prueba de cribado, de acuerdo con los mejores datos científicos disponibles. Esos estándares de calidad deben garantizarse mediante un control periódico que sea independiente (127).

El control de calidad debería aplicarse a todo programa de cribado, según se recoge en el informe publicado en 2006 por el American College of Medical Genetics (ACMG) (128).

Existen diversas organizaciones que, de manera externa a los programas, garantizan un adecuado control de calidad, tanto a nivel internacional -como la European Research Network for evaluation and improvement of screening, Diagnosis and treatment of Inherited disorders of Metabolism (ERNDIM), o Centers for Disease Control and Prevention (CDC)-, como internos en los diferentes países -por ejemplo el National External Quality Assessment Service (NEQAS) de Reino Unido-.

Nuestros estándares son los propuestos por el grupo de Rinaldo para el adecuado desarrollo del cribado ampliado, y que se recogen en la Tabla 2 (129):

Tabla 2. Estándares para el adecuado desarrollo del cribado ampliado

Parámetro	Estándar
Tasa de detección	>1:3.000
Tasa de falsos positivos	<0'3%
Valor predictivo positivo	>20%

1.8. Posibles resultados del cribado ampliado.

1.8.1. Enfermedades congénitas del metabolismo.

Las llamadas enfermedades congénitas del metabolismo (ECM) o errores innatos del metabolismo (EIM) son consecuencia de alteraciones bioquímicas de origen génico en la estructura o función de una proteína. La diversidad de estas enfermedades proviene, no sólo del grado de afectación del gen, sino también del tipo y función de la proteína cuya síntesis queda alterada (130).

El término enfermedad metabólica hereditaria (EMH) proviene ya de principios del siglo XX, cuando Garrod definió el concepto de que determinadas enfermedades se producen debido al fallo o ausencia de un enzima que cataliza un paso específico en una ruta metabólica (131,132).

1.8.2. Alteraciones transitorias.

Son disfunciones metabólicas que presentan alteración en el patrón de los analitos determinados, secundarias a distintas situaciones. Éstas pueden ser, por ejemplo, la prematuridad, la inmadurez o enfermedad hepática, y elevan, aunque de manera transitoria, dichos metabolitos.

Cuando este aumento de las cifras se prolonga en el tiempo, se puede considerar que existe una alteración transitoria, a diferencia de los falsos positivos, donde los valores se normalizan al comprobar en sucesivas determinaciones los niveles de acilcarnitinas o aminoácidos.

Por este motivo, a los prematuros menores a 33 semanas de gestación, a los niños a los que se ha realizado transfusión sanguínea y aquellos sometidos a nutrición parenteral total, se repite el cribado ampliado de forma sistemática a los 15 días de vida.

1.8.3. Déficit de vitamina B12.

Como una alteración aparte, sin ser una enfermedad metabólica, se considera el déficit de vitamina B12. Como ya hemos visto, esta vitamina juega un importante papel como coenzima en diversas vías metabólicas, tanto en la metilación de la homocisteína a metionina, como en la conversión de metilmalonil-CoA a succinil-CoA (actuando como cofactor de metionina sintasa y L-metilmalonil-CoA mutasa respectivamente). Si existe un déficit de esta vitamina, como consecuencia de alteraciones digestivas o dietas restrictivas o vegetarianas, se produce un importante impacto en la síntesis del DNA, los glóbulos rojos y el desarrollo del sistema nervioso central (133,134).

En el cribado neonatal, este déficit puede mostrarse como una elevación de la C3 carnitina (propionilcarnitina) y excreción aumentada de ácido metilmalónico en orina. Por este motivo, solicitar niveles de vitamina B12 en suero del recién nacido y de la madre es fundamental para el diagnóstico diferencial, siendo además una alteración reversible y de sencillo manejo (96).

1.8.4. Falsos positivos y falsos negativos.

Entendemos como **falso positivo (FP)** cuando las personas sanas son clasificadas como probablemente enfermas (135). Es decir, en el cribado neonatal se observará un valor alterado, que no se correlaciona realmente con enfermedad metabólica, como se confirma al ampliar el estudio del recién nacido. Los falsos positivos conllevan generalmente ansiedad por parte de los padres, pudiendo llegar a afectar a la percepción de los mismos sobre la salud de su hijo, e incluso a la relación entre ellos (136). Además, esta alteración en la percepción de la salud, puede conllevar un aumento en el número de visitas médicas, así como la innecesaria hospitalización del niño (137). También incrementan el gasto del propio cribado neonatal, por ser necesario procesar un mayor número de resultados dudosos (14).

Un trabajo publicado en China estudió las diferencias entre las familias de un grupo de recién nacidos a los que se había dado un resultado falso positivo, frente a un grupo control, observando que en el primer grupo la percepción familiar era de requerir más cuidados, mayor preocupación por el futuro desarrollo, un mayor número de visitas al pediatra de atención primaria, así como un mayor número de las hospitalizaciones (138). Por el contrario, en otro estudio que ajustó los resultados en dos grupos similares por género, peso al nacimiento, edad gestacional y enfermedad crónica, no observó diferencias estadísticamente significativas en cuanto a las hospitalizaciones y visitas a urgencias (139).

Para evitar falsos positivos, es imprescindible ajustar los puntos de corte de los diferentes analitos, se pueden también incluir en el cribado inicial algunas determinaciones de segundo nivel, como la succinilacetona (16), aumentar el uso de ratios en vez de únicamente metabolitos aislados, así como la combinación de determinados analitos (4), o utilizar herramientas como la base de datos de reconocimiento de patrones de enfermedades creada por Rinaldo et al (140).

Se entiende por **falso negativo (FN)** aquel caso con enfermedad que se clasifica como persona sana (135). Es decir, son aquellos casos que no se detectan mediante el cribado neonatal y, sin embargo, son diagnosticados posteriormente, bien por presentar sintomatología, o al hacer un análisis por otro motivo (por ejemplo, en el estudio de familiares de afectos). Por supuesto, el número de falsos negativos del cribado neonatal debe ser el mínimo posible, puesto que el objetivo del mismo es detectar todos los posibles casos de una población.

Así como en el caso de los falsos positivos se puede crear una innecesaria ansiedad y preocupación, cuando se produce un falso negativo, ocurre lo contrario: que se crea una falsa sensación de seguridad, que puede incluso llevar a demorar la consulta con el médico en caso de sintomatología, junto con el retraso en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad, con todo lo que ello conlleva (135).

Es importante para evitarlos que, manteniendo la sensibilidad -para no dejar de diagnosticar los casos positivos-, el cribado tenga la suficiente especificidad (135).

En el programa colaborativo liderado por Rinaldo, tratan de minimizar tanto falsos positivos, como negativos, mediante el uso de herramientas como su base de datos de reconocimiento de patrones de enfermedades, demostrando que se podrían evitar hasta un 88% de los FN que se detectan (140).

También el uso de ratios en vez de únicamente metabolitos aislados, así como la combinación de determinados analitos (acilcarnitinas o aminoácidos) permite mejorar la detección de algunas patologías, disminuyendo así falsos positivos y negativos (4).

1.8.4.1. Frecuencia de falsos positivos.

El grupo Neo Gen Screening Program de Pittsburgh describe en 1998 un 0'26% de falsos positivos (141), en Australia, publicaron una tasa de 0'15% (142), o en

Alemania 0'33% (143), en 2007 describen en México una tasa de 0'22% (28). En California, al inicio de establecer el cribado neonatal, la tasa de falsos positivos era de 0'49%, con una tasa en el último año de 0'07% (39). En nuestro país, se publicó en Murcia una tasa de 0'28% en 2012 (22), mientras que en Portugal esta frecuencia es tan solo de 0'12% (29) y en Dinamarca desciende hasta 0'03% (33).

1.8.4.2. Frecuencia de falsos negativos.

Generalmente, los falsos negativos son mucho menos frecuentes que los falsos positivos, puesto que, como ya hemos visto, se intenta establecer unos límites lo suficientemente bajos para que la sensibilidad sea la máxima posible. No obstante, en la literatura se encuentran algunos casos.

En la revisión del cribado neonatal en la región de Murcia, donde se recoge la experiencia de más de 3 años, únicamente describen un falso negativo para EIM (el caso de una acidemia metilmalónica) (22). En Dinamarca es mayor el número de falsos negativos (entre una población cribada de 504.049 recién nacidos): diagnosticaron posteriormente entre los pacientes cribados con resultado negativo un caso de MCAD, hasta 6 FN para el defecto del transportador de carnitina –una patología muy frecuente en las islas Faroe- (que, según publican, al menos 5 no habrían sido FN de utilizar el algoritmo diagnóstico con los niveles que utilizan ahora), un FN para SCAD y 3 entre acidemia metilmalónicas y propiónicas (33). También en California se hallaron 1 caso de LCHAD y una leucinosis que no habían sido detectadas con el cribado tal y como se realizaba entonces, pero que posteriormente se vio que sí se habrían diagnosticado con los niveles de corte modificados, y una VLCAD (39). En Taiwan se diagnosticaron a posteriori 3 homocistinurias que no habían sido detectadas mediante el cribado (30).

1.8.4.3. Factores maternos relacionados con la alteración del cribado.

La *fenilcetonuria materna* o *hiperfenilalaninemia* mal controlada puede producir una elevación transitoria de la fenilalanina en el cribado. Normalmente el ratio Phe/Tyr será normal.

Se producirán falsos positivos en los casos de *3-metilcrotonilglicinuria materna* (con elevación de C5OH o 3-hidroxiisovalerilcarnitina y descenso de carnitina libre), deficiencia primaria de carnitina o acidemia glutárica tipo I (también niveles bajos de carnitina libre).

Como ya hemos visto, en el caso de la *deficiencia de vitamina B12 materna*, se detectará una elevación de C3 (propionilcarnitina) (144-146).

1.8.4.4. Factores intrínsecos al recién nacido que pueden modificar el cribado.

La *prematuridad* es una de las principales causas de falsos positivos en el cribado neonatal. En un estudio realizado por Slaughter et al con 448.766 recién nacidos, la tasa de FP fue 1'4%. Analizaron la relación entre los falsos positivos y el peso al nacer y la edad gestacional, observando que la tasa de falsos positivos es inversamente proporcional a la edad y al peso al nacimiento (147).

Es importante en prematuros repetir la toma de la muestra para minimizar tanto falsos positivos, como falsos negativos, así como adecuar a esta población los niveles de corte de los metabolitos. En Galicia se llevó a cabo un estudio para establecer los percentiles de normalidad de carnitina libre, total y acilcarnitinas en este grupo (prematuros con peso menor a 1.500 g). Se observó, como ya se había descrito previamente, la elevación de los niveles en los primeros días, con un descenso a los 15 días de vida, y pudieron establecer unos percentiles de referencia para una mejor adecuación en este grupo de edad (148).

La *inmadurez hepática* puede dar lugar a elevación transitoria de metionina y tirosina, incluso de otros aminoácidos. Estas mismas alteraciones se podrán

producir si existe patología del hígado. Así, el cribado neonatal puede detectar enfermedad hepática, como en el caso de Adelaida, al sur de Australia, donde se diagnosticaron dos casos de hemocromatosis neonatal, gracias al aumento de tirosina y metionina (149).

En el caso de la *inmadurez renal* generalmente la elevación es más global de muchos aminoácidos.

La *hiperbilirrubinemia* puede elevar la propionilcarnitina (C3) (144-146).

1.8.4.5. Factores que actúan sobre el recién nacido y pueden alterar el cribado.

La *nutrición parenteral total (NPT)* puede producir una elevación múltiple de aminoácidos. En una Unidad Neonatal en Amsterdam se detectó un elevado número de falsos positivos con elevación de metionina en el cribado, que se atribuyó a la suma de varios factores: prematuridad, bajo peso y NPT con una fórmula rica en proteínas, particularmente metionina (150).

Los *suplementos con carnitina* elevarían los niveles de carnitina libre y acilcarnitinas de cadena corta: C2 (acetilcarnitina), C3 (propionilcarnitina) y C4 (butirilcarnitina).

Algunos *antibióticos*, como la ampicilina o la cefotaxima, pueden dar lugar a aumento de la C5 (isovalerilcarnitina), C16:1OH (hidroxihexadecenoilcarnitina) o C14:1 (tetradecenoilcarnitina).

Suplementos con *triglicéridos de cadena media (MCT)* podrían elevar las acilcarnitinas de cadena media y la glutarilcarnitina (C5DC).

Los *sueros glucosados intravenosos* pueden producir elevación de C16OH (hidroxihexadecanoilcarnitina) (144-146).

Se ha descrito, además, la elevación de C5 en el cribado recién nacidos alimentados con lactancia materna, cuando la madre usaba un producto cosmético para el cuidado de los pezones, denominado *neopentanoato* (151).

1.8.4.6. Otros factores externos que pueden modificar el resultado del cribado.

También las *transfusiones sanguíneas* y la *diálisis* pueden alterar negativamente el resultado del cribado, así como una *extracción de la muestra demasiado precoz* (antes de las 24 horas de vida) (27,147,152). Igualmente, una *extracción demasiado tardía* puede dar lugar a falsos negativos en el caso de la homocistinuria (4) o al descenso de las acilcarnitinas, con la consecuente ausencia de diagnóstico de la enfermedad subyacente (152).

Además de los previamente descritos, existen otros factores que pueden influir en el número de falsos positivos. Según Tarini et al, cuantos más test se llevan a cabo, mayor es la probabilidad de falsos positivos. Así, con el incremento de metabolitos detectados mediante la espectrometría de masas en tándem, entre 2.575 y 51.059 recién nacidos recibirían un falso positivo en el cribado al año en Estados Unidos (153).

1.9. Diagnóstico de familiares.

Cada vez son más los casos de familiares que se detectan gracias a ampliar el estudio de los recién nacidos.

Debido al cribado neonatal en Murcia, fue posible el diagnóstico de 6 familiares de recién nacidos afectados: una madre vegetariana con deficiencia de cobalamina, cuyo hijo presentaba altos valores de C3 en sangre; un caso de MCAD; un paciente con acidemia metilmalónica, hermano de uno de los recién nacidos afectados de esta enfermedad, tras realizar asesoramiento genético familiar, y 3

madres con deficiencia de beta-metilcrotonil CoA carboxilasa, cuyos hijos presentaron valores de C5OH por encima del punto de corte (22).

Mutaciones en el gen MAT1A acompañados de hipermetioninemia fueron halladas en 7 padres y madres de recién nacidos cribados en Portugal, así como 4 casos de 3-metilcrotonilglicinuria materna (29).

En Holanda se publican 3 casos de aciduria glutárica tipo 1 sintomáticas, todos ellos adultos, diagnosticados a raíz de un caso de alteración del cribado neonatal con disminución de la carnitina libre (154).

En la Toscana, Italia, se detectó un caso de acidemia metilmalónica materno, 2 3-metilcrotonilglicinurias y un defecto primario de carnitina (16).

El cribado neonatal ampliado en Dinamarca dio lugar además al diagnóstico de 11 madres con afectación metabólica: 8 de ellas con defectos en el transportador de la carnitina –una enfermedad muy prevalente en esta población- y 3 madres afectas de 3-metilcrotonilglicinuria (33).

En Taiwan y en North Carolina (Estados Unidos) se detectaron también 4 casos de madres afectas de 3-metilcrotonilglicinuria en cada uno (30, 107), así como en Corea, donde pudo diagnosticarse a una madre con 3-metilcrotonilglicinuria que había permanecido asintomática (155).

Además de estos casos de enfermedad metabólica, hay que tener en cuenta el ya descrito déficit de vitamina B12 presente en muchas madres de los recién nacidos cribados. En Italia publican una serie de 7 casos (96).

1.10. Nuevas perspectivas en el cribado neonatal.

Junto a las enfermedades diagnosticadas mediante la espectrometría de masas en tándem, u otras ampliamente extendidas, como la fibrosis quística, la

hiperplasia suprarrenal congénita o el hipotiroidismo congénito, existen otras enfermedades que empiezan a cribarse en algunos centros, o cuya implantación genera discusión.

1.10.1. Enfermedades lisosomales.

Las enfermedades por depósito lisosomal son enfermedades raras de origen genético, originadas por defectos en enzimas lisosomales, proteínas activadoras o de membrana, que dan lugar a una alteración del enzima, y esto causa la progresiva acumulación del sustrato, interfiriendo con la actividad celular normal (156).

En algunos países ya se están llevando a cabo test de detección de enfermedades lisosomales, y en otros se está realizando estudios para su implantación. En Italia, están desarrollando un método para detección de enfermedad de Pompe, Fabry, Gaucher y mucopolisacaridosis (MPS) tipo I, que parece material y económicamente factible (157). También Orsini et al en Estados Unidos publicaron la utilidad de una técnica que denominan 4+1 multiplex, para detectar enfermedad de Gaucher, Pompe, Krabbe, Fabry y Niemann-Pick A/B en una muestra de sangre seca, aparentemente un método más sencillo y fiable que otros desarrollados hasta entonces (158).

En otro trabajo publicado por Mechtler et al, describen la posibilidad de detectar enfermedad de Gaucher, Niemann-Pick A/B, Pompe, Fabry y MPS tipo I en sangre seca mediante un proceso de espectrometría de masas con corto periodo de incubación, comparando la técnica en pacientes ya diagnosticados, con métodos previamente desarrollados, sin hallar diferencias estadísticamente significativas. Añaden, además que en todos los casos habría sido posible la diferenciación de los recién nacidos sanos mediante este método. Como ventaja, el escaso tiempo requerido para el análisis (4 horas) frente a otras técnicas (159).

La detección de la enfermedad de Pompe mediante el estudio enzimático en sangre seca podría ser un método posible, con el inconveniente de que éste no diferencia las formas infantiles de las del adulto, con la ansiedad que ello puede generar (160). En Taiwan desarrollaron un algoritmo de cribado de la enfermedad de Pompe mediante estudio de la actividad enzimática en sangre seca. En 2008 publican una serie de 3 casos asintomáticos detectados entre 132.538 recién nacidos (161). Cuatro años más tarde, en 2012, se habían cribado 473.738 recién nacidos, y publican un estudio retrospectivo para analizar cuál es el mejor algoritmo a seguir en la detección. Utilizan para ello el ratio α -glucosidasa neutra/ α -glucosidasa ácida, como método de diferenciación entre verdaderos y falsos positivos (162). Otro estudio comparó la técnica de detección en fibroblastos frente al estudio de sangre seca, como posibilidad para el cribado, sin observar un aumento en los falsos positivos ni aumentar excesivamente la carga de trabajo con largos procedimientos (163).

En un trabajo en el que se había cribado a más de 1.200.000 recién nacidos, se trató de determinar el estado de la enfermedad en el que se encontraban aquellos en los que el cribado había reflejado alto riesgo de padecer enfermedad de Krabbe (10 en total). A partir del cartón de sangre seca del cribado determinan la concentración de psicósina, como marcador de la fase (a mayor concentración, mayor probabilidad de desarrollar la forma infantil o más grave). Esta técnica podría disminuir la incertidumbre de la que hablábamos previamente, no obstante, debe ampliarse con un mayor número de pacientes, para poder establecer un algoritmo fiable de actuación (164).

También en Estados Unidos (en el estado de Washington), se cribó a 110.000 recién nacidos para enfermedad de Fabry, Pompe y MPS tipo I, mediante el estudio de la actividad enzimática (α -galactosidasa, α -glucosidasa ácida, y α -L-iduronidasa) por medio de la espectrometría de masas en tándem. Se confirmó por secuenciación de DNA enfermedad de Fabry en 7 recién nacidos varones (1:7.800), Pompe en 4 recién nacidos (1/27.800) y MPRS tipo I en 3 recién nacidos (1:35.500). La detección precoz de estas patologías puede disminuir la

morbimortalidad, y mediante esta técnica puede llevarse a cabo su diagnóstico en un sólo proceso (165).

En Taiwan se publicó una técnica de detección de MPS tipo I, considerando de gran valor un diagnóstico precoz que pueda llevar a un tratamiento temprano de la enfermedad. Utilizan métodos enzimáticos de fluorescencia para detectar la enzima implicada (α -L-iduronidasa) en sangre seca, y lo plantean como un método fiable, sensible, validado, sencillo de realizar y coste-efectivo, en comparación con la técnica de la espectrometría de masas en tándem (166).

Asimismo, Tomatsu et al desarrollaron un método de detección de MPS mediante la medición por espectrometría de masas en tándem con cromatografía líquida de los diferentes disacáridos derivados de glucosaminoglicanos (condroitin, dermatan, heparan y keratan sulfato), que reduce drásticamente el tiempo de la técnica de manera precisa, sensible y coste-efectiva (167). O el grupo de Sista en Estados Unidos, con otro método para cribar pacientes con enfermedad de Pompe, Fabry, Hunter, Gaucher y Hurler, mediante una plataforma digital microfluídica que permite el análisis de una muestra única del cartón en 3 horas (168).

Con respecto a las mucopolisacaridosis y oligosacaridosis, se realizó una revisión de los diferentes métodos de screening publicados. Las técnicas de laboratorio más frecuentemente utilizadas son la determinación de glicosaminoglicanos en orina, así como el estudio de la actividad enzimática en sangre o plasma. Se observó que en algunos de los métodos de detección de MPS la especificidad y sensibilidad podía alcanzar cifras cercanas al 100%. Concluyen, sin embargo, que no existe evidencia suficiente para recomendar el cribado, ante la heterogeneidad de los estudios publicados y la falta de estudios de calidad (169).

1.10.2. Galactosemia.

La galactosemia es una enfermedad hereditaria que se caracteriza por la incapacidad de utilizar la galactosa por el organismo, lo que provoca su acúmulo y, si no se trata de manera precoz y adecuada, da lugar a lesiones hepáticas, insuficiencia renal, afectación del sistema nervioso central, retraso en el crecimiento o cataratas. Existen diferentes tipos de galactosemias, originadas por diferentes alteraciones de la vía metabólica. La galactosemia clásica es la más frecuente, y se produce por una deficiencia del enzima galactosil-1-P-uridil transferasa (GALT) (170).

La detección en el cribado neonatal puede realizarse midiendo la concentración de GALT en sangre seca mediante ensayos colorimétricos o fluorimétricos, o bien calculando la concentración de hexosas monofosfatadas por MS/MS y la galactosa en orina por cromatografía de capa fina (171).

En la actualidad, Galicia es la única comunidad autónoma que realiza el cribado de galactosemia en España, habiendo diagnosticado hasta la fecha de publicación de la Memoria *Diagnóstico precoz de los errores congénitos del metabolismo* en 2007 a 17 pacientes (8 afectos de galactosemia clásica, 7 por déficit de galactoquinasa y 2 de epimerasa) (23).

1.10.3. Enfermedades peroxisomales.

Las enfermedades del metabolismo del peroxisoma agrupan una serie de enfermedades muy heterogéneas, pero con un fenotipo característico y cuya clínica suele consistir en una asociación variable de dismorfia craneofacial, retraso del crecimiento asociado a trastornos digestivos, encefalopatía, hipoacusia neurosensorial, alteraciones oculares, anomalías esqueléticas, hepatopatía y quistes renales, y atrofia adrenal (172).

La adrenoleucodistrofia congénita ligada al X es una de las enfermedades peroxisomales cuyo diagnóstico precoz mediante el cribado mejoraría claramente su pronóstico, debido a las nuevas terapias que se están desarrollando (173). El marcador bioquímico es el acúmulo de ácidos grasos

saturados de cadena muy larga en fluidos y tejidos, particularmente ácido hexacosanoico (C26:0) (156).

El cribado de estas alteraciones podría realizarse por MS/MS a través de una ampliación de los perfiles de acilcarnitinas a las carnitinas dicarboxílicas de cadena larga y a carnitinas de cadena muy larga (174).

1.10.4. Deficiencia de biotinidasa.

El enzima biotinidasa es la responsable del reciclado de la biotina, una vitamina esencial en la nutrición, muy importante en algunos procesos metabólicos, como la gluconeogénesis, la síntesis de ácidos grasos y el catabolismo de aminoácidos. La deficiencia de biotinidasa es un error metabólico en el que se suceden progresivamente hipoglucemia, daños neurológicos (hipotonía, ataxia y déficits sensoriales), estructurales y dermatológicos, como rash y alopecia (175, 176).

Para su detección se utiliza un ensayo cualitativo o semicuantitativo de la actividad enzimática, y que puede ser realizado en sangre seca para cribado, pero requiere confirmación en suero (171).

En Galicia diagnosticaron 6 casos hasta la publicación de la Memoria (23) y en Murcia un paciente hasta la publicación en 2012 de *Cribado neonatal ampliado en la Región de Murcia. Experiencia de tres años* (22).

1.10.5. Hemoglobinopatías.

Las talasemias y las hemoglobinopatías constituyen el grupo de alteraciones hereditarias, autosómico recesivas, más frecuente en muchos países, fundamentalmente en África, Oriente Medio y Asia. Existen determinadas variantes estructurales del gen de la hemoglobina, siendo las consecuencias más graves las asociadas con los homocigotos para la hemoglobina C (HbC) y la S (HbS), la drepanocitosis, mientras que la E (HbE) y la D (HbD) producen menos complicaciones. Las talasemias se deben a una reducción en la síntesis de las cadenas globina. Si se produce en las β -globinas se denominan β -talasemias y si

es en las cadenas α se denominan α -talasemias. Su severidad depende de la cantidad de cadenas globina producidas y de la estabilidad de los residuos. Las α -talasemias severas suelen ser incompatibles con la vida y las β precisan de transfusiones frecuentes e incluso trasplante de médula ósea (4).

Para el cribado se suele utilizar el método de cromatografía líquida de alta resolución, con confirmación mediante electroforesis capilar, dando lugar a los resultados fenotipo de hemoglobina A normal (FA), HbAS (FAS), HbS (FS), HbSC (FSC), fenotipo de HbAC (FAC) (177).

Su cribado en España está incluido en los programas de Extremadura, Madrid, País Vasco y Alicante (171).

1.10.6. Inmunodeficiencias combinadas graves.

Con este nombre se denomina al conjunto de enfermedades de base genética que engloba a las formas más graves de inmunodeficiencias primarias en las que existe un defecto casi completo en la generación de linfocitos T y/o B (178). El diagnóstico precoz es fundamental, por su fuerte impacto en la supervivencia de los niños afectados. Brown et al publican la importancia del diagnóstico temprano en el manejo y pronóstico de la enfermedad, mediante la comparación de dos grupos, uno formado por pacientes diagnosticados al nacer por presentar historia familiar positiva, y un segundo grupo, formado por estos pacientes con enfermedad diagnosticada por clínica. Observaron que el primer grupo presentaba una supervivencia de más del 90%, frente al 40% del segundo grupo (179).

Existe una técnica de diagnóstico precoz común para las diferentes formas genéticas de inmunodeficiencias graves, que se puede realizar en sangre seca de talón, en la que se miden *T-cell Receptor Excision Circles* (TREC) y *Kappa-Deleting Recombination Excision Circles* (KRECS). En el estudio que se llevó a cabo en España para la detección de inmunodeficiencias en neonatos utilizando estos marcadores, analizaron a 1.068 recién nacidos, sin hallar ninguna linfopenia

grave (180). Se trata de un método coste-efectivo muy importante, debido al ahorro en el manejo de los pacientes en fase presintomática (178).

1.10.7. Síndrome X frágil.

Algunos grupos consideran importante la detección del síndrome X frágil, la causa de discapacidad intelectual de origen genético conocido más frecuente. Hasta ahora, no se ha recomendado su inclusión en los diferentes programas de cribado, en primer lugar, por no existir un método fiable, sencillo y coste-efectivo, pero, además, porque se ha estimado que la detección precoz podría conllevar ansiedad y un exceso de preocupación por parte de la familia, junto con interrupción de la relación padres-hijo, discriminación y una carga, tanto familiar como, para el sistema sanitario. Por este motivo, se valora necesario un mayor número de estudios, que tengan en cuenta estos problemas, analizando la posibilidad de modelos basados en decisiones individuales y voluntarias, y acompañados de una adecuada información clínica y genética, tanto para las familias, como para la sociedad, así como el propio personal sanitario (181).

1.10.8. Secuenciación del genoma.

Uno de los últimos debates acerca del cribado es la secuenciación del genoma completo o del exoma (el conjunto de exones o parte codificante del genoma). El análisis genético ha disminuido su coste en los últimos años, y sería la única forma de llegar a la detección presintomática de numerosas patologías, por lo que no se descarta que sea una posible técnica aplicable al cribado neonatal en un futuro (182).

Para algunos grupos, la aplicación del análisis genético de todo o parte del genoma en los primeros días de vida, será un sustituto de la actual técnica de la espectrometría de masas en tándem, dado el abaratamiento del método y la posibilidad de llevarlo a cabo cada vez en menor tiempo (183). Sin embargo, el debate surge de la dificultad en la interpretación del mismo, debido a la complejidad de la relación genotipo-fenotipo, las expectativas que pueda crear

en las familias, la ansiedad y, no menos importante, el todavía elevado coste de la técnica. De momento no parece una propuesta realista ni aplicable a la población general (183,184).

Justificación

El cribado metabólico ampliado nace, como se ha comentado, gracias a la espectrometría de masas en tándem, haciendo posible la detección de más de treinta errores congénitos del metabolismo. Tras cinco años de la implementación del cribado ampliado neonatal en Aragón, es necesaria una evaluación de los resultados para comunicar a la comunidad científica nuestra experiencia, así como compararnos con otros programas de cribado nacionales e internacionales. Es preciso, además, conocer nuestros estándares y reajustar -si fuera preciso- valores y pautas de actuación, para minimizar las tasas de falsos positivos y evitar falsos negativos.

Asimismo, cualquier estudio de análisis de la actividad realizada (en este caso, el cribado neonatal), permite hacer una previsión y adecuar los recursos necesarios tanto a nivel material como de recursos humanos, para la atención de las patologías detectadas.

En la revisión de la literatura, son escasos los trabajos que publican las experiencias recogidas tras la implementación de los diferentes programas de cribado, las incidencias de las patologías detectadas, así como las fortalezas y debilidades de cada Centro de cribado. Se trata de publicaciones de gran repercusión socio-sanitaria, y su comunicación de elevado valor científico, e imprescindible como medida de calidad.

Objetivos

Objetivo general:

Evaluar el programa de cribado metabólico ampliado en Aragón tras cinco años de su implantación.

Objetivos específicos:

- Determinar la incidencia de las enfermedades metabólicas detectadas mediante el cribado ampliado.
- Realizar un estudio descriptivo de las enfermedades metabólicas detectadas.
- Analizar los estándares de calidad del programa de cribado ampliado.
- Comparar nuestros resultados con otros programas de cribado nacionales e internacionales.
- Detectar nuevos fenotipos asintomáticos de algunas enfermedades.
- Valorar la incidencia de otras alteraciones metabólicas que son detectables mediante el cribado metabólico ampliado y pueden beneficiarse de un tratamiento.
- Detectar debilidades y fortalezas del cribado ampliado.

Hipótesis

La hipótesis de trabajo es que el programa de cribado ampliado en Aragón cumple los estándares requeridos para la detección de las enfermedades metabólicas hereditarias. El beneficio más importante es la detección de estas enfermedades en fase presintomática, lo cual evita la morbimortalidad de las mismas.

Material y Métodos

5.1. Población a estudio.

Está formada por todos los niños que fueron remitidos a la Unidad de Enfermedades Metabólicas del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza, centro de referencia de Aragón y La Rioja, cuyo motivo de consulta fue “Cribado Neonatal alterado”, desde septiembre de 2009, fecha en la que se implementó el cribado ampliado en Aragón, hasta septiembre de 2014.

5.2. Diagrama del funcionamiento de la Unidad.

La muestra de sangre se recoge a partir de las 48 horas de vida en la Maternidad, bien sea del Hospital Miguel Servet, o del Centro Hospitalario en el que nazca el niño. Se toma una muestra de sangre del talón, como se ha explicado previamente. Además, a los prematuros menores a 33 semanas de gestación, a los niños a los que se ha realizado transfusión sanguínea y aquellos sometidos a nutrición parenteral total, se repite el cribado ampliado de forma sistemática a los 15 días de vida.

El cartón utilizado para recoger la muestra es el **PerkinElmer 226**, fabricado al 100% de algodón y según la normativa CLSI NBS01-A6. El papel de filtro que incorpora es el Ahlstrom 226.

Esta muestra se remite al Laboratorio de Bioquímica, a la Sección de Metabolopatías, donde se realiza el cribado mediante la tecnología HPLC-MS/MS, que se compone por un módulo **HPLC Waters 2795** y un espectrómetro de masas **Micromass Quattro Micro Quadrupole System**, también de Waters.

El espectrómetro de masas permite, en una única muestra de sangre, la separación, identificación y cuantificación de las moléculas, basándose en su relación masa/carga, tras su ionización (185). Esto hace posible el sensible,

rápido y preciso análisis de los diferentes metabolitos (aminoácidos y acilcarnitinas) (10).

Los metabolitos que se determinan mediante esta técnica en nuestro laboratorio y sus valores normales son los siguientes:

- Alanina (valor normal 151'80 – 784'00 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- Arginina (valor normal 1'00 – 34'30 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- Citrulina (valor normal 2'50 – 35'50 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- Glicina (valor normal 189'80 – 1210'70 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- Leucina + Isoleucina (valor normal 63'80 – 237'40 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- Metionina (valor normal 8'40 – 36'00 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- Ornitina (valor normal 37'90 – 291'80 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- Fenilalanina (valor normal 27'80 – 84'00 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- Fenilalanina/Tirosina (valor normal 0'22 – 1'35)
- Prolina (valor normal 87'80 – 339'20 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- Succinilacetona (valor normal 0'00 – 0'65 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- Tirosina (valor normal 34'30 – 230'00 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- Valina (valor normal 50'50 – 239'30 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- C0 (carnitina libre, valor normal 7'13 – 54'70 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- C2 (acetilcarnitina, valor normal 8'17 – 53'20 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- C3 (propionilcarnitina, valor normal 0'65 – 5'14 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- C3DC + C4OH (malonil + hidroxibutirilcarnitina, valor normal 0'09 – 1'05 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- C4 (butirilcarnitina, valor normal 0'05 – 0'72 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- C4DC + C5OH (metilmalonil + hidroxiiisovalerilcarnitina, valor normal 0'23 – 1'41 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- C5 (isovalerilcarnitina, valor normal 0'04 – 1'06 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- C5:1 (tiglilcarnitina, valor normal 0'00 – 0'06 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- C5DC + C6OH (glutarilcarnitina + hidroxihexanoilcarnitina, valor normal 0'00 – 0'28 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- C6 (hexanoilcarnitina, valor normal 0'00 – 0'11 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- C6DC (metilglutarilcarnitina, valor normal 0'00 – 0'27 $\mu\text{mol/L}$ sangre)
- C8 (octanoilcarnitina, valor normal 0'01 – 0'28 $\mu\text{mol/L}$ sangre)

- C8:1 (octenoilcarnitina, valor normal 0'01 – 0'28 µmol/L sangre)
- C10 (decanoilcarnitina, valor normal 0'01 – 0'21 µmol/L sangre)
- C10:1 (decenoilcarnitina, valor normal 0'02 – 0'23 µmol/L sangre)
- C10:2 (decadienoilcarnitina, valor normal 0'00 – 0'11 µmol/L sangre)
- C12 (dodecanoilcarnitina, valor normal 0'02 – 0'31 µmol/L sangre)
- C12:1 (dodecenoilcarnitina, valor normal 0'02 – 0'34 µmol/L sangre)
- C14 (tetradecanoilcarnitina, valor normal 0'08 – 0'45 µmol/L sangre)
- C14OH (hidroxitetradecanoilcarnitina, valor normal 0'00 – 0'05 µmol/L sangre)
- C14:1 (tetradecenoilcarnitina, valor normal 0'04 – 0'35 µmol/L sangre)
- C14:2 (tetradecadienoilcarnitina, valor normal 0'01 – 0'09 µmol/L sangre)
- C16 (hexadecanoilcarnitina, valor normal 1'14 – 6'70 µmol/L sangre)
- C16OH (hidroxihexadecanoilcarnitina, valor normal 0'00 – 0'06 µmol/L sangre)
- C16:1 (hexadecenoilcarnitina, valor normal 0'07 – 0'56 µmol/L sangre)
- C16:10H (hidroxihexadecenoilcarnitina, valor normal 0'01 – 0'11 µmol/L sangre)
- C18 (octadecanoilcarnitina, valor normal 0'36 – 1'86 µmol/L sangre)
- C18OH (hidroxioctadecanoilcarnitina, valor normal 0'00 – 0'03 µmol/L sangre)
- C18:1 (octadecenoilcarnitina, valor normal 0'60 – 2'90 µmol/L sangre)
- C18:10H (hidroxioctadecenoilcarnitina, valor normal 0'00 – 0'05 µmol/L sangre)
- C18:2 (octadecadienoilcarnitina, valor normal 0'03 – 0'52 µmol/L sangre)

Las principales enfermedades metabólicas que se criban en Aragón y que aparecen en el archivo *pdf* que se envía a las familias son las siguientes:

- Hiperfenilalaninemia / Fenilcetonuria (HFA/PKU)
- Tirosinemia tipo I (TYR I)
- Tirosinemia tipo II (TYR II)
- Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (MSUD)
- Homocistinuria (HCY)

- Citrulinemia tipo I (CIT)
- Argininemia (ARG)
- Deficiencia primaria de carnitina (CUD)
- Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena corta (SCAD)
- Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCAD)
- Deficiencia de 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga (LCHAD)
- Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCAD)
- Deficiencia de carnitina palmitoil transferasa I (CPT-I)
- Deficiencia de carnitina palmitoil transferasa II (CPT-II)
- Deficiencia de carnitina/acilcarnitina traslocasa (CACT)
- Acidemia glutárica tipo I (GA I)
- Acidemia isovalérica (IVA)
- Acidemia propiónica (PA)
- Acidemia metilmalónica (MMA)
- Aciduria 3-hidroxi 3-metil glutárica (HMG)
- Deficiencia de β -cetotilasa (BKT)
- 3-metilcrotonilglicinuria (3MCC)
- 2-metilbutirilglicinuria (2MBG)

Si el análisis de aminoácidos y acilcarnitinas es normal, se envía un informe al domicilio, en forma de la carta que se ha explicado previamente.

