



Fundación JL Castaño
SEQC

SEQC^{ML}
Sociedad Española de Medicina de Laboratorio

2019-2020

CASOS CLÍNICOS DE EDUCACIÓN CONTINUADA EN EL LABORATORIO CLÍNICO

Ed. Cont. Lab. Clin 45: 86 - 98

LACTANTE DE 7 MESES CON ALCALOSIS METABÓLICA PERSISTENTE.

Luis García de Guadiana-Romualdo.

Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Santa Lucía. Cartagena. Comisión de Magnitudes Biológicas relacionadas con la Urgencia Médica, Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQC^{ML}).

María Dolores Albaladejo-Otón.

Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Santa Lucía. Cartagena. Comisión de Laboratorio basado en la Evidencia, Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQC^{ML}).

EXPOSICIÓN DEL CASO

1. ANAMNESIS

Varón lactante de 7 meses de edad remitido a Urgencias hospitalarias por su pediatra de Atención Primaria por vómitos intermitentes desde hace aproximadamente 10 días, posteriores a las tomas, no relacionados con ningún alimento, y pérdida de peso de 420 g en las últimas 3 semanas. En las últimas 12 horas ha llegado a vomitar hasta en 3 ocasiones.

Antecedentes familiares

Madre de 29 años con antecedente de dermatitis atópica. Padre de 31 años sin datos clínicos de interés. No existen otros antecedentes familiares de interés.

Antecedentes personales

Período neonatal sin incidencias. Al nacimiento: Apgar 9/10; peso: 3.910 g, longitud: 51 cm y perímetro cefálico: 36,5 cm. Cribado neonatal de metabolopatías normal (Programa Regional de Cribado Neonatal de Metabolopatías en la Comunidad de Murcia). Desarrollo psicomotor normal. Desde el nacimiento recibe alimentación materna y algún suplemento de fórmula artificial.

En sus antecedentes personales destaca un ingreso a los 21 días de vida en el Servicio

de Urgencias por vómitos de 3 días de evolución, que aparecen después de las tomas, y exantema en cara, por lo que se sospecha alergia a proteínas de leche de vaca (APLV) inmunoglobulina E (IgE)-mediada. En este episodio se descarta estenosis hipertrófica del píloro mediante ecografía abdominal. Tras dar negativo para las pruebas cutáneas de lectura inmediata (prick test) es diagnosticado, en base a los datos clínicos, de APLV IgE-no mediada, por lo que se recomienda una dieta exenta de proteínas de leche de vaca y derivados y alimentación con fórmula hidrolizada, que desde entonces tolera muy bien, sin vómitos alimenticios, sólo mucosos en relación con una bronquiolitis, que no ha requerido asistencia hospitalaria. La ganancia de peso es adecuada.

2. EXAMEN AL INGRESO EN EL SERVICIO DE URGENCIAS

Exploración física

En la exploración física el lactante está afebril, con un aceptable estado general, buena coloración y perfusión, tensión arterial 94/42, y sin signos de dificultad respiratoria. Se tomaron las siguientes medidas antropométricas: peso: 6.020 g, longitud: 67 cm, perímetro cefálico: 45 cm e IMC: 13,4 kg/m². No presenta signos de focalidad neurológica, ni hallazgos significativos en la auscultación cardiorrespiratoria. Destaca la disminución de la turgencia cutánea con signo del pliegue presente, labios secos, y mucosa oral pastosa. Durante la estancia en el Servicio de Urgencias se canaliza vía venosa periférica, se extraen muestras de sangre y orina para pruebas complementarias.

Pruebas de laboratorio

Se solicita una analítica incluyendo gasometría (sangre venosa), bioquímica sérica y urinaria y hemograma, cuyos resultados más significativos se recogen en la Tabla 1, y en la que el hallazgo más destacado es una alcalosis metabólica, con hiponatremia, hipocloremia e hipopotasemia, que se repitió en una gasometría en sangre capilar medida mediante metodología *Point of Care Testing* aproximadamente 2 horas después de la llegada al Servicio de Urgencias (Tabla 1).

Magnitud	Intervalo de referencia	Valor
Gasometría (muestra venosa)		
pH	7,31-7,41	7,54
pCO ₂ (mm Hg)	41-51	45
Bicarbonato (mmol/L)	24,0-28,0	38,7
Exceso de base (mmol/L)	-3,0-3,0	14,2
Cloruro (mmol/L)	99-109	70
Anión Gap (mmol/L)	5-14	16,8
Bioquímica sérica		
Glucosa (mg/dL)	74-100	78

Creatinina (mg/dL)	0,17-0,42	0,37
Alanino-aminotransferasa (U/L)	5-41	17
Sodio (mmol/L)	135-145	131
Potasio (mmol/L)	3,5-5,5	3,3
Bioquímica urinaria		
Creatinina (mg/dL)	39-259	43
Excreción fraccional de sodio (%)	0,25-0,95	0,41
Excreción fraccional de potasio (%)	5,6-13,6	21,2
Cloruro (mmol/L)		9
Excreción fraccional de cloruro (%)	0,57-1,11	0,10

Tabla 1: Analítica al ingreso.

