

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Pediatría



TESIS DOCTORAL

**Evolución y seguimiento de pacientes detectados en el nuevo cribado
de la Comunidad de Madrid: nuestra experiencia**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

María del Pilar Quijada Fraile

Directores

María Teresa García Silva
Elena Dulín Íñiguez
Jesús Ruiz Contreras

Madrid, 2017

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
MADRID**

**EVOLUCIÓN Y SEGUIMIENTO DE PACIENTES DETECTADOS EN EL NUEVO
CRIBADO DE LA COMUNIDAD DE MADRID: NUESTRA EXPERIENCIA**

TESIS DOCTORAL

M^a del Pilar Quijada Fraile

Directores:

Dra. María Teresa García Silva

Dra. Elena Dulín Íñiguez

Prof. Jesús Ruiz Contreras

MADRID

2015



Informe del Director de la Tesis Doctoral

| DATOS DE LA TESIS DOCTORAL | |
|----------------------------|--|
| Nombre del Doctorando | Pilar Quijada Fraile |
| Título de la Tesis | EVOLUCIÓN Y SEGUIMIENTO DE PACIENTES DETECTADOS EN EL NUEVO CRIBADO DE LA COMUNIDAD DE MADRID: NUESTRA EXPERIENCIA |
| Facultad o Centro | FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE |

| DATOS DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL | |
|---|--|
| Nombre Completo | Dra. María Teresa García Silva |
| Centro al que pertenece y dirección | Hospital Universitario 12 de Octubre. Servicio de Pediatría. Avda de Córdoba s/n 28041 Profesor Asociado. FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. MADRID |
| D.N.I./Pasaporte | 36957808M |
| e-mail | mgarciasilva@salud.madrid.org |

| | VALORACIÓN DE LA TESIS | | | |
|--------------------------|------------------------|-------|------------|------------|
| | Muy Buena | Buena | Suficiente | Deficiente |
| Originalidad | x | | | |
| Definición Objetivos | x | | | |
| Metodología | x | | | |
| Relevancia Resultados | x | | | |
| Discusión / Conclusiones | x | | | |

INFORME (en caso necesario se podrán añadir más hojas):

Este trabajo de investigación ha sido laborioso y novedoso, ya que ha supuesto la aplicación de los progresos científico-técnicos al diagnóstico precoz de errores congénitos del metabolismo tratables presintómicamente. Todo ello ha cambiado radicalmente la evolución y el pronóstico de los pacientes afectados de aminoacidopatías, acidurias orgánicas y defectos de la oxidación de los ácidos grasos. Es la primera tesis que se efectúa en la Comunidad Autónoma de Madrid y en la Universidad Complutense en esta materia.

La Dra. Quijada ha trabajado duramente, con entusiasmo y constancia desde el primer día y nos aporta unos resultados y conclusiones de especial relevancia en el campo de la Medicina, Salud Pública e Investigación Clínica. Además abre más campos de trabajo e investigación para los años venideros.

Madrid, a 19 Octubre 2015

Fdo.: Dra. María Teresa García Silva

Este impreso deberá entregarse al Departamento/Organo responsable del Posgrado/ Comisión responsable del Programa de Doctorado, para su estudio y aprobación en la admisión a trámite de la tesis doctoral. Asimismo, deberá incluirse entre la documentación enviada a la Comisión de Doctorado para la designación del Tribunal y aprobación de la defensa de la Tesis Doctoral.



Informe del Director de la Tesis Doctoral

| DATOS DE LA TESIS DOCTORAL | |
|----------------------------|--|
| Nombre del Doctorando | Pilar Quijada Fraile |
| Título de la Tesis | EVOLUCIÓN Y SEGUIMIENTO DE PACIENTES DETECTADOS EN EL NUEVO CRIBADO DE LA COMUNIDAD DE MADRID: NUESTRA EXPERIENCIA |
| Facultad o Centro | FACULTAD DE MEDICINA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE |

| DATOS DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL | |
|---|--|
| Nombre Completo | Dra. Elena Dulín Iñiguez |
| Centro al que pertenece y dirección | Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Laboratorio de Cribado Neonatal de la Comunidad de Madrid c/ Doctor Esquerdo, 46 28007 Madrid |
| D.N.I/Pasaporte | 16500837Q |
| e-mail | elena.dulin@salud.madrid.org |

| | VALORACIÓN DE LA TESIS | | | |
|--------------------------|------------------------|-------|------------|------------|
| | Muy Buena | Buena | Suficiente | Deficiente |
| Originalidad | x | | | |
| Definición Objetivos | x | | | |
| Metodología | x | | | |
| Relevancia Resultados | x | | | |
| Discusión / Conclusiones | x | | | |

INFORME (en caso necesario se podrán añadir más hojas):

El trabajo de investigación realizado por la Dra Quijada, refleja los beneficios obtenidos en los recién nacidos a los que se les ha realizado el cribado neonatal dentro del Programa de Prevención de enfermedades endocrino-metabólicas de la Comunidad de Madrid.

Es la primera tesis que se efectúa en la Comunidad Autónoma de Madrid y en la Universidad Complutense en esta materia.

La Dra. Quijada ha trabajado desde el inicio de este Programa en la Unidad de Seguimiento Clínico con entera dedicación y esfuerzo en el tratamiento y seguimiento de aquellos niños detectados con sospecha de alguna enfermedad.

Los resultados que presenta son de una relevancia enorme de este campo y confirma la necesidad de seguir adelante en el campo de la Salud Pública e Investigación Clínica.

Madrid, a 19 Octubre 2015

Fdo.: Dra. Elena Dulín Iñiguez

Este impreso deberá entregarse al Departamento/Órgano responsable del Posgrado/ Comisión responsable del Programa de Doctorado, para su estudio y aprobación en la admisión a trámite de la tesis doctoral. Asimismo, deberá incluirse entre la documentación enviada a la Comisión de Doctorado para la designación del Tribunal y aprobación de la defensa de la Tesis Doctoral.



Informe del Director de la Tesis Doctoral

| DATOS DE LA TESIS DOCTORAL | |
|----------------------------|--|
| Nombre del Doctorando | Pilar Quijada Fraile |
| Título de la Tesis | Evolución y seguimiento de pacientes detectados en el nuevo cribado de la Comunidad de Madrid: nuestra experiencia |
| Facultad o Centro | Medicina de la UCM. Hospital Universitario 12 de Octubre |

| DATOS DEL DIRECTOR DE LA TESIS DOCTORAL | |
|---|--|
| Nombre Completo | Jesús Ruiz Contreras |
| Centro al que pertenece y dirección | Facultad de Medicina de la UCM. Hospital Universitario 12 de Octubre. Cra de Córdoba sn. 28041. Madrid |
| D.N.I./Pasaporte | 06519033M |
| e-mail | Jesus.ruiz@salud.madrid.org, jesuruiz@ucm.es |

| | VALORACIÓN DE LA TESIS | | | |
|--------------------------|------------------------|-------|------------|------------|
| | Muy Buena | Buena | Suficiente | Deficiente |
| Originalidad | | X | | |
| Definición Objetivos | X | | | |
| Metodología | X | | | |
| Relevancia Resultados | X | | | |
| Discusión / Conclusiones | X | | | |

INFORME (en caso necesario se podrán añadir más hojas):

Confirmando que Pilar Quijada Fraile ha realizado, bajo mi dirección, el presente trabajo para optar al título de Doctor en Medicina.

El estudio reúne todos los criterios de excelencia que definen a un trabajo científico en los diferentes apartados del mismo: estado actual del tema, objetivos, material y métodos, resultados y conclusiones.

Contiene información relevante de aplicabilidad clínica en los niños con errores innatos del metabolismo.

En resumen, el trabajo puede ser presentado para su evaluación y defensa pública como tesis doctoral.

Madrid, a 15 de octubre de 2015

Fdo.: Prof. Jesús Ruiz Contreras

Este impreso deberá entregarse al Departamento/Órgano responsable del Posgrado/ Comisión responsable del Programa de Doctorado, para su estudio y aprobación en la admisión a trámite de la tesis doctoral. Asimismo, deberá incluirse entre la documentación enviada a la Comisión de Doctorado para la designación del Tribunal y aprobación de la defensa de la Tesis Doctoral.

A Lucas y Alberto

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer en primer lugar a mis directores de tesis (Dra Maria Teresa García Silva, Dra Elena Dulín Íñiguez y Profesor Jesús Ruiz Contreras). Los tres me han aportado sabios consejos que han resultado en este trabajo con el que he aprendido mucho. La Dra García Silva me propuso que hiciera la tesis y le estoy muy agradecida por su apoyo y dedicación. Han pasado casi 7 años desde que trabajo en Hospital 12 de Octubre y tengo que agradecer a la Dra García Silva y al Profesor Ruiz Contreras por su confianza y docencia a lo largo de estos años. Desde que comenzó el cribado he podido conocer y trabajar estrechamente con la Dra Dulín, que con el trabajo de toda su trayectoria profesional nos ha abierto a los pediatras un área de investigación en los errores congénitos del metabolismo apasionante.

A la Dra Elena Martín, compañera de nuestra Unidad, con la que tengo la suerte de trabajar, por compartir sus inquietudes y conocimientos conmigo en el día a día y por la labor que realiza con los pacientes de la consulta.

A Paula Campos, dietista de nuestra Unidad, sin la cual no sería posible realizar el tratamiento dietético que tantos pacientes con errores congénitos del metabolismo necesitan.

A los miembros del CEDEM (Dra Begoña Merinero y Dra Celia Pérez), excelentes profesionales. Gracias a su trabajo se puede realizar el diagnóstico y el seguimiento de estas enfermedades.

Al Dr. Joaquín Arenas por su apoyo y dedicación en todos los temas relacionados con investigación en errores congénitos del metabolismo y enfermedades mitocondriales y por estar siempre disponible aportando buenos consejos y animando a seguir investigando.

A Berta Zamora, neuropsicóloga del Hospital 12 de Octubre, por su ayuda y porque gracias a su trabajo, podemos realizar un seguimiento del neurodesarrollo de estos pacientes.

Al servicio de Estadística del Hospital Universitario 12 de Octubre, por su ayuda en la realización de este trabajo.

A mis compañeros del Hospital Universitario 12 de Octubre, especialmente al Servicio de Neonatología, UCI pediátrica y Urgencias, porque sin ellos no se podría realizar un buen tratamiento de estos pacientes. A Margot y Esperanza, por ayudar siempre a las familias y trabajar siempre tan bien con los pacientes.

A los pacientes y a sus familias, porque sin su consentimiento no sería posible la realización de los trabajos científicos y porque nos enseñan el lado positivo de la enfermedad cada día. Esperamos para ellos una vida plena y con buen estado de salud.

A toda mi familia. A mis padres porque me ayudaron siempre a seguir mi vocación y a mis hermanas. A mi marido Alberto por apoyarme y animarme cada día a superarme enseñándome que todo es posible. Y a mi hijo Lucas que llena mi corazón de amor y alegría.

ÍNDICE

| | |
|--|-----------|
| 1. RESUMEN | 11 |
| 2. SUMMARY | 12 |
| 3. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO | 13 |
| 4. INTRODUCCIÓN AL CRIBADO NEONATAL AMPLIADO | 14 |
| 4.1. Programas de cribado neonatal. Definición..... | 14 |
| 4.2. Estado actual de los programas de cribado neonatal en el mundo, España y la Comunidad de Madrid..... | 15 |
| 4.3. Cribado neonatal ampliado mediante espectrometría de masas en tándem (MS/MS) y su aplicación en los errores congénitos del metabolismo (ECM)..... | 20 |
| 4.4. ECM incluidos en el programa de la Comunidad de Madrid..... | 20 |
| 4.4.1. Características clínicas y bioquímicas de los ECM incluidos en el cribado..... | 23 |
| 4.4.1.1. ECM de aminoácidos..... | 23 |
| 4.4.1.1.1. Fenilcetonuria e hiperfenilalaninemias..... | 23 |
| 4.4.1.1.2. Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (MSUD)..... | 24 |
| 4.4.1.1.3. Tirosinemia tipo I..... | 26 |
| 4.4.1.2. ECM de ácidos orgánicos..... | 28 |
| 4.4.1.2.1. Aciduria glutárica tipo I (AG 1)..... | 28 |
| 4.4.1.2.2. Acidemia isovalérica (IVA)..... | 29 |
| 4.4.1.2.3. Aciduria 3-hidroxi-3-metil glutárica (HMG)..... | 30 |
| 4.4.1.2.4. Déficit de β -cetotilasa (KTD)..... | 31 |
| 4.4.1.2.5. Acidemias metilmalónicas MMA (Mut, CbIA y B, CbIC y D)..... | 31 |
| 4.4.1.2.6. Acidemia propiónica (PA)..... | 35 |
| 4.4.1.3. Defectos de la oxidación de los ácidos grasos y del sistema de transporte de la carnitina..... | 36 |
| 4.4.1.3.1. Déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCADD)..... | 36 |
| 4.4.1.3.2. Déficit del transportador de carnitina (CUD)..... | 37 |

| | |
|--|-----------|
| 4.4.1.3.3. Déficit de L-3-hidoxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga (LCHADD)..... | 37 |
| 4.4.1.3.4. Déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCADD)..... | 38 |
| 4.5. Metodología e interpretación de las alteraciones en el metabolismo de aminoácidos y acilcarnitinas detectadas por MS/MS en el cribado y su orientación diagnóstica..... | 39 |
| 4.5.1. Metodología de la prueba..... | 39 |
| 4.5.2. Interpretación de las alteraciones encontradas..... | 41 |
| 4.5.2.1. Alteraciones en los aminoácidos detectados por MS/MS..... | 41 |
| 4.5.2.2. Alteraciones en las acilcarnitinas detectadas por MS/MS..... | 43 |
| 4.6. Beneficios del diagnóstico precoz de los ECM mediante el cribado neonatal ampliado..... | 48 |
| 5. OBJETIVOS DEL ESTUDIO..... | 50 |
| 5.1. Objetivo primario del estudio..... | 50 |
| 5.2. Objetivos secundarios..... | 50 |
| 6. PACIENTES Y MÉTODOS..... | 51 |
| 6.1. Población de estudio..... | 51 |
| 6.2. Marco del estudio..... | 51 |
| 6.3. Tiempo del estudio..... | 51 |
| 6.4. Valoración de los pacientes, análisis efectuados..... | 51 |
| 6.5. Estudios de confirmación de la enfermedad realizados en el Centro de diagnóstico de enfermedades moleculares (CEDEM)..... | 52 |
| 6.6. Tiempo de seguimiento..... | 52 |
| 6.7. Variables estudiadas..... | 53 |
| 6.8. Análisis estadístico..... | 54 |
| 7. RESULTADOS..... | 55 |
| 7.1. Datos demográficos: país de origen de los padres..... | 55 |
| 7.2. Antecedentes familiares..... | 56 |
| 7.3. Antecedentes personales..... | 56 |

| | | |
|------------|--|------------|
| 7.4. | Casos detectados por cribado neonatal, confirmación bioquímica y/o genética y diagnósticos efectuados..... | 58 |
| 7.5. | Datos epidemiológicos..... | 63 |
| 7.5.1. | Incidencia de los nuevos ECM incluidos en el cribado en la población diana..... | 63 |
| 7.5.2. | Enfermedades diagnosticadas según marcador primario..... | 63 |
| 7.5.3. | Especificidad, tasa de falsos positivos y valor predictivo positivo..... | 88 |
| 7.6. | Evolución de los pacientes afectos de ECM..... | 89 |
| 7.6.1. | Sintomatología al diagnóstico..... | 90 |
| 7.6.2. | Tratamiento farmacológico..... | 90 |
| 7.6.3. | Tratamiento nutricional..... | 93 |
| 7.6.4. | Evolución clínica..... | 95 |
| 7.6.4.1. | Somatometría..... | 95 |
| 7.6.4.2. | Episodios de descompensación metabólica..... | 96 |
| 7.6.4.2.1. | Episodios intercurrentes con riesgo de descompensación metabólica..... | 96 |
| 7.6.4.2.2. | Descompensaciones metabólicas..... | 99 |
| 7.6.4.3. | Sintomatología y signos clínicos..... | 101 |
| 7.6.4.4. | Mortalidad..... | 102 |
| 7.6.4.5. | Valoración del neurodesarrollo..... | 102 |
| 7.7. | Beneficios adicionales del cribado..... | 107 |
| 7.7.1. | Detección de otras enfermedades metabólicas no incluidas en el cribado debido a la alteración en alguno de los analitos..... | 107 |
| 7.7.2. | Detección de familiares afectos de ECM y/o portadores y consejo genético..... | 107 |
| 8. | DISCUSIÓN..... | 110 |
| 8.1. | Discusión de los datos epidemiológicos..... | 110 |
| 8.1.1. | Incidencia de los nuevos ECM incluidos en el cribado en la población diana..... | 110 |
| 8.1.2. | Enfermedades diagnosticadas según marcador primario..... | 111 |

| | |
|--|------------|
| 8.1.3. Especificidad y VPP..... | 113 |
| 8.2. Discusión de la evolución de los pacientes afectos de ECM..... | 113 |
| 8.2.1. Sintomatología previa al resultado del cribado..... | 113 |
| 8.2.2. Tratamiento farmacológico..... | 114 |
| 8.2.3. Tratamiento nutricional..... | 115 |
| 8.2.4. Episodios de descompensación metabólica..... | 115 |
| 8.2.5. Evolución clínica..... | 116 |
| 8.2.6. Mortalidad..... | 119 |
| 8.2.7. Valoración del neurodesarrollo..... | 119 |
| 8.3. Discusión de los beneficios adicionales del cribado..... | 120 |
| 8.3.1. Detección de otras enfermedades metabólicas no incluidas en el cribado debido a la alteración en alguno de los analitos..... | 120 |
| 8.3.2. Detección de familiares afectos de ECM y/o portadores y consejo genético..... | 121 |
| 9. CONCLUSIONES..... | 125 |
| 10. BIBLIOGRAFÍA..... | 127 |

ABREVIATURAS

| | |
|----------|---|
| AA | Aminoácidos |
| AG-1 | Aciduria glutárica tipo I |
| ASLD | Déficit de argininosuccinato liasa |
| B12 | Vitamina B12 |
| C0 | Carnitina libre |
| C3 | Propionilcarnitina |
| C5 | Isovalerilcarnitina |
| C5DC | Glutarilcarnitina |
| C5OH | 3-OH-Isovalerilcarnitina |
| C5:1 | Tigililcarnitina |
| C14 | Miristoilcarnitina |
| C14:1 | Miristoleilcarnitina |
| C14:2 | Miristodienoilcarnitina |
| C16OH | 3-OH-Palmitoilcarnitina |
| C16:1-OH | 3-OH-Palmitoleilcarnitina |
| C18:1 | Oleilcarnitina |
| C18:1-OH | 3-OH-Oleilcarnitina |
| C18-OH | 3-OH-Estearoilcarnitina |
| CSUR | Centros, Servicios y Unidades de Referencia del Sistema Nacional de Salud |
| CEDEM | Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares |
| Cit | Citrulinemia |
| CACT | Déficit de carnitina acilcarnitina transferasa |
| CBS | Déficit de cistationina- β -sintasa |
| CPT I | Déficit de carnitina palmitoil transferasa I |
| CPT II | Déficit de carnitina palmitoil transferasa II |
| Creat | Creatinina |

| | |
|--------|---|
| CUD | Déficit del transportador de carnitina |
| ECF | Enfermedad de células falciformes |
| ECM | Error congénito del metabolismo |
| FAO | Defectos de la oxidación de los ácidos grasos |
| FQ | Fibrosis quística |
| HC | Hipotiroidismo |
| Hcy | Homocisteína |
| HFA | Hiperfenilalaninemia |
| HMG | Déficit de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liasa |
| HSC | Hiperplasia suprarrenal congénita |
| IVA | Acidemia isovalérica |
| KTD | Déficit de cetotilasa |
| Leu | Leucina |
| LCHADD | Déficit de 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga |
| LCT | Triglicéridos de cadena larga |
| MCT | Triglicéridos de cadena media |
| MCADD | Déficit de acilCoA-deshidrogenasa de cadena media |
| 3-MCC | Déficit 3-metilcrotonil- CoA deshidrogenasa |
| Met | Metionina |
| MMA | Acidemia metilmalónica |
| MS/MS | Espectrometría de masas en tándem |
| MSUD | Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce |
| PA | Acidemia propiónica |
| Phe | Fenilalanina |
| PKU | Fenilcetonuria |
| Pro | Prolina |
| SA | Succinilacetona |
| SCADD | Déficit de acil-CoA-deshidrogenasa de cadena corta |

| | |
|--------|--|
| Tyr | Tirosina |
| Tyr I | Tirosinemia tipo I |
| Val | Valina |
| VLCADD | Déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga |

1. RESUMEN

Introducción: El cribado neonatal por espectrometría de masas en tandem permite la detección de algunos errores congénitos del metabolismo (ECM) con el fin de iniciar un tratamiento precoz y así poder evitar morbimortalidad y discapacidades asociadas. Así mismo, permite conocer la incidencia real de los ECM que puede variar entre los diferentes países y regiones geográficas. Algunos estudios han demostrado una mejoría en la evolución clínica de algunos ECM. No obstante, algunas cuestiones quedan por aclarar. En la Comunidad de Madrid se inició el cribado ampliado en el año 2011.

Objetivos: Conocer la incidencia de los ECM y la evolución clínica de los pacientes detectados mediante el nuevo cribado ampliado en la Comunidad de Madrid durante los primeros dos años desde su inicio.

Pacientes y métodos: Estudio prospectivo, observacional, descriptivo. Recién nacidos derivados al Hospital Universitario 12 de Octubre, tras detectar niveles fuera de rango en el cribado neonatal ampliado desde abril del año 2011 hasta mayo de 2013. Se han recogido datos bioquímicos, genéticos, tratamiento, síntomas clínicos, episodios intercurrentes y de descompensación metabólica y valoración de neurodesarrollo.

Resultados: Se ha realizado el cribado neonatal a 83.774 recién nacidos durante el periodo de estudio. 98 casos fueron remitidos por presentar alteraciones. 30 casos han sido diagnosticados de ECM. La incidencia global de ECM es 1/2.792 recién nacidos. La incidencia de aminoacidopatías es de 1/9.308 recién nacidos vivos, 1/5.235 de los trastornos de la oxidación de los ácidos grasos (FAO) y 1/16.754 de las acidurias orgánicas. Los ECM diagnosticados con más frecuencia han sido el déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCADD) con una incidencia de 1/11.967, seguidos del déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCADD) con 1/16.754 y la aciduria glutárica (AG1) con 1/20.943. La especificidad del cribado es del 99,92 %, y el valor predictivo positivo de la prueba es del 30,61%. Un 20% de los pacientes con ECM (6/30) presentaron algún síntoma o alteración analítica previa al resultado del cribado. El inicio del tratamiento es significativamente precoz en los pacientes diagnosticados por cribado con una mediana de 18 días (rango intercuartil: 11-31) con respecto al grupo de pacientes diagnosticados en la Unidad previo a su implantación 365 días (213-2190); $p < 0,001$. El 83% de nuestros pacientes precisan tratamiento nutricional. Las medidas antropométricas de los pacientes estaban dentro de lo normal al inicio del tratamiento pero mejoraron durante el seguimiento. Ningún caso diagnosticado de MCADD presentó descompensación metabólica mientras que algunos pacientes con AG1 y con FAO de cadena larga presentaron descompensaciones. No existen diferencias significativas en cuanto al número de descompensaciones ni a la edad de la primera descompensación entre ambos grupos. El 80 % de los pacientes con ECM se encontraban asintomáticos en la última visita con un periodo de seguimiento (mediana y rango) de 2,03 años (1,40-2,53). Dos pacientes (1 CACT y 1 LCHADD) fallecieron durante el primer año de vida tras una descompensación metabólica. Los casos con AG1 presentan una puntuación peor en las escalas del neurodesarrollo. Se han diagnosticado algunos ECM en las madres de recién nacidos así como en otros miembros de la familia.

Conclusiones: Los ECM diagnosticados con más frecuencia han sido los FAO. El programa del cribado cumple su función principal, que es realizar un diagnóstico precoz de forma que permite un tratamiento precoz, lo que evita descompensaciones y discapacidades asociadas. Los pacientes con formas neonatales severas presentaron peor evolución clínica. Otros beneficios del cribado son el diagnóstico de ECM en las madres y otros miembros de la familia así como el consejo genético.

2. SUMMARY

Introduction: Newborn screening (NBS) by tandem mass spectrometry can detect inborn errors of metabolism (IEM) in a presymptomatic state and know the frequencies of these diseases, which is different between the countries. Some studies have demonstrated a better outcome in some IEM. However, some questions are unresolved, thus systematic evaluations of NBS are necessary. Expanded NBS started in Comunidad de Madrid (Spain) in 2011.

Objective: The aim of the study is to describe our experience in the expanded NBS and to define the incidence of IEM. We analyse the results of screening and follow-up during the first 2 years. We also compare the starting time of treatment between the patients diagnosed by NBS and the cohort of patients diagnosed in our unit before NBS.

Patients and Methods: Newborns who showed abnormal results were referred between April, 2011 and May, 2013 to the clinical unit in Hospital 12 de Octubre (Madrid), for diagnosis and treatment. Process times for taking screening samples, obtaining results, initiating diagnostic confirmation and starting treatment as well as the outcome variables metabolic decompensations, clinical status, and neurodevelopment (intellectual development) were evaluated.

Results: 98 neonates were referred to the unit. 30 patients with IEM were diagnosed from a total cohort of 83.774 neonates screened (one per 2.792 newborns). The incidence of aminoacids disorders is 1/9.308 newborns, fatty acid oxidation (FAO) disorders 1/5.235 and organic acidurias 1/16.754. The IEM most frequent were medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MCADD) with an incidence of 1/11.967, very long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (VLCADD) with an incidence of 1/16.754 and glutaric aciduria type 1 (AG1) with an incidence of 1/20.943. The specificity of NBS is 99,92 % and the positive predictive rate is 30,61%. Clinical symptoms appeared before positive screening results in six patients (20%). The beginning of treatment was earlier in the group diagnosed by NBS than the group diagnosed by symptoms ($p < 0,001$). 83 % of patients required nutritional therapy. Anthropometric measures were normal before treatment but improved during the follow-up. None of MCADD patients had metabolic decompensations. Some patients with long chain FAO disorders and AG1 had several decompensations, however there are no statistically significant differences about the number of decompensations and the age at first decompensations between groups. After a mean observation period of 2,03 years (1,40-2,53), 80 % were asymptomatic. Two patients died during the first year after an acute decompensation. The AG1 patients have a worse neurodevelopment score than the remaining IEM. Mothers of neonates were diagnosed with methylcrotonylglycinuria, carnitine transport deficiency and cobalamin deficiency.

Conclusions: This is the first study on expanded NBS in Madrid. The most frequent IEM were FAO disorders. Optimal outcome is achieved especially for patients with aminoacids disorders and MCADD. Expanded NBS achieves an earlier diagnosis and treatment, so preventing metabolic decompensations and morbidity. Later decompensation can not be completely prevented despite pre-symptomatic starting of treatment. Clinical symptoms seem inevitable in a small subgroup of patients with very early disease onset. This report highlights the additional benefits of NBS (diagnosis of IEM in mothers and other family members).

3. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El cribado metabólico permite conocer la incidencia real de los errores congénitos del metabolismo (ECM), que puede variar entre los diferentes países y regiones geográficas. Algunos estudios han demostrado una mejoría en la evolución clínica de algunos ECM. No obstante, algunas cuestiones quedan por aclarar dado que el espectro de mutaciones en los genes implicados varía en los pacientes detectados por cribado y en ocasiones no se conoce la relevancia clínica de las nuevas mutaciones encontradas.

Es muy importante la revisión de los resultados, diagnósticos efectuados, puntos de corte de los laboratorios, evolución de los pacientes así como las enfermedades incluidas con el fin de mejorar los programas de cribado.

Se ha publicado la experiencia del cribado en Galicia, la Región de Murcia y en otros países como Alemania, Portugal, Grecia, Austria, USA y Australia. No existen datos publicados de los casos confirmados en la Comunidad de Madrid de ahí la importancia de revisar nuestra experiencia ya que podemos aportar los primeros resultados y así poder comparar éstos con lo publicado tanto a nivel nacional como internacional.

4. INTRODUCCIÓN AL CRIBADO NEONATAL AMPLIADO

4.1. Programas de cribado neonatal. Definición.

Los programas de cribado neonatal están considerados como una actividad de salud pública dirigida a la identificación de determinados estados genéticos o metabólicos, mediante el uso de pruebas que puedan ser aplicadas a toda la población de recién nacidos¹. La detección precoz de enfermedades endocrino-metabólicas en recién nacidos permite el diagnóstico y tratamiento precoz de aquellos niños detectados en el cribado con sospecha de padecer la enfermedad y, de esta forma, prevenir o minimizar la morbilidad, mortalidad o discapacidades asociadas. Los programas de cribado neonatal han de estar basados en principios éticos y deben garantizar el acceso equitativo y universal de todos los recién nacidos, la participación informada de los padres, la protección de datos y el acceso al diagnóstico, tratamiento y seguimiento de todos los niños afectados por las patologías cribadas. El objetivo principal de los análisis realizados es detectar a los que puedan tener alguna de las enfermedades cribadas con el mínimo número de casos falsos positivos².

Los programas de cribado neonatal se establecieron para la detección de enfermedades graves, frecuentes y tratables de acuerdo con los criterios establecidos por Wilson y Jungner en 1968³, sin embargo son pocas las enfermedades que cumplen estos requisitos clásicos adoptados por la Organización Mundial de la Salud para el cribado neonatal. Estos criterios se han revisado y actualizado por diferentes sociedades científicas. El avance tecnológico aplicado al cribado neonatal asociado al desarrollo en el diagnóstico y la incorporación de nuevos tratamientos, que aunque no son curativos si mejoran la calidad de vida, han abierto nuevas posibilidades para la incorporación de otras enfermedades^{4,5}.

El cribado neonatal comenzó en Estados Unidos cuando el Dr Robert Guthrie, en los años sesenta del siglo anterior puso en marcha un procedimiento analítico para la medición de la fenilalanina en sangre capilar obtenida del talón de los recién nacidos e impregnada en papel absorbente⁶. De esta forma sentó las bases metodológicas y conceptuales de los programas de cribado neonatal. Posteriormente, al método empleado por Guthrie (inhibición bacteriana) se han utilizado diferentes procedimientos analíticos para la medición de nuevos analitos en sangre impregnada en papel, como inmunofluorescencia, cromatografía líquida de alta resolución, cromatografía de gases y más recientemente la espectrometría de masas en tándem (MS/MS). Esta técnica (MS/MS) permite detectar, sobre la misma muestra numerosos analitos en un mismo procedimiento, lo que hace posible su aplicación para la detección de las enfermedades metabólicas hereditarias aplicadas a la detección de defectos en el metabolismo de los aminoácidos, ácidos orgánicos y de la beta-oxidación de los ácidos grasos^{1,5}.