Si, por el contrario, se detecta una alteración en alguno de los metabolitos, se repite el análisis de la muestra, y, en el caso de que nuevamente se encuentre alterada, desde el laboratorio se ponen en contacto con la familia del recién nacido para tomar una segunda muestra de sangre en cartón y repetir así el estudio.

Una vez repetida la muestra, si se confirma la alteración metabólica, inmediatamente contactan con la Dra. Inmaculada García, responsable de la Unidad de Enfermedades Metabólicas del Hospital, quien telefónicamente informa a la familia de la necesidad de ampliar el estudio. Este estudio se realiza

de manera ambulatoria o con el paciente ingresado, dependiendo del metabolito y del grado de alteración.

Del mismo modo, las sucesivas muestras sanguíneas necesarias para continuar el estudio, así como las muestras de orina u otras determinaciones, se toman en diferentes momentos, en función del metabolito alterado, los niveles o la previsible gravedad de la enfermedad sospechada.

Además de a los recién nacidos, para completar el estudio puede ser necesaria la toma de muestras sanguíneas a la madre.

En la Figura 1 se puede apreciar un esquema de lo explicado.

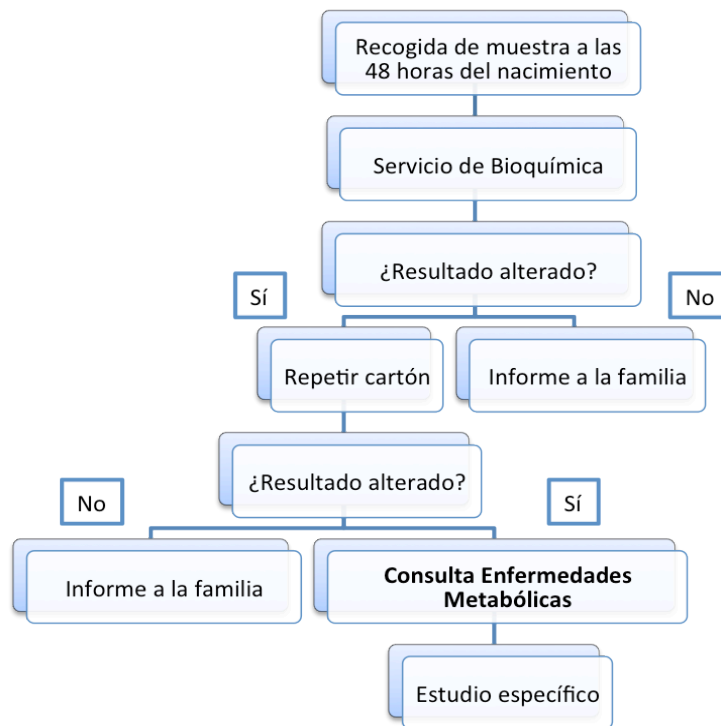


Figura 1. Algoritmo que recoge el procesamiento de las muestras y manejo en función del resultado.

5.3. Método.

Se ha realizado un estudio de casos retrospectivo, descriptivo y analítico.

Para la inclusión de pacientes y obtención de la información se ha revisado la base de datos de la Unidad de Enfermedades Metabólicas del Hospital Universitario Miguel Servet. Se trata de una base informatizada en Microsoft Access 2000, en la que se han recogido todos los pacientes en los que el resultado del cribado neonatal fue alterado desde 1983.

Esta base incluye datos epidemiológicos, consanguinidad, peso al nacimiento y edad gestacional, motivo de consulta, exámenes complementarios, enfermedad diagnosticada, tratamientos administrados, seguimiento, etc. Se modifica cada vez que un paciente acude a consulta por primera vez, así como cuando se recibe información importante de cada uno de los registros ya incluidos.

Se han revisado, además, las historias clínicas en formato electrónico o papel de aquellos pacientes cuyos datos estaban incompletos en la base de datos, y se ha cotejado con la base de datos del laboratorio de Bioquímica (Sección de Metabolopatías).

Asimismo, fueron facilitados por la Dra. Yolanda González, perteneciente a la Sección de Metabolopatías del Servicio de Bioquímica Clínica del Hospital Universitario Miguel Servet, datos correspondientes al total de recién nacidos cribados, así como el número de muestras que fue preciso repetir y la tendencia de repeticiones en los últimos años.

Las **variables** que se han recogido han sido:

- Datos epidemiológicos:
 - Fecha de nacimiento
 - Sexo
 - Lugar de origen. Además, se ha incluido la etnia gitana como grupo aparte, por su conocida relación con determinadas mutaciones.
- Edad gestacional (expresada en semanas) y peso al nacimiento (expresado en gramos). Se representan de dos maneras:
 - Como variables cuantitativas continuas.

- Como variables categóricas, agrupados de dos formas:
 - Prematuridad y no prematuridad (se considera prematuridad cuando el nacimiento es antes de las 37 semanas).
 - Según peso al nacer en relación con la edad gestacional, acorde con los percentiles de Carrascosa et al (186). Se adjuntan las gráficas en el Anexo III:
 - Recién nacidos con peso adecuado a la edad gestacional: peso entre percentiles 10 y 90 para su edad gestacional.
 - Recién nacidos con bajo peso para la edad gestacional: pesos por debajo del percentil 10 para su edad gestacional.
 - Recién nacidos grandes para la edad gestacional: pesos por encima del percentil 90 para su edad gestacional.
- Edad (expresada en días) en la primera consulta, que implica el tiempo transcurrido hasta la primera vez que se visita en consulta.
- Consanguinidad parental e historia familiar de enfermedad metabólica.
- Marcadores alterados en el cribado:
 - Valor inicial.
 - Analíticas de control.
- Realización de otras pruebas cuyo resultado se encontró alterado.
- Enfermedad sospechada y grupo de errores innatos del metabolismo al que pertenece.
- Estudio genético confirmatorio:
 - Positividad o no
 - Gen alterado.
- Presencia o ausencia de clínica compatible con enfermedad metabólica en el momento de realizar el cribado.
- Situación hospitalaria (ingresado o dado de alta a domicilio).
- Tratamiento iniciado:
 - Qué tratamiento.
 - Momento de inicio.
- Seguimiento en la consulta.

5.4. Análisis de datos.

Para el posterior análisis de los datos de una forma confidencial, siendo exclusivamente conocidos y manejados por la investigadora principal, se ha aplicado un método de codificación como procedimiento de disociación de datos, de modo que la información obtenida no pudiera asociarse a persona identificada o identificable. Se usó como código un número, el orden de entrada del registro en la base de datos, siendo un campo autonumérico y no duplicado.

Los datos han sido manejados mediante SPSS Statistics en su versión 21 para Mac.

Inicialmente se realizó una descripción de los diferentes parámetros estudiados con respecto a la muestra global, realizando el análisis estadístico de las variables implicadas. Posteriormente, se pasó a describir y analizar la muestra dividida en los diferentes grupos: pacientes sin alteración analítica, alteraciones transitorias, deficiencias de vitamina B12 de origen materno y errores innatos del metabolismo diagnosticados.

En la estadística descriptiva univariada, las variables cualitativas se han presentado mediante la distribución de frecuencias o porcentajes de cada categoría, y para las variables cuantitativas se han dado indicadores de tendencia central (media o mediana) y de dispersión (desviación estándar o rango). Previamente al análisis, se ha comprobado la normalidad de las variables cuantitativas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov.

En la fase de estadística analítica, la asociación entre variables se ha investigado mediante pruebas de contraste de hipótesis, con comparación de proporciones cuando ambas eran cualitativas (Chi-cuadrado, prueba exacta de Fisher); comparaciones de medias cuando una de ellas era cuantitativa (t de Student, ANOVA, y si no siguen distribución normal el test de la U de Mann-Whitney o el de Kruskal-Wallis). En caso de relación de dos variables cuantitativas continuas

se utilizó la correlación de Pearson o la regresión lineal simple, o bien la Rho de Spearman en caso de test no paramétricos.

El límite mínimo de significación aceptado en todo cálculo estadístico ha sido del 95% ($p < 0.05$).

Aspectos éticos

El estudio se llevó a cabo siguiendo las normas deontológicas reconocidas por la Declaración de Helsinki (59ª Asamblea General, Seúl, Corea, Octubre 2008) (187), las Normas de Buena Práctica Clínica (188) y cumpliendo la legislación vigente y la normativa legal vigente española que regula la investigación clínica en humanos (Real Decreto 223/2004 sobre ensayos clínicos (189) y Ley 14/2007 de Investigación Biomédica (190)).

Los datos fueron protegidos de usos no permitidos por personas ajenas a la investigación, considerando la información generada en este ensayo como estrictamente confidencial, permitiéndose, sin embargo, su inspección por las Autoridades Sanitarias.

Asimismo, se contó con la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (Anexo IV).

Limitaciones del estudio

Al tratarse de un estudio retrospectivo, presenta las limitaciones inherentes a este tipo de estudios. La principal limitación consiste en que no permiten establecer relaciones causales entre las variables. No obstante, posibilitan generar hipótesis como base para la realización de nuevos estudios. Son útiles para ponernos al día sobre los cambios producidos en el patrón de una enfermedad o fenómeno de salud ya conocido, e intentan servir para la base de elaboración de programas de salud.

Centrándonos en este estudio en particular, hay que reseñar que, dado que la introducción de pacientes en el estudio se ha llevado a cabo mediante la revisión de la base de datos de la consulta de Enfermedades Metabólicas, cabe la posibilidad de que haya registros que no se han introducido. Sí hay que decir que todos los niños con enfermedad diagnosticada han sido introducidos, puesto que se realiza un estrecho seguimiento de los mismos. Por tanto, los únicos pacientes que podrían no constar son aquellos cuyo estudio fue finalmente normal.

Otra limitación a tener en cuenta es que se recogen de forma general todos los diagnósticos y pruebas complementarias de cada paciente, desde su primera consulta y a lo largo de toda su evolución; pero no se recoge la fecha de cada uno de ellos, sino que es una visión global del paciente.

Unido a esto, es preciso señalar que el periodo de recogida de datos ha sido relativamente corto, de 5 años. Esto se debe a que transcurrido este periodo de tiempo, parece razonable valorar cómo se ha desarrollado el trabajo y evaluar el Programa de Cribado. Sin embargo, cuanto mayor es el periodo de tiempo, más fiables son los resultados obtenidos de su análisis.

A esto se une que hubo pacientes que fueron controlados en la consulta durante prácticamente los 5 años de evolución del estudio –aquellos diagnosticados en los primeros meses de implantación del cribado-, mientras que hubo otros que, al diagnosticarse durante los últimos meses, han contado con menor tiempo de seguimiento. Dicho esto, cabe señalar que toda medición de la actividad que se

está realizando es en sí una medida de calidad, por lo que es importante la evaluación periódica.

Resultados

8.1. Población a estudio.

El total de niños cribados desde septiembre 2009 hasta septiembre 2014 fue 69.493, siendo necesario solicitar una segunda muestra en 2.221 de ellos, por alteración de la primera (3'19%).

Durante los primeros meses de implantación del cribado neonatal ampliado, se redujo el número de segundas muestras necesarias de manera importante, estabilizándose posteriormente.

En la Figura 2 se puede ver la evolución de las repeticiones de muestras en este periodo.

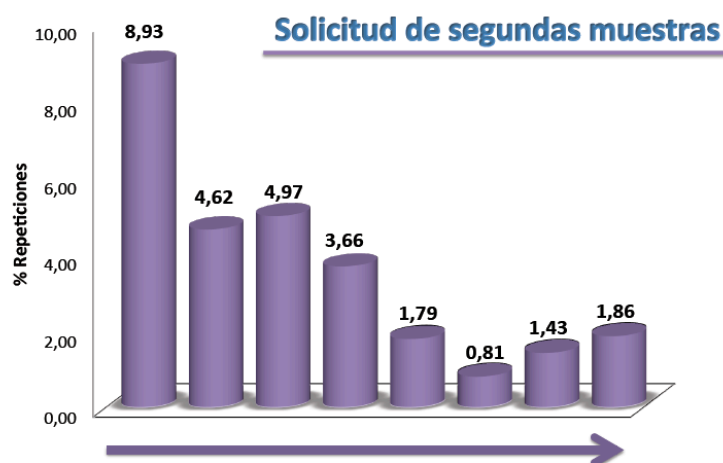


Figura 2. Evolución del porcentaje de segundas muestras requeridas durante los primeros 28 meses del cribado metabólico ampliado (n= 28.676).

Tras este periodo, el porcentaje de segundas muestras requeridas se estabilizó alrededor del 2'9%.

El total de pacientes con motivo de consulta *Cribado Alterado* registrados en la base de datos desde septiembre de 2009 a septiembre de 2014 fueron 134.

De estos 134, fue necesario excluir 6, por los siguientes motivos:

- Dos pacientes fueron incluidos en la base de datos, aunque al revisar el cribado se comprobó que era normal.
- Dos habían sido remitidos desde otro Hospital. De estos, uno no había sido cribado en nuestro laboratorio, por lo que no se ha incluido en el estudio, y otro sí había sido cribado, siendo el resultado normal.
- Un paciente nunca acudió a la consulta, aunque se logró nueva extracción, que fue normal.
- De uno de los pacientes no consta historia clínica en el Hospital.

Por lo tanto, el total de pacientes incluidos en el estudio es 128.

Los datos anteriores se recogen en el diagrama de la Figura 3.

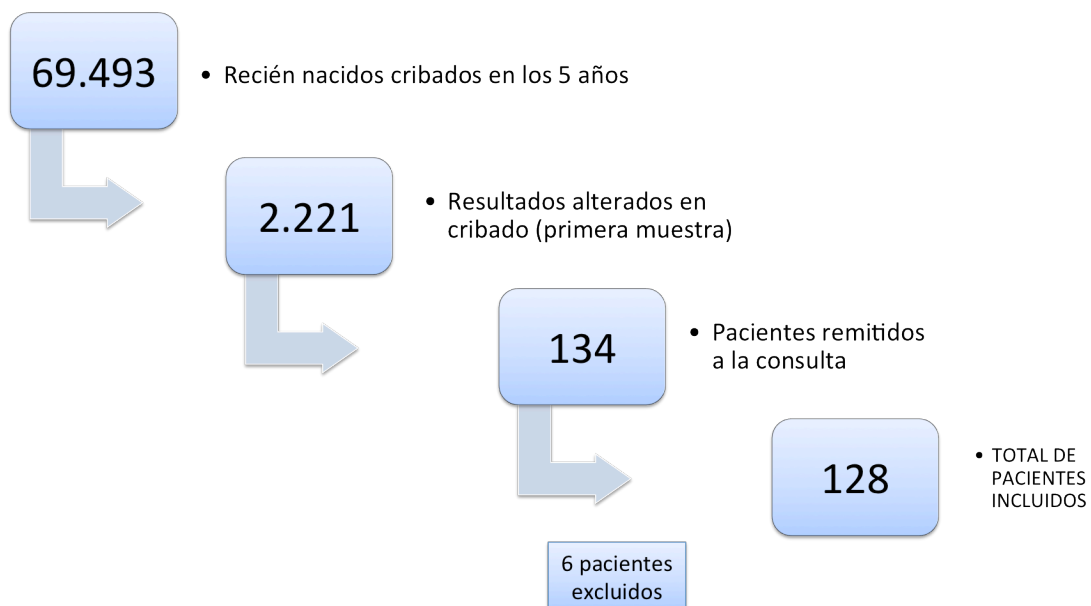


Figura 3. Diagrama de inclusión de pacientes en el estudio.

8.2. Descripción de la muestra.

8.2.1. Características epidemiológicas.

Sexo: 71 de los niños incluidos en el estudio fueron varones (55'5%), 57 fueron mujeres (44'5%).

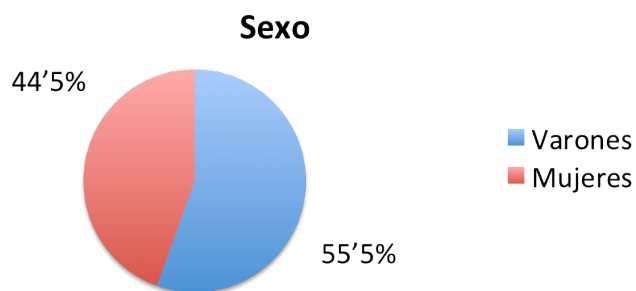


Figura 4. Distribución por sexos en el total de la muestra (n=128)

En la Tabla 3 se recogen los lugares de origen (o etnias) de los niños cribados.

Tabla 3. Lugar de origen (o etnia) de los niños incluidos en el estudio (n=128).

	Frecuencia	Porcentaje %
España	88	68'8
Sudamérica	12	9'4
Norte de África	8	6'3
Europa del Este	6	4'7
África subsahariana	6	4'7
Resto de Europa	2	1'6
Asia	2	1'6
Etnia gitana	4	3'1

8.2.2. Consanguinidad.

Existía antecedente de **consanguinidad** parental en 6'3% de los pacientes.

8.2.3. Edad gestacional y peso al nacimiento.

La **edad gestacional** (EG) media de los recién nacidos fue de 38 semanas, con una desviación típica de 2'9. La edad mínima fueron 26 semanas y la máxima 42. 24 de los niños fueron prematuros (un 18'8 % del total).

En cuanto al **peso al nacer**, el peso medio fue 3.122 gramos, el mínimo fueron 600 gramos y el máximo 4.410, con una desviación típica de 722.

Las frecuencias con respecto al peso y EG se resumen en la Tabla 4.

Tabla 4. Clasificación según peso y edad gestacional de los recién nacidos en el global de la muestra (n=128)

Relación peso-edad gestacional	Frecuencia	Porcentaje %
RN término con peso adecuado a la edad gestacional	98	76'6
RN término pequeños para la edad gestacional	7	5'5
RN término grandes para la edad gestacional	8	6'3
RN pretérmino peso adecuado a la edad gestacional	14	10'9
RN pretérmino pequeños para la edad gestacional	1	0'8

RN: recién nacido

8.2.4. Situación hospitalaria y clínica al diagnóstico.

13 de los 128 pacientes (10'2%) estaban **ingresados** en la planta de Neonatología o Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) Neonatal en el momento en el que se recogió la primera muestra para el screening, todos ellos por prematuridad.

2 pacientes presentaron **clínica** en periodo perinatal compatible con patología metabólica:

- Uno, cursó con bradicardia, hipotonía y elevación de enzimas musculares. Finalmente, el estudio resultó normal.

- Otro, presentó hipoglucemias persistentes y discreta hiperamonemia. Se sospechó un defecto de OTC (ornitín-transcarbamilasa), siendo finalmente el estudio negativo, por lo que el diagnóstico como una hiperornitinemia-hiperamoniemia transitoria.

8.2.5. Tiempo hasta la primera visita.

Un parámetro muy importante cuando se lleva a cabo el cribado neonatal es el **tiempo hasta que se realiza la primera visita en la Consulta de Enfermedades Metabólicas.**

Esta variable no sigue una distribución normal. La mediana fue 28 días, con un rango de 345. El tiempo mínimo fueron 5 días y el máximo 350 días. Este niño con una demora de 350 días fue un recién nacido de origen marroquí, que viajó con sus padres a Marruecos desde la semana de nacimiento, hasta casi el año de edad. El contacto con la familia fue imposible hasta su regreso.

Otros 3 niños tardaron más de 3 meses en ser vistos en la consulta de Enfermedades Metabólicas:

- Uno de ellos, durante los primeros meses de instauración del cribado, cuando los pacientes debían citarse para la consulta, siempre de manera preferente, pero que en ocasiones pudo originar la demora de la visita.
- Los otros dos recién nacidos se vieron en la consulta pasados los 3 meses, ya que eran prematuros ingresados en UCI Neonatal. Sin embargo, estos niños fueron controlados durante su ingreso.

Si excluimos el paciente que tuvo una demora de 350 días en ser atendido, se puede estudiar la correlación existente entre las fechas de nacimiento de los recién nacidos y el tiempo que tardaron en ser atendidos. Al no seguir esta variable una distribución normal, se ha utilizado la Rho de Spearman, con un coeficiente de correlación de -0'37, lo que implica una correlación lineal inversa moderada, no siendo ésta significativa.

8.2.6. Metabolitos alterados.

En la Tabla 5 (página siguiente) se muestran los valores de acilcarnitinas y aminoácidos que aparecieron alterados en el cribado.

Todos estos valores se encontraron alterados como primer hallazgo en el cribado, bien de manera única o combinados.

A partir de estos valores, se solicitaron nuevas determinaciones, para comprobar la alteración, así como otras pruebas de segundo nivel.

8.2.7. Pruebas de segundo nivel.

En la Tabla 6 se recogen las **pruebas de segundo nivel** que aparecieron alteradas.

Tabla 6. Pruebas de segundo nivel alteradas en el global de la muestra (n=128).

Alteración	Total	Porcentaje %
Ácidos orgánicos en orina	24	18,8
Vitamina B12 en sangre	6	4,6
Homocisteína en sangre	3	2,3
Aminoácidos en orina	1	0,8
Acilcarnitinas maternas	1	0,8

De estos pacientes, algunos hallazgos se produjeron de forma aislada, mientras que en otros se alteraron simultáneamente varias pruebas:

- En tres de los pacientes aparecieron alterados de manera conjunta vitamina B12 y ácidos orgánicos.
- En uno se halló alteración de las acilcarnitinas sanguíneas de la madre, junto con excreción de ácidos orgánicos inusuales.
- En un tercero, a los ácidos orgánicos se añadió la alteración en los aminoácidos en orina.

Más adelante se desglosarán los niveles y diferentes hallazgos por subgrupos.

Tabla 5. Metabolitos alterados en el cribado neonatal en el global de la muestra (n=128).

Metabolito alterado	Frecuencia	Porcentaje %
C4DC-C5OH	30	23'4
Tirosina	20	15'6
Metionina	16	12'5
Fenilalanina	12	9'4
C4 (butirilcarnitina)	9	7'0
Ornitina	9	7'0
Prolina	7	5'5
Cociente Fenilalanina/Tirosina	7	5'5
Citrulina	6	4'7
Leucina + Isoleucina	6	4'7
C6 (hexanoilcarnitina)	5	3'9
Arginina	5	3'9
C8 (octanoilcarnitina)	4	3'1
Ornitina	4	3'1
C10 (decanoilcarnitina)	4	3'1
Glicina	3	2'3
C0 (carnitina libre)	3	2'3
Disminución C16	3	2'3
Disminución C18	3	2'3
C3DC (malonilcarnitina)	2	1'6
C5DC (glutarilcarnitina)	2	1'6
Valina	2	1'6
C5 (isovalerilcarnitina)	2	1'6
C3 (propionilcarnitina)	2	1'6
C18:1 (octadecenoilcarnitina)	2	1'6
C18:2 (octadecdienoilcarnitina)	2	1'6
Múltiples AC	1	0'8
Disminución múltiples AC	1	0'8
C16 (hexadecanoilcarnitina)	1	0'8
Alanina	1	0'8

Glutamina	1	0'8
C4/C2, C4/C3, C4/C8	1	0'8
C2 (acetilcarnitina)	1	0'8
AC de cadena larga	1	0'8
C18 (octadecanoilcarnitina)	1	0'8
C10:1 (decenoilcarnitina)	1	0'8

AC: acilcarnitinas, C2: acetilcarnitina, C3: propionilcarnitina, C4: butirilcarnitina, C4DC: metilmalonilcarnitina, C5OH: 3-hidroxiisovalerilcarnitina, C8: octanoilcarnitina, C16: hexadecanoilcarnitina, C18: octadecanoilcarnitina

8.3. Resultados del cribado ampliado.

En total, en 56 de los 128 pacientes cribados, se halló alguna alteración metabólica (43'8%), mientras que se pudo descartar en 72 (56'3%).

La Tabla 7 recoge, por grupos, las diferentes anomalías metabólicas que se detectaron inicialmente con el screening. En ella se incluyen tanto los errores innatos del metabolismo (EIM), como alteraciones metabólicas transitorias, como veremos a continuación.

Tabla 7. Alteraciones metabólicas detectadas en el cribado neonatal (n=128).

Alteración metabólica	Frecuencia	Porcentaje %
Defectos de Beta oxidación ácidos grasos	11	8'6
Aminoacidopatías	34	26'6
Defectos del ciclo de la urea	1	0'8
Acidurias orgánicas	5	3'9
Otras alteraciones	5	3'9
Alteraciones secundarias a nutrición parenteral	2	1'6
No alteración metabólica	70	54'7

En la Figura 5 se puede apreciar de manera gráfica la clasificación diagnóstica de los pacientes.

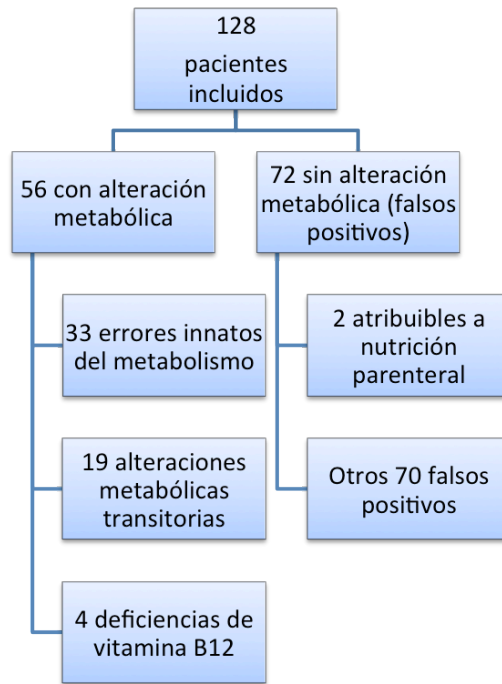


Figura 5. Clasificación diagnóstica de los 128 pacientes incluidos en el estudio.

En los siguientes apartados se analizarán los diferentes grupos de pacientes:

- Pacientes sin alteración metabólica
- Alteraciones metabólicas transitorias
- Deficiencias de vitamina B12 de origen materno
- Errores innatos del metabolismo

8.4. Pacientes sin alteración metabólica.

En primer lugar, analizaremos los pacientes en los que el cribado inicialmente estuvo alterado, pero finalmente se descartó cualquier tipo de alteración metabólica, siendo estos los considerados *falsos positivos*. Fueron 72 pacientes.

Si observamos la distribución por **sexos** de estos 72 recién nacidos, 40 fueron varones (55'6%) y 32 mujeres (44'4%), porcentaje similar al hallado en el total de la muestra.

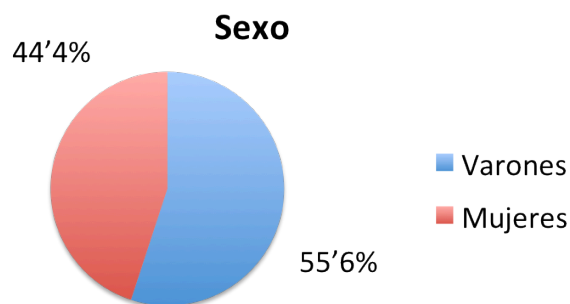


Figura 6. Gráfico de distribución por sexos en el grupo de pacientes sin alteración metabólica (n=72).

Con respecto al **lugar de procedencia**, la distribución fue la que se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8. Lugar de origen de los niños en los que no se halló alteración metabólica (n=72).

	Frecuencia	Porcentaje %
España	53	73'6
Norte de África	5	6'9
Sudamérica	5	6'9
Europa del Este	4	5'6
África subsahariana	3	4'2
Asia	1	1'4

En cuanto a los antecedentes de **consanguinidad**, no existía en el 95'8% de los niños no afectados, mientras que sí había relación familiar entre los padres en 3 de ellos (4'2%).

En este grupo de niños sin alteración metabólica, la distribución de pesos al nacer no sigue una distribución normal. La mediana del **peso** al nacer fueron 3.260 gramos, con un rango de 3.810, un valor mínimo de 600 g y un máximo de 4.410 g.

La **edad gestacional** tampoco sigue una distribución normal en este grupo. La mediana fue 39 semanas (rango 16 semanas), la mínima 26 y la máxima 42.

Al analizar la frecuencia de **prematuridad**, nos encontramos con un 18'1% entre los niños no afectos. No se halló asociación estadísticamente significativa entre la prematuridad y el haber obtenido un resultado positivo inicial sin presentar alteración metabólica.

En los 72 recién nacidos sin alteraciones metabólicas, el **tiempo hasta la primera visita** en la consulta tampoco sigue una distribución normal. La mediana fueron 29'5 días, siendo el rango de 156 días. El mínimo fueron 8 días y el máximo 164.

7 de los niños se encontraban **ingresados** en el momento de realizar el screening (9'7%), porcentaje similar al hallado en el global de la muestra.

Los **analitos** alterados en estos pacientes fueron los que se recogen en la Tabla 9 (página siguiente).

Con respecto a la **toma de nuevas muestras sanguíneas**, en la mayoría de los pacientes (51'4%) fue necesario recoger 2 muestras de sangre más, para descartar patología. En 28 (38'9%) bastó con una muestra para detectar que el cribado inicial había sido falso positivo. En 7 de los recién nacidos (9'7%) fue preciso recoger hasta 3 muestras adicionales. Se muestra gráficamente en la Figura 7.

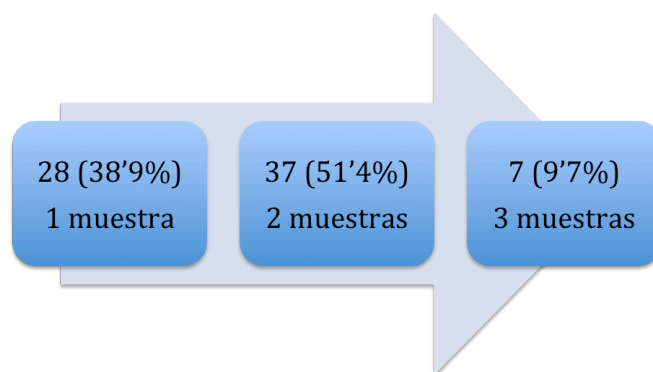


Figura 7. Número de muestras requeridas para descartar alteración metabólica en el grupo de los falsos positivos (n=72).

Tabla 9. Metabolitos alterados en el cribado neonatal en los pacientes sin afectación metabólica (n=72).

Metabolito alterado	Frecuencia	Porcentaje %
C4DC-C5OH	26	36'1
Metionina	10	15'3
Citrulina	6	8'3
Ornitina	6	8'3
Leucina + isoleucina	6	8'3
Fenilalanina	4	5'6
Arginina	4	5'6
Tirosina	3	4'2
Prolina	3	4'2
C0 (carnitina libre)	3	4'2
C3DC (malonilcarnitina)	2	2'8
C5DC (glutarilcarnitina)	2	2'8
Glicina	2	2'8
C5 (isovalerilcarnitina)	2	2'8
C18:1 (octadecenoilcarnitina)	2	2'8
Disminución C16	2	2'8
C3 (propionilcarnitina)	2	2'8
Disminución C18	2	2'8
C18:2 (octadecdienoilcarnitina)	2	2'8
C4 (butirilcarnitina)	1	1'4
Elevación AC en general	1	1'4
Disminución AC en general	1	1'4
C16 (hexadecanoilcarnitina)	1	1'4
Alanina	1	1'4
Fenilalanina/tirosina	1	1'4
C6 (hexanoilcarnitina)	1	1'4
C2 (acetilcarnitina)	1	1'4
Valina	1	1'4

AC: acilcarnitinas, C4DC: metilmalonilcarnitina, C5OH: 3 hidroxiisovalerilcarnitina, C8: octanoilcarnitina, C16: hexadecanoilcarnitina, C18: octadecanoilcarnitina

No se hallaron diferencias significativas en cuanto al metabolito alterado y la necesidad de mayor o menor número de muestras. Sin embargo, el aminoácido que en mayor número de pacientes hubo que recoger 3 muestras fue la citrulina.

En 8 de estos niños, **otras pruebas** resultaron alteradas. Todas ellas fueron los ácidos orgánicos en orina. Se recogen los ácidos que se excretaron en los diferentes pacientes en la Tabla 10.

Tabla 10. Ácidos orgánicos excretados en orina en los pacientes sin afectación metabólica (n=72).

Ácidos orgánicos excretados	Frecuencia	Porcentaje %
Metilmalónico	2	2'8
3 OH isovalérico	1	1'4
Ácido acético glacial	1	1'4
Láctico, succínico, fumárico, subérico, alfacetoglutárico, alfacetoadípico	1	1'4
2-oxoglutárico	1	1'4
Ácidos dicarboxílicos, metilmalónico, 4 OH fenilpirúvico	1	1'4

En todos ellos, se recogió una muestra de control que resultó normal.

8.5. Alteraciones metabólicas transitorias.

Además de estos falsos positivos, hubo 19 pacientes en los que, aunque no se llegó al diagnóstico de un error innato del metabolismo, sí se encontraron alteraciones transitorias que, sin poder ser catalogados como EIM, precisaron seguimiento y/o tratamiento:

- 16 tirosinemias transitorias
- 1 hiperfenilalaninemia transitoria
- 1 hiperprolinemia transitoria
- 1 hiperamoniemia-hiperornitinemia transitoria

La distribución por **sexos** fue similar al total de la muestra (57'9% varones, 42'1% mujeres).

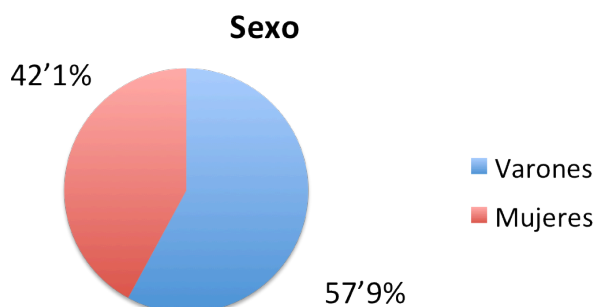


Figura 8. Distribución por sexos en los pacientes con alteración metabólica transitoria (n=19).

Si observamos la frecuencia de los diferentes **lugares de origen**, la mayoría (73'7%) eran de origen español. Hubo 2 pacientes de ascendencia sudamericana, uno procedente del Norte de África, uno de Europa del Este y otro cuya familia provenía de África Subsahariana.

Sólo un paciente tenía antecedente de **consanguinidad** en la familia (5%).

En estos 19 recién nacidos la **edad gestacional** no sigue una distribución normal. La mediana fue 38 semanas (rango 10), la mínima 29 y la máxima 39.

Si analizamos la existencia de **prematuridad**, el 31'6% de estos pacientes fueron prematuros, porcentaje superior a la frecuencia en el global (18'8%). Sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa.

En cuanto al **peso al nacer**, la media fueron 2.933 gramos, con una desviación típica de 596'2 siendo el mínimo 1.100 y el máximo 3.860 gramos.

11'1% fueron pequeños para la edad gestacional (frente al 5'5% del global, aunque tampoco esta diferencia fue significativa), 11'1% tuvieron bajo peso,

pero adecuado a la EG, (similar al 10'9% del total de la muestra), el resto fueron normopeso. Ninguno fue grande para la EG.

De todos estos niños, sólo 2 (10'5%) estaban **ingresados** en el momento de realizar el screening.

Un paciente varón, en el que la ornitina aparecía elevada en el cribado, presentó **clínica**, consistente en hipoglucemias persistentes y discreta hiperamoniemia. Se sospechó un defecto de OTC (ornitín-transcarbamilasa), siendo finalmente el estudio negativo, por lo que se catalogó finalmente como una hiperornitinemia-hiperamoniemia transitoria.

Sólo 5 pacientes precisaron **tratamiento** farmacológico de manera transitoria. En todos los casos fueron pacientes con tirosinemia transitoria, a los que se administró Vitamina C oral -500 mg diarios- hasta normalización de niveles. Hubo un paciente al cual únicamente se indicaron recomendaciones y normas de vigilancia al alta hospitalaria (el paciente con hiperornitinemia-hiperamoniemia transitoria). En el resto, no fue necesario tratamiento alguno.

Los pacientes siguieron **control** en la consulta de Enfermedades Metabólicas hasta la normalización de los resultados, continuando todavía el seguimiento el paciente con hiperornitinemia-hiperamoniemia transitoria.