En base a los datos clínicos y analíticos se administra expansión con suero salino fisiológico a 20 mL/Kg en 2 horas y fluidoterapia con suero glucosado salino a necesidades basales. Con el diagnóstico de deshidratación hiponatrémica y alcalosis metabólica hipoclorémica e hipopotasémica se ingresa al paciente para estudio y tratamiento.

3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Durante la estancia en la planta de Pediatría se le realiza un control analítico (Tabla 2) y gasométrico en muestras venosas y capilares (Tabla 3), que confirma la persistencia de una situación de alcalosis metabólica hipoclorémica. El algoritmo diagnóstico de la alcalosis metabólica se recoge en la Figura 1.

Magnitud	Intervalo de referencia	Valor
Bioquímica sérica		
Creatinina (mg/dL)	0,17-0,42	0,18
Magnesio (mg/dL)	1,60-2,60	2,09
Sodio (mmol/L)	135-145	134
Potasio (mmol/L)	3,5-5,5	3,0
Bioquímica urinaria		
Creatinina (mg/dL)	39-259	36
Excreción fraccional de sodio (%)	0,25-0,95	0,18
Excreción fraccional de potasio (%)	5,6-13,6	3,17
Cloruro (mmol/L)		10
Excreción fraccional de cloruro (%)	0,57-1,11	0,06
Osmolalidad (mOsm/kg)	400-800	489

Tabla 2: Analítica durante la estancia en planta de Pediatría.

Magnitud	Día 0	Día + 1	Día + 2
Tiempo transcurrido desde el ingreso	+ 8 h	+12 h	+ 36 h
Tipo de muestra	Capilar	Capilar	Venosa
pH	7,64	7,54	7,55
pCO ₂ (mm Hg)	36	47	30
Bicarbonato (mmol/L)	38,7	39,8	25,6
Exceso de base (mmol/L)	15,6	15,0	3,1
Sodio (mmol/L)	130	131	134
Potasio (mmol/L)	3,7	2,7	5,7
Cloruro (mmol/L)	79	80	100
Anión Gap (mmol/L)	12,5	10,8	8,5

Tabla 3: Evolución de los resultados de la gasometría.