Los errores congénitos del metabolismo se pueden presentar a cualquier edad (desde el periodo neonatal hasta la edad adulta). Muchos de ellos son susceptibles de intervención dietética y responden a la suplementación de metabolitos con el fin de prevenir el estrés metabólico y depurar los metabolitos tóxicos. Sin embargo, los

pacientes no tratados pueden sufrir serias complicaciones que conllevan graves discapacidades⁷. Esto explica que se haya introducido esta metodología en algunos centros ampliando la cobertura de enfermedades en el cribado neonatal.

Estos programas, de carácter universal requieren una estrecha coordinación entre los Servicios de Prevención responsables de los cribados con el área hospitalaria y atención primaria contando con el laboratorio de cribado neonatal para la detección, laboratorios de bioquímica, biología molecular y de genética para la confirmación y unidades clínicas de referencia para tratamiento y seguimiento de los casos diagnosticados. Es imprescindible la información a los padres y profesionales acerca de los objetivos del programa, las enfermedades que incluye y de los análisis que se realizan, así como la integración de unidades de seguimiento que completen y validen los beneficios del programa. Deben incluir así mismo, el coste de la realización de los análisis, los estudios complementarios de confirmación, tratamiento y seguimiento de los pacientes afectos⁸.

4.2. Estado actual de los programas de cribado neonatal en el mundo, España y la Comunidad de Madrid

Clásicamente el programa se orientaba a la detección de la fenilcetonuria y el hipotiroidismo. Posteriormente se introdujeron en el cribado otras patologías como la hiperplasia suprarrenal congénita, enfermedad de células falciformes o fibrosis quística según los centros y por último el cribado metabólico ampliado por MS/MS que será objetivo del estudio.

Existe una gran heterogeneidad en cuanto a las enfermedades incluidas en los programas de cribado neonatal entre los diferentes países. Los primeros programas pilotos de cribado neonatal ampliado se iniciaron en 1998 en Alemania, comenzando la mayoría de los países a partir del año 2004. El número de ECM detectados por MS/MS varía de dos (fenilcetonuria y defecto de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media) en algunos países a 20 en otros⁹. Pocos programas han publicado el número de casos positivos y los datos técnicos aunque muchos participan en programas de calidad y competencia^{10,11}. Es muy importante la revisión de los resultados, diagnósticos efectuados, puntos de corte de los laboratorios, evolución de los pacientes así como las enfermedades incluidas con el fin de mejorar los programas de cribado.

En diferentes países de Europa como Austria, Bélgica, Dinamarca, Holanda, Portugal o Alemania se ha introducido el cribado metabólico ampliado para la detección de ECM. De esta forma, hacia el año 2007, algunos países de Europa occidental, la mayoría de los estados de EEUU, Canadá, Australia y Qatar habían implementado en toda la población el cribado neonatal expandido mediante MS/MS con programas regionales y/o programas pilotos en desarrollo en otros países. En EEUU al igual que en Australia se detectan al menos 29 enfermedades recomendadas por la American College of Medical Genetics y en Canadá hasta 38. En otros países como Alemania incluye doce enfermedades mientras que el Reino Unido fenilcetonuria y MCADD (tabla 1)^{9, 12, 13}.

Tabla1: ECM incluidos en el cribado por MS/MS en distintos países.

| Países | Enfermedades Incluidas por MS/MS |
|--------------------|---|
| Austria | PKU, MSUD, Tyr I, Cit, ASLD, CBS, MCADD, LCHADD, VLCADD, CPT I, CPTII/CACT, CUD, KTD, HMG, MMA, PA, IVA, AG1, 3-MCC |
| Bélgica | PKU, MSUD, Tyr I, MCADD, LCHADD, VLCADD, CPT I, CACT, CUD, SCAD, KTD, HMG, MMA, PA, IVA, AG1, 3-MCC |
| Dinamarca | PKU, MSUD, Cit, ASLD, Arg D, MCADD, LCHADD, VLCADD, CPT I, CPTII/CACT, CUD, KTD, HMG, MMA, PA, IVA, AG1, 3-MCC |
| Alemania | PKU, MSUD, MCADD, LCHADD, VLCADD, CPT I, CPTII/CACT, IVA, AG1 |
| Reino Unido | PKU, MCADD |
| Holanda | PKU, MSUD, CBS, Tyr I, MCADD, LCHADD, VLCADD, HMG, IVA, AG1, 3-MCC |
| Suiza | PKU, MCADD |
| Polonia | PKU, MSUD, Tyr I, MCADD, LCHADD, VLCADD, CPT I, CPTII/CACT, CUD, IVA, AG1 |
| Portugal | PKU, MSUD, MCADD, LCHADD, VLCADD, CPT I, CPTII/CACT, CUD, KTD, HMG, MMA, PA, IVA, AG1, 3-MCC |

PKU: fenilcetonuria; MSUD: Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce; Tyr I: tirosinemia tipo I; Cit: citrulinemia; ASLD: déficit de argininosuccinato liasa; CBS: déficit de cistationina- β -sintasa; SCADD: déficit de acil-CoA-deshidrogenasa de cadena corta; MCADD: déficit de acilCoA-deshidrogenasa de cadena media; LCHADD: déficit de 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga; VLCADD: déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga; CPT I: déficit de carnitina palmitoil transferasa I; CPTII/CACT: déficit de carnitina palmitoiltransferasa II/ carnitina acilcarnitina transferasa; CUD: déficit del transportador de carnitina; KTD: déficit de cetotiolasa; HMG: déficit de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liasa; MMA: acidemias metilmalónicas; PA: acidemia propiónica; IVA: acidemia isovalérica; AG1: aciduria glutárica tipo I; 3-MCC: déficit 3-metilcrotonil- CoA deshidrogenasa

Las diferencias entre los países son grandes, no solo en cuanto al número de enfermedades incluidas, sino también en el número de centros de cribado así como en el momento de recogida de la muestra. En Países como España, Portugal, Francia y Alemania se recoge la muestra a las (48-96 h), en el Reino Unido al 5º día de vida, en Austria a las 36-72 h y en Grecia entre los 4-7 días^{9,12}. Algunas enfermedades metabólicas pueden mostrar síntomas antes de la toma de la muestra o de conocer los resultados y por tanto no se podría prevenir todas las consecuencias a largo plazo. sin embargo el cribado facilita un diagnóstico rápido y un tratamiento específico de la enfermedad.

Debido a la variabilidad que existe entre los diferentes países se intenta dar recomendaciones sobre las enfermedades que se deben incluir, promoviendo un panel uniforme, así como reportar los casos positivos con el fin de conocer la incidencia de estas enfermedades^{2, 4, 14}.

El Ministerio de Sanidad en España está trabajando en la recomendación para todo el Sistema Nacional de Salud (SNS) unificando las enfermedades que forman parte del programa poblacional de cribado neonatal de enfermedades endocrino-metabólicas de la cartera común básica de servicios asistenciales del SNS que incluyen el hipotiroidismo congénito, fenilcetonuria, fibrosis quística, déficit de acil-coenzima A-deshidrogenasa de cadena media, déficit de 3-hidroxi-acil-coenzima A-deshidrogenasa de cadena larga, acidemia glutárica tipo I y anemia falciforme¹⁵.

En España existían 12 centros de cribado neonatal en el año 1982 donde se realizaba tanto el diagnóstico precoz de la fenilcetonuria (desde 1968) como el del hipotiroidismo primario congénito (desde 1981), aunque el territorio que abarcaba cada centro de cribado no se correspondía con el delimitado por cada comunidad autónoma. Este modelo se ha ido transformando hasta llegar al actual, en el que existen 17 centros de cribado, uno por cada comunidad autónoma, a excepción de Andalucía, donde existen dos. El cribado neonatal de los recién nacidos en La Rioja se realiza en Aragón y el de Ceuta y Melilla en Sevilla y Murcia, respectivamente. En todos ellos se realiza como mínimo el diagnóstico de fenilcetonuria e hipotiroidismo primario congénito.

El número de enfermedades incluidas en los programas de cribado neonatal ampliado difiere entre los diferentes países Europeos, realizándose un mismo panel dentro de cada país. Sin embargo, en España el número de enfermedades incluidas en los programas de cribado neonatal difiere enormemente en las distintas comunidades autónomas (tabla 2)^{16,17}. En el año 2000, Galicia fue pionera en la introducción del MS/MS en el cribado neonatal español¹⁸. A ella le siguieron Murcia y el País Vasco en 2007. En 2008 lo incorporaron Andalucía y Extremadura y en 2009 lo incorporó Aragón. La Comunidad de Madrid incorporó la tecnología MS/MS en 2011, Cataluña en 2012 y Castilla La-Mancha en 2015. En la tabla 3 se muestran las enfermedades incluidas en la Comunidad de Madrid.

Según datos de la Asociación Española de Cribado Neonatal (AECNE), datos disponibles a 2014, en España 9 centros de cribado utilizan la tecnología de MS/MS¹⁶. 14 centros en España realizan una extracción única de sangre a partir del 2º-3º día de vida y 4 centros realizan doble extracción. Además en los programas de cribado de Extremadura, Galicia y Murcia recogen la muestra de orina impregnada en papel junto con la de sangre, lo que permite realizar un diagnóstico diferencial en un segundo tipo de muestra sin necesidad de solicitar nueva muestra.

En abril de 2011, el laboratorio de cribado neonatal de la Comunidad de Madrid, inició el estudio piloto para la detección de las enfermedades recogidas en la tabla 3. El 10 de octubre de 2011 se incorporó al programa de cribado, de forma universal, el cribado ampliado para ECM. Durante el estudio piloto la Unidad de Enfermedades Metabólicas Hereditarias del Hospital Universitario 12 de Octubre fue designada como centro experto de referencia de todos los casos detectados en la Comunidad de Madrid. Tras la incorporación universal se designaron 4 centros hospitalarios (Hospital La Paz y el Hospital Ramón y Cajal para la zona norte y el Hospital 12 de Octubre y Hospital Niño Jesús para la zona sur) como Unidades clínicas de seguimiento en función del Hospital de nacimiento del recién nacido^{19,20}.

Se ha publicado la experiencia del cribado en Galicia²¹, la región de Murcia²² y en otros países como Alemania, Portugal, Grecia, Austria, USA y Australia^{23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30}. No existen datos publicados de los casos confirmados en la Comunidad de Madrid. Es muy importante revisar nuestra experiencia ya que podemos aportar los primeros resultados y así poder comparar éstos con lo publicado tanto a nivel nacional como internacional.

Tabla 2: Enfermedades incluidas en el cribado neonatal en las diferentes CCAA

| CCAA | HC | HFA | HSC | FQ | ECF | MS/MS | Otras |
|--------------------|----|-----|-----|----|-----|----------|---|
| Andalucía | X | X | | X | | X | Biotinidasa |
| Aragón | X | X | X | X | | X | Biotinidasa |
| Asturias | X | X | | X | | | |
| Baleares | X | X | | X | | | |
| Canarias | X | X | | X | | | |
| Cantabria | X | X | | X | | | |
| Castilla La Mancha | X | X | | X | | X (2015) | |
| Castilla y León | X | X | X | X | | | |
| Cataluña | X | X | | X | X | X | |
| C.Valenciana | X | X | | X | X | | |
| Extremadura | X | X | X | X | X | X | Biotinidasa, Galactosemia |
| Galicia | X | X | X | X | | X | Biotinidasa, Galactosemia, Cistinuria |
| C. Madrid | X | X | X | X | X | X | |
| Murcia | X | X | | X | | X | Biotinidasa, Cistinuria |
| Navarra | X | X | | | | | |
| La Rioja | X | X | X | X | | X | Biotinidasa |
| País Vasco | X | X | | X | X | X | |

HC: Hipotiroidismo; HFA: Hiperfenilalaninemias; HSC: Hiperplasia suprarrenal congénita; FQ: Fibrosis quística; ECF: enfermedad de células falciformes; *Fuente: Responsables Centros de Cribado en España. Asociación Española de Cribado Neonatal (AECNE). www.aecne.es*

Tabla 3: Enfermedades incluidas en el programa de cribado ampliado de la Comunidad de Madrid

| |
|---|
| 1. Hipotiroidismo congénito (HC). |
| 2. Fenilcetonuria e hiperfenilalaninurias (PKU e HFA). |
| 3. Hiperplasia suprarrenal congénita (HSC). |
| 4. Enfermedad de células falciformes (ECF). |
| 5. Fibrosis quística (FQ). |
| Errores congénitos de metabolismo de aminoácidos: |
| 6. Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (MSUD). |
| 7. Tirosinemia tipo I. |
| Errores congénitos del metabolismo de ácidos grasos: |
| 8. Déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCADD). |
| 9. Déficit del transportador de carnitina (CUD). |
| 10. Déficit de L-3- hidroxil-CoA deshidrogenasa de cadena larga (LCHADD). |
| 11. Déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCADD). |
| Errores congénitos del metabolismo de ácidos orgánicos: |
| 12. Aciduria glutárica tipo I (AG 1). |
| 13. Acidemia isovalérica (IVA). |
| 14. Aciduria 3-hidroxi-3-metil glutárica (HMG). |
| 15. Déficit de β -cetotialasa (KTD). |
| 16, 17, 18. Acidemias metilmalónicas (Mut, Cbl A y B, Cbl C y D). |
| 19. Acidemia propiónica (PA). |

4.3. Cribado neonatal ampliado mediante espectrometría de masas en tándem (MS/MS) y su aplicación en los ECM

El cribado neonatal realizado en muestra de sangre capilar, obtenida del talón del recién nacido y recogida sobre papel absorbente, se inició en 1960 inspirado en el trabajo del Dr. Robert Guthrie para la fenilcetonuria. El cribado para esta enfermedad fue un éxito y pronto se instauró en todos los Estados Unidos y otros países desarrollados. En los años 70 se incorporó la detección del hipotiroidismo congénito. Hasta los años 90, se fueron incorporando a los programas otras enfermedades de una en una, de forma lenta y laboriosa. La introducción de la espectrometría de masas en tándem (MS/MS) en la década de los 90 cambió el paradigma de analizar un analito por enfermedad. Con un solo procedimiento analítico de “2-3” minutos de duración en una gota de sangre, la MS/MS permite la determinación de múltiples analitos característicos de varias enfermedades metabólicas³¹.

El gran avance de las nuevas tecnologías en los últimos años, especialmente la incorporación de la espectrometría de masas en tándem (MS/MS), ha permitido detectar un mayor número de enfermedades tratables, relacionadas con los errores congénitos del metabolismo (ECM) de aminoácidos, ácidos grasos y ácidos orgánicos. Previo al MS/MS, el cribado neonatal se realizaba mediante diversas metodologías y eran necesarias dos tomas de muestras (a las 48 h y a los 5 días de vida). Esta estrategia de doble extracción de sangre, permitía detectar en la Comunidad de Madrid 5 enfermedades (hipotiroidismo congénito, hiperplasia suprarrenal congénita, enfermedad de células falciformes, fibrosis quística y fenilcetonuria). La MS/MS es capaz de analizar más de 30 metabolitos, incluyendo aminoácidos y acilcarnitinas en sangre impregnada en papel. Esto es importante para el diagnóstico de ECM como aminoacidopatías, acidemias orgánicas y defectos en la oxidación de los ácidos grasos. Por otra parte, el MS/MS, debido a su sensibilidad, ha hecho posible realizar los análisis en una única muestra, evitando así la segunda muestra que se venía realizando y adelantando el tiempo de diagnóstico.

4.4. ECM incluidos en el programa de la Comunidad de Madrid

Los ECM son enfermedades raras (incidencia $<1/2.000$ en ausencia de programas de cribado neonatal) producidas por un defecto genético en la estructura o la función de una proteína. Aunque de forma individual su incidencia es baja, sumando todas afectan aproximadamente a $1/800$ recién nacidos vivos. Se han descrito unas 700 enfermedades aunque este número ha ido progresivamente en aumento³².

Estas enfermedades se pueden clasificar de diferentes maneras. Desde el punto de vista bioquímico los que se pueden detectar mediante el cribado neonatal actual son los ECM de los aminoácidos, los ECM de los ácidos grasos y los ECM de los ácidos orgánicos. Desde el punto de vista fisiopatológico, se pueden dividir en tres grupos³³.

El grupo 1: trastornos que dan lugar a intoxicación. Este grupo lo forman los ECM que conducen a intoxicación aguda o progresiva por la acumulación de sustancias tóxicas

proximales al bloqueo metabólico. En este grupo están los ECM de los aminoácidos, la mayoría de las acidurias orgánicas y otras enfermedades como la galactosemia y la fructosemia. Suelen producir síntomas como vómitos, retraso del desarrollo, alteraciones neurológicas que pueden llegar a coma y afectación de otros órganos como insuficiencia hepática o cardiomiopatía.

El grupo 2: trastornos que afectan al metabolismo de la energía. En este grupo se encuentran los ECM con síntomas debidos a un déficit en la producción de energía (especialmente en el hígado, miocardio, músculo y sistema nervioso central). Incluye enfermedades como las acidemias lácticas congénitas, los trastornos de la cadena respiratoria mitocondrial, los defectos de la oxidación de los ácidos grasos y los cuerpos cetónicos, los defectos de la neoglucogénesis, las glucogenosis y anomalías del metabolismo de la creatina.

El grupo 3: trastornos que afectan a moléculas complejas. Incluye enfermedades con alteración en los orgánulos celulares (lisosomas, peroxisomas, retículo endoplásmico, aparato de Golgi). Los síntomas suelen ser permanentes, progresivos, independientes de acontecimientos intercurrentes y no relacionados con la ingesta de alimentos. En este grupo se encuentran las enfermedades lisosomales, peroxisomales, los defectos de la glicosilación y otros como los de la síntesis del colesterol.

La clínica que suelen producir puede aparecer en el periodo neonatal, incluso antes de realizar la prueba del cribado o antes de tener el resultado. También puede haber un periodo libre de síntomas y cursar como crisis agudas y recurrentes de síntomas como vómitos, acidosis, ataxia, intolerancia al ejercicio, fracaso del corazón, riñón, hígado y otros órganos. A veces cursan con síntomas neurológicos crónicos y progresivos (epilepsia, retraso mental, deterioro neurológico, síntomas psiquiátricos). Por último también puede cursar con síntomas específicos de órganos o sistemas. Algunos de los síntomas y afecciones que provocan los ECM pueden evitarse si se detectan, se diagnostican y se tratan precozmente. Muchos se tratan mediante dietas restrictivas y fármacos que reducen de forma significativa y previenen la mortalidad y morbilidad. En la tabla 4 se muestra los ECM incluidos en el cribado neonatal ampliado, el gen afecto y la proteína implicada.

Tabla 4: ECM incluidos en el cribado neonatal ampliado. Se muestra el nombre de cada enfermedad, abreviatura de cada enfermedad, el gen afecto y la proteína implicada.

| Enfermedad | Abreviatura | Genes | Proteína |
|---|---------------|----------------|--|
| Aminoácidos/enfermedad | | | |
| Fenilalanina (Fenilcetonuria) | PKU | PAH | Fenilalanina hidroxilasa Bioterinas síntesis y regeneración |
| Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce | MSUD | BCKD | Complejo a oxoacil deshidrogena cadena ramificada (E1a, E1b, E2,E3) |
| Tirosina. (Tirosinemia tipo I) | TYR 1 | FAH | Fumarilacetoacetato hidrolasa |
| Ácidos grasos/enfermedad | | | |
| Acil CoA deshidrogenasa de cadena media | MCADD | ACADM | Acil CoA deshidrogenasa de cadena media |
| Déficit del transportador de carnitina | CUD | SLC25A5 | Transportador de carnitina (OCTN2) |
| 3 OH-Acil CoA deshidrogenasa de cadena larga/proteína trifuncional | LCHADD TFP | HADHA HADHB | Proteína trifuncional (TFP) Subunidad a LCHAT Subunidad b LCKAT (Cetotilasa cadena larga) Hidratasa cadena larga (LCEH) |
| Acil CoA deshidrogenasa de cadena muy larga | VLCADD | ACADVL | Acil CoA deshidrogenasa de cadena muy larga |
| Acidurias orgánicas/enfermedad | | | |
| Aciduria glutárica | AG 1 | GCDH | Glutaril CoA deshidrogenasa |
| Acidemia isovalérica | IVA | IVD | Isovaleril CoA deshidrogenasa |
| 3 OH 3 metil glutárica | HMG | HMGCL | 3 Hidroxi metil glutaril CoA liasa |
| b-cetotilasa | KTD | ACAT1 | Cetotilasa o acetoacil CoA tiolasa |
| Acidemia metilmalónica | MMA | MUT cbl | Metil malonil CoA mutasa Cobalaminas: C1b a, C1b b, C1b C, C1b D |
| Acidemia propiónica | PA | PPCA PCCB | Propionil CoA carboxilasa (PCC) |

4.4.1. Características clínicas y bioquímicas de los ECM incluidos en el cribado

4.4.1.1. ECM de los aminoácidos

4.4.1.1.1. Fenilcetonuria e hiperfenilalaninemias

Definición: La Fenilcetonuria (PKU) e hiperfenilalaninemia (HFA) (OMIM 261600) es una enfermedad genética causada por el déficit de la enzima fenilalanina hidroxilasa cuyo gen *PAH* se localiza en el locus 12q23.2 (figura 1). Se hereda de forma autosómica recesiva. Esta enfermedad presenta de forma característica niveles aumentados de fenilalanina (Phe). La incidencia en España de PKU es 1/18.625 y de HFA 1/11.789¹⁶.

Se clasifican en tipos en función de los niveles de Phe al diagnóstico y en la tolerancia a la Phe. La forma grave o PKU clásica si tiene niveles de Phe >1200 μM (20 mg/dL), forma moderada si niveles de 600-1200 μM (10-20 mg/dL), forma leve si tiene niveles de 360-600 μM (6-10 mg/dL) e HFA si los niveles son de 150-350 μM (2,5-6 mg/dL).

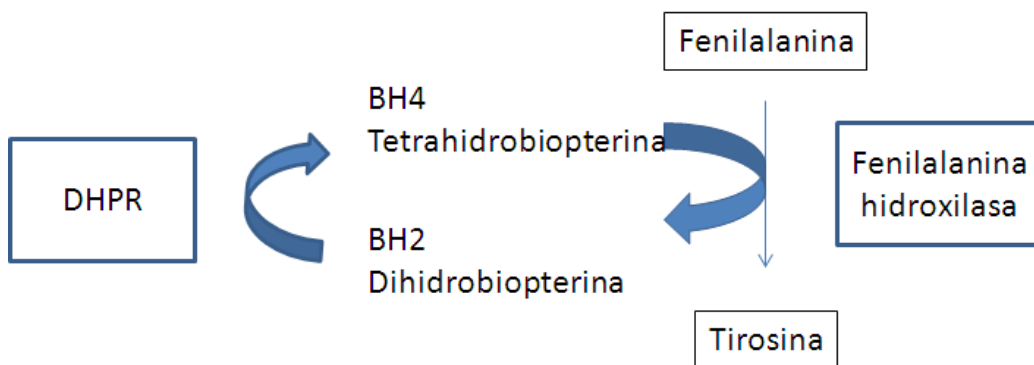


Figura 1: vía metabólica del metabolismo de la fenilalanina.

Clínica: La PKU clásica produce síntomas neurológicos y psiquiátricos si no reciben tratamiento precoz. Los pacientes pueden presentar microcefalia, discapacidad intelectual, epilepsia y otros como hiperactividad, impulsividad, autoagresiones o autismo. Las formas menos graves pueden cursar con otros síntomas como mal rendimiento escolar o disminución de la capacidad de concentración^{33 34}.

Detección y diagnóstico: El aumento de Phe en sangre en papel se puede detectar mediante cribado neonatal. El diagnóstico se realiza mediante la cuantificación de los aminoácidos en plasma, presentando característicamente un aumento de Phe y una disminución de Tyr. Los ácidos orgánicos muestran aumento de los metabolitos de Phe (ácidos fenilacético, feniláctico, fenilpirúvico). Se debe realizar el diagnóstico diferencial con los defectos de metabolismo del cofactor tetrahidrobiopterina (BH4) (figura 2). Por eso, se determina la actividad de la dihidropterina reductasa en sangre impregnada en papel y la concentración de pterinas en orina³⁵. La prueba de sobrecarga de BH4 se puede realizar simultáneamente al diagnóstico diferencial y

permite comprobar la respuesta a dicho cofactor³⁶. El diagnóstico se confirma mediante el análisis molecular de las mutaciones en el gen *PAH* en sangre.

Tratamiento: Se basa en una dieta especial con restricción en Phe. Algunos casos responden al tratamiento con un fármaco, la BH4, que es cofactor de la enzima fenilalanina hidroxilasa. Precisan un protocolo de emergencia en situaciones de estrés catabólico para evitar los niveles altos de Phe. El diagnóstico precoz permite instaurar el tratamiento y por tanto la aparición de los síntomas, evitando las secuelas neurológicas de forma que los niños puedan tener un desarrollo neurológico normal³⁷.

Los defectos de la síntesis de BH4 pueden ser debidos a una déficit en la GTP ciclohidrolasa (GTPCH), 6-piruvoil-tetrahydropterina sintasa (PTPS) o en la sepiapterina reductasa (SR). Los defectos en la regeneración de BH4 están causados por una deficiencia en la dihidropterina reductasa (DHPR) o a una déficit de la pterina-4-carbinolamina deshidratasa (PCD) (figura 2).

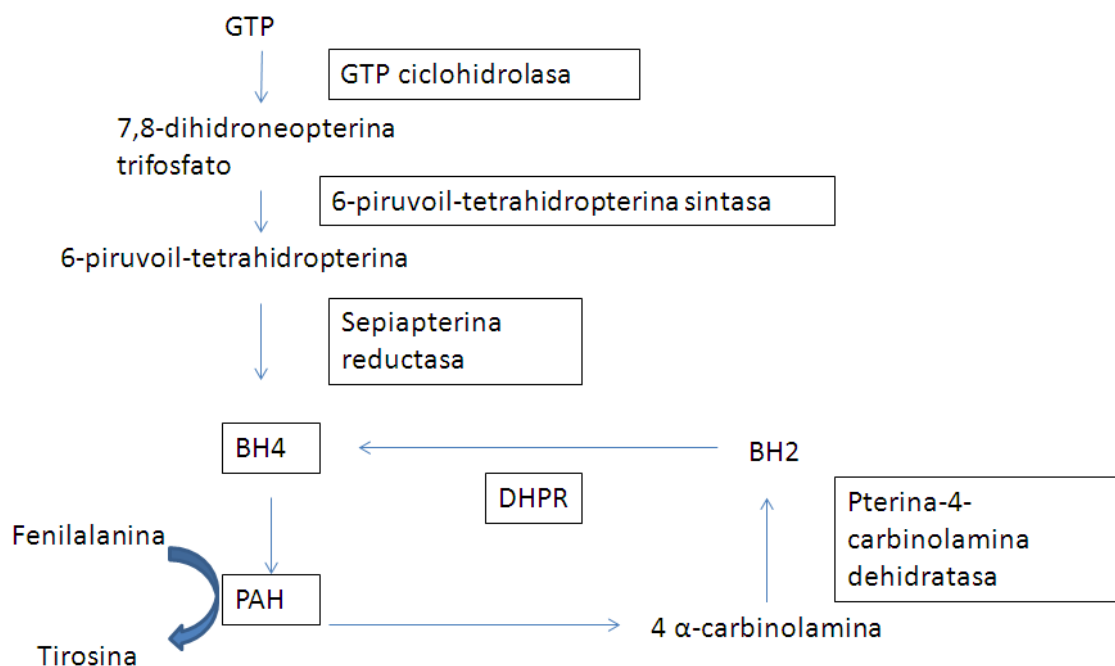


Figura 2: vía metabólica de la síntesis y regeneración de la BH4

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

Definición: La enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (MSUD OMIM 2486600) está causada por un defecto en la descarboxilación oxidativa de los aminoácidos de cadena ramificada (isoleucina, leucina y valina). La MSUD se origina por un defecto del complejo enzimático mitocondrial, deshidrogenasa de α -cetoácidos de cadena ramificada (BCKDH) (figura 3). El complejo enzimático BCKDH está compuesto por cuatro subunidades catalíticas codificadas por cuatro genes nucleares diferentes: E1 α -BCKDHA, E1 β -BCKDHB, E2-DBT y E3-DLD. Este complejo también

contiene dos enzimas reguladoras BCKD cinasa y BCKD fosfatasa que son las responsables de la regulación de la actividad BCKDH en diferentes órganos. Puede ser debida a un defecto en los siguientes genes: *BCKDHA*, *BCKDHB*, *DBT*, *DLG*. Presenta una herencia autosómica recesiva^{38,39}.

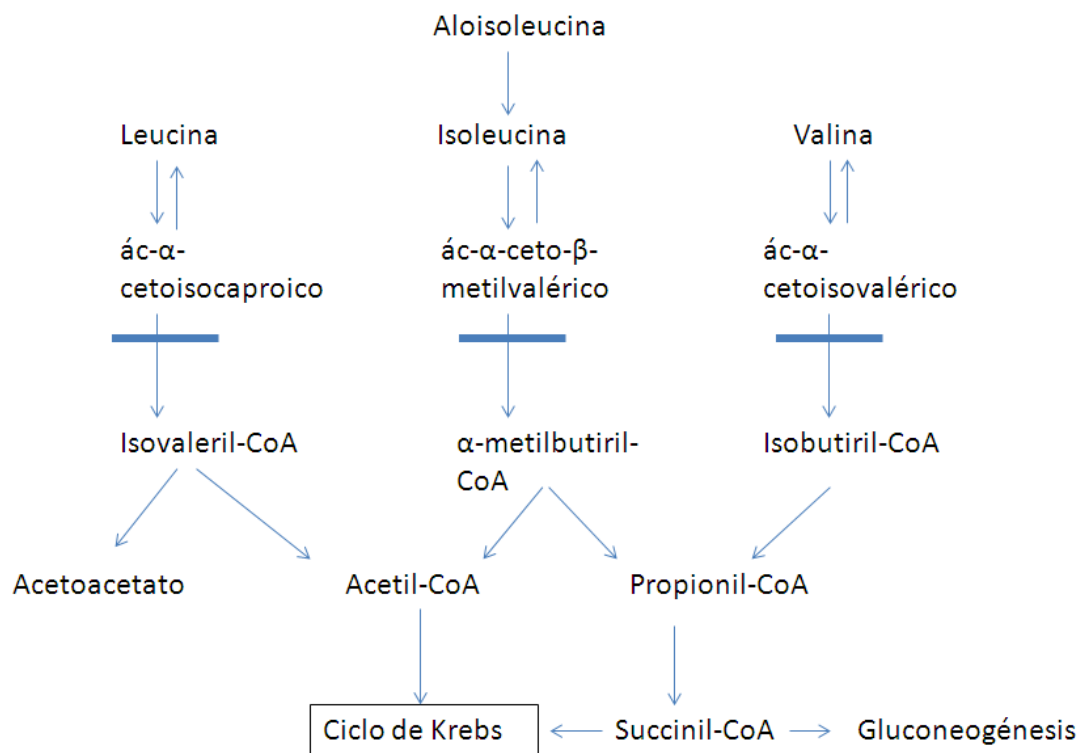


Figura 3: Vía metabólica de los aminoácidos ramificados y bloqueo por déficit del complejo multienzimático deshidrogenasa de los cetoácidos de cadena ramificada

Clínica: Existen cinco formas clínicas: clásica o neonatal grave, intermedia, intermitente, respondedoras a tiamina y por déficit de E3. La forma clásica es la más frecuente y cursa con síntomas tipo "intoxicación". La forma intermedia suele cursar con síntomas neurológicos progresivos (retraso psicomotor, ataxia, convulsiones) y otros como anorexia y vómitos. Los pacientes con la forma intermitente tienen un desarrollo psicomotor y un crecimiento normales y presentan síntomas desencadenados por una situación de catabolismo (infecciones, ayuno, cirugía). La forma sensible a tiamina son similares a las formas intermedias y como indica su nombre responden al tratamiento con esta vitamina. El déficit de E3 es muy poco frecuente y puede cursar como un deterioro neurológico progresivo³⁸.