8.6. Deficiencias de vitamina B12 de origen materno.

En un grupo aparte se han considerado los cuatro recién nacidos en los que, a partir de la alteración del cribado, se diagnosticó de **déficit de vitamina B12 de origen materno**, con una incidencia de 1:17.373.

Los cuatro fueron varones. Dos eran de origen español, uno provenía del Norte de África y uno era español, de etnia gitana. En ningún caso existía antecedente de consanguinidad.

Todos fueron recién nacidos a término, con un peso medio de 3.563 gramos (desviación típica 736), peso mínimo de 2.600 y máximo de 4.270 gramos.

En estos pacientes, el metabolito alterado fue con mayor frecuencia la C4DC (metilmalonilcarnitina), en 2 de ellos. En un paciente se detectó por una cifra elevada de C4 (butirilcarnitina) y, en otro, fue la metionina el metabolito alterado en el cribado.

Ninguno de ellos tuvo clínica, ni se encontraba ingresado en el momento del screening.

En todos se inició tratamiento con Vitamina B12 (Hidroxicobalamina) intramuscular 1 mg, en 3 dosis la primera semana (a días alternos) y una dosis semanal las 3 semanas siguientes. Los controles clínicos y analíticos tras finalizar tratamiento fueron normales.

Además de estos cuatro recién nacidos, cuyo diagnóstico principal fue déficit de vitamina B12, de origen materno, hubo otros dos recién nacidos, que habían sido diagnosticados mediante el cribado de error innato del metabolismo (defecto Beta-oxidación ácidos grasos de cadena corta y 3-metilcrotonilglicinuria), en los que se halló esta alteración de manera concomitante. El tratamiento se administró de manera similar.

8.7. Errores innatos del metabolismo.

En estos cinco años se detectaron en total 33 EIM. La incidencia de enfermedad metabólica en nuestra Comunidad es, por tanto, 1 por cada 2.105 recién nacidos.

En este grupo, la distribución por **sexos** siguió de nuevo el patrón del global de la muestra, con un porcentaje de varones de 55'4% y de mujeres de 44'6%.

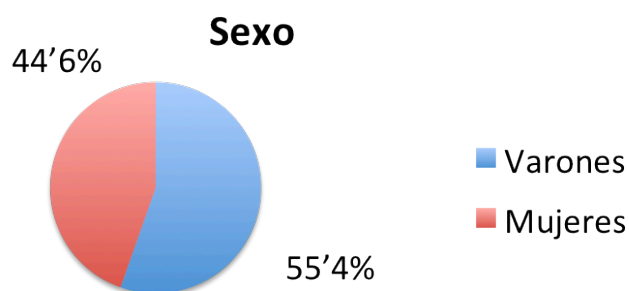


Figura 9. Distribución por sexos en los pacientes diagnosticados de errores innatos del metabolismo (n=33).

Se analizó la frecuencia de error innato del metabolismo en función de los diferentes **lugares de procedencia (o etnia)**, como aparece en la Tabla 11.

Tabla 11. Desglose por lugar de origen (o etnia) y enfermedad metabólica o no (n=128).

	España	Norte África	Europa Este	África Subsahariana	Asia	Sudamérica	Resto Europa	Etnia gitana	Total
No EIM	69	7	5	4	1	7	1	1	95
EIM	17	2	1	3	1	5	1	3	33
Total	86	9	6	7	2	12	2	4	128

EIM: errores innatos del metabolismo

Aunque a nivel global no se encontró asociación significativa entre el lugar de procedencia y la probabilidad de padecer un error innato del metabolismo, sí se observó que la etnia gitana asociaba mayor probabilidad de padecer enfermedad. Por este motivo, se analizó este grupo individualmente, hallándose una asociación estadísticamente significativa entre la etnia gitana y la probabilidad de enfermedad.

Para comprobar si existía asociación entre los lugares de origen y la probabilidad de presentar alteración metabólica (tanto errores innatos del metabolismo, como alteración transitoria o deficiencia de vitamina B12), se analizó también este grupo de manera conjunta, como se aprecia en la Tabla 12. De manera general, no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes lugares.

Sin embargo, en este caso se observó mayor probabilidad de presentar alteración entre los niños procedentes de Sudamérica, África Subsahariana y en la etnia gitana.

Tabla 12. Desglose por lugar de origen (o etnia) y alteración metabólica o no (n=128).

	España	Norte África	Europa Este	África Subsahariana	Asia	Sudamérica	Resto Europa	Etnia gitana	Total
No AM	53	5	4	3	1	5	1	0	72
AM	33	4	2	4	1	7	1	4	56
Total	86	9	6	7	2	12	2	4	128

AM: alteración metabólica

Ante este resultado, se analizó de manera individual la relación entre padecer enfermedad y cada una de estas zonas de origen o etnia, existiendo nuevamente una asociación estadísticamente significativa en la etnia gitana.

Volviendo al grupo de EIM, si se analiza la frecuencia de **consanguinidad** entre los niños afectos de enfermedad metabólica frente a los falsos positivos o las alteraciones transitorias, el porcentaje es de 13'8% en este grupo frente a 4'4%, con una Odds ratio de 3'1 (intervalo de confianza 0'73-13'2). La diferencia no fue estadísticamente significativa, sin embargo.

Con respecto a la **edad gestacional**, cuya distribución no sigue la normalidad en este grupo, la mediana fueron 39 semanas, con un rango de 8, siendo el mínimo 33 y el máximo 41 semanas. Un 15'2% de los recién nacidos fueron prematuros. En cuanto al **peso al nacimiento**, la media fue 3.293 gramos (desviación típica 675'8). El valor mínimo fueron 1.650 gramos y el máximo 4.390 gramos.

En la Tabla 13 (página siguiente) se puede observar la distribución de este grupo en función del peso y edad gestacional.

Tabla 13. Clasificación según peso y edad gestacional en recién nacidos afectados de enfermedad metabólica (n=33).

Relación peso-edad gestacional	Frecuencia	Porcentaje %
RN término con peso adecuado a la EG	23	69'7
RN término pequeños para la edad gestacional	2	6'1
RN término grandes para la edad gestacional	3	9'1
RN pretérmino con peso adecuado a la EG	4	12'1
RN pretérmino pequeños para la edad gestacional	1	3'0

RN: recién nacido, EG: edad gestacional

En cuanto al **tiempo que se tardó en atender a los pacientes en la consulta** en este grupo, tampoco sigue una distribución normal. La mediana fueron 26 días, con un rango de 3-45. El máximo corresponde al recién nacido que, como ya se ha explicado, presentó una demora de 350 días. El tiempo mínimo fueron 5 días.

Si se excluye el paciente cuya demora fueron 350 días, se puede apreciar cómo la mayoría de los pacientes fueron atendidos en menos de un mes, en el histograma de frecuencias que se muestra en la Figura 10 (página siguiente).

Además, al comparar las medianas del tiempo transcurrido en los recién nacidos afectados (excluyendo al paciente cuya demora fueron 350 días) frente a los no afectados, la diferencia es significativa estadísticamente (20 días en este grupo, frente a 30 días en los recién nacidos sin EIM).

Como ya se ha comentado, ningún paciente de este grupo presentó **sintomatología** en el momento del cribado, pero 3 de los recién nacidos se encontraban **ingresados** en el momento de realizar el cribado neonatal, todos ellos por prematuridad.

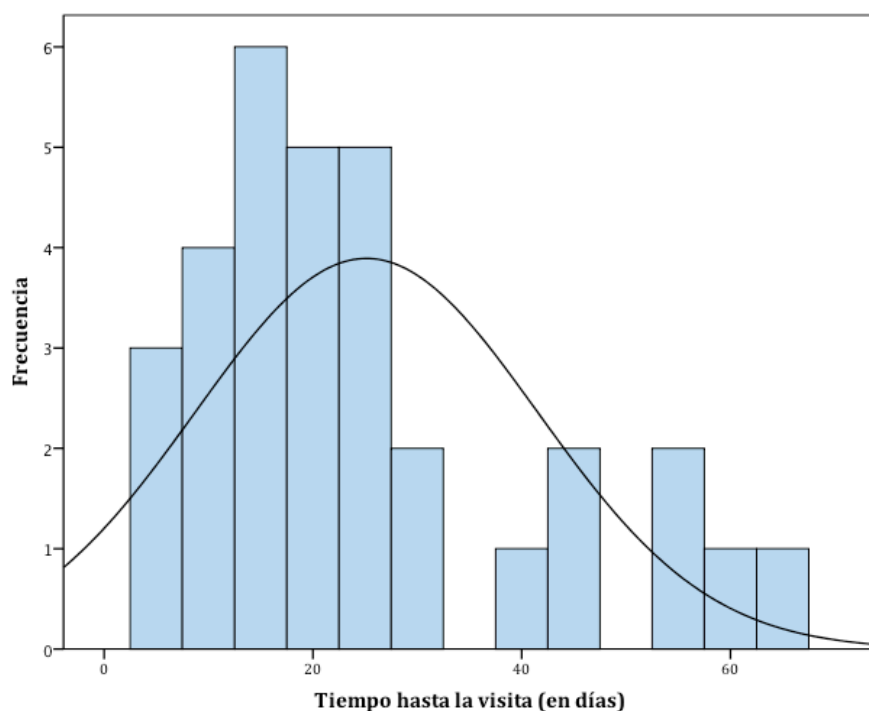


Figura 10. Histograma de frecuencias del tiempo hasta la primera visita en los pacientes afectos de enfermedad metabólica, excluyendo al paciente cuya demora fueron 350 días (n=32).

En las Tablas 14 y 15 se recogen las distintas **enfermedades** que se diagnosticaron en estos cinco años mediante el cribado neonatal ampliado.

Tabla 14. Clasificación por grupos de las enfermedades metabólicas diagnosticadas en el cribado neonatal (n=33).

Grupo de enfermedades metabólicas	Frecuencia	Porcentaje %
Aminoacidopatías	15	45'4
Defectos Beta oxidación AG	10	30'3
Acidurias orgánicas	7	21'2
Otras alteraciones	1	3'0

AG: ácidos grasos

Tabla 15. Clasificación desglosada de las enfermedades metabólicas diagnosticadas en el cribado neonatal (n=33).

Enfermedades metabólicas hereditarias	Frecuencia	Porcentaje %
SCAD (defecto Beta-oxidación ácidos grasos de cadena corta)	5	15'2
PKU (fenilcetonuria)	5	15'2
3-metilcrotonilglicinuria	5	15'2
MCAD (defecto Beta-oxidación ácidos grasos de cadena media)	4	12'1
MAT (Metionina Adenosil Transferasa)	3	9'1
Hiperprolinemia tipo I	3	9'1
Hiperfenilalaninemia	2	6'1
Déficit de isobutiril CoA deshidrogenasa	2	6'1
Defecto múltiple de carboxilasas	1	3'0
Tirosinemia tipo I	1	3'0
CPT 1 (defecto de carnitina palmitoil transferasa 1)	1	3'0
Homocistinuria	1	3'0

CoA: coenzima A

Como se puede observar, el grupo más numeroso es el de las aminoacidopatías, siendo la fenilcetonuria la más frecuente.

Seguido en frecuencia, está el grupo de los defectos de la beta-oxidación de los ácidos grasos, encabezado por el defecto de beta-oxidación de los ácidos grasos de cadena corta (SCAD) y muy de cerca por el defecto de la beta-oxidación de los ácidos grasos de cadena media (MCAD).

Con respecto a las acidurias orgánicas, no se halló ninguna aciduria grave en estos 5 años. La más frecuente fue la 3-metilcrotonilglicinuria.

A continuación, se irá analizando según las diferentes enfermedades.

8.7.1. Aminoacidopatías.

Las aminoacidopatías fueron los defectos más frecuentemente hallados en el cribado en el periodo de estudio (45'4% del total de EIM), con una incidencia global de este grupo de 1:4.633.

La enfermedad más prevalente fue la fenilcetonuria (PKU), junto con la hiperfenilalaninemia benigna (HFA). Se detectaron 5 y 2 casos respectivamente. Se encontraron también 3 casos de hiperprolinemia tipo I, 3 MAT (metionina adenosiltransferasa), una homocistinuria clásica y un paciente fue diagnosticado de tirosinemia tipo I.

8.7.1.1. Fenilcetonuria e hiperfenilalaninemia benigna.

Se detectaron 5 y 2 casos respectivamente, siendo la incidencia en nuestra población 1:13.899 y 1:34.747.

Sexo. 3 pacientes fueron varones (42'9%) y 4 mujeres (57'1%), invirtiéndose los porcentajes con respecto al global, sin hallarse asociación significativa por sexos.

Lugar de origen. Del total de pacientes, 6 fueron de origen español, mientras que uno fue de ascendencia asiática.

Consanguinidad e historia familiar. Ninguno de los recién nacidos tenía antecedentes de consanguinidad. Sólo uno tenía historia de familiar afecto de PKU. Además, en el estudio familiar se diagnosticaron 2 casos al realizar el estudio genético (la madre de uno de los pacientes y la hermana de otro).

Niveles. En la Tabla 16 podemos observar los niveles de Phe (fenilalanina) (medios, mínimos y máximos) en la muestra inicial y las 3 sucesivas.

Tabla 16. Niveles de fenilalanina en pacientes afectados de fenilcetonuria (n=5).

Muestra sanguínea	Valor medio ($\mu\text{mol/L}$)	Valor mínimo ($\mu\text{mol/L}$)	Valor máximo ($\mu\text{mol/L}$)
Inicial	160'6	92'0	213'7
Segunda*	161'8	136'5	652'4
Tercera	143'2	115'7	172'7
Cuarta	182'7	130'3	340'6

$\mu\text{mol/L}$: micromoles por litro

*Segunda determinación: el valor indicado es la mediana, no la media, por no seguir distribución normal.

Valores de referencia Phe (fenilalanina) 27'80-84 $\mu\text{mol/L}$.

La cifra media inicial de cociente Phe/Tyr (tirosina) fue 2'9, siendo el nivel mínimo en esta primera muestra 1'97, y el máximo 4'03.

Valores de referencia fenilalanina/tirosina 0'22-1'35.

En los 2 pacientes con hiperfenilalaninemia se hallaron las siguientes cifras:

Tabla 17. Niveles de fenilalanina en pacientes afectados de hiperfenilalaninemia (n=2).

Muestra sanguínea	Valor medio ($\mu\text{mol/L}$)	Valor mínimo ($\mu\text{mol/L}$)	Valor máximo ($\mu\text{mol/L}$)
Inicial	172'4	165'8	179'0
Segunda	182'6	128'0	237'2
Tercera	154'5	117'0	192'0
Cuarta	179'7	157'0	202'4

$\mu\text{mol/L}$: micromoles por litro

Valores de referencia Phe (fenilalanina) 27'80-84 $\mu\text{mol/L}$.

Genética. El estudio genético confirmó el diagnóstico en los 5 pacientes afectados de PKU, siendo en todos los casos el gen mutado PAH (12q22-q24.2). No se halló alteración genética en los pacientes con hiperfenilalaninemia.

Tratamiento y control. Los 2 pacientes con HFA no han precisado hasta el momento ningún tratamiento, aunque siguen control en la consulta. El tiempo de seguimiento de los mismos durante el periodo de estudio han sido 6 meses y 1 año y 2 meses, respectivamente.

De los 5 afectados de PKU, los tratamientos son los siguientes:

- Dos pacientes están en tratamiento farmacológico con el cofactor BH4 (o sapropterina), lo que ha permitido que puedan realizar una dieta más o menos liberalizada, tolerando proteínas de alto valor biológico en mayor o menor medida, y según niveles de Phe en los controles sucesivos.
- En los otros tres, no ha sido efectivo el tratamiento farmacológico, por lo que siguen una dieta restringida en proteínas (fenilalanina), con suplementos de fórmula proteica exenta en este aminoácido.

El tiempo de seguimiento de estos 5 pacientes han sido 7 meses, 1 año y 5 meses, 2 años y 7 meses, 3 años y 7 meses y 4 años y 7 meses, respectivamente.

Además de los controles en la consulta de Enfermedades Metabólicas, los pacientes son controlados en la consulta de Psicología del Centro Andrea Prader, donde se realiza seguimiento del coeficiente de desarrollo e intelectual, con valores discretamente por debajo de la media y una ligera tendencia al déficit de atención.

8.7.1.2. Hiperprolinemia tipo I.

Se encontraron 3 casos de hiperprolinemia tipo I (incidencia 1:23.164).

Sexo. Dos de los pacientes fueron mujeres, mientras que uno fue varón.

Procedencia. Dos recién nacidos eran de origen español, y el tercero procedía de Rumanía.

Consanguinidad e historia familiar. En ninguna de las familias había consanguinidad, pero en uno de los casos existía un antecedente de hiperprolinemia.

Niveles. Los niveles de prolina se recogen en la Tabla 18.

Tabla 18. Niveles de prolina en pacientes afectados de Hiperprolinemia tipo I (n=3).

Muestra sanguínea	Valor medio ($\mu\text{mol/L}$)	Valor mínimo ($\mu\text{mol/L}$)	Valor máximo ($\mu\text{mol/L}$)
Inicial	442'4	413'7	461'0
Segunda	506'7	437'5	594'6
Tercera	370'0	297'0	443'0
Cuarta*	367'0	367'0	367'0

$\mu\text{mol/L}$: micromoles por litro

*Sólo uno de los 3 pacientes requirió una cuarta muestra.

Valores de referencia prolina 87'8-339'2 $\mu\text{mol/L}$.

Genética. No fue posible la confirmación genética en ninguno de los 3 casos.

Tratamiento y control. No fue necesario el tratamiento en estos recién nacidos, que pudieron ser dados de alta de la consulta tras comprobarse ausencia de sintomatología y niveles de prolina discretamente por encima del rango superior.

8.7.1.3. Metionina adenosil transferasa.

También fueron tres los pacientes con defectos en la MAT I/III (incidencia total 1 por cada 23.164 recién nacidos).

Sexo. Se halló esta anomalía en dos mujeres y un hombre.

Origen. Dos de los pacientes fueron de origen español, mientras que la tercera familia provenía de otro país europeo (Portugal).

Consanguinidad e historia familiar. En uno de los pacientes existía consanguinidad entre los padres. Con respecto a la historia familiar de enfermedad metabólica, estaba presente en uno de los casos. Además, en el caso del paciente varón, al realizar el estudio familiar se encontraron 3 afectos (madre, tía y primo). La tercera paciente fue un nacimiento posterior en esta misma familia.

Niveles. Los niveles de metionina en el cribado inicial y las sucesivas determinaciones se recogen en la Tabla 19.

Tabla 19. Niveles de metionina en pacientes con defectos de metionina adenosil transferasa (n=3).

Muestra sanguínea	Valor medio ($\mu\text{mol/L}$)	Valor mínimo ($\mu\text{mol/L}$)	Valor máximo ($\mu\text{mol/L}$)
Inicial	133'2	89'5	185'0
Segunda	151'0	106'0	230'0
Tercera	211'9	60'0	483'0
Cuarta*	88'3	84'2	485'0

$\mu\text{mol/L}$: micromoles por litro

*Cuarta determinación: el valor indicado es la mediana, no la media, por no seguir distribución normal.

Valores de referencia metionina 8'4-36 $\mu\text{mol/L}$.

En dos de ellos, los valores de homocisteína se encontraban discretamente elevados en un primer momento (cifras de 23'37 y 18'23 $\mu\text{mol/L}$ respectivamente), no hallándose otras alteraciones analíticas.

Valores de referencia homocisteína 2-8 $\mu\text{mol/L}$.

Genética. El estudio genético confirmó los 3 casos, hallándose mutaciones en el gen MAT1A (10q22).

Tratamiento y control. Dados los elevados niveles de metionina en los sucesivos controles, uno de los pacientes requirió realizar una dieta restringida en proteínas, con suplementos de fórmula exenta en metionina. En los otros dos casos no fue preciso tratamiento. Todos ellos siguen control en la consulta de Enfermedades Metabólicas, manteniendo niveles en límites aceptables, y sin sintomatología clínica. El tiempo de seguimiento de los mismos durante el periodo de estudio han sido 3 años y 3 meses, 3 años y 6 meses, y 4 años y 9 meses, respectivamente.

8.7.1.4. Homocistinuria clásica.

Sólo se halló un paciente con homocistinuria clásica en estos 5 años (1:69.493).

Sexo, origen, consanguinidad e historia familiar. Fue un recién nacido varón de origen español, sin antecedentes de consanguinidad, ni historia familiar de afectación metabólica.

Niveles. La cifra inicial de metionina fue 79 $\mu\text{mol/L}$, con unos valores posteriores de 299'4 y hasta 531 $\mu\text{mol/L}$. La cifra de homocisteína inicial fue 122 $\mu\text{mol/L}$.

Valores de referencia metionina 8'4-36 $\mu\text{mol/L}$.

Valores de referencia homocisteína 2-8 $\mu\text{mol/L}$.

Genética. El estudio genético confirmó la enfermedad, encontrándose una mutación en el gen CBS (21q22.3).

Tratamiento y control. Fue preciso el inicio de tratamiento dietético, realizando dieta restringida en proteínas, con suplementos de fórmula exenta en metionina,

además de farmacológico, con piridoxina (vitamina B6) y ácido fólico vía oral, betaína oral -como cofactor- e hidroxicobalamina. Tras el inicio del tratamiento, descendieron los niveles de metionina y homocisteína. Se continúa seguimiento del paciente en la consulta, con buen control analítico y ausencia de sintomatología, manteniendo un desarrollo psicomotor y ponderoestatural adecuado. El tiempo de seguimiento de este paciente durante el periodo de estudio fue de 4 años y 6 meses.

8.7.1.5. Tirosinemia tipo I.

En los primeros meses de instauración del cribado ampliado se detectó un paciente afecto de tirosinemia tipo I (siendo la incidencia 1:69.493).

Sexo, origen, consanguinidad e historia familiar. Se trata de un paciente varón de origen marroquí, sin antecedentes de consanguinidad, pero con historia de un hermano fallecido en su país de origen a los 6 meses de edad, por fallo hepático.

Niveles. La cifra inicial de tirosina en el cribado fue de 234 $\mu\text{mol/L}$. En los sucesivos controles estos valores ascendieron hasta 492 $\mu\text{mol/L}$, y una vez iniciado el tratamiento fueron descendiendo a 148 $\mu\text{mol/L}$ y hasta 38 $\mu\text{mol/L}$.

Valores de referencia tirosina 56'49 $\mu\text{mol/L}$.

Genética. Se halló alteración genética, encontrándose mutado el gen FAH (15q25.1).

Tratamiento y control. Fue preciso realizar una dieta con restricción proteica y suplementos de fórmula aminoacídica exenta en fenilalanina y tirosina, así como tratamiento farmacológico con nitisinona. Permaneciendo asintomático en periodo neonatal, únicamente presentó coagulopatía y anemia transitoria en analíticas sanguíneas realizadas durante las primeras semanas de vida, con normalización posterior. Cabe señalar que el control metabólico del paciente ha

sido dificultoso por la baja adherencia del mismo al tratamiento, sin presentar, sin embargo, alteraciones metabólicas importantes. Como única característica clínica ha destacado una discreta falta de atención. Continúa controles en la consulta y, dado que fue diagnosticado durante los primeros meses de implantación del cribado, el tiempo de seguimiento de este paciente ha sido prácticamente de 5 años.

8.7.2. Defectos de la Beta oxidación de los ácidos grasos.

Se detectaron gracias al cribado ampliado 10 EIM relacionados con los defectos de la beta oxidación de los ácidos grasos: 5 casos de SCAD (defecto de la beta oxidación de AG de cadena corta), 4 casos de MCAD (defecto de la beta oxidación de AG de cadena media) y un defecto de CPT1 (carnitina palmitoil transferasa 1).

La incidencia global de este grupo fue 1:6.949 en estos 5 años.

8.7.2.1. Defecto de la beta oxidación de ácidos grasos de cadena corta.

La incidencia total de SCAD fue de 1 por cada 13.899 recién nacidos.

Sexo. De los 5 pacientes afectados, 4 fueron varones (80%) y 1 mujer (20%).

Procedencia. Tres recién nacidos eran de origen español, mientras que 2 provenían de África Subsahariana.

Consanguinidad e historia familiar. En ningún caso existía antecedente de consanguinidad, ni historia familiar de afectación.

Niveles. El principal valor alterado en todos los casos fue C4 (butirilcarnitina). En la Tabla 20 se recogen los niveles de los sucesivos controles.

Tabla 20. Niveles de C4 (butirilcarnitina) en pacientes con defectos de la beta oxidación de ácidos grasos de cadena corta (n=5).

Muestra sanguínea	Valor medio ($\mu\text{mol/L}$)	Valor mínimo ($\mu\text{mol/L}$)	Valor máximo ($\mu\text{mol/L}$)
Inicial*	1'10	1'04	1'63
Segunda	1'06	0'52	2'26
Tercera	1'26	0'86	1'91
Cuarta	0'89	0'89	0'89

$\mu\text{mol/L}$: micromoles por litro

*Determinación inicial: el valor indicado es la mediana, no la media, por no seguir distribución normal.

Valores de referencia butirilcarnitina 0'05-0'72 $\mu\text{mol/L}$.

En algunos pacientes se vieron alteradas secundariamente las cifras de C4/C2 (butirilcarnitina/acetilcarnitina), C4/C3 (butirilcarnitina/propionilcarnitina) y/o C4/C8 (butirilcarnitina/octanoilcarnitina).

Se vieron alterados, además, en cuatro pacientes los ácidos orgánicos en orina: en todos se excretó ácido etilmalónico y en dos de ellos se vio también una excreción aumentada de ácido metilsuccínico. En un paciente se detectó, además, niveles bajos de vitamina B12 en suero.

Genética. El estudio genético confirmó el diagnóstico en 3 de los 5 casos, hallándose mutaciones en el gen ACADS (12q24.31). En uno de los pacientes no se encontraron alteraciones en las mutaciones estudiadas, y en otro no fue posible la realización del estudio genético por negativa de los padres.

Tratamiento y control. En 4 de los pacientes fue suficiente un tratamiento basado en evitar periodos de ayuno prolongado, recomendaciones dietéticas y normas de conducta (asegurar ingesta de hidratos de carbono) ante situaciones estresantes o de enfermedad, para evitar hipoglucemia. Además, se suplementó

con riboflavina ante procesos intercurrentes. En el quinto paciente fue preciso, además, el tratamiento farmacológico con vitamina B12 por la presencia de deficiencia de esta vitamina de manera concomitante. En ningún caso presentaron sintomatología durante el tiempo de seguimiento (todos ellos continúan controles en la Consulta de Enfermedades Metabólicas). El tiempo de seguimiento de los mismos durante el periodo de estudio ha sido de 1 mes, 11 meses, 13 meses, 15 meses y 4 años y 5 meses, respectivamente.

8.7.2.2. Defecto de la beta oxidación de ácidos grasos de cadena media.

Fueron 4 los pacientes en los que se llegó al diagnóstico de defecto de la beta oxidación de ácidos grasos de cadena media (incidencia 1:17.373).

Sexo. Tres de los pacientes diagnosticados eran varones, y una fue mujer.

Etnia. Un niño provenía del Norte de África, y los otros 3 eran españoles, de etnia gitana.

Consanguinidad e historia familiar. Existía antecedente de consanguinidad en 3 de los recién nacidos. En dos de los pacientes, además, fue posible el diagnóstico de un familiar (padre y hermana respectivamente) gracias al cribado ampliado de los niños.

Niveles. En todos ellos se encontró elevada la cifra de C8 (octanoilcarnitina) en el cribado neonatal. Los diferentes valores son los que se recogen en la Tabla 21.

Tabla 21. Niveles de C8 (octanoilcarnitina) en pacientes con defectos de la beta oxidación de ácidos grasos de cadena media (n=4).

Muestra sanguínea	Valor medio ($\mu\text{mol/L}$)	Valor mínimo ($\mu\text{mol/L}$)	Valor máximo ($\mu\text{mol/L}$)
Inicial	3'92	1'98	8'13
Segunda	3'07	1'16	3'07
Tercera	2'02	1'04	2'02
Cuarta	3'83	2'38	3'83

$\mu\text{mol/L}$: micromoles por litro

Valores de referencia octanoilcarnitina 0'01-0'28 $\mu\text{mol/L}$.

Además de la C8 (octanoilcarnitina), se encontraron elevadas C6 (hexanoilcarnitina), C10 (decanoilcarnitina) y C10:1 (decenoilcarnitina). En la Tabla 22 se pueden observar los valores de estas acilcarnitinas.

Tabla 22. Niveles de otras acilcarnitinas en pacientes con defectos de la beta oxidación de ácidos grasos de cadena media (n=4).

Acilcarnitina alterada	Valor medio ($\mu\text{mol/L}$)	Valor mínimo ($\mu\text{mol/L}$)	Valor máximo ($\mu\text{mol/L}$)
C6 (hexanoilcarnitina)*	0'88	0'33	0'91
C10 (decanoilcarnitina)	0'33	0'17	0'55
C10:1 (decenoilcarnitina)**	0'37	0'37	0'37

$\mu\text{mol/L}$: micromoles por litro

*C6 o hexanoilcarnitina: el valor indicado es la mediana, no la media, por no seguir distribución normal.

**C10:1 o decenoilcarnitina: alterado únicamente en uno de los pacientes

Valores de referencia C6 (hexanoilcarnitina) 0'00-0'11 $\mu\text{mol/L}$, C10 (decanoilcarnitina) 0'01-0'21 $\mu\text{mol/L}$ y C10:1 (decenoilcarnitina) 0'02-0'23 $\mu\text{mol/L}$

Genética. El estudio genético confirmó todos los casos, encontrándose mutaciones en el gen ACADM (1p31).

Tratamiento y control. En todos los pacientes se establecieron normas de conducta y recomendaciones dietéticas, evitando periodos de ayuno prolongados, restringiendo las grasas de cadena media y asegurando una adecuada ingesta de hidratos de carbono, sobre todo aquellos de absorción lenta. En 3 de ellos fue preciso, además, el tratamiento farmacológico con carnitina oral, en función de los niveles de carnitina libre en los controles analíticos. Todos ellos continúan seguimiento en la consulta, con adecuado desarrollo psicomotor y ponderoestatural, y sin haber precisado ingresos hospitalarios como consecuencia de su enfermedad. El tiempo de seguimiento de estos pacientes ha sido de 2 meses, 3 años y 6 meses, 4 años y 5 meses y 4 años y 9 meses, respectivamente.

8.7.2.3. Carnitina palmitoil transferasa 1.

Se halló un defecto de la enzima carnitina palmitoil transferasa 1 (CPT1), con una incidencia en este periodo de 1 por cada 69.493 recién nacidos.

Sexo y origen. La paciente fue una recién nacida mujer de origen sudamericano.

Consanguinidad e historia familiar. Aunque la paciente no tenía historia de consanguinidad, sí existía historia familiar de fallecimiento en un hermano en periodo neonatal, de origen no aclarado.

Niveles. En esta paciente se encontraban disminuidos los niveles de C16 y C18 – hexadecanoilcarnitina y octadecanoilcarnitina- en el cribado neonatal, y aparecieron también disminuidos los niveles de C18:1 – octadecenoilcarnitina- en sucesivas determinaciones, como se muestra en la Tabla 23.

Tabla 23. Niveles de acilcarnitinas en la paciente con defecto de la enzima carnitina palmitoil transferasa 1 (n=1).

Muestra sanguínea	Niveles C16 ($\mu\text{mol/L}$)	Niveles C18 ($\mu\text{mol/L}$)	Niveles C18:1 ($\mu\text{mol/L}$)
Inicial	0'44	0'39	0'82
Segunda	4'60	1'51	1'79
Tercera	0'76	0'34	0'39
Cuarta	0'44	0'23	0'30

C16: hexadecanoilcarnitina, C18: octadecanoilcarnitina, C18:1: octadecenoilcarnitina, $\mu\text{mol/L}$: micromoles por litro

Valores de referencia C16 (hexadecanoilcarnitina) 1'14 – 6'70 $\mu\text{mol/L}$, C18 (octadecanoilcarnitina) 0'36 – 1'86 $\mu\text{mol/L}$, C18:1 (octadecenoilcarnitina) 0'60 – 2'90 $\mu\text{mol/L}$

Se objetivó además una elevación de la glicina hasta 1.793 $\mu\text{mol/L}$ en el screening (con normalización posterior), así como una excreción aumentada de ácido láctico, 3-hidroxi-isovalérico, p-hidroxi-fenil-láctico y p-hidroxi-fenil-pirúvico en los ácidos orgánicos en orina.

Valores de referencia glicina 189'8-1210'7 $\mu\text{mol/L}$.

Genética. El estudio genético de la paciente fue solicitado. Sin embargo, la paciente dejó de acudir a la consulta, y no fue posible volver a contactar con la familia, por lo que no se realizó estudio genético y se perdió el seguimiento.

Tratamiento. El tratamiento de esta paciente se basó fundamentalmente en recomendaciones dietéticas, asegurando aporte suficiente de hidratos de carbono y disminuido en grasas de cadena larga, así como normas de conducta para evitar periodos de ayuno y actuar ante situaciones de estrés. Se administró asimismo tratamiento farmacológico con carnitina oral. Salvo una discreta hipotonía axial objetivada en las primeras semanas de vida, la paciente

permaneció asintomática hasta el momento en el que se discontinuó el seguimiento, a los 6 meses de edad.

8.7.3. Acidurias orgánicas.

En estos 5 años no se detectó ninguna aciduria orgánica grave. Se hallaron 5 3-metilcrotonilglicinurias y 2 defectos de isobutiril-coA deshidrogenasa (IBD). La incidencia global de las acidurias orgánicas fue 1:9.928.

8.7.3.1. 3-metilcrotonilglicinuria.

Con 5 casos diagnosticados, la incidencia total fue 1 por cada 13.899 niños cribados.

Sexo. Entre los 5 recién nacidos diagnosticados, 3 fueron mujeres y 2 varones.

Origen. Dos de ellos eran de origen español, uno provenía de África Subsahariana y dos de Sudamérica.

Consanguinidad e historia familiar. No existía consanguinidad en ninguno de los pacientes. Sin embargo, en 2 de ellos se detectó al ampliar el estudio la misma alteración en un progenitor (el padre y la madre respectivamente).

Niveles. En los 5 recién nacidos, el valor que apareció alterado en el cribado neonatal fue la C4DC (metilmalonilcarnitina) – C5OH (3-OH-isovalerilcarnitina). En la Tabla 24 se recogen las determinaciones iniciales y los sucesivos controles.

Tabla 24. Niveles de C4DC (metilmalonilcarnitina) – C5OH (3-OH-isovalerilcarnitina) en pacientes con 3-metilcrotonilglicinuria

Muestra sanguínea	Valor medio ($\mu\text{mol/L}$)	Valor mínimo ($\mu\text{mol/L}$)	Valor máximo ($\mu\text{mol/L}$)
Inicial	5'54	1'31	13'18
Segunda	5'43	2'00	11'98
Tercera	3'18	1'56	3'33
Cuarta	5'23	1'45	10'30

$\mu\text{mol/L}$: micromoles por litro

Valores de referencia C4DC + C5OH (metilmalonil + hidroxiiisovalerilcarnitina) 0'23-1'41 $\mu\text{mol/L}$.

Tras detectarse esta alteración en el cribado, se llevó a cabo la determinación de ácidos orgánicos en orina, excretándose en 2 de ellos 3-OH-isovalérico, 3-metilcrotonilglicina y tiglilglicina; en otros 2, 3-OH-isovalérico, y en el último, ácido metilmalónico.

En un paciente se detectaron también cifras en límite bajo de Vitamina B12.

Además, al realizar el estudio a la madre de otro recién nacido se halló alteración en las acilcarnitinas, lo que llevó al diagnóstico de 3-metilcrotonilglicinuria en la madre.

Genética. El estudio genético fue positivo en 4 de los niños: uno presentaba mutaciones en el gen MCCA (3q26-q28) y en los otros 3 casos, fue MCCC2 (5q12-q13) el gen mutado. En el quinto paciente no se hallaron mutaciones en los genes estudiados.

Tratamiento y control. En uno de los recién nacidos, el tratamiento se basó en recomendaciones dietéticas, disminuyendo parcialmente la ingesta proteica, así como normas de conducta ante situaciones estresantes. Además de las recomendaciones dietéticas, en los otros 4 pacientes fue necesario iniciar

tratamiento farmacológico con carnitina oral, como coadyuvante. En el recién nacido que presentó cifras de vitamina B12 en límite bajo, se administró hidroxicoalamina intramuscular 1 mg, en 3 dosis la primera semana (a días alternos) y una dosis semanal las 3 semanas siguientes. Todos ellos siguen control en la consulta de Enfermedades Metabólicas, permaneciendo en todo momento asintomáticos, con adecuado desarrollo psicomotor y ponderoestatural. El tiempo de seguimiento de los mismos durante el periodo de estudio ha sido de 2 meses, 1 año y 8 meses, 4 años y 1 mes, 4 años y 2 meses, 4 años y 6 meses, respectivamente.

8.7.3.2. Defecto de isobutiril coA deshidrogenasa.

En dos pacientes se detectó esta aciduria orgánica gracias al cribado neonatal ampliado (1 por cada 34.747).