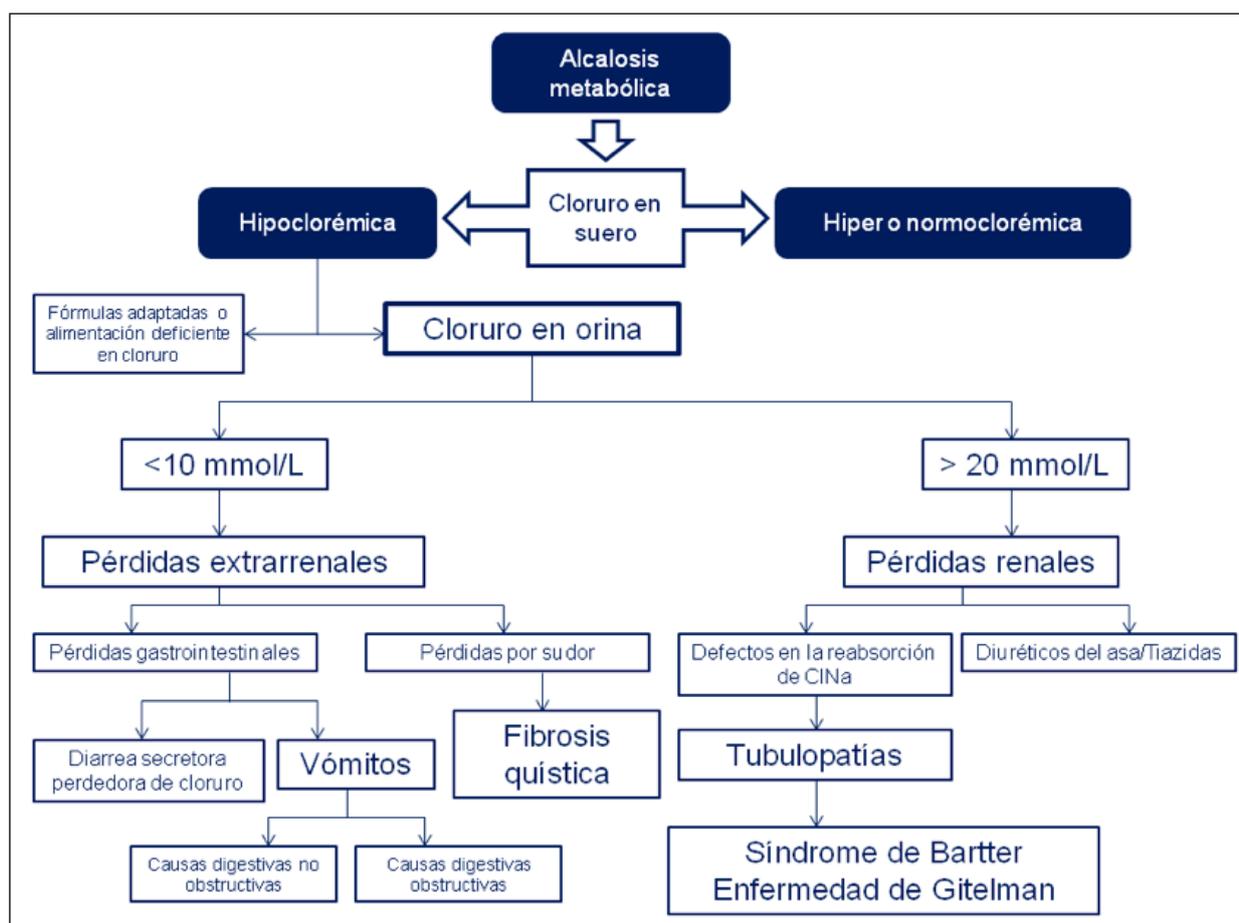


Figura 1: Algoritmo para el diagnóstico diferencial de la alcalosis metabólica hipoclorémica.

Tras descartar las pérdidas renales como causa de la alcalosis metabólica hipoclorémica en base a la concentración en orina de cloruro (9 mmol/L), las posibles causas de este trastorno son extrarrenales (Figura 1):

1. Pérdidas gastrointestinales:

a) Diarrea secretora perdedora de cloruro, debido a una alteración en la capacidad de absorción producida por toxinas bacterianas o por un trastorno autosómico recesivo que produce una pérdida excesiva de cloro en las heces. Suele cursar con heces líquidas explosivas y ácidas, datos que no aparecen en el caso presentado.

b) Vómitos por causas digestivas:

- **Obstructivas:** La estenosis hipertrófica del píloro fue nuevamente descartada mediante ecografía abdominal. Otras posibles causas serían: invaginación intestinal (poco probable por la clínica descrita en estos pacientes), malrotación intestinal o pseudoobstrucción intestinal idiopática (hubiesen sido diagnosticadas probablemente con anterioridad al ser de presentación más aguda), la hernia incarcerada (valorable en la exploración clínica) además del divertículo de Meckel, que suele cursar con hemorragia digestiva.
- **No obstructivas:** gastroenteritis, reflujo gastroesofágico, APLV, enfermedad celiaca o hepatitis. En el caso presentado, no existen datos de regurgitación previa, lo que descartaría el reflujo por la historia clínica. La gastroenteritis fue descartada por no presentar heces patológicas ni signos de infección gastrointestinal o toxiinfección alimentaria. La presencia de valores normales de ALT descartaría un proceso de hepatitis. No se solicitaron pruebas analíticas para descartar celiacía. El lactante había sido diagnosticado de APLV IgE-no mediada en un episodio previo de vómitos, pero exclusivamente en base a datos clínicos ya que la APLV IgE-mediada había sido descartada por las pruebas cutáneas de lectura inmediata.

2. Pérdidas por sudor:

Hallazgo característico de la fibrosis quística (FQ), enfermedad causada por la reducción o anulación de la capacidad de transporte de electrolitos a través de las membranas de las células epiteliales. El lactante presentó un cribado neonatal de FQ (CNFQ) negativo. Se comprobó en la historia clínica la ausencia de ileo meconial, condición asociada a un mayor riesgo de falso negativo en el CNFQ.

Dado que la elevación de electrolitos en el sudor es uno de los signos bioquímicos que contribuyen al diagnóstico de la FQ, se realiza al niño el test del sudor (*Macroduct®/Sweat Check*), mediante medida indirecta de la concentración de cloruro por conductividad, con un resultado de 9 mmol/L (equivalentes de ClNa). Con esta metodología, que sólo debe ser usada como cribado, el punto de corte por debajo del cual se puede descartar FQ es de 50 mmol/L, según las recomendaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI).

