

PESQUISA NEONATAL: Antecedentes, presente y perspectivas

Bioq. Gustavo A. Dratler

INTRODUCCION

Los programas de Pesquisa Neonatal se enmarcan en el campo de la medicina preventiva, y de la atención primaria de Salud. Constituyen estrategias de salud pública destinadas a la identificación de condiciones médicas que, de mediar una intervención oportuna y temprana, permiten modificar favorablemente el curso de dichas enfermedades, eliminando o reduciendo mortalidad, morbilidad o discapacidades. Se trata de un proceso multidisciplinario articulado en red, en el que intervienen distintos prestadores del sistema de salud (obstetras, neonatólogos, enfermeras, técnicos, bioquímicos, pediatras, médicos especialistas y también las familias) que interactúan para lograr este objetivo¹.

Es importante destacar que la pesquisa neonatal no se trata de una prueba de laboratorio sino de un sistema integral y coordinado multiefecto. El examen de pesquisa propiamente dicho representa el componente de rastreo poblacional, que permite destacar o tamizar un niño presuntamente afectado dentro de una población de recién nacidos aparentemente sanos. Esto no producirá un resultado diagnóstico sino una situación de sospecha. Por lo tanto, toda prueba de pesquisa siempre deberá ser seguida de una evaluación diagnóstica.

En cuanto a su organización, los programas de pesquisa se organizan en 4 niveles de atención:

- El primer nivel de atención, lo componen las Maternidades, donde ocurre la toma de muestra.
- El segundo nivel es el Laboratorio de Pesquisa Neonatal, o centro de procesamiento.
- El tercer nivel, lo componen las Especialidades médicas, encargadas de la confirmación, el tratamiento y el seguimiento.
- Existe un cuarto nivel que está representado por la Coordinación regional del programa.

Los programas de pesquisa deben formalizar sus diferentes niveles de atención, con responsables definidos, y ubicables, encargados de asegurar el correcto desarrollo de su nivel de atención. La integración armónica de estos niveles, con responsabilidades únicas y definidas, es vital para el correcto desarrollo de un programa de pesquisa.

Desde un punto de vista funcional, los procesos que involucran un sistema de pesquisa neonatal son los siguientes (Figura 1):

- a) La Pesquisa Neonatal, cribado o tamiz neonatal, expresado como el examen bioquímico de los neonatos, con su componente preanalítico, analítico y postanalítico.

Una vez que el niño nace, se realiza la toma de muestra por punción del talón y goteo sobre papel de filtro diagnóstico, entre las 48 hs y el quinto día de vida, previo al alta. Estas muestras

Laboratorio de Pesquisa Neonatal. Servicio de Endocrinología.
Hospital de Pediatría Juan P. Garrahan.

se permiten secar, se verifican y se transportan al laboratorio de pesquisa. Una vez que las muestras se reciben, las muestras se controlan, registran, y se perforan para su análisis. Los resultados de las pruebas se validan, con criterios de calidad y los informes normales se envían tanto al equipo médico como a los padres.

- b) La Recitación, pone en marcha los mecanismos de localización y derivación de aquellos niños con un resultado positivo o dudoso. Esta etapa incluye la intervención de efectores sanitarios, asistencia social y otros actores estatales que puedan contribuir a efectivizar una recitación dificultosa.
- c) Una vez localizado el niño con una prueba alterada de pesquisa, se inicia la etapa de diagnóstico, que pone en ejecución la evaluación clínica del recién nacido y pruebas específicas que permiten confirmar o descartar la patología sospechosa, que serán provistas por el equipo médico especialista y usualmente un laboratorio especializado.
- d) La etapa de tratamiento implica la instauración de la terapéutica que permitirá prevenir la morbimortalidad que causan las patologías de pesquisa, asegurando el cumplimiento eficaz y a largo plazo de los tratamientos (seguimiento).
- e) Todo el circuito se completa con una etapa de evaluación a través de indicadores adecuados de cada una de las etapas precedentes, con el fin de validar los procedimientos bioquímicos, médicos y logísticos, para evaluar la eficacia del seguimiento e intervención, los beneficios y costos para el paciente, familia y la sociedad, buscando tomar medidas correctivas cuando se detecta alguna debilidad en el sistema.

Desde el punto de vista de la planificación de estos programas, su instauración racional toma en cuenta aspectos tanto sanitarios como económicos, siendo en general favorable la relación costo-beneficio. Sabemos que la detección de algunas enfermedades que causan discapacidad puede ahorrar dinero, y que la detección de otras enfermedades, puede salvar vidas, pero no necesariamente ahorra dinero².

Desde el punto de vista económico, si se tienen en cuenta los costos, existen costos directos: de organización y operativos (diagnósticos y tratamientos), costos para las familias (ej. traslados), costos indirectos: como la pérdida de producción laboral de una persona afectada y de su familia, y costos intangibles, sin valor financiero: dolor, sufrimiento, aspectos psicológicos. En cuanto a los beneficios, hay beneficios directos: ahorros en recursos de salud con el mejor estado de salud del paciente, beneficios indirectos: productividad laboral del paciente y su familia, y beneficios intangibles: Impacto en sobrevida, morbilidad y calidad de vida³. La relación costo-beneficio se encuentra influenciada por distintos factores, tales como la incidencia de patología, los niveles de corte seleccionados para el marcador bioquímico, el número de muestras evaluadas y la cobertura lograda. El simple análisis de estos factores permite comprender que por un principio de eficiencia y economía, los máximos beneficios se alcanzan cuando el laboratorio de pesquisa se encuentra funcionalmente centralizado y geográficamente regionalizado. Asimismo la falta de cobertura en pesquisa neonatal reduce la relación costo-beneficio de los programas de pesquisa, debido a no lograrse los máximos objetivos planteados, frente a la inversión realizada.



Figura 1: Etapas de la Pesquisa Neonatal.

Es difícil extrapolar estudios realizados en distintas poblaciones, distintas economías y distintas plataformas tecnológicas, pero a modo de referencia es posible situar, según distintos autores, la relación costo-beneficio para la pesquisa de Fenilcetonuria entre 1,79⁴ y 6,6⁵. En el caso de la pesquisa de Hipotiroidismo congénito se han cuantificado los costos asociados a la discapacidad intelectual, y los beneficios en productividad económica de cada punto de cociente intelectual prevenido², estimándose que el beneficio económico de realizar esta pesquisa es aproximadamente 20 veces el costo de las pruebas de laboratorio para el hipotiroidismo congénito.

Criterios para seleccionar las enfermedades que deben pesquisarse

Los criterios que subyacen para la selección de enfermedades pesquisables derivan de los principios formulados por Wilson y Jungner en 1968, publicados por la Organización Mundial de la Salud (Principles and practice of screening for disease)⁶. A efectos descriptivos podemos considerar aspectos que tienen relación con la patología y aspectos relacionados a la metodología de detección⁷.

En general, las enfermedades pesquisables deben presentarse con una prevalencia que suponga un problema para la salud pública, deben ser enfermedades severas y deben existir tratamientos que aseguren máxima efectividad de la intervención en el período neonatal.

En cuanto a los métodos utilizados en la pesquisa: debe ser sencillo obtener la muestra, y ésta debe poder transportarse con facilidad al laboratorio de procesamiento.

La técnica a utilizar debe ser altamente sensible (escasos falsos negativos) y específica (confiable: escasos falsos positivos), y por último todos estos procesos deben tener un costo razonable.

