

# Cribado neonatal de de la enfermedad de células falciformes acordado en la Comunidad Autónoma del País Vasco

*Euskal Autonomia  
Erkidegoko  
jaioberrientzako zelula  
faltziformeen  
gaixotasunaren baheketa.*

Consejo Asesor de Cribado Neonatal de Enfermedades Congénitas de la CAPV:

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

Las hemoglobinopatías constituyen un amplio grupo de enfermedades genéticas, causantes de un alto grado de morbi-mortalidad. Son las alteraciones monogénicas más frecuentes en el mundo y siguen un patrón de herencia autosómico recesivo. Se producen como consecuencia de alteraciones cualitativas de la molécula de globina, dando lugar a las hemoglobinopatías estructurales o bien por alteraciones cuantitativas lo que da lugar a las talasemias. Puede ocurrir que ambas alteraciones coexistan, produciendo lo que se conoce como hemoglobinopatías talasémicas.

La anemia falciforme o drepanocitosis es uno de los trastornos de la hemoglobina mejor conocidos. Los niños afectados de anemia falciforme, son muy susceptibles a infecciones bacterianas severas y presentan un alto grado de morbi-mortalidad por secuestro esplénico y septicemia bacteriana.

## PREVALENCIA

La detección precoz de la enfermedad de células falciforme y otras hemoglobinopatías, se incluía como parte de los programas de cribado neonatal única y exclusivamente en zonas geográficas cuya población, históricamente, estaba constituida por diversas etnias pertenecientes a grupos de riesgo de padecer alguna hemoglobinopatía. Sin embargo el movimiento poblacional a lo largo del mundo y su establecimiento en países diferentes a los de origen, está teniendo como consecuencia la aparición de nuevas patologías, más o menos graves, asociadas con nuevos problemas de salud en determinadas zonas geográficas en las que tradicionalmente no existían.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó en 1995 una prevalencia del 0,51% de la enfermedad de las células fal-

ciformes. Si bien en España se realiza el cribado neonatal en la comunidad de Madrid con una incidencia de 1/5.512 para la anemia falciforme y 1/233 casos portadores de la enfermedad, la incidencia real es desconocida. En el estudio piloto llevado a cabo en el País vasco la incidencia de anemia falciforme ha resultado ser de 1/2.432 y de 1/211 casos con alguna variante de hemoglobina. Estudios en el Reino Unido indican que 1 de cada 2.400 recién nacidos presenta una alteración de hemoglobina y concluyen con la recomendación de su inclusión en el programa de cribado neonatal poblacional.

## MECANISMO DE PRODUCCIÓN

La anemia falciforme, constituye el grupo más frecuente y de mayor interés clínico de las hemoglobinopatías estructurales. Clínicamente, la forma homocigota o anemia falciforme con fenotipo neonatal FS, cursa con anemia hemolítica y crisis vaso-occlusivas. En ella existe una hemoglobina anormal denominada hemoglobina S, originada por una mutación en el cromosoma 11, dando lugar a la sustitución en la posición 6 de la cadena  $\beta$  de globina, del ácido galotánico por la valina. Determinados factores como son el nivel de oxígeno, el pH y la temperatura, favorecen la polimerización de la hemoglobina S falciforme, provocando alteraciones en la morfología de los hematíes (falciformación), aumento de la viscosidad sanguínea e infartos en distintos órganos, ocasionando las importantes manifestaciones clínicas y complicaciones típicas de la anemia falciforme. La presencia de hemoglobina A (HbA) o hemoglobina fetal (Hb F) junto a la hemoglobina S (Hb S), aumenta la solubilidad de esta, lo que constituye una de las bases del tratamiento.

El gen falciforme generalmente solo produce manifestaciones clínicas en el es-

tado homocigoto o en los dobles heterocigotos; la forma heterocigoto, se denomina rasgo falciforme, con fenotipo FAS; los bebés con el rasgo falciforme, por lo general, son asintomáticos y no presentan anemia.

### EVOLUCIÓN

El porcentaje de mortalidad que se produce en niños con anemia falciforme menores de 5 años es del orden de 25-30%. La mayoría de las muertes de este grupo se producen de forma secundaria a infecciones fatales, secuestro esplénico o crisis aplásicas. La repercusión clínica es variable, siendo más frecuente la hemoglobinopatía S (falciforme o drepanocitosis).