4. EVOLUCIÓN

Durante la hospitalización el lactante no presenta vómitos ni otra sintomatología, siendo las deposiciones normales, por lo que se decide el alta sin medicación y manteniendo la misma pauta alimentaria que antes del ingreso, con fórmula de leche hidrolizada.

En la primera visita de control (día +4), se repite al niño el test del sudor mediante la misma metodología, con un resultado nuevamente indicativo de muy baja probabilidad de FQ (6 mmol/L equivalentes de ClNa). Mantiene una buena evolución clínica, aunque se evidencia una pérdida de peso de 100 g desde el alta. En el control analítico, se mantiene la alcalosis metabólica (pH: 7,50) hipopotasémica (potasio: 3,2 mmol/L), con concentraciones séricas normales de sodio (138 mmol/L) y cloruro (97 mmol/L), manteniendo EF de sodio, potasio y cloruro normales. Se inicia suplemento de ClNa 20%, 2 mL 4 veces al día (4 mEq/Kg/día) y se cita nuevamente al paciente en una semana para control analítico en sangre, orina y heces.

A los 12 días tras el alta hospitalaria el paciente acude nuevamente a revisión por Nefrología y Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica. Presenta buena evolución clínica, con ganancia de peso de 700 g tras inicio de tratamiento con ClNa 20%. Presenta mejoría de hábito intestinal, sin hebras de grasa ni mucosidad en las heces. En el estudio analítico, el paciente presenta un pH normal (7,38), con concentraciones normales de iones en suero (sodio: 137 mmol/L, potasio: 4,2 mmol/L y cloruro: 109 mmol/L), y destaca como hallazgo principal una concentración normal de quimotripsina en heces (45,9 U/g [intervalo de referencia: > 13,2 U/g]), indicador de una función pancreática normal.

Ante estos datos, se decide continuar el suplemento de ClNa 20% y se solicita estudio genético de fibrosis quística.

BIBLIOGRAFÍA

Alonso Ramos MJ, Tellería Orriols JJ. Relación fenotipo-genotipo. Genes modificadores. En: Tratado de Fibrosis Quística. En: Tratado de Fibrosis Quística, Salcedo Posadas A, Gartner S, Girón Moreno RM, García Novo MD, ed. Editorial Justin SL. 2012.

Barreiro Martínez T, Marín Soria JL. Fibrosis quística: detección bioquímica y diagnóstico molecular. Rev Lab Clin. 2015;8:82-91.

Castellani C, Duff AJA, Bell SC, Heijerman HGM, Munck A, Ratjen F, et al. ECFS best practice guidelines: the 2018 revision. J Cyst Fibros. 2018;17:153-78.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Newborn Screening for Cystic Fibrosis; Approved Guideline. CLSI document NBS05-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Newborn Sweat Testing: Specimen Collection and Quantitative Chloride Analysis. 4th ed. CLSI guideline C34. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2019.

Escobar Castro H, Sojo Aguirre A, Gil Ortega D, Nadal Ortega JM. Fibrosis Quística. Protocolos de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición. Asociación Española de Pediatría [descargado de www.aeped.es].

Farrell PM, White TB, Ren CL, Hempstead SE, Accurso F, Derichs N, et al. Diagnosis of cystic fibrosis: Consensus guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation. *J Pediatr.*2017;181S:S4-S15.e1.

Gartner S, Mondéjar-López P, Asensio de la Cruz O y Grupo de Trabajo de Fibrosis Quística de la Sociedad Española de Neumología Pediátrica. Protocolos de seguimiento de pacientes con fibrosis quística diagnosticados por cribado neonatal. *Ann Pediatr (Barc).* 2018; 71:250-64.

Gartner S, Salcedo Posadas A, García Hernández G. Enfermedad respiratoria en la fibrosis quística. *Protoc diagn ter pediatr.* 2017;1:299-319.

Massie J, Greaves R, Metz M, Wiley V, Graham P, Sheperd S, et al. Australasian guideline (2nd Edition): An annex to the CLSI and UK guidelines for the performance of the sweat test for the diagnosis of cystic fibrosis. *Clin Biochem Rev.* 2017;38:115-30.

The Clinical and Functional Translation of CFTR (CFTR2). <http://cftr2.org> (25 febrero 2019).

EDUCACIÓN CONTINUADA EN EL LABORATORIO CLÍNICO COMITÉ DE EDUCACIÓN

D. Balsells, B. Battikhi, N. Giménez, A. Merino, A. Peña, N. Rico (Presidenta), M. Rodríguez, T. Rodríguez, P. Rodríguez, C. Sánchez, M. Serrando, MC. Villà, JA. Wong.