De acuerdo con estos criterios, el marco legal vigente que regula estas actividades en la República Argentina es la Ley 26279, sancionada en 2007, que exige de manera obligatoria y universal, la realización de la pesquisa de las siguientes enfermedades en todos los establecimientos públicos de gestión estatal, de la seguridad social y privados, donde ocurren nacimientos:

- Fenilcetonuria.
- Hipotiroidismo Congénito.
- Fibrosis Quística.
- Déficit de Biotinidasa.
- Galactosemia.
- Hiperplasia Suprarrenal Congénita.

Dicha ley prevé también la detección de la Retinopatía del prematuro, Chagas y Sífilis, aunque este grupo de patologías pertenece a otro grupo de condiciones.

En el mundo desarrollado, el advenimiento de

nuevas tecnologías multianálisis (espectrometría de masa en tándem²¹) para la detección de enfermedades y nuevas opciones terapéuticas ha introducido el potencial de expandir la pesquisa neonatal hacia nuevas patologías. Sin embargo, el avance hacia estas posibilidades ha sido heterogéneo, debido a falta de consenso o información que represente un aval contundente a su implementación, dado que existen condiciones donde la pesquisa neonatal ofrece un beneficio claro y directo para el recién nacido y otras con beneficios no tan obvios, lo que ha llevado a discrepancias en la selección de los paneles de enfermedades a investigar. Además en países en desarrollo el acceso a estas tecnologías es más dificultoso por su costo, y porque el sistema de salud se encuentra usualmente enfocado hacia otras prioridades⁸.

Así, entre los países desarrollados, algunos países (o regiones dentro de un país) pesquisan un número limitado de errores innatos del metabolismo (EIM), tales como Francia (solo 1 EIM), Suiza (5 EIM), Reino Unido (6 EIM), Taiwan (7 EIM), Alemania (12 EIM), Dinamarca (13 EIM), mientras que otros países buscan un gran número de errores innatos en el metabolismo (Estados Unidos, Canadá, Australia, Nueva Zelanda, Japón, España (variable según la comunidad autónoma, desde 4 a más de 20), Suecia (21 EIM), Portugal (24 EIM), Austria (26 EIM), Italia (40 EIM). En Latinoamérica, Costa Rica y Uruguay pesquisan un amplio número de condiciones utilizando esta plataforma tecnológica. En medio oriente, Israel, Qatar y Arabia Saudita también han implementado paneles amplios de pesquisa por espectrometría de masas⁹⁻¹⁰.

Resulta interesante conocer algunas experiencias en consideración a cómo es abordado el proceso de decisión respecto a la inclusión de patologías, frente a la explosión de la técnica y el conocimiento. En Estados Unidos en 2001, el Departamento de Salud Materno-Infantil (*Maternal and Child Health Bureau*) otorgó un contrato al Colegio Americano de Genética Médica (*American College of Medical Genetics*) para desarrollar un sistema fundado en información científica y médica para ayudar a identificar y hacer recomendaciones basadas en la evidencia de las condiciones médicas adecuadas para ser incorporadas a los paneles estatales de pesquisa neonatal. Se convocó un grupo de más de 70 expertos (conformado por médicos, científicos, bioquímicos, legistas, expertos en ética, representantes de la sociedad civil, etc) y sus conclusiones fueron revisadas por un grupo externo independiente, lo que llevó a la publicación en 2006 del primer "Sistema y Panel Uniforme de Pesquisa Neonatal" o RUSP (*Recommended Uniform Screening Panel*)¹¹, con una lista de desórdenes recomendados por el Departamento de Salud y Servicios Humanos, para que los estados incorporen (optativamente)

a sus programas de pesquisa. Estos desórdenes son incorporados al RUSP basados en la evidencia acerca del:

- a) beneficio neto de la pesquisa neonatal (incidencia, si es identificable en el período neonatal, morbilidad, prevención de la mortalidad);
- b) capacidad del sistema público para incorporar la pesquisa (disponibilidad del test y del equipamiento, características del test, disponibilidad de confirmación diagnóstica);
- c) disponibilidad de tratamiento efectivo (accesibilidad, costo, eficacia, beneficio de la identificación temprana, beneficio de la intervención temprana, manejo agudo, simplicidad de la terapéutica).

La categoría asignada (panel central, panel secundario, o no recomendada para pesquisa neonatal) fue estipulada de acuerdo al score obtenido por cada patología en el proceso de evaluación. Así, en el panel básico recomendado por el Colegio Americano de Genética Médica se incluyeron 29 condiciones. De ellas, 20 son desórdenes del metabolismo, de aminoácidos (6 desórdenes), ácidos grasos (5 desórdenes) y ácidos orgánicos (9 desórdenes) y requieren tecnología compleja (espectrometría de masa en tándem), tres son hemoglobinopatías y otras seis condiciones son Deficiencia de Biotinidasa, Hiperplasia suprarrenal congénita, Fibrosis quística, Hipotiroidismo Congénito, Galactosemia y desórdenes de la audición. Además, como parte del proceso de identificación de estos desórdenes centrales, se recomendó la identificación de 25 objetivos secundarios (panel secundario). Actualmente el RUSP incluye 35 patologías primarias y más de 26 patologías secundarias.

Antecedentes y avances de la pesquisa

Podemos trazar los inicios de esta disciplina (Figura 2) a 1960 cuando el Dr Robert Guthrie desarrolló un test simple para la medición de Fenilalanina en suero, usando el principio de inhibición competitiva, basado en el crecimiento de bacillus subtilis estimulado por la Fenilalanina sobre un agar adicionado con un antagonista de la Fenilalanina (beta2 tienilalanina), a fin de ser utilizado en el monitoreo del tratamiento de niños con Fenilcetonuria¹². Sensibilizado por el diagnóstico tardío de esta patología en una sobrina, Guthrie dirigió su interés a la posibilidad de realizar su pesquisa en los recién nacidos, con el fin de lograr la instauración temprana del tratamiento y mejorar el pronóstico intelectual de estos niños. Guthrie reconoció el potencial de trabajar con sangre entera recolectada sobre papel de filtro, a partir de la punción del talón del recién nacido. Esta contribución, aún plenamente vigente, volvió práctica la implementación de estos programas por la simplicidad de su recolección, la facilidad de su transporte, sencillez de manipulación y procesamiento. Hoy sabemos, que las muestras de sangre seca presentan condiciones adecuadas de bioseguridad, y siempre y cuando no se expongan a la luz y calor directos, preservan las sustancias a analizar en el laboratorio sin requerimiento de refrigeración y son un formato práctico para su transporte sencillo y económico. Así, la primera experiencia exitosa de pesquisa neonatal de Fenilcetonuria tuvo lugar en Jamestown, Nueva York, en 1961.