Detección y diagnóstico: Estas patologías se detectan en el cribado neonatal al objetivarse aumento de leucina, isoleucina y valina. El diagnóstico se realiza mediante la cuantificación de los aminoácidos en plasma/suero. Es preciso determinar la presencia/ausencia de Aloisoleucina ya que es patognomónica de la enfermedad. La cuantificación de los ácidos orgánicos detecta ácidos 2-OH-isocaproico, 2-OH-3-metilvalérico, 2-cetoisocaproico y 2-OH-caproico. El estudio de confirmación se realiza por estudio enzimático y análisis de mutaciones de los genes correspondientes⁴⁰.

Tratamiento: Se basa en una dieta especial con restricción proteica para mantener la leucina en niveles adecuados, además de un aporte en isoleucina y valina. Se suplementa con tiamina. Es necesario un seguimiento periódico, un buen control dietético y la monitorización frecuente de los aminoácidos ramificados para ajustar el tratamiento⁴⁰. Como en otros ECM que cursan con episodios de descompensación precisan protocolos de emergencia para el tratamiento de urgencia en las crisis metabólicas así como en aquellas situaciones de riesgo para evitar la aparición de las mismas. El cribado neonatal permite la detección precoz de la enfermedad evitando la aparición de secuelas irreversibles⁴¹.

4.4.1.1.3. Tirosinemia tipo I

Definición: La tirosinemia tipo I (OMIM 276700) es una enfermedad genética debida al déficit en la enzima fumarilacetoacetato hidrolasa (figura 4). El gen responsable de la enfermedad *FAH*, se encuentra en el locus 15q25.1⁴².

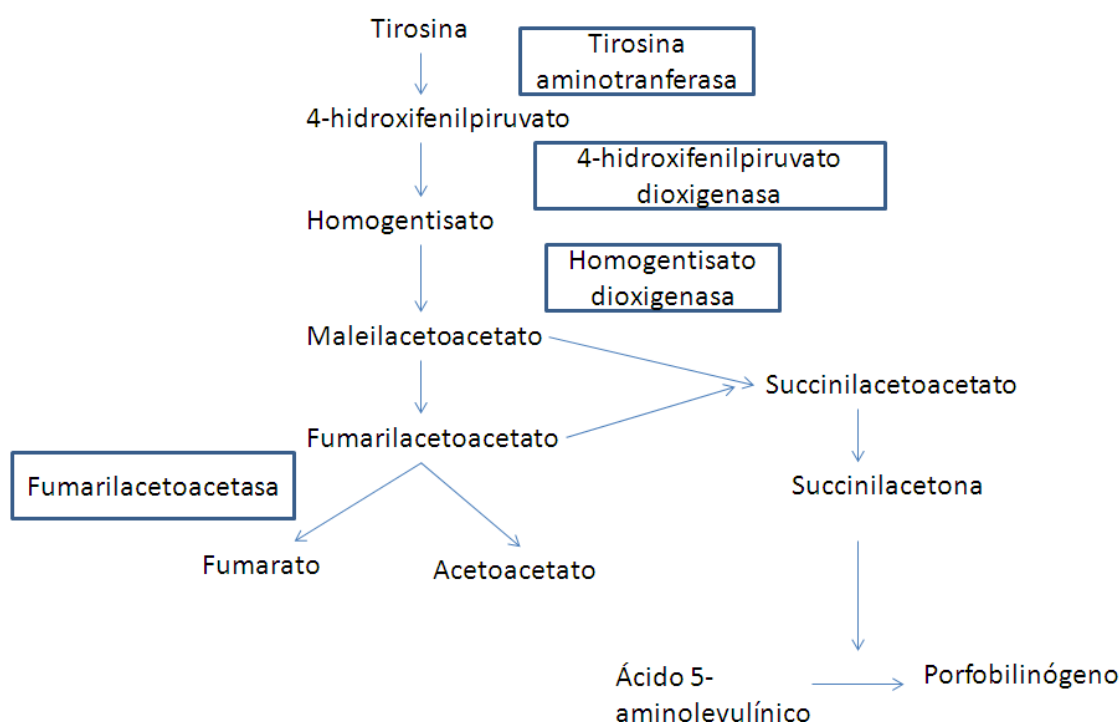


Figura 4: vía del metabolismo de la tirosina y enzimas implicadas.

Clínica: En pacientes no diagnosticados ni tratados suele comenzar de forma aguda entre los 15 días y los 2 meses (las formas neonatales son las más severas). Las formas crónicas se presentan a partir del año de vida. Los pacientes detectados en el cribado neonatal pueden encontrarse asintomáticos. Suele producir afectación hepática: fallo hepático agudo con trastorno importante de la coagulación, cirrosis progresiva micro y macronodular. Afectación renal: síndrome de Fanconi (afectación tubular proximal), raquitismo hipofosfatémico, tubulopatía distal, nefrocalcinosis,

insuficiencia renal, nefromegalia, glomerulosclerosis. Afectación neurológica: neuropatía axonal con desmielinización secundaria, crisis porfiria-like, retraso madurativo.

Detección y diagnóstico: Esta enfermedad se detecta mediante el cribado neonatal al objetivarse aumento de succinilacetona (SA) en sangre en papel. Es importante conocer el diagnóstico diferencial porque existen falsos positivos de tirosina elevada en condiciones fisiológicas del recién nacido (tirosinemia benigna transitoria descrita en el paciente pretérmino o con inmadurez hepática) o en el paciente con hepatopatía de otra etiología. En la tabla 5 se muestran las enfermedades que cursan con aumento de tirosina.

Tabla 5: Enfermedades que cursan con aumento de tirosina.

| Enfermedad | Gen | Enzima | Clinica |
|---|---------------|------------------------------------|---|
| Tirosinemia tipo I OMIM 276700 | FAH | Fumarilacetoacetato hidrolasa | Hepatopatía progresiva Tubulopatía proximal Neuropatía periférica |
| Tirosinemia tipo II OMIM 276600 | TAT | Tirosina aminotransferasa | Úlceras corneales Dermoqueratosis palmo-plantar |
| Tirosinemia tipo III OMIM 276710 | HPD | 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenasa | Síntomas neurológicos |
| Alcaptonuria OMIM 203500 | HGD | Homogentísico oxidasa | Manifestaciones osteoarticulares Valvulopatías Urolitiasis |
| Hawkinsinuria OMIM 140350 | Mutación A33T | 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenasa | Acidosis metabólica Retraso del crecimiento |

El análisis de aminoácidos en plasma muestra aumento de tirosina (>300 µmol/l), fenilalanina y metionina. El aumento de succinilacetona en orina/plasma/papel es patognomónico de la enfermedad. El análisis de ácidos orgánicos en orina muestra niveles aumentados de 4-hidroxifenilderivados y succinilacetoacetato. También presentan niveles elevados de ácido delta-aminolevulínico en orina. El diagnóstico de confirmación se realiza mediante el estudio genético y/o estudio enzimático². En España la mutación más prevalente es la IVS6-1 (G>T).

Tratamiento: Consiste en una dieta restringida en tirosina y fenilalanina además de la administración del NTBC (2-Nitro-4-trifluorometilbenzoli)-1-3-ciclohexanediona). Este fármaco es una tricetona con actividad herbicida que inhibe la enzima 4-hidroxifenilpiruvatodioxigenasa, previniendo la degradación de la tirosina y la

acumulación de los metabolitos tóxicos⁴³. El diagnóstico precoz permite evitar el fallo hepático agudo y el desarrollo de otras complicaciones.

4.4.1.2. ECM de los ácidos orgánicos

4.4.1.2.1. Aciduria glutárica tipo I (AG-1)

Definición: La aciduria glutárica (OMIM 231670) es un trastorno del metabolismo de los ácidos orgánicos debido a una déficit de la glutaril-CoA deshidrogenasa. Es una enfermedad genética cuyo gen *GCDH*, se encuentra en el locus 19p13.2.^{44,45} (figura 5).

Clínica: Existe una gran variabilidad, desde pacientes asintomáticos a afectación grave del desarrollo neurológico tras una crisis encefalopática coincidiendo con un proceso intercurrente (fiebre, vómitos, vacunas, intervenciones quirúrgicas) sobre todo en los primeros 2 años de vida. La secuela neurológica de una crisis encefalopática produce un daño bilateral de los estriados de forma que suelen presentar alteración del movimiento como distonía, espasticidad y ataxia que condiciona altamente la calidad de vida. En otros pacientes cursa como un síndrome de Reye-like con hipoglucemia y acidosis metabólica. Algunos pueden presentar macrocefalia al nacimiento⁴⁴. A nivel neuroradiológico pueden presentar hipoplasia a nivel fronto-temporal, alteración de señal de la sustancia blanca y afectación bilateral de los estriados. La morbilidad y mortalidad es alta en los pacientes que han tenido crisis encefalopáticas.

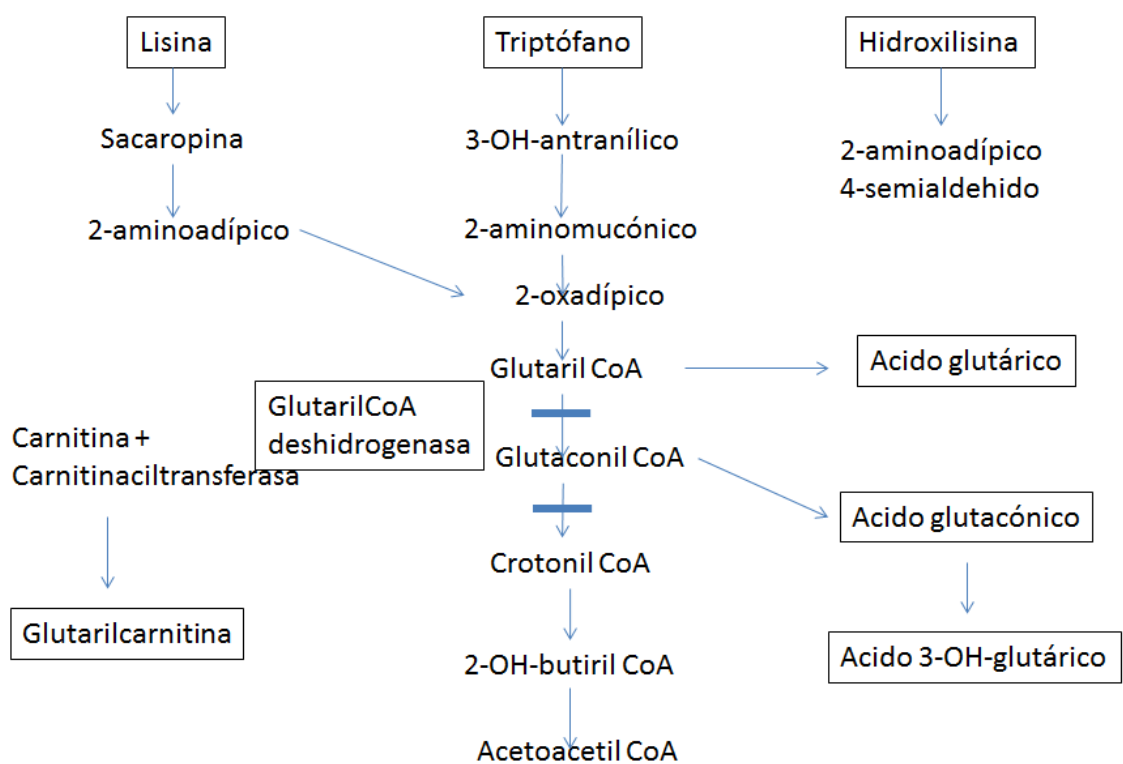


Figura 5: Vía del metabolismo de la lisina, triptófano e hidroxilisina

Detección y diagnóstico: Esta enfermedad se puede detectar en el cribado al objetivarse un aumento de la glutarilcarnitina (C5DC)^{46,47}. El diagnóstico bioquímico se realiza mediante la cuantificación de los ácidos orgánicos en orina, siendo característico el aumento de los ácido glutárico, glutacónico y 3-OH-glutárico⁴⁸. Se clasifican en dos grupos en función de los niveles de ácido glutárico en orina. Se consideran altos excretores aquellos que tienen niveles de ácido glutárico >100 mmol/mol creatinina (creat) y bajos excretores los que tienen <100 mmol/mol creat⁴⁹. La determinación de 3-OH-glutárico es más específica ya que los bajos excretores pueden tener niveles normales de ácido glutárico en orina. Las acilcarnitinas en plasma y en orina se deben cuantificar mediante MS/MS. La determinación de glutarilcarnitina en orina es específica para los bajos excretores. El estudio de la actividad enzimática de la glutaril-CoA deshidrogenasa en fibroblastos o el análisis molecular del gen *GCDH* permiten confirmar el diagnóstico⁵⁰.

Tratamiento: consiste en una dieta especial con restricción proteica (baja en lisina) y una fórmula libre de los aminoácidos precursores. Además se añade el tratamiento farmacológico con carnitina y riboflavina. Es muy importante el uso de protocolos de emergencia ante situaciones de riesgo de descompensación metabólica con el fin de evitar su aparición^{49,51}.

El tratamiento precoz disminuye la mortalidad y morbilidad. El diagnóstico precoz permite una reducción de la frecuencia de crisis encefalopáticas y sus secuelas además de la posibilidad de realizar consejo genético y prevenir nuevos casos en la familia^{52,53,54}.

4.4.1.2.2. Acidemia isovalérica (IVA)

Definición: La acidemia isovalérica (OMIM 243500) es una enfermedad causada por el déficit de isovaleril-CoA deshidrogenasa, produciendo una alteración en el catabolismo de la Leucina (figura 6). El gen responsable es el *IVD*, se encuentra en el locus 15q.15.1. La enfermedad se hereda de forma autosómica recesiva.

Clínica: Se trata de una enfermedad grave que se puede manifestar de dos formas. Una forma neonatal grave y otra forma crónica intermitente. Las formas neonatales cursan con síntomas tipo intoxicación (vómitos, rechazo de la alimentación, deshidratación, hiperamonemia e hipocalcemia, cetoacidosis, letargia e incluso coma). El resto presentan un cuadro menos grave, con retraso en el desarrollo, retraso mental con o sin episodios intermitentes de acidosis. También se han descrito casos asintomáticos^{55,56}.

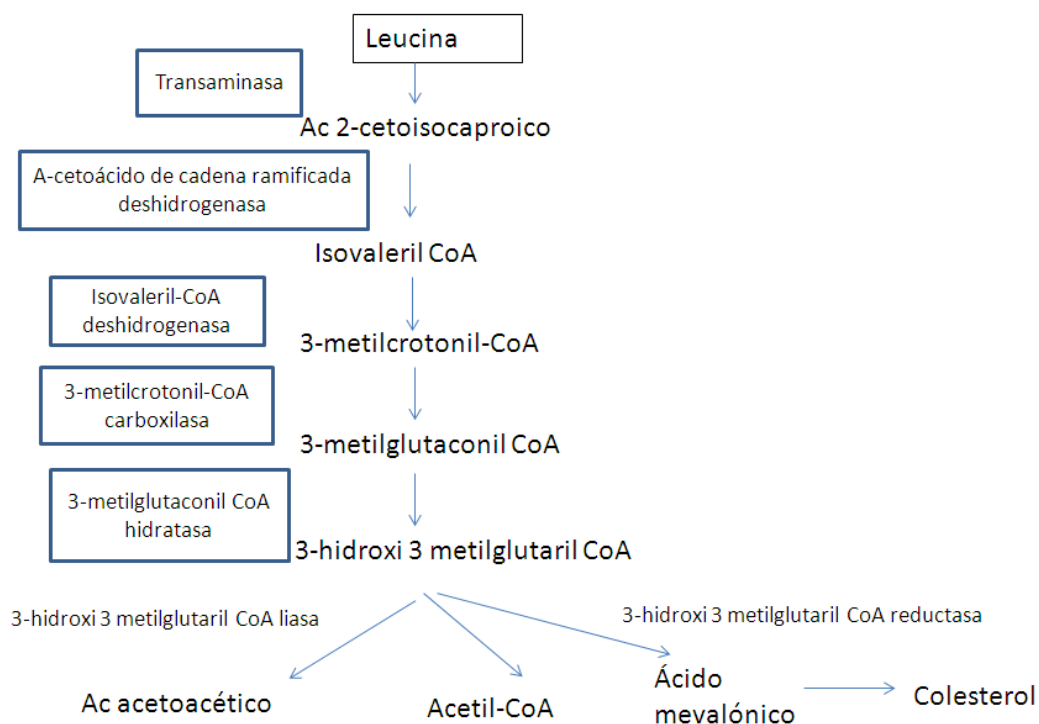


Figura 6: Vía del metabolismo de la leucina.

Detección y diagnóstico: Se puede detectar en el cribado si presentan elevación de la isovalerilcarnitina (C5)⁵⁶. El diagnóstico bioquímico se realiza mediante cuantificación de los ácidos orgánicos en orina. Pueden presentar aumento de la isovaleril glicina y ácido 3-OH-isovalérico y de otros metabolitos asociados a la acumulación de isovaleril-CoA (ácidos 4-OH-isovalérico, metilsuccínico, metilfumárico e isovalerilglucurónido). El ácido isovalérico ocasiona un olor a “pies sudados”. El análisis de las acilcarnitinas muestra aumento de C5 (isovalerilcarnitina). Hay que tener en cuenta que la administración de ácido pivalico produce un aumento en la señal a la misma relación m/z que la C5 lo que puede dar lugar a un resultado falso positivo⁵⁷. El estudio de confirmación se puede realizar mediante el estudio de la actividad enzimática de la isovaleril-CoA deshidrogenasa o mediante el análisis molecular del gen *IVD*. La mutación 932A>C es más prevalente en los casos detectados mediante cribado neonatal.

Tratamiento: Debe administrarse una dieta restringida en leucina. También se añade carnitina y glicina. Es muy importante el tratamiento de emergencia en aquellas situaciones con riesgo de descompensación metabólica. El diagnóstico y tratamiento mejora la morbi-mortalidad⁵⁸.

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

Definición: Es una enfermedad genética (OMIM 246450) que produce una alteración en el catabolismo de la leucina (figura 6) Es debida al déficit de la enzima 3-hidroxi 3-metil glutaril-CoA liasa cuyo gen *HMGCL*, se encuentra en el locus 1p36.11. Se hereda de forma autosómica recesiva⁵⁹.

Clínica: La presentación de los síntomas es neonatal en un 30% de los casos y se caracteriza por episodios de descompensación metabólica con vómitos, letargia e hipotonía, que pueden evolucionar al coma. Los pacientes pueden presentar hipoglucemia hipocetósica grave, acidosis, hiperamoniemia, epilepsia y una mortalidad en torno al 20%⁶⁰.

Detección y diagnóstico: Se detecta en el cribado al encontrarse aumentada la 3-OH-isovalerilcarnitina (C5OH). El análisis de los ácidos orgánicos en orina muestra aumento de los ácidos 3-OH 3-metilglutárico, 3-OH-isovalérico, 3-metilglutacónico, 3-metilglutárico y 3-metilcrotonilglicina. En el análisis de acilcarnitinas se objetiva C5OH y 3-metilglutarilcarnitina (C6DC). El estudio de confirmación se realiza mediante análisis enzimático y/o el análisis molecular del gen⁶¹.

Tratamiento: Se basa en en una dieta hipoproteica e hipograsa y evitar el ayuno. Además se suplementa con carnitina. Es preciso el uso de protocolos de emergencia en situaciones de estrés catabólico. En cetoacidosis precisan sueroterapia con aportes de glucosa y bicarbonato. El diagnóstico y tratamiento precoz previene la mortalidad mejorando el pronóstico de la enfermedad⁵⁸.

4.4.1.2.4. Déficit de β -cetotilasa (KTD)

Definición: El déficit de β -cetotilasa o acetoacetil-CoA tiolasa mitocondrial (OMIM 203750), es un trastorno del catabolismo de la isoleucina. El gen implicado *ACAT1* se encuentra en el locus 11q22.3 y su herencia se transmite de forma autosómica recesiva⁶².

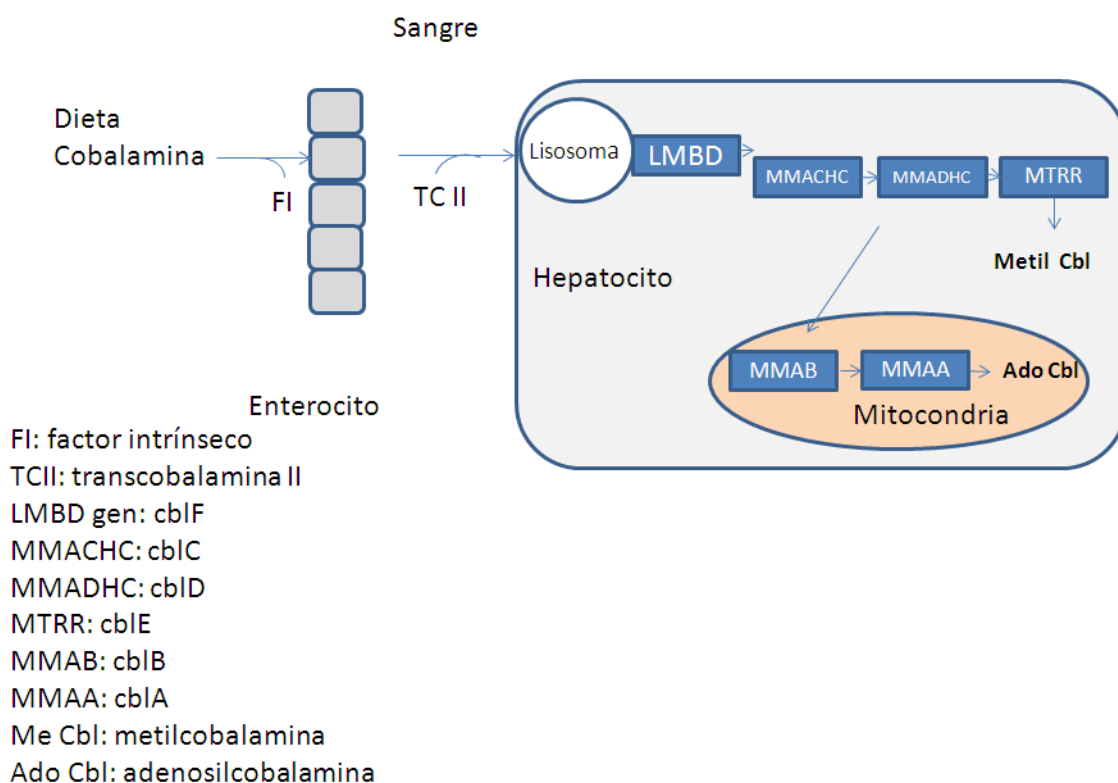
Clínica: es variable. Existen formas graves, con encefalopatía tras un episodio de descompensación y formas leves con un desarrollo normal⁶³.

Detección y diagnóstico: Se detecta en el cribado al encontrarse aumentada tigililcarnitina (C5:1). El análisis de los ácidos orgánicos muestra un aumento de los ácidos 2-metil-3-OH-butírico, 2-metilacetoacético, 3-OHbutírico y 6-metiluracilo, butanonona y tigililglicina. Las acilcarnitinas C5OH y C5:1 están aumentadas. El estudio de confirmación se realiza mediante análisis de la actividad enzimática en fibroblastos y/o el análisis molecular del gen⁶⁴.

Tratamiento: El tratamiento nutricional consiste en evitar episodios de ayuno, así como las dietas cetogénicas e hiperproteicas⁶⁵. En situaciones de descompensación se administrará perfusión intravenosa de suero glucosado. El diagnóstico precoz y el tratamiento previenen la mortalidad mejorando el pronóstico de la enfermedad.

4.4.1.2.5. Acidemias metilmalónicas (MMA)

Existen diferentes tipos de acidemias metilmalónicas (Mut, CblA y CblB, CblC y CblD y CblF) (tabla 6, figuras 7 y 8). A continuación se detallan las cinco primeras, que se detectan en el cribado ampliado.



Adaptado de Zschocke J, Hoffmann GF. *Vademecum metabolicum. Diagnosis and Treatment of Inborn Errors of Metabolism*. 2011. Milupa Metabolics GmbH & Co. 3rd edition

Figura 7: Vía del metabolismo de la cobalamina: La vitamina B12 de la dieta (Cobalamina) se une al Factor intrínseco en el estómago, se absorbe en el íleon para ser transportada en sangre unida a la transcobalamina II (TCII). Posteriormente es captada por la célula a través de endocitosis. Se libera de la TCII en los lisosomas, luego se transporta al citosol y se convierte en Metilcobalamina (MeCbl), cofactor de la Metionina sintasa o en Adenosilcobalamina mitocondrial (AdoCbl), cofactor de la Metilmalonil-Co A mutasa.

4.4.1.2.5.1. Acidemia metilmalónica (MUT)

Definición: La acidemia metilmalónica (MUT) está causada por un déficit de metilmalonil-CoA mutasa (OMIM 251000) (figura 8). Se hereda de forma autosómica recesiva. Se diferencia en dos tipos Mut0 y Mut- en función de la actividad enzimática de la enzima.

Clínica: La mayoría de los Mut0 con falta completa de la función enzimática debutan en el periodo neonatal mientras que los Mut- lo hacen después del primer mes⁶⁶.

Detección y diagnóstico: Se puede detectar en el cribado neonatal al presentar aumento de propionilcarnitina (C3)⁶⁷. El análisis bioquímico muestra un aumento de glicina en plasma, y de los ácidos orgánicos (ácidos metilmalónico, metilcitrónico, 3-OH-

propiónico y tiglicina) en orina. En el análisis de las acilcarnitinas hay un aumento de C3 y de los ácidos grasos de cadena impar. El diagnóstico se confirma midiendo la actividad enzimática en fibroblastos y/o mediante el análisis molecular⁶⁸.

Tratamiento: deben realizar una dieta con restricción proteica suplementada con fórmulas especiales libres exentas en metionina, treonina, valina e isoleucina y en la administración de L-carnitina⁶⁶. Es muy importante evitar las situaciones de descompensación utilizando protocolos de emergencia de la enfermedad.

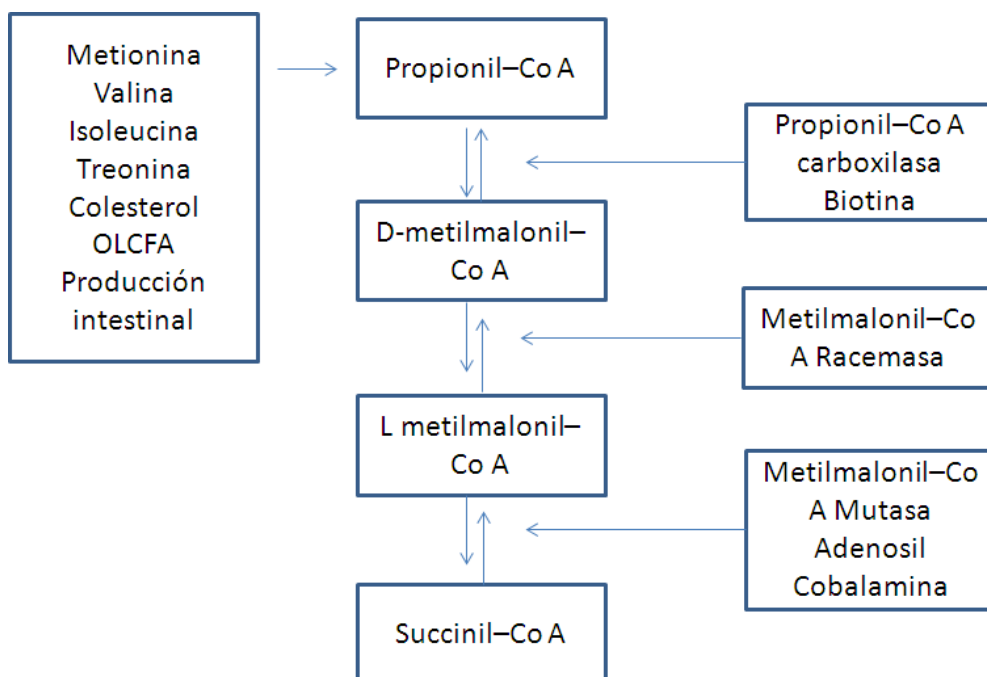


Figura 8: vía metabólica del ácido propiónico.

4.4.1.2.5.2. Acidemias metilmalónicas CbIA y CbIB

Definición: La acidemia metilmalónica (CbIA: OMIM 251100 y CbIB: OMIM 251110) es un trastorno del metabolismo de los ácidos orgánicos causada por un déficit de adenosilcobalamina (figura 7). Las alteraciones en el gen *MMAA* y *MMAB* producen los dos tipos de enfermedad respectivamente⁶⁶.

Clínica: retraso en el desarrollo, hipotonía y en los episodios agudos alta mortalidad. Pueden presentar episodios de cetoacidosis en las primeras semanas de vida aunque también se han descrito formas de inicio tardío.

Detección y diagnóstico: Se detecta en el cribado tras objetivarse elevación de propionil-carnitina (C3) y ratios C3/C2, C3/Met y C3/C16⁶⁷. El diagnóstico bioquímico se realiza mediante la cuantificación de los ácidos orgánicos en orina (ácidos metilmalónico, metilcítrico, 3-OH-propiónico y tiglicina). El análisis de aminoácidos

objetiva un aumento de glicina en plasma y el análisis de acilcarnitinas un aumento de C3, C3/C2, C3/C16 y C4DC. La enfermedad se confirma mediante estudios de incorporación de ¹⁴C-Propionato y su respuesta a hidroxicoalamina y análisis de complementación genética en fibroblastos y/o mediante el estudio molecular del gen^{2,69}.

Tratamiento: dieta especial con restricción proteica y la suplementación con hidroxicoalamina y L-carnitina. El tratamiento precoz reduce la morbi-mortalidad de la enfermedad.

Tabla 6: Tipos de acidemia metilmalónica.

| Grupo de complementación Genética | Gen | AMM orina | Hcy orina | Actividad MMCoA Mutasa | Respuesta bioquímica a OH-Cbl im |
|-----------------------------------|--------|-----------|-----------|------------------------|----------------------------------|
| Mut 0 | MUT | + | - | Deficiente | No |
| Mut - | MUT | + | - | +/- | No |
| C1b A | MMAA | + | - | N | Si |
| C1b B | MMAB | + | - | N | Si |
| C1b C | MMACHC | + | + | N | Si |
| C1b D | MMADHC | + | + | N | Si |

N: normal.