ISBN 978-84-09-12874-7 – Junio 2020 (recibido para publicación Junio 2019)

RESOLUCIÓN DEL CASO

1. DIAGNÓSTICO FINAL

La pérdida excesiva de cloruro por sudor y otros fluidos puede producir una depleción electrolítica grave con alcalosis metabólica y semejar un síndrome de Bartter, sin tubulopatía, denominado pseudo-Bartter, presentación poco frecuente de la fibrosis quística (FQ) que suele ocurrir en menores de 2 años. En el mes de junio y en el sureste peninsular, con un importante aumento de la temperatura y por tanto aumento del sudor y pérdida de electrolitos por el mismo, se puede producir una deshidratación importante, posible forma de presentación en el caso que presentamos.

Por tanto, se decide solicitar al niño estudio genético para detección de mutaciones asociadas a FQ. Un mes después del ingreso en Urgencias, se recibe el resultado del estudio genético de las mutaciones más frecuentes del gen *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR)*, mediante el kit Elucigene CF-EU2.V1, que pone de manifiesto la existencia de 2 mutaciones (L206W y N1303K) en heterocigosis en este gen. Dicho kit permite la detección cualitativa de las 50 mutaciones del gen *CFTR* más frecuentes en las poblaciones de origen europeo, en ácido desoxirribonucleico (ADN) extraído de muestras de sangre entera (EDTA preservado) y de manchas secas de sangre. Este ensayo utiliza la tecnología de amplificación específica de alelos ARMS (*Amplification Refractory Mutation System*) fluorescente, que detecta mutaciones puntuales, inserciones o deleciones en el ADN. El principio de ARMS es que los oligonucleótidos con un residuo desigual 3' no funcionarán como iniciadores de la reacción en cadena de la polimerasa en determinadas condiciones. La selección de los oligonucleótidos adecuados permite amplificar y detectar secuencias mutantes o normales de ADN específicas. Las secuencias amplificadas (amplicones) se separan mediante electroforesis capilar. El software de análisis permite identificar los amplicones y etiquetarlos de acuerdo con su tamaño y color.

Se realiza además una nueva medición de cloruro en sudor en el laboratorio, mediante potenciometría indirecta, obteniéndose un resultado positivo de 68 mmol/L. Según la última guía del *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*, se considera como valor indicativo de FQ una concentración igual o superior a 60 mmol/L.

Tras el diagnóstico, se remite al paciente a la Unidad de Fibrosis Quística del hospital de referencia, en el que se completa la valoración de la función pancreática solicitando la cuantificación de elastasa fecal y grasa en heces (Tabla 4), que confirma la ausencia de insuficiencia pancreática.

Magnitud	Intervalo de referencia	+ 4 meses	+ 8 meses
Quimotripsina fecal	>13,2 U/g	21,0	84,2
Elastasa fecal	>13,2 µg/g heces	147	>500
Grasa fecal	0,40-3,50 g/24 horas	2,01	2,34
pH fecal	7,0-8,0	7,0	8,0

Tabla 4: Evaluación de la función pancreática. Análisis de heces.

Actualmente el paciente presenta buena evolución clínica y ha comenzado aprendizaje de fisioterapia respiratoria. El estudio genético de ambos padres está pendiente.

2. FIBROSIS QUÍSTICA

La FQ o mucoviscidosis es la enfermedad hereditaria grave con patrón de herencia autosómica recesiva más frecuente entre la población caucásica, donde una de cada 20-37 personas es portadora sana. Su incidencia en España es de 1/2.810-3.743 nacidos vivos.

Está causada por al menos 2 mutaciones en el gen *CFTR*, que se localiza en la posición q31.2 del brazo largo del cromosoma 7 y codifica para la proteína CFTR, proteína transmembrana glicosilada con un peso molecular de 170 kDa y formada por 1.480 aminoácidos. Se expresa en células epiteliales de tejidos exocrinos, como los pulmones, páncreas, glándulas sudoríparas y conductos deferentes. Estructuralmente, la proteína tiene dos dominios transmembrana (TM1 y TM2), cada uno de los cuales atraviesa 6 veces la doble capa lipídica de la membrana celular, 2 puntos de unión al ATP (*Nucleotide Binding Domain* (NBD) 1 y 2) y un dominio regulador (R) (Figura 2). Los TM son el soporte físico del poro del canal, de forma que la presencia de determinados residuos básicos crean dentro del poro las condiciones para actuar como un canal de cloruro, cuya apertura y cierre está regulada por estímulos hormonales.