Si bien se utilizaron algunos otros ensayos de inhibición bacteriana para el diagnóstico de otros

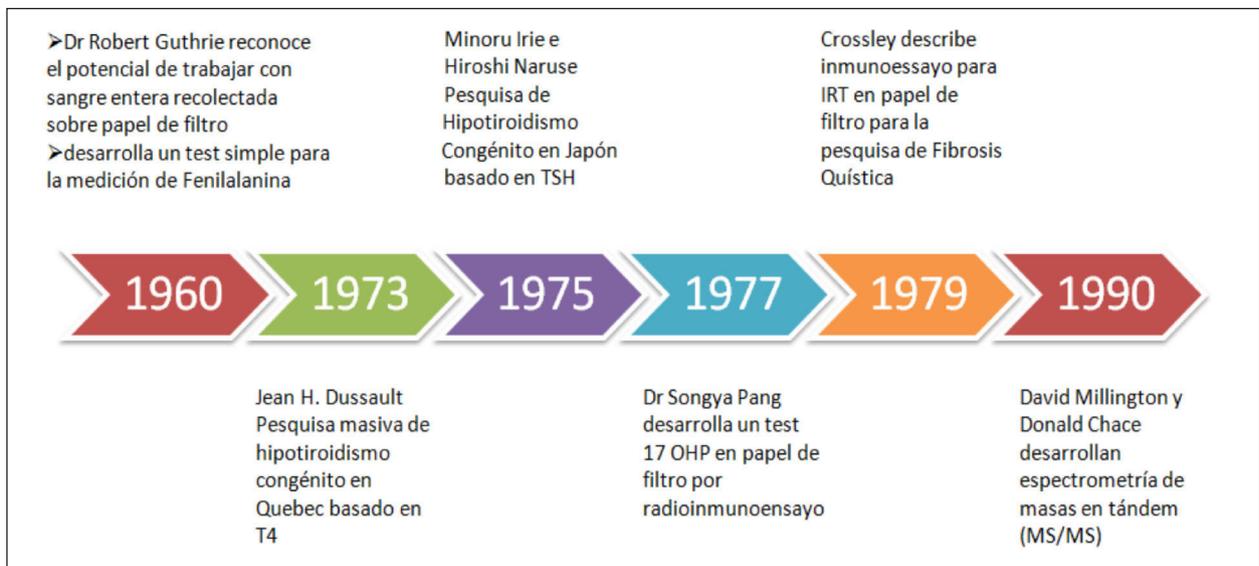


Figura 2: Antecedentes de la Pesquisa Neonatal.

trastornos más raros, como la enfermedad de la orina con jarabe de arce y la homocistinuria, el siguiente paso importante fue la descripción en 1973 de un ensayo para la tiroxina (T4), utilizando manchas de sangre seca. El médico franco-canadiense Jean H. Dussault fue el primero en desarrollar un programa exitoso para de detección masiva de Hipotiroidismo Congénito (condición que provoca severo retraso en el desarrollo neurocognitivo y de crecimiento, debido a la deficiencia congénita no tratada de las hormonas tiroideas) en Quebec, Canadá, luego que en 1972 consiguiera desarrollar un método por radioinmunoensayo para el dosaje de T4 en sangre seca en papel de filtro¹³ a partir de la observación en el laboratorio provincial, que realizaba la pesquisa de Fenilcetonuria y Tirosinemia, que una porción de sangre podía ser eluida para su análisis, resolviendo con el uso de esas mismas muestras los problemas logísticos de implementar un nuevo programa de pesquisa e implementando un programa piloto de pesquisa de Hipotiroidismo Congénito sobre el ya establecido programa de pesquisa de Fenilcetonuria de Quebec. En 1975 Minoru Irie e Hiroshi Naruse propusieron y publicaron la medición por radioinmunoensayo de TSH en sangre seca sobre papel de filtro¹⁴ como marcador de pesquisa neonatal.

Otros trastornos disponibles de examinar a fines de los años setenta y ochenta fueron la Fibrosis quística³⁰, la Hiperplasia suprarrenal congénita, la Deficiencia de Biotinidasa y la anemia drepanocítica. No todos estos fueron adoptados ampliamente.

La pesquisa de la Hiperplasia suprarrenal congénita fue posible en 1977 cuando Songya Pang y colaboradores desarrollaron una prueba para medir 17 hidroxiprogesterona en papel de filtro por radioinmunoensayo¹⁵. Se trata de un grupo de desórdenes de la esteroidogénesis que resulta en una inadecuada o nula síntesis de cortisol. La ausencia de *feedback* negativo desencadena un exceso de liberación de ACTH que produce hiperplasia adrenal. Presenta patrones anormales de glucocorticoides, mineralocorticoides y esteroides sexuales. El objetivo de la pesquisa de Hiperplasia suprarrenal congénita es la prevención de las crisis adrenales potencialmente mortales, el shock y el daño mental secuelar o muerte de los niños afectados. Otros objetivos son la prevención de la asignación incorrecta del sexo en niñas afectadas y los efectos progresivos del exceso de andrógenos adrenales.

Una vez que las muestras de sangre en papel de filtro son tomadas de manera rutinaria, es relativamente sencillo desarrollar e incorporar nuevas pruebas de pesquisa. En la década de 1980 había una lista de más de 20 pruebas disponibles para enfermedades metabólicas heredables, aunque relativamente pocas han tenido amplia aceptación.

Desde la labor pionera realizada en el decenio de 1990 por David Millington y Donald Chace¹⁶⁻¹⁷ del Centro Médico de la Universidad de Duke, en el desarrollo de la espectrometría de masas en tándem (MS/MS), esta técnica ha sido una aplicación muy significativa para la exploración de los recién nacidos, permitiendo expandir el campo del tamizaje neonatal de una forma extraordinariamente amplia y ha ganado aceptación en muchos países desarrollados para detectar EIM -representados clásicamente por la Fenilcetonuria-, con capacidad de analizar 30 o 40 trastornos en una sola prueba, utilizando una sola mancha de sangre de 3 mm. Se trata de un instrumento electrónico para el pesado molecular, que provee información cualitativa (estructural, masa/carga) y cuantitativa (cantidad/concentración) de moléculas de interés. Su sensibilidad y especificidad han sido bien documentadas; sin embargo, sigue habiendo dudas sobre si esta tecnología debe utilizarse al máximo cuando ese uso puede significar la detección y la notificación de resultados analíticos que conduzcan a diagnosticar afecciones cuya evolución clínica no es clara y que podrían no requerir tratamiento, o cuando la eficacia del tratamiento aún no está demostrada.

Esta técnica¹⁰ permite la identificación de moléculas, basada en su relación masa/carga (m/z). Las moléculas de interés forman parte de una mezcla heterogénea que se somete a una fuente de ionización previa (ionización por electrospray), donde se ionizan adquiriendo carga negativa o positiva, y son introducidos al instrumento en fase gaseosa. Los iones atraviesan el analizador o selector de masas (cuadrupolo) donde son sometidos a campos eléctricos que permiten su separación de acuerdo a su relación m/z . Se trata de un sistema de triple cuadrupolo, que comprende dos analizadores de masa separados por una cámara de colisión que induce la fragmentación de los compuestos iónicos. El primer analizador determina el ion precursor y el segundo analizador el ion producto (de la colisión). Las acilcarnitinas se caracterizan por formar un ion producto de masa/carga 85 como resultado de su fragmentación, y los aminoácidos forman un ion producto con pérdida neutral de 102 unidades de masa respecto de su ión precursor. En contacto con el detector, se generan señales que son registradas y representadas en un espectro de masas que muestra la abundancia relativa en función de su relación m/z .

Los EIM son trastornos bioquímicos hereditarios. Tomados individualmente son raros. No obstante, su importancia colectiva es cada vez mayor y ocupan un lugar importante en la práctica de la pediatría. Incluso como grupo, la incidencia de los EIM es bastante poco común (alrededor de 1:4000 a 1:5000 en un panel completo de acilcarnitinas y

aminoácidos usando MS/MS) (Tabla 1). Esta técnica de detección es costosa y el manejo de los niños afectados es mucho más complicado para el

médico y la familia. Estas enfermedades pueden manifestarse rápidamente y deterioran al paciente sin un manejo adecuado oportuno.