Adaptado de: De las Heras J, Andrade F, Llarena M, Aldámiz-Echevarría L. Acidemias metilmalónica (AMM) y propiónica (AP). En: Sanjurjo P, Baldellou A eds. Diagnóstico y tratamiento de enfermedades metabólicas hereditarias. 4ª ed. Madrid: Ergon. 2014. p.543-554

4.4.1.2.5.3. Acidemia metilmalónica Cb1C y Cb1D

Definición: La acidemia metilmalónica (tipos Cb1C y Cb1D; OMIM 277440, 277410) está causada por un déficit en la síntesis de adenosil y metilcobalamina (figura 7). Se produce cuando hay alteración en el gen *MMACHC* y *MMADHC*. Se hereda de forma autosómica recesiva⁶⁶.

Clínica: En la mayoría de los casos los síntomas empiezan en el primer año de vida, incluido en la primera semana de vida (forma grave, multisistémica y progresiva) con dificultades para la alimentación, para el crecimiento, alteraciones hematológicas, hipotonía, hidrocefalia, deterioro neurológico o síndrome hemolítico-urémico. Las formas de inicio tardío cursan con síntomas de regresión neurológica, síntomas neuropsiquiátricos, encefalopatía progresiva, alteraciones hematológicas, complicaciones trombóticas, problemas de aprendizaje, hematuria, proteinuria^{70,71}.

Detección y diagnóstico: Se puede detectar en el cribado neonatal por las mismas alteraciones en la C3 que el grupo anterior⁶². Por tanto hay que hacer el diagnóstico diferencial entre los diferentes tipos. Esta enfermedad cursa con aumento de glicina y

homocistina en plasma y orina y de homocisteína en plasma. Es necesario cuantificar los ácidos orgánicos y acilcarnitinas como en el grupo anterior⁶⁹.

Tratamiento: hidroxibalaminina, ácido fólico, L-carnitina y betaína⁷⁰.

4.4.1.2.6. Acidemia propiónica (PA)

Definición: La acidemia propiónica (OMIM 232000, 232050) es una enfermedad causada por el déficit de la enzima propionil-CoA carboxilasa (PCC) que produce una alteración en el catabolismo de la isoleucina y la valina (figura 8). Las mutaciones que causan esta enfermedad se localizan en el gen *PCCA* y *PCCB* que se encuentra en el locus 13q32.3 y 3q22.3 respectivamente. Se hereda de forma recesiva.

Clínica: 1) Forma neonatal: se produce durante la primera semana de vida y cursa con encefalopatía severa de tipo "intoxicación" acompañado de intolerancia digestiva, deshidratación, crisis convulsivas con afectación neurológica rápidamente progresiva, apneas y coma. 2) Forma de comienzo crónica intermitente: cursa con episodios amenazadores para la vida con cetoacidosis e hiperamoniemia, síntomas neurológicos y/o digestivos. También pueden producir ataxia, letargia, coma, edema cerebral, síndrome de Reye-like o convulsiones. 3) Forma crónica progresiva: cursa con síntomas relacionados con la alimentación, vómitos cíclicos, anorexia, fallo en el crecimiento, encefalopatía con síntomas extrapiramidales, infecciones de repetición (sobre todo candidiasis crónica mucocutánea). Otras alteraciones que pueden ocurrir son: neutropenia, anemia, trombopenia, anomalías inmunológicas, pancreatitis, miocardiopatía, osteoporosis, desnutrición y alteraciones en la piel como síndrome de piel escaldada, descamación o alopecia^{72,73}.

Detección y diagnóstico: Puede detectarse mediante el cribado neonatal al presentar aumento de la propionilcarnitina (C3) y del ratio C3/C2, C3/met y C16OH^{74,75}. El diagnóstico bioquímico muestra un aumento de glicina en plasma y orina y de los ácidos orgánicos (propionilglicina, tigilglicina, ácidos 3-OH-propiónico, 3-OH-isovalérico y metilcátrico). El estudio de acilcarnitinas presenta un aumento de C3 así como de los ácidos grasos de cadena impar. La enfermedad se confirma mediante el estudio enzimático en linfocitos o fibroblastos y/o el análisis molecular⁷⁴.

Tratamiento: Dieta con restricción proteica suplementada con fórmulas especiales libres de los aminoácidos metionina, treonina, valina e isoleucina además del tratamiento con L-carnitina. Es muy importante evitar las situaciones de descompensación mediante el uso de protocolos de emergencia^{74,76}.

4.4.1.3. ECM de los ácidos grasos

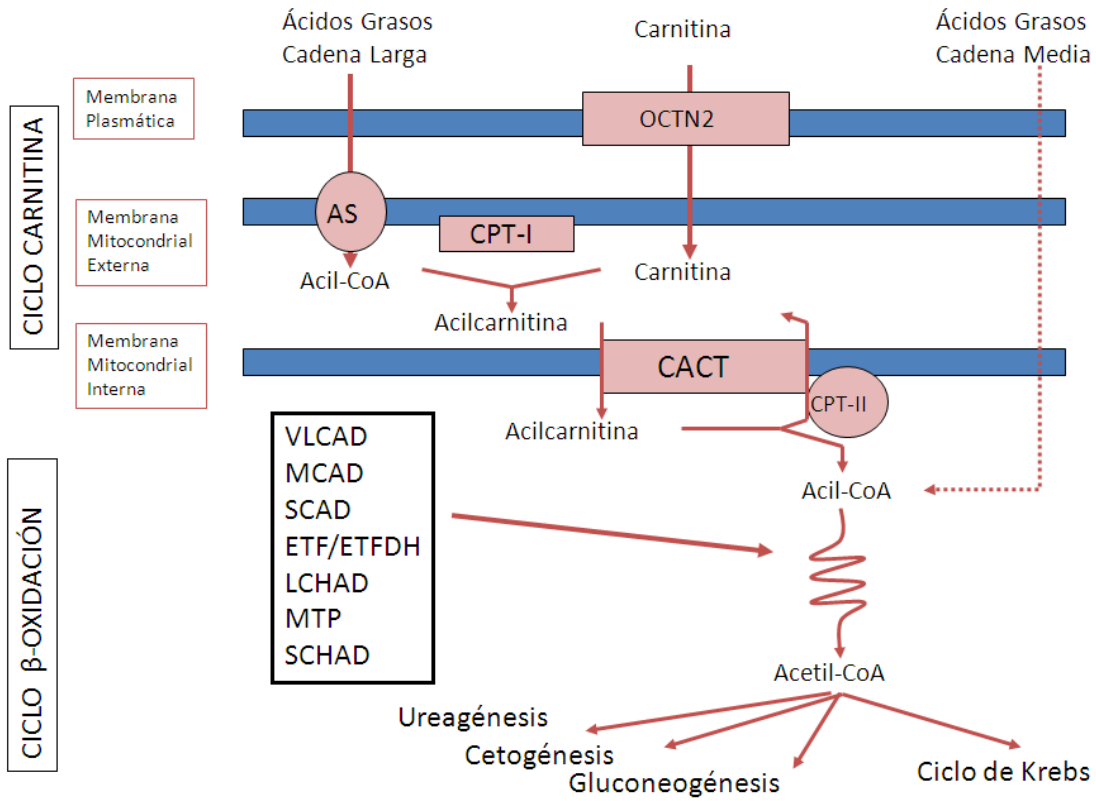


Figura 9: vía del metabolismo la β -oxidación de los ácidos grasos y del ciclo de la carnitina.

4.4.1.3.1. Déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCADD)

Definición: El déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCADD; OMIM 201450), es una alteración de la β -oxidación mitocondrial de los ácidos grasos (Figura 9) cuyo gen *ACADM*, se encuentra en el locus 1p31.1. Se hereda de forma autosómica recesiva.

Clínica: La enfermedad se puede detectar en el cribado neonatal ampliado. La mayoría del tiempo los pacientes permanecen asintomáticos, pero están en riesgo de presentar hipoglucemias, coma y episodios amenazadores para la vida en situaciones de ayuno o durante infecciones intercurrentes, donde la demanda energética es mayor y la ingesta calórica se reduce⁷⁷. Los primeros signos de descompensación suelen ser sutiles: decaimiento, letargia o hipotonía. Posteriormente puede presentar hipoglucemia, acidosis metabólica, o cursar como síndrome Reye-like⁷⁸.

Detección y diagnóstico: El análisis bioquímico muestra un aumento de las acilcarnitinas de cadena media (C6 hexanoilcarnitina, C8 octanoilcarnitina, C10

decanoilcarnitina y C10:1 decenoilcarnitina y del ratio C8/C10). La carnitina libre (C0) puede estar disminuida. En ocasiones las acilcarnitinas son normales. Los ácidos orgánicos pueden mostrar un aumento de ácidos dicarboxílicos de cadena media así como conjugados de glicina (suberilglicina y hexanoilglicina)^{79,80}. El diagnóstico genético confirma la enfermedad. La mutación 985A>G en el gen *ACADM* es la más frecuente en la población⁸¹.

Tratamiento: Evitar el ayuno, realizar una dieta normal o hipograsa, evitando aceites de cadena media como el de palma, coco y los triglicéridos de cadena media (MCT). Es muy importante evitar los episodios de descompensación de la enfermedad mediante el uso de regímenes de emergencia en situaciones especiales. El cribado neonatal permite un diagnóstico y tratamiento precoz mejorando el pronóstico de los pacientes⁸².

4.4.1.3.2. Déficit del transportador de carnitina (CUD)

Definición: El déficit del transportador de carnitina (CUD) también es conocida como déficit sistémica o primaria de carnitina (OMIM 212140) cuyo gen *SLC22A5* se encuentra en el locus 5q31.1. Se hereda de forma autosómica recesiva. El déficit del transportador de carnitina *OCTN2* resulta en una pérdida de carnitina por orina, bajos niveles en suero y un descenso en la concentración de carnitina intracelular (figura 9). La carnitina es necesaria para el transporte de los ácidos grasos de cadena larga del citoplasma al interior de la mitocondria para la β -oxidación⁸³.

Clínica: Varía en función de la edad de inicio, afectación de órganos y gravedad de síntomas. A veces se manifiesta en el periodo neonatal con síntomas de hipoglucemia hipocetótica, hiperamonemia e incluso muerte súbita. En otros casos puede originar una cardiomiopatía y signos de debilidad muscular^{83,84,85}. Puede ser fatal si no se trata. Se han descrito casos en la segunda y tercera década en pacientes que suspendieron el tratamiento con carnitina, sugiriendo que el tratamiento es esencial⁸⁶. También se ha descrito pacientes adultos asintomáticos⁸⁷.

Detección y diagnóstico: Se puede detectar en el cribado neonatal. Los casos afectos presentan niveles de carnitina libre muy bajos. El resto de acilcarnitinas son normales, lo que permite realizar el diagnóstico diferencial con otros ECM de los ácidos grasos. El diagnóstico genético confirma la enfermedad^{88,89,90,91}.

Tratamiento: Suplementar con L-Carnitina 100-400 mg/kg/día, ajustando la dosis en función de los niveles en plasma. El pronóstico es bueno en los pacientes tratados⁸³.

4.4.1.3.3. Déficit de L-3-hidoxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga (LCHADD)

Definición: El déficit de L-3-hidoxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga (LCHADD) es un trastorno de la oxidación de los ácidos grasos de cadena larga (OMIM 609016) cuyo gen *HADHA* se encuentra en el locus 2p23.3. Se hereda de forma autosómica recesiva (figura 9).

Clínica: Cuando se detectan en el cribado neonatal ampliado los recién nacidos pueden estar asintomáticos. También puede cursar con síntomas precoces como hipoglucemia hipocetótica, hepatopatía (síndrome Reye-like), miocardiopatía, miopatía o incluso muerte súbita^{92,93,94}. El síndrome de HELLP (hemólisis, elevación de enzimas hepáticas y descenso de plaquetas) es otra forma de manifestación en madres embarazadas⁹⁵.

Detección y diagnóstico: Se puede detectar mediante el cribado neonatal al presentar aumento de las acilcarnitinas C16OH (3-OH-palmitoilcarnitina), C16:1-OH (3-OH palmitoleilcarnitina), C18:1-OH (3-OH-oleoilcarnitina), C18-OH (3-OH-estearoilcarnitina). Se confirma mediante el estudio enzimático y/o el estudio genético del gen *HADHA*⁹⁶.

Tratamiento: Se basa en una dieta especial con restricción de ácidos grasos de cadena larga (LCT) y con suplementos de ácidos grasos de cadena media (MCT) siendo muy importante evitar el ayuno. Es imprescindible el uso de régimen de emergencia para evitar situaciones de descompensación^{97,98}.

4.4.1.3.4. Déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCADD)

Definición: El déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCADD) es otro trastorno de la oxidación de los ácidos grasos de cadena larga (OMIM 201475) cuyo gen *ACADVL* se encuentra en el locus 17p13.1. Se hereda de forma autosómica recesiva (figura 9).

Clínica: Los casos detectados mediante cribado neonatal suelen estar asintomáticos. En la infancia pueden cursar con hipoglucemia hipocetótica, cardiomiopatía, derrame pericárdico, miopatía, episodios de rhabdomiolisis y mortalidad elevada en la infancia. En la adolescencia y en los adultos puede producir síntomas musculares como fatiga y rhabdomiolisis^{99,100}.

Detección y diagnóstico: Se puede detectar en el cribado al presentar aumento de las acilcarnitinas C14:1 (miristoleilcarnitina), C14 (miristoilcarnitina), C14:2 (miristodienoilcarnitina) y del cociente C14:1/C16. La determinación de la actividad enzimática y/o el estudio molecular del gen *ACDVL* confirma la enfermedad¹⁰¹.

Tratamiento: Es similar al de otros defectos de la oxidación de los ácidos grasos de cadena larga como el LCHADD⁹⁸. Es muy importante el uso de regímenes de emergencia con el fin de evitar episodios de descompensación y por tanto prevenir la mortalidad.

4.5. Metodología e interpretación de las alteraciones en el metabolismo de aminoácidos y acilcarnitinas detectadas por MS/MS en el cribado y su orientación diagnóstica

4.5.1. Metodología de la prueba

La toma de muestra del talón del recién nacido debe ser adecuada. Se recomienda una extracción única de sangre sobre papel absorbente (*tipo Whatman&903*) a las 48 horas de vida realizado por personal sanitario para evitar muestras de baja calidad. La sangre se obtiene de la porción medial o lateral de la superficie plantar del talón en recién nacidos. Debe evitarse el área central del pie por la posibilidad de dañar nervios, tendones o el cartílago. Se masajeará el pie para aumentar el flujo de sangre en una zona previamente desinfectada con alcohol de 70° y se realizará una incisión (no punción) con una lanceta estéril. Se desechan las primeras gotas por contener resto celulares, posteriormente se dejan caer las gotas sobre el papel, presionando suavemente el pie. La sangre debe impregnar bien el papel para poder realizar bien la técnica. Se consideran óptimas las muestras con 75 µl (13 mm diámetro aproximadamente)¹⁰². La calidad de la muestra influirá en los resultados analíticos. Es importante no frotar el talón para evitar la hemólisis, no tocar el papel absorbente durante la toma, no sobresaturar el papel absorbente, etc.

En algunas situaciones se recomienda la repetición de la muestra, por ejemplo en niños de bajo peso, de menos de 2.000 g o con sospecha de patología al nacimiento. También en casos de nutrición parenteral o en presencia de otra enfermedad que cuestione la validez de la prueba³¹.

La metodología básica para el cribado de enfermedades metabólicas en un neonato por espectrometría de masas fue desarrollada por Millington y cols, Chace y cols y por Rashed y cols. El método está basado en la determinación de la concentración de aminoácidos y acilcarnitinas. Con esta técnica se pueden detectar más de 30 ECM².

El espectrómetro de masas en tándem que se utiliza en los programas de cribado neonatal consta de dos cuadrupolos (Q1 y Q3) conectados en serie y separados entre sí por una celda de colisión. La muestra se dirige a la fuente de ionización mediante un sistema de cromatografía líquida consistente en un automuestreador, una microbomba y un desgasificador de vacío. Los analitos se ionizan mediante la formación de un electrospray (ESI) resultando ser el método de elección para la detección de ECM de los aminoácidos, ácidos orgánicos y ácidos grasos en los laboratorios de cribado neonatal, porque el proceso de ionización que da lugar a la fragmentación de las moléculas originales, así como la inyección puede ser automatizada¹⁷.

El método de trabajo más habitual en cribado neonatal es mediante Monitorización de Reacciones Múltiples (MRM), ya que proporciona más sensibilidad y selectividad en la cuantificación. Con esta modalidad se pueden detectar de forma específica cada uno de los compuestos que nos interesan eligiendo correctamente el ión en cada uno de los cuadrupolos Q1 y en Q3.

La preparación de la muestra para la extracción de aminoácidos y acilcarnitinas constituye un punto crítico del análisis en MS/MS. Las muestras se incuban con la solución de trabajo que contiene metanol y los estándares internos deuterados. Estas

muestras se pueden analizar directamente (sin derivatización) o convertirlos en sus ésteres butílicos antes de realizar el análisis (derivatización). La derivatización permite aumentar la fuerza de la señal de algunos compuestos. Sin embargo, puede disminuir la exactitud de medida para algunas acilcarnitinas y constituye un proceso muy largo y laborioso. El procedimiento analítico sin derivatización es el método utilizado en el laboratorio de cribado neonatal de la CAM.

Las muestras, una vez realizada la preparación analítica (taladro de la muestra a microplaca, preparación solución de trabajo, incubación y transferencia), se introduce en el inyector automático del MS/MS para su inyección en el MS/MS donde son ionizadas y escaneadas. La MS/MS es una técnica de identificación y cuantificación de analitos basado en su masa y carga molecular. Las señales producidas correspondientes al rango de masas/carga que se haya seleccionado, son detectadas y cuantificadas siempre en relación al estándar interno deuterado. Posteriormente los datos son analizados mediante un software específico. Cada laboratorio debe establecer sus marcadores primarios y secundarios, así como los cocientes entre las acilcarnitinas. Además durante el estudio piloto obtendrá los percentiles que vaya a utilizar como punto de corte para todos los marcadores necesarios^{17,103}.

Los laboratorios de cribado están sometidos a programas de evaluación externa de calidad. Un programa de cribado es considerado de mayor calidad cuando su sensibilidad y especificidad son cercanas al 100%, para lo cual debe presentar pocos falsos positivos y sobre todo muy pocos falsos negativos². El porcentaje de falsos positivos debería ser inferior al 0,3% y el VPP ser superior al 20%¹⁰⁴.

Los laboratorios de cribado participan en Proyectos Colaborativos Internacionales como el llamado Región 4 Genetics Collaborative Project que persigue mejorar la calidad del laboratorio en el diagnóstico del cribado neonatal ampliado por MS/MS^{10,11}. Recogen todos los datos de cribado y en él participan EEUU y otros 45 países, entre ellos España.

Antes de realizar los análisis efectuados se debe obtener como hemos comentado previamente una muestra de buena calidad para evitar resultados alterados. Existen varios factores que pueden causar resultados anormales^{2,17,31}:

- Problemas con la muestra obtenida: sangre impregnada de forma no uniforme en el papel de filtro, muestras obtenidas de forma incorrecta, no secadas correctamente, deterioro de las muestras debido al calor o la humedad, contaminación de la muestra con material fecal.
- Otros factores que pueden alterar los resultados son: prematuridad, edad del niño, hematocrito.
- A mayor edad son menores los niveles de acilcarnitinas, especialmente las de cadena larga y mayor es el valor de carnitina libre.
- Respecto a la determinación de las masas, puede existir interferencias si comparten el mismo valor masa/carga. Por ejemplo: glutamato con la C2, hidroxiprolina con leucina, el sulfóxido de metionina con la metionina, sulfato de metionina con la tirosina, asparragina con la ornitina.

- Factores que contribuyen a resultados falsos positivos: prematuridad, bajo peso al nacer, uso de nutrición parenteral, modificaciones de la dieta (como el uso de aceites MCT) y el uso de algunas medicaciones.

4.5.2. Interpretación de las alteraciones encontradas

4.5.2.1. Alteraciones en los aminoácidos detectados por MS/MS

^{2,17,105,106} (tabla 7):

- Fenilalanina: el aumento de este aminoácido así como del ratio fenilamina/tirosina permite detectar las hiperfenilalaninemias. Será preciso realizar el diagnóstico diferencial de las hiperfenilalaninemias por déficit de fenilalanina hidroxilasa y de los defectos en la síntesis o reutilización de la BH4.
- Leucina/isoleucina: el aumento permite detectar el MSUD. La leucina/isoleucina, aloisoleucina e hidroxiprolina tiene la misma relación masa/carga por lo que no se pueden diferenciar. Al determinar la leucina se obtiene la suma de los metabolitos por lo que puede resultar un falso positivo si existe hidroxiprolinemia. También se han descrito falsos negativos en las formas MSUD intermitente dado que pueden presentar periodos asintomáticos con niveles normales de aminoácidos ramificados en sangre.
- Tirosina: El aumento de tirosina puede ser secundario a enfermedades hereditarias o adquiridas. La causa más frecuente del aumento de tirosina es la “tirosinemia transitoria del recién nacido” y las hepatopatías. Entre las causas metabólicas están la tirosinemia tipo I, II y tipo III y otros como la galactosemia y la intolerancia hereditaria a la fructosa. La succinil acetona en sangre en papel es el marcador primario para la detección de la tirosinemia tipo I y evitar falsos positivos¹⁰⁷.

Tabla 7: Aminoacidopatías que pueden detectarse en el cribado de la Comunidad de Madrid según metabolito.

| Aminoácidos | Enfermedad |
|--------------|---|
| Fenilalanina | Fenilcetonuria (PKU) Biosíntesis / Regeneración de Biopterinas |
| SA, Tirosina | Tirosinemia I Tirosinemia II Tirosinemia III |
| Leucina | Enfermedad de Jarabe de arce (MSUD) Hydroxyprolinuria |

Otras alteraciones en otros aminoácidos detectados por MS/MS que conducen a la detección de otras enfermedades metabólicas no incluidas en el cribado de la Comunidad de Madrid, que se pueden considerar como beneficios añadidos al cribado (tabla 8):

- Metionina: Su aumento permite detectar los casos debidos a homocistinuria clásica por déficit de Cistationina β -sintasa (CBS) que cursan con hipermetioninemia así como los defectos de Metionina adenosil-transferasa (MAT) al realizar el diagnóstico diferencial. Sin embargo la toma temprana de la muestra o una ingesta insuficiente de proteína puede dar lugar a falsos negativos. Los niños que reciben nutrición parenteral pueden dar lugar a falsos positivos.
- Arginina: Estará disminuida en los defectos del ciclo de la urea, excepto en el déficit de argininasa en el que está aumentada. Los niveles pueden estar bajos de forma fisiológica en el neonato.
- Citrulina: está aumentada en los defectos del ciclo de la urea citoplasmáticos (citrulinemia tipo 1, aciduria argininosuccínica y argininemia) y disminuida en los defectos mitocondriales (déficit de N-acetilglutamato sintetasa, carbamilfosfato sintetasa-1 y ornitintrascarbamilasa). En los defectos de transporte estará aumentada en la citrulinemia tipo 2, ligeramente elevada en la intolerancia a proteínas con lisinuria y levemente disminuida en el síndrome de hiperamoniemia-hiperornitinemia-homocitrulinuria. También hay que tener en cuenta que los neonatos pueden presentar valores bajos de citrulina en plasma de forma fisiológica.

Tabla 8: Enfermedades no incluidas en el cribado de la Comunidad de Madrid, pero que pueden ser detectadas mediante alteraciones en los aminoácidos arginina, citrulina y metionina.

| Aminoácidos | Enfermedad |
|--------------------|---|
| Arginina | Argininemia |
| Citrulina | Aciduria Argininosuccinica Citrulinemia I Citrulinemia II Piruvato carboxilasa |
| Metionina | Homocistinuria Hipermetioninemia GNMT Adenosilhomocisteina hidrolasa |

4.5.2.2. Alteraciones en las acilcarnitinas detectadas por MS/MS:

Las alteraciones en las acilcarnitinas permite la detección de EMC de los ácidos orgánicos y de los ácidos grasos^{2,17,105,106}.

- Propionilcarnitina (C3): Los aumentos de C3 permiten detectar la acidemia propiónica (PA) y la acidemia metilmalónica (MMA). Se debe determinar los ratios C3/C2 y C3/C16. El ratio C3/C2 permite evitar falsos negativos de MMA y falsos positivos de PA. Se pueden objetivar leves aumentos de C3 en pacientes con ingesta de carnitina o en un proceso hemolítico. También se encuentra aumentados en los niños y madres con déficit de vitamina B12 y en niños con hiperbilirrubinemia. Las acidurias metilmalónicas tipo Cbl C y Cbl D pueden no ser detectadas. La determinación de los ácidos orgánicos en orina, acilcarnitinas y homocisteína permite hacer el diagnóstico diferencial. En algunos casos será preciso determinar los niveles de vitamina B12 y homocisteína a las madres (tabla 9).
- Isovalericarnitina (C5): El aumento de C5 permite detectar la acidemia isovalérica. El ácido pivalico, que está presente en algunos antibióticos (ampicilina, cefotaxima), es precursor de la pivaloilcarnitina, que a su vez es un isómero de la isovalericarnitina, por lo que niños en tratamiento con antibióticos puede dar casos de falsos positivos⁵⁷. También se ha descrito derivados del ácido pivalico en emolientes con “neopentanoate” utilizados en el tratamiento de las fisuras del pezón¹⁰⁸.

Tabla 9: Enfermedades que cursan con aumento de propionil- carnitina (C3)

| Enfermedad | Acilcarnitinas | Ácidos orgánicos | Homocisteína |
|---|----------------------|--|--------------|
| Acidemia propiónica | ↑ C3 | ↑ propiónico | Normal |
| Acidemia metilmalónica (déficit de Mut, CblA y CblB) | ↑ C3 | ↑ Acido metilmalónico | Normal |
| CblC, CblD, CblF o TC-II Déficit de vitamina B12 | ↑ C3 | ↑ Acido metilmalónico | ↑ |
| Déficit de SUCCINATE-CoA LIGASE SUCLA2 | ↑ C3 y C4DC | ↑ Acido metilmalónico | Normal |
| Déficit de B12 materna | C3 normal o ↑ | Ácidos orgánicos normales o leve ↑ (metilmalónico, metilcítrico) | Normal o ↑ |
| Falsos positivos (no confirmados) Otras causas: hiperbilirrubinemia | C3 normal | Ácidos orgánicos normales | Normal |

- Glutarilcarnitina (C5DC): es el marcador primario de elección de la aciduria glutárica tipo I. Si los niveles están aumentados se deben valorar los marcadores secundarios (ratios C5DC/C2 y C5DC/C16). También puede aumentar en los pacientes con déficit múltiple de acil-CoA deshidrogenasas (MADD), en la insuficiencia renal o si la madre padece una aciduria glutárica tipo I.
- 3-OH-isovalerilcarnitina (C5OH): el aumento de C5OH puede estar presente en diferentes patologías. El análisis de ácidos orgánicos y acilcarnitinas permite realizar el diagnóstico diferencial. En algunos casos será preciso realizar el estudio a las madres dado que se ha descrito casos de madres con déficit de 3-metilcrotonil CoA carboxilasa (metilcrotonilglicinuria) que pueden ser detectadas mediante el cribado neonatal (tabla 10).

Tabla 10: Enfermedades que cursan con aumento de 3-OH-isovaleril-carnitina (C5OH)

| Enfermedad | Acilcarnitinas | Ácidos orgánicos | Otros estudios |
|--|-----------------------|---|-----------------------------|
| Déficit de 3-metilcrotonil CoA carboxilasa | ↑C5OH y C5:1 | ↑ 3-metilcrotonilglicina ↑ 3-OH-isovalérico | Valorar estudio en la madre |
| Déficit de biotinidasa y déficit múltiple de carboxilasa | ↑C5OH y C3 | | Actividad biotinidasa |
| Déficit de β-cetotilasa | ↑C5OH y C5:1 | ↑ 2-metil-3-OH-butírico ↑ 2-metilacetoacético ↑ 3-OH-butírico ↑ 6-metiluracilo ↑ butanonona ↑ tigilglicina | |
| Déficit de 3-OH-3 metilglutaril CoA liasa | ↑C5OH, C6DC y C6OH-DC | ↑ 3-OH 3-metilglutárico ↑ 3-OH-isovalérico ↑ 3-metilglutacónico ↑ 3-metilglutárico ↑ 3-metilcrotonilglicina | |
| Déficit de 3-metilglutaconilCoA hidratasa | ↑C5OH | ↑ 3-metilglutacónico ↑ 3-OHisovalérico ↑ 3-metilglutárico | |
| Déficit de 2-metil-3OH-butirilCoA deshidrogenasa | ↑C5OH y C5:1 | ↑ 2-metil-3OHbutírico ↑ tigilglicina | |

En tabla 11 se muestran los ECM de los ácidos grasos, las alteraciones en las acilcarnitinas detectadas en el cribado (marcador primario y secundario), los ácidos orgánicos y las acilglicinas.

- Carnitina libre (C0): Permite detectar los déficits primarios de carnitina donde se encuentra disminuida. Además en esta enfermedad pueden presentar disminución de C2, C3, C16, C18 y oleilcarnitina (C18:1). El cociente C3/metionina también está bajo. En estos casos es importante estudiar a la madre dado que en ocasiones es debido a déficits de carnitina materna. La carnitina libre también puede estar disminuida en otros defectos de la oxidación de los ácidos grasos (CPT II), en la aciduria glutárica tipo 1 o en niños con desnutrición.
- Los niveles aumentados de C0 están presentes en pacientes con déficit de CPTI. Los niveles de C16, C18 y C18:1 suelen estar disminuidos. Es sugestivo de esta enfermedad el cociente $C0/C16+C18$ elevado y el cociente $C16+C18/C2$ bajo.
- La CPTII y la CACT presentan un perfil similar en el cribado: disminución de C0 y C2. La C16, C18 y C18:1 suelen estar aumentados y la C14 y C12 en algunos casos. El marcador más sensible es el cociente $C16+C18:1/C2$ que está aumentado. El perfil del CACT es igual pero sin aumento de C16.
- Butirilcarnitina (C4): su aumento permite detectar el déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena corta (SCAD).
- El aumento de hexanoilcarnitina (C6), octanoilcarnitina (C8), decanoilcarnitina (C10), decenoilcarnitina (C10:1) así como de la relación C8/C10 permite detectar los defectos de Acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCADD). La C8 también puede estar elevada en el caso de un déficit múltiple de deshidrogenasas (MADD) o por el uso de fármacos como el ácido valproico o de dietas con suplementos ricos en MCT (tabla 7). En el caso de MADD también están aumentados la C4 y C5 y otras acilcarnitinas de cadena media o incluso larga. Los niños con bajo peso al nacimiento y los pretérminos pueden presentar aumento de C8 en el cribado y resultar falsos positivos.
- El aumento de miristodienoilcarnitina (C14:2), miristoleilcarnitina (C14:1), miristoilcarnitina (C14) así como del cociente $C14:1/C16$ permite detectar VLCADD (Tabla 7). Es preciso tener en cuenta que las muestras de sangre sobre-impregnadas pueden dar un aumento de la C14 junto con otras acilcarnitinas, pudiendo dar un caso de falso positivo.