Su alteración provoca un trastorno sistémico caracterizado por la disfunción de las glándulas exocrinas, causante de una acumulación excesiva de moco espeso y viscoso en el epitelio del sistema respiratorio y tracto digestivo, cuyo resultado final es el desarrollo de una enfermedad crónica y progresiva del aparato respiratorio, principal causa de morbilidad, e insuficiencia pancreática en el 85% de los casos; también son frecuentes las alteraciones genitourinarias.

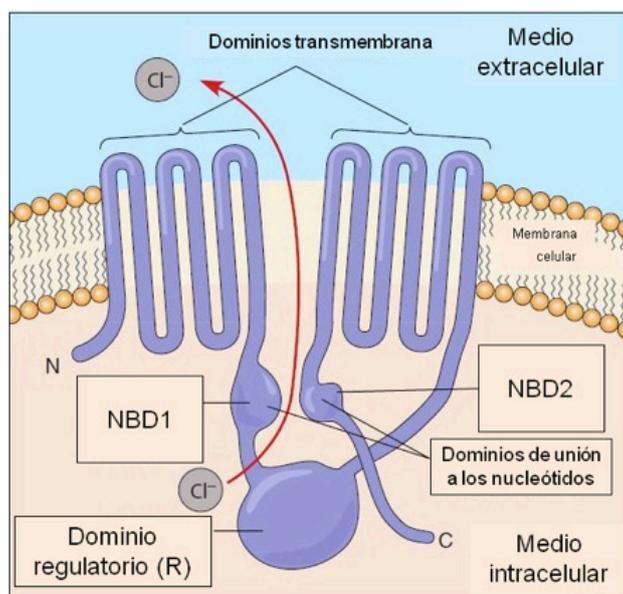


Figura 2: Estructura de la proteína CFTR (imagen adaptada del original descargado de <https://embrioloblog.wordpress.com>).

Se han identificado más de 2.000 mutaciones del gen *CFTR*, clasificadas en 5 clases, dependiendo del mecanismo a través del cual afectan a la producción de proteína CFTR o a su funcionalidad (Tabla 5), siendo el efecto final la reducción o anulación de la capacidad de transporte de electrolitos a través de las membranas de las células del epitelio de los tejidos donde se expresa el gen. El fenotipo clínico en pacientes afectados de FQ es el resultado de la interacción entre el genotipo CFTR, la influencia de genes modificadores, la relación entre el canal de cloro CFTR y otros canales iónicos y la expresión de CFTR en diferentes tejidos, además de la exposición a ciertos agentes ambientales.

Clase	Tipo de defecto	Tipos de mutaciones	Efecto sobre el fenotipo
I	Defectos en la síntesis de proteína CFTR	<i>Nonsense</i> <i>Frameshift</i> <i>Splicing</i>	Insuficiencia pancreática grave Afectación respiratoria grave Cloruro en sudor elevado
II	Defectos en el procesamiento de proteína CFTR	<i>Missense</i> Deleciones de aminoácidos	Insuficiencia pancreática grave Afectación respiratoria grave Cloruro en sudor elevado
III	Defectos en la regulación del canal CFTR	<i>Missense</i> Cambio de aminoácidos	Insuficiencia pancreática grave Afectación respiratoria grave Cloruro en sudor elevado
IV	Alteración en la conducción de iones en el canal CFTR	<i>Missense</i>	Suficiencia pancreática leve Afectación respiratoria moderada-grave Cloruro en sudor límite
V	Reducción de la síntesis de proteína CFTR funcional	<i>Missense</i> <i>Splicing</i> alternativo	Suficiencia pancreática leve Afectación respiratoria moderada-grave Cloruro en sudor elevado o límite

Adaptado de Tratado de Fibrosis Quística. Ed: Salcedo Posadas A, Gartner S, Girón Moreno RM, García Novo MD. Editorial Justin SL. 2012.

Tabla 5: Correlación fenotipo-genotipo en la Fibrosis Quística.

La distribución de las mutaciones del gen *CFTR* difiere entre las distintas poblaciones étnicas, siendo la más frecuente p.Phe508del. Según los datos de la base *Clinical and Functional Translation of CFTR*, alrededor del 73% de los alelos FQ contiene esta mutación. En la misma base se recoge que la mutación L206W, también nombrada como p.Leu206Trp o c.617T>G, se ha detectado en 331 (0,37%) pacientes, y la mutación N1303K, p.Asn1303Lys o c.3909C>G, se ha detectado en 2147 (2,4%). Ambas variantes han sido detectadas de forma conjunta en sólo 8 (0,009%) pacientes, en los cuales la concentración media de cloruro en sudor fue de 74 mmol/L, similar a la detectada en nuestro paciente (68 mmol/L), no disponiéndose de datos respecto al daño de la función respiratoria.