Sexo. Ambos fueron dos recién nacidas mujeres.

Procedencia. Una de ellas era de origen español, la otra sudamericana.

Consanguinidad e historia familiar. En ninguno de los dos casos existía antecedente de consanguinidad, ni historia familiar de afectación.

Niveles. El metabolito alterado en el cribado neonatal fue la C4 (butirilcarnitina), con cifras de 2'16 y 1'53 $\mu\text{mol/L}$ respectivamente. El valor medio fue 1'85 $\mu\text{mol/L}$. Se observó un descenso en los sucesivos controles, con cifras medias de 0'98 y 1'7 $\mu\text{mol/L}$

Valores de referencia butirilcarnitina 0'05-0'72 $\mu\text{mol/L}$.

Además de la alteración en esta acilcarnitina, en una paciente se detectó excreción aumentada en los ácidos orgánicos en orina de Isobutirilglicina, ácido metilmalónico y metilcítrico.

Genética. El estudio genético fue positivo en ambos casos para el gen ACAD8 (11q25).

Tratamiento y control. En ambos casos se dieron recomendaciones dietéticas (moderar la ingesta proteica y realizar comidas frecuentes, evitando periodos de ayuno), así como normas de actuación en caso de enfermedad concomitante, estrés, etc. Las dos pacientes siguen controles en la consulta de Enfermedades Metabólicas, permaneciendo asintomáticas y con adecuado desarrollo psicomotor y ponderoestatural, sin haber presentado alteraciones metabólicas, ni nutricionales. El tiempo de seguimiento de estas pacientes ha sido de 2 meses y 4 años y 2 meses, respectivamente.

8.7.4. Otras alteraciones

8.7.4.1. Defecto múltiple de carboxilasas.

En este grupo de "Otras alteraciones" se incluye el defecto múltiple de carboxilasas. Se detectó un caso en estos 5 años, con una incidencia de 1:69.493

Sexo y origen. El diagnóstico se realizó en una recién nacida mujer, de origen sudamericano.

Consanguinidad e historia familiar En la familia no había antecedente de consanguinidad, ni de afectación de esta enfermedad.

Niveles. En el cribado neonatal se detectó un aumento en los niveles de arginina ($73'4 \mu\text{mol/L}$), que se normalizaron en los controles sucesivos. Sin embargo, al ampliar el estudio, se detectó en los ácidos orgánicos en orina excreción de ácido láctico, 3-OH-isovalérico, etilmalónico, fumárico y alfa-cetoglutarato, que persistió elevado en los controles siguientes.

Valores de referencia arginina $1-34'3 \mu\text{mol/L}$.

Genética. No fue posible la confirmación genética de esta alteración por discontinuar seguimiento.

Tratamiento y control. La paciente siguió un tratamiento farmacológico con biotina oral, realizándose controles clínicos y analíticos en la consulta de Enfermedades Metabólicas. No presentó sintomatología durante el tiempo que se controló en nuestro Centro, pero a los 7 meses de vida volvió a su país de origen y discontinuó el seguimiento.

8.8. Diagnóstico de familiares.

Como se ha comentado previamente, al hacer el estudio familiar a los pacientes diagnosticados mediante el cribado ampliado, se han detectado diversas patologías en pacientes de los recién nacidos:

- Se diagnosticaron 2 nuevos casos de fenilcetonuria (una madre de un paciente y una hermana).
- Fueron detectados 3 nuevos casos de hipermetioninemia (MAT) (una madre, una tía y un primo).
- 2 familiares de neonatos afectados de defectos de la beta-oxidación de los ácidos grasos de cadena media (un padre y una hermana).
- 2 progenitores de pacientes con 3-metilcrotonilglicinuria (un padre y una madre).

En total, fueron 9 los nuevos diagnósticos como beneficio colateral del cribado.

A estos 9 casos habría que añadir, además, los 6 diagnósticos de deficiencia de vitamina B12 en las madres de 6 recién nacidos que se detectaron por el cribado (4 de manera única, y 2 concomitantemente con errores innatos del metabolismo).

8.9. Relación entre metabolito alterado y detección o no de enfermedad.

En la Tabla 25 se observan los metabolitos que se alteraron inicialmente en el cribado, y a continuación si finalmente se descartó enfermedad, el paciente fue diagnosticado con enfermedad metabólica, o bien existió alteración transitoria (o déficit de vitamina B12).

Tabla 25. Relación entre los metabolitos alterados y la existencia o no de alteración metabólica en el global de la muestra (n=128).

Metabolito alterado	Existencia o no de alteración			Total
	No alteración (n=72)	Error innato metabolismo (n=33)	Alteración transitoria* (n=23)	
C4DC-C5OH	26	5	2	33
Tirosina	3	1	16	20
Metionina	11	4	1	16
Fenilalanina	4	7	1	12
C4 (butirilcarnitina)	1	8	0	9
Ornitina	6	2	1	9
Prolina	3	3	1	7
Fenilalanina/tirosina	1	5	1	7
Citrulina	6	0	0	6
Leucina + isoleucina	6	0	0	6
Arginina	4	1	0	5
C6 (hexanoilcarnitina)	1	4	0	5
C8 (octanoilcarnitina)	0	4	0	4
C10 (decanoilcarnitina)	0	4	0	4
C0 (carnitina libre)	3	0	0	3
Glicina	2	1	0	3

Disminución C16	2	1	0	3
Disminución C18	2	1	0	3
C3DC (malonilcarnitina)	2	0	0	2
C5DC (glutarilcarnitina)	2	0	0	2
C5 (isovalerilcarnitina)	2	0	0	2
C18:1	2	0	0	2
C3 (propionilcarnitina)	2	0	0	2
C18:2	2	0	0	2
Valina	1	0	1	2
Elev. múltiples AC	1	0	0	1
AC bajas en general	1	0	0	1
C16 (hexadecanoilcarnitina)	1	0	0	1
Alanina	1	0	0	1
C2 (acetilcarnitina)	1	0	0	1
Glutamina	0	0	1	1
C4/C2, C4/C3, C4/C8	0	1	0	1
AC de cadena larga	0	0	1	1
C18 (octadecanoilcarnitina)	1	0	0	1

AC: acilcarnitinas, C2: acetilcarnitina, C3: propionilcarnitina, C4: butirilcarnitina, C4DC: metilmalonilcarnitina, C5OH: 3-hidroxiisovalerilcarnitina, C8: octanoilcarnitina, C16: hexadecanoilcarnitina, C18: octadecanoilcarnitina, C18:1: octadecenoilcarnitina, C18:2: octadecdienoilcarnitina, EIM: error innato del metabolismo.

* En alteración transitoria se ha incluido, además, a las 4 deficiencias de vitamina B12 de origen materno

Como se puede ver, en el caso de C4DC-C5OH (metilmalonilcarnitina-hidroxiisovalerilcarnitina), fue muy elevado el número de falsos positivos (78'8%). Ocurrió de manera similar en las alteraciones del aminoácido metionina (68'7% fueron FP).

El 100% de los casos -6- en los que leucina-isoleucina se vio alterado, el resultado fue un falso positivo.

En otras acilcarnitinas, como C3 (propionilcarnitina), C5 (isovalerilcarnitina), C3DC (malonilcarnitina), C5DC (glutarilcarnitina) o C16 (hexadecanoilcarnitina) y aminoácidos como la alanina y la valina, las ocasiones en las que estuvieron elevados (1 ó 2), tampoco se relacionaron con patología.

Por el contrario, C4/C2, C4/C3, C4/C8 (butirilcarnitina/acetilcarnitina, butirilcarnitina/propionilcarnitina y butirilcarnitina/octanoilcarnitina), así como las elevaciones de C8 (octanoilcarnitina) y C10 (decanoilcarnitina), se correspondieron con EIM en los cuatro casos en los que se vieron alterados.

También C4 (butirilcarnitina) se tradujo en EIM en un 88'9% del total. C6 (hexanoilcarnitina) lo hizo en el 80%. Las elevaciones de fenilalanina aislada, o fenilalanina/tirosina, se correspondieron con enfermedad en 88'9% y 71% respectivamente.

La tirosina fue el metabolito que en mayor proporción se relacionó con alteración transitoria (80%).

8.10. Estándares del programa de cribado neonatal.

Todo Programa de Cribado debe cumplir unos estándares que aseguren la eficacia de dicho programa. Nuestros estándares, que se recogen en la Tabla 26 (página siguiente), se adecuan a los requeridos en los Programas de Cribado.

Tabla 26. Estándares del programa de cribado neonatal ampliado en Aragón en el periodo septiembre 2009-septiembre 2014.

Estándares programa cribado neonatal ampliado en Aragón	Valor
Prevalencia	1:2.105
Valor predictivo positivo (%)	21'6
Falsos positivos (%)	0'10
Especificidad (%)	99'8
Sensibilidad (%)	97'5

8.11. Comparación de las incidencias halladas en nuestro Centro con otros Programas de Cribado.

En la *Introducción* se han ido describiendo las incidencias halladas en los diferentes programas de cribado, tanto a nivel nacional como en centros extranjeros, de las distintas enfermedades.

A continuación, se van a resumir las incidencias observadas en los principales programas de cribado analizados, en comparación con las halladas en nuestro Centro, en tres Tablas (27, 28 y 29). En la Tabla 27 (página siguiente) se comparan las incidencias de Aragón con las publicadas por los 2 programas de cribado nacionales que recogen mayor número de alteraciones (Galicia y Murcia). En la Tabla 28 la comparación es con publicaciones de programas a nivel nacional en otros países. La Tabla 29 compara nuestras incidencias con las halladas en otros programas a nivel autonómico o estatal a nivel internacional.

Tabla 27. Relación de incidencias de los diferentes errores innatos del metabolismo en los Programas de Cribado a nivel nacional.

Enfermedad	Aragón n=69.493	Galicia n^a=282.220 n^c=636.052* n^d=199,943	Murcia^b n=71.595
Total EIM	1:2.105	1:2.060^a	1:8.884
Defectos metabolismo aminoácidos	1:4.633	1:2.666^c	1:3.768
PKU + HFA	1:9.928	1:11.565 ^c	
PKU / HFA	1:13.899/34.747		1:14.319/4.773
Hiperprolinemia I	1:23.164	1:50.869 ^c	
MAT I/III	1:23.164	1:28.160 ^c	
Homocistinuria	1:69.493	1:152.606 ^c	
Tirosinemia tipo I	1:69.493	1:233.113 ^c	
Defectos Beta- oxidación AG	1:6.949	1:9.598^c	1:17.899
SCAD	1:13.899	1:36.125 ^c	
MCAD	1:17.373	1:18.134 ^d	1:23.865
Defecto CPT1	1:69.493		
Acidurias orgánicas	1:9.928	1:8.468^c	1:23.865
3metilcrotonilglicinuria	1:13.899	1:76.303 ^c	
Defecto IBD	1:34.747		
Otras alteraciones			
Deficiencia biotinidasa	1:69.493	1:68.812 ^c	1:71.595

EIM: errores innatos del metabolismo, PKU: fenilcetonuria, HFA: hiperfenilalaninemia, MAT I/III: metionina adenosiltransferasa, AG: ácidos grasos, SCAD: defecto de la beta oxidación de ácidos grasos de cadena corta, MCAD: defecto de la beta oxidación de ácidos grasos de cadena media, CPT1: carnitina palmitoil transferasa 1, IBD: isobutiril coenzima A deshidrogenasa

^a(84)

^b(22)

^c (23). * La población fue de 636.052 recién nacidos atendidos en 30 años de cribado, pero hubo diferentes momentos de incorporación de las enfermedades, por lo que no todas corresponden a la misma población

^d (191)

Tabla 28. Relación de incidencias de los diferentes errores innatos del metabolismo en los Programas de Cribado a nivel internacional (centros nacionales).

Enfermedad	Aragón n=69.493	Qatar ^a n=25.214	Taiwan ^b n= 1.495.132 **	Dinamarca ^c n=504.049	Portugal ^d n= 316.243
Total EIM	1:2.105	1:1.327	1:6.219	1:4.421	1:2.396
Defectos metabolismo aminoácidos	1:4.633	1:3.602*	1:11.236	1:1:84.008 ***	1:5.856
PKU + HFA	1:9.928	1/25.214	1:23.002		1:11.031
PKU/HFA	1:13.899/ 34.747		1:59.805/ 34.747		1:12.163/ 26.354
Hiperprolin. I	1:23.164				
MAT I/III	1:23.164				1:45.178
Homocistinuria	1:69.493	1:12.607			1:316.243
Tirosinemia tipo I	1:69.493			1:140.565	1:79.061
Defectos Beta-oxidación AG	1:6.949	1:3.602	1:54.407	1:6.222	1:6.325
SCAD	1:13.899		1:118.543	1:190.287	
MCAD	1:17.373	1:4.202	1:330.281	1:10.120	1:9.036
Defecto CPT1	1:69.493			1:363.538	1:316.243
Acidurias orgánicas	1:9.928	1:8.404	1:18.699	1:16.259	1:13.177
3MCC	1:13.899	1:25.214	1:42.337		1:45.178

Defecto IBD	1:34.747				
Otras alteraciones					
Deficiencia biotinidasa	1:69.493	1:12.607	1:660.562	1:140.565	1:158.122

EIM: errores innatos del metabolismo, PKU: fenilcetonuria, HFA: hiperfenilalaninemia, Hiperprolin: hiperprolinemia, MAT I/III: metionina adenosiltransferasa, AG: ácidos grasos, SCAD: defecto de la beta oxidación de ácidos grasos de cadena corta, MCAD: defecto de la beta oxidación de ácidos grasos de cadena media, CPT1: carnitina palmitoil transferasa 1, 3MCC: 3 metilcrotonilglicinuria, IBD: isobutiril coenzima deshidrogenasa^a (40). * Los defectos del metabolismo de los aminoácidos engloban en esta publicación a los defectos del ciclo de la urea

^b (30). ** El número de RN cribados varía en función de la enfermedad: 1.495.132, para fenilcetonuria y homocistinuria; 1.321.123, para enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, acidemia metilmalónica, defecto de la beta oxidación de ácidos grasos de cadena media, acidemia isovalérica, aciduria glutárica tipo I; 591.717, para citrulinemia, 3 metilcrotonilglicinuria, otros defectos de la beta oxidación de ácidos grasos.

^c (33). *** En este trabajo no recogen la incidencia de fenilcetonuria, por lo que la incidencia de las aminoacidopatías excluye a todos los pacientes afectos de esta enfermedad.

^d(29)

Tabla 29. Relación de incidencias de los diferentes errores innatos del metabolismo en los Programas de Cribado a nivel internacional (centros autonómicos o estatales).

Enfermedad	Aragón	Nuevo León, México^a n= 42.264	California, EEUU^b n=354.048	Carolina del Norte, EEUU^c n= 944.078	Toscana, Italia^d n=160.000
Total EIM	1:2.105	1:6.038	1:6.939	1:4.310	1:2.000
Defectos	1:4.633	1:14.088	1:118.000	1:15.227	1:1.839

metabolismo aminoácidos			*		
PKU + HFA	1:9.928	1:25.000		1:19.000	1:4.000
PKU/HFA	1:13.899/ 1:34.747				
Hiperprolin. I	1:23.164				
MAT I/III	1:23.164				1:160.000
Homocistinuria	1:69.493	1:42.264		1:470.000	
Tirosinemia tipo I	1:69.493				
Defectos Beta-oxidación AG	1:6.949		1:10.411	1:9.536	1:8.421
SCAD	1:13.899		1:20.000	1:130.000	1:53.333
MCAD	1:17.373		1:27.000	1:13.000	1:26.666
Defecto CPT1	1:69.493				
Acidurias orgánicas	1:9.928	1:21.132	1:23.600	1:16.277	1:16.000
3MCG	1:13.899	1:42.264	1:118.000	1:36.000	1:160.000
Defecto IBD	1:34.747		1:333.333	1:450.000	1:17.778
Otras alteraciones					
Deficiencia biotinidasa	1:69.493		1:354.000		

EIM: errores innatos del metabolismo, PKU: fenilcetonuria, HFA: hiperfenilalaninemia, Hiperprolin: hiperprolinemia, MAT I/III: metionina adenosiltransferasa, AG: ácidos grasos, SCAD: defecto de la beta oxidación de ácidos grasos de cadena corta, MCAD: defecto de la beta oxidación de ácidos grasos de cadena media, CPT1: carnitina palmitoil transferasa 1, 3MCG: 3 metilcrotonilglicinuria, IBD: isobutiril coenzima A deshidrogenasa

^a (28)

^b (39). * En este trabajo no recogen la incidencia de fenilcetonuria, por lo que la incidencia de las aminoacidopatías excluye a todos los pacientes afectados de esta enfermedad.

^c (192)

^d (16)

8.12. Enfermedades de expresión asintomática que se han detectado mediante el cribado.

Dentro de las enfermedades metabólicas que han sido detectadas en estos años, y que se han ido comentando en los apartados anteriores, cabe aquí reseñar aquellas cuya expresión fenotípica ha sido sin sintomatología clínica.

Dentro de las aminoacidopatías, los 3 casos de **hiperprolinemia** cursaron en todo momento de manera asintomática, hasta ser dados de alta al comprobar ausencia de clínica y niveles discretamente por encima del rango normal.

También los defectos de la **metionina adenosiltransferasa** suelen cursar de manera asintomática, como se ha podido corroborar en nuestra experiencia. Ninguno de los pacientes presentó sintomatología, y únicamente uno de ellos mostró cifras ligeramente por encima de lo normal de homocisteína, que se normalizaron posteriormente.

En estos 5 años de experiencia (4 años y 6 meses de seguimiento), la paciente afecta de **homocistinuria clásica** no presentó síntomas relacionados con la enfermedad.

En cuanto a los defectos de la beta oxidación de los ácidos grasos, los 5 pacientes con **defecto de la beta oxidación de los ácidos grasos de cadena corta (SCAD)** se mantuvieron asintomáticos durante este tiempo.

Tampoco los 4 pacientes diagnosticados con **defecto de la beta oxidación de los ácidos grasos de cadena media (MCAD)** han mostrado síntomas compatibles con la enfermedad durante este tiempo de evolución.

La paciente afecta de **defecto de carnitina palmitoil transferasa 1** no presentó sintomatología, aunque a los 6 meses se discontinuó el seguimiento, como se ha explicado.

Ninguno de los 5 casos de **3-metilcrotonilglicinuria** han mostrado alteraciones clínicas durante estos años, ni tampoco las dos pacientes afectas de **defecto de isobutiril coA deshidrogenasa**.

Con respecto a la paciente diagnosticada de **defecto múltiple de carboxilasas**, es preciso señalar que también fueron escasos los meses que se controló en la consulta, por volver a su país de origen, pero no había presentado clínica hasta ese momento.

8.13. Otras alteraciones metabólicas detectables mediante el cribado metabólico ampliado.

Además de las ya descritas enfermedades hereditarias del metabolismo que se diagnostican gracias al cribado metabólico ampliado, es posible la detección de otras alteraciones, que, aunque no son el principal objetivo del mismo, pueden beneficiarse de un tratamiento precoz.

Junto con las alteraciones transitorias y los errores innatos del metabolismo no incluidos entre los principales objetivos del cribado, la principal alteración que cabe aquí destacar es la deficiencia de vitamina B12 de origen materno.

La incidencia de esta alteración fue relativamente frecuente, de 1:17.373 (1:11.582, si se incluyen aquellos que cursaron de manera concomitante con otros EIM) y, siendo diagnosticados, de manera general, al final del periodo de estudio.

Los cuatro pacientes fueron tratados con vitamina B12 intramuscular, como se ha explicado previamente, permaneciendo posteriormente asintomáticos.

8.14. Debilidades del cribado en nuestra experiencia.

Entre las debilidades que se han podido detectar en la evaluación de estos 5 años de cribado metabólico ampliado, cabría señalar la presencia de falsos positivos, falsos negativos y el tiempo de demora hasta la primera visita en la consulta.

8.14.1. Falsos positivos.

De los 128 recién nacidos que fueron remitidos a la consulta, en 72 se descartó cualquier tipo de alteración metabólica. Esto corresponde con el 0'10% del total de la población cribada, un valor aceptable según los estándares establecidos para nuestro programa. Si se considera únicamente verdadero positivo a los errores innatos del metabolismo –excluyendo alteraciones transitorias y deficiencia de vitamina B12-, el porcentaje de falsos positivos sería 0'15%, todavía dentro del rango de los estándares.

8.14.2. Falsos negativos.

Fue un solo paciente -diagnosticado posteriormente de un defecto del transportador de la carnitina- el único falso negativo en estos 5 años de estudio. El cribado en este caso resultó normal, aunque luego se llegó al diagnóstico de un EIM.

8.14.3. Tiempo de demora hasta la primera visita.

Como ya se ha visto, el tiempo de demora hasta ser controlado en la Consulta de Enfermedades Metabólicas fue relativamente alto, siendo en el global de la muestra la mediana de 28 días. Este tiempo pudo ir disminuyéndose desde el

inicio de implantación del programa, con una Rho de Spearman de -0'37, aunque el descenso en el tiempo no fue significativo.

Sí se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los tiempos de demora de los pacientes sin enfermedad metabólica y aquellos que finalmente fueron diagnosticados de EIM.

Discusión

9.1. Análisis general.

Con una cobertura del 100% de la población aragonesa, entre septiembre de 2009 y septiembre de 2014, se realizó el cribado a 69.493 recién nacidos. Esta cifra incluye tanto a los nacidos en hospitales públicos, como aquellos que nacieron en Centros privados, siendo el Hospital Universitario Miguel Servet el laboratorio y Centro de referencia para toda la población.

Nuestro laboratorio realiza el cribado de unos 14.000 recién nacidos al año aproximadamente, algo menor que las 20.000 exploraciones anuales que realizan en Galicia (23) o la región de Murcia (22).

Los errores innatos del metabolismo en el Laboratorio de Bioquímica del Hospital Universitario Miguel Servet se criban por espectrometría de masas en tándem, que, como ya hemos referido, permite detectar con una sola muestra y en un único proceso un gran número de alteraciones metabólicas, mediante la cuantificación de aminoácidos y acilcarnitinas. La simplificación de la técnica ha hecho posible que gran cantidad de enfermedades sean incluidas en el cribado, pues, aunque la incidencia de cada EIM individualmente es baja, si se detectan globalmente se estima una incidencia de 1 por cada 800 recién nacidos (1,4).

Como ya se ha indicado, la toma de la muestra debe realizarse a partir de las 48 horas de vida, tras haber iniciado la alimentación, con el objetivo de minimizar los falsos negativos. En Aragón está regulado que se haga de este modo, y a ser posible siempre antes del alta hospitalaria, para alcanzar la cobertura del 100% (24). La experiencia en este periodo ha sido muy positiva, habiendo logrado esta cobertura, y con una baja tasa de falsos negativos, únicamente 1 caso en estos 5 años.

La técnica de extracción de la muestra no está tan regulada, aunque sí se especifica que debe ser obtenida del talón (25). En nuestro Hospital, ésta se realiza siempre del talón, utilizando generalmente como técnica analgésica la

succión no nutritiva o con soluciones de sacarosa, como recomiendan estudios realizados (121).

Las enfermedades que se han desglosado en la *Introducción* como errores del metabolismo cribados en nuestra comunidad, son aquellas que aparecen en el archivo *pdf* que se envía a las familias, como principales alteraciones cuya presencia se descarta mediante el cribado ampliado. Sin embargo, el número de patologías que se pueden detectar mediante la MS/MS es incluso mayor, como aparece en *Tandem mass spectrometry in newborn screening* (10) o en los Protocolos Diagnóstico Terapéuticos de la AEP (3). Como se comentará más adelante, en estos 5 años se han detectado algunas enfermedades no incluidas en ese grupo.

Con respecto a la evolución del número de repeticiones en el cribado neonatal, la mejoría en la técnica, así como la experiencia, permiten disminuir el número de segundas muestras que se requieren para confirmar o descartar la alteración en el cribado. Junto con las mejoras tecnológicas, el uso de herramientas como la Region 4, liderada por Rinaldo, permite optimizar el método, sin requerir tomas adicionales (92,140).

Para la inclusión de pacientes en este estudio, se seleccionaron aquellos que constaban en la Base de Datos de la Consulta de Enfermedades Metabólicas con motivo de consulta *Cribado Alterado*. Este grupo estaba formado por 134 recién nacidos (0'19% de la población cribada). Como ya se ha dicho, una de las limitaciones de este trabajo es que la principal fuente de información ha sido la Base de datos de la Consulta de Metabolismo. Aunque todos los datos correspondientes a los pacientes afectos de enfermedad o alteración metabólica han sido cotejados con la historia clínica (electrónica y en papel), cabe la posibilidad de que hubiera pacientes que finalmente fueron falsos positivos cuyos datos no fueron introducidos en la base de datos. Fue necesario excluir 6 pacientes. Dos de ellos, que por error habían sido incluidos en la Base, siendo el cribado normal. Uno, se excluyó porque el cribado no había sido realizado en nuestro Hospital. Otro, había sido remitido desde otro Centro, pero el cribado

ampliado fue normal en nuestro laboratorio. Un paciente no llegó a venir a consulta en ninguna visita. Un paciente no tenía historia clínica en nuestro Hospital. Sólo había una determinación analítica, normal.

De esto se refleja que la fiel introducción de los datos es imprescindible, tanto para un buen control, como para poder realizar estudios con posterioridad. Es necesario disponer de personal que pueda pasar consulta, pero también disponga de tiempo para actualizar la base, una herramienta fundamental y de gran utilidad, si se utiliza correctamente.

9.2. Descripción de la muestra.

En cuanto a nuestra muestra de 128 recién nacidos, la distribución por sexos se corresponde fielmente con la población aragonesa general: Según datos del Instituto Nacional de Estadística (INE), en el periodo estudiado, el porcentaje de varones nacidos en Aragón fue 51'4%, siendo el de mujeres 48'6% (193).

Se dividió a la muestra en 5 grupos en función del peso al nacer y la edad gestacional de los recién nacidos. Se trató de manera similar a los recién nacidos a término y los postérmino, puesto que no se encontró en la literatura diferencias en estos grupos. Sin embargo, sí se hizo distinción en los recién nacidos pretérmino, siendo numerosas las publicaciones que describen alteraciones en el cribado asociadas con el hecho de ser prematuro (139,147,194). Además de por edad gestacional, se les agrupó en función del peso –grande, adecuado o pequeño para la edad gestacional-. No hubo ningún recién nacido pretérmino grande para la edad gestacional.

Con respecto a la sintomatología en los pacientes y su situación hospitalaria, cabe destacar que todos los ingresos de los pacientes (en 13 de los 128) fueron por prematuridad. El resto se encontraban en la Maternidad cuando se realizó la extracción y fueron dados de alta a domicilio tras el periodo establecido (48-72 horas). Esto implica que los dos únicos pacientes que presentaron clínica

compatible con enfermedad metabólica eran además prematuros. Uno de ellos presentó bradicardia, hipotonía y elevación de enzimas musculares, siendo finalmente el estudio metabólico normal. El otro paciente fue un recién nacido varón que cursó con hipoglucemias persistentes y discreta hiperamonemia, con una elevación de la ornitina y la glutamina en el cribado. Se sospechó un defecto de OTC (ornitín-transcarbamilasa), por la clínica y cribado inicialmente compatibles (195) siendo finalmente el estudio negativo, por lo que se etiquetó como una hiperornitinemia-hiperamoniemia transitoria. La sintomatología de ambos pacientes cedió durante su ingreso, pudiendo ser dados de alta, con controles en la consulta.

Uno de los principales parámetros a tener en cuenta cuando se evalúa el funcionamiento de un Programa de Cribado es el tiempo que pasa hasta la primera vez que se visita al paciente. Como se puede observar, si se excluye al paciente cuya demora fueron 350 días, debido al regreso a su país de origen, existe una correlación lineal inversa moderada con respecto al tiempo que se tardó en atender a los pacientes en la consulta. Es decir, los recién nacidos en los últimos años fueron atendidos antes que los recién nacidos en los primeros años del cribado. Esta relación no fue, en cualquier caso, significativa.

Cabe aquí comentar que se ha modificado en estos 5 años el algoritmo de comunicación con las familias para este fin. En los comienzos del cribado, cuando se comunicaba a las familias la necesidad de acudir a la Consulta de Enfermedades Metabólicas, se proporcionaba cita de manera habitual, mediante el Servicio de Citaciones del Hospital, siempre y cuando la patología sospechada no supusiera gravedad para el recién nacido, y de manera preferente. Tras observar una demora en las visitas, se procedió a informar telefónicamente ante un resultado positivo, y así poder ver a los recién nacidos durante los primeros días de vida, acortando el tiempo de demora.

Con respecto a la pérdida de pacientes o las dificultades para contactar con las familias, es importante contar con la colaboración de los Pediatras de Atención Primaria, su implicación en el cribado y la comunicación con los mismos. En

algunos Centros de Cribado, incluso son los pediatras los que informan a las familias acerca del resultado del cribado, y la necesidad de acudir al Hospital para continuar el estudio (196).

Junto con la colaboración con los Pediatras de Atención Primaria es importante, para la correcta comprensión de la información, proporcionar recomendaciones escritas, donde se explique el objetivo del cribado, el método de recogida de la muestra, el funcionamiento y se aclare la manera en que se va a informar del resultado. Un estudio realizado en Estados Unidos sobre la información que tienen familias y pediatras sobre el cribado, puso de manifiesto que el conocimiento es limitado, siendo imprescindible una mejora en la información. Para las familias, según este trabajo, lo más importante es saber que el cribado va a aportar un beneficio, que es posible que se solicite otra muestra para confirmar o descartar el resultado y cómo se va a notificar este resultado. Además, los padres solicitaban que la información fuera de manera escrita, en un formato fácil de leer y entender. Los facultativos preferían la documentación en notas cortas, listas o artículos de revisión, o incluso notificaciones mensuales con cambios y avances (197). En el Anexo V se adjunta el tríptico que se entrega a las familias en Aragón con la información relativa al cribado neonatal, tal y como se recoge en las *Instrucciones de 21 de enero de 2011 por las que se regula el cribado neonatal en la cartera de servicios del sistema de Salud de Aragón y la designación de servicios de referencia para el diagnóstico definitivo, tratamiento y seguimiento de las alteraciones y enfermedades objeto de cribado* (26).

Otro factor a tener en cuenta a la hora de evaluar el tiempo de demora en la primera visita, es el tiempo que puede tardar la muestra en llegar al laboratorio y analizarse. Lógicamente, los centros externos al Hospital Miguel Servet podrán experimentar un retraso con respecto a los niños cribados en nuestro Hospital.

En Arizona se realizó un estudio acerca del tiempo que tardaban las muestras del cribado en llegar al laboratorio, observando que podía demorarse hasta 5 días desde la recogida hasta el procesamiento de la muestra. Se trató de mejorar este tiempo incidiendo en los diferentes aspectos: la toma de la muestra y envío

desde las maternidades, el servicio de transporte y se aumentó la jornada del personal de laboratorio para que no quedaran periodos vacacionales sin cubrir. Con estas medidas se logró que el 99% de las muestras en el estado de Arizona estuvieran listas para analizar en 1 día (198).

Otro estudio realizado por Tal et al observa que la demora en el proceso tiene lugar principalmente por retrasos en el procesamiento desde las maternidades, por lo que una correcta formación al personal es fundamental. Este mismo trabajo discute acerca de la importancia de la comunicación entre el centro que diagnostica las EIM y el centro en el paciente va a ser tratado (199). En nuestro caso, se da la ventaja sobre este último punto de que el Hospital Miguel Servet es Centro de referencia tanto para el diagnóstico, como para el tratamiento de los errores del metabolismo, por lo que no existe tal inconveniente.

Como se puede comprobar en este trabajo, algunos de los pacientes cribados discontinuaron el seguimiento por viajes prolongados o incluso regreso a sus lugares de origen. La situación de crisis vivida en España en los últimos años, unido a otros factores socio-demográficos, ha hecho que se produzca un retorno migratorio, así como la salida del país con otros destinos de la Unión Europea (200).

Para que las familias que no van a poder continuar acudiendo a controles sepan cómo actuar en caso de descompensación metabólica, y en los centros en los que van a ser visitados tengan conocimiento de su enfermedad, es preciso proporcionar un informe en el que se recoja el diagnóstico, así como las recomendaciones terapéuticas.

Con respecto a los metabolitos alterados en el cribado ampliado, destaca la elevación de C4DC-C5OH (metilmalonilcarnitina junto con hidroxiiisovalericarnitina). En nuestro laboratorio no se derivatizan (derivatizar consiste en transformar un compuesto químico en uno de estructura química similar, pero con propiedades químicas diferentes) las muestras, lo cual hace que no sea posible la distinción en una muestra inicial de ambas acilcarnitinas. La

derivatización es un método analítico que aumentaría la sensibilidad y especificidad de la prueba, con un grado de recomendación BII (92). Sin embargo, también se ha visto que el proceso de derivatización al cual se someten las muestras para el análisis de carnitina libre y acilcarnitinas por espectrometría de masas en tandem puede producir hidrólisis de acilcarnitinas, con formación de carnitina libre (201). Estudios han demostrado que los métodos no derivatizados son igualmente válidos en el cribado neonatal, sin encontrarse diferencias significativas con los derivatizados (202).

Más adelante se discutirá la relación de cada metabolito con las diferentes enfermedades, la probabilidad de indicar enfermedad o ser un falso positivo.

Una vez obtenidos los resultados del cribado, son de gran importancia los test secundarios que se realizan como complemento para el estudio de la patología (129). Lo ideal sería poder realizar estos test sin necesidad de recoger una nueva muestra, lo cual requiere contactar y, posiblemente, alarmar a las familias, unido al incremento en el gasto sanitario (49). En nuestro Programa de Cribado, la muestra que se recoge a los recién nacidos es únicamente sangre, a diferencia de otras comunidades, como Extremadura, Murcia o Galicia, donde se recoge muestra de orina desde un primer momento (19).

Una muestra de orina es necesaria, por ejemplo, para la determinación de los ácidos orgánicos (imprescindible en el diagnóstico de las acidurias orgánicas y otras enfermedades) (23). En este trabajo, se vio que la prueba de segundo nivel alterada con mayor frecuencia fueron los ácidos orgánicos en orina, hasta en 24 pacientes (18'8%).

Junto con la toma de nuevas determinaciones al recién nacido, es importante en muchas ocasiones obtener sangre de las madres, puesto que determinadas patologías o deficiencias maternas pueden traducirse en alteraciones en el cribado neonatal (96,144,145). En nuestra muestra, únicamente una madre presentó alteración en las acilcarnitinas sanguíneas, pero hasta 6 recién nacidos presentaban deficiencia de vitamina B12, de origen materno.

9.3. Falsos positivos del cribado neonatal.

De los 128 recién nacidos que fueron remitidos a la consulta, en 72 se descartó cualquier tipo de alteración metabólica. Este grupo es el 56'3% de nuestra muestra, pero se corresponde con el 0'10% del total de la población cribada. Se han excluido aquí los recién nacidos que presentaron alteraciones transitorias y déficit de vitamina B12 materno. Si se incluyen estas alteraciones entre los falsos positivos, la tasa es de 0'15%. Es una tasa similar a la descrita por el grupo de Wilken en Australia (0'15%) (142), y a la que publica Vilarinho en Portugal, 0'12% (29). Algo menores fueron las tasas de los últimos años de California (un descenso hasta de 0'07%) (39) y de Dinamarca, donde consiguieron una reducción hasta el 0'03% (33). Por el contrario, se publican tasas mayores en Murcia (una tasa del 0'28%) (22), en México (0'22%) (28) o Alemania (0'33%) (143).

En muchas ocasiones, es posible detectar que la primera muestra analizada de un recién nacido ha sido un falso positivo, simplemente procesándola de nuevo, sin necesidad de una segunda determinación. Esto depende, como se ha explicado, de la técnica empleada y de la experiencia del laboratorio, así como del uso de herramientas como Region 4 (140). Sin embargo, cuando esto no es posible, es preciso recoger nuevas muestras al paciente para analizar de nuevo aminoácidos o acilcarnitinas, bien sea en sangre seca, o en plasma, mediante una extracción de sangre venosa. En el grupo de La Marca et al en la Toscana italiana lograron reducir el porcentaje de nuevas muestras de 1'47% a 0'32%, gracias al ajuste de los valores de corte, uso de ratios y al desarrollo de un test secundario para C3 (propionilcarnitina), su analito que en más ocasiones había dado lugar a repetición del cribado (16).

En nuestra experiencia, entre los pacientes que fueron FP, hubo 28 (38'9%) en los que fue suficiente una única muestra adicional. En la mayoría (51'4%) fue necesario recoger 2 muestras más, y en 7 (9'7%), hubo que tomar hasta 3

muestras más. Esto ocurrió con más frecuencia cuando el analito alterado fue la citrulina, pero no se encontraron diferencias significativas en este aspecto.

Al analizar los factores que se han relacionado en la literatura con los falsos positivos, aparecen como posible causa de alteraciones en el cribado las patologías maternas (fenilcetonuria, acidemia glutárica tipo I, 3-metilcrotonilglicinuria...) (145). En nuestra muestra se diagnosticaron 2 casos de 3-metilcrotonilglicinuria materna, pero ambas fueron madres de 2 recién nacidos afectos, es decir, no fueron falsos positivos.