En el caso de las **formas más graves** (anemia falciforme homocigoto) en las que los síntomas comienzan generalmente en el primer año de vida, el diagnóstico neonatal, permite el inicio precoz de la profilaxis antibiótica siendo posible evitar o paliar las siguientes complicaciones: a) crisis de dolor muy intenso por oclusión de vasos, muy difíciles de diagnosticar en lactantes si no se sabe que padecen la enfermedad; b) Infecciones graves (neumonías, sepsis y meningitis bacteriana), a las que estos enfermos son especialmente proclives; c) Accidentes cerebrovasculares, cuyas secuelas son devastadoras para el niño, y suelen provocar deficiencias en el desarrollo psicomotor; d) Crisis de secuestro esplénico, frecuente en niños pequeños; e) Complicaciones pulmonares (síndrome torácico agudo) que puede producir insuficiencia respiratoria grave; f) Complicaciones visuales, cardíacas, renales y en otros órganos. Todas ellas pueden retrasar su aparición se sigue al enfermo precozmente.

Las **formas leves** (rasgo falciforme) son generalmente asintomáticas. Sin embargo, la enfermedad puede manifestarse en si-

tuciones de disminución de la presión parcial de oxígeno-ambiental (hipoxia por altitud, submarinismo o anestesia).

Las manifestaciones clínicas en la forma heterocigota (cuando las hay) se refieren siempre a alteraciones vasooclusivas, pudiendo afectar al riñón por microinfarto de la medula renal (hipostenuria con hematuria) o presentar dolor abdominal intenso por microinfarto esplénico.

La administración oral de D-penicilina en los recién nacidos con anemia falciforme, detectados en el cribado neonatal, reduce la incidencia de septicemia por neumococo en el 84%.

El índice de mortalidad en niños con anemia falciforme es menor si el diagnóstico se realiza en el periodo neonatal frente a los diagnosticados después de los 3 meses de edad.

### CRITERIOS DIAGNÓSTICOS

A continuación exponemos el Protocolo acordado en la CAPV y el diagnóstico final de esta enfermedad.

El cribado neonatal generalmente se inicia a partir de la detección de variantes de hemoglobina en muestra de sangre impregnada en papel: Hemoglobinas (Hb) S, Hb S y Hb C, Hb fetal AS, Hemoglobina fetal AC.

Una vez que se determina la presencia de alguna de las variantes estructurales de la Hb (casos positivos), se enviarán a los diferentes centros hospitalarios de procedencia. Todos aquellos casos positivos se estudiarán nuevamente junto con su grupo familiar para confirmar la presencia de estas enfermedades.

El seguimiento de los pacientes detectados con anemia falciforme, se llevará a cabo según el protocolo consensuado y establecido por la Sociedad Española de Oncología y Hematología Pediátrica (SEHOP).

### Procedimiento del cribado neonatal de la enfermedad de células falciformes acordado en la CAPV

Las muestras de sangre en papel de filtro se obtienen a las 48 h de vida. La detección de variantes de hemoglobina no requiere una extracción de sangre adicional. Para realizar el diagnóstico de las muestras se empleará la técnica de cromatografía líquida de alta resolución de intercambio catiónico (HPLC-CE), capaz de separar e identificar las variantes de hemoglobina más frecuentes: Hemoglobina fetal (F), adulto (A), falciforme (S), C y D.

Aquellas muestras que presenten un perfil anormal de Hb S (FS), Hb fetal SC (FSC), hemoglobina fetal AS (FAS) y hemoglobina fetal AC (FAC) se comunican a los diferentes centros hospitalarios de procedencia para proceder a su confirmación. Los resultados de las muestras que presenten un perfil normal de Hb se introducen en la base de datos con fenotipo (FA).

Las transfusiones pueden dar lugar a falsos negativos, enmascarando las posibles variantes. En el caso de que fuera necesaria una transfusión, se debe extraer la muestra justo antes de realizarla. Si no es así, se debe obtener una muestra pasados 3-4 meses.