TABLA 1: ALTERACIONES POTENCIALMENTE DETECTABLES EN UN PROGRAMA DE CRIBADO NEONATAL POR ESPECTROMETRIA DE MASA EN TANDEM. JOSE ANGEL COCHO DE JUAN (2007)-USC (20).

Trastorno	Metabolito indicador
Metabolismo de aminoácidos	
Fenilcetonuria	Phe
Jarabe de arce	Leu, Ile, Val
Tirosinemia (I, II)	Tyr
Homocistinuria	Met
Citrulinemia	Citrulina (Cit)
Aciduriaarginosuccínica	Citrulina (Cit)
Hipermetioninemia	Met
Defectos FAO	
Def. deshidrogenasa acil-CoA de cadena muy larga (VLCAD)	C14:1, C14, C16
Def. deshidrogenasa acil-CoA de cadena larga (LCHAD)	C16OH,C18:1OH,C10OH,C12OH,C14OH, C18OH
Def. deshidrogenasa acil-CoA de cadena media (MCAD)	C8, C10, C10:1, C6
Def. deshidrogenasa acil-CoA de cadena corta (SCAD)	C4
Múltiple deficiencia de deshidrogenasa Acil-CoA (MADD)	C10, C4, C8, C5, C8:1, C12, C14:1
Deficiencia de la carnitina palmitoiltransferasa (CPT II)	C18:2, C18:1, C18, C16, C12, C10, C14
Defecto de la translocación de Carnitina/Acilocarnitina	C16, C18:1, C18
Acidurias orgánicas	
Acidemia isovalérica	Isovaleril (C5)
Aciduria 3-hidroxi-3-metilglutárica	3-metilglutaril (C6DC),C5OH,C3
Acidemia propiónica	Propionil (C3)
Holocarboxilasasintetasa, biotinidasa	Propionil (C3), C5OH
Acidemia glutárica tipo I	Glutaril (C5DC)
Acidemia metilmalónica	Propionil (C3), C4DC
Def. de liasa de 3-OH-metilglutarilCoA	C5OH
Def. de carboxilasa 3-metilcrotonilCoA	C5OH
Argininemia	Arginina (Arg)
Hipoglicemia no cetónica	Glicina (Gly)
Hiperornitemia, homocitrulinuria	Ornitina (Orn), homocitrulina
5-oxiprolinuria	5-oxiprolina
Def. carnitina palmitoiltransferasa (I)	Carnitina libre
Def. isobutirilCoA deshidrogenasa	C4
Def. acetoacetilolasa mitocondrial	C5:1,C5OH
Aciduria metilmalónica	C3DC
Def. 2-metilbutirilCoA deshidrogenasa	C5

Los EIM pueden clasificarse en tres grupos, dependiendo de los síntomas y metabolitos acumulados¹⁸⁻²⁰:

- 1- Intoxicación aguda y progresiva por atesoramiento de compuestos próximos o alternos al bloqueo del camino metabólico: aminoacidopatías, acidemias orgánicas, defectos del ciclo de la urea e intolerancia a los azúcares. Presentan sintomatología de intoxicación aguda (vómitos, fallo hepático, convulsiones, coma) y progresiva (retraso psicomotor progresivo, miocardiopatía). Se produce afectación hepática, muscular y neurológica (la más importante) de debut en el neonato, lactante o escolar tras un período libre de síntomas.
- 2- Deficiencia en producción y utilización de energía: enfermedades mitocondriales, glucogenosis, acidemias lácticas congénitas, trastornos en la oxidación de ácidos grasos. Presentan afectación multiorgánica en forma de crisis con hipotonía, miopatía, fallo cardíaco y hepático, en relación con factores desencadenantes como infecciones, ayuno, intervenciones quirúrgicas u otras situaciones estresantes.
- 3- Dificultad en el catabolismo de moléculas complejas o enfermedades "por depósito": enfermedades de depósito lisosomal y peroxisomal. Afectan hígado, bazo, riñón, SNC, músculo esquelético y miocardio. Se caracterizan por una clínica progresiva y permanente, que no depende de la dieta ni de procesos intercurrentes.

Desde un punto de vista tecnológico, podemos identificar los siguientes hitos:

1. La toma de muestra de sangre entera por punción sobre el papel de filtro representó una idea original que resultó un método práctico para resolver las complejidades técnicas y logísticas, de recolección y transporte de muestras a un centro de procesamiento y así establecer un programa de pesquisa.
2. El desarrollo de bioensayos, como el test de inhibición bacteriana de Guthrie para Fenilalanina, y varios otros, que supusieron las primeras pruebas bioquímicas de pesquisa neonatal.
3. La instalación de una práctica de pesquisa neonatal y la conformación de su red logística, facilitó la incorporación de nuevas prácticas a los programas ya funcionantes.
4. El desarrollo de radioinmunoensayos adaptados a muestras de sangre seca en papel de filtro conformaron las primeras pruebas de pesquisa sensibles para marcadores hormonales. Aunque, si bien extremadamente útiles, suponían una serie de desventajas: el requerimiento de equipamiento relativamente costoso, reactivos de corto vencimiento, el requerimiento de condiciones regulatorias especiales para su utilización (por el manejo de componentes ra-

dioactivos), riesgos para la salud y la necesidad de mecanismos de desechos especiales.

5. La migración de estos ensayos a técnicas en microplacas (Colorimétricas, ELISA) facilitó la escalabilidad de los ensayos, permitiendo el establecimiento de centros regionales capaces de procesar grandes volúmenes de muestras. Además, los enzimoimmunoensayos (ELISA) no poseen las desventajas de los radioinmunoensayos y tienen importantes ventajas: equipamiento más económico, alta sensibilidad, detectabilidad y especificidad, técnicas económicas, fácilmente realizables, reactivos de largo vencimiento, sin riesgos de radiación, etc. Su utilidad se sustenta en dos importantes fenómenos: el extraordinario poder discriminativo de los anticuerpos, y la especificidad y poder catalítico de las enzimas usadas como indicador de la reacción.
6. La incorporación de la fluorimetría y fluorimetría a tiempo resuelto (DELFI) en microplacas supuso una mejora significativa en la sensibilidad y reproducibilidad de los ensayos.
7. Automatización: incorporación de la informática contribuyendo a la interpretación automatizada de datos, mejoras en las comunicaciones, identificación por código de barras de las tarjetas de pesquisa, sistemas automatizados para el corte de muestras (*punchers*), etc. incorporan seguridad, disminuyen las tasas de error, y aumentan la capacidad de procesamiento de los laboratorios de pesquisa.
8. Determinación de analitos secundarios: además de la optimización de valores de corte para reducir falsos negativos y positivos, se ha incorporado la determinación de segundos analitos para mejorar la especificidad de las pruebas de pesquisa. Ej. Perfil de esteroides en Hiperplasia suprarrenal congénita, la proteína asociada a la pancreatitis (PAP) en Fibrosis quística, succinilacetona en Tirosinemia tipo 1, o bien secuenciación de DNA para detectar variantes patogénicas comunes (Fibrosis Quística, MCADD, Galactosemia).
9. Espectrometría de masa en tándem en combinación con la automatización para el procesamiento de grandes volúmenes de muestras: permitió la expansión de la pesquisa neonatal a errores congénitos del metabolismo. Al mismo tiempo, cambió un paradigma de la pesquisa neonatal: desde un procedimiento único implementado para obtener un único resultado y adicionar una única pesquisa, por una metodología que permite, en un único procedimiento, obtener múltiples resultados y adicionar múltiples pesquisas (un sistema multianalito para una pesquisa de múltiples enfermedades). Esto quebró una limitación física para la expansión

de los programas de pesquisa a la incorporación de nuevas patologías, que requerían la ampliación constante de la infraestructura, equipamiento y del personal necesario. En contrapartida se requiere personal con mayor nivel de preparación y experiencia técnica, y su aplicación requiere una planificación cuidadosa por laboratorios experimentados. Esta metodología reemplazó el paradigma de las pesquisas discretas por las pesquisas de perfiles. La determinación de perfiles, también permitió mejorar la especificidad de algunas pesquisas, al sumar al marcador bioquímico principal la evaluación de relaciones asociadas a marcadores bioquímicos secundarios, ampliando así la definición tradicional de valores de corte concebida como el extremo superior o inferior del rango normal de un marcador bioquímico.