Tabla 11: Trastornos de la oxidación mitocondrial de los ácidos grasos. En la tabla se reflejan las acilcarnitinas alteradas, ácidos orgánicos y acilglicinas según ECM.

| ECM | Acilcarnitinas Marcador primario | Acilcarnitinas Marcador secundario | Ácidos orgánicos | Acilglicinas |
|---|-------------------------------------|---|---|-----------------------------------|
| CUD Déficit del transportador de carnitina | ↓↓C0 ↓ C2,C3, C16, C18, C18:1 | ↓ C3/Met ↓C0+C2+C3+C16+C18/Cit | Normal | Normal |
| CPT1* Carnitina palmitoil-transferasa 1 | ↑ C0 ↓ C16, C18, C18:1 | ↑ C0/C16+C18 ↓ C16+ C18:1/C2 | Normal | Normal |
| CACT* Carnitina acilcarnitina translocasa | ↓ C0,C2 ↑ C14,C16,C18,C18:1 | ↑ C16+C18:1/C2 ↓ C0/C16+C18 | Acidos dicarboxílicos | Normal |
| CPT2* Carnitina palmitoil-transferasa 2 | | | Acidos dicarboxílicos | Normal |
| SCADD* Acil-CoA deshidrogenasa de cadena corta | ↑C4 | | Ácidos etilmalónico 2-metilsuccínico | Normal |
| MCADD Acil-CoA deshidrogenasa de cadena media | ↑C6,C8,C10 ↓C0 | ↑C8/C10 ↑C8/C2 ↑C8/C16 | Acidos dicarboxílicos | Hexanoilglicina Suberilglicina |
| VLCADD Acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga | ↑C14,C14:1,C14:2, C16,C18:1 ↓C0 | ↑C14:1/C16 ↑C14:1/C2 ↑C14:1/C12:1 | Acidos dicarboxílicos | Normal |

| | | | | | |
|---------|--|---|---|---|--|
| SCHADD* | 3-OH-acil-CoA de hidrogenasa de cadena corta | C4OH | | Ácido 3-OH-glutámico | Normal |
| LCHADD | 3-OH-acil-CoA de hidrogenasa de cadena larga | ↑C16OH, C16:1OH, C18OH, C18:1OH, C18:2OH ↓C0 | ↑C14:1/C2 ↑C14:1/C16 ↑C16-OH/C16 ↑C18-OH/C18 | Ácidos 3-hidroxicarboxílicos de cadena larga | Normal |
| MTP | Proteína mitocondrial trifuncional | ↑C16, C16OH, C16:1OH, C18, C18OH, C18:1OH | ↑C14:1/C2 ↑C14:1/C16 ↑C16-OH/C16 ↑C18-OH/C18 | Ácidos 3-hidroxicarboxílicos de cadena larga | Normal |
| MADD* | Déficit múltiple de deshidrogenasas | ↑C4, C5, C8, C10, C16 ↓C0 | | Ácidos dicarboxílicos etimalonico 2-hidroxi-glutámico glutámico | Butirilglicina Isobutirilglicina Isovalerilglicina 2-metilbutirilglicina Tigilglicina Hexanoilglicina Suberilglicina |

*Enfermedades no incluidas en el cribado de la CAM

4.6. Beneficios del diagnóstico precoz de los ECM mediante el cribado neonatal ampliado

El cribado neonatal ampliado permite conocer la incidencia y prevalencia real de las enfermedades metabólicas incluidas en los programas de cribado. Dada la gran diversidad y baja frecuencia de cada uno de los ECM, su diagnóstico puede ser muy difícil, y siempre tras la sospecha clínica una vez que ha debutado el cuadro clínico de la enfermedad. No se conoce la incidencia y prevalencia real de los ECM, pero diferentes estudios poblacionales en algunos ECM detectados mediante el cribado neonatal ampliado utilizando la tecnología MS/MS muestran una incidencia mayor de la esperada cuando se compara con el número de casos diagnosticados tras presentar síntomas clínicos^{109,110}.

También hay que tener en cuenta que el cribado identifica un número de pacientes con formas leves, en los que se desconoce si presentarán síntomas a lo largo de su vida con fenotipos y genotipos distintos a los diagnosticados por síntomas⁹².

La mortalidad y morbilidad es aun alta si las enfermedades son diagnosticadas tras presentar síntomas clínicos. En un estudio realizado en 57 pacientes diagnosticados de acidemias orgánicas y defectos de la oxidación de los ácidos grasos el 63 % de estos casos presentaron síntomas en el primer año de vida y el 54% sufrieron una descompensación metabólica con 8 muertes. La mayoría de estas descompensaciones (93,5%) y muertes (87,5%) podrían haberse prevenido mediante su detección a través del cribado neonatal ampliado y el tratamiento precoz¹¹¹. Los casos que más se pueden beneficiar serán aquellos que no presenten síntomas antes de los resultados del cribado²⁹.

Diferentes trabajos han demostrado que el cribado es beneficioso al permitir un diagnóstico y tratamiento precoz^{28,29}. Se ha publicado que en algunas enfermedades como MSUD⁴¹, la AG1^{52,53,54,112,113} y otras acidurias orgánicas hay menor mortalidad en aquellos casos detectados por cribado^{58,75}. En los defectos de la beta oxidación de los ácidos grasos se ha demostrado una reducción de la mortalidad y de la morbilidad en los pacientes diagnosticados por cribado tanto en MCADD^{28,77,82,114,115,116} como en los defectos de la oxidación de los ácidos grasos de cadena larga^{92,99,117}.

Los estudios coste-beneficio en PKU y MCADD están bien documentados demostrándose beneficiosos a pesar del coste del capital inicial^{118,119,120,121,122}.

El cribado neonatal para ECM aporta dos hechos muy importantes. Por un lado, una mejora en la evolución de la enfermedad mediante la detección en fase presintomática o en la fase sintomática temprana que permite la prevención de discapacidades asociadas, evita el daño neurológico y disminuye la morbi-mortalidad. Por otro proporciona un consejo genético a la familia, que en el futuro podría modificar la incidencia de estas enfermedades. Además en ocasiones evita la realización de otras pruebas innecesarias, y en los casos de fallecimiento en niños hay una oportunidad en el diagnóstico¹²³.

Otros beneficios secundarios del cribado son el diagnóstico de enfermedades no incluidas en los programas de cribado tanto en el niño como en ocasiones en sus madres, como la deficiencia de vitamina B12^{124,125,126,127}, el déficit del transportador de carnitina⁸⁷ u otros ECM en las madres^{128,129}. Esto supone un beneficio al permitir el tratamiento adecuado.

Debido a que el cribado ampliado se instauró hacia finales de los años 90 la evaluación sistemática de la efectividad del tratamiento a largo plazo es aun escasa, por lo que tiene sus limitaciones^{21,26,28,29}.

5. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

5.1. Objetivo primario del estudio

El objetivo primario del estudio consiste en conocer la epidemiología y la evolución clínica de las enfermedades metabólicas detectadas mediante el nuevo cribado ampliado en la Comunidad de Madrid durante los primeros dos años desde su inicio.

5.2. Objetivos secundarios

Los objetivos secundarios son los siguientes:

- 5.2.1. Conocer los diagnósticos efectuados y el estudio molecular
- 5.2.2. Determinar la especificidad, tasa de falsos positivos y el valor predictivo positivo de la prueba
- 5.2.3. Tratamientos efectuados (farmacológico y nutricional). Comparación del inicio de tratamiento en el grupo de pacientes diagnosticados por cribado con el grupo histórico de pacientes que fueron diagnosticados en la Unidad tras presentar síntomas.
- 5.2.4. Episodios de descompensación metabólica
- 5.2.5. Síntomas y signos clínicos durante el seguimiento
- 5.2.6. Mortalidad durante el seguimiento
- 5.2.7. Valoración del neurodesarrollo
- 5.2.8. Otros beneficios adicionales del cribado como el diagnóstico de otras enfermedades no incluidas y de otros familiares afectados o portadores de la enfermedad.

6. PACIENTES Y MÉTODOS

Tipo de estudio: prospectivo, observacional, descriptivo

6.1. Población de estudio. Recién nacidos derivados al Hospital Universitario 12 de Octubre, tras detectar niveles fuera de rango en el cribado neonatal ampliado errores congénitos del metabolismo. Así mismo se ha comparado la edad de inicio de tratamiento con respecto al grupo de pacientes diagnosticados tras presentar síntomas en la Unidad (1990-2011).

6.2. Marco del estudio. Unidad de enfermedades metabólicas, del Hospital Universitario Doce de Octubre, que es un hospital terciario y docente. La Unidad de enfermedades Metabólicas Hereditarias es una unidad de referencia de la Comunidad de Madrid y CSUR (Centros, Servicios y Unidades de Referencia del Sistema Nacional de Salud) para toda España. Se ha obtenido consentimiento informado de los padres. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético del Hospital Universitario Doce de Octubre.

6.3. Tiempo del estudio. Desde abril del año 2011 hasta mayo de 2013.

6.4. Valoración de los pacientes y análisis efectuados

El laboratorio de cribado comunica a las Unidades de seguimiento clínico la existencia de un recién nacido con cribado alterado. La Unidad de seguimiento se encarga de avisar a la familia del recién nacido mediante llamada telefónica el mismo día en el que se conocen los resultados. Los que están en su domicilio asintomáticos acuden en un plazo máximo de 24-48 h a la consulta para valoración clínica. Si se trata de pacientes ingresados en el Servicio de Neonatología de nuestro centro se valoran el mismo día. Los pacientes que se encuentran ingresados en otro hospital de la Comunidad de Madrid se trasladan al Servicio de Neonatología de nuestro centro para su valoración, realización de análisis y seguimiento tras comunicar los resultados a sus médicos y asesorar sobre la actitud médica. En el caso de que no se puedan trasladar se coordina la atención y extracción de las muestras necesarias con el hospital donde están ingresados y al alta se cita en la consulta.

- Se realiza historia clínica haciendo énfasis en antecedentes familiares de enfermedades metabólicas, consanguinidad, antecedentes en el embarazo o parto que puedan alterar los resultados del cribado neonatal, medicación que esté tomando (la madre o el niño), tipo de alimentación que realizan hasta ese momento así como la presencia de algún síntoma relacionado con una posible enfermedad metabólica.

- Se realiza una valoración clínica que incluye una exploración general y neurológica

- Se solicita análisis que es dirigida a la patología encontrada en el cribado. Gasometría, amonio, láctico, bioquímica urgente (glucosa, creatinina, iones, transaminasas y bilirrubina). En los casos con aumento de metionina en el cribado o de propionilcarnitina (C3) también se realiza determinación de vitamina B12 y homocisteína. Se extrae una muestra de plasma o suero y una muestra de orina que

se remiten el mismo día si es posible o al día siguiente al CEDEM para realizar los estudios de confirmación. (Ver apartado 3.3.)

- Se solicitan análisis basales y específicos a las madres de algunos casos con cribado alterado (descenso de C0, aumento de C3, aumento de C5OH) dependiendo de los resultados de los estudios de confirmación.

6.5. Estudios de confirmación de la enfermedad realizado en el CEDEM

Se solicitan estudios de aminoácidos en sangre y orina además de ácidos orgánicos en orina ante una sospecha de ECM de los aminoácidos. En los casos con hiperfenilalaninemia se estudia además las pterinas en orina y se mide la actividad de la enzima dihidropterina reductasa (DHPR) en sangre impregnada en papel.

En los casos con sospecha de un ECM de los ácidos orgánicos, se solicita estudio de aminoácidos en sangre y orina, ácidos orgánicos en orina y acilcarnitinas en plasma.

En los casos con sospecha de un ECM de la β -oxidación de los ácidos grasos, se solicita estudio de ácidos orgánicos en orina y acilcarnitinas en plasma.

Se realiza estudio genético para el diagnóstico definitivo en aquellos casos con metabolitos compatibles con un ECM y en los casos que hay dudas en los resultados clínicos y bioquímicos. El estudio genético se ha realizado mediante extracción de ADN (Magna Pure, Roche), secuenciación masiva (Panel Nextera Rapid Capture ID.49418 y Miseq de Illumina) y confirmación por secuenciación de Sanger (BigDye V3.1, Applied Biosystems)¹³⁰.

En los casos no confirmados de ECM, se realizan controles bioquímicos hasta normalización de las alteraciones encontradas y en los casos confirmados de ECM según protocolo de cada enfermedad. Así en PKU, se realiza un control bioquímico de sangre en papel para determinación de fenilalanina una vez a la semana y en las HFA una vez al mes.

6.6. Tiempo de seguimiento

Se realiza un seguimiento de todos los casos durante el primer año de vida y posteriormente en los casos confirmados de un ECM. En estos el seguimiento depende de la patología. Se han recogido los datos de los pacientes hasta mayo del 2014.

Durante el seguimiento se han perdido 10 casos. En 8 de ellos sus padres proceden de otro país. 4 de estos refieren volver a su país de origen.

6.7. Variables recogidas. La recogida de datos se realizó de forma longitudinal, prospectiva desde abril de 2011 hasta mayo del 2014.

6.7.1. Se han recogido las siguientes variables en todos los casos remitidos:

- País de origen de ambos padres.

- Antecedentes familiares de enfermedad metabólica. Consanguinidad de los padres.
- Antecedentes personales (edad gestacional, embarazo gemelar o no, patología perinatal, lactancia materna, hiperbilirrubinemia, medicación en el periodo perinatal).
- Edad a la que son remitidos.
- Metabolitos alterados en el cribado. Edad de la toma de la muestra y si se repite el cribado en otra muestra antes de ser remitido a nuestro centro.
- Enfermedades diagnosticadas según indicador alterado en el cribado.
- Análisis bioquímicos de confirmación.
- Estudio molecular de cada enfermedad.
- Edad de confirmación de la enfermedad (bioquímica y genética).
- Definición de casos falsos positivos en el estudio: Casos en los que los marcadores bioquímicos eran anormales en el cribado pero tras los estudios de confirmación se descarta un ECM.

6.7.2. Variables recogidas en los casos confirmados:

- Síntomas clínicos previos al diagnóstico y en la última visita
- Edad de inicio de los primeros síntomas.
- Medidas antropométricas de los casos confirmados de ECM: peso, talla y PC expresado mediante z score según las tablas de la OMS en diferentes momentos (en la primera visita, a los 6 meses, 12 meses y 24 meses). Los z-score indican el número de desviaciones estándar, la medida es la distancia de la media de una cohorte normal, para la misma edad y sexo.
- Edad al inicio de tratamiento.
- Tratamiento farmacológico y dosis recibida.
- Tratamiento nutricional al diagnóstico, a los 6 meses, 12 meses y 24 meses de edad.
- Episodios intercurrentes (cirugías, infecciones) que pueden producir descompensación. Uso de régimen de emergencia.
- Número de ingresos por paciente. Duración de los ingresos.
- Número de descompensaciones por paciente y edad de las descompensaciones (en aquellas enfermedades con riesgo potencial de descompensación). Se define descompensación metabólica como un episodio

de deterioro clínico o alteración del nivel de conciencia que puede ir o no asociado de alteraciones analíticas (acidosis, hiperamonemia, hipoglucemia, aumento de CK).

- Valoración del neurodesarrollo mediante aplicación de la Escala de Bayley (Índice de desarrollo mental e índice de desarrollo motor). La escala de Bayley está validada para niños españoles. Una vez corregido el test se obtiene una puntuación con valor medio de 100 y desviación típica de 16. Se considera que presentan déficit los que tienen 1 desviación por debajo de la media y una alteración (considerado un retraso psicomotor) los que tienen 2 desviaciones por debajo de la media. Se realizó un estudio basal a los 3-6 meses de edad, 12 meses, 18 y 24 meses de edad a excepción de los pacientes que tienen puntuaciones normales dentro de la media en los que se realizaba al año tras la evaluación de los 12 meses. Algunos pacientes con buen desarrollo psicomotor no se les aplicó la escala. Debido a que se trata de patologías diferentes y que algunas presentan buen desarrollo se ha incluido para el análisis de los datos sólo la última valoración.
- Mortalidad de los casos durante el periodo estudiado
- Estudio de familiares de los casos remitidos. Detección de familiares afectos de ECM y/o portadores.

6.8. Análisis estadístico

Se ha realizado mediante el uso del programa informático SPSS®, versión 11.5 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA).

Los resultados del análisis descriptivo se expresan tanto en valores absolutos como en porcentaje. Se ha realizado pruebas de normalidad. Los datos se han expresado mediante mediana y rango intercuartílico dado que la muestra no se ajusta a la normalidad. Se considera significativa una $p < 0,05$.

La comparación de variables cualitativas se ha realizado mediante el test exacto de Fisher. La comparación de las variables cuantitativas se ha realizado mediante la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney. Se ha utilizado el test no paramétrico Rho de Spearman para estudio de correlación de dos variables cuantitativas.

Se calculó la especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y la tasa de falsos positivos del cribado neonatal. Se consideraron falsos positivos los niños que no pasaron el cribado, pero en los que no pudo demostrarse ninguna enfermedad metabólica después de la aplicación del protocolo de estudio.

Se compararán los resultados de nuestra población con lo publicado en la literatura en otras Comunidades Autónomas y en otros países. También se reportarán otros datos de interés científico como la detección de otras enfermedades no incluidas en el cribado pero con alteración en alguno de los analitos.

7. RESULTADOS

Desde abril del año 2011 hasta mayo del año 2013 se ha realizado el cribado neonatal ampliado a 83.774 recién nacidos, parte del estudio piloto proceden de toda la Comunidad de Madrid y el resto de nuestra área (datos facilitados por el Laboratorio de Cribado Neonatal de la Comunidad de Madrid, ubicado en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón). Durante ese periodo se han derivado 98 casos al Hospital 12 de octubre para diagnóstico y seguimiento, 27 de los cuales pertenecen al estudio piloto (abril del año 2011 hasta el 10 de octubre del mismo año).

El 42,86% (42/98) son niños y el 57,14 % son niñas (56/98).

Se realizó el cribado por MS/MS en la muestra de 48 h en el 94,89% (93/98). En el resto se utilizó la muestra de los 5 días de vida (durante el periodo piloto).

En el 33,67% (33/98) se repitió la muestra del cribado previo a la derivación a la Unidad.

7.1. Datos demográficos: país de origen de los padres

El 57,7% (56/98) de las madres proceden de España y el 43,3% (42/98) de otros países. El 9,3% (9/98) son procedentes de Rumanía, el 9,3% (9/98) de Marruecos, el 2,1 % (2/98) de República Dominicana, el 2,1% (2/98) de Paraguay, el 2,1% (2/98) de Rusia y el resto de otros países como Bolivia, Colombia, Italia, Argentina, Brasil o Costa de Marfil (figura 10).

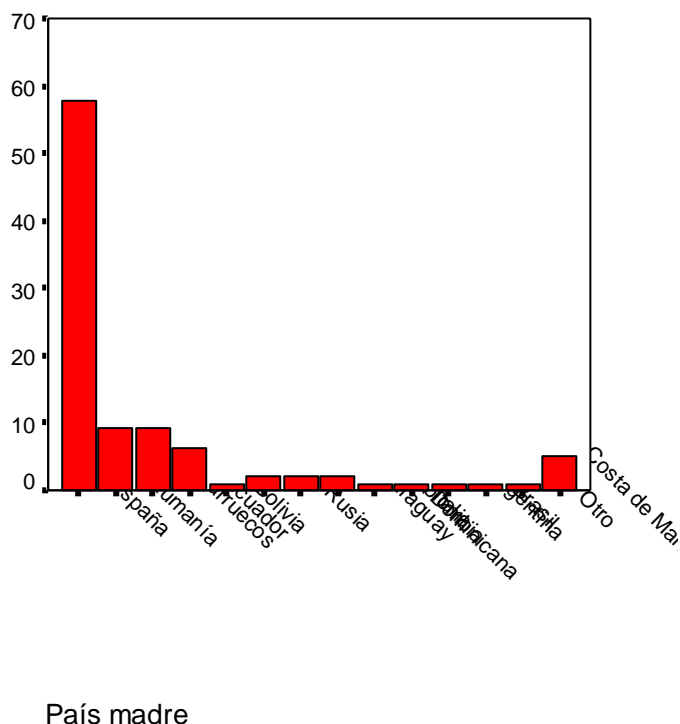


Figura 10: País de procedencia de las madres de los casos estudiados.

El 60,2% de los padres (59/98) proceden de España y el 39,8 % (39/98) de otros países. El 10,3% (10/98) son procedentes de Rumanía, el 8,2% (8/98) de Marruecos, el 3,1% (3/98) de Ecuador, el 3,1% (3/98) de República Dominicana, el 2,1% (2/98) de Brasil y el resto de países como Bolivia, Paraguay, Colombia, Portugal, Argentina o Burkina Faso (figura 11).

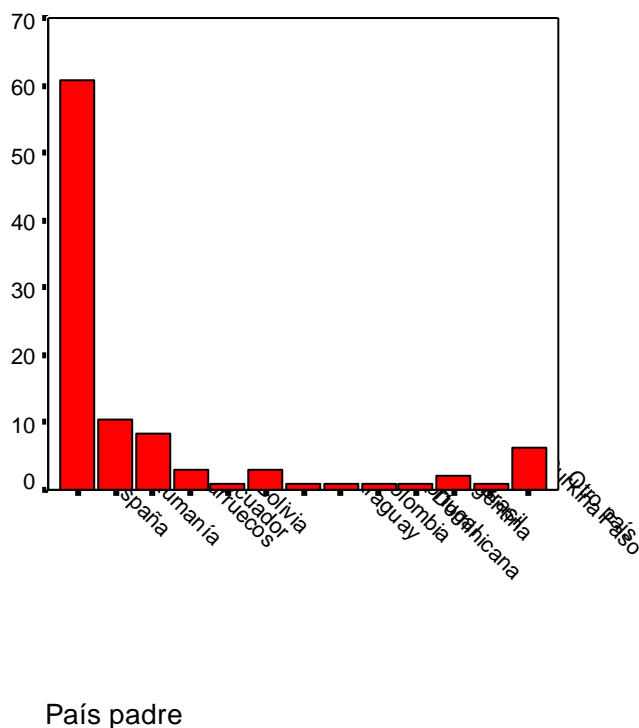


Figura 11: País de procedencia de los padres de los casos estudiados.

7.2. Antecedentes familiares de ECM y consanguinidad

El 7,1% (7/98) presentan antecedentes de consanguinidad. En 6 de ellos se confirmó el resultado del cribado en el niño.

Un caso (caso 64 con AG1) tiene una hermana diagnosticada previamente de AG1. Se realizó consejo genético pero la familia rechazó realizar estudio prenatal. Otro caso (caso 63 con CACT) tenía el antecedente de 2 hermanos fallecidos en las primeras 24 horas de vida de muerte súbita.

7.3. Antecedentes personales

Prematuridad: la edad gestacional (EG) fue inferior a 37 semanas en 8 casos (4 con EG de 36 semanas, 2 con EG de 35 semanas, 1 caso con EG de 33 semanas, 1 caso con EG de 26 semanas).

Dos de los casos eran fruto de gestación gemelar.

En la tabla 12 se muestran los metabolitos alterados en el cribado de los pacientes pretérminos. Uno de los casos presentó una tirosinemia transitoria del prematuro. Un caso fue diagnosticado de AG1 y otro de una hipocarnitinemia transitoria. El resto de los casos con EG menor a 37 semanas presentaron resultados normales en los análisis de confirmación.

El 75,51 % de los casos (74/98) estaban alimentados con lactancia materna en el momento del cribado.

El 21,42% (21/98) presentaron hiperbilirrubinemia. Solo un caso fue diagnosticado de ECM: 1 MCADD. Entre los demás casos con hiperbilirrubinemia había dos casos con metilcrotonilglicinuria materna, dos tirosinemias transitorias, 3 heterocigotos para ECM de herencia autosómica recesiva (dos portadores de MCADD y un portador de CUD) y un déficit de vitamina B12 de causa materna.

En 13 casos recibieron antibioterapia en el periodo neonatal. 1 caso fue diagnosticado de ECM (AG1). Otro caso fue diagnosticado de portador de MCADD.

Tabla 12: casos con EG inferior a 37 semanas, metabolitos alterados en el cribado y diagnóstico efectuado.

| Caso | EG | Metabolito alterado | Diagnóstico |
|------|--------------|---|------------------------------|
| 17 | 36 | C2 2,11 (9,13-54,30); C3 0,21 (0,64-4,53); C4OH/C3DC 0,02 (0,03-0,30); C5 0,96 (0,04-0,41); Phe 58,3 (31-94,42), Phe/Tyr 4,0 (p99 1,5) | Estudio normal |
| 64 | 36 | C5DC 0,83 (0,04-0,23) a las 6 h (por alta voluntaria) | Aciduria glutárica tipo I |
| 75 | 36 | C12 0,65 (0,025-0,36); C12:1 0,52 (0,01-0,30); C14 0,60 (0,055-0,50); C14:1 0,73 (0,03-0,43); C14:2 0,09 (0,01-0,65); C14OH 0,11 (0-0,05) C16:1 0,63 (0,05-0,52) , C18:1OH 0,11 (0,01-0,06) | Estudio normal |
| 78 | 36 | C0 5,97 (6,29-50,90); segunda muestra C0 12,1, pero marcadores secundarios bajos C2 3,88 (7,14-62,53), C3 0,28 (0,48-5,77) | Estudio normal |
| 6 | 35 | Tyr 888,8 | Tirosinemia transitoria |
| 27 | 35 | C0 4,1 | Hipocarnitinemia transitoria |
| 71 | 33 y gemelar | C5DC 0,51 (0,05-0,27); C5 0,79 (0,04-0,60): Segunda C5DC 0,12, C5 0,39 (normales) | Estudio normal |
| 20 | 26 | C5DC/C6OH: 0,51 (0,04-0,23) la primera recién trasfundido. Se repite la muestra. | Estudio normal |

EG: semanas de edad gestacional

7.4. Casos detectados por cribado neonatal, confirmación bioquímica y/o genética y diagnósticos efectuados.

Se han diagnosticados un ECM en 30 casos: 30 % de aminoacidopatías (9/30), 53,3% de defectos de la oxidación de los ácidos grasos (16/30) y 16,7 % de acidurias orgánicas (5/30).

Entre las aminoacidopatías (tabla 13) se han diagnosticado 7 hiperfenilalaninemias (3 PKU, 3 HFA y 1 déficit de pterina-4-alfa-carbinolamina dehidratasa o PCD), y dos hipermetioninemias (1 CBS y un déficit de metionina adenosil transferasa o MAT).

Entre las acidurias orgánicas (tabla 14) se han detectado 4 pacientes con aciduria glutárica tipo 1 (AG 1) y un paciente con 3-metilcrotonilglicinuria (3-MCC).

Entre los trastornos de la beta-oxidación de los ácidos grasos y del ciclo de la carnitina (tabla 15) se han diagnosticado 7 MCADD, 5 VLCADD, 1 LCHADD, 1 CUD, 1 CACT y 1 MADD.

Algunos ECM como el déficit de CBS, MAT, 3-MCC, CACT y MADD son enfermedades que no están incluidas en el programa de la Comunidad de Madrid pero que pueden ser detectadas a través de las anomalías de los metabolitos (aminoácidos y acilcarnitinas).

Se han detectado 10 niños portadores de ECM (tabla 16).

Como se muestra en la tabla 17 la edad de remisión en días de los casos es (mediana y rango: 14 días (9-28), siendo la edad de confirmación bioquímica de 26 días (20-41) y la de confirmación genética de 3,71 meses (2,10-5,83). La edad de inicio de tratamiento es de 18 días (11-31), indicando que en algunos casos se inicia ante la sospecha clínica aunque no se tenga aún el estudio de confirmación. En 8 pacientes la edad de inicio de los síntomas de la enfermedad fue a los 1 días (1-7,75). En la tabla 18 y figuras 12 y 13 se muestran la edad de remisión a la Unidad y la edad de confirmación bioquímica según el tipo de ECM.

Tabla 13: Aminoacidopatías detectadas por alteración en el cribado ampliado.

| Enfermedad | Caso | Metabolito alterado | Gen | Estudio molecular |
|------------|------|---------------------|--------------|--|
| PKU | 94 | Phe | <i>PAH</i> | c.754C>T(p.Arg252Trp)/c.1066-11G>A(IVS10-11g>a)(p.Gln335_Tyr356ins3) |
| PKU | 95 | Phe | <i>PAH</i> | c.185_189delTGACC (p.Leu62Profs*3)/c.441+5G>T |
| PKU | 96 | Phe | <i>PAH</i> | c.754C>T (p.Arg252Trp)/c.782G>A(p.Arg261Gln) |
| HFA | 53 | Phe | <i>PAH</i> | c.165T>G(p.Phe55Leu)/c.842+4A>G (?) |
| HFA | 54 | Phe | <i>PAH</i> | c.60+5G>T(?)/c.158G>A(p.Arg53His) |
| HFA | 55 | Phe | <i>PAH</i> | c.60+5G>C(?)/c.158G>A(p.Arg53His) |
| PCD | 4 | Phe | <i>PCBD1</i> | c.292C>T (p.Gln 98Term) en homocigosis |
| CBS* | 97 | Met | <i>CBS</i> | c.572C>T(p.Ther191Met) en homocigosis |
| MAT* | 55 | Met | <i>MAT1A</i> | c.776C>T (p.Ala259Val)/- |

*no incluida en el cribado; Phe: Fenilalanina; Met: Metionina; HFA: Hiperfenilalaninemia benigna; PKU: Fenilcetonuria; PCD: Déficit de Pterina-4-alfa-carbinolamina dehidratasa; MAT: déficit de metionina adenosil transferasa; CBS: Déficit de Cistationina β-sintasa.