En la actualidad, el diagnóstico de FQ se basa en la presencia de rasgos clínicos compatibles (fenotipo) o antecedentes familiares o el CNFQ positivo, junto con una prueba de laboratorio que evidencia la disfunción de la proteína CFTR, como es una concentración de cloruro ≥ 60 mmol/L o la detección de 2 mutaciones del gen o la demostración de la alteración en el transporte iónico a través del epitelio nasal (diferencia de potencial nasal) o intestinal.

3. CRIBADO NEONATAL DE LA FQ

En la década de los 60 la supervivencia media de los pacientes con FQ era de sólo 4 años. En el año 2016 la *Canadian Cystic Fibrosis Foundation* publicó una mediana de 53,3 años. Este incremento tan importante se debe a una serie de factores, entre los cuales se incluye la implantación de un diagnóstico precoz a través del CNFQ, que desde 2015 se lleva a cabo en todas las comunidades autónomas de España. Esta enfermedad reúne los requisitos para su inclusión en un programa de cribado neonatal, ya que además de la necesidad de conocer su incidencia real y permitir un asesoramiento genético precoz, va a permitir la aplicación de una serie de medidas, como la antibioterapia sistémica e inhalada y el uso de enzimas pancreáticas, y se dispone de tratamientos como los moduladores de la proteína CFTR, de forma que un diagnóstico y tratamiento precoz mejoran el estado nutricional del paciente, el desarrollo cognitivo y la función pulmonar del lactante y disminuyen las colonizaciones crónicas, las exacerbaciones, la necesidad de ciclos de antibióticos y el número de hospitalizaciones, condicionando una mejora del pronóstico en este tipo de pacientes.

En la actualidad no existe un programa universalmente aceptado, pero en general se emplea como primer marcador la cuantificación de tripsinógeno inmunorreactivo (TIR) en una muestra de sangre extraída del talón del recién nacido a partir de las 48 horas de vida, tras la alimentación proteica y para todos los recién nacidos con un peso ≥ 1.500 g y ≥ 33 semanas de gestación. Una concentración elevada de TIR refleja la obstrucción de los conductos pancreáticos, con reflujo de la tripsina a la sangre. En presencia de un resultado inicial de TIR positivo, para aumentar la especificidad, el cribado continúa con un segundo marcador, como la proteína asociada a pancreatitis (PAP), una segunda cuantificación de TIR en una segunda muestra de sangre extraída a los 14-28 días de vida, utilizando un segundo punto de corte más bajo, o el análisis de las mutaciones del gen *CFTR* (ADN), como segunda etapa del CNFQ, resultando en las diferentes estrategias.

La inclusión del análisis genético en la estrategia del CFQN implica la necesidad de seleccionar las mutaciones del gen *CFTR* que van a ser analizadas en el panel, siendo la opción más utilizada el análisis de un panel múltiple que también incluya variantes asociadas a una patología más leve o variable. De acuerdo a las guías del CLSI, estos paneles de mutaciones del gen *CFTR* deberían alcanzar una tasa de detección superior al 95% de las mutaciones presentes en la población a la que va dirigido el programa; de esta forma, sólo de un 0,25% a un 1% de los casos se perderían por un error en el panel *CFTR* para identificar al menos una variante. Por lo general, estos casos tienden a darse en etnias minoritarias con mutaciones poco frecuentes.

Las variantes de *CFTR* pueden ser identificadas mediante diversas metodologías. La mayoría de las estrategias integran paneles disponibles comercialmente que incluyen múltiples variantes del gen, usando la amplificación del DNA mediante reacción en cadena de la polimerasa multiplex como principal tecnología. Sin embargo, aproximadamente el 3% de las mutaciones del gen *CFTR* portan una larga delección o inserción que no son incluidas en

estos kits comerciales. En estos casos, un análisis genético extendido utilizando otras tecnologías como el ensayo MPLA® (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) o incluso la secuenciación completa del gen mediante secuenciación Sanger o tecnología NGS (*Next-generation sequencing*) pueden aumentar el número de mutaciones detectadas.

La *European Cystic Fibrosis Society* establece como requerimientos mínimos para los programas de CNFQ un valor predictivo positivo del 30% y una sensibilidad del 95%.

En la Región de Murcia la FQ se incluyó en el programa para la detección de enfermedades endocrinas y metabólicas en el periodo neonatal en marzo de 2007. El algoritmo utilizado para el CNFQ en la región de Murcia se muestra en la Figura 3. Mediante esta estrategia el número de falsos negativos ha sido de 3 casos documentados de un total de 218.650 cribados realizados durante el período 2007-2018, todos ellos con mutaciones leves y ninguno asociado a insuficiencia pancreática.