10. Se incorpora la Genética molecular para algunos desórdenes mendelianos: Patologías actualmente en uso (limitado) usando prueba molecular:

- a) Prueba molecular primaria: Inmunodeficiencia Combinada Severa (SCID), Atrofia Muscular Espinal (SMN1).
- b) Prueba molecular de segunda instancia: Fibrosis Quística (CFTR), Galactosemia (GALT), MCAD (ACADM), Hemoglobinopatías (HBB), Krabbe (GALC), Pompe (GAA), X-ALD (ABCD1), Enfermedad de Jarabe de Arce (BCKDHA).
- c) Pruebas piloto: Hiperplasia suprarrenal congénita (CYP21A2), VLCAD (ACADVL), MPS-1 (IDUA), SCID panel 39 genes.

11. Futuros desarrollos: Aún en el terreno de la especulación, pero es posible intuir algunos progresos:

- A. El avance en terapias de reemplazo enzimático y otras novedosas podrían poner en consideración la incorporación de nuevas pesquisas.
- B. Incorporación de nuevas plataformas para la búsqueda de marcadores genéticos: con el advenimiento de las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS: *next-generation sequencing*) se ha considerado el uso potencial de paneles de genes seleccionados o bien la secuenciación de exoma completo. Sin embargo, los altos costos, tiempos de resolución y detección de variantes de significado clínico incierto, son limitantes para el uso de estas tecnologías en pesquisa neonatal.
- C. El perfil metabolómico global^{22,24}, basado en espectrometría de masa, para medir gran número de pequeñas moléculas en fluidos corporales podría tener en el futuro aplicaciones para pesquisa de errores congénitos

del metabolismo, o bien podría proveer una lectura funcional para evaluar la penetrancia de las mutaciones genéticas identificadas por NGS.

- D. El desarrollo de la metodología multiplex de microfluidica digital (DMF)^{23,26}, basada en la aplicación de voltaje para manipular gotitas (micro o nanolitro) individuales que pueden ser transportadas, fusionadas, divididas o dispensadas bajo control de un software, puede ser una alternativa con potencial como tecnología simple, rápida y de alto rendimiento de detección de algunas patologías lisosomales de depósito²⁵, o como opción a otras actualmente en uso. Esta plataforma ya se ha utilizado para desarrollar ensayos inmunológicos, enzimáticos y otros basados en ADN.

Pesquisa Neonatal en la Republica Argentina

Podemos encontrar los primeros antecedentes en pesquisa en nuestro país (Figura 3) en las actividades iniciadas por la Fundación de Endocrinología Infantil (FEI) en 1985, instrumentando un programa de detección precoz de Hipotiroidismo Congénito y Fenilcetonuria en recién nacidos²⁷. Esta iniciativa fue prontamente replicada en diversas jurisdicciones. El Hospital de Pediatría Juan P. Garrahan es base del Laboratorio de Pesquisa Neonatal, dedicado a la detección de enfermedades Inaparentes Endócrino Metabólicas desde el año 1988, cuando se constituyó como primer programa público de pesquisa neonatal (proveyendo diagnóstico, confirmación y tratamiento), con alcance Nacional, promoviendo el acceso a la pesquisa de Hipotiroidismo Congénito y Fenilcetonuria a recién nacidos en maternidades de todo el país, previniendo la discapacidad mental en los niños afectados. Actualmente es el laboratorio de procesamiento para todas las maternidades del sector público de cuatro provincias patagónicas: Tierra del Fuego, Chubut, Santa Cruz y Río Negro, y es uno de los 4 centros de procesamiento de pesquisa de la Ciudad de Buenos Aires, proveyendo de pesquisa neonatal a los recién nacidos de la Maternidad Ramón Sardá. El Laboratorio de Pesquisa del Hospital Garrahan actualmente es centro de detección de dos programas oficiales (PPN programa de Pesquisa Ciudad de Buenos Aires y Programa Nacional de Pesquisa Neonatal, región Patagónica), respaldado por los servicios de Endocrinología, Errores Congénitos del Metabolismo y Neumonología, con sus respectivos laboratorios de especialidad, para brindar confirmación y tratamiento de los casos detectados.

En 1995 inició actividades el PRODYTEC (Programa de Diagnóstico y Tratamiento de Enfermedades Congénitas) en la Provincia de Buenos Ai-

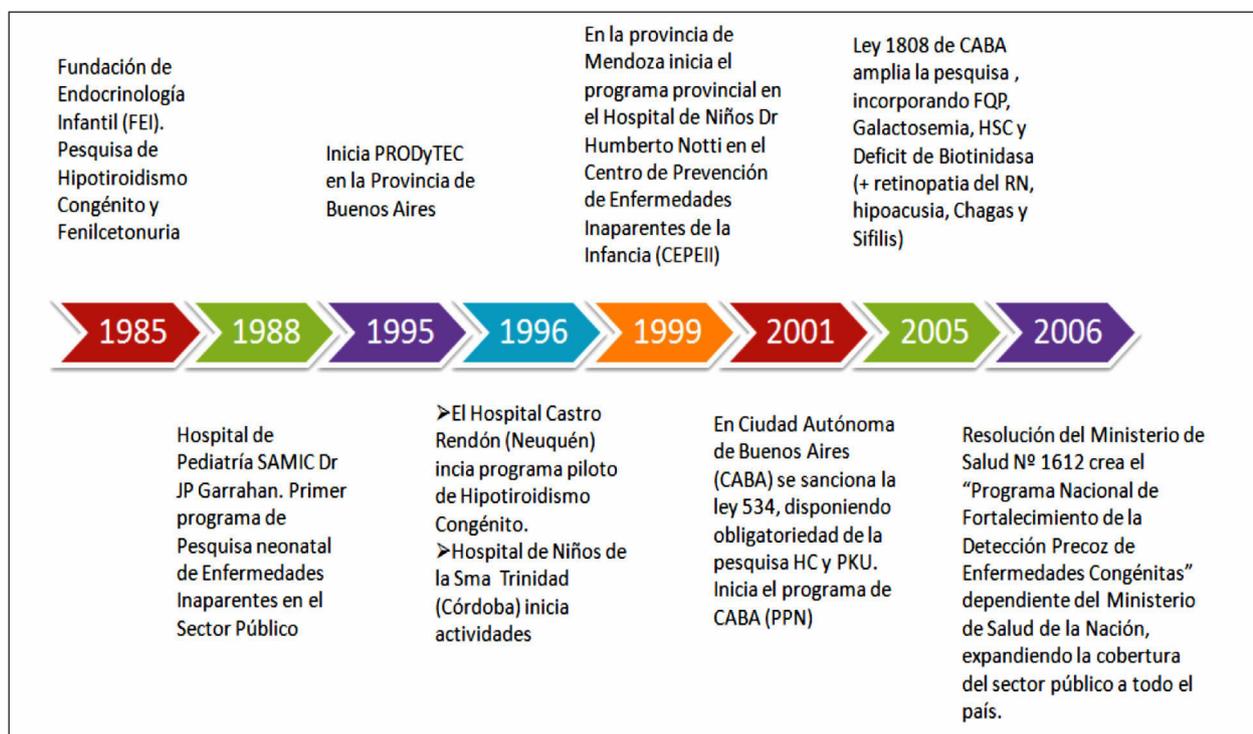


Figura 3: Antecedentes de la Pesquisa Neonatal en la República Argentina.

res a partir de un convenio entre el Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires y la Fundación Bioquímica Argentina (FBA) con el apoyo del Hospital de Niños Sor María Ludovica de La Plata, brindando pesquisa neonatal de manera integral a los recién nacidos del sector público provincial en esa jurisdicción.