La prematuridad es una de las principales causas de falsos positivos en el cribado neonatal ampliado (147,148). Sin embargo, en nuestro trabajo no se halló asociación estadísticamente significativa entre la prematuridad y el haber obtenido un resultado positivo inicial sin presentar alteración metabólica. Tampoco hubo diferencia en cuanto al peso al nacimiento.

El porcentaje de recién nacidos ingresados en el momento del screening era también similar al del total de la muestra. Este es un factor que podría implicar alteraciones en el cribado relacionadas con fármacos, como antibióticos, suplementos con carnitina, suero glucosados... (144,146). Por el contrario, sí hubo 2 recién nacidos alimentados mediante nutrición parenteral total en los que se produjo un falso positivo en el cribado.

Acerca de los metabolitos alterados más frecuentemente entre los FP, se hablará más adelante, tras haber analizado tanto las alteraciones transitorias como los EIM diagnosticados. Se discutirá la necesidad de modificar los niveles de corte de algunos metabolitos, así como de ajustar los valores de normalidad en prematuros.

9.4. Falsos negativos del cribado neonatal.

En estos 5 años de cribado neonatal ampliado en Aragón, se ha detectado únicamente un falso negativo. Este es un factor muy importante a la hora de evaluar el funcionamiento de nuestro cribado, pues en parte, depende de este hecho la eficacia de un cribado. Se trató de un defecto del transportador de la carnitina, detectado en 2011 en una lactante que había sido cribada previamente en nuestro Hospital.

En otros grupos se han descrito falsos negativos, destacando el caso de Dinamarca, donde se diagnosticaron a posteriori 6 defectos del transportador de carnitina, un SCAD y un MCAD, y 3 casos de acidemias metilmalónicas/propiónicas. Si bien es cierto que este trabajo recoge datos de 504.049 recién nacidos cribados, 7 veces más que nuestra población en estos 5 años (33), del mismo modo que en Carolina del Norte fueron diagnosticados posteriormente, por presentar sintomatología, 6 casos entre 922.078 recién nacidos cribados (192). Sin ser tan numerosos, en la Toscana diagnosticaron una tirosinemia tipo I no cribada, así como una acidemia metilmalónica -entre 160.000 recién nacidos- (16), en California se detectó un caso de LCHAD y una leucinosis que no se habían diagnosticado al nacimiento entre 392.963 neonatos (39), 3 homocistinurias en Taiwan (entre 1.495.132) (30), o una acidemia metilmalónica en Murcia (de 71.595 recién nacidos) (22).

Junto con los niveles de corte de los distintos analitos, claramente el número de falsos negativos depende además del tamaño de la muestra, como se puede ver en los diferentes trabajos publicados. Además, muchas de las enfermedades metabólicas pueden pasar desapercibidas en los primeros años de vida, y no debutar hasta la edad adulta, por lo que no es posible afirmar que más niños que han sido cribados puedan ser diagnosticado de un EIM en algún momento de su vida, aunque no se haya detectado hasta el momento actual.

9.5. Alteraciones transitorias detectadas.

Este es un capítulo especial, pues en muchas series publicadas no consideran las alteraciones transitorias como alteración metabólica distinta a los falsos positivos (16,22,33,39). Otros trabajos, como el que publica Torres Sepúlveda en México, incluyen directamente las alteraciones transitorias (como las tirosinemias transitorias) entre los EIM diagnosticados (28), del mismo modo que Niu et al incluyen un caso de tirosinemia transitoria entre las EIM, como tirosinemia no tipo I (30). En la serie de Galicia publicada en 2011 por Couce et al., las alteraciones transitorias se describen en un grupo aparte como en este trabajo (84).

En nuestra muestra, la alteración transitoria más frecuente fue sin duda la elevación de tirosina, en 16 casos. Se encontraron también un caso de elevación de fenilalanina, una hiperprolinemia y una hiperornitinemia que cursó con hiperamoniemia y sintomatología en el recién nacido, como se ha comentado previamente.

Llama la atención que, así como entre los falsos positivos no se encontraron grandes diferencias en el porcentaje de prematuros con respecto al total (18'8%), en este caso, aunque tampoco fue estadísticamente significativo, el porcentaje de neonatos nacidos antes de las 37 semanas de gestación ascendió al 31'6%. También el peso medio al nacer fue algo menor en este grupo (2.932g) frente al total de la muestra, de nuevo no significativo.

Con respecto al tratamiento en estos pacientes, se indicaron recomendaciones y normas de vigilancia al paciente con hiperornitinemia-hiperamoniemia transitoria cuando fue dado de alta, fundamentalmente por haber presentado signos clínicos y analíticos de alteración metabólica. Los otros 5 pacientes en los que se pautó un tratamiento al alta, fueron 5 recién nacidos con tirosinemia transitoria, recomendándose administración de vitamina C, una terapia a la cual se ha descrito respuesta en recién nacidos con tirosinemia neonatal (27,72).

9.6. Deficiencias de vitamina B12 de origen materno.

Se discutirá a continuación en este apartado el diagnóstico de déficit de vitamina B12 de origen materno que se realizó en 4 recién nacidos, a partir de la alteración del cribado. La incidencia de esta alteración en nuestra muestra fue 1 por cada 17.373 recién nacidos, 1:11.582 si se incluyen aquellos RN que cursaron con esta alteración de manera concomitante con otro EIM. En el grupo italiano de Scolamiero esta cifra fue hasta de 1:5.000 en 6 años de cribado (96), en Dinamarca hallaron 10 casos (1:50.405) (33) y en Murcia la incidencia fue 1:71.595 (22).

Como se ha comentado en la *Introducción*, la vitamina B12 tiene un papel importante en varias vías metabólicas: tanto en la metilación de la homocisteína a metionina, como en la conversión de metilmalonil-CoA a succinil-CoA (actuando como cofactor de metionina sintasa y L-metilmalonil-CoA mutasa respectivamente) (133, 134). Por lo tanto, su deficiencia dará lugar a diversas alteraciones analíticas. En los pacientes de nuestra muestra, el metabolito alterado fue con mayor frecuencia la C4DC (metilmalonilcarnitina), en 2 de ellos. En un paciente se detectó por una cifra elevada de C4 (butirilcarnitina) y en otro fue la metionina el metabolito alterado en el cribado. En la publicación de Scolamiero et al, fue la C3 (propionilcarnitina) el metabolito alterado en el cribado en estos pacientes (96). Sucedió lo mismo en los casos detectados en Dinamarca (33) y en Murcia (22).

Parece que hasta ahora no se ha dado la suficiente importancia a la deficiencia de vitamina B12, mas su detección es otro de los beneficios del cribado. El déficit de esta vitamina puede dar lugar, si no se trata, a anomalías en la síntesis del DNA, los glóbulos rojos y el desarrollo del sistema nervioso central (133,134). Todos los pacientes diagnosticados en estos 5 años se trataron con vitamina B12 intramuscular, permaneciendo asintomáticos.

Aunque ninguno de los neonatos detectados en nuestra serie presentaron sintomatología al nacimiento, en los últimos años sí ha habido varios casos de

lactantes menores de 3 meses ingresados en el Hospital por clínica neurológica, fundamentalmente crisis convulsivas y episodios aparentemente letales. Estos pacientes fueron tratados con vitamina B12 tras detectarse niveles bajos en sangre. Es importante señalar que en estos casos no se habían detectado alteraciones en el cribado ampliado.

Por lo tanto, es fundamental la detección de la deficiencia de vitamina B12, para administrar un tratamiento precoz y evitar sintomatología. Sería necesaria, además, la prevención en mujeres en edad fértil, proporcionando la suficiente información y suplementos en caso de requerirlos.

9.7. Errores innatos del metabolismo diagnosticados.

Gracias a la introducción de la espectrometría de masas en tándem, en este periodo se diagnosticaron 33 EIM, si se excluyen las alteraciones transitorias. Esto equivale a una incidencia de 1 por cada 2.105 recién nacidos en nuestra Comunidad. Como se puede observar, la incidencia global de enfermedad metabólica hereditaria es relativamente alta. Si a esto se añade que ninguno de los pacientes diagnosticados en nuestro Centro de EMH debutaron con sintomatología, iniciándose de manera precoz el tratamiento necesario, hace totalmente justificable la realización del cribado ampliado a toda la población de neonatos.

Si comparamos la incidencia en nuestro trabajo con las halladas en otras series, en California, México y Taiwan ésta fue hasta 3 veces menor: 1:6.939 (39), 1:6.038 (28) y 1:6.219 (30) respectivamente. Frazier et al publican una incidencia tras la introducción de la MS/MS en Carolina del Norte de 1:4.310 recién nacidos (192), similar a la observada en Dinamarca (1:4.421) (33). En el trabajo publicado por Lindner et al en Qatar, la incidencia asciende hasta 1:1.327, que relacionan con la alta tasa de consanguinidad (40). En Italia y Portugal es más parecida a la nuestra 1:2.000 y 1:2.396 respectivamente (16,29).

En nuestro país se han publicado incidencias de 1:1.884 en Murcia (22), y en Galicia 1:2.060 (84), muy similares a la nuestra.

Como ya se ha comentado ampliamente, desde la implantación de los programas de cribado ampliado, el diagnóstico de errores innatos del metabolismo es más elevado que previamente a la introducción de la espectrometría de masas en tándem. Frente a los 33 casos detectados en estos 5 años, se ha realizado una estimación de 75 casos de enfermedades del metabolismo intermediario diagnosticadas en el total de años previos a la implantación del cribado ampliado, según registro en la base de datos. En un trabajo publicado por Wilcken et al, describen como entre los niños no cribados (una población de 1.551.200), la incidencia global de EIM fue 1:13.372, mientras que en la población en la que se había realizado cribado ampliado (461.500 niños) ésta fue 1:6.593 (64).

Se ha tratado de analizar los factores que se han relacionado en nuestra muestra con mayor probabilidad de ser diagnosticado de EIM, frente a los falsos positivos:

- No se hallaron diferencias entre sexos en nuestro estudio, la frecuencia fue muy similar a la del global.
- Por el contrario, sí se observó una notable diferencia en la proporción de consanguinidad, siendo 13'8% en el grupo de EIM, frente a 4'4% en los falsos positivos o alteraciones transitorias. Aunque la Odds ratio fue de 3'1, la diferencia de frecuencias no fue, sin embargo, estadísticamente significativa.
- Otro factor que se analizó fue la tasa de enfermedad por etnias o lugares de origen. Aunque el análisis general no fue significativo, al observar una mayor probabilidad en la etnia gitana, se analizó este grupo individualmente, observándose una asociación significativa. Se ha relacionado este hecho con la gran tasa de consanguinidad en el grupo (3 de los 4 recién nacidos tenían antecedente de consanguinidad), del mismo

modo que el grupo de Lindner asocian su elevada incidencia con el gran número de matrimonios consanguíneos en el país (40).

En cuanto al tiempo que se tardó en atender a los pacientes en la consulta en este grupo, es interesante ver que, salvo el paciente cuya demora fueron 350 días, por encontrarse fuera de España, la mayoría de los pacientes fueron visitados en menos de un mes en la consulta, siendo el tiempo además significativamente menor en los pacientes afectos, frente a la muestra global.

A continuación se van a analizar individualmente las diferentes patologías diagnosticadas.

9.7.1. Alteraciones del metabolismo de los aminoácidos.

Las aminoacidopatías fueron los defectos más frecuentemente hallados en estos 5 años de cribado, con una incidencia de este grupo de 1:4.633.

En otras series publicadas se describen incidencias variables: hasta 1:1.839 en la Toscana y 1:3.602 en Qatar (agrupando aminoacidopatías y defectos del ciclo de la urea) (16,40), 1:5.856 en Portugal (29), 1:2.666 en Galicia (23), 1:3.768 en Murcia (22), menor fue la incidencia descrita en Taiwan (1:11.236) (30), México (1:14.088) (28) y Carolina del Norte (1:15.227) (192). En el trabajo publicado por el grupo de Dinamarca y el de California, excluyen la fenilcetonuria, por lo que la incidencia del global de las aminoacidopatías son más bajas: 1:84.008 (33), 1:118.000 (39).

9.7.1.1. Fenilcetonuria e hiperfenilalaninemia benigna.

Los defectos en el metabolismo de la fenilalanina fueron los EIM más prevalentes. Esto ha sido ampliamente descrito en la literatura, pues la fenilcetonuria es una de las causas más frecuentes de retraso mental de origen congénito conocido, y su cribado ha cumplido los 50 años, estando instaurado en la mayoría de países desarrollados (182,203).

La incidencia global en nuestra Comunidad fue 1 por cada 9.928 recién nacidos, siendo la incidencia de PKU 1:13.899 y la de HFA 1:34.747. Ocurre de manera similar en Estados Unidos, donde la incidencia de la PKU varía entre 1 por cada 13.500 y 1 por cada 19.000, mientras que la HFA es menos frecuente, con una prevalencia estimada de 1 por cada 48.000 (27). En México, la frecuencia global publicada por Torres Sepúlveda es 1:25.000 (28). En la Toscana italiana describen una incidencia hasta de 1:4.000 agrupando PKU e HFA (16). En Portugal, la incidencia de la PKU desde que se inició el cribado está entorno a 1:11.031 (29). En Carolina del Norte, la incidencia global de PKU e HFA hallada fue 1:19.000, con una incidencia de hiperfenilalaninemia debida a defectos de BH4 de 1:940.000 (192). Destaca la baja incidencia en la población Taiwanesa, siendo 1 por cada 59.805 para PKU (1 por cada 23.002 para PKU y HFA) (30). En algunas publicaciones españolas las frecuencias observadas oscilan entre 1 por cada 11.565 (incluidas PKU e HFA), publicada por el grupo de Galicia (23), o 1:14.319 (en el caso de la PKU) y 1:4.773 (la HFA) en Murcia (22).

En nuestra muestra, 6 de los 7 pacientes eran de origen español, y el séptimo de ascendencia asiática. En un trabajo publicado por Feuchtbaum et al en California, en el que se analizan las incidencias de los diferentes EIM por razas, vieron también que esta patología es más prevalente en personas de origen caucásico y asiático (204).

No se encontró mayor prevalencia significativa por sexo, aunque se invirtieron los porcentajes con respecto al global de la muestra. Tampoco hubo antecedentes de consanguinidad. Por el contrario, sí existía historia familiar de fenilcetonuria, y además, se diagnosticaron 2 nuevos casos en familiares de pacientes cribados.

Al analizar los niveles de fenilalanina hallados en estos pacientes, es importante puntualizar que la clasificación en PKU o HFA no depende de una muestra inicial, sino de la evolución de las cifras. Como se puede ver en los datos de estos grupos, los valores mínimos en algunas determinaciones de PKU pueden ser más bajos

que los máximos de HFA, e incluso en alguna determinación, las medias podrían pertenecer a ambos grupos indistintamente.

El único gen que apareció mutado en esta alteración fue PAH, no hallándose mutaciones en ningún gen codificador de BH4. El estudio genético fue positivo en todos los casos de PKU y en ninguno de HFA. Lo que se describe en la literatura son diferentes mutaciones que se correlacionan con el fenotipo bioquímico, aunque no todas las mutaciones predicen exactamente la actividad de la enzima (205-208).

Dos de los pacientes afectos de PKU fueron respondedores al tratamiento farmacológico con sapropterina, por lo que ha sido posible para ellos hacer una dieta más o menos liberalizada. Los otros tres pacientes siguen dieta restringida en proteínas (fenilalanina), con suplementos de aminoácidos exentos en este aminoácido.

Los dos pacientes con HFA no han precisado hasta el momento ningún tratamiento. Sin embargo, es importante reseñar que en el seguimiento de estos pacientes, aunque los niveles sean bajos en condiciones normales, las situaciones de estrés, o enfermedades concomitantes pueden aumentar los niveles y precisar tratamiento.

9.7.1.2. Hiperprolinemia tipo I.

Como se ha comentado previamente, existen algunas patologías que, por su escasa morbimortalidad, no forman parte del principal objeto de detección de nuestro cribado ampliado. La hiperprolinemia tipo I es una de ellas. Se trata de una alteración del enzima prolina oxidasa, que, aunque suele ser asintomática, se ha asociado con esquizofrenia. Se produce por mutaciones en el gen PRODH (100).

En estos 5 años, se han diagnosticado 3 casos de hiperprolinemia tipo I, con una incidencia de 1:23.164 en nuestra Comunidad. En las diferentes series

publicadas describen con mayor frecuencia la presencia de hidroxiprolinemia, otra alteración de esta vía metabólica, también sin significación clínica. Por ejemplo, en el trabajo de Niu en Taiwan se publica una incidencia de 1:220.187 (30), en la Toscana 1:80.000 (16). En el trabajo *Diagnóstico precoz de los errores congénitos del metabolismo*, publicado por el grupo de Santiago, en Galicia, sí describen una incidencia de 1:50.869 de hiperprolinemia y 1:152.606 de hidroxiprolinemia (23).

Dos de los pacientes diagnosticados eran de origen español, mientras que el tercero provenía de una familia de Rumanía. En este país no se realiza cribado neonatal ampliado (21) y además, al no ser una alteración incluida en los programas de cribado habitualmente (20), es difícil relacionar su prevalencia en función del origen.

Aunque no se hallaron mutaciones en el gen PRODH, se continuaron controles de los pacientes hasta comprobar la ausencia de clínica y determinar que los niveles de prolina en sangre no eran excesivamente elevados. Estos pacientes no precisaron tratamiento alguno.

Podemos plantearnos la existencia o no de enfermedad en estos pacientes, pues conforme se ha ido adquiriendo experiencia en el cribado ampliado, ha sido posible ver que todos estos pacientes tuvieron niveles relativamente bajos de prolina, y aunque se estableció en su momento el diagnóstico de hiperprolinemia tipo I, es posible que en realidad estos niveles elevados no sean debidos a enfermedad. Por este motivo, la prolina es uno de los analitos cuyos valores de referencia se han modificado gracias a la experiencia adquirida con el cribado, al comprobarse que no existía una buena relación coste-efectividad al encontrarse niveles por encima de lo normal, pero no excesivamente elevados.

9.7.1.3. Metionina adenosiltransferasa.

Tampoco esta patología forma parte de las alteraciones incluidas en el archivo *pdf* que se envía a las familias tras haber realizado el cribado, ni ha estado

clásicamente entre los principales objetivos de los diferentes programas (20,49,171). Sin embargo, es detectada por la espectrometría de masas en tándem (12), y, desde la introducción del cribado ampliado, ha sido posible detectarla (alrededor de 70 casos descritos), mientras que antes su existencia era prácticamente desconocida (23,209). Aunque suele ser asintomática, puede dar lugar a discapacidad intelectual, alteraciones neurológicas por desmielinización y un característico olor a col (210).

Se han detectado 3 casos en nuestra comunidad en estos 5 años, con una incidencia de 1:23.164. En Galicia se publica una incidencia muy similar, de 1 por cada 28.160 recién nacidos (23). En Portugal, la incidencia descrita es de 1:45.178 (29), mientras que en la Toscana se halló un único caso (1:160.000) (16) y en otras series no han publicado detecciones de esta patología.

Es reseñable que de los 3 pacientes diagnosticados, 2 eran españoles, mientras que el tercero era de origen portugués, uno de los pocos lugares donde hasta ahora se han descrito casos además de en nuestro país (29). Esta paciente de origen portugués tenía un familiar afecto de MAT en su país. Como ya se ha dicho, la mayoría de los casos de esta patología son asintomáticos, y pueden pasar desapercibidos. La detección de uno de nuestros pacientes dio lugar al diagnóstico de la enfermedad en 3 familiares de este recién nacido.

El estudio genético confirmó los 3 casos detectados por cribado, hallándose mutaciones en el gen MAT1A. Aunque se han descrito formas tanto autosómicas recesivas como dominantes, la más frecuente es la recesiva (209). En uno de nuestros pacientes existía antecedente de consanguinidad.

Todos los pacientes continúan seguimiento en la consulta de Enfermedades Metabólicas, aunque sólo uno de ellos ha precisado restringir la ingesta proteica para mantener niveles aceptables de metionina. Este es un aspecto discutido todavía, pues al tratarse de una patología relativamente desconocida, no hay uniformidad en las recomendaciones. Parece razonable el control analítico con dieta libre en aquellos pacientes asintomáticos con cifras moderadas de

metionina, mientras que si las cifras son muy elevadas o aparece clínica, sería recomendable una restricción de metionina en la dieta (211). Además, 2 de los recién nacidos presentaron cifras moderadas (menores de 30 $\mu\text{mol/L}$) de homocisteína en una primera determinación, que posteriormente se normalizaron.

9.7.1.4. Homocistinuria clásica.

La incidencia de esta patología en nuestra Comunidad fue de 1:69.493, pues sólo se halló un caso. Esta incidencia es, aún siendo el único caso, más elevada que la estimada (1:200.000 – 1:300.000) (20) y la publicada en Portugal (1:316.243) (29) o Carolina del Norte (EEUU), de 1:470.000 (192). En el trabajo que expone los resultados del cribado en Murcia no describen ningún caso (22), y en Galicia la incidencia es de 1:152.606 (23). En México, sin embargo, se diagnosticó también un paciente en su serie de 42.264 recién nacidos, con una incidencia, por tanto, más elevada (28), y llamativamente alta en Qatar, donde publican hasta 1:12.607, que relacionan con la elevada tasa de consanguinidad (40).

El paciente fue un recién nacido varón de origen español, sin antecedentes de consanguinidad, ni historia familiar de afectación metabólica. Fue diagnosticado tras observar una elevación de la metionina, que suele ser el metabolito que permite la detección de esta patología en el cribado ampliado (49). Las cifras de metionina se mantuvieron más elevadas que aquellas observadas en la enfermedad citada anteriormente, así como la homocisteína, siendo hasta 5-7 veces mayor en esta alteración.

La genética confirmó la enfermedad, encontrándose una mutación en el gen CBS, uno de los genes relacionados con la hiperhomocisteinemia, y responsable de la forma clásica (212).

Con respecto al tratamiento, fue preciso el inicio de tratamiento dietético, con dieta restringida en metionina, además de farmacológico, con piridoxina, ácido fólico, betaína e hidroxicobalamina, según recomendaciones actuales (27).

9.7.1.5. Tirosinemia tipo I.

Un paciente fue diagnosticado de esta patología durante los primeros meses de implementación del cribado ampliado, con una incidencia de 1:69.493. Si comparamos con otras publicaciones, la incidencia en Portugal fue similar a la nuestra (1:79.061) (29), mientras que en Dinamarca y Galicia fue mucho menor, 1 por cada 233.113 (23) y 1 por cada 140.565 (33) respectivamente. La incidencia más alta descrita hasta ahora se da en la región de Saguenay Lac St Jean, de la provincia de Quebec, Canadá, donde se diagnostica en 1 por cada 1.800 (34).

El recién nacido fue un paciente varón de origen marroquí, sin antecedentes de consanguinidad, pero con historia de un hermano fallecido en su país a los 6 meses de edad, por fallo hepático, lo que hace sospechar que presentaba la misma enfermedad. La falta de detección precoz y la ausencia de tratamiento haría inevitable el fallo hepático progresivo, por lo que el cribado ampliado en este caso cobra una gran importancia. En nuestro paciente, fue posible la confirmación genética, encontrándose mutado el gen FAH.

Nuestro paciente presentó unos niveles de tirosina muy elevados, mucho mayores que los niveles de los pacientes con alteración transitoria descritos previamente, pero que fueron descendiendo tras iniciar tratamiento con nitisinona, así como una restricción dietética en fenilalanina y tirosina.

9.7.2. Defectos de la Beta oxidación de los ácidos grasos.

En estos 5 años, se detectaron en nuestra Comunidad 10 EIM relacionados con los defectos de la beta oxidación de los ácidos grasos, con una incidencia de 1 por cada 6.949 recién nacidos.

Si comparamos esta incidencia con otros grupos, destaca la elevada incidencia en Qatar (1:3.602) (40). En Dinamarca y Portugal fue muy similar a nuestra

muestra, 1:6.222 (33) y 1:6.325 (29), respectivamente. En Murcia, California, Carolina del Norte, Galicia y la Toscana fue algo menor que en nuestro trabajo: 1:17.899 (22), 1: 10.411 (39), 1:9.536 (192), 1:9.598 (23) y 1:8.421 (16) respectivamente. De nuevo en Taiwan la incidencia fue baja, 1:54.407 (30).

Se discutirán a continuación cada uno de manera individual.

9.7.2.1. Defecto de la beta oxidación de ácidos grasos de cadena corta.

La incidencia total de SCAD fue de 1 por cada 13.899 recién nacidos, con 5 casos detectados en 5 años.

En las diferentes series publicadas, estas frecuencias oscilan bastante, aunque son más bajas que la hallada en nuestra experiencia, observándose incidencias de 1:118.543 en Taiwan (30), 1:130.000 en Carolina del Norte (EEUU) (192) o 1:190.287 en Dinamarca (1:54.643 si incluyen los casos diagnosticados entre los no cribados) (33). Similar a esta incidencia fue la descrita en la Toscana (1:53.333) (16), siendo más elevada (1 por cada 20.000) en California (39) o en Galicia, 1 por cada 36.125 (23).

Llama la atención que de los 5 pacientes diagnosticados 4 fueron varones (80%), aunque no se ha descrito mayor prevalencia en función del sexo (213). Tres de los recién nacidos eran de origen español, mientras que 2 provenían de África Subsahariana. En el estudio llevado a cabo en California para determinar las prevalencias por razas se vio que esta patología tendía a ser más frecuente en la raza negra y en el sudeste asiático y Oriente medio (204).

El metabolito alterado en todos estos pacientes fue la C4 (butirilcarnitina), alterándose secundariamente en algunos C4/C2, C4/C3 y C4/C8. Este es el patrón típico de alteración bioquímica de los pacientes afectos de SCAD (49).

Se vieron alterados en cuatro pacientes, además, los ácidos orgánicos en orina: en todos se excretó ácido etilmalónico y en dos de ellos se detectó también una

excreción aumentada de ácido metilsuccínico, los ácidos orgánicos que con más frecuencia se ven excretados en orina en esta alteración (56)

El estudio genético del gen ACADS confirmó el diagnóstico en 3 de los casos. En uno de los pacientes la familia se negó a realizar el estudio genético. Este es un hecho que ocurre en ocasiones, pero la ausencia de confirmación genética no debe cambiar la actitud. Aunque el tratamiento de estos pacientes consiste únicamente en recomendaciones en caso de ayuno o situaciones estresantes (59), el seguimiento y manejo debe realizarse aún sin confirmación genética si la sospecha clínica-bioquímica es clara.

9.7.2.2. Defecto de la beta oxidación de ácidos grasos de cadena media.

En este caso, se diagnosticaron 4 pacientes afectados de MCAD, siendo la incidencia de 1 por cada 17.373. Aunque esta patología suele ser más frecuente que la anterior (62), en nuestra Comunidad ha sido al contrario.

Las incidencias observadas de esta enfermedad en nuestro país han sido similares a la nuestra, en Murcia, la cifra está en 1:23.865 (22) y en Galicia 1:18.134 (191). Algo menor fue en la Toscana italiana (1:26.666) (16) y Australia (1:33.750) (61), mientras que en Portugal la incidencia asciende hasta 1 por cada 9.036 recién nacidos (29), similar a la observada en Dinamarca 1:10.120 (33) o 1:13.000 en Carolina del Norte (192). En California, detectaron una incidencia de 1 por cada 27.000 (39), y en los extremos, Taiwan fue 1 de cada 330.281 recién nacidos (30) y Qatar, donde la detectaron en 1:4.202, debido probablemente al elevado grado de consanguinidad (40).

También esta patología se observó con mayor frecuencia en el sexo masculino (en un 75%), de manera similar a la que describen Couce et al de 11 pacientes, en la que 8 son varones frente a 3 mujeres (72%) (191). Sin embargo, el patrón de herencia de esta alteración es autosómico recesivo, por lo que esta asociación es aparentemente casual (214).

En nuestra muestra, un niño provenía del Norte de África, y los otros 3 eran españoles, de etnia gitana. Ya ha sido publicada la elevada asociación de esta patología con la etnia gitana, habiéndose descrito una prevalencia de 1/17 para la mutación G985 en esta población (215). Además, los 3 pacientes de etnia gitana tenían consanguinidad parental. En 2 de estos recién nacidos, pudo igualmente detectarse al menos un familiar afecto de la misma alteración, no diagnosticado previamente.

En todos los pacientes, esta alteración se detectó en el cribado por una elevación de C8 (octanoilcarnitina), marcador principal de esta patología (49). Los valores iniciales fueron al menos 7 veces el nivel superior del rango normal, llegando a ser hasta 29 veces mayor. Se encontraron elevadas además C6 (hexanoilcarnitina), C10 (decanoilcarnitina) y C10:1 (decenoilcarnitina), aunque en proporción menor que la C8.

El estudio genético confirmó todos los casos, encontrándose mutado el gen ACADM, y en todos los pacientes se establecieron normas de conducta y recomendaciones dietéticas, siendo preciso en 3 de ellos además el tratamiento farmacológico con carnitina. Estos 3 pacientes fueron los 3 de etnia gitana, homocigotos para la mutación c.985A > G. Ya se había descrito la asociación de la homocigosidad para esta mutación y la necesidad de suplementos con carnitina para mantener niveles adecuados en sangre (65).

9.7.2.3. Defecto de carnitina palmitoil transferasa 1.

Únicamente se halló un defecto de la enzima carnitina palmitoil transferasa 1, siendo la incidencia en este periodo de 1 por cada 69.493 recién nacidos.

La incidencia global de esta alteración es mucho menor, habiéndose descrito pocos casos en la literatura. En Dinamarca, la incidencia hallada fue 1:363.538 (33), y 1:316.243 fue la descrita en Portugal (29). En Taiwan, sin embargo, se publicó un caso de CPT 2, con una incidencia de 1:592.717 (30).

Nuestra paciente fue una recién nacida de origen sudamericano. Dada la baja incidencia, es difícil establecer la relación con la etnia de origen, pero sí se ha descrito una elevada prevalencia de una variante de CPT1A asociada con diversas alteraciones (no tan severas como la sintomatología típica de la enfermedad), en niños nativos de Alaska (216).

Aunque no existía consanguinidad, había historia familiar de fallecimiento en un hermano en periodo neonatal, de origen no aclarado, cuya causa podría haber sido esta enfermedad.

Se vieron disminuidos fundamentalmente los niveles de C16 (hexadecanoilcarnitina) y algo menos los de C18 (octadecanoilcarnitina), presentando, además, una discreta elevación de la glicina que se normalizó posteriormente. En los ácidos orgánicos en orina se observó también una excreción aumentada de ácido láctico y 3OHvalérico.

Como se ha comentado previamente, en pacientes que provienen de otros países, existe la posibilidad de que se discontinúe el seguimiento. En este caso, se solicitó el estudio genético, pero la paciente dejó de acudir a la consulta, y no fue posible volver a contactar con la familia, por lo que no se realizó estudio genético y se perdió el seguimiento. Previamente, se habían proporcionado a la familia de la paciente recomendaciones dietéticas y normas de conducta, así como un tratamiento farmacológico con carnitina. Es importante en estos casos que las recomendaciones sean escritas y queden claras, y es fundamental una colaboración con las familias, que deberían expresar su deseo de regresar a su país, para poder completar el estudio antes, o al menos asegurar un adecuado control y comprensión de las pautas.

9.7.3. Acidurias orgánicas.

En este periodo se detectaron 7 acidurias orgánicas en total, con una incidencia de este grupo de 1 por cada 9.928 recién nacidos.

Si comparamos esta incidencia con las descritas en otros trabajos, en Qatar fue similar a la nuestra, 1:8.404 (40), en Dinamarca 1:16.259 (33), muy similar a la incidencia observada en la Toscana (1:16.000) (16) y Carolina del Norte (1:16.277) (192), y en Portugal 1:13.177 (29). Algo menor fue la descrita en Taiwan, 1:18.699 (30). En México y en California la incidencia global de las acidurias orgánicas fue similar, 1:21.132 (28) y 1:23.600 (39) respectivamente. En nuestro país, la incidencia publicada en Galicia es similar a la nuestra, 1:8.468 (23), mientras que en Murcia es menor, 1:23.865 (22).

9.7.3.1. 3-metilcrotonilglicinuria.

Se diagnosticaron en este tiempo 5 recién nacidos afectados de 3-metilcrotonilglicinuria, siendo la incidencia total 1:13.899.

Esta alteración tiene una incidencia más elevada, en general, que otras patologías. En Qatar, esta incidencia alcanza 1:25.214 recién nacidos (40), en Taiwan es de 1:42.337 (30), similar a la incidencia detectada con el cribado en México (1:42.264) (28) y en Portugal 1:45.178 (29) y algo mayor en Carolina del Norte (1:36.000) (192). En California, la incidencia es algo menor (1:118.000) (39), y en Italia describen en la Toscana únicamente un caso entre 160.000 (16). En Galicia publican una incidencia de 1:76.303 (23) y Murcia no se halló ningún recién nacido con esta patología en los 3 años recogidos hasta 2012 en su experiencia, pero sí se detectó elevación de C5OH (hidroxiiisovalerilcarnitina) en 3 niños, permitiendo diagnosticar a sus madres de 3-metilcrotonilglicinuria (22).

También en nuestro Centro fue posible en 2 de los recién nacidos diagnosticar, gracias al cribado neonatal, la misma anomalía en un progenitor. Esta alteración es una de las que más frecuentemente se ha relacionado con la detección en familiares, tras la instauración del cribado ampliado; además de los casos mencionados en Murcia, 3 madres afectas de 3-metilcrotonilglicinuria en Dinamarca (33), 4 en Portugal (29) y otros 4 en Taiwan (30) y uno en Corea

(155). En Carolina del Norte se detectaron también 4 casos de madres afectas (107).

Entre los 5 casos detectados, dos eran de origen español, uno provenía de África Subsahariana y dos de Sudamérica. En el trabajo publicado por Feuchtbaum et al acerca de la relación de las diferentes alteraciones metabólicas y la procedencia de origen, la 3-metilcrotonilglicinuria ha sido diagnosticada con mayor frecuencia en esa región en americanos nativos, y recién nacidos con origen procedente de Oriente Medio y la India (204).

El metabolito que apareció alterado en el cribado y que permitió la detección de estos 5 recién nacidos fue, como ha sido ampliamente descrito (49,107), la C5OH (hidroxiisovalerilcarnitina), en este caso junto con la C4DC (metilmalonilcarnitina), puesto que no se derivatiza en nuestro laboratorio.

Con respecto a los ácidos orgánicos en orina, se observó excreción aumentada en dos de ellos de 3-OH-isovalérico, 3metilcrotonilglicina y tiglilglicina, en otros dos fue 3-OH-isovalérico, y en el último ácido metilmalónico. Normalmente, las sustancias que se observan en esta alteración son 3-OH-isovalérico y 3metilcrotonilglicina (107).

El estudio genético fue positivo en 4 de los niños: uno presentaba mutaciones en el gen MCCA y en los otros 3 casos fue MCCC2 el gen mutado. En un paciente no se hallaron mutaciones en los genes estudiados. En relación con el manejo, en un recién nacido fue suficiente con recomendaciones dietéticas y normas de conducta, mientras que en 4 hubo que iniciar tratamiento farmacológico con carnitina, según recomendaciones actuales (20).

9.7.3.2. Defecto de isobutiril CoA deshidrogenasa.

Aunque esta alteración tampoco forma parte de las principales enfermedades diagnosticadas por el cribado ampliado, y, por tanto, no se incluye en esa lista que se envía a las familias, es una de las patologías que pueden detectarse en el

cribado neonatal mediante la elevación de la C4 (butirilcarnitina) con la espectrometría de masas en tándem (49).

Se trata de una rara alteración del metabolismo de la valina, producida por mutaciones en el gen ACAD8 (217). Aunque la mayoría de los pacientes permanecen asintomáticos, puede dar lugar a miocardiopatía dilatada, anemia, hipotonía, retraso en el crecimiento y desarrollo y bajos niveles de carnitina (218), (219), con excreción elevada de isobutirilglicina y butirilcarnitina en orina. El tratamiento consistirá en administración de carnitina y restringir la ingesta de proteínas y de grasas (219,220).

En estos cinco años se detectaron 2 casos de defecto de IBD, con una incidencia de 1 por cada 34.747. Fueron dos recién nacidas mujeres, una de origen español y la otra sudamericano.

Aunque la incidencia en nuestra experiencia ha sido relativamente elevada, hasta la fecha son escasos los trabajos publicados con pacientes diagnosticados de esta patología. En las diferentes series que describen las experiencias con el cribado ampliado, es raro ver defectos de IBD. En la Toscana, por el contrario, hallaron una incidencia de 1:17.778 (16). En California se describe una incidencia global de 1:333.333, con mayor prevalencia en recién nacidos de origen del este asiático e India (204) y en Carolina del Norte 1:450.000 (192). En la serie publicada por Oglesbee et al, identificaron 13 casos en 5 años (con una incidencia de 1:70.000), entre los cribados en Illinois, Massachusetts, Michigan, Minnesota, Pennsylvania y South Dakota, siendo 6 de origen europeo, 3 sudamericano, 2 de India, uno del norte de África y uno de Oriente Medio (219).