Tabla 14: Acidurias orgánicas detectadas por cribado neonatal ampliado.

| Enfermedad | Caso | Metabolito alterado | Gen | Estudio Molecular |
|------------|------|---------------------|-------------|---|
| AG1 | 64 | C5DC | <i>GCDH</i> | c.1234G>A (p.Val400Met) en homocigosis |
| AG1 | 66 | C5DC | <i>GCDH</i> | c.278A>G (p.His93Arg) en homocigosis |
| AG1 | 89 | C5DC | <i>GCDH</i> | c.1234G>A(p.Val400Met)/c.1240C>T(Arg402Trp) |
| AG1 | 90 | C5DC | <i>GCDH</i> | c.946G>A(p.Ala304Thr)/c.1240C>T(p.Arg402Trp) |
| 3-MCC* | 57 | C5OH | | No realizado. Estudio enzimático MCC (β-metilcrotonil-CoA-carboxilasa 43%, ratio PCC/MCC aumentado). Compatible con una 3-metilcrotonilglicinuria. |

AG1: Aciduria glutárica tipo 1; 3-MCC: 3-metilcrotonilglicinuria; *no incluida en el cribado

Tabla 15: Trastornos de la oxidación de los ácidos grasos y del transporte de la carnitina detectados por alteración en el cribado ampliado.

| Enfermedad | Caso | Metabolito alterado | Gen | Estudio molecular |
|------------|------|---|----------|--|
| MCADD | 56 | ↑C6, C8, C8:1, C10 | ACADM | c.985A>G (p.Lys329Glu) en homocigosis |
| MCADD | 59 | ↑C6, C8, C10, C10:1 | ACADM | c.683C>A (p.Thr228Asn)/c.985A>G (p.Lys329Glu) |
| MCADD | 60 | ↑C6, C8, C8:1, C10, C10:1, C10:2 | ACADM | c.985A>G (p.Lys329Glu) en homocigosis |
| MCADD | 80 | ↑C6, C8, C10, C10:1 | ACADM | c.985A>G (p.Lys329Glu)/c.351A>G (p.Thr117Thr) |
| MCADD | 91 | ↑C6, C8, C10, C10:1 | ACADM | c.985A>G (p.Lys329Glu) homocigosis |
| MCADD | 92 | ↑C6, C8, C10 | ACADM | c.683C>A (p.Thr 228Asn)/c.999_1011 dup13(p.Gln338Term) |
| MCADD | 93 | ↑C6, C8, C10, C10:1 | ACADM | c.250C>T (p.Leu84Phe)/c.985A>G (p.Lys329Glu) |
| CUD | 58 | ↓C0 | SLC22A5 | c.680G>A (p.Arg227His)/c.824+1G>T (? Presumible severa) |
| LCHADD | 65 | ↑C14; C14:1 ; C14:2 ; C14:OH ; C16:1OH ; C16:1 ; C16:OH, C18:1OH; C18:2 ; C18OH; C14:1/C2 ; C14:1/C16 ; C16OH/C16 ; C18OH | HADHA | c.453+1G>A (p.Met106fs) en homocigosis |
| VLCADD | 45 | ↑C14:1, C14:2, C14, C12, C14:1/C16 | ACADVL | c.685C>T (p.Arg229Term)/c.848T>C (p.Val283Ala) |
| VLCADD | 61 | ↑C14:1, C14:2, C14, C16:1 | ACADVL | c.685C>T (p.Arg229Term)/c.848T>C (p.Val283Ala) |
| VLCADD | 62 | ↑C14:1, C14:2, C14, C12:1, C12,C14:1/C2, C14:1/C12:1, C14:1/C16 | ACADVL | c.761G>A (p.Gly254Asp) en homocigosis |
| VLCADD | 98 | ↑C14:1, C14:2, C14,C14:1/C2, C14:1/C12:1, C14:1/C16 | ACADVL | c.520G>A (p.Val174Met)/(c.1097G>A;c.1844G>A) (p.Arg366His;p.Arg615Gln) |
| VLCADD | 74 | ↑C14:1, C14:2, C14, C14OH | ACADVL | c.990_994delCAAGG (p.Phe330fs)/? |
| MADD* | 77 | ↑C6,C8, C10 | ETFDH | p.Arg56Term (severa) |
| CACT* | 63 | ↑C4, C6, C8, C8:1, C10, C10:1, C12,C12:1, C14, C14:1,C14:2,C14OH,C16,C16:1, C16:1OH, C16OH,C18, C18:1, C18:1OH, C18:2 | SLC25A20 | c.536A>G (p.Asp179Gly) en homocigosis |

Tabla 16: Pacientes heterocigotos para ECM de herencia autosómica recesiva con alteraciones en el cribado

| Portador | Caso | Metabolito alterado | Gen | Estudio molecular |
|----------|------|---------------------|---------|---|
| MCADD | 43 | C8,C10 | ACADM | c.1237C>T (p.Arg413Cys)/- |
| MCADD | 50 | C8,C10 | ACADM | c.985A>G (p.Lys329Glu)/- |
| MCADD | 51 | C8,C10 | ACADM | c.985A>G (p.Lys329Glu)/- |
| MCADD | 68 | C8,C10 | ACADM | c.985A>G (p.Lys329Glu)/- |
| MCADD | 72 | C8,C10 | ACADM | c.181A>T(p.Ile61Phe)/- |
| CUD | 44 | C0 | SLC22A5 | c.466G>C(p.Gly156Arg)/- |
| CUD | 85 | C0 | SLC22A5 | c.419G>A (p.Trp140 Ter)/? Presumible severa |
| CUD | 86 | C0 | SLC22A5 | c.67-69delTTC (p.Phe23del)/- |
| 3-MCC | 10 | C5OH | MCCC1 | c.872C>T (p.Ala291Val)/- |
| 3-MCC | 12 | C5OH | MCCC2 | c.578G>A(p.Arg193His)/- |

Tabla 17: Edades de remisión a la unidad, inicio de síntomas, confirmación bioquímica, inicio de tratamiento y confirmación genética (mediana y rango intercuartílico).

| Edad de remisión (días) N=98 | Edad de inicio síntomas (días) N=8 | Edad de conf. bioquímica (días) N=97 | Edad de inicio tratamiento (días) N=33 | Edad de conf. genética (meses) N=41 |
|---------------------------------|---------------------------------------|---|---|--|
| 14 (9-28) | 1 (1-7,75) | 26 (20-41) | 18 (11-31) | 3,71 (2,10-5,83) |

Tabla 18: Edad de remisión en días (mediana y rango) y edad de confirmación bioquímica en días (mediana y rango) por tipo de ECM.

| | ECM aminoácidos | ECM ácidos grasos | ECM ácidos orgánicos | No ECM |
|---|-----------------|-------------------|----------------------|-----------------|
| Edad remisión (días) mediana y rango | 13 (7-31) | 16 (8,5-19,25) | 10,50 (6,25-11,75) | 16,15 (9,25-30) |
| Edad confirmación bioquímica (días) mediana y rango | 28 (13-43) | 23 (17,5-27,75) | 20 (14,50-26,25) | 29(21-43) |

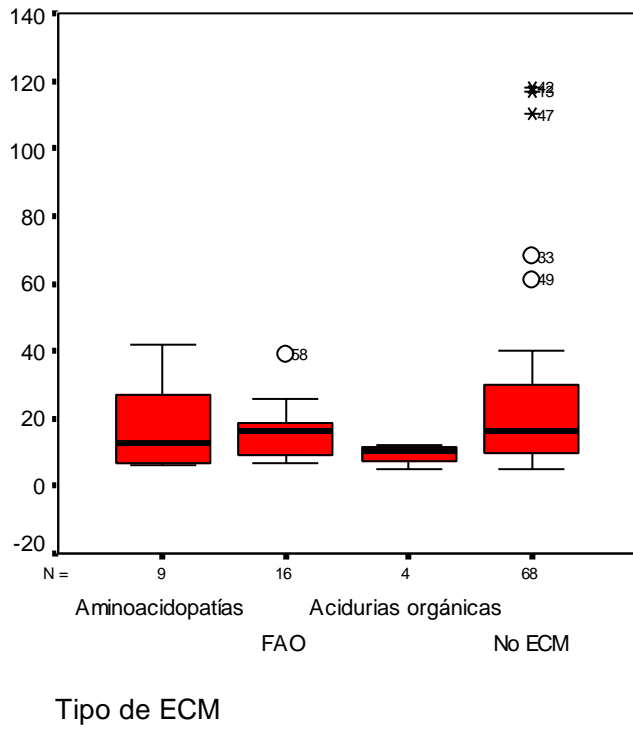


Figura 12: Edad de remisión (días) a la Unidad de los casos según tipo de ECM.

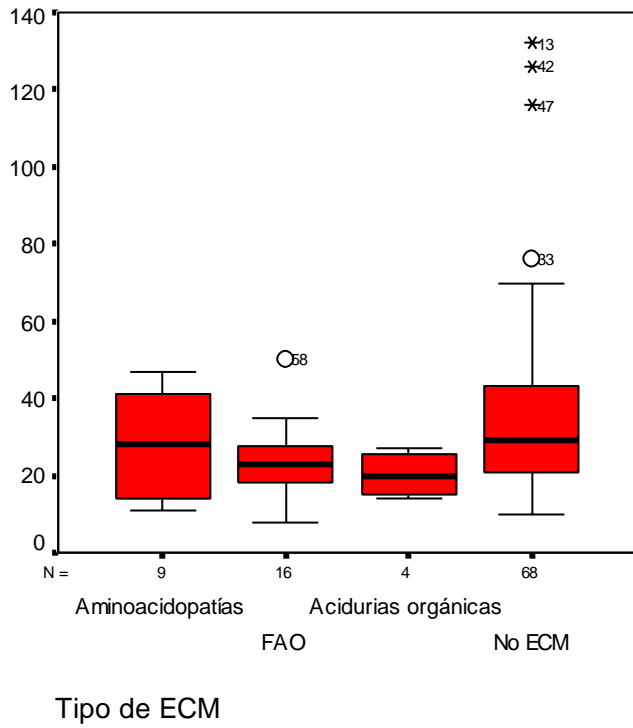


Figura 13: Edad de confirmación bioquímica de los casos según tipo de ECM.

Si comparamos la edad de inicio de tratamiento con respecto a la del grupo de pacientes en seguimiento en la Unidad con ECM incluidos en el programa de cribado pero que fueron diagnosticados tras presentar síntomas (1990-2011) se objetiva una diferencia significativa tanto si se comparan por tipo de ECM como en total.

Tabla 19: Edad de inicio de tratamiento en el grupo de pacientes cribado y en el grupo diagnosticado por síntomas.

| ECM | Edad inicio tratamiento (días) Grupo Cribado (Mediana y rango) | Edad inicio de tratamiento (días) Grupo diagnosticado por síntomas (1990-2011) (Mediana y rango) | p |
|--------------------------------|---|---|--------|
| Aminoácidos | N= 6; 17,50 (11,75-30,5) | N= 8; 640 (251-2258) | 0,02 |
| Oxidación de los ácidos grasos | N=15; 16 (8-29) | N= 7; 701 (30-2190) | 0,003 |
| Acidurias orgánicas | N= 4; 10,5 (10-149) | N= 16; 289,5 (213-1916) | 0,006 |
| Total | N= 25; 18 (11-31) | N= 31; 365 (213-2190) | <0,001 |

7.5. Datos epidemiológicos:

7.5.1. Incidencia de los nuevos ECM incluidos en el cribado en la población diana.

Durante el periodo de estudio (dos primeros años) se ha realizado el cribado ampliado a 83.774 recién nacidos, incluido el estudio piloto. La incidencia de ECM en nuestro trabajo es de 1/2.792 recién nacidos. La incidencia de aminoacidopatías es de 1/9.308 recién nacidos vivos, 1/5.235 de los trastornos de la oxidación de los ácidos grasos y 1/16.754 de las acidurias orgánicas (tabla 20).

7.5.2. Enfermedades diagnosticadas según marcador primario.

Se han diagnosticado 7 casos con hiperfenilalaninemia (tabla 21). Se muestran los resultados de los análisis de confirmación. Un caso no se confirmó.

Se han estudiado 3 casos con aumento de tirosina en el cribado. En ningún caso se demostró ECM siendo diagnosticados de tirosinemia transitoria del recién nacido (tabla 22). En dos de ellos, la succinilacetona se realizó en el laboratorio de cribado y fue negativa.

Tabla 20: Incidencia de los ECM detectado por el MS/MS

| Incidencia de los ECM en el periodo estudiado (RN cribados 83.774) | |
|--|----------|
| Fenilcetonuria | 1/27.924 |
| Hiperfenilalaninemia | 1/27.924 |
| Déficit de pterina carbinolamina dehidratasa | 1/83.774 |
| Déficit de metionina adenosil tranferasa* | 1/83.774 |
| Déficit de cistationina beta-sintasa* | 1/83.774 |
| Déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media | 1/11.967 |
| Déficit del transportador de carnitina | 1/83.774 |
| Déficit de hidroxiacil CoA deshidrogenasa de cadena larga | 1/83.774 |
| Déficit de acil CoA deshidrogenasa de cadena muy larga | 1/16.754 |
| Déficit de carnitina acilcarnitina translocasa* | 1/83.774 |
| Déficit múltiple de deshidrogenasas* | 1/83.774 |
| Aciduria glutárica tipo I | 1/20.943 |
| 3-metilcrotonilglicinuria* | 1/83.774 |

*No incluidas en el cribado de la CAM.

Tabla 21: Casos con aumento de Phe en el cribado. Se muestran los resultados alterados en el cribado y los estudios de confirmación: aminoácidos, pterinas en orina, actividad DHPR, sobrecarga a BH4 y el diagnóstico de cada caso.

| Caso | Phe (µmol/L) Cribado | Phe/Tyr Cribado | Muestra repetida cribado | Estudio de confirmación CEDEM | | | | Diagnóstico | |
|------|-------------------------|--------------------|--------------------------------|------------------------------------|--|-------|--------|---------------|------------------|
| | | | | Phe sangre (VN: 54 ± 23 µmol/L) | Pterinas (mmol/mol creat) | orina | DHPR | | Sobrecarga a BH4 |
| 4 | 480 (31-88) | 5,3 (p99 1,4) | | 754 | Biopterina 0,3 2,7 % Primapterinuria | | Normal | Positiva | PCD |
| 16 | *201,5 (31-94,42) | 1,6 (p99 1,5) | si | 66 # | Normales | | Normal | NR | No enfermo |
| 52 | 145 (31-88) | 3,7 (p99 1,4) | | 236 | Normales | | Normal | NR | HFA |
| 53 | *193 (31-94,42) | 1,7 (p99 1,5) | si | 147 | Normales | | Normal | NR | HFA |
| 54 | 129 (32,27-103,93) | 2,4 | si | 127 | Normales | | Normal | NR | HFA |
| 94 | 480 (31-91,5) | 17,8 (p99 1,4) | | 1875 | Normales | | Normal | Sin respuesta | PKU |
| 95 | 937 (32,27-103,93) | 15,13 | | 1525 | Normales | | Normal | Sin respuesta | PKU |
| 96 | 645 (31-91,5) | 11,35 (p991,4) | | 1030 | Normales | | Normal | Sin respuesta | PKU |

PKU: fenilcetonuria; HFA: hiperfenilalaninemia benigna; PCD: déficit de pterina 4-alfa-carbinolamina dehidratasa; NR: no realizado; *Dudoso y se repite. #: Se repite (3 veces); resultados normales

Tabla 22: Casos con aumento de tirosina en el cribado. Se muestran los resultados alterados en el cribado y los estudios de confirmación: aminoácidos en plasma y orina, ácidos orgánicos en orina y diagnóstico de cada caso. En los tres casos se repitió los análisis posteriormente con normalización de estas alteraciones.

| Caso | Tyr (µmol/L) (VN: 33,3-215) Cribado | Muestra repetida cribado | Metabolitos de confirmación CEDEM | | | Diagnóstico |
|-----------|--|-----------------------------|-----------------------------------|--|--|-------------------------|
| | | | AA plasma (µmol/L) | AA orina (mmol/mol creat) | Ácidos orgánicos (mmol/mol creat) | |
| 6 | Tyr 888,8 | | Tyr 201 (68±33) | Cistationina 88 Tyr 331 Tre 286 Ser 521 Gly 2237 (9±8) (39 ± 20) (107 ± 84) (205 ± 85) (848 ± 376) | No SA 4-OH-fenilactico: 4-OH-fenilpirúvico: 4008 (0-17) 21583(0-74) | Tirosinemia transitoria |
| 24 | Tyr 321,5 No SA A los 12 días Tyr 531 | Si | Tyr 279 (68±33) | | No SA 4-OH-fenilactico 4-OH-fenilpirúvico Etilmalónico 2-oxoglutarico 284 (0-17) 1316 (0-74) 34 (3-21) 1209 (11-883) | Tirosinemia transitoria |
| 35 | Tyr 582 No SA | | Tyr 135 (68±33) | | No SA 4-OH-fenilactico 4-OH-fenilpirúvico 2-oxoglutarico 165 (0-17) 487 (0-74) 7103 (11-883) | Tirosinemia transitoria |

AA: aminoácidos; Tyr: tirosina; SA: succinilacetona.

Tabla 23: Casos con aumento de Metionina en el cribado. Se muestran los resultados alterados en el cribado y los estudios de confirmación: aminoácidos en plasma y orina, homocisteína total y diagnóstico.

| Caso | Metabolito alterado en el Cribado ($\mu\text{mol/L}$) | Muestra repetida cribado | Metabolitos confirmación CEDEM | | | Diagnóstico |
|-----------|---|--------------------------|---|---------------------------|---|----------------|
| | | | AA plasma ($\mu\text{mol/L}$) | AA orina (mmol/mol creat) | Hcy total ($\mu\text{mol/L}$) ($6,3 \pm 2$) | |
| 55 | Met 80,3 (8,19-31) | | Met 88 (27 \pm 9) | Normales | 11,2 | Déficit de MAT |
| 97 | Met 52,12 (8-31,05), A los 7 días: Met 98 | Si | Met 413 (27 \pm 9) Homocistina 7,5 (0,3 \pm 0,4) | Met Homocistina | 46 (17 \pm 13) 90 (6 \pm 6) | Déficit de CBS |

AA: aminoácidos; Met: metionina; Hcy: homocisteína; MAT: metionina adenosil transferasa; CBS: Cistationina β -sintasa

Los dos casos que presentaban aumento de metionina se han diagnosticado de un déficit de MAT y un déficit de CBS. Ambos trastornos no están incluidos en el programa de cribado de la CAM (tabla 23).

Se han estudiado 3 casos con niveles de leucina aumentada en el cribado, no habiéndose confirmado ninguno (tabla 24).

De los 19 casos remitidos por niveles disminuidos de C0 se confirmó un ECM en 1 (CUD) de ellos mientras que 3 casos resultaron portadores de CUD. En 11 de los 19 casos se ha encontrado en el estudio de confirmación niveles disminuidos de carnitina (tabla 25). El valor de C0 en el caso de CUD fue 2,87 $\mu\text{mol/L}$ mientras que en los no confirmados fue (mediana y rango) 5,97 $\mu\text{mol/L}$ (4,61-9,85) y en los secundarios a déficit materno de 4,87 $\mu\text{mol/L}$ (3,77-5,56) (figura 14).

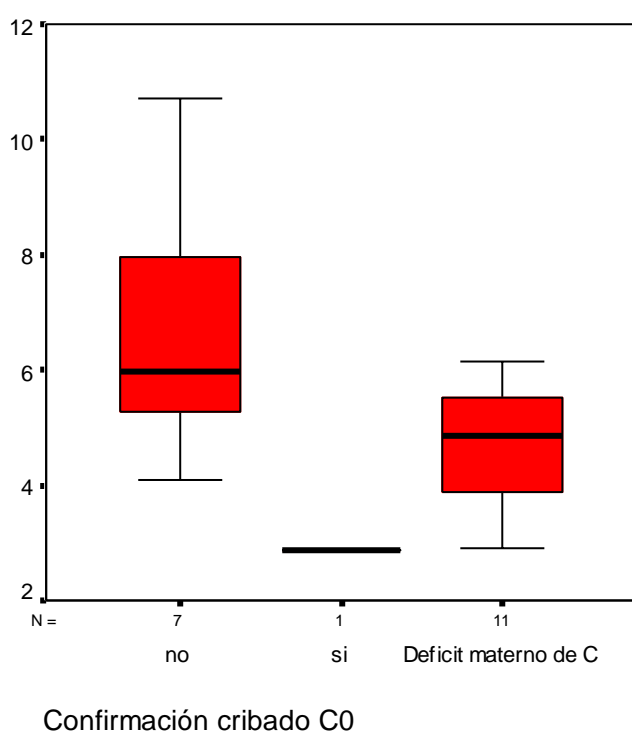
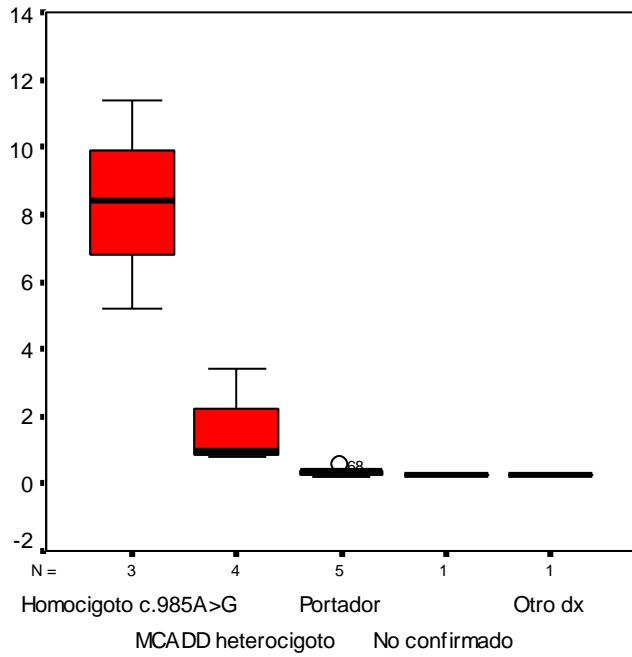


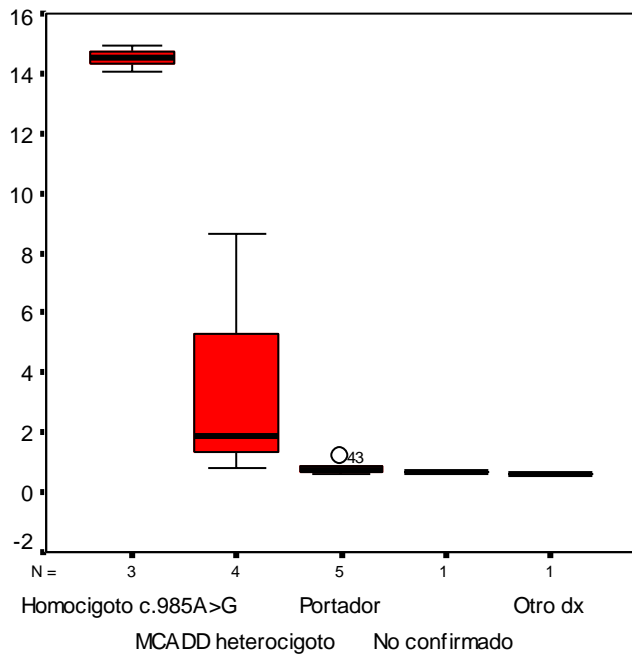
Figura 14: Niveles de C0 en ($\mu\text{mol/L}$) en los casos remitidos (mediana y rango intercuartil): en el caso confirmado es C0 2,87 $\mu\text{mol/L}$, en los no confirmados C0 5,97 $\mu\text{mol/L}$ (4,61-9,85) y en los casos con déficit materno de C0 es de 4,87 $\mu\text{mol/L}$ (3,77-5,56).

Se han estudiado 14 pacientes con sospecha de MCADD tras presentar niveles de C8 fuera de rango en el cribado. Se confirmó el 50 % de los casos (7/14), siendo 3 de ellos homocigotos para la mutación c.985A>G. Se han diagnosticado 5 casos portadores y un caso con un déficit de MADD. Este último no está incluido en el cribado de la CAM. Uno de los casos remitidos por niveles alterados de C8 no se confirmó (tabla 26). El valor de C8 (mediana y rango) en el cribado en homocigotos para la mutación c.985A>G fue de 8,43 $\mu\text{mol/L}$ (6,82-9,91). En los heterocigotos compuestos fue de 0,98 $\mu\text{mol/L}$ (0,85-2,23) y en portadores de 0,35 $\mu\text{mol/L}$ (0,28-0,36). El ratio C8/C10 en los casos homocigotos fue de 14,53 (14,30-14,72), siendo

mucho más bajo en los heterocigotos compuestos 1,90 (1,33-5,32) y en los portadores 0,76 (0,71-0,87) (figuras 15 y 16).



MCADD



MCADD

Figura 15 y 16: niveles de C8 ($\mu\text{mol/L}$) y ratio de C8/C10 en los casos remitidos (mediana y rango intercuartil).

Tabla 24: Casos con aumento de Leucina y otros aminoácidos en el cribado. Se muestran los resultados alterados en el cribado y los estudios de confirmación: aminoácidos en plasma y orina, ácidos orgánicos, acilcarnitinas y diagnóstico.

| Caso | Metabolito alterado en el Cribado ($\mu\text{mol/L}$) y valores de referencia | Muestra repetida cribado | Metabolitos de confirmación CEDEM | | | | Diagnóstico |
|-----------|--|--------------------------|---|---|--|--------------------------------------|-----------------------------------|
| | | | AA plasma ($\mu\text{mol/L}$) | AA orina (mmol/mol creat) | Ácidos orgánicos (mmol/mol creat) | Acilcarnitinas ($\mu\text{mol/L}$) | |
| 29 | Alanina 1300 (126-484) Citulina 78,8 (3,24-32,2) Glicina 1660 (217-879) Leucina 509 (64-234) Ornitina 676 (35-249) Prolina 524 (84-293) Tirosina 266 (32-200) Valina 442 (50-219) | Si | Normal | Normal | Metilmalónico 32 (0-11) Metilcítrico 16 (0-11)* | Normal | Estudio normal |
| 46 | Leucina 337 (64,4-234) Valina 307 (52,8-219) Val/Phe 4,1 (3,467) Leu/Phe 4,52 (3,761) Leu/Ala 0,63 (0,866) | | Leu 166 (98 \pm 38) Val 225 (149 \pm 48) Cistationina 5,8 | Cistationina 170 (9+8) Cistina 161 (23 \pm 14) | Normal | Normal | Se va a su país No seguimiento |
| 49 | Leucina 219 (64,4-234) Valina 245 (52,8-219) 2ºmuestra: Leucina 293 (64,4-234) Valina 298 (52,8-219) Pro 353 (83,1-293) 3ºmuestra: Leu 415 (64,4-234) | Si | Leu normal 92 (98 \pm 38)* | | 4-OH-fenilacético 265 (9-133) | | Estudio normal |

*Controles posteriores normales en caso 29 y 49; Leu: leucina; Val: Valina; Pro: prolina

Tabla 25: Casos con disminución de C0 en el cribado. Se muestran los resultados alterados en el cribado y los estudios de confirmación: acilcarnitinas, ácidos orgánicos y diagnóstico en el niño y acilcarnitinas en la madre.

| Caso | Metabolito cribado (µmol/L) y valores de referencia | Muestra repetida cribado | Metabolitos confirmación en el Niño (CEDEM) Acilcarnitinas (µmol/L) y ácidos orgánicos (mmol/mol creat) | Análisis en la Madre CEDEM Acilcarnitinas (µmol/L) C0 VN:(21,5-64,58) | Diagnóstico |
|-----------------------|---|--------------------------|--|---|--|
| 2 | C0 5,97 C0 12,2* | Si | C0 27,46 (21,5-64,58) | C0 20,98 | Estudio normal |
| 3 | C0 9,85 | | C0 23,48 (21,5-64,58) | NR | Estudio normal |
| 5 | C0 10,7 C2 4,2 C3 0,31 | | C0 35,65 (21,5-64,58) | C0 30,01 | Estudio normal |
| 7 | C0 4,61 C0 13,5* | Si | C0 32,9 (21,5-64,58) | NR | Estudio normal |
| 8 | C0 3,41 C2 8,58 C3 0,47 C18:1 0,53 | | C0 12,42 Ac fumarico 65 2-oxoglutarico 3052 4-OH-fenilpiruvico 96 (19 ± 7,5) (0-42) (11-883) (0-74) | C0 20,29 C0 19,13* | Niño: hipocarnitinemia transitoria. Madre: carnitina en límite inferior |
| 9 | C0 5,72 | | C0 26,67 (19,4± 7,5) | C0 15,31 | Niño: estudio normal. Madre: déficit de carnitina. |
| 11 | C0 4,38 | | C0 25,62 (21,5-64,58) | C0 17,52 (postparto) C0 normal * | Niño: estudio normal. Madre: carnitina baja postparto |
| 27 | C0 4,1 | | C0 13,33 (21,5-64,58) | C0 21,43 | Niño: hipocarnitinemia transitoria (problemas perinatales). Estudio genético SLC22A5 negativo |
| 44 | C0 3,96 C0 3,12* | Si | C0 12,67 (21,5-64,58) | C0 7,36 | Niño: portador CUD Madre: CUD |
| 58 | C0 2,87 Al 33 d 4,69 | Si | C0 6,82 Metilmalonico 39 Metilcitrico 18 (21,5-64,58) (0-11) (0-11) | NR | Niño: CUD Madre portadora CUD |
| 69[‡] | C0 5,56 C0 12,2* marcadores secundarios alterados | Si | C0 28,21 (21,5-64,58) | C0 17,24 | Niño: estudio normal Madre: déficit de carnitina |

| | | | | | | | |
|-----------------------|--|---|----|---|--|--|--|
| 70[#] | C0 6,13 2 ^a 12,8 pero marcadores secundarios alterados | (6,29-50,90) | Si | C0 27,6 | (21,5-64,58) | C0 17,24 | Niño: estudio normal Madre: déficit de carnitina |
| 78 | C0 5,97 2 ^a C0 12,1 pero marcadores secundarios bajos C2 3,88 C3 0,28 C0 6,04 | (6,29-50,90) (7,14-62,53) (0,48-5,77) (6,08-44,46) | Si | C0 28,74 3-OH propiónico 61 2-oxoglutarico 936 Metilcitrico 21 | (21,5-64,58) (0-18) (11-883) (0-11) | C0 23,05 | Niño: estudio normal Madre: estudio normal |
| 83 | | | | 27 | (21,5-64,58) | Se va a su país No seguimiento | Niño: estudio normal |
| 84 | C0 3,77 | (6,08-44,46) | | C0 8,1 2-oxoglutarico 1505 | (19,4 ±7,5) (11-883) | C0 5 Secundario a ácido valproico | Niño: hipocarnitinemia secundaria Madre: déficit de carnitina secundario a ácido valproico |
| 85 | C0 5,36 2 ^a C0 8,76 | (6,08-44,46) | Si | C0 16,67 | (21,5-64,58) | C0 15,74 | Niño: portador CUD Madre: portador CUD |
| 86 | C0 2,92 a los 5 días 3,48 | (6,08-39,70) | Si | C0 13,48 | (21,5-64,58) | C0 12 | Niño: portador CUD Madre: portador CUD |
| 87 | C0 5,50 a los 22 días C0 12,1 marcadores secundarios alterados | (6,08-39,70) | Si | C0 17 Metilmalonico 24 | (21,5-64,58) (0-11) | C0 12 * C0 19,57 y 18,32 Estudio genético negativo | Niño: hipocarnitinemia secundaria Madre: déficit de carnitina |
| 88 | C0 4,87 | (6,08-44,46) | | C0 23,6 | (21,5-64,58) | C0 6 Estudio genético negativo | Niño: hipocarnitinemia transitoria Madre: déficit de carnitina |

#Los casos 69 y 70 son hermanos (gemelar); * se repite; NR: no realizado

Tabla 26: Casos con aumento de C8 en el cribado. Se muestran los resultados alterados en el cribado y los estudios de confirmación: acilcarnitinas, ácidos orgánicos, estudio genético y diagnóstico.