En la provincia de Neuquén en el Hospital Castro Rendón se inició un programa piloto en 1996 de pesquisa de Hipotiroidismo Congénito, constituyéndose en programa en 1998 con la promulgación de la ley provincial y la ampliación de la pesquisa a Hipotiroidismo Congénito, Fenilcetonuria y Fibrosis Quística.

En 1996 inició actividades de pesquisa el Hospital de Niños de la Santísima Trinidad de Córdoba.

En 1999, en la provincia de Mendoza se inició el programa provincial con sede en el Hospital de niños Dr. Humberto Notti en el Centro de Prevención de Enfermedades Inaparentes de la Infancia (CE.P.E.I.I.).

En el área de la Ciudad de Buenos Aires, en 2001 la ley 534 y su decreto promulgatorio 2711, dispusieron la obligatoriedad de la pesquisa del Hipotiroidismo Congénito y la Fenilcetonuria en los recién nacidos en la Ciudad de Bs As. En 2005 la ley 1808 amplió el alcance de la ley 534, obligando a la detección de Fenilcetonuria, Hipotiroidismo neonatal, Fibrosis Quística, Galactosemia, Hiper-

plasia suprarrenal congénita y Deficiencia de Biotinidasas (junto a la retinopatía del recién nacido, hipoacusia del recién nacido, chagas y sífilis) en la ciudad de Buenos Aires.

Si bien la primer ley de alcance nacional exigía la realización mandatoria de pesquisa de Fenilcetonuria desde 1986 y de Hipotiroidismo Congénito desde 1990, la cobertura de estas prácticas fue inicialmente baja y fue ganándose cobertura con el progresivo desarrollo de los programas jurisdiccionales. En 2005 según encuesta (Figura 4) realizada desde la Dirección Nacional de Maternidad e Infancia (Ministerio de Salud de la Nación) sólo 17 de 23 provincias realizaban alguna pesquisa. De ellas, 13 provincias tenían cobertura nula o menor al 40%, 4 con cobertura entre 50-75% y 6 con cobertura adecuada (>90%). Solo el 50% de las provincias pesquisaban Fibrosis Quística y solo el 10% de las provincias pesquisaban Galactosemia.

En el año 2006, la Resolución del Ministerio de Salud Nº 1612/06, aprobada el 18/10/2006, creó el "Programa Nacional de Fortalecimiento de la Detección Precoz de Enfermedades Congénitas", dependiente de la Dirección Nacional de Maternidad e Infancia (Ministerio de Salud de la Nación), con el objetivo de fortalecer los programas provinciales de Pesquisa Neonatal y promover el alcance de una cobertura del 100% de los recién nacidos del sector público. Adquiriéndose desde 2006 reactivos para la determinación de cinco patologías,

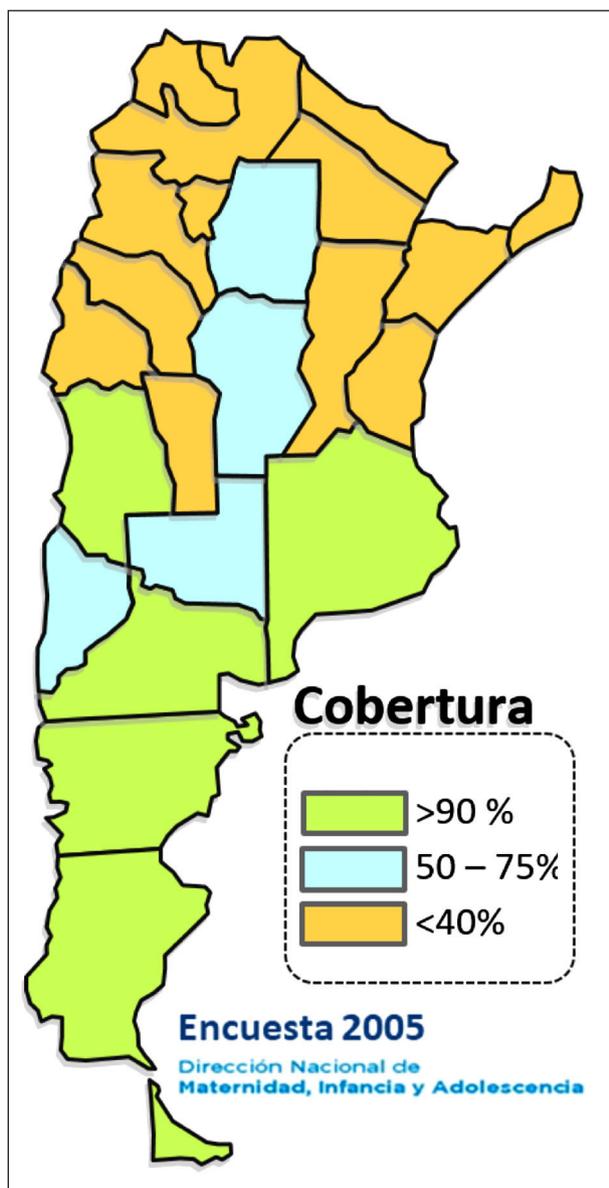


Figura 4: Cobertura de la Pesquisa Neonatal en Argentina en 2005 en el Subsector Público de Salud. Encuesta Dirección Nacional de Maternidad e Infancia. Ministerio de Salud.

excluida Fibrosis Quística, que fué incorporada en 2019. Este programa actualmente presta asistencia a todas las provincias, exceptuando dos jurisdicciones: Provincia de Buenos Aires y Ciudad Autónoma de Buenos Aires, con sólidos programas establecidos.

Evolución de la Cobertura (2006 a 2019) y casos detectados - Sector Público República Argentina

Como resultado de la actividad del Programa Nacional de Fortalecimiento fue posible alcanzar en el sector público de todas las jurisdicciones

provinciales altos niveles de cobertura, quedando por completar algunos nichos poblacionales puntuales. En la representación gráfica de avance de la cobertura (Figura 5) se consideró 100% el número de nacidos en sector oficial reportados en las Estadísticas Vitales, DEIS (Dirección de Estadísticas e Información de Salud)^{28,29}. En casos de jurisdicciones que superan el 100% de cobertura se trata de discrepancias en los datos que no han podido ser conciliadas, atribuibles a la contabilización de recién nacidos del sector privado que han demandado pesquisa neonatal en efectores públicos.