El estudio genético fue positivo en los dos casos para el gen ACAD8, permaneciendo ambas asintomáticas, y se proporcionaron a las familias recomendaciones dietéticas y de actuación en caso de enfermedad concomitante, ayuno o estrés, con control en la consulta.

9.7.4. Otras alteraciones.

En este grupo “Otras alteraciones” se ha incluido el Defecto múltiple de carboxilasas, una alteración que clásicamente no se ha englobado dentro de los grandes grupos de EIM, aunque podría incluirse en el grupo de las acidemias orgánicas.

9.7.4.1. Defecto múltiple de carboxilasas (deficiencia de biotinidasa).

Con esta patología ocurre como en algunas de las descritas anteriormente, que aunque no se incluye entre las principales enfermedades objeto del cribado ampliado en nuestra comunidad, es una alteración potencialmente detectable mediante la espectrometría de masas en tándem, y cuyo diagnóstico precoz puede evitar descompensaciones metabólicas, hiperamonemia e importantes secuelas neurológicas a largo plazo (221).

Generalmente, como se ha descrito en la introducción, para su detección se utiliza un ensayo cualitativo o semicuantitativo de la actividad enzimática, y que puede ser realizado en sangre seca para cribado, pero requiere confirmación en suero. En España esta técnica se lleva a cabo únicamente en Galicia y Murcia (171). Sin embargo, en este caso fue un aumento transitorio en los niveles de arginina lo que dio lugar a la detección de la alteración, puesto que al ampliar el estudio metabólico se observó una excreción aumentada de ácido láctico, 3-OH-isovalérico, etilmalónico, fumárico y alfa-cetoglutarato en orina. En otras series se ha descrito la detección de esta patología en el cribado a partir de la elevación de C5OH (hidroxiisovalerilcarnitina) (29,30,39).

Este ha sido el único caso detectado en estos cinco años, con una incidencia por tanto de 1 por cada 69.493 recién nacidos. En nuestro país, se diagnosticaron en Galicia 6 casos hasta la publicación de la Memoria *Diagnóstico precoz de los errores congénitos del metabolismo*, con una incidencia de 1:68.812 (23) y en Murcia un paciente hasta la publicación en 2012 de *Cribado neonatal ampliado*

en la Región de Murcia. Experiencia de tres años (1:71.595) (22). En otras series, se han descrito incidencias de hasta 1:12.607 en Qatar (40), por el contrario, en Dinamarca ésta fue de 1:140.565 (33), en Taiwan se dio una incidencia de 1:660.562 (30), en California 1:354.000 (39) y en Portugal 1:158.122 (29). En estos tres últimos trabajos, la alteración fue detectada a partir de la elevación de C5OH (hidroxiisovalerilcarnitina) por MS/MS.

La paciente diagnosticada en nuestro Centro fue una recién nacida mujer de origen sudamericano, sin historia familiar de alteración metabólica. En el trabajo de Feuchtbaum et al, acerca de la distribución por etnias y origen de las diferentes alteraciones, se observó una mayor prevalencia en recién nacidos caucásicos y procedentes de Sudamérica (204).

El estudio genético de nuestra paciente no fue confirmatorio, pero se pautó tratamiento farmacológico con biotina, con controles en la consulta desde el diagnóstico hasta el año 2011, año en el que volvió a su país de origen y discontinuó el seguimiento. Como ya se ha explicado, es fundamental que los pacientes comuniquen su intención de regresar a sus países de origen, para previamente poder aclarar posibles dudas, así como proporcionar a las familias la suficiente información y tratamiento hasta que puedan ser visitados en el nuevo Centro.

9.8. Diagnóstico de familiares.

Como se ha ido desglosando y comentando, una de las ventajas del cribado ampliado consiste en la detección de nuevos casos en familiares que no habían sido cribados, ni diagnosticados previamente. En nuestro caso, fueron 9 los nuevos diagnósticos como beneficio colateral del cribado, entre un total de 69.493 recién nacidos cribados, por lo que la incidencia fue 1:7.721. Si se incluyen los 6 casos de deficiencia de vitamina B12 materna, la incidencia total fue 1:4.633. Las patologías fueron:

- 2 nuevos casos de fenilcetonuria.
- 3 casos de hipermetioninemia (MAT).
- 2 familiares de neonatos afectados de MCAD.
- 2 progenitores de pacientes con 3-metilcrotonilglicinuria.

En otras series publicadas se pueden observar incidencias variables.

En Murcia fue posible el diagnóstico de 6 familiares de recién nacidos afectados: una madre con deficiencia de vitamina B12, un caso de MCAD, una acidemia metilmalónica y 3 madres con deficiencia de beta-metilcrotonil CoA carboxilasa. La incidencia total fue 1:11.933 (22).

En Portugal se detectaron 7 casos de hipermetioninemia por mutaciones en el gen MAT1A, así como 4 casos de 3-metilcrotonilglicinuria materna, con una incidencia de 1:28.749 (29).

En la Toscana, Italia, se detectó un caso de acidemia metilmalónica materno, 2 3-metilcrotonilglicinurias y un defecto primario de carnitina, siendo la incidencia 1:40.000 (16).

El cribado neonatal ampliado en Dinamarca dio lugar además al diagnóstico de 11 madres con afectación metabólica: 8 de ellas con defectos en el transportador de la carnitina y 3 madres afectas de 3-metilcrotonilglicinuria. La incidencia global fue 1:45.823 (33).

En Taiwan fue también la 3-metilcrotonilglicinuria la patología diagnosticada entre las madres de los recién nacidos cribados (4 en total), con una incidencia de 1:148.179 (30).

En Italia se publicó además una serie de 7 casos de déficit de vitamina B12 materna detectados mediante el cribado entre 35.000 recién nacidos (1:5.000). (96).

Como se puede observar, salvo la elevada incidencia de déficit de vitamina B12 materna hallada en Italia (96), la mayor incidencia de diagnóstico de familiares ha sido la detectada en nuestro Centro.

9.9. Relación entre metabolito alterado y detección de enfermedad.

Entre los diferentes metabolitos que se alteraron en el cribado ampliado, hubo algunos que siempre o prácticamente siempre implicaron detección de enfermedad. Por el contrario, otros se relacionaron la mayoría de las ocasiones con falsos positivos o alteraciones transitorias.

El analito que en más ocasiones se vio alterado en el cribado ampliado fue, como ya se ha comentado, C4DC-C5OH (metilmalonilcarnitina-hidroxiisovalerilcarnitina), aunque la mayoría de las veces (78'8%) éste fue un falso positivo. Las ocasiones en las que su elevación era consecuencia de una alteración metabólica fueron: dos deficiencias de vitamina B12 materno y cinco 3-metilcrotonilglicinurias. Globalmente, los valores de estas acilcarnitinas fueron más elevados en los casos de 3-metilcrotonilglicinuria, con una media inicial de 5'5 $\mu\text{mol/L}$, frente a los 2'1 $\mu\text{mol/L}$ en el caso de los falsos positivos y 2'3 $\mu\text{mol/L}$ de las deficiencias de vitamina B12. Sin embargo, si se analizan individualmente los niveles, se puede observar que, elevando el punto de corte para evitar estos falsos positivos, no se habría diagnosticado 1 caso de 3-metilcrotonilglicinuria, y disminuyéndolo hasta el nivel mínimo en la enfermedad (1'31 $\mu\text{mol/L}$), se seguirían detectando todos los falsos positivos, salvo uno.

También entre las alteraciones del aminoácido metionina se observó una alta tasa de FP, del 68'7%. Se halló, gracias a la elevación de este aminoácido, 1 caso de deficiencia de vitamina B12, 3 casos de hipermetioninemia por defecto en la MAT I/III y 1 homocistinuria clásica. En este caso, el valor medio en el cribado en el caso de los falsos positivos fue 43'9 $\mu\text{mol/L}$, el valor en la deficiencia de vitamina B12 70'1 $\mu\text{mol/L}$ y, sin embargo, en los defectos en MAT I/III la cifra media fue 133'2 $\mu\text{mol/L}$ y en la homocistinuria 79 $\mu\text{mol/L}$. También aquí se

puede observar que todos los casos con alteración metabólica debutaron de manera global con cifras más elevadas de metionina. En este caso, además, el valor más alto entre los falsos positivos fue 49'7 $\mu\text{mol/L}$, distando bastante de los valores más bajos hallados en las alteraciones metabólicas (mínimo 70'1 $\mu\text{mol/L}$ en la deficiencia de vitamina B12), por lo que podría adecuarse el punto de corte para la metionina, y así evitar falsos positivos, sin perder verdaderos positivos.

El 100% de los casos -6- en los que leucina-isoleucina se vio alterado, el resultado fue un falso positivo. No se detectó, por lo tanto, ninguna enfermedad metabólica como consecuencia de estas elevaciones, lo que se podría traducir en que un aumento en el punto de corte de este conjunto de aminoácidos no perdería ningún verdadero positivo y, sin embargo, evitaría falsos positivos, con lo que ello conlleva. Por supuesto, la modificación de los puntos de corte debe hacerse siempre en concordancia con los niveles hallados en otras series, y, hoy en día, gracias a herramientas como Region4 y la colaboración de los diferentes Centros de Cribado, es posible poner en común de manera rápida y eficaz estos y otros datos para optimizar el cribado (140).

En otras acilcarnitinas, como C3 (propionilcarnitina), C5 (isovalerilcarnitina), C3DC (malonilcarnitina), C5DC (glutarilcarnitina) o C16 (hexadecanoilcarnitina) y aminoácidos como la alanina y la valina, las ocasiones en las que estuvieron elevados (1 ó 2), tampoco se relacionaron con patología. En este caso se podría plantear lo mismo que con la leucina-isoleucina, y valorar elevar el punto de corte.

Por el contrario, C4/C2, C4/C3, C4/C8, (butirilcarnitina/acetilcarnitina, butirilcarnitina/propionilcarnitina y butirilcarnitina/octanoilcarnitina), así como las elevaciones de C8 (octanoilcarnitina) y C10 (decanoilcarnitina) se correspondieron con EIM en los cuatro casos en los que se vieron alterados, SCAD y MCAD respectivamente.

También C4 (butirilcarnitina) se tradujo en EIM en un 88'9% del total. C6 (hexanoilcarnitina) lo hizo en el 80%. Las elevaciones de fenilalanina aislada, o fenilalanina/tirosina, se correspondieron con enfermedad en 88'9% y 71% respectivamente.

La tirosina fue el metabolito que en mayor proporción se relacionó con alteración transitoria (80%). Los niveles de tirosina en el caso de la tirosinemia tipo I fueron mucho mayores que los niveles detectados en los pacientes con alteración transitoria.

Además de este análisis global de las diferentes alteraciones, merece especial atención el cribado de recién nacidos prematuros. Como ya se ha dicho, en este grupo se realizan diversas determinaciones, debido a la alta tasa de falsos positivos que pueden presentar. Sería interesante, además, ajustar los niveles de los diferentes metabolitos, como se ha realizado por ejemplo en Galicia, donde se llevó a cabo un estudio para establecer los percentiles de normalidad de carnitina libre, total y acilcarnitinas en este grupo (prematuros con peso menor a 1.500 g). Se observó una elevación de los niveles en los primeros días, con un descenso a los 15 días de vida, y pudieron establecer unos percentiles de referencia para una mejor adecuación en este grupo de edad (148).

9.10. Estándares del programa de cribado neonatal.

Como ya se ha comentado, un indicador de calidad muy importante en el cribado ampliado es el cumplimiento de los estándares que se establecen, y por lo tanto, uno de los objetivos de este trabajo era comprobar que estos se cumplen.

Los estándares de nuestro programa se adecúan a los estándares propuestos, siendo la tasa de falsos positivos de 0'10%, mucho menor que la propuesta 0'3% (129). Se han excluido aquí los recién nacidos que presentaron alteraciones transitorias y déficit de vitamina B12 materno. Si se incluyen estas alteraciones entre los falsos positivos, la tasa es de 0'15%, todavía por debajo del rango.

Ocurre de manera similar con el resto de valores, siendo la tasa de detección de 1:2.105, superior a la propuesta 1:3.000 (129) y el valor predictivo positivo 21'6%, mayor al 20% (129).

9.11. Enfermedades de expresión asintomática que se han detectado mediante el cribado.

Aunque se han ido desglosando las expresiones fenotípicas en cada enfermedad, en otro apartado se han resumido las diferentes enfermedades metabólicas que han podido diagnosticarse gracias al cribado ampliado, y que durante el tiempo de seguimiento de las mismas no han presentado sintomatología clínica. Es importante señalar que el tiempo de seguimiento de algunos pacientes ha sido prácticamente de 5 años, al diagnosticarse al inicio de la implantación del cribado, mientras que otros pacientes -como uno de los diagnosticados de defecto de la beta oxidación de los ácidos grasos de cadena corta, otro diagnosticado de defecto de la beta oxidación de los ácidos grasos de cadena media o uno de defecto de isobutiril coA deshidrogenasa- han permanecido en seguimiento escasos meses, al diagnosticarse al final del periodo de estudio.

Como ya se ha comentado, la **hiperprolinemia** es una alteración que incluso podría no ser considerada enfermedad, aunque se describe su asociación con esquizofrenia (100). En cualquier caso, parece razonable pensar que niveles ligeramente por encima de lo normal y ausencia de sintomatología podrían ser controlados por el Médico de Atención Primaria, siempre permaneciendo en contacto con el especialista en Enfermedades Metabólicas.

En nuestra experiencia, los pacientes con **metionina adenosiltransferasa (MAT I/III)**, así como aquellos diagnosticados con **defecto de la beta oxidación de los ácidos grasos de cadena corta (SCAD)** y **defecto de la beta oxidación de los ácidos grasos de cadena media (MCAD)**, no han presentado síntomas durante el tiempo de seguimiento. Sin embargo, cabe reseñar que la importancia

del diagnóstico precoz de estas enfermedades radica en la prevención de descompensaciones metabólicas que puedan derivar de situaciones de estrés o ayuno, por lo que la ausencia de síntomas no hace menos necesaria su detección. Ocurriría de manera similar con los pacientes diagnosticados de **3-metilcrotonilglicinuria** o **defecto de isobutiril coA deshidrogenasa**, cuya sintomatología puede no estar presente en los primeros meses de vida, pero que requieren controles estrechos para evitar descompensaciones.

Tampoco la paciente afecta de **homocistinuria clásica** presentó síntomas relacionados con la enfermedad en estos 5 años de experiencia (4 años y 6 meses de control de la paciente, diagnosticada en 2010), aunque esta es una patología de gran variabilidad clínica, tanto en los síntomas en sí, como en el momento y la cronología de su aparición.

Por último, es preciso señalar que tanto la paciente afecta de **defecto de carnitina palmitoil transferasa 1**, como la paciente diagnosticada de **defecto múltiple de carboxilasas**, fueron controladas durante un escaso periodo de tiempo, por no permanecer en España, por lo que es poco valorable esta ausencia de sintomatología.

9.12. Otras alteraciones metabólicas detectables mediante el cribado metabólico ampliado.

Como ya se ha comentado, la deficiencia de vitamina B12 de origen materno es una alteración que puede detectarse mediante el cribado metabólico ampliado, aunque no forme parte de las enfermedades objetivo del mismo. Sin embargo, su detección precoz puede beneficiarse de un tratamiento que evite las consecuencias neurológicas que conlleva esta alteración. Se trata de una alteración relativamente desconocida hasta hace unos años, y en nuestra experiencia, salvo un paciente que fue detectado en 2011, ha sido más frecuente en los últimos años. Es por ello importante tener en cuenta su existencia, para que no pase desapercibida, y poder proporcionar el seguimiento y tratamiento

necesarios. Además, cabe plantearse la necesidad de suplementar a las mujeres en edad reproductiva, o, al menos, a las embarazadas, con vitamina B12, como prevención de esta deficiencia.

9.13. Coste del cribado.

Un punto importante a discutir es el coste económico del cribado neonatal. Es complicado hacer una estimación de los costes económicos derivados del cribado ampliado, así como el gasto que puede evitarse gracias a la detección precoz de las enfermedades que se criban.

Con respecto a la clasificación de los costes derivados de los programas de salud, se podría hablar de tres tipos (222,224):

- *Costes directos*: son aquellos directamente atribuibles a la intervención en sí (tanto organizativos como operativos).
- *Costes indirectos*: son los que no forman parte de la intervención, pero sí son resultado de la misma, por ejemplo, el valor de la pérdida productiva causada por la ausencia al trabajo en un momento determinado.
- Por último, los *costes intangibles*, que pueden definirse como los efectos negativos de la intervención a los cuales no se puede dar un valor económico, sino más bien aspectos de tipo psicológico.

En cuanto a los *costes directos* del cribado neonatal, podrían agruparse en cinco apartados: los derivados de la recogida de la muestra y envío al laboratorio (material y personal implicado), los costes del análisis en el laboratorio, aquellos costes que implica el seguimiento de cada paciente (personal cualificado, comunicación a las familias, pruebas diagnósticas, etc.), el tratamiento requerido y aquellos costes asociados a los falsos positivos y negativos del cribado (224).

Si nos centramos en el análisis en el laboratorio, la espectrometría de masas en tándem se considera una técnica muy recomendable en términos de coste/efectividad. Esto se debe a que apenas hace uso de reactivos y consumibles

y tiene una elevada practicabilidad, al poder automatizarse también la etapa de preparación de las muestras y permitir obtener simultáneamente perfiles de metabolitos, las denominadas “Técnicas Múltiples” (14,225).

La introducción de la espectrometría de masas en tándem supone en nuestro medio un coste directo por cada recién nacido cribado de alrededor de 11 euros, incluyendo personal y material implicado en recogida de la muestra, envío y análisis en el laboratorio.

A pesar de que la tecnología en sí no es excesivamente costosa, a esto habría que añadir los gastos que supone el atender a cada recién nacido con cribado alterado en la consulta, hacer un seguimiento, realizar las pruebas complementarias necesarias, e instaurar un tratamiento en caso de requerirlo. Como es lógico, el coste es mayor y potencialmente evitable cuando el número de falsos positivos es más alto (226).

Por otro lado, es preciso valorar los beneficios -o *costes evitados*-, que pueden del mismo modo clasificarse en tres categorías diferentes (222,224):

- *Beneficios directos*, que incluyen el ahorro en tiempo y recursos sanitarios derivados de una mejoría en el estado de salud de cada persona.
- *Beneficios indirectos*: por mejoría en la productividad, como resultado del trabajo realizado por el paciente o sus familiares.
- Impacto en el estado de salud, expresado en términos de supervivencia, morbilidad y/o calidad de vida.

Los beneficios derivados del cribado neonatal ampliado se resumen en la mejoría en el estado de salud (tanto físico como mental, disminución de ingresos hospitalarios y de tratamientos de las complicaciones) de los individuos con alteración metabólica detectada, menor gasto en análisis de laboratorio requeridos para un diagnóstico -si la enfermedad debuta clínicamente-, el ahorro personal e institucional en cuidados necesarios para una persona con mayor o menor discapacidad, la pérdida de productividad tanto de los individuos como

de sus familias, y por supuesto, la mejoría en la calidad de vida y el evitar sufrimiento psicológico de pacientes y familiares (182,224).

Ya en 1968, Wilson y Jungner comunican que el verdadero beneficio económico del cribado radica en el hecho de alargar la vida productiva de estos pacientes en riesgo, y por tanto mejorar la economía global de la población (17). Según Cocho et al, en el Capítulo *Cribado neonatal de los errores congénitos del metabolismo* del libro *Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias*, el principal ahorro económico que implica un programa de cribado ampliado, sin entrar en aspectos éticos, viene derivado de evitar las severas discapacidades que genera una enfermedad no detectada de manera precoz (14).

Es difícil estimar los costes reales que se derivan de una enfermedad metabólica no detectada de manera precoz. Un trabajo publicado por el Instituto Carlos III cuantifica los costes derivados de diferentes enfermedades raras, oscilando los costes promedios anuales por paciente entre 18.300 € para pacientes con Esclerodermia y 94.200 € para pacientes con Distrofia Muscular de Duchenne. En esta publicación no se incluye, sin embargo, ninguna de las enfermedades detectables mediante MS/MS (227).

El Ministerio de Sanidad publicó la estimación de costes hospitalarios por GRD (Grupos Relacionados por el Diagnóstico) en el año 2014, donde se pueden observar los costes relacionados con cada episodio. Para un EIM aislado se estima un coste de 3.195 euros (por alta hospitalaria), mientras que para alteraciones orgánicas y retraso mental, habría que sumar 5.365 euros por cada ingreso hospitalario y 7.159 euros en caso de precisar rehabilitación. Si la patología mal controlada diera lugar a convulsiones, entre 2.383 y 2.984 euros por episodio. En caso de precisar trasplante por fallo hepático, la cifra ascendería a 61.450 euros (228). Como se puede ver, en este caso sólo se hace referencia a costes hospitalarios, por lo que habría que añadir los costes del tratamiento domiciliario, consultas y otros gastos derivados de los que se ha hablado previamente.

Relacionando costes y beneficios, son varios los estudios de coste-efectividad del cribado neonatal ampliado que han sido llevados a cabo. En Estados Unidos, se realizó un estudio con una enfermedad concreta, el déficit de la beta oxidación de ácidos grasos de cadena media MCAD, en el que se concluye que el cribado de esta patología es coste-efectivo si se compara con las intervenciones derivadas de la enfermedad en sí (62).

También en Francia se publicó un estudio que recomienda el cribado de MCAD desde un punto de vista económico (229).

Asimismo, son varios los trabajos que analizan de manera individual las diferentes enfermedades, como el de Pandor et al, en el que se llega a la conclusión de que el cribado de enfermedades como la fenilcetonuria, aciduria glutárica o MCAD, estaría claramente justificado desde un punto de vista económico. Además, puesto que la técnica para su cribado permite detectar sin coste adicional otras enfermedades, aunque la incidencia de estas otras sea baja, o su tratamiento de escaso coste, la inclusión de alteraciones como acidemias metilmalónicas, propiónicas e isovaléricas, estaría igualmente justificada (230,231).

No obstante, para que exista una buena relación coste-efectividad, es importante que el cribado se lleve a cabo de manera adecuada y precoz, pues si se demora su realización, como puede ser el caso de Reino Unido, aumenta la probabilidad de presentar complicaciones precoces (232).

Otro trabajo publicado en Canadá, donde se valoraba el coste-efectividad del cribado neonatal de 21 errores congénitos del metabolismo mediante MS/MS, concluye que éste es positivo si se criban varias enfermedades de vez, en lugar de individualmente. Pero también afirma que se optimiza si no se criban todas las posibles alteraciones que podrían detectarse con la técnica, sino únicamente las 9 siguientes: fenilcetonuria, acidemia metilmalónica, propiónica, isovalérica y glutárica tipo I, deficiencia de hidroximetilglutaril-CoA liasa, enfermedad de la

orina con olor a jarabe de arce, defecto de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media y muy larga y defecto del transportador de carnitina (233).

En Tailandia, por el contrario, se llevó a cabo un estudio de coste-efectividad, en el que comparaban el cribado que se realizaba hasta el momento (únicamente de fenilcetonuria) frente al cribado ampliado con MS/MS para 6 enfermedades (fenilcetonuria, acidemia isovalérica, metilmalónica y propiónica, enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce y defecto múltiple de carboxilasas). Se realizó una comparación en términos económicos frente a calidad de vida incrementada, así como ahorro en gastos en tratamiento. Concluyen que, en su contexto, el coste del cribado ampliado para estas enfermedades excede sus recursos, pese a la mejoría clínica de los pacientes afectados (234).

Un trabajo publicado recientemente en el estado de Washington (Estados Unidos) pone de manifiesto que, no sólo en términos de eficacia, sino puramente económicos, el cribado ampliado es rentable y se ajusta a los parámetros deseados (235).

Frente a los estudios de coste-efectividad, Hyry et al publican un trabajo en el que critican los estudios de eficiencia relacionados con las enfermedades raras meramente económicos, y que deberían tener un papel limitado en la toma de decisiones (236).

Como conclusión, parece razonable pensar que un cribado neonatal ampliado, realizado de manera adecuada y precoz, y mediante el uso de la espectrometría de masas en tándem, supone un importante beneficio que justifica el coste invertido en su desarrollo.

9.14. Consideraciones éticas.

Finalmente, pero no menos importante, otro gran tema a discutir son las consideraciones éticas que implica el cribado neonatal.

Como ya se ha comentado, el beneficio fundamental de un programa de cribado neonatal es la prevención de discapacidades asociadas a la enfermedad, y su objetivo principal, facilitar una mayor calidad y expectativa de vida a los niños afectados, teniendo también en cuenta el impacto que estas enfermedades produce sobre los padres, los hermanos e incluso otros familiares (127). Por este motivo, estaría justificado establecer un programa de cribado ampliado, que pudiera evitar el desarrollo de estas enfermedades, en muchos casos de elevada morbimortalidad e irreversibles.

Sin embargo, existe controversia en relación a si el cribado debe realizarse de forma voluntaria u obligatoria. El informe de la OMS sobre aspectos de genética médica declaró que los recién nacidos deberían tener una especial protección mediante cribado obligatorio, cuando el diagnóstico precoz y el tratamiento presenten claros efectos favorables sobre los resultados (237). En nuestro país, los programas de cribado no tienen carácter obligatorio, sino voluntario, en tanto en cuanto cada departamento de salud tiene autonomía relativa a la oferta de servicios establecida (1).

Según la Revisión sistemática *Efectividad clínica del cribado neonatal de los errores congénitos del metabolismo mediante espectrometría de masas en tándem*, del Ministerio de Sanidad y Consumo, uno de los principales aspectos éticos del cribado neonatal es que todo programa debería garantizar el acceso equitativo y universal de todos los recién nacidos, con la participación informada de los padres. Además, se debe garantizar la protección de la confidencialidad de los pacientes y sus familias (127).

Otro de los aspectos a tener en cuenta en relación con el cribado es qué enfermedades incluir. Los criterios iniciales de Wilson y Jungner, así como los modificados por Thomason et al establecen unos parámetros para justificar la inclusión o no de las diversas enfermedades en los programas de cribado (17, 18). Existe la característica añadida de que en la actualidad, al existir un método de cribado único para numerosas enfermedades, como es la espectrometría de

masas en tándem, la frecuencia que se considera para incluirlas es la suma de cada una de ellas.

Con respecto a la inclusión de nuevas enfermedades, es también importante no iniciar el cribado neonatal de una enfermedad si las ventajas de una detección temprana para el neonato no están claramente definidas y sin que haya garantías de la adecuada provisión, a todos los casos detectados, de un diagnóstico, un seguimiento y un tratamiento correctos por parte del sistema sanitario asistencial (2).

Desde un punto de vista ético, cabe señalar que programas con tendencia a incluir demasiadas enfermedades, como los que pueden llevarse a cabo en Estados Unidos, alcanzan el beneficio de diagnosticar muchas posibles enfermedades, pero maximizan los daños derivados de detecciones y tratamientos innecesarias. Por el contrario, programas más conservadores, como el de Reino Unido, minimizan estos perjuicios, pero pueden no diagnosticar enfermedades cuyo tratamiento podría estar indicado (182).

Un ejemplo de dilema ético con respecto al *exceso* de cribado sería el cribado mediante el estudio del genoma –o exoma- humano, pues podrían diagnosticarse mutaciones que genéticamente codifican para enfermedades y, sin embargo, no es posible conocer con certeza si esto se va a relacionar fenotípicamente con una enfermedad real, o en qué momento de la vida (183).

Es importante señalar, asimismo, que el proceso del cribado no finaliza en el diagnóstico de la enfermedad, sino que debe acompañarse de un adecuado seguimiento, y que el especialista en este seguimiento, así como el pediatra, deben estar lo suficientemente familiarizados, para que el cribado no suponga un impacto negativo (1). Es de suma importancia indicar, por tanto, que el cribado neonatal no debe identificarse sólo con un procedimiento de laboratorio, en el que se detecta una enfermedad, sino con una actividad multidisciplinar cuya coordinación con el sistema sanitario asistencial resulta imprescindible para asegurar su eficacia y eficiencia (2).

Otro aspecto ético a tener en cuenta es la posibilidad de identificar portadores dentro de una familia, tras un diagnóstico de un paciente: la justificación o no del coste, así como las implicaciones éticas de un resultado positivo (1). Con respecto a este tema, y según nuestra experiencia, parece justificado el estudio a los familiares, que, por lo general no presentarán sintomatología clínica, pero que, sin embargo, puede ser de gran ayuda para la futura descendencia.

Teniendo en cuenta estos hechos, el Comité de Ética del Instituto de Investigación de Enfermedades Raras del Instituto de Salud Carlos III publicó en 2006 una serie de recomendaciones sobre los aspectos éticos de los programas de cribado para EIM. Estas se resumen en los siguientes puntos (238):

1. Cuando se considere la conveniencia de establecer un programa de cribado, la propuesta debe someterse a un comité científico independiente que evalúe las pruebas científicas disponibles acerca de la potencialidad de que dicho programa pueda mejorar o no la historia natural de la enfermedad, o permitir la posibilidad del ofrecimiento de medidas preventivas o asesoramiento genético.
2. Todo programa de cribado debe someterse a un proceso de validación que demuestre su eficacia en condiciones semejantes a aquellas en que vaya a desarrollarse en la práctica, advirtiendo que la oferta de intervenciones de cribado cuya eficacia no esté demostrada es maleficiente.
3. Para garantizar el nivel de calidad adecuado y su mantenimiento, todo programa de cribado debería hacer explícitos los planes de formación continuada de los profesionales que vayan a participar en él.
4. Es necesario diferenciar entre la investigación y la intervención, pues un programa de cribado en fase de investigación debe expresar claramente este carácter, unido al hecho de que todavía no hay seguridad sobre los beneficios que pueda aportar al individuo que participe.
5. Por la propia naturaleza de los programas de cribado, se debe crear un grupo de trabajo interdisciplinario e identificar un responsable general del programa, así como las distintas actividades de seguimiento que el programa requiera (organización general, control de calidad de la prueba de cribado,

intervención médica y seguimiento clínico, servicios sociales, datos demográficos, archivos, evaluación, comunicación con el público, etc.).

6. Un programa de cribado debe desarrollar un protocolo para el seguimiento individual con respecto a distintos posibles resultados finales, incluyendo la garantía de disponibilidad de los servicios necesarios (diagnósticos, terapéuticos, asesoramiento, etc.). El protocolo debe indicar los intervalos de tiempo máximos que se consideran aceptables para pasar al escalón siguiente que corresponda, tras el resultado de la primera prueba.

7. Un programa de cribado debe establecer a priori los estándares mínimos de calidad de la prueba de cribado, de acuerdo con los mejores datos científicos disponibles. Esos estándares de calidad deben garantizarse mediante un control periódico que sea independiente.

8. La prueba de cribado debe ofrecerse a todos los miembros de la población diana de forma equitativa, de manera que permita el acceso universal.

9. Es un deber de los responsables del programa de cribado obtener el consentimiento informado del sujeto, sus representantes legales o ambos, según proceda, antes de realizar la actuación.

10. La información que se proporciona a cada individuo debe mencionar la naturaleza voluntaria de la participación, la validez y fiabilidad de las pruebas diagnósticas de primer y segundo nivel, la probabilidad de obtener falsos positivos y, por lo tanto, la inquietud temporal a que puedan verse sometidos hasta que se confirme o descarte el diagnóstico, las posibilidades de prevención o tratamiento de la enfermedad una vez diagnosticada, y las posibles incomodidades y acontecimientos adversos de las medidas diagnósticas, preventivas o terapéuticas que el programa conlleva.

11. Todo programa de cribado debe prever la evaluación periódica de los indicadores de calidad oportunos. Dichos indicadores deben ser previos, públicos y fácilmente accesibles.

Con todo ello, se podría concluir que el cribado neonatal ampliado debería establecerse de manera consentida y universal, con el fin de minimizar los perjuicios derivados de las enfermedades metabólicas, pero que la inclusión de las mismas debe realizarse teniendo en cuenta las consecuencias, y garantizando

un adecuado seguimiento y tratamiento de los pacientes. Además, es importante que el cribado se realice de forma segura y fiable, de acuerdo a unos estándares que es preciso revisar para garantizar el adecuado cumplimiento del mismo.

9.15. Mejora de futuro en el cribado metabólico ampliado.

Gracias a la evaluación de este programa de cribado, y una vez detectadas las debilidades, es importante plantear una mejora en los aspectos en los que no se ha logrado optimizar el desarrollo del programa.

Entre las debilidades que se han podido detectar en la evaluación de estos cinco años de cribado metabólico ampliado, como hemos visto, se encontrarían la presencia de falsos positivos, falsos negativos y el tiempo de demora hasta la primera visita en la consulta.

9.15.1. Falsos positivos.

En nuestra experiencia, la tasa de falsos positivos, aunque no es desdeñable, se mantiene dentro de los límites adecuados según los estándares de calidad de nuestro programa. No obstante, como se ha comentado previamente, los falsos positivos acarrearán costes innecesarios, tanto de tipo económico, como psicosociales para las familias. Por este motivo, un objetivo de los programas de mejora del cribado debe ser siempre minimizar esta cifra. Lógicamente, si se elevan demasiado los valores de corte de los metabolitos, para evitar el exceso de falsos positivos, disminuye la capacidad de detección del cribado, pudiendo dar lugar a falsos negativos.

Es, por tanto, preciso ser cautos a la hora de modificar los valores de corte, siendo necesaria tanto la experiencia personal –clínica y analítica-, como la colaboración con otros programas de cribado.

9.15.2. Falsos negativos.

Aunque lo ideal sería que ningún paciente se diagnosticara por aparición de sintomatología o descompensaciones metabólicas, uno entre 69.493 recién nacidos es una cifra aceptable, si se tiene en cuenta lo comentado en el apartado anterior, que la disminución de falsos negativos acarrea como consecuencia el aumento en los falsos positivos, y viceversa.

Es necesario añadir, no obstante, que la variabilidad clínica de las diferentes enfermedades metabólicas hereditarias hace que la aparición de síntomas pueda suceder a lo largo de toda la infancia, e incluso de la edad adulta. Por ello, no es imposible que el número de falsos negativos, en un periodo de observación mayor, aumentara también.

9.15.3. Tiempo de demora hasta la primera visita.

Con respecto al tiempo de demora hasta la primera visita, se ha comprobado que se ha ido mejorando con los años de experiencia. Al inicio del programa eran las familias quienes se citaban para la consulta, pero se observó que si se les asignaba una cita en cuanto se detectaba la alteración en el cribado, no se producía tanta demora. En cualquier caso, una sospecha de enfermedad grave se ha atendido en todo momento, con la mayor premura.

Es necesario, sin embargo, disminuir este tiempo todo lo posible, para lo cual podría agilizarse el tiempo de transporte del cartón de sangre seca al laboratorio, tratar de procesar más rápidamente las muestras, tomar una segunda muestra con la mayor brevedad posible, y citar al día siguiente al paciente para valoración clínica y completar el estudio.

9.15.4. Mejora en la información a las familias.

Además de los aspectos que se han señalado previamente, es importante reseñar que una de las grandes ventajas que se adquiere con la experiencia y la evaluación de los programas de cribado es la mejora en la información que puede ofrecerse a las familias. Una información adecuada, veraz y fehaciente

acerca del manejo y pronóstico de las distintas enfermedades, y que puede contribuir tanto a su conocimiento, como a disminuir el estrés y mejorar la calidad de vida de pacientes y familias, un aspecto muy importante al tratarse de enfermedades crónicas y con alto contenido psicosocial.

9.16. Implicaciones prácticas.

- El mayor conocimiento de algunas alteraciones paucisintomáticas permitirá hacer nuevas recomendaciones acerca de las enfermedades que deben incluirse en los Programas de Cribado, y así permitir una mejoría del coste-efectividad.
- La experiencia adquirida permite, además, proporcionar una información más concreta a las familias.
- Sería recomendable valorar la suplementación con vitamina B12 a las madres gestantes.

Conclusiones

1. La introducción de la espectrometría de masas en tándem en el cribado neonatal nos ha permitido detectar en este periodo 33 casos afectos de un error congénito del metabolismo, lo cual supone una incidencia de 1 por cada 2.105 recién nacidos.
2. Las enfermedades metabólicas más prevalentes han sido la hiperfenilalaninemia y los defectos de la beta-oxidación de cadena corta y media.
3. Todos los casos se han detectado antes de la aparición de la sintomatología clínica, permaneciendo asintomáticos o paucisintomáticos, gracias a instaurar las medidas terapéuticas indicadas en cada caso.
4. Los estándares de calidad requeridos en un programa de cribado se han cumplido adecuadamente durante el periodo de estudio.
5. La incidencia de los diferentes errores innatos del metabolismo halladas en nuestro centro son similares a las descritas en otros programas de cribado españoles, aunque son más elevadas que la mayoría de las publicadas en otros países.
6. Una cuarta parte de otras alteraciones metabólicas corresponden a deficiencia de vitamina B12. Es fundamental su detección y tratamiento para evitar la aparición de sintomatología.
7. En el caso de los recién nacidos prematuros, es preciso adecuar el programa de cribado.
8. La experiencia acumulada durante este periodo nos ha permitido mejorar los resultados del cribado metabólico ampliado.