| Caso | Cribado Acilcarnitinas (µmol/L) y valores de referencia | Muestra repetida cribado | Estudios de confirmación CEDEM | | | Diagnóstico |
|-----------|--|--------------------------------|--|--|---|------------------|
| | | | Acilcarnitinas (µmol/L) | CAO (mmol/mol creat) | Estudio genético (gen ACADM) | |
| 43 | C8 0,18 (0,01-0,14) C10 0,15 (0,02-0,21) C8/C10 1,2 | | C8 0,15 (0,01-0,25) | 2-oxoglutarico 538 (11-492) 4-OH- fenilacético 280 (9-133) 4-OH- fenilpirúvico 86 (0-14) | c.1237C>T (p.Arg413Cys)/- | Portador MCADD |
| 47 | A los 4 meses (nace en otro país) C8 0,24 (0,015-0,18) C10 0,34 (0,02-0,26) C8/C10 0,71 | | C8 0,31 (0,01-0,025) C10 0,54 (0,04-0,41) C12 0,17 (0,02-0,11) Control normal | 3-OH- decanodioico Control normal | Secuenciación negativa | Resultado normal |
| 50 | C8 0,36 (0,015-0,18) C10 0,56 (0,02-0,26) C8/C10 0,64 | | C8:1 0,36 (0,00-0,29) | Succinico Fumárico | c.985A>G (p.Lys329Glu)/- | Portador MCADD |
| 51 | C8 0,35 (0,01-0,13) C10 0,49 (0,02-0,19) C8/C10 0,71 | | Normal | Normal | c.985A>G (p.Lys329Glu)/- | Portador MCADD |
| 56 | C6 0,78 (0,02-0,12) C8 5,22 (0,01-0,13) C8:1 0,120 (0,01-0,10) C10 0,35 (0,02-0,19) C8/C10 14,91 | | C6 0,30 (0,00-0,13) C8 2,2 (0,01-0,25) C10:1 0,43 (0,02-0,24) C0 14,99 (21,5-64,58) | Normal | c.985A>G (p.Lys329Glu) en homocigosis | MCADD |
| 59 | C6 0,45 (0,02-0,12) C8 0,93 (0,01-0,13) C10 0,45 (0,02-0,19) C10:1 0,12 (0,01-0,10) C8/C10 1,98 (p99 1,5) C8/C2 0,04 (p99 0,06) | | C6 0,21 (0,00-0,13) C8:1 0,32 (0,03-0,28) C8 0,32 (0,01-0,25) | Normal | c.683C>A(p.Thr228Asn)/ c.985A>G(p.Lys329Glu) | MCADD |
| 60 | C6 2,21 (0,01-0,12) C8 11,4 (0,01-0,14) C8:1 0,22 (0,01-0,11) C10 0,81 (0,02-0,21) C10:1 1,23 (0,01-0,11) | | C6 4,95 (0,01-0,13) C8 15,19 (0,01-0,26) C10 1,25 (0-0,35) C10:1 2,65 (0-0,22) | Normal | c.985A>G (p.Lys329Glu) en homocigosis | MCADD |

| | | | | | | | | | |
|-----------|---|---|---------|--|--|--|--|---|--|
| 68 | C10:2 0,04 C8/C10 14,07 C6 0,24 C8 0,53 C10 0,70 C10:1 0,21 C8/C10 0,76 | (0,0,02) (0,02-0,14) (0,015-0,18) (0,02-0,26) (0,01-0,12) | C8 0,12 | (0,01-0,26) | | | c.985A>G (p.Lys329Glu)/- | Portador MCADD | |
| 72 | C6 0,28 C8 0,28 C10 0,32 C8/C10 0,87 | (0,02-0,14) (0,015-0,18) (0,02-0,26) | Si | C3 1,1 C16-OH 0,11 C18:2-OH 0,12 C16-DC 0,12 | (0,15-0,89) (0-0,03) (0-0,03) (0-0,03) | Metilmalónico Metilcitrónico | 106 (0-11) 13 (0-11) | c.181A>T (p.Ile61Phe)/- | Portador MCADD |
| 77 | C8 0,28 Se repite C6 0,15 C8 0,36 C10 0,60 | (0,015-0,18) (0,02-0,14) (0,015-0,18) (0,02-0,26) | Si | C6 0,21 C8 0,62 C10 0,92 C12 0,30 C0 39,83 | (0,01-0,13) (0,01-0,26) (0-0,35) (0-0,17) (19,4 ± 7,5) | Succínico Fumárico 2-oxoglutarico Láctico | 124 (3-83) 137 (0-42) 1808 (11-883) 198 (1-121) | No | MADD p.Arg56Term (severa)/? en el gen <i>ETFDH</i> |
| 80 | C6 0,39 C8 0,78 C10 0,93 C10:1 0,17 C8/C10 0,84 | (0,02-0,14) (0,015-0,18) (0,02-0,26) (0,01-0,12) | | Normal | | Adípico Subérico Sebáico 3-OH-butírico | 73 (0-42) 52 (1-15) 17 (0-15) 25 (0-11) | c.985A>G (p.Lys329Glu) /c.351A>G (p.Thr117Thr) | MCADD |
| 91 | C8 8,43 C6 1,48 C10 0,58 C10:1 0,31 C8/C10 14,53 | (p99 0,13) (p99 0,12) (p99 0,19) (p99 0,11) (p99 1,50) | Si | C6 1,30 C8 4,65 C10:1 0,38 C10 0,42 | (0,01-0,13) (0,01-0,26) (0-0,22) (0-0,35) | Hexanoilglicina Suberilglicina Láctico Succínico | 19 (VN ND) 9 (VN ND) 184 (1-121) 116 (3-83) | c.985A>G (p.Lys329Glu) en homocigosis | MCADD |
| 92 | C6 0,43 C8 1,03 C10 0,56 C8/C10 1,83 | (0,02-0,12) (0,01-0,13) (0,02-0,19) | | Normal | | Normal | | c.683C>A (p.Thr 228Asn)/ c.999_1011dup13(p.Gln338Term) | MCADD |
| 93 | C8 3,43 C6 0,78 C10 0,41 C10:1 0,30 C8/C10 8,67 | (p 99 0,13) (p99 0,12) (p99 0,19) (p99 0,11) (p99 1,5) | Si | C6 0,22 C8 1,07 | (0,01-0,13) (0,01-0,26) | Hexanoilglicina Suberilglicina Metilmalónico Succínico 4-OH- fenilacético | 4 (VN ND) 16 (VN ND) 16 (0-11) 163 (3-83) 175 (0-99) | c.250C>T (p.Leu84Phe)/ c.985A>G (p.Lys329Glu) | MCADD |

Tabla 27: Casos con aumento de acilcarnitinas de cadena media y larga en el cribado. Se muestran los resultados alterados en el cribado y los estudios de confirmación: acilcarnitinas, ácidos orgánicos y diagnóstico.

| Caso | Cribado Acilcarnitinas valores de referencia | Muestra cribado repetida | Estudios de confirmación CEDEM | | | Diagnóstico |
|------------|--|--------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|----------------|-------------|
| | | | Acilcarnitinas (µmol/L) | Ácidos orgánicos (mmol/mol creat) | | |
| 36 | C6 0,17 | | Normal | Normal | Estudio normal | |
| | C8 0,24 | (0,02-0,12) | | | | |
| | C10 0,39 | (0,01-0,13) | | | | |
| | C10:1 0,12 | (0,02-0,19) | | | | |
| | C12 0,56 | (0,01-0,10) | | | | |
| | C12:1 0,65 | (0,03-0,29) | | | | |
| | C14 0,51 | (0,01-0,22) | | | | |
| C14:1 0,69 | (0,08-0,44) | | | | | |
| 40 | C8 0,28 | | Normal | Normal | Estudio normal | |
| | C6 0,13 | (0,01-0,13) | | | | |
| | C10 0,57 | (0,01-0,12) | | | | |
| | C10:1 0,14 | (0,02-0,19) | | | | |
| | C12 0,61 | (0,01-0,10) | | | | |
| | C12:1 0,65 | (0,03-0,29) | | | | |
| | C14:1 0,63 | (0,01-0,22) | | | | |
| | (0,04-0,33) | | | | | |

Se han estudiado 2 casos que presentaron niveles altos de de acilcarnitinas de cadena media y larga en el cribado. En ambos casos los estudios de confirmación fueron normales (tabla 27).

Se ha confirmado en el 71,4% (5/7) de los casos remitidos con aumento de C14:1 el resultado de VLCADD. En uno de ellos solo se ha encontrado una mutación, sin embargo los niveles elevados de acilcarnitinas C14:1, C14:2, C14 y C12 no permiten diferenciar si puede tratarse de un paciente afecto o un portador de la enfermedad (tabla 28). Los niveles de C14:1 (mediana y rango) en los confirmados fue de 2,65 $\mu\text{mol/L}$ (2,20-2,78) y en los no confirmados de 0,97 $\mu\text{mol/L}$ (0,73-1,22) (figura 17).

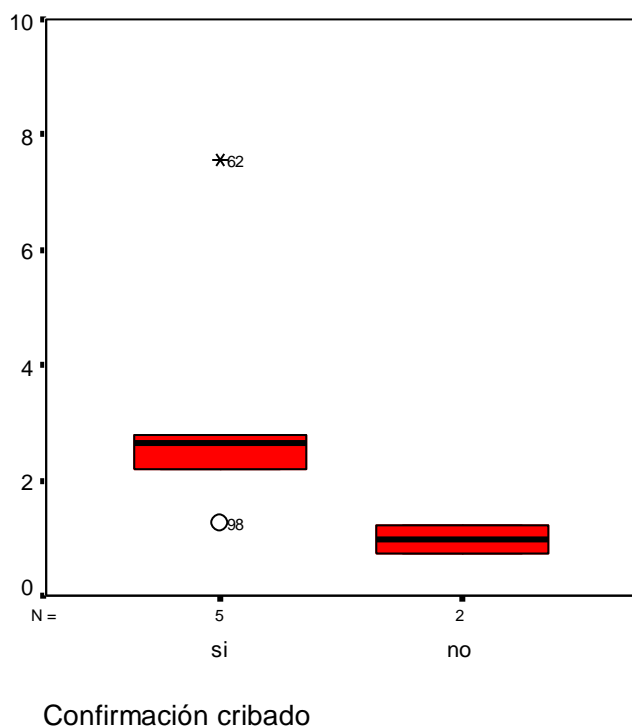


Figura 17: niveles de C14:1 ($\mu\text{mol/L}$) en el cribado en los casos remitidos.

Un caso con niveles aumentados de C16OH y otras acilcarnitinas de cadena larga (C16:1OH, C18OH, C18:1OH, C18:2OH) fue diagnosticado de LCHADD. En la tabla 29 se muestra los metabolitos de confirmación y el estudio genético.

Un caso con niveles aumentados de C14, C16, C18, C18:1 se ha diagnosticado de CACT (tabla 30). Este trastorno no está incluido en el programa de cribado.

El 50% (4/8) de los casos remitidos por aumento de C5DC se han diagnosticado de AG1. En la tabla 31 se muestran los metabolitos de confirmación y el estudio genético. Los niveles de C5DC (mediana y rango) en los casos confirmados fue de 1,45 $\mu\text{mol/L}$ (0,59-3,62) frente a 0,51 $\mu\text{mol/L}$ (0,39-0,60) en los no confirmados de AG1 (figura 18).

Tabla 28: Casos con aumento de C14:1 en el cribado. Se muestran los resultados alterados en el cribado y los estudios de confirmación: acilcarnitinas, ácidos orgánicos, estudio genético y diagnóstico.

| Caso | Cribado Acilcarnitinas (µmol/L) y valores de referencia | Muestra repetida cribado | Metabolitos de Confirmación CEDEM CAO (mmol/mol creat) | | Estudio molecular gen ACADVL | Diagnóstico |
|------|---|-----------------------------|--|----------------------|--|-------------|
| | | | Acilcarnitinas (µmol/L) | CAO (mmol/mol creat) | | |
| 45 | C14:1 2,78 (0,04-0,33) | | C14:2 0,56 (0,01-0,11) C14:1 1,58 (0,02-0,17) C14:0,34 (0,01-0,07) | Normal | c.685C>T(p.Arg229Term)/ c.848T>C(p.Val283Ala) | VLCADD |
| | C14:2 0,43 (0,01-0,07) | | | | | |
| | C14 1,09 (0,08-0,44) | | | | | |
| | C12:1 0,18 (0,01-0,22) | | | | | |
| | C12 0,32 (0,03-0,29) | | | | | |
| | C14:1/C2 0,20 (0,04-0,33) | | | | | |
| | C14:1/C12:1 15,44 (p99 4,50) C14:1/C16 1,07 (p99 0,13) | | | | | |
| 61 | C14 1,49 (0,08-0,44) | | C14:2 0,56 (0,01-0,13) C14:1 1,73 (0-0,17) C14 0,51 (0,01-0,09) C12 0,29 (0-0,17) C16:1 0,24 (0-0,08) | Normal | c.685C>T(p.Arg229Term)/ c.848T>C(p.Val283Ala) | VLCADD |
| | C14:1 2,65 (0,04-0,34) | | | | | |
| | C14:2 0,26 (0,01-0,06) | | | | | |
| | C16:1 0,56 (0,06-0,48) | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| 62 | C14:1 7,55 (p99 0,37) | Si | C12 0,37 (0,02-0,11) C14:2 0,65 (0,01-0,11) C14:1 1,69 (0,02-0,17) C14 0,42 (0,01-0,07) C16:2 0,10 (0-0,02) C16:1 0,14 (0-0,07) | Normal | c.761G>A (p.Gly254Asp) en homocigosis | VLCADD |
| | C14:2 0,67 (p99 0,09) | | | | | |
| | C14 3,49 (p99 0,50) | | | | | |
| | C12:1 0,78 (p99 0,27) | | | | | |
| | C12 1,54 (p99 0,41) | | | | | |
| | C14:1/C2 0,29 (p99 0,02) | | | | | |
| | C14:1/C12:1 9,68 (p99 4,50) C14:1/C16 1,05 (p99 0,13) | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| 74 | C14:1 2,20 (0,04-0,34) | | C14:2 0,21 (0,01-0,13) C14:1 0,50 (0-0,17) C14 0,23 (0,01-0,09) (0- 0,17) C12 0,26 | Normal | c.990_994delCAAGG(p.Phe330fs)/ ? | VLCADD |
| | C14 1,70 (0,08-0,44) | | | | | |
| | C14:2 0,13 (0,01-0,06) | | | | | |
| | C14OH 0,08 (0-0,04) | | | | | |
| | | | | | | |

| | | | | | | | | | |
|-----------|--|---|--|--|--|--|---|--|--|
| 75 | C12 0,65 C12:1 0,52 C14 0,60 C14:1 0,73 C14:2 0,09 C14OH 0,11 C16:1 0,63 C18:1OH 0,11 | (0,025-0,36) (0,01-0,30) (0,055-0,50) (0,03-0,43) (0,01-0,65) (0-0,05) (0,05-0,52) (0,01-0,06) | | Normal* | | Succínico Fumárico 3-OH- decanodibico | 184 (3-83) 53 (0-42) 25 (0-2)* | NR | Estudio normal |
| 76 | C12 0,89 C12:1 0,63 C14 1,42 C14:1 1,22 C14:2 0,12 C14OH 0,08 C16 7,53 C16:1 0,89 C16:1OH 0,10 C16OH 0,09 | (0,03-0,29) (0,01-0,23) (0,08-0,44) (0,04-0,34) (0,01-0,06) (0-0,04) (1,17-6,42) (0,06-0,48) (0,02-0,07) (0,01-0,08) | | Normal* | | Fumárico 2-oxoglutarico 4OHFenilacético 4OHFeniláctico 4OHFenilpirúvic | 122 (0-42) 2897 (11-883) 221 (0-99) 467 (0-17) 3085 (0-74)* | NR | Tirosinemia transitoria Tirosina 258 (68+-33) |
| 98 | C14:1 1,25 C14:2 0,16 C14 0,68 C14:1/C2 0,10 C14:1/C12:1 11,36 C14:1/C16 0,30 | (p99 0,37) (p99 0,09) (p99 0,50) (p99 0,02) (p99 4,50) (p99 0,13) | | C12 0,18 C14:2 0,23 C14:1 0,79 C14 0,19 | (0,02-0,11) (0,01-0,11) (0,02-0,17) (0,01-0,07) | | | c.520G>A(p.Val174Met)/ (c.1097G>A;c.1844G>A)(p.Arg366 His;p.Arg615Gln) | VLCADD |

*Controles posteriores normales; NR: no realizado

Tabla 29: Caso con aumento de C16OH en el cribado. Se muestran los resultados alterados en el cribado y los estudios de confirmación: acilcarnitinas, ácidos orgánicos, estudio genético y diagnóstico.

| Caso | Cribado Acilcarnitinas (µmol/L) | Metabolitos de confirmación CEDEM | | Estudio molecular <i>HADHA</i> | Diagnóstico |
|------|--|---|---|-------------------------------------|-------------|
| | | Acilcarnitinas (µmol/L) | Ácidos orgánicos (mmol/ mol creat) | | |
| 65 | C14 0,75 (0,08-0,44) C14:1 0,78 (0,04-0,33) C14:2 0,12 (0,01-0,07) C14:OH 0,21 (0,00-0,04) C16:1OH 0,41 (0,02-0,07) C16:1 0,85 (0,07-0,47) C16:OH 1,05 (0,01-0,05) C18:1OH 1,03 (0,01-0,06) C18:2 0,86 (0,07-0,59) C18OH 0,58 (0,00-0,04) C14:1/C2 0,09 (p 99 0,016) C14:1/C16 0,31 (p 99 0,11) C16OH/C16 0,44 (p99 0,015) C18OH/C18 0,61 (p99 0,043) | ↑ Acilcarnitinas de 12 a 18 átomos de carbono ↑ 3-OH acilcarnitinas de 12 a 18 átomos de carbono | Láctico 10425 (1-121) 2-OH butírico 139 (1-4) 3-OH-butírico 37 (0-11) 2-OH-isovalérico 24 (0-9) Adípico 65 (0-42) 3-OH-decanodioico 30 (0-2) | c.453+1G>A homocigosis en | LCHADD |

Tabla 30: Caso con aumento de C14, C16, C18, C18:1 en el cribado. Se muestran los resultados alterados en el cribado y los estudios de confirmación: acilcarnitinas, ácidos orgánicos, estudio genético y diagnóstico.

| Caso | Cribado Acilcarnitinas (µmol/L) | Metabolitos de confirmación CEDEM | | Estudio molecular SLC25A20 | Diagnóstico |
|------|---|---|---|--|-------------|
| | | Acilcarnitinas (µmol/L) | Ácidos orgánicos (mmol/ mol creat) | | |
| 63 | C4 3,07 (0,09-0,71) C4OH/C3DC 0,09 (0,03-0,30) C6 2,54 (0,02-0,12) C8 4,43 (0,01-0,13) C8:1 0,11 (0,01-0,10) C10:1 0,38 (0,02-0,19) C12:1 0,32 (0,03-0,29) C14:1 0,47 (0,01-0,22) C14:2 0,17 (0,08-0,44) C14OH 0,07 (0,04-0,33) C16:1 1,37 (0,01-0,07) C16OH 0,17 (0,00-0,04) C18 2,1 (1,22-6,50) C18:1 3,90 (0,07-0,47) C18:1OH 0,07 (0,02-0,07) C18:2 1,02 (0,01-0,05) C0 58,7 (0,40-1,95) C2 31,7 (0,87-3,69) (0,01-0,06) (0,07-0,59) (5,43-39,70) (9,20-54,30) | C12 0,36 (0,02-0,11) C14:1 0,33 (0,02-0,17) C14 0,70 (0,01-0,07) C16:1 0,89 (0,00-0,07) C16 5,35 (0,04-0,28) C18:1 1,58 (0,04-0,19) C18 0,59 (0,0-0,13) C6DC 0,13 (0,0-0,04) C10DC 0,41 (0,01-0,03) C16DC 0,28 (0,0-0,03) C18:1DC 0,19 (0,00-0,06) C0 5 (21,5-64,58) | Ac. Subérico 81 4-OH fenililáctico 27 4-OHfenilpirúvico 218 | c.536A>G (p.Aspt179Gly) en homocigosis | CACT |

Tabla 31: Casos con aumento de C5DC en el cribado. Se muestran los resultados alterados en el cribado y los estudios de confirmación: acilcarnitinas, ácidos orgánicos, estudio genético y diagnóstico.

| Caso | Cribado C5DC (µmol/L) y valores de referencia | Muestra repetida cribado | Metabolitos de confirmación CEDEM | | | | Estudio molecular gen GCDH | Diagnóstico |
|------|---|--------------------------|--|-----------------------------------|---|--|---|-------------|
| | | | Ácidos orgánicos (mmol/mol creat) | Acilcarnitinas en sangre (µmol/L) | Acilcarnitinas en orina (mmol/ mol creat) | | | |
| 18 | 0,7 (0,04-0,23) | | Fumárico 67 (0-42) 2-Oxoglutarico 1004 (1-883) Glutarico normal 3-OH-glutarico normal | C5 0,89 # C5DC 0,51 | C5DC normal | | Estudio normal | |
| 20 | 0,51 (0,04-0,23) | Si | Glutarico y 3-OH-glutarico normal normal | C0 8,35 # C5DC 0,10 | C5DC normal | | Prematuridad de 26 semanas Antibioterapia Hiperbilirrubinemia | |
| 38 | 0,28 0,23 * (0,04-0,23) | Si | Glutarico 3-OH-glutarico normal normal | C5DC 0,15 | C5DC 1,34 (0,25-1,25) | | Anemia neonatal Hiperbilirrubinemia | |
| 64 | 0,83 (0,04-0,23) | | Glutarico 36 (0-5) 3-OH-glutarico 38 (0-11) | C5DC 1,68 | | c.1234G>A (p.Val400Met) en homocigosis | AG1 | |
| 66 | 0,36 (0,04-0,23) | Si | - | - | | c.278A>G (p.His93Arg) en homocigosis | AG1 | |
| 71 | 0,51 0,12* (0,05-0,27) | Si | Glutarico 3-OH-glutarico normal normal | C5DC 0,17 | C5DC 68,57 (0,01-0,33) | | Gemelar y prematuridad Antibioterapia Hiperbilirrubinemia | |
| 89 | 2,07 (p99 0,26) | | Glutarico 239 (0-5) 3-OH-glutarico 27 (0-11) | C5DC 3,76 | C5DC 68,57 (0,25-1,25) | c.1234G>A(p.Val400Met)/c.1240C>T (Arg402Trp) | AG1 | |
| 90 | 5,17 (0,04-0,27) | | Glutarico 4921 (0-5) 3-OH-glutarico 187 (0-11) Glutarilglicina | C5DC 3,88 C0 4,47 | C5DC 170 (0,25-1,25) | c.946G>A(p.Ala304Thr)/c.1240C>T (p.Arg402Trp) | AG 1 | |

*2°Control; #: control posterior normal

Tabla 32: Casos con aumento de C3 en el cribado. Se muestran los resultados alterados en el cribado y los estudios de confirmación: aminoácidos, ácidos orgánicos, acilcarnitinas, vitamina B12, homocisteína, análisis efectuados en la madre y diagnóstico.

| Caso | Cribado C3 (µmol/L) y valores de referencia | Muestra repetida cribado | Metabolitos de confirmación CEDEM en el niño | | | | | Estudio en la madre | | Diagnósticos |
|------|---|--------------------------|--|---|---|-----------------------|------------------------|---------------------|----------------------------|--------------|
| | | | Aminoácidos en sangre y orina | Ácidos orgánicos (mmol/mol creat) | Acilcarnitinas en sangre C3 VN: 0.02-0.84 | B12 (pg/ml) (200-753) | Hcy (µmol/L) (6.3-2.4) | | | |
| 1 | C3 11.9 (p99 4.904) C3/C2 0.16 (p99 0.183) | | Normal | MMA 16 (0-11) | C3 0.65 | 187.3 | 5.1 | B12 446.5 | Déficit de B12 | |
| 13 | C3 7.70 (0.60-4.53) | | Normal | Normal | C3 0.22 | - | - | - | Estudio normal | |
| 14 | C3 5.24 (0.64-4.53) | | Normal | Normal | C3 0.47 | - | - | - | Estudio normal | |
| 21 | C3 5.82 (0.64-4.53) C3/C2 0.24 (p99 0.183) C3/Met 0.67 (p99 0.319) C4/C3 0.04 (p99 0.046) C5/C3 0.02 (p99 0.024) C3/C16 2.45 (p99 1.646) | | Normal | Láctico 209 MMA 32 2-oxoglutarato 1594 3-OH-decanodioico Z7 | C3 0.22 | 512.8 | 7.2 | Hcy y B12 normal | | |
| 22 | C3 9.06 (0.64-4.53) C3/C2 0.19 (p99 0.183) C3/Met 0.43 (p99 0.319) C4/C3 0.03 (p99 0.046) C5/C3 0.04 (p99 0.024) C3/C16 2.36 (p99 1.646) | | Normal | 2-oxoglutarato 1877 4-OH-fenilacético 242 MMA 14 Metilcitrico 16 | C3 0.65 | 267.9 | 7.3 | B12 623.4 | Hiperbilirrubinemia | |
| 25 | C3 13.6 (0.64-4.92) Glicina 1084 (216-869) | | Normal | 2-oxoglutarato 6060 * | C3 0.37 | - | - | - | Estudio normal | |
| 26 | C3 6.82 (0.60-4.53) C3/C2 0.17 (p99 0.184) C3/Met 0.34 (p99 0.319) C4/C3 0.06 (p99 0.052) C5/C3 0.02 (p99 0.023) C3/C16 1.52 (p99 1.569) | | Normal | Normal | C3 0.41 | - | - | - | Hiperbilirrubinemia | |
| 31 | C3 5.91 (0.60-4.53) C3/C2 0.23 (p99 0.184) C3/Met 0.31 (p99 0.319) C4/C3 0.04 (p99 0.052) C5/C3 0.03 (p99 0.023) C3/C16 2.54 (p99 1.569) | | Normal | MMA19 | C3 0.80 | - | - | - | Ictericia isoimmune anti B | |
| 32 | C3 14.8 (0.60-4.53) C3/C2 0.220 (p99 0.183) C3/Met 0.720 (p99 0.319) C4/C3 0.05 (p99 0.046) C5/C3 0.02 (p99 0.024) C3/C16 3.59 (p99 1.646) | | Normal | Normal | C3 0.35 | - | - | - | Ictericia isoimmune anti A | |

| | | | | | | | | | | |
|-----------|---|--|--------|---|--|----------------------------------|--------|------|-----------------------|---|
| 34 | C3 9,58 C2 79,5 C0 42 C3/C2 0,13 C3/Me1 0,31 C4/C3 0,05 C5/C3 0,03 C3/C16 2,04 | (0,60-4,53) (9,13-54,3) (6,08-39,7) (p99 0,183) (p99 0,319) (p99 0,046) (p99 0,024) (p99 1,646) | Normal | Fumárico 112 2-oxoglutarico 1881* | (0-42) (11-883) | C3 0,31 | 554,6 | 4,4 | - | Hiperbilirrubinemia |
| 37 | C3 4,53 C2 67,5 | (0,60-4,53) (9,2-54,30) | Normal | Normal | | C3 0,63 | - | - | - | Estudio normal |
| 39 | C3 14,9 C3/C2 0,204 C3/Me1 1,027 C4/C3 0,04 C5/C3 0,014 C3/C16 3,830 | (0,64-4,53) (p 99 0,183) (p99 0,319) (p99 0,042) (p99 0,024) (p99 1,646) | Normal | 2-oxoglutarico 1070 4-Oxifenilacetico 142 MMA 21 Succinico 132 HVA 33 Vanilmandélico 21* | (11-883) (0-99) (0-11) (3-83) (0-23) (0-16) | C3 0,28 | 359 | - | B12 526,6 | Hiperbilirrubinemia |
| 42 | C3 12,5 C3/C2 0,34 C3/Me1 2,15 C4/C3 0,016 C5/C3 0,016 C3/C16 2,38 C16:1OH 0,11 | (0,60-4,53) (p99 0,184) (p99 0,319) (p99 0,052) (p99 0,023) (p99 1,569) (p99 0,07) | Normal | Oxálico 131 HVA 36 | (40-54) (3-23) | C3 0,24 | - | - | - | Antibioterapia durante el parto |
| 48 | C3 10,16 C0 44,5 C2 75,3 Glicina 1470 C3/C2 0,14 | (0,6-4,53) (5,43-39,7) (9,20-54,30) (217-879) (p99 0,184) | Normal | Normal | | C3 0,46 | - | - | - | Rotura uterina |
| 73 | C3 5,69 C3/C2 0,32 | (0,60-4,53) | Normal | Normal | | C3 0,43 | 126,8 | 12,5 | B12 253,20 | Déficit de B12. |
| 79 | C3 4,23 C2 17,1 C3/C2 0,25 | (0,48-5,77) (7,14-62,53) (p99 0,20) | Normal | MMA 245 Meticitrco 38 | (0-11) (0-11) | C3 4,38 C0 39,21 C4DC 0,03 | 166,90 | 40 | B12 116,60 Hcy 8,3 | Déficit de B12 materna |
| 81 | C3 4,33 C3/C2 0,23 2º C3 1,23 C3/C2 0,23 | (0,48-5,77) | Normal | MMA 66 Meticitrco 25 | (0-11) (0-11) | C3 2,29 C0 39,88 C8:1 0,41 | 418,7 | 22,6 | Hcy 49,6 B12 85,42 | Déficit de B12 materna |
| 82 | C3 4,40 C3/C2 0,12 | (0,64-4,92) | Normal | MMA 167 Meticitrco 32 | (0-11) (0-11) | C3 3,1 | 140,90 | 31 | B12 164,30 | Hiperbilirrubinemia Déficit de B12 materna |

MMA: ácido metilmalónico; Hcy: homocisteína; B12: vitamina B12; * Control posterior normal

Tabla 33: Casos con aumento de C5 en el cribado. Se muestran los resultados alterados en el cribado y los estudios de confirmación: ácidos orgánicos acilcarnitinas, y diagnóstico.

| Caso | Cribado acilcarnitinas ($\mu\text{mol/L}$), aminoácidos ($\mu\text{mol/L}$) y valores de referencia | Muestra repetida cribado | Metabolitos de confirmación CEDEM | | Diagnóstico | Problemas perinatales |
|-----------|--|--------------------------|---|--|----------------|---|
| | | | Ácidos orgánicos (mmol/mol creat) | Acilcarnitinas ($\mu\text{mol/L}$) | | |
| 17 | C2 2,11 (9,13-54,30) C3 0,21 (0,64-4,53) C4OH/C3DC 0,02 (0,03-0,30) C5 0,96 (0,04-0,41) Phe 58,3 (31-94,42) Phe/Tyr 4,0 (p99 1,5) | Si | Normal | C0 16,96 (21,5-64,58) C5 0,03 (0,03-0,20) | Estudio normal | RNPT PAEG. Asfixia perinatal, hipotermia, coagulopatía, trombopenia, anemia, hemorragia digestiva. Tratamiento con ampicilina y gentamicina |
| 19 | C5 0,82 (0,04-0,49) Arg 84,5 (2,01-34,4) Leu 280 (64,4-245) Val 284 (52,8-229,6) | | Metilmalónico 26 (0-11)* | C5 0,15 (0,03-0,20) | Estudio normal | Tratamiento con ampicilina y gentamicina |
| 28 | C5 0,67 (0,04-0,60) | Si | Láctico 303 (1-121) HVA 33 (0-23) Vanilmándélico 20 (0-16)* | C5 0,21 (0,03-0,20) | Estudio normal | CIR, síndrome dismórfico, ingreso por bajo peso. Tratamiento antibiótico |
| 30 | C5 0,75 (p99 0,39) C5/C0 0,08 (p99 0,02) C5/C2 0,08 (p99 0,02) C5/C3 0,88 (p99 0,33) | Si | Normal | C5 0,20 (0,03-0,20) | Estudio normal | Cardiopatía: Trasposición de grandes arterias. Tratamiento con ampicilina y gentamicina. |
| 67 | C5 0,32 (0,04-0,60). 2ª C5 0,7 | Si | Normal | C5 1,16 (0,03-0,20) Pivaloicarnitina | Estudio normal | |