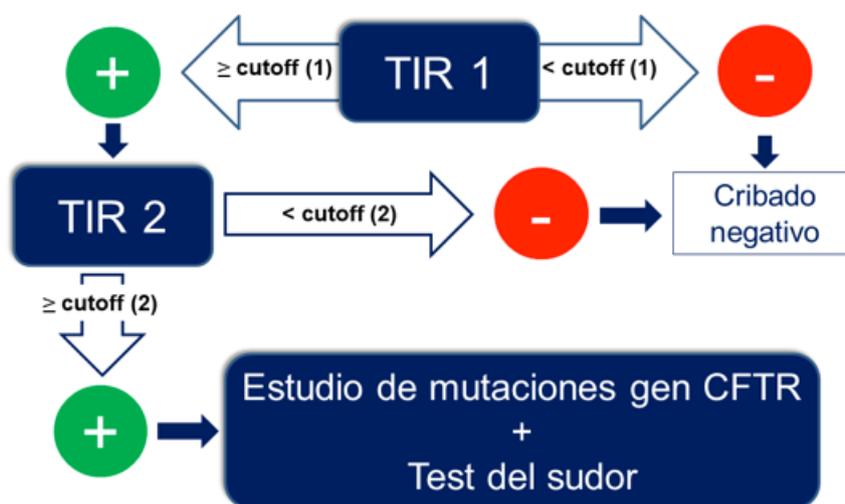


Figura 3: Estrategia de CNFQ en la Región de Murcia.

En el caso que presentamos el neonato presentó una primera determinación de TIR de 48 ng/mL en sangre (cutoff: < 52 ng/mL [1-20 días de edad]), por lo que no se continuó con el cribado, según el algoritmo empleado.

Una de las formas más frecuentes de presentación de la FQ en los falsos negativos para el CNFQ es la deshidratación hiponatémica, hipopotasémica e hipoclorémica con alcalosis metabólica persistente, como en nuestro caso.

4. TEST DEL SUDOR

Recientemente el CLSI ha publicado la cuarta edición de la guía que recoge diversos aspectos relacionados con el test del sudor, incluyendo la recolección de la muestra y la metodología para su análisis, así como la forma en que los resultados deben ser informados, y el control de calidad. Algunas de las principales recomendaciones recogidas en esta guía son:

1. Recogida del sudor

En la recogida de la muestra deben tenerse en cuenta los siguientes factores:

- Edad del paciente: en recién nacidos asintomáticos con cribado neonatal positivo se recomienda realizar el test del sudor cuando el neonato tenga ≥ 10 días de edad, edad gestacional ≥ 36 semanas y peso ≥ 2 Kg.
- La muestra mínima para análisis es de 15 μ L.
- Tras la estimulación de la secreción del sudor por iontoforesis, el período de recogida no debe superar los 30 minutos.

2. Metodología para la medida de cloro en sudor

La metodología recomendada para la medida de cloruro es la coulombimetría con un clorímetro. En el caso que presentamos el resultado positivo para el test del sudor se obtuvo mediante potenciometría indirecta. Los sistemas analíticos que usan electrodos selectivos de iones (ISE) para la medida de cloruro en suero u otras muestras biológicas no han sido validados de forma sistemática para la medida en sudor, por lo que, en caso de ser usados, deberían ser previamente validados y comparados frente a la técnica de referencia.

3. Evaluación de resultados

Intervalos de referencia

Para todos los grupos de edad se recomiendan los siguientes intervalos de referencia:

- ≤ 29 mmol/L: baja probabilidad de FQ
- 30-59 mmol/L: probabilidad intermedia
- ≥ 60 mmol/L: alta probabilidad de FQ

Causas de error

Las concentraciones de electrolitos en sudor pueden variar en función del método utilizado para la estimulación del sudor, el volumen recogido, la tasa de producción de sudor o el estado de nutrición e hidratación del paciente. Sin embargo, la mayoría de los errores en esta prueba están relacionados con el empleo de metodologías inadecuadas, la recolección inadecuada de la muestra, la realización del test por personal no experimentado o la falta de un adecuado sistema de garantía de la calidad. También se han descrito situaciones fisiopatológicas como la hipoproteïnemia o la presencia de edemas como causa de falsos negativos; ambas condiciones fueron descartadas en el caso presentado.

Agradecimientos

Agradecemos al personal facultativo de la Unidad de Metabolopatías del Centro de Bioquímica y Genética Clínica de la Región de Murcia su colaboración en la redacción de este caso clínico.