Bibliografía

1. González Lamuño D. Aspectos generales del cribado metabólico. In: González Lamuño D, Aldámiz Echevarría L, Couce Pico ML, editor. Manual Clínico del Cribado Metabólico. Santiago de Compostela: Servizo de Publicacións e Intercambio Científico; 2012: 17-26.
2. Dulin-Iñiguez E, Espada M, Eguileor-Guturbai I. Programas de cribado neonatal. *An Pediatr Contin* 2006;4(1):61-5.
3. Calderón López GM, Jiménez Parrilla F, Losada Martínez A. Screening neonatal. In: *Protocolos Diagnóstico Terapéuticos de la AEP (Asociación Española de Pediatría): Neonatología*; 2008: 423-33.
4. Cocho JA, Castiñeiras DE, Boveda MD, Colon C, Fernandez A, Couce ML, et al. Cribado neonatal de los errores congénitos del metabolismo. In: Sanjurjo P, Baldellou A, editor. *Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias*. 4 ed. Madrid: Ergon; 2014: 45-68.
5. González-Lamuño D. Screening metabólico neonatal expandido. *Bol Pediatr* 2008;48:329-31.
6. Guthrie R, Susi A. A Simple Phenylalanine Method for Detecting Phenylketonuria in Large Populations of Newborn Infants. *Pediatrics* 1963;32:338-43.
7. Sweetman L. Newborn screening by tandem mass spectrometry: gaining experience. *Clin Chem* 2001;47(11):1937-8.
8. Efron ML, Young D, Moser HW, Maccready RA. A Simple Chromatographic Screening Test for the Detection of Disorders of Amino Acid Metabolism. A Technic Using Whole Blood or Urine Collected on Filter Paper. *N Engl J Med* 1964;270:1378-83.
9. Millington DS, Kodo N, Norwood DL, Roe CR. Tandem mass spectrometry: a new method for acylcarnitine profiling with potential for neonatal screening for inborn errors of metabolism. *J Inher Metab Dis* 1990;13(3):321-4.
10. American College of Medical Genetics/American Society of Human Genetics Test and Technology Transfer Committee Working Group. Tandem mass spectrometry in newborn screening. *Genet Med* 2000;2(4):267-9.
11. Rashed MS, Ozand PT, Bucknall MP, Little D. Diagnosis of inborn errors of metabolism from blood spots by acylcarnitines and amino acids profiling using

automated electrospray tandem mass spectrometry. *Pediatr Res* 1995;38(3):324-31.

12. Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns. *Clin Chem* 2003;49(11):1797-817.

13. Rinaldo P. The impact of tandem mass spectrometry on Biochemical Genetics. *Ital J Pediatr* 2001;2001:696-7.

14. Cocho de Juan J. Desarrollo de un método por espectrometría de masas en tándem para la de determinación de acilcarnitinas y la detección neonatal de alteraciones del metabolismo de ácidos orgánicos y ácidos grasos [Tesis doctoral]. Santiago de Compostela: Univesidad de Santiago de Compostela; 2007.

15. Jones PM, Bennett MJ. The changing face of newborn screening: diagnosis of inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *Clin Chim Acta* 2002;324(1-2):121-8.

16. la Marca G, Malvagia S, Casetta B, Pasquini E, Donati MA, Zammarchi E. Progress in expanded newborn screening for metabolic conditions by LC-MS/MS in Tuscany: update on methods to reduce false tests. *J Inherit Metab Dis* 2008;31 Suppl 2:S395-404.

17. Wilson JM, Jungner YG. [Principles and practice of mass screening for disease]. *Bol Oficina Sanit Panam* 1968;65(4):281-393.

18. Thomason MJ, Lord J, Bain MD, Chalmers RA, Littlejohns P, Addison GM, et al. A systematic review of evidence for the appropriateness of neonatal screening programmes for inborn errors of metabolism. *J Public Health Med* 1998;20(3):331-43.

19. Juan Fita MJ. Situación de los Programas de Cribado Neonatal en España. In: Hereditarias XCNdEM, editor. *La Manga del Mar Menor*; 2012: 3.

20. Marín Soria JL, Aldamiz-Echevarria L, Castiñeiras Ramos DE, Dalmau Serra J, Fernández Sánchez A, González Lamuño D, et al. Programas de cribado neonatal en España: Actualización y propuestas de futuro. AECOM (Asociación Española para el estudio de Errores Congénitos del Metabolismo). AEP-SEIM (Asociación Española de Pediatría, Sección de Errores Innatos del Metabolismo). SEQC-DP (Sociedad Española de Química Clínica y Patología Molecular, Comisión de Diagnóstico Perinatal); 2009: 1-117.

21. Bodamer OA, Hoffmann GF, Lindner M. Expanded newborn screening in Europe 2007. *J Inher Metab Dis* 2007;30(4):439-44.
22. Juan-Fita MJ, Egea-Mellado JM, González-Gallego I, Moya-Quiles MR, Fernández-Sánchez A. Cribado neonatal ampliado en la Región de Murcia. Experiencia de tres años. *Med Clin (Barc)* 2012;139(13):566-71.
23. Fraga Bermúdez JM, Alonso Fernández JR, Cocho de Juan JA, Bóveda Fontán MD, Castiñeiras Ramos DE, et al. Diagnóstico precoz de los errores congénitos del metabolismo: un camino hacia la salud y la prevención. Unidad de Diagnóstico y Tratamiento de los Errores Congénitos del Metabolismo (UDTECM). Santiago de Compostela: Real Patronato sobre Discapacidad Cuidado de la edición y distribución: Centro Español de Documentación sobre Discapacidad; 2009: 2-66.
24. BOA Secretaría General Técnica. Servicio de Gestión Económica, Contratación y Asuntos Generales. Sección de Información y Documentación. ORDEN de 13 de julio de 2007, del Departamento de Salud y Consumo, por la que se regula el Cribado Neonatal en la Comunidad Autónoma de Aragón. In: BOA, editor. 89; 2007.
25. Departamento de Salud y Consumo. Instrucciones de 21 de enero de 2011 por las que se regula el cribado neonatal en la cartera de servicios del sistema de salud de Aragón y la designación de servicios de referencia para el diagnóstico definitivo, tratamiento y seguimiento de las alteraciones y enfermedades objeto de cribado. Gobierno de Aragón 2011:1-5.
26. Departamento de Salud y Consumo. Anexos a instrucciones cribado neonatal. In: Gobierno de Aragón; 2011: 1-29.
27. Kaye CI, Committee on G, Accurso F, La Franchi S, Lane PA, Hope N, et al. Newborn screening fact sheets. *Pediatrics* 2006;118(3):e934-63.
28. Torres-Sepúlveda MT, Martínez-de Villarreal LE, Esmer C, González-Alanís R, Ruiz-Herrera C, Sánchez-Peña A, Mendoza-Cruz JA, et al. Tamiz metabólico neonatal por espectrometría de masas en tándem: dos años de experiencia en Nuevo León, México. *Salud Pública de México* 2008;50(3):200-6.
29. Vilarinho L, Rocha H, Sousa C, Marcao A, Fonseca H, Bogas M, et al. Four years of expanded newborn screening in Portugal with tandem mass spectrometry. *J Inher Metab Dis* 2010;33 Suppl 3:S133-8.

30. Niu DM, Chien YH, Chiang CC, Ho HC, Hwu WL, Kao SM, et al. Nationwide survey of extended newborn screening by tandem mass spectrometry in Taiwan. *J Inherit Metab Dis* 2010;33(Suppl 2):S295-305.
31. Comité de Calidad de AECNE (Asociación Española de Cribado Neonatal). Datos acumulados de Programas de Cribado Neonatal en España. In: Neonatal AEdC, editor. Internet. Barcelona: Asociación Española de Cribado Neonatal; 2013.
32. Russo PA, Mitchell GA, Tanguay RM. Tyrosinemia: a review. *Pediatr Dev Pathol* 2001;4(3):212-21.
33. Lund AM, Hougaard DM, Simonsen H, Andresen BS, Christensen M, Duno M, et al. Biochemical screening of 504,049 newborns in Denmark, the Faroe Islands and Greenland--experience and development of a routine program for expanded newborn screening. *Mol Genet Metab* 2012;107(3):281-93.
34. De Braekeleer M, Larochelle J. Genetic epidemiology of hereditary tyrosinemia in Quebec and in Saguenay-Lac-St-Jean. *Am J Hum Genet* 1990;47(2):302-7.
35. Couce ML, del Río I, Picón M, Bóveda MD, Cocho JA, Fraga JM. Avances en el diagnóstico y tratamiento de los niños con tirosinemia tipo I. *Pediatríka* 2006;26(1):29-34.
36. Huhn R, Stoermer H, Klingele B, Bausch E, Fois A, Farnetani M, et al. Novel and recurrent tyrosine aminotransferase gene mutations in tyrosinemia type II. *Hum Genet* 1998;102(3):305-13.
37. Chuang DT, Shih VE. Maple syrup urine disease (branched chain ketoaciduria). In: Scriver CR BA, Sly WS, Valle D, editor. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2001: 1971-2006.
38. Varo Sánchez GM, González Moral ML, Sánchez Pérez R, Bobilo Lobato J. Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce. In: Varo Sánchez GM BLJ, Tejedor Hernández E, editor. *Manual de medicina perinatal. Estudio de los Errores Congénitos del Metabolismo en el Laboratorio Clínico*; 2014: 93-101.
39. Feuchtbaum L, Lorey F, Faulkner L, Sherwin J, Currier R, Bhandal A, et al. California's experience implementing a pilot newborn supplemental screening program using tandem mass spectrometry. *Pediatrics* 2006;117(5 Pt 2):S261-9.

40. Lindner M, Abdoh G, Fang-Hoffmann J, Shabeck N, Al-Sayrafi M, Al-Janahi M, et al. Implementation of extended neonatal screening and a metabolic unit in the State of Qatar: developing and optimizing strategies in cooperation with the Neonatal Screening Center in Heidelberg. *J Inherit Metab Dis* 2007;30(4):522-9.
41. Hassan FA, El-Mougy F, Sharaf SA, Mandour I, Morgan MF, Selim LA, et al. Inborn errors of metabolism detectable by tandem mass spectrometry in Egypt: The first newborn screening pilot study. *J Med Screen* 2016;23(3):124-9.
42. García Jiménez MC, Baldellou Vázquez A. Homocistinuria: ¿una gran desconocida? Claves para el diagnóstico en atención primaria. *Acta Pediatr Esp* 2009;67(11):535-41.
43. Kraus JP, Janosik M, Kozich V. Cystathionine betasynthase mutations in homocystinuria. *Hum Mutat* 1999;13:362-75.
44. Yap S, Naughten E. Homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency in Ireland: 25 years' experience of a newborn screened and treated population with reference to clinical outcome and biochemical control. *J Inherit Metab Dis* 1998;21(7):738-47.
45. Sander J, Janzen N, Sander S, Steuerwald U, Das AM, Scholl S. Neonatal screening for citrullinaemia. *Eur J Pediatr* 2003;162(6):417-20.
46. Martin-Hernandez E, Aldamiz-Echevarria L, Castejon-Ponce E, Pedron-Giner C, Couce ML, Serrano-Nieto J, et al. Urea cycle disorders in Spain: an observational, cross-sectional and multicentric study of 104 cases. *Orphanet J Rare Dis* 2014;9:187.
47. Barends M, Pitt J, Morrissy S, Tzanakos N, Boneh A, Newborn Screening Laboratory S. Biochemical and molecular characteristics of patients with organic acidaemias and urea cycle disorders identified through newborn screening. *Mol Genet Metab* 2014;113(1-2):46-52.
48. Ormazábal Herrero A, Casado Río M, Molero Luis M, Altimira Queral M. Alteraciones del ciclo de la urea. In: Varo Sánchez GM, Bobilo Lobato J, Tejedor Hernández E, editor. *Manual de medicina perinatal. Estudio de los Errores Congénitos del Metabolismo en el Laboratorio Clínico*; 2014: 117-30.
49. Rinaldo P, Whitley RJ, Rhead WJ, Hannon WH. Evidence-Based Rationale for Expanded Newborn Screening. In: Bennett MJ, editor. *Follow-up testing for metabolic diseases identified by expanded newborn screening using tandem*

mass spectrometry. Washington DC: American Association for Clinical Chemistry, Inc.; 2009: 1-8.

50. Horwich AL. Urea cycle enzymes. In: Scriver, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B, Kinzler K, editor. The metabolic and molecular bases of inherited diseases. 7th ed. New York: McGraw-Hill; 2001: 1909-64.

51. Yahyaoui Macías R, Serrano Nieto J, Blasco Alonso J, Rueda Fernández I. Alteraciones del ciclo y transporte de la carnitina. In: Varo Sánchez GM, Bobilo Lobato J, Tejedor Hernández E, editor. Manual de medicina perinatal. Estudio de los Errores Congénitos del Metabolismo en el Laboratorio Clínico; 2014: 151-62.

52. Zschocke, Hoffmann G. Metabolic pathways and their disorders. Fatty acid and ketone body metabolism. In: Milupa metabolics, editor. Vademecum metabolicum. Diagnosis and treatment of Inborn Errors of Metabolism. 3^a ed. Germany: Schattauer; 2011: 90-5.

53. Koizumi A, Nozaki J, Ohura T, Kayo T, Wada Y, Nezu J, et al. Genetic epidemiology of the carnitine transporter OCTN2 gene in a Japanese population and phenotypic characterization in Japanese pedigrees with primary systemic carnitine deficiency. *Hum Mol Genet* 1999;8(12):2247-54.

54. Magoulas PL, El-Hattab AW. Systemic primary carnitine deficiency: an overview of clinical manifestations, diagnosis, and management. *Orphanet J Rare Dis* 2012;7:68.

55. Tein, I. Carnitine transport: Pathophysiology and metabolism of known molecular defects. *J Inherit Metab Dis* 2003;26 (2):147-69.

56. Jethva R, Bennett MJ, Vockley J. Short-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency. *Mol Genet Metab* 2008;95(4):195-200.

57. Naito E, Indo Y, Tanaka K. Short chain acyl-coenzyme A dehydrogenase (SCAD) deficiency. Immunochemical demonstration of molecular heterogeneity due to variant SCAD with differing stability. *J Clin Invest* 1989;84(5):1671-4.

58. Amendt BA, Greene C, Sweetman L, Cloherty J, Shih V, Moon A, et al. Short-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency. Clinical and biochemical studies in two patients. *J Clin Invest* 1987;79(5):1303-9.

59. Rivero Marcotegui A, Etayo Etayo V, Sánchez Valverde F, Romo Rivero A. Alteraciones de la beta-oxidación de ácidos grasos. In: Varo Sánchez GM, Bobilo

Lobato J, Tejedor Hernández E, editor. Manual de medicina perinatal. Estudio de los Errores Congénitos del Metabolismo en el Laboratorio Clínico; 2014: 163-71.

60. Bennett MJ, Rinaldo P, Strauss AW. Inborn errors of mitochondrial fatty acid oxidation. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2000;37(1):1-44.

61. Wilcken B, Haas M, Joy P, Wiley V, Chaplin M, Black C, Fletcher J, McGill J, Boneh A. Outcome of neonatal screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in Australia: a cohort study. *Lancet* 2007;369(9555):37-42.

62. Prosser LA, Kong CY, Rusinak D, Waisbren SL. Projected costs, risks, and benefits of expanded newborn screening for MCADD. *Pediatrics* 2010;125(2):e286-94.

63. Grosse SD, Khoury MJ, Greene CL, Crider KS, Pollitt RJ. The epidemiology of medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: an update. *Genet Med* 2006;8(4):205-12.

64. Wilcken B, Haas M, Joy P, Wiley V, Bowling F, Carpenter K, et al. Expanded newborn screening: outcome in screened and unscreened patients at age 6 years. *Pediatrics* 2009;124(2):e241-8.

65. Couce ML, Sanchez-Pintos P, Diogo L, Leao-Teles E, Martins E, Santos H, et al. Newborn screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: regional experience and high incidence of carnitine deficiency. *Orphanet J Rare Dis* 2013;8:102.

66. Schrijver-Wieling I, van Rens GH, Wittebol-Post D, Smeitink JA, de Jager JP, de Klerk HB, et al. Retinal dystrophy in long chain 3-hydroxy-acyl-coA dehydrogenase deficiency. *Br J Ophthalmol* 1997;81(4):291-4.

67. Karall D, Brunner-Krainz M, Kogelnig K, Konstantopoulou V, Maier EM, Moslinger D, et al. Clinical outcome, biochemical and therapeutic follow-up in 14 Austrian patients with Long-Chain 3-Hydroxy Acyl CoA Dehydrogenase Deficiency (LCHADD). *Orphanet J Rare Dis* 2015;10:21.

68. den Boer ME, Wanders RJ, Morris AA, IJlst L, Heymans HS, Wijburg FA. Long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency: clinical presentation and follow-up of 50 patients. *Pediatrics* 2002;109(1):99-104.

69. Schymik I, Liebig M, Mueller M, Wendel U, Mayatepek E, Strauss AW, et al. Pitfalls of neonatal screening for very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency using tandem mass spectrometry. *2006* 2006;149(1):128-30.
70. Brown A, Crowe L, Andresen BS, Anderson V, Boneh A. Neurodevelopmental profiles of children with very long chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency diagnosed by newborn screening. *Mol Genet Metab* 2014;113(4):278-82.
71. Evans M, Andresen BS, Nation J, Boneh A. VLCAD deficiency: Follow-up and outcome of patients diagnosed through newborn screening in Victoria. *Mol Genet Metab* 2016; 118(4):282-7.
72. Harding C, LaFranchi SL, Thomas G, Wall M, Skeels MR, Hermerath CA, Caudle L, Whittemore BJ. Oregon Practitioner's Manual. In: Oregon Health & Science University OHAPH, editor. Internet. 9th ed. Oregon; 2010: 1-70.
73. Spiekerkoetter U, Sun B, Zytkevicz T, Wanders R, Strauss AW, Wendel U. MS/MS based newborn and family screening detects asymptomatic patients with very long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *J Pediatr* 2003;143:335-42.
74. Shigematsu Y, Hiramoto S, Hata I, Tanaka Y, Sudo M, Tajima T, et al. Selective screening for fatty acid oxidation disorders by tandem mass spectrometry: difficulties in practical discrimination. *J Chromatogr B* 2003;792:63-72.
75. Edmondson AC, Salant J, Ierardi-Curto LA, Ficicioglu C. Missed Newborn Screening Case of Carnitine Palmitoyltransferase-II Deficiency. *JIMD Rep* [Internet] 2016 [fecha de consulta: mayo 2016]. Disponible en: http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F8904_2016_528.
76. Rubio-Gozalbo ME, Bakker JA, Waterham HR, Wanders RJ. Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency, clinical, biochemical and genetic aspects. *Mol Aspects Med* 2004;25(5-6):521-32.
77. Vitoria I, Martin-Hernandez E, Pena-Quintana L, Bueno M, Quijada-Fraile P, Dalmau J, et al. Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency: experience with four cases in Spain and review of the literature. *JIMD Rep* 2015;20:11-20.
78. Lee R, Lam CW, Lai CK, Yuen YP, Chan KY, Shek CC, et al. Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency in three neonates presenting with rapid deterioration and cardiac arrest. *Hong Kong Med* 2007;13(1):66-8.

79. Couce Pico ML, Castiñeiras Ramos DE, López Sousa M, Fernández Seara MJ, Eirís Puñal J, Cocho de Juan JA. Importancia del diagnóstico precoz y el tratamiento temprano en el pronóstico de la aciduria glutárica tipo I. *An Pediatr (Barc)* 2008;69(3):239-43.
80. Brown A, Crowe L, Beauchamp MH, Anderson V, Boneh A. Neurodevelopmental profiles of children with glutaric aciduria type I diagnosed by newborn screening: a follow-up case series. *JIMD Rep* 2015;18:125-34.
81. Lindner M, Kolker S, Schulze A, Christensen E, Greenberg CR, Hoffman GF. Neonatal screening for glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *J Inherit Metab Dis* 2004;27:851-9.
82. Kolker S, Christensen E, Leonard JV, Greenberg CR, Burlina AB, Burlina AP, et al. Guideline for the diagnosis and management of glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency (glutaric aciduria type I). *J Inherit Metab Dis* 2007;30(1):5-22.
83. Hsieh CT, Hwu WL, Huang YT, Huang AC, Wang SF, Hu MH, et al. Early detection of glutaric aciduria type I by newborn screening in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 2008;107(2):139-44.
84. Couce ML, Castiñeiras DE, Boveda MD, Bana A, Cocho JA, Iglesias AJ, et al. Evaluation and long-term follow-up of infants with inborn errors of metabolism identified in an expanded screening programme. *Mol Genet Metab* 2011;104(4):470-5.
85. Kölker S, Boy SP, Heringer J, Müller E, Maier EM, Ensenauer R, et al. Complementary dietary treatment using lysine-free, arginine-fortified amino acid supplements in glutaric aciduria type I — a decade of experience. *Mol Genet Metab* 2012;107(1-2):72-80.
86. Dulín Íñiguez E, Espada Sáez-Torre M, García Silva MT. Acidemia glutárica tipo I. In: Varo Sánchez GM, Bobilo Lobato J, Tejedor Hernández E, editor. *Manual de medicina perinatal. Estudio de los Errores Congénitos del Metabolismo en el Laboratorio Clínico*; 2014: 141-8.
87. Vockley J, Ensenauer R. Isovaleric Acidemia: New Aspects of Genetic and Phenotypic Heterogeneity. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2006;142C(2):95-103.

88. Dionisi-Vici C, Deodato F, Röschinger W, Rhead W, Wilcken B. 'Classical' organic acidurias, propionic aciduria, methylmalonic aciduria and isovaleric aciduria: long-term outcome and effects of expanded newborn screening using tandem mass spectrometry. *J Inher Metab Dis* 2006;29(2-3):383-9.
89. Cloppenborg T, Janzen N, Wagner H, Steuerwald U, Peter M, Das A. Application of a second-tier newborn screening assay for c5 isoforms. *JIMD Rep* 2014;13:23-6.
90. Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D, Olgemöller K, Mayatepek E, Hoffmann GF. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. *Pediatrics* 2003;111(6 Pt 1):1399-406.
91. Baumgartner MR, Hörster F, Dionisi-Vici C, Haliloglu G, Karall D, Chapman KA, et al. Proposed guidelines for the diagnosis and management of methylmalonic and propionic acidemia. *Orphanet J Rare Dis* 2014;9:130-66.
92. Dietzen DJ, Rinaldo P, Whitley RJ, Rhead WJ, Hannon WH, Garg UC, et al. National academy of clinical biochemistry laboratory medicine practice guidelines: follow-up testing for metabolic disease identified by expanded newborn screening using tandem mass spectrometry; executive summary. *Clin Chem* 2009;55(9):1615-26.
93. Saudubray JM. Propionic acidemia. *Orphanet* [Actualizado 2014; consultado junio 2015]. Disponible en <http://orpha.net>.
94. Sutton VR, Chapman KA, Gropman AL, MacLeod E, Stagni K, Summar ML, et al. Chronic management and health supervision of individuals with propionic acidemia. *Mol Genet Metab* 2012;105:26-33.
95. Fowler B, Leonard JV, Baumgartner MR. Causes of and diagnostic approach to methylmalonic acidurias. *J Inher Metab Dis* 2008;31(3):350-60.
96. Scolamiero E, Villani GR, Ingenito L, Pecce R, Albano L, Caterino M, et al. Maternal vitamin B12 deficiency detected in expanded newborn screening. *Clin Biochem* 2014;47(18):312-7.
97. Deodato F, Boenzi S, Santorelli FM, Dionisi-Vici C. Methylmalonic and propionic aciduria. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2006;142C(2):104-12.
98. Tu WJ. Methylmalonic acidemia in mainland China. *Ann Nutr Metab* 2011;58(4):281.

99. Jiménez González D, Jiménez Ventura I, Merino Fernández S, Unceta Suárez M. Acidemias orgánicas. In: Varo Sánchez GM BLJ, Tejedor Hernández E, editor. Manual de medicina perinatal. Estudio de los Errores Congénitos del Metabolismo en el Laboratorio Clínico; 2014:133-40.
100. Zschocke J, Hoffmann GF. Metabolic pathways and their disorders. Amino acid and peptide metabolism. In: Milupa metabolics, editor. Vademecum metabolicum. Diagnosis and treatment of Inborn Errors of Metabolism. 3^a ed. Germany: Schattauer; 2011:54-79.
101. Gibson KM, Breuer J, Nyhan WL. 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase deficiency: review of 18 reported patients. *Eur J Pediatr* 1988;148:180-6.
102. Merinero Cortés B, Pérez-Cerdá Silvestre C. Acidemia isovalérica. Alteraciones del catabolismo de leucina y valina. In: Sanjurjo P, Baldellou A, editor. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias. 4 ed. Madrid: Ergon; 2014: 555-68.
103. Fukao T, Scriver CR, Kondo N. The clinical phenotype and outcome of mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase deficiency (beta-ketothiolase or T2 deficiency) in 26 enzymatically proved and mutation-defined patients. *Mol Genet Metab* 2001;72:109-14.
104. Pintos Morell G, Galán Ortega A, Díaz Gómez A. Alteraciones de la síntesis y de la utilización de los cuerpos cetónicos. In: Sanjurjo P, Baldellou A, editor. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias. Madrid: Ergon; 2014: 627-41.
105. Sarafoglou K, Matern D, Redlinger-Grosse K, Bentler K, Gaviglio A, Harding CO, et al. Siblings with mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase deficiency not identified by newborn screening. *Pediatrics* 2011;128(1):e246-50.
106. Gallardo ME, Desviat LR, Rodríguez JM, Esparza-Gordillo J, Pérez-Cerdá C, Pérez B, et al. The molecular basis of 3-methylcrotonylglycinuria, a disorder of leucine catabolism. *Am J Hum Genet* 2001;68(2):334-46.
107. Koeberl DD, Millington DS, Smith WE, Weavil SD, Muenzer J, McCandless SE, et al. Evaluation of 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency detected by tandem mass spectrometry newborn screening. *J Inher Metab Dis* 2003;26(1):25-35.

108. Forsyth R, Vockley CW, Edick MJ, Cameron CA, Hiner SJ, Berry SA, et al. Outcomes of cases with 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase (3-MCC) deficiency - Report from the Inborn Errors of Metabolism Information System. *Mol Genet Metab* 2016;118(1):15-20.
109. Stadler SC, Polanetz R, Maier EM, Heidenreich SC, Niederer B, Mayerhofer PU, et al. Newborn screening for 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency: population heterogeneity of MCCA and MCCB mutations and impact on risk assessment. *Hum Mutat* 2006;27(8):748-59.
110. Gibson KM, Burlingame TG, Hogema B, Jakobs C, Schutgens RB, Millington D, et al. 2-methylbutyryl-coenzyme A dehydrogenase deficiency: a new inborn error of L-isoleucine metabolism. *Pediatr Res* 2000;47(6):830-3.
111. Korman SH. Inborn errors of isoleucine degradation: a review. *Mol Genet Metab* 2006;89:289-99.
112. van Calcar SC, Gleason LA, Lindh H, Hoffman G, Rhead W, Vockley G, et al. 2-methylbutyryl-CoA dehydrogenase deficiency in Hmong infants identified by expanded newborn screen. *Official Publication of the State Medical Society of Wisconsin: WMJ* 2007;106(1):12-5.
113. Knerr I, Weinhold N, Vockley J, Gibson KM. Advances and challenges in the treatment of branched-chain/keto acid metabolic defects. *J Inherit Metab Dis* 2012;35(1):29-40.
114. American Academy of Pediatrics, Committee on Genetics: Issues in newborn screening. *Pediatrics* 1992;89(2):345-9.
115. Moxley S. Neonatal heel puncture. *Can Nurse* 1989;85(1):25-7.
116. Meehan RM. Heelsticks in neonates for capillary blood sampling. *Neonatal Netw* 1998;17(1):17-24.
117. Correcher Medina P, Pedrón Marzal G, Rey Simón R, Calvo Rigual F. Venopunción en el dorso de la mano. ¿Una alternativa a la punción del talón? *An Pediatr (Barc)* 2012;77(6):381-5.
118. McKay RJ. Diagnosis and treatment: risks of obtaining samples of venous blood in infants. *Pediatrics* 1966;38(5):906-8.
119. Lawrence J, Alcock D, Mcgrath P, Kay J, Macmurray SB, Dulberg C. The development of a tool to assess neonatal pain. *Neonatal Netw*. 1993;12:59-66.

120. Grunau RE, Oberlander T, Holsti L, Whitfield MF. Bedside application of the neonatal facial coding system in pain assessment of premature neonates. *Pain* 1998;76:277-86.
121. Aguirre Unceta-Barrenechea A, Saitua Iturriaga G, Sainz de Rozas Aparicio I, Riveira Fernández D. Analgesia en la toma sanguínea de talón en los recién nacidos. *An Pediatr (Barc)* 2008;69(6):544-7.
122. Chace DH, Hannon WH. Filter Paper as a Blood Sample Collection Device for Newborn Screening. *Clin Chem* 2016;62(3):423-5.
123. Cavedon CT, Bourdoux P, Mertens K, Van Thi HV, Herremans N, de Laet C, et al. Age-related variations in acylcarnitine and free carnitine concentrations measured by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 2005;51(4):745-52.
124. Khoury MJ, McCabe LL, McCabe ER. Population screening in the age of genomic medicine. *N Engl J Med* 2003;348:50-8.
125. Sweetman L, Millington DS, Therrell BL, Hannon WH, Popovich B, Watson MS, et al. Naming and counting disorders (conditions) included in newborn screening panels. *Pediatrics* 2006;117(5 Pt 2):S308-14.
126. Zschocke J, Hoffmann GF. *Vademecum metabolicum. Diagnosis and treatment of Inborn Errors of Metabolism*. 3^a ed. Germany: Schattauer; 2011.
127. Paz Valiñas L, Atienza Merino G. Efectividad clínica del cribado neonatal de los errores congénitos del metabolismo mediante espectrometría de masas en tándem Revisión sistemática. In: Ministerio de Sanidad y Consumo, editor. Madrid: Avalia-T; 2007.
128. Watson MS, Lloyd-Puryear MA, Mann MY, Rinaldo P, Howell R. Newborn Screening: Toward a Uniform Screening Panel and System. *Genet Med* 2006;8(5 Suppl 1):12S-252S.
129. Rinaldo P, Zafari S, Tortorelli S, Matern D. Making the case for objective performance metrics in newborn screening by tandem mass spectrometry. *MRDD Research Reviews* 2006;12:255-61.
130. Aldamiz-Echevarría L. Los errores congénitos del metabolismo como enfermedades raras con un planteamiento global específico. *An Sist Sanit Navar* 2008;31(2):55-73.
131. Garrod AE. The Croonian Lectures on inborn errors of metabolism. Lecture II. Alkaptonuria. *Lancet* 1908;2:73-9.

132. Pérez González B, Ugarte Pérez M, Ruiz Desviat L. Bases moleculares de las enfermedades metabólicas hereditarias. In: Sanjurjo P, Baldellou A, editor. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias. 4 ed. Madrid: Ergon; 2014: 13-25.
133. Rosenblatt DS, Fenton WA. Inherited disorders of folate and cobalamin transport and metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, Sly WS, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B, editor. The metabolic and molecular basis of inherited disease. New York: McGraw-Hill; 2001: 3897-933.
134. Rasmussen SA, Fernhoff PM, Scanlon KS. Vitamin B12 deficiency in children and adolescents. *J Pediatr* 2001;138:10-7.
135. Couce ML, Cocho de Juan JA, Fraga JM. Información de resultados. In: González Lamuño D, Aldámiz Echevarría L, Couce Pico ML, editor. Manual Clínico del Cribado Metabólico. Santiago de Compostela: Servizo de Publicacións e Intercambio Científico; 2012: 57-68.
136. Gurian EA, Kinnamon DD, Henry JJ, Waisbren SE. Expanded newborn screening for biochemical disorders: the effect of a false-positive result. *Pediatrics* 2006;117(6):1915-21.
137. Hewlett J, Waisbren SE. A review of the psychosocial effects of false positive results on parents and current communication practices in newborn screening. *J Inherit Metab Dis* 2006;29:677-82.
138. Tu WJ, He J, Chen H, Shi XD, Li Y. Psychological effects of false-positive results in expanded newborn screening in China. *PLoS One* 2012;7(4):e36235.
139. Tarini BA, Clark SJ, Pilli S, Dombkowski KJ, Korzeniewski SJ, Gebremariam A, et al. False-positive newborn screening result and future health care use in a state Medicaid cohort. *Pediatrics* 2011;128(4):715-22.
140. Marquardt G, Currier R, McHugh DM, Gavrilov D, Magera MJ, Matern D, et al. Enhanced interpretation of newborn screening results without analyte cutoff values. *Genet Med* 2012;14(7):648-55.
141. 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;44:2405-9.

142. Wilken B, Wiley V, Hammond J, Carpenter K. Screening of newborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *N Eng J Med* 2003;348:2304-12.
143. Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D, Olgemöller K, Mayatepek E, Hoffmann GF. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome and implications. *Pediatrics* 2003;111:1399-406.
144. Harward RS, Keune FA, Randall LH. Newborn Screening For Sick or Preterm Newborns. In: Utah Department of Health, editor. Internet. Salt Lake City; 2010: 1-12.
145. Hannon WH, de Jesús VR, Ballance LO, Borrajo GJC, Chavez MS, Davin BF, et al. Blood Collection of Filter Paper for Newborn Screening Programs; Approved Standard. In: Clinical and Laboratory Standards Institute, editor. 6th ed. Wayne US; 2013: 1-14.
146. Miller J. Newborn Screening for Preterm, Low Birth Weight, and Sick Newborns: Approved Guideline. In: Clinical Laboratory Standards Institute, editor. 1st ed. Wayne, PA; 2009:1-80.
147. Slaughter JL, Meinzen-Derr J, Rose SR, Leslie ND, Chandrasekar R, Linard SM, et al. The Effects of Gestational Age and Birth Weight on False-Positive Newborn-Screening Rates. *Pediatrics* 2010;126(5):910-6.
148. Sanchez-Pintos P, Perez-Munuzuri A, Cocho de Juan JA, Fraga JM, Couce ML. [Carnitine and acylcarnitine percentiles in very low birth weight premature newborn screening samples]. *An Pediatr (Barc)* 2015;82(4):285-7.
149. Mackay RJ, Bratkovic D, Couper R, Davidson GP, Fahy R, Fletcher JM, et al. Detection of treatable neonatal liver disease by expanded newborn screening. *J Inherit Metab Dis* 2008;31 Suppl 2:S271-3.
150. ten Hoedt AE, van Kempen AA, Boelen A, Duran M, Kemper-Propert EA, Oey-Spauwen MJ, et al. High incidence of hypermethioninaemia in a single neonatal intensive care unit detected by a newly introduced neonatal screening programme. *J Inherit Metab Dis* 2007;30(6):978.
151. Boemer F, Schoos R, de Halleux V, Kalenga M, Debray FG. Surprising causes of C5-carnitine false positive results in newborn screening. *Mol Genet Metab* 2014;111(1):52-4.

152. Bueno Delgado MA. Valoración de los resultados de aminoácidos, acilcarnitinas y demás marcadores detectados en el cribado neonatal ampliado. Ejemplos de situaciones clínicas. In: González Lamuño D, Aldámiz Echevarría L, Couce Pico ML. , editor. Manual Clínico del Cribado Metabólico. Santiago de Compostela: Servizo de Publicacións e Intercambio Científico; 2012: 39-56.
153. Tarini BA, Christakis DA, Welch HG. State newborn screening in the tandem mass spectrometry era: more tests, more false-positive results. *Pediatrics* 2006;118(2):448-56.
154. Janssen MCH, Kluijtmans LAJ, Wortmann SB. Screening of a healthy newborn identifies three adult family members with symptomatic glutaric aciduria type I. *BBA Clinical* 2014;1(1):30-3.
155. Lee SH, Hong YH. Asymptomatic maternal 3-methylcrotonylglycinuria detected by her unaffected baby's neonatal screening test. *Korean J Pediatr* 2014;57(7):329-32.
156. Ombrone D, Giocaliere E, Forni G, Malvagia S, la Marca G. Expanded newborn screening by mass spectrometry: New tests, future perspectives. *Mass Spectrom Rev* 2016;35:71-84.
157. Paciotti S, Persichetti E, Pagliardini S, Deganuto M, Rosano C, Balducci C, et al. First pilot newborn screening for four lysosomal storage diseases in an Italian region: Identification and analysis of a putative causative mutation in the GBA gene. *Clin Chem Acta* 2012;413:1827-31.
158. Orsini JJ, Martin MM, Showers AL, Bodamer OA, Zhang XK, Gelb MH, et al. Lysosomal storage disorder 4+1 multiplex assay for newborn screening using tandem mass spectrometry: application to a small-scale population study for five lysosomal storage disorders. *Clin Chim Acta* 2012;413(15-16):1270-3.
159. Mechtler TP, Metz TF, Muller HG, Ostermann K, Ratschmann R, De Jesus VR, et al. Short-incubation mass spectrometry assay for lysosomal storage disorders in newborn and high-risk population screening. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2012;908:9-17.
160. Kemper AR, Hwu WL, Lloyd-Puryear M, Kishnani PS. Newborn screening for Pompe disease: synthesis of the evidence and development of screening recommendations. *Pediatrics* 2007;120(5):e1327-34.