Las contabilización de casos a nivel nacional en el subsector público de salud (Tabla 2), incluyendo efectores asistidos y no asistidos por el Programa Nacional de Fortalecimiento en el período 2006 a 2020, y las incidencias resultantes de las patologías exigidas por la Ley Nacional son las siguientes:

Marco Regulatorio Nacional

- Ley 23.413, sancionada el 10/10/1986, establece la obligatoriedad de realizar la pesquisa neonatal de Fenilcetonuria.
- Ley 23.874, sancionada el 28/09/1990, agrega la detección precoz de Hipotiroidismo Congénito.
- El Decreto 1316 del 13/06/1994, reglamenta las leyes 23.413 y 23.874.
- Ley 24.438, sancionada el 21/12/1994, incorpora la detección de Fibrosis quística del páncreas.
- Resolución 508/96, establece normas de procedimiento para la toma y control de la muestra.
- Ley N° 26.279 sancionada el 5/09/2007, establece la obligatoriedad del diagnóstico y tratamiento de: Fenilcetonuria, Hipotiroidismo Congénito, Fibrosis quística del páncreas, Deficit de Biotinidasa, Galactosemia, Hiperplasia suprarrenal congénita, Retinopatía del Prematuro, Chagas y Sífilis.
- Resolución 1612/2006 (Oct 2006): Programa Nacional de Fortalecimiento de la Detección Precoz de Enfermedades Congénitas.
- En Mayo de 2015, el Gobierno Nacional aprobó la reglamentación (decreto 794/2015) de la ley 26.689 sobre el Cuidado Integral de la Salud de las Personas con Enfermedades Poco Frecuentes (EPOF), creando un Consejo Consultivo Honorario y un Programa Nacional, que estarían encargados de asesorar sobre el abordaje y tratamiento de estas patologías (EPOF) a los programas provinciales y de la Ciudad. La ley y su correspondiente Programa Nacional tienen como objetivo “extender, regionalizar y coordinar la cobertura de salud en el área de las anomalías congénitas y enfermedades poco frecuentes para garantizar el acceso de la po-

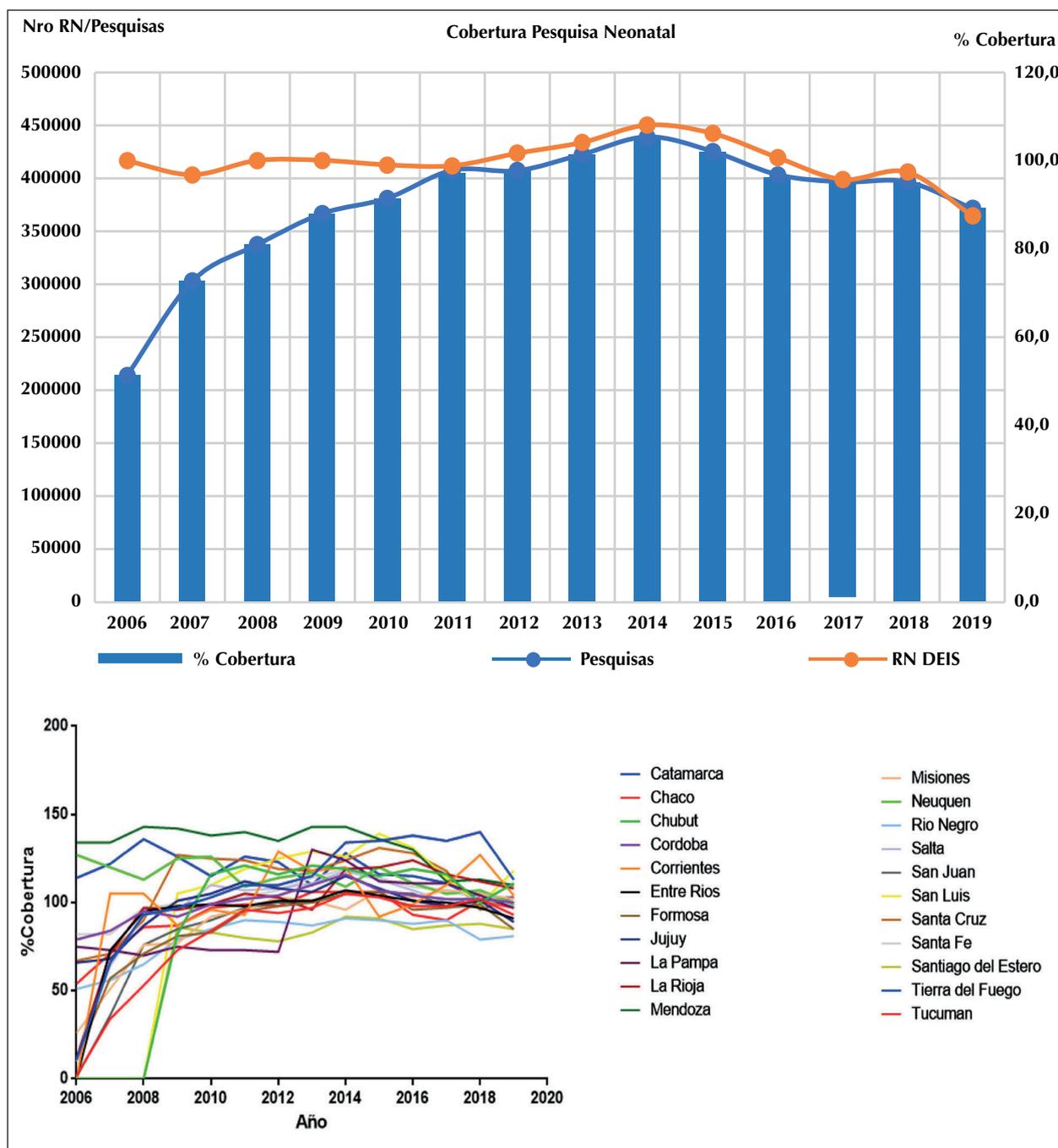


Figura 5: Evolución de la Cobertura de la Pesquisa Neonatal en Argentina (2005-2019) en el Subsector Público de Salud. Dirección de Salud Perinatal y Niñez, Ministerio de Salud. A) Evolución de Cobertura Nacional. B) Evolución Cobertura según Jurisdicción.

blación al diagnóstico y asesoramiento genético adecuado y oportuno”.

CONCLUSIONES:

La pesquisa neonatal ha demostrado ser una herramienta efectiva y de alto impacto en la salud pública, previniendo mortalidad y discapacidades.

En nuestro país ocurren más de 625.000 nacimientos anualmente (DEIS 2019), de los cuales 1 cada 1015 recién nacidos (estadística MSAL 2019), serán portadores de una condición de pesquisa neonatal contemplada en la ley vigente, representando más de 600 recién nacidos afectados anualmente.

Los resultados positivos requieren una acción

TABLA 2: PESQUISA SECTOR PUBLICO REPUBLICA ARGENTINA. DATOS 2006-2020. ESTADISTICAS DEL PROGRAMA NACIONAL DE FORTALECIMIENTO DE LA DETECCION PRECOZ DE ENFERMEDADES CONGENITAS - DIRECCION DE SALUD PERINATAL Y NIÑEZ - MINISTERIO DE SALUD DE LA NACION²⁹.