El diagnóstico o no de la enfermedad de las células falciformes corresponde a los centros de seguimiento.

*Laboratorio: estrategia propuesta, aparataje y reactivos, controles externos de calidad*

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

Para realizar el diagnóstico de las muestras, se emplea la técnica de cromatografía líquida de alta resolución de intercambio catiónico (HPLC-CE), usando el equipo automatizado *Variant NBS Hemoglobin Testing System* y el Programa *Sickle Cell Short* (Bio-Rad, Cal, EE.UU.). El procedimiento utilizado per-

mite la separación de la hemoglobina normal y de las variantes más frecuentes. El tiempo de retención al que aparecen es característico de cada una de ellas (hemoglobina F, A1c, A, A2, S, C, D y E). El *Variant NBS Hemoglobin Testing System* es un equipo de HPLC semiautomatizado que usa una minicolumna que contiene en su interior una resina o material polimérico de intercambio catiónico. El sistema usa 2 soluciones amortiguadoras de fosfato para dilución, con diferentes concentraciones, que se introducen dentro del flujo analítico a una tasa controlada de 2 ml/min. El analizador muestra los cromatogramas e imprime los resultados a los 3 min de la inyección. El número máximo de muestras en cada proceso analítico es de 97, con un tiempo total de 5 horas.

Está previsto participar en el *Newborn Screening Quality Assurance Program for Sickle cell and other Hemoglobinopathies*, organizado por *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC).

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

#### *Descripción de los procesos y actividades: estrategia, recursos humanos y coordinación*

La extracción de la muestra de sangre del bebé se realizará a ser posible en presencia de la madre y tomando pecho. Se realizará a partir de las 48 horas cumplidas de vida del bebé, antes del alta hospitalaria, para los casos de peso  $\geq 1.500$  g y de gestación  $\geq 33$  semanas, en todas las maternidades públicas y privadas. En los demás casos se realiza según los protocolos previamente acordados. La extracción la realiza el personal de enfermería de las maternidades. En caso de transfusión, obtener si es posible una muestra previa.

Posteriormente se remite las muestras a las Secretarías de las Aéreas-Base, donde se introducen los datos de los bebés y sus madres en la aplicación informática específica. Dicho fichero informático, es propiedad del Departamento de Sanidad (Registro de Recién Nacidos de la CAPV); y esta oficialmente declarado en el BOPV y garantiza la confidencialidad de los datos contenidos en él, y el uso exclusivo de los mismos para los fines del programa. Este proceso se realiza el mismo día en que se extrae la muestra de sangre en los hospitales públicos. En el caso de las maternidades privadas, estas envían las muestras de sangre junto a los datos del bebé y su madre al hospital de referencia, para que los datos sean introducidos allí.

A continuación se remiten las muestras desde las Secretarías de las Aéreas-Base al Laboratorio Normativo de Salud Pública, Unidad de Química Clínica. El personal técnico y administrativo del Laboratorio de Salud Pública realiza un chequeo diario de las muestras recibidas en papel de filtro con los datos introducidos en la aplicación informática. Dicho personal analiza las muestras y emite los resultados, que son validados por el/la jefe/a de la Unidad.

Las muestras con resultado de fenotipo, hemoglobina fetal S (FS), doble heterocigoto (FSC) o portadores con alguna variante hemoglobina fetal AS (FAS) y hemoglobina fetal AC (FAC) se catalogaran como "positivas". En estos casos, la secretaria de la Unidad Central del Laboratorio de Salud Pública informa a la secretaria/coordinador del área base del resultado del estudio.

Este coordinador será el encargado de informar del resultado y referir a la familia a la Unidad de Seguimiento de su hospital. En el caso de que haya sido transfundido antes de realizar la extracción de la muestra, lo que puede dar lugar a falsos negativos enmascarando las posibles variantes, el

coordinador propondrá a la familia la realización de una segunda extracción de sangre cuando el bebé cumpla los 3 meses de vida para repetir el análisis de la enfermedad de células falciformes.

Serán las unidades de seguimiento de hematología Pediátrica de cada Área Base de la CAPV, las que asuman la responsabilidad del seguimiento del caso detectado y realiza las pruebas de confirmación de los casos positivos; estableciendo el diagnóstico definitivo como: paciente con enfermedad de células falciformes EFC; paciente portador de enfermedad de células falciformes o recién nacido normal.