161. Chien YH, Chiang SC, Zhang XK, Keutzer J, Lee NC, Huang AC, et al. Early detection of Pompe disease by newborn screening is feasible: results from the Taiwan screening program. *Pediatrics* 2008;122(1):e39-45.
162. Chiang SC, Hwu WL, Lee NC, Hsu LW, Chien YH. Algorithm for Pompe disease newborn screening: results from the Taiwan screening program. *Mol Genet Metab* 2012;106(3):281-6.
163. Lukacs Z, Nieves Cobos P, Mengel E, Hartung R, Beck M, Deschauer M, et al. Diagnostic efficacy of the fluorometric determination of enzyme activity for Pompe disease from dried blood specimens compared with lymphocytes-possibility for newborn screening. *J Inherit Metab Dis* 2010;33(1):43-50.
164. Chuang WL, Pacheco J, Zhang XK, Martin MM, Biski CK, Keutzer JM, et al. Determination of psychosine concentration in dried blood spots from newborns that were identified via newborn screening to be at risk for Krabbe disease. *Clin Chim Acta* 2013;419:73-6.
165. Scott CR, Elliott S, Buroker N, Thomas LI, Keutzer J, Glass M, et al. Identification of infants at risk for developing Fabry, Pompe, or mucopolysaccharidosis-I from newborn blood spots by tandem mass spectrometry. *J Pediatr* 2013;163(2):498-503.
166. Lin SP, Lin HY, Wang TJ, Chang CY, Lin CH, Huang SF, et al. A pilot newborn screening program for Mucopolysaccharidosis type I in Taiwan. *Orphanet J Rare Dis* 2013;8:147.
167. Tomatsu S, Kubaski F, Sawamoto K, Mason RW, Yasuda E, Shimada T, et al. Newborn screening and diagnosis of mucopolysaccharidoses: application of tandem mass spectrometry. *Nihon Masu Sukuriningu Gakkai Shi* 2014;24:19-37.
168. Sista RS, Wang T, Wu N, Graham C, Eckhardt A, Winger T, et al. Multiplex newborn screening for Pompe, Fabry, Hunter, Gaucher, and Hurler diseases using a digital microfluidic platform. *Clin Chim Acta* 2013;424:12-8.
169. Subdireccion Xeral de Aseguramento e Planificacion Sanitaria. Early detection of mucopolysaccharidosis and oligosaccharidosis by population screening in the newborn period. Systematic review. In. *Health Technology Assessment (HTA) Database: Centre for Reviews and Dissemination*; 2008: 1-3.
170. Bosch AM. Classical galactosaemia revisited. *J Inherit Metab Dis* 2006;29(4):516-25.

171. Marin Soria JL, Castiñeiras Ramos DE, Fernández Sánchez A, Juan Fita MJ, Jiménez Jiménez LM, Pérez-Cerdá C. Enfermedades recomendadas para ser incluidas en los Programas de Cribado Neonatal. In: González Lamuño D, Aldámiz Echeverría Luis, Couce Pico ML, editor. Manual Clínico del Cribado Metabólico. Santiago de Compostela: Servizo de Publicacións e Intercambio Científico; 2012: 133-62.
172. Girós ML, López Pisón J, Serrano ML, Sierra C, Toledo L, Pérez-Cerdá C. Protocolo de diagnóstico y tratamiento de los trastornos peroxisomales del espectro Zellweger y de la condrodisplasia punctata rizomélica. In: Asociación Española para el Estudio de los Errores Congénitos del Metabolismo, editor. Internet. [Consultado mayo 2015]. Disponible en: <http://ae3com.eu/protocolos/protocolo14.pdf> : 1-25.
173. Moser HW, Raymond GV, Dubey P. Adrenoleukodystrophy: New approaches to a neurodegenerative disease. *JAMA* 2005;294:3131-4.
174. Rizzo C, Boenzi S, Wanders RJA, Duran M, Caruso U, Dionisi-Vici C. Characteristic acylcarnitine profiles in inherited defects of peroxisome biogenesis: A novel tool for screening diagnosis using tandem mass spectrometry. *Ped Res* 2003;53:1013-8.
175. González-Reyes EC, Marrero-González N. Deficiencia de biotinidasa. *Bioquimia* 2002;27(3):80-6.
176. Morell García D, Aguilar Pérez I, García Suquía A, Pérez Esteban G. Errores congénitos en el metabolismo de la biotina. In: Varo Sánchez GM, Bobilo Lobato J, Tejedor Hernández E, editor. Manual de medicina perinatal. Estudio de los Errores Congénitos del Metabolismo en el Laboratorio Clínico; 2014: 205-17.
177. Cortés Castell E, Plá Cortés C, Manero Soler H. Síndrome drepanocítico: hemoglobina S y sus combinaciones. In: Varo Sánchez GM, Bobilo Lobato J, Tejedor Hernández E, editor. Manual de medicina perinatal. Estudio de los Errores Congénitos del Metabolismo en el Laboratorio Clínico; 2014: 259-72.
178. Alsina L, Llobet-Agulló P, Soler-Palacin P. Ampliación del cribado neonatal a la detección de inmunodeficiencias combinadas graves. Un imperativo moral. *An Pediatr (Barc)* 2014;81(5):273-4.
179. Brown L, Xu-Bayford J, Allwood Z, Slatter M, Cant A, Davies EG, et al. Neonatal diagnosis of severe combined immunodeficiency leads to significantly

improved survival outcome: The case for newborn screening. *Blood* 2011;117:3243-6.

180. Olbrich P, de Felipe B, Delgado-Pecellin C, Rodero R, Rojas-Feria P, Aguayo J, et al. A first pilot study on the neonatal screening of primary immunodeficiencies in Spain: TRECS and KRECS identify severe T- and B-cell lymphopaenia. *An Pediatr (Barc)* 2014;81(5):310-7.

181. Bailey DB, Skinner D, Davis AM, Whitmarsh I, Powell C. Ethical, legal, and social concerns about expanded newborn screening: fragile X syndrome as a prototype for emerging issues. *Pediatrics* 2008;121(3):e693-704.

182. Wilcken B, Wiley V. Fifty years of newborn screening. *J Paediatr Child Health* 2015;51(1):103-7.

183. Howard HC, Knoppers BM, Cornel MC, Clayton EW, Sénécal K, Borry P. Whole-genome sequencing in newborn screening? A statement on the continued importance of targeted approaches in newborn screening programmes. *Eur J Hum Genet* 2015;23:1593-600.

184. Beckmann JS. Can we afford to sequence every newborn baby's genome? *Hum Mutat* 2015;36(3):283-6.

185. Fernández-Láinez C, Vela-Amieva M, Ibarra-González I. Espectrometría de masas en tándem: una nueva herramienta para el estudio de la metabolómica en pediatría. *Acta Pediatr Mex* 2009;30(5):258-63.

186. Carrascosa Lezcano A, Ferrández Longás A, Yeste Fernández D, García-Dihinx Villanova J, Romo Montejo A, Copil Copil A, et al. Estudio transversal español de crecimiento 2008. Parte I: valores de peso y longitud en recién nacidos de 26-42 semanas de edad gestacional. *An Pediatr (Barc)* 2008;68(6):544-51.

187. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki, Ethical Principles for Medical Research involving human subjects. 1964.

188. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Guideline for Good Clinical Practice E6 (R1). 1996.

189. Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos. In: *Boletín Oficial del Estado*. 33. BOE; 2004: 5429-443.

190. Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica. In: Estado. Boletín Oficial del Estado. 159; 2007: 28826-48.
191. Couce ML, Castineiras DE, Moure JD, Cocho JA, Sanchez-Pintos P, Garcia-Villoria J, et al. Relevance of expanded neonatal screening of medium-chain acyl co-a dehydrogenase deficiency: outcome of a decade in galicia (Spain). *JIMD Rep* 2011;1:131-6.
192. Frazier DM, Millington DS, McCandless SE, Koeberl DD, Weavil SD, Chaing SH, et al. The tandem mass spectrometry newborn screening experience in North Carolina: 1997-2005. *J Inherit Metab Dis* 2006;29(1):76-85.
193. Instituto Nacional de Estadística. Madrid: Instituto Nacional de Estadística. 2016. [actualizado enero 2014; consultado enero 2016]. Disponible en: <http://www.ine.es>
194. Sánchez-Pintos P, Pérez-Muñuzuri A, Cocho de Juan JA, Fraga JM, Couce ML. Percentiles de carnitina y acilcarnitinas en muestras de cribado neonatal de prematuros de muy bajo peso. *An Pediatr (Barc)* 2015;82(4):285-7.
195. Janzen N, Terhardt M, Sander S, Demirkol M, Gokcay G, Peter M, et al. Towards newborn screening for ornithine transcarbamylase deficiency: fast non-chromatographic orotic acid quantification from dried blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chim Acta* 2014;430:28-32.
196. Kim S, Lloyd-Puryear MA, Tonniges TF. Examination of the communication practices between state newborn screening programs and the medical home. *Pediatrics* 2003;111(2):E120-6.
197. Davis TC, Humiston SG, Arnold CL, Bocchini JA, Jr., Bass PF, 3rd, Kennen EM, et al. Recommendations for effective newborn screening communication: results of focus groups with parents, providers, and experts. *Pediatrics* 2006;117(5 Pt 2):S326-40.
198. Martz MP, Humble W, Nabor C, Waddell V. Applying transparency and quality measurement to improve newborn screening: lessons learned from arizona's transit time project. *J Public Health Manag Pract* 2015;21(2):217-9.
199. Tal G, Pitt J, Morrissey S, Tzanakos N, Boneh A. An audit of newborn screening procedure: impact on infants presenting clinically before results are available. *Mol Genet Metab* 2015;114(3):403-8.

200. García Ballesteros A, Jiménez Blasco BC, Mayoral Peñas MM. Emigración de retorno y crisis en España. *Rev Electron Geogr Ciencias Soc* 2014;18(491).
201. Osorio JH, Pourfarzam M. Hidrólisis de acilcarnitinas durante el análisis en sangre y plasma por espectrometría de masas en tandem. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2010;44(2):189-93.
202. Barnhart W, Cerdá BA. A comparison of non-derivatized and derivatized methods for newborn screening by MS/MS. Póster. Akron OH: PerkinElmer Life Sciences.
203. Groselj U, Tansek MZ, Battelino T. Fifty years of phenylketonuria newborn screening - A great success for many, but what about the rest? *Mol Genet Metab* 2014;113(1-2):8-10.
204. Feuchtbaum L, Carter J, Dowray S, Currier RJ, Lorey F. Birth prevalence of disorders detectable through newborn screening by race/ethnicity. *Genet Med* 2012;14(11):937-45.
205. Mallolas J, Mila M, Lambruschini N, Cambra FJ, Campistol J, Vilaseca MA. Biochemical phenotype and its relationship with genotype in hyperphenylalaninemia heterozygotes. *Mol Genet Metab* 1999;67:156-61.
206. Mallolas J, Vilaseca M, Campistol J, Lambruschini N, Cambra FJ, Estivill X, Milá M. Mutational spectrum of phenylalanine hydroxylase deficiency in the population resident in Catalonia: genotype-phenotype correlation. *Hum Genet* 1999;105:468-73.
207. Kim SW, Jung J, Oh HJ, Kim J, Lee KS, Lee DH, et al. Structural and functional analyses of mutations of the human phenylalanine hydroxylase gene. *Clin Chim Acta* 2006;365(1-2):279-87.
208. Dobrowolski SF, Pey AL, Koch R, Levy H, Ellingson CC, Naylor EW, et al. Biochemical characterization of mutant phenylalanine hydroxylase enzymes and correlation with clinical presentation in hyperphenylalaninaemic patients. *J Inher Metab Dis* 2009;32(1):10-21.
209. Couce Pico ML, Fernández Lorenzo JR, Fraga Bermúdez JM. Trastorno del metabolismo de los aminoácidos azufrados. In: Sanjurjo P, Baldellou A, editor. *Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias*. 4 ed. Madrid: Ergon; 2014: 509-18.



210. Furujo M, Kinoshita M, Nagao M, Kubo T. Methionine adenosyltransferase I/III deficiency: neurological manifestations and relevance of S-adenosylmethionine. *Mol Genet Metab* 2012;105:516-8.
211. Baric I. Inherited disorders in the conversion of methionine to homocysteine. *J Inherit Metab Dis* 2009;32(4):459-71.
212. Iacobazzi V, Infantino V, Castegna A, Andria G. Hyperhomocysteinemia: related genetic diseases and congenital defects, abnormal DNA methylation and newborn screening issues. *Mol Genet Metab* 2014;113(1-2):27-33.
213. Wolfe L, Jethva R, Oglesbee D, Vockley J. Short-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJH, et al, editor. *GeneReviews®*. Seattle WA: University of Washington, 1993-2016; [Actualizado agosto 2014].
214. Matern D, Rinaldo P. Medium-Chain Acyl-Coenzyme A Dehydrogenase Deficiency. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJH, et al, editor. *GeneReviews®*. Seattle WA: University of Washington, 1993-2016; [Actualizado marzo 2015].
215. Martínez G, García-Lozano JR, Ribes A, Maldonado MD, Baldellou A, de Pablo R, et al. High risk of medium chain acylcoenzyme A dehydrogenase deficiency among gypsies. *Pediatr Res* 1998;44:83-4.
216. Gessner BD, Gillingham MB, Wood T, Koeller DM. Association of a genetic variant of Carnitine Palmitoyltransferase 1A with infections in Alaska native children. *J Pediatr* 2013;163(6):1716-21.
217. Pedersen CB, Bischoff C, Christensen E, Simonsen H, Lund AM, Young SP, et al. Variations in IBD (ACAD8) in children with elevated C4-carnitine detected by tandem mass spectrometry newborn screening. *Pediatr Res* 2006;60(3):315-20.
218. Roe CR, Cederbaum S D, Roe D S, Mardach R, Galindo A, Sweetman L. Isolated isobutyryl-CoA dehydrogenase deficiency: an unrecognized defect in human valine metabolism. *Molec Genet Metab* 1998;65:264-71.
219. Oglesbee D, He M, Majumder N, Vockley J, Ahmad A, Angle B, et al. Development of a newborn screening follow-up algorithm for the diagnosis of isobutyryl-CoA dehydrogenase deficiency. *Genet Med* 2007;9:108-16.

220. Koeberl DD, Young SP, Gregersen N, Vockeley J, Smith WE, Benjamin DK, et al. Rare disorders of metabolism with elevated butyryl- and isobutyryl-carnitine detected by tandem mass spectrometry newborn screening. *Pediatr Res* 2003;54(2):219-23.
221. Donti TR, Blackburn PR, Atwal PS. Holocarboxylase synthetase deficiency pre and post newborn screening. *Mol Genet Metab Rep* 2016;7:40-4.
222. Drummond MF, Stoddart GL, Torrance GW. Methods for economic evaluation of health care programmes. In: University O, editor. Oxford: Oxford University Press; 1987.
223. Drummond M. Economic analysis alongside controlled trials: an introduction for clinical researchers. In: University of York: Centre for Health Economics, editor. York: University of York; 1994.
224. Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ, Booth A, Cooper NJ, Leonard JV, et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. *Health Technol Assess* 1997;1(7):i-iv, 1-202.
225. Carpenter KH, Wiley V. Application of tandem mass spectrometry to biochemical genetics and newborn screening. *Clin Chim Acta* 2002;322(1-2):1-10.
226. Waisbren SE, Albers S, Amato S, Ampola M, Brewster TG, Demmer L, et al. Effect of expanded newborn screening for biochemical genetic disorders on child outcomes and parental stress. *JAMA* 2003;290(19):2564-72.
227. López Bastida J, Linertová R, Serrano Aguilar P, Hens Pérez M, Posada de la Paz M, Oliva Moreno J. Los costes socioeconómicos y la calidad de vida relacionada con la salud en pacientes con enfermedades raras en España. In: Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, editor. Proyecto de IMSERSO N^o 167/10. Madrid; 2012. p. 1-115.
228. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad. Costes hospitalarios - Contabilidad Analítica. In. Madrid: Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad; 2015.
229. Hamers FF, Rumeau-Pichon C. Cost-effectiveness analysis of universal newborn screening for medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in France. *BMC Pediatr* 2012;12:60.

230. Seymour CA, Thomason MJ, Chalmers RA, Addison GM, Bain MD, Cockburn F, et al. Newborn screening for inborn errors of metabolism: a systematic review. *Health Technol Assess* 1997;1(11):i-iv, 1-95.
231. Pandor A, Eastham J, Beverley C, Chilcott J, Paisley S. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of neonatal screening for inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry: a systematic review. *Health Technol Assess* 2004;8(12):iii, 1-121.
232. Pollitt RJ. International perspectives on newborn screening. *J Inherit Metab Dis* 2006;29(2-3):390-6.
233. Cipriano LE, Rupar CA, Zaric GS. The cost-effectiveness of expanding newborn screening for up to 21 inherited metabolic disorders using tandem mass spectrometry: results from a decision-analytic model. *Value Health* 2007;10(2):83-97.
234. Thiboonboon K, Leelahavarong P, Wattanasirichaigoon D, Vatanavicharn N, Wasant P, Shotelersuk V, et al. An Economic Evaluation of Neonatal Screening for Inborn Errors of Metabolism Using Tandem Mass Spectrometry in Thailand. *PLoS One* 2015;10(8):e0134782.
235. Grosse SD, Thompson JD, Ding Y, Glass M. The Use of Economic Evaluation to Inform Newborn Screening Policy Decisions: The Washington State Experience. *Milbank Q* 2016;94(2):366-91.
236. Hyry HI, Stern AD, Cox TM, Roos JC. Limits on use of health economic assessments for rare diseases. *QJM* 2014;107(3):241-5.
237. World Health Organization. Hereditary Diseases Program. Guidelines on ethical issues in medical genetics and the provision of genetic services. In: WHO, editor. Geneva: World Health Organization; 1995.
238. Comité de ética del Instituto de Investigación de Enfermedades Raras. Recomendaciones acerca de los aspectos éticos de los programas de cribado de población para enfermedades raras. *Gac Sanit* 2006;20(Supl 3):27-32.

Anexos



Anexo I. Modelo de ficha identificativa del recién nacido que contiene los círculos de papel absorbente para la recogida de sangre capilar obtenida del talón del recién nacido

RESOLUCIÓN A CONSERVAR POR LOS PADRES Conserve este impreso con el número de referencia detallado para poder recuperar el historial de su hijo/a nacido/a.	PROGRAMA DE CRIBADO NEONATAL Sello del hospital		Anverso Apellidos: _____ _____ _____
	Datos generales del recién nacido (no olvide anotar un teléfono de contacto y escribir la dirección correctamente)		
APELLIDOS _____ NOMBRE _____ SEXO: Niño <input type="checkbox"/> Niña <input type="checkbox"/> CALLE _____ Nº _____ PISO/ESCALERA _____ CÓDIGO POSTAL _____ POBLACIÓN _____ PROVINCIA _____ Datos de la madre Edad _____ Nacionalidad _____ CIP de la madre (código de la Tarjeta Sanitaria) _____ Datos del padre Edad _____ Nacionalidad _____ TELÉFONO DE CONTACTO _____ Datos del nacimiento y del parto HOSPITAL/CLINICA DONDE HA NACIDO _____ CÓDIGO _____ HORA DEL NACIMIENTO (hh:mm) _____ : _____ : _____ DIA _____ MES _____ AÑO _____ PESO AL NACER _____ g. TALLA _____ cm. PERÍMETRO CRANEAL _____ cm. SEMANAS DE GESTACIÓN _____ EMBARAZO MÚLTIPLE NO <input type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> En caso de parto múltiple, orden del nacimiento _____ Nº DE PARTOS ANTERIORES _____ TIPO DE PARTO: NORMAL <input type="checkbox"/> CESÁREA <input type="checkbox"/> VENTOSA <input type="checkbox"/> FORCEPS <input type="checkbox"/> NALGAS <input type="checkbox"/> ALIMENTACIÓN: MATERNA <input type="checkbox"/> ARTIFICIAL <input type="checkbox"/> PARENTERAL <input type="checkbox"/> INICIO DE LA ALIMENTACIÓN: _____ horas/días de vida TRANSFUSIÓN (sangre o plasma) AL RECIÉN NACIDO: NO <input type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> FECHA DE LA TRANSFUSIÓN _____ / _____ / _____ ILEO MECONIAL: NO <input type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> AMNIOCENTESIS: NO <input type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> FORMULA CARIOTIPO: _____ MEDICACIÓN (tópica, parenteral, endovenosa, oral, etc.) A LA MADRE o AL NIÑO: NO <input type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> Especificar _____ Datos de la extracción de la muestra HORA DE LA EXTRACCIÓN (hh:mm) _____ : _____ : _____ DIA _____ MES _____ AÑO _____			IMPRIMIR LOS CÍRCULOS DE FORMA QUE TRASPASE AL OTRO LADO Nº CIA 

Reverso

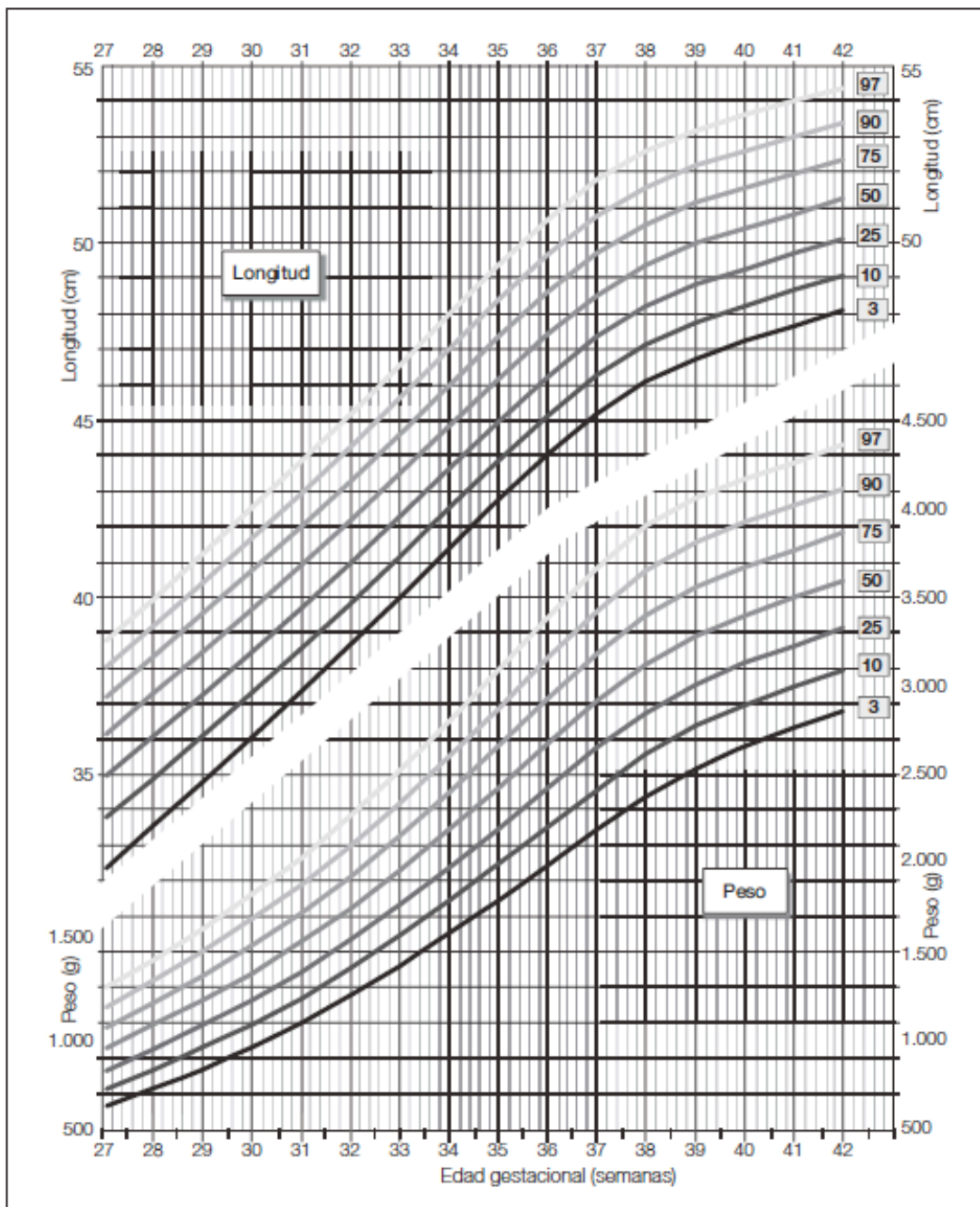
Instrucciones de cumplimentación: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Utilice bolígrafo de tinta azul o negra ▪ Escriba en letras MAYÚSCULAS ▪ En los espacios delimitados para escribir, ponga un carácter por casilla como se muestra en este ejemplo: DÍA <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>2</td><td>4</td></tr></table> MES <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>1</td><td>1</td></tr></table> AÑO <table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>0</td><td>6</td></tr></table> ▪ Las casillas se han de marcar con una cruz: NO <input type="checkbox"/> SÍ <input type="checkbox"/> 	2	4	1	1	0	6
2	4					
1	1					
0	6					

Anexo II. Modelo de carta informativa a los padres

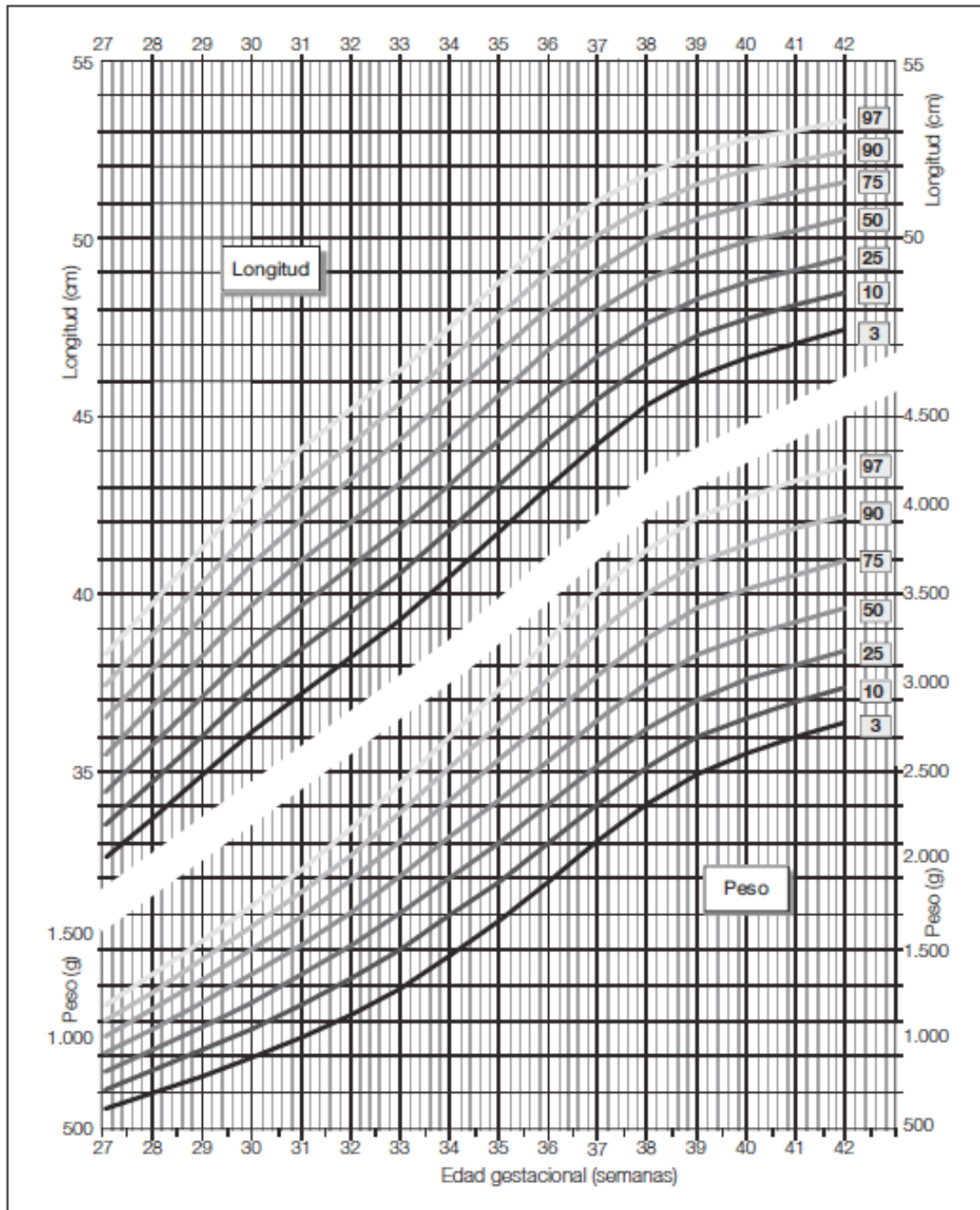
 GOBIERNO DE ARAGON Departamento de Sanidad	HOSPITAL UNIVERSITARIO "MIGUEL SERVET" SERVICIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA UNIDAD DE CRIBADO NEONATAL Calle Padre Anepo (antes Cardenal Gempé) s/n 50009 ZARAGOZA, Tel. 976 76 55 00 Ext. 2159 + 2163		
Centro de extracción: Laboratorio de Bioquímica		Número: 06769330	
Fecha Registro: 13/06/16			
Historia:	Nombre: APELLIDO		
T. Sanitaria/CIA:	Dirección:		
nº Seg. Social:	Población:		
Teléfono:	Provincia: Zaragoza		
Sexo: F	Código postal:		
F.Nacimiento: 11/06/2016	F.Extracción: 13/06/2016	F.Recepción: 13/06/16	F.Informe:
EG : 38 semanas	Peso : 3000 gramos	Nº filiación :	Nº historia (madre) :
Copia de Laboratorio			
Servicio de Bioquímica Clínica Unidad de Cribado Neonatal			
Se han realizado en este Centro las pruebas del cribado neonatal ampliado a su hijo/a, para descartar las siguientes enfermedades:			
<ul style="list-style-type: none">- Hipotiroidismo congénito- Hiperplasia suprarrenal congénita- Fibrosis quística- Hiperfenilalaninemia / Fenilcetonuria (PKU)- Tirosinemia tipo I- Tirosinemia tipo II- Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce- Homocistinuria- Citrulinemia tipo I- Argininemia- Deficiencia primaria de carnitina (CUD)- Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena corta (SCAD)- Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCAD)- Deficiencia de 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga (LCHAD)- Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCAD)- Deficiencia de carnitina palmitoil transferasa I (CPT-I)- Deficiencia de carnitina palmitoil transferasa II (CPT-II)- Deficiencia de carnitina/acilcarnitina traslocasa (CACT)- Acidemia glutárica tipo I- Acidemia isovalérica- Acidemia propiónica- Acidemia metilmalónica- Aciduria 3-hidroxi 3-metil glutárica (HMG)- Deficiencia de β-cetotilasa- β-metilcrotonilglicinuria- 2-metilbutirilglicinuria			
Dichas pruebas han resultado ser NORMALES .			
Debe informar de este resultado a su pediatra.			
Y. González Irazabal			
Zaragoza, a lunes 13 de junio de 2016			
Página 1/1			

Anexo III: Gráficas de Carrascosa et al de los valores de peso y longitud al nacer de los recién nacidos según su edad gestacional.

Representación gráfica percentilada de los valores de peso y longitud al nacer de los recién nacidos varones según su edad gestacional (186).



Representación gráfica percentilada de los valores de peso y longitud al nacer de las recién nacidas mujeres según su edad gestacional (186).



Anexo IV: Dictamen del Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón



**Informe Dictamen Favorable
Proyecto Investigación Biomédica**

C.P. - C.I. PI15/0213

21 de octubre de 2015

Dña. María González Hinjos, Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

CERTIFICA

1º. Que el CEIC Aragón (CEICA) en su reunión del día 21/10/2015, Acta Nº CP16/2015 ha evaluado la propuesta del investigador referida al estudio:

Título: Implantación de un programa de cribado metabólico expandido en Aragón: nuestra experiencia tras cinco años.

**Investigador Principal: Mª Concepción García Jiménez. HU Miguel Servet
Versión protocolo: Septiembre de 2015**

2º. Considera que

- El proyecto se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Es adecuado el tratamiento de los datos.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

3º. Por lo que este CEIC emite **DICTAMEN FAVORABLE** a la realización del proyecto.

Lo que firmo en Zaragoza, a 21 de octubre de 2015

Fdo:

Dña. María González Hinjos
Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

Anexo V. Tríptico informativo a las familias

Tríptico que se entrega a las familias en Aragón con la información relativa al cribado neonatal, tal y como se recoge en las *Instrucciones de 21 de enero de 2011 por las que se regula el cribado neonatal en la cartera de servicios del sistema de Salud de Aragón y la designación de servicios de referencia para el diagnóstico definitivo, tratamiento y seguimiento de las alteraciones y enfermedades objeto de cribado* (26).

<p>INFORMACIÓN A LOS PADRES</p> <p>CRIBADO NEONATAL EN ARAGÓN</p>  <p>ANNE GEORGE F U R I</p> <p>GOBIERNO DE ARAGÓN Departamento de Salud y Consumo</p> <p>salud sistema aragonés de salud</p>	<p>El Cribado Neonatal tiene por objeto detectar lo más rápidamente posible algunas enfermedades que pueden pasar desapercibidas a simple vista, y en las que el inicio de un tratamiento precoz puede evitar o mejorar el daño neurológico y posibles discapacidades que van asociados a las mismas.</p> <p>La reciente incorporación de nuevos equipamientos y tecnologías por parte del Servicio Aragonés de Salud permite ampliar el diagnóstico precoz a enfermedades que hasta el momento era imposible detectar en los recién nacidos.</p> <p>El cribado neonatal se realizará a todos los nacidos en los centros y servicios sanitarios, tanto públicos como privados, de Aragón.</p> <p>A los niños aragoneses nacidos en otras Comunidades Autónomas a los que no se les haga la totalidad de estas pruebas se les facilitará su realización en el hospital del Sistema de Salud de Aragón más cercano al domicilio de los padres.</p>	<p>La extracción se la realizarán en el centro hospitalario donde haya nacido el bebé. Los resultados se le enviarán a su domicilio, normalmente por correo, aunque si es preciso se utilizará el teléfono móvil o fijo. En algunos casos en los que los resultados de su bebé se encuentren cerca de los límites superiores o inferiores considerados como normales, puede ser necesaria la realización de una segunda prueba. Esto no significa que el bebé padezca ninguna de estas enfermedades, únicamente que debemos comprobar dichos resultados.</p> <p>Es muy importante que se asegure de que la dirección que figura en la ficha sea correcta y completa, y que el teléfono que facilite permita la rápida localización de los padres y esté operativo hasta que reciba los resultados.</p> <p>Las diversas exploraciones realizadas y su resultado se anotarán en la Historia Clínica del recién nacido y en el Documento de Salud Infantil, documento oficial del niño.</p> <p>El pediatra o médico de familia del Centro de Salud correspondiente tendrá conocimiento de la realización o no de las pruebas a través del Documento de Salud Infantil.</p>
--	---	--

<p>Además de las actuaciones y cuidados que se realizan a todos los recién nacidos en el hospital en el que nacen, a su hijo/a se le realizarán las siguientes exploraciones y/o pruebas:</p> <p>A. Detección precoz de trastornos auditivos Es la detección precoz de los trastornos congénitos de la audición en el recién nacido que permite su tratamiento y rehabilitación dentro de los seis primeros meses de vida.</p> <p>La prueba utilizada para este screening es inofensiva, no requiere preparación especial del recién nacido y se realiza de forma sencilla. Se aplica un pequeño micrófono en el conducto auditivo externo del niño que, en pocos minutos y sin molestarle, estimula el oído y registra unos "ruidos" que se producen al transmitirse el sonido (las denominadas otoemisiones acústicas).</p>	<p>B. Detección precoz de enfermedades congénitas, endocrinológicas y metabólicas Esta exploración tiene como objetivo identificar a los recién nacidos aparentemente sanos pero que han nacido con un error congénito que, de no tratarse adecuadamente, puede, en algunos casos, ser causa de discapacidad u otros problemas.</p> <p>C. Detección precoz de Fibrosis Quística Con esta prueba se pueden diagnosticar de forma precoz los niños que nacen con Fibrosis Quística. Esto permite mejorar su calidad de vida al recibir tempranamente el tratamiento adecuado.</p> <p>Para la realización de estos dos últimos cribados es suficiente con recoger unas gotas de sangre en un papel especial, que se extraen habitualmente del talón del niño.</p>	<p>Colabora en el logro de una salud plena (Convención sobre los Derechos del Niño)</p>
--	--	--