Patología	Casos	Incidencia (1 en ... Casos)	Pesquisas (RN)
Hipotiroidismo Congénito	3299	1703	5616741
Fenilcetonuria	158	35556	5617909
HPA	129	43550	5617909
PKU+HPA	287	19575	5617909
Hiperplasia Suprarrenal Congénita	338	15553	5256937
Galactosemia	91	57584	5240136
Deficiencia Total Biotinidasa	37	141471	5234414
Deficiencia Parcial Biotinidasa	48	109050	5234414
Deficiencia Biotinidasa (T+P)	85	61581	5234414
Fibrosis Quística	461	10430	4808426

médica urgente en pos de lograr una gestión efectiva; sin embargo, se debe entender que los estudios de pesquisa son orientativos y la acción del laboratorio de pesquisa debe integrarse con la acción médica que tendrá a su cargo el proceso diagnóstico. Así, la pesquisa neonatal, en su carácter multidisciplinario, sitúa al médico neonatólogo, al médico especialista y a los laboratorios de especialidades en roles claves y definitivos del sistema.

Desde su implementación en nuestro país se han obtenido grandes progresos en la obtención de cobertura, requiriéndose cada vez mayor coordinación con centros especializados que aseguren el seguimiento de todos los casos presuntamente positivos, para constituir así un programa de pesquisa eficaz.

La evolución de las herramientas tecnológicas, y nuevos tratamientos ofrecen cada vez más posibilidades, y creciente demanda de la sociedad civil y de la comunidad médica para futuras incorporaciones a la pesquisa neonatal, lo que suponen nuevas preocupaciones respecto a la disponibilidad de proveedores especializados de salud y acceso y continuidad de los tratamientos. Siendo un aspecto muy importante, cuando se trata de la implementación de pesquisa expandida, la falta de experiencia clínica de los médicos de atención primaria en el conocimiento de estos desórdenes, y la dificultad de acceso a los equipos de especialistas y a los tratamientos para asegurar su confirmación, tratamiento y seguimiento.

La pesquisa neonatal es un Sistema, por lo que si falla uno de sus componentes, se comprometen los beneficios que supone la implementación de una nueva pesquisa.

REFERENCIAS

1. Dratler G, Herzovich V, Vaiani E, et al. Conceptos y estrategias aplicadas a la pesquisa neonatal de endocrinopatías. *Medicina Infantil* 2010; XVII (2): 202-209.
2. Scott D, Grosse P. Newborn Screening: Health Impact and Return on Investment. *Health Services Research and Evaluation*. Centers for Disease Control. 2011. Obtenido de <https://www.youtube.com/watch?v=JFg6ocfeG1A>.
3. Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ, et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. *Health Technol Assess*. 1997; 1(7): i-iv, 1-202.
4. Alm J, Larsson A, Rosenqvist U. Health economic analysis of the Swedish neonatal metabolic screening programme. A method of optimizing routines. *Med Decis Making*. 1982; 2(1): 33-45.
5. Dhondt JL, Farriaux JP, Saily JC, et al. Economic evaluation of cost-benefit ratio of neonatal screening procedure for phenylketonuria and hypothyroidism. *J Inherit Metab Dis*. 1991; 14(4): 633-9.
6. Wilson JMG, Jungner G & World Health Organization. 1968. Principles and practice of screening for disease / J. M. G. Wilson, G. Jungner. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/37650>.
7. Iorcansky, S. Detección temprana del hipotiroidismo congénito. *Arch Arg Pediatr*. 1985; 83: 194.
8. Klein J. Newborn screening from an international perspective-different countries, different approaches. *Clin Biochem* 2011; 44(7): 471-472.
9. El-Hattab A, Almannai M, Sutton V. Newborn Screening: History, Current Status, and Future Directions. *Pediatr Clin North Am*. 2018; 65(2): 389-405.
10. Garg U, Dasouki M. Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry: clinical and laboratory aspects. *Clin Biochem*. 2006; 39(4): 315-32
11. American College of Medical Genetics Newborn Screening Expert Group. Newborn screening: toward a uniform screening panel and system--executive summary. *Pediatrics*. 2006; 117: S296-307.
12. Guthrie R, Susie A. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. *Pediatrics* 1963; 32:338-43.
13. Dussault JH, Coulombe P, Laberge C, et al. Preliminary report on a mass screening program for neonatal hypothyroidism. *J Pediatr* 1975; 86(5): 670-4
14. Irie M, Enomoto K, Naruse H. Measurement of thyroid-stimulating hormone in dried blood spot. *Lancet*. 1975; 2(7947): 1233-4.
15. Pang S, Hotchkiss J, Drash AL, et al. Microfilter paper method for 17-hydroxyprogesterone radioimmunoassay: its application for rapid screening for congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab*. 1977; 45: 1003-8.

16. Millington DS, Kodo N, Norwood DL, et al. 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.
17. Chace D, Naylor E. Expansion of newborn screening programs using automated tandem mass spectrometry. *Research Reviews* 1999; 5:150-154.
18. Pasquali M, Longo N. Newborn screening and inborn errors of metabolism. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2011; 157C(1):1-2.
19. Martín Sánchez MJ, Legarda Tamara M, Dalmau Serra J. Errores innatos del metabolismo: aproximación diagnóstica en Atención Primaria. *Boletín de la Sociedad de Pediatría de Asturias, Cantabria, Castilla y León. Bol Pediatr* 2007; 47: 111-115.
20. Cocho De Juan, José Ángel: «Desarrollo de un método por espectrometría de masas en tándem para la determinación de acilcarnitinas y la detección neonatal de alteraciones del metabolismo de ácidos orgánicos y ácidos grasos ». Santiago de Compostela: Universidade. Servicio de Publicacións e Intercambio Científico, 2007. ISBN: 978-84-9750-974-9.
21. Chace D. Mass spectrometry in newborn and metabolic screening: historical perspective and future directions. *J Mass Spectrom* 2008; 44(2):163-70.
22. De nes J, Szabo E, Robinette S, et al. Metabonomics of Newborn Screening Dried Blood Spot Samples: A Novel Approach in the Screening and Diagnostics of Inborn Errors of Metabolism. *Anal Chem* 2012; 84, 10113–10120.
23. Jebrail MJ, Yang H, Mudrik JM, et al. A digital microfluidic method for dried blood spot analysis. *Lab Chip*. 2011; 11(19): 3218-24.
24. Lanpher B, Brunetti-Pierri N, Lee B. Inborn errors of metabolism: the flux from Mendelian to complex diseases. *Nat Rev Genet* 2006; 7(6): 449-60.
25. Camargo Neto E, Schulte J, Pereira J, et al. Neonatal screening for four lysosomal storage diseases with a digital microfluidics platform: Initial results in Brazil. *Genet Mol Biol*. 2018; 41(2): 414-416.
26. Millington D, Sista R, Eckhardt A, et al. Digital Microfluidics: A Future Technology in the Newborn Screening Laboratory? *Semin Perinatol* 2010; 34(2): 163-169.
27. Gruñeiro-Papendieck L, Iorcansky S, Rivarola M, et al. Detección temprana de hipotiroidismo congénito en una población de recién nacidos de riesgo. *Arch Argen Pediatr* 1985; 83: 77-83.
28. Dirección Nacional de Epidemiología e Información Estratégica. Dirección de Estadísticas e Información en Salud. ISSN: 0341-4630. Boletín Número 163. Ministerio de Salud Nacional. <https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/boletinro163.pdf>.
29. Boletín Integrado de Vigilancia BIV 545 - SE 15. Informe Especial: Pesquisa Neonatal de Enfermedades Congénitas (Ley Nacional 26279). Dirección de Epidemiología. Ministerio de Salud Nacional. <https://bancos.salud.gob.ar/recurso/boletin-integrado-de-vigilancia-n545-se-152021>.
30. Crossley, J.R.; Elliott, R.B.; Smith, P.A. Dried blood spot screening for cystic fibrosis in the newborn. *Lancet* 1979; 1: 472-474.