Dicho resultado se notificará para cerrar el caso en la aplicación informática al coordinador/a del área base.

Así mismo, la Unidad de Genética del Hospital realiza el consejo genético a las familias, Realizando los estudios genéticos familiares a ambos progenitores, a los hermanos/as y a otros familiares que pudieran estar afectados. Si ambos progenitores son portadores, podrá ofertar el diagnóstico prenatal para la futura descendencia de la pareja.

Todo el seguimiento y tratamiento posterior del caso se realiza por la Unidad de Seguimiento en coordinación con el/la pediatra de cabecera según el protocolo consensuado y establecido por la Sociedad Española de Oncología y Hematología Pediátrica (SEHOP) [www.sehop.org](http://www.sehop.org)

#### BIBLIOGRAFÍA

1. NHS Sickle Cell and Thalassaemia Screening Programme, Handbook for Laboratories, 2<sup>nd</sup> edition; NSC, September 2009. <http://sct.screening.nhs.uk>
2. Ryan K, Bain BJ, Worthington D, James J, Plews D, Mason A, Roper D, Rees DC, de la Salle B, Streetly A; British Committee for Standards in Haematology. Significant haemoglobinopathies: guidelines for screening and diagnosis. *Br J Haematol.* 2010; 149: 35-39.

3. Kai J, Ulph F, Cullinan T, Qureshi N. Communication of carrier status information following universal newborn screening for sickle cell disorders and cystic fibrosis: qualitative study of experience and practice. *Health Technol Assess.* 2009; 13: 1-82, iii.
4. Cela E, Dulín Iñiguez E, Guerrero Soler M, Arranz M, Galarón García P, Meléndez Bieles C. Evaluación en el tercer año de implantación del cribado neonatal universal de anemia falciforme en la Comunidad de Madrid. *An Pediatr.* 2007; 66: 382-386.
5. Dulín Iñiguez E, Cantalejo López MA, Cela de Julián ME, Galarón García P. Detección precoz neonatal de anemia falciforme y otras hemoglobinopatías en la Comunidad Autónoma de Madrid. Estudio Piloto. *An Pediatr (Barc).* 2003; 58: 146-55.
6. Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátricas SEHOP. Guía de práctica clínica sobre Enfermedad de Células Falciformes. Edición Enero 2010. [www.sehop.org](http://www.sehop.org)
7. Hopyer JD, Scheidt RM. Identification of haemoglobin variants by HPLC. *Clin Chem.* 2005; 51: 1303-1304.
8. Espada M, Valle A, Marcos E. Early detection of sickle cell anemia and others haemoglobinopathies in neonates in the Basque Country. Pilot Study in anonymous not related population. The 6<sup>th</sup> European Regional Meeting in Neonatal Screening. Prague. April 26-28<sup>th</sup> 2009. <http://www.cls.cz>. *Czecho-Slovak Pediatrics* 64, 2009, 4
9. Castilla AM, Balil S, Valle A, Mendialdua AM, Etxezarreta B, Espada M. Detección precoz neonatal de anemia falciforme y otras hemoglobinopatías en la Comunidad Autónoma del País Vasco. Estudio Piloto. II Congreso Nacional AECNE 26-28 Noviembre 2009. Valencia. Revista electrónica AECNE en [www.aecne.es](http://www.aecne.es)
10. Pampols Ros T, Terracini B, de Abajo Iglesias FJ, Feito Grande L, Martín-Arribas MC, Fernández Soria JM, Redondo Martín del Olmo T, Campos Castelló J, Herrera Carranza J, Judez Gutiérrez J, Abascal Alonso M, Morales Piga A. Recomendaciones sobre los aspectos éticos de los programas de cribado de población para enfermedades raras. *Rev Esp Salud Pública.* 2010; 84: 121-136.
11. Davies SC, Cronin E, Gill M, Grengross P, Hickman M, Norman C. Screening for sickle cell disease and thalassaemia: A systematic review with supplementary research. *Health Technol Assess.* 2000; 4: 1-99.