*Control normal

Tabla 34: Casos con aumento de C5OH en el cribado. Se muestran los resultados alterados en el cribado y los estudios de confirmación: ácidos orgánicos acilcarnitinas, estudio genético, análisis realizados a las madres y diagnóstico.

| Caso | Cribado Acilcarnitinas (µmol/L) y valores de referencia | Muestra repetida cribado | Metabolitos de confirmación niño CEDEM | | Estudio realizado en la madre | Diagnóstico en el niño |
|------|--|--------------------------|--|--|-------------------------------|---|
| | | | Ácidos orgánicos (mmol/ mol creat) | Acilcarnitinas (µmol/L) | | |
| 10 | C5OH/C4DC 5,03 (0,07-0,35) C5OH/CO 0,54 (p99 0,028) C5OH/C8 503 (p99 13,190) | | Normal | C5OH 0,32 (0,01-0,05) CO 19,97 (21,5-64,58) | 3-MCC | 3-MCC materna Portador c.872C>T (p-Ala291Val) en el gen MCCC1 |
| 12 | C5OH/C4DC 2,11 (p99 0,350) | | Succínico 133 (3-83) 2-oxoglutarico 1067 (11-883) 4-OH-tienipiruvico 176 (0-74)* | C5OH 0,21 (0,01-0,07) | 3-MCC | 3-MCC materna Portador c.578G>A (p-Arg193His) en el gen MCCC2 |
| 15 | C5OH 0,62 (p99 0,38) C6DC 0,11 (p99 0,23) C5OH/C8 16,33 (p99 13,19) C5OH/CO 0,01 (p99 0,028) A los 10 días C5OH 0,59 C6DC 0,06 | Si | MMA 20 (0-11) Metilcitrico 19 (0-11) * | C5OH 0,11 (0,01-0,05) | Normal | Estudio normal |
| 23 | C5OH/C4DC 1,62 (0,08-0,39) C5OH/C8 27 (p99 13) C5OH/CO 0,09 (p99 0,027) | | Normal | C5OH 0,04 (0,01-0,05) | | Estudio normal |
| 33 | C5OH 1,24 (0,07-0,35) C6DC 0,08 (p99 0,23) C5OH/CO 0,04 (p99 0,028) C5OH/C8 31 (p99 13,19) | | Normal | C5OH 0,03 (0,01-0,05) | Normal | Estudio normal. |
| 41 | C5OH 0,87 (p99 0,35) C6DC 0,07 (p99 0,23) A los 13 d 0,65 A los 33 d 0,49 | Si | Normal | C5OH 0,10 (0,01-0,05) | 3-MCC | 3-MCC materna |
| 57 | C5OH 1,13 (0,08-0,35) C6DC 0,06 (p99 0,23) C5OH/C8 28,25 (p99 13,19) C5OH/CO 0,049 (p99 0,028) SA 0,79 (p99 0,56) | | 3-OH isovalérico 79 (0-23) Succínico 117 (3-83) 2-oxoglutarico 3257 (11-883) | CO 68 (19,4 ±7,5) C5OH 0,35 (0,01-0,07) | | Estudio enzimático MCC (betametiltironil CoA carboxilasa 43% Ratio PCC/MCC ↑ Compatible con 3-MCC Se van a su país de origen. Sinestudio genético |

*Control posterior normal

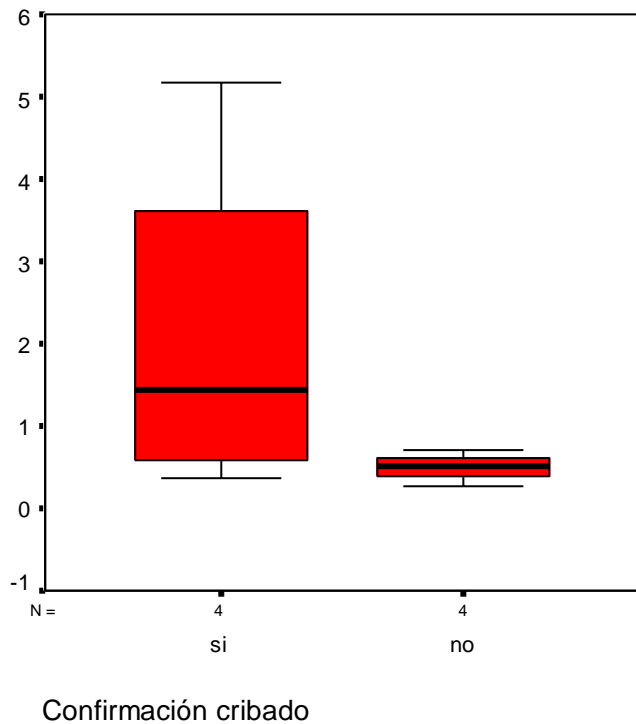


Figura 18: niveles de C5DC en los casos remitidos: Niveles de C5DC de 1,45 $\mu\text{mol/L}$ (0,59-3,62) en los confirmados con AG1 y 0,51 $\mu\text{mol/L}$ (0,39-0,60) en los no confirmados de AG1.

Se han estudiado 18 casos remitidos con aumento de C3. Ninguno de ellos se ha diagnosticado de acidemia propiónica o metilmalónica (ECM incluidos en el programa de cribado). Sin embargo en 5 de los 18 se ha encontrado un déficit de B12. Estos casos presentan aumento de ácido metilmalónico en orina así como de homocisteína en plasma (tabla 32). Los niveles de C3 (mediana y rango) en los no confirmados de ECM fue de 9,06 $\mu\text{mol/L}$ (5,91-12,50) y en los déficit de B12 de 4,40 $\mu\text{mol/L}$ (4,33-5,69) (Figura 19), mientras que el ratio de C3/C2 en los no confirmados fue de 0,20 (0,17-0,23) y en los déficit de B12 de 0,23 (0,16-0,25) (figura 20). No hemos encontrado asociación significativa entre el antecedente de hiperbilirrubinemia y los casos no confirmados de C3 ($p=0,596$).

Se han estudiado 5 casos con aumento de C5 en el cribado. La mediana y rango fue de 0,75 $\mu\text{mol/L}$ (0,49-0,89). En ninguno de ellos se confirmó el resultado. En 4 de ellos estaba relacionado con tratamiento antibiótico (ampicilina, gentamicina) durante el periodo neonatal (tabla 33).

Se han estudiado 7 casos con aumento de C5OH (tabla 34). En 1 se confirmó el resultado, siendo diagnosticado de 3-MCC, que no está incluida en el programa de cribado. Otros 3 casos de déficit de 3-MCC fueron diagnosticados en las madres, siendo los niños heterocigotos. El paciente confirmado presenta niveles de C5OH de

1,13 $\mu\text{mol/L}$, mientras que los no confirmados presentan niveles (mediana y rango) de 1,24 $\mu\text{mol/L}$ (0,93-1,43) y los casos secundarios a 3-MCC materna 2,11 $\mu\text{mol/L}$ (1,49-3,57) (figura 21).

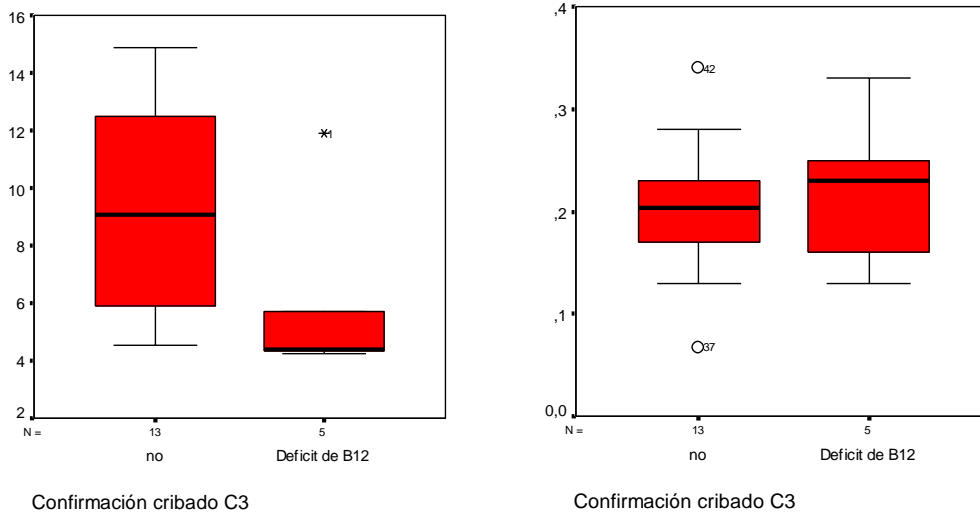


Figura 19 y 20: Niveles de C3 y ratio C3/C2. Los niveles de C3 (mediana y rango) en los casos no confirmados de ECM fue de 9,06 $\mu\text{mol/L}$ (5,91-12,50) y en los déficits de B12 de 4,40 $\mu\text{mol/L}$ (4,33-5,69). El ratio de C3/C2 en los no confirmados fue de 0,20 (0,17-0,23) y en los déficits de B12 de 0,23 (0,16-0,25).

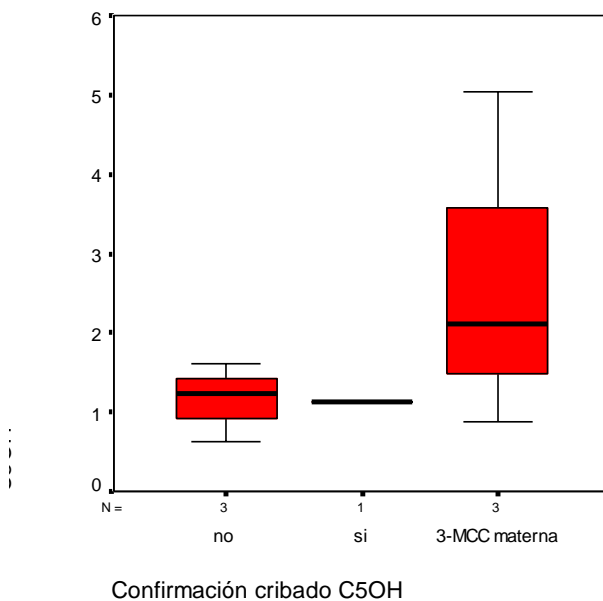


Figura 21: Niveles de C5OH (mediana y rango) en los casos remitidos. El caso confirmado presenta niveles de C5OH de 1,13 $\mu\text{mol/L}$, mientras que los no confirmados presentan niveles de 1,24 $\mu\text{mol/L}$ (0,93-1,43) y los casos secundarios a 3-MCC materna los niveles eran de 2,11 $\mu\text{mol/L}$ (1,49-3,57).

7.5.3. Especificidad, tasa de falsos positivos y valor predictivo positivo del cribado neonatal

Calculamos la especificidad (E) de la prueba con los casos detectados de ECM. Los casos FP son 68, por tanto la especificidad es $83.676/83.744$: 99,92%

La tasa de falsos positivos TFP: $1-E$ es del 0,08 %

El valor predictivo positivo (VPP) de la prueba es: $VP/FP+VP= 30,61\%$

Calculamos también el VPP según el marcador de cribado alterado (tabla 35). Hemos encontrado mayor VPP de la prueba de un ECM si el metabolito alterado es metionina (100%), fenilalanina (87,5%) y las acilcarnitinas de cadena larga (77,78%).

Tabla 35: VPP de la prueba según marcador alterado en el cribado.

| Metabolito alterado | Confirmación bioquímica (por ECM y otras causas) | Confirmación ECM |
|--------------------------------|---|------------------|
| Phe | 7/8 (87,5%) | 7/8 (87,5%) |
| Tyr | 3/3 (100%) | 0/3 (0%) |
| Met | 2/2 (100%) | 2/2 (100%) |
| Leu y otros aminoácidos | 0/3 (0%) | 0/3 (0%) |
| C0 | 13/19 (68,4%) | 1/19 (5,2%) |
| C8,C10 | 8/16 (50%) | 8/16 (50%) |
| Acilcarnitinas de cadena larga | 7/9 (77,8%) | 7/9 (77,8%) |
| C5DC | 4/8 (50%) | 4/8 (50%) |
| C3 | 5/18 (27,8%) | 0/18 (0%) |
| C5 | 0/5 (0%) | 0/5 (0%) |
| C5OH | 4/7 (57,1%) | 1/7 (14,3%) |

7.6. Evolución de los pacientes afectos ECM

Tiempo de seguimiento

El tiempo de seguimiento en años de los casos remitidos expresado como mediana y rango intercuartil ha sido de 2,03 años (1,40-2,53) en ECM (N=30) y de 0,93 años (0,63-1,10) en el resto (N=68). En la tabla 36 se muestra el tiempo de seguimiento por tipo de ECM.

Tabla 36: tiempo de seguimiento en años (mediana y rango intercuartil) de los casos diagnosticados de ECM (aminoacidopatías, trastornos de la oxidación de los ácidos grasos y acidurias orgánicas) y no confirmados de ECM.

| Total (N=98) | Aminoacidopatías (N= 9) | Trastornos de la oxidación de los ácidos grasos (N=16) | Acidurias orgánicas (N=5) | No ECM (N=68) |
|------------------|----------------------------|---|------------------------------|------------------|
| 0,99 (0,76-1,66) | 2,20 (1,67-2,43) | 2,22 (1,05-2,72) | 1,54 (1,16-1,89) | 0,93 (0,63-1,10) |

Controles bioquímicos realizados (figura 22)

El número de controles bioquímicos (mediana y rango) solicitados a los laboratorios externos excluyendo los casos con hiperfenilalaninemia dado que tienen una serie de controles determinados en su domicilio ha sido de 2 (rango 1-3, N=91). Si se clasifica por tipo de enfermedad en MCADD (N=7): mediana 3 (rango 2-4), FAO no MCADD (N=8): mediana 4 (rango 1,25-4) y en AG1 (N= 4): mediana 2,5 (rango: 1,25-3,75).

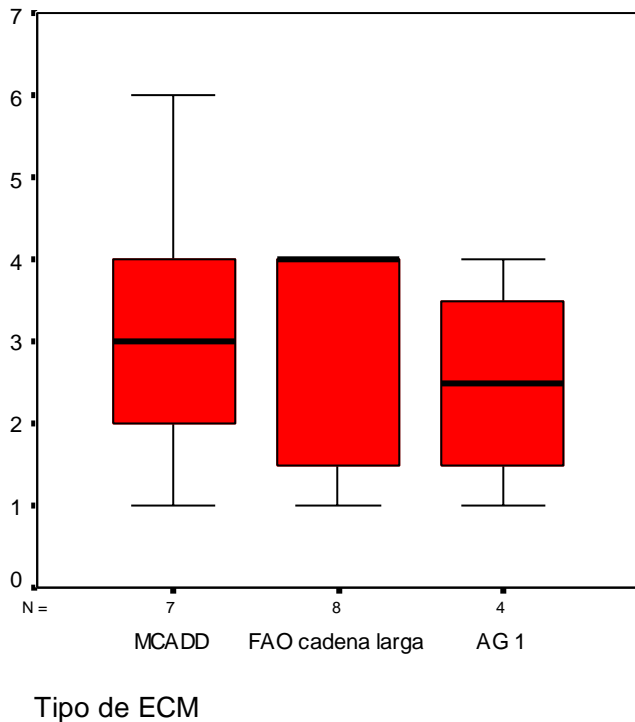


Figura 22: número de análisis bioquímicos de control enviados al CEDEM (laboratorios externos) realizados durante el periodo de estudio según tipo de ECM

7.6.1. Sintomatología al diagnóstico.

La relación de los síntomas y alteraciones de laboratorios según ECM previos a los resultados de cribado neonatal se reflejan en la tabla 37. En resumen, 8 casos presentaron síntomas previos a los resultados del cribado neonatal: 3 casos con hipoglucemia, 1 caso con acidosis metabólica, hipoglucemia e hiperamoniemia, 1 caso con acidosis metabólica, hiperamoniemia, hipoglucemia, aumento de CK y signos de cardiopatía, 2 casos con macrocefalia (uno de ellos también presentaba hipotonía), 1 caso tuvo un infarto parieto-occipital izquierdo. Han sido diagnosticados de un ECM 6 de los 8 casos.

7.6.2. Tratamiento farmacológico

Dependiendo del déficit enzimático causal 28 casos han recibido tratamiento con fármacos (tabla 38).

Tabla 37: Se refleja la sintomatología previa, edad de inicio síntomas (días) y edad al resultado del cribado

| Caso | Hipoglucemia | Acidosis metabólica | ↑Amonio | ↑CK | Miocardiópatía | Macrocefalia | Otro | Edad síntomas | Edad resultado cribado | Diagnóstico |
|------|--------------|---------------------|---------|-----|----------------|--------------|---------------------------|---------------|------------------------|----------------|
| 18 | + | | | | | | | 1 | 8 | Estudio normal |
| 56 | | | | | | | Infarto parieto-occipital | 1 | 16 | MCADD |
| 63 | + | + | + | | | | | 1 | 14 | CACT |
| 65 | + | + | + | + | + | | | 1 | 8 | LCHADD |
| 86 | + | | | | | | | 1 | 17 | Portador CUID |
| 89 | | | | | | + | | 10 | 10 | AG1 |
| 90 | | | | | | + | Hipotonía | 11 | 11 | AG1 |
| 92 | + | | | | | | | 1 | 17 | MCADD |

Tabla 38: Tratamiento farmacológico según patología.

| | Patología | Edad inicio de tratamiento en días (mediana y rango) | Tipo de tratamiento y dosis (mediana y rango) |
|---|------------------------------------|--|---|
| ECM | PCBD (N=1) | 32 | BH4 10 mg/kg/día (se retira a los 14 m) |
| | CBS (N=1) | 22 | Hidroxicobalamina 1 mg/día oral Piridoxina 225 mg/día Ac fólnico 5 mg/día |
| | AG1 (N=4) | 10 (10,10,5) | Carnitina (mg/kg/día): 100 (100-111,25) Riboflavina (mg/día): (N=3) 150 (100-200) |
| | MCADD (N=7) | 16,67 (11-21) | Carnitina (mg/kg/día): 50 (50-90) |
| | CUD (N=1) | 50 | Carnitina (mg/kg/día): 190 |
| | LCHADD (N=1) | 2 | Carnitina (mg/kg/día): 16 Riboflavina 200 mg/día DHA 200 mg/día |
| | VLCADD (N=5) | 24 (9,5-32,5) | Carnitina (mg/kg/día): 13 (12,50-16) |
| | MADD (N=1) | 196 | Riboflavina (mg/día): 200 |
| | CACT (N=1) | 1 | Carnitina (mg/kg/día): 27 DHA (mg/día): 63 |
| Otras patologías con alteraciones metabólicas secundarias | Déficit materna de carnitina (N=2) | 21 (17-25) | Carnitina (mg/kg/día). 82,50 (65-100) |
| | Déficit de Vitamina B12 (N=4) | 33,50 (21,25-59,25) | Hidroxicobalamina* 1 mg/día im inicial y 1 mg dos veces a la semana (3 sem) 1 mg/día oral (6 m) 1 mg/día oral (1,5 m) 1 mg/día im y luego 1 mg/día oral 10 días |

*Cada paciente fue tratado con diferentes pautas.

7.6.3. Tratamiento nutricional

El tratamiento nutricional ha sido necesario en 25 de los 30 casos diagnosticados de ECM. El tipo de alimentación inicial, a los 6, 12 y 24 meses de edad se muestra en la figura 23.

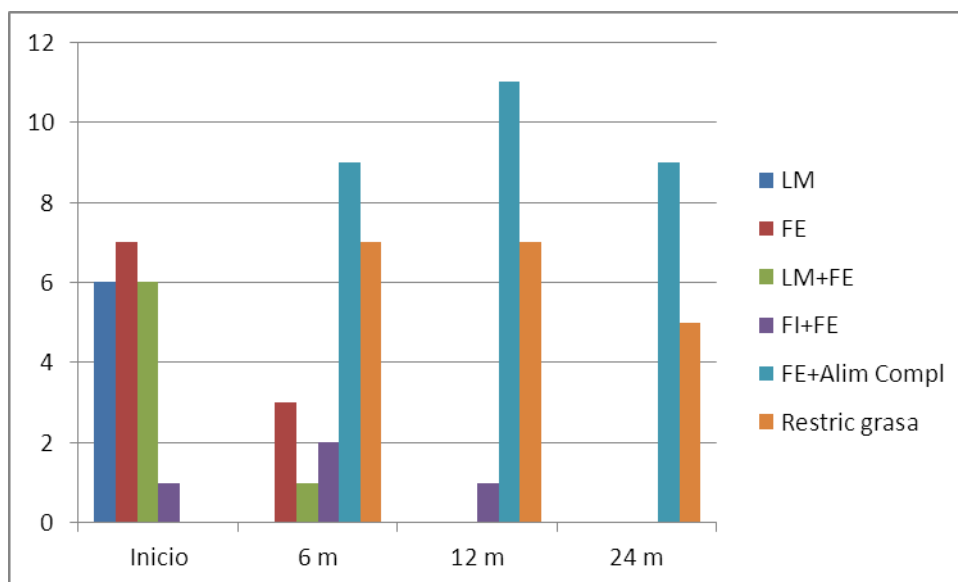


Figura 23: tipo de alimentación recibido durante el seguimiento de los pacientes. LM: Lactancia materna; FE: Fórmula especial; FI: Fórmula de inicio; Alim Compl: Alimentación complementaria; Restric grasa: Restricción grasa.

Los casos diagnosticados de PKU reciben una dieta restringida en fenilalanina y suplementada con aminoácidos. El paciente afecto de CBS realiza una dieta restringida en metionina y suplementada con aminoácidos exento en metionina. El aporte recibido de proteínas naturales, tanto proteínas de alto valor biológico, como de bajo valor biológico, y de suplementos exentos en aminoácidos precursores y kcal en aminoacidopatías se muestran en la tabla 39. El paciente con MAT no precisa tratamiento dietético.

Los pacientes con AG1 reciben tratamiento nutricional con dieta restringida en lisina. El caso diagnosticado de 3-MCC no precisó tratamiento dietético (tabla 40).

Los pacientes con MCADD reciben dieta baja en grasas, evitando el ayuno. En la tabla 41 se muestra el tiempo máximo de ayuno de los casos diagnosticados durante el seguimiento. A partir del año de edad se suplementa la toma nocturna con almidón de maíz crudo que aumenta la tolerancia al ayuno.

Los trastornos de de la oxidación de los ácidos grasos de cadena larga han sido tratados con dieta restrictiva en grasas de cadena larga. El aporte de ácidos grasos de cadena larga es <10% en todos los casos. El tiempo de ayuno varía en función de la edad (tabla 42).

Todos los pacientes con ECM son informados verbalmente en las consultas y por escrito del protocolo de tratamiento de la enfermedad y del régimen nutricional de

emergencia que deben realizar en episodios susceptibles de descompensación metabólica. Estos protocolos están adjuntos en la historia electrónica del hospital.

Tabla 39: Tratamiento nutricional en los ECM de aminoácidos

| PKU (N=3) | Inicio | 6 m | 12 m | 24 m |
|-----------------|--|-----------------|------------------|----------|
| PAVB g/día | Inicialmente 0 y se aumenta según tolerancia | 4,5 / 4,8 / 3,7 | 4 / 4,8 / 3 | 3 / 3,3 |
| PBVB g/día | 0 | 1,5 / 0,5/ 1,7 | 4 / 2,5 / 2,5 | 3 / 2,5 |
| FE g/kg/día | 3 | 2,06 / 2,5/1,96 | 2,3 / 2,05/ 1,57 | 2 / 1,7 |
| Kcal /kg/día | 120/103/104 | 112 / 126 / 110 | 112 / 142 / 95 | 108 / 88 |
| CBS (N=1) | Inicio | 6 m | 12 m | 24 m |
| PAVB (g/kg/día) | 1 | 0,8 | 0,72 | 0,6 |
| PBVB (g/kg/día) | 0 | 0,2 | 0,35 | 0,36 |
| FE g/kg/día | 1 | 1 | 1 | 0,89 |
| Kcal/kg/día | 104 | 100 | 106 | 110 |

FE (Fórmula especial exento en aminoácidos), PAVB (proteína de alto valor biológico), PBVB (proteína de bajo valor biológico)

Tabla 40: Tratamiento nutricional en las acidurias orgánicas

| AG 1 (N=4) | Inicio | 6 m | 12 m | 24 m |
|-----------------|-----------------|----------------------|-------------------------|-------------|
| PAVB (g/kg/día) | 1,1 / 0,9 | 0,77 / 0,85 / 0,65 | 0,5 / 0,45 / 0,5 / 0,55 | 0,75 / 0,45 |
| PBVB (g/kg/día) | 0 | 0,12 / 0/ 0 | 0,47 / 0,27 / 0,16 / 0 | 0,55 / 0,25 |
| FE g/kg/día | 1,26 / 1,6/ 1,5 | 2,2 / 1,5 / 1 / 1,35 | 1,13 / 0,8/ 0,8 / 1,25 | 1 / 0,83 |
| Kcal/kg/día | 131 / 117 | 104 / 98 / 85 | 170 / 93 / 79/ 91 | 190 / 95 |
| Tiempo de ayuno | < 3 h | < 4h | < 4h | <6 h/ <4 h |

FE (Fórmula especial exento en aminoácidos), PAVB (proteína de alto valor biológico), PBVB (proteína de bajo valor biológico)

Tabla 41: Tiempo de ayuno en los casos diagnosticados de MCADD

| MCADD (N=7) | Inicio | 6 m | 12 m | 24 m |
|-------------|------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Ayuno | <3 h LM (5/7) | <4 h (5/7) <3 h (2/7) | <4 h (3/7) <6 h (4/7) | <6 h (4/5) <8 h (1/5) |

Tabla 42: Tratamiento nutricional en los trastornos de la oxidación de los ácidos grasos de cadena larga

| FAO cadena larga | Inicio | 6 m | 12 m | 24 m |
|------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------|-------------------------|
| Lípidos g/kg/día | 3 | 2 (1,42-2,60) | 2,08 (1,44-2,61) | 2,62 (2,51-2,87) |
| LCT (% VCT) | 4,58 (3,54-4,68) | 3,65 (1,80-4,40) | 8,30 (3,85-8) | 5 (4,5-5,3) |
| MCT (% VCT) | 17,60 (17,35-20) | 14,20 (11,40-17,70) | 12,30 (7,65-16,40) | 17,60 (17,50-17,80) |
| Kcal /kg/día | 111 (109,50-115,50) | 100 (100-104) | 95 (76,5-117,5) | 110 (101,25-118,75) |
| Ayuno | < 3 h | <4 h | <4 h (1 /5) < 6 h (4/5) | <4h (1/3) <6 h (2/3) |

Al inicio los casos de CACT y LCHADD toma FE (Monogen®), los casos de VLCADD toman 3/5 FE y LM y 2/5 FE; LCT (triglicéridos de cadena larga), MCT (triglicéridos de cadena media), VCT (Valor calórico total)

7.6.4. Evolución clínica de los casos diagnosticados de ECM

7.6.4.1. Somatometría

Los pacientes presentan un peso, talla y PC al inicio del tratamiento dentro de límites normales pero aumentaron durante el seguimiento manteniéndose normales con mejoría (tabla 43). En la figura 24 se muestra la evolución antropométrica.

Tabla 43: Peso, talla, y perímetro craneal (z-score) y kcal de los pacientes con ECM

| | Inicio | 6 m | 12 m | 24 m |
|------------------------------------|------------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Peso (z score) | -0,58 (-1,24- -0,03) N=29 | -0,18 (-0,70-0,29) N=30 | 0,15 (-0,58-0,82) N=28 | 0,50 (-0,40-1,90) N=19 |
| Talla (z score) | -0,49 (-1,35-0,20) N=27 | -0,10 (-0,80-0,62) N=29 | 0,01 (-1,00-1,00) N=27 | 0,40 (-0,30-1,30) N=19 |
| Perímetro craneal (z score) | -0,05 (-0,58-0,64) N=25 | 0,21 (-0,60-0,84) N=26 | 0,47(-0,02-1,20) N=26 | 0,50 (-0,45-1,07) N=18 |
| Kcal*/kg/día | 117 (106-125,5) *N=9 | 100,5 (99,5-110,5) N=14 | 95 (86,5-120,5) N=13 | 106,50 (92,75-116,25) N=10 |

*El N es bajo porque algunos pacientes estaban con LM y no se puede calcular el total de kcal.

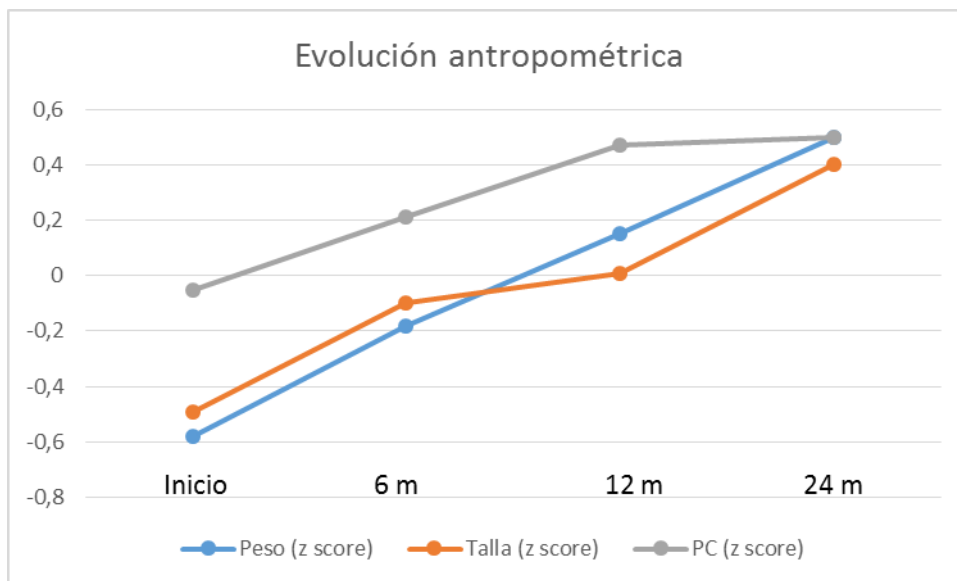


Figura 24: Evolución de peso, talla y perímetro craneal de los casos diagnosticados de ECM durante el seguimiento.

7.6.4.2. Episodios de descompensación metabólica durante el periodo de seguimiento.

7.6.4.2.1. Episodios intercurrentes con riesgo de descompensación metabólica

Los pacientes que han presentado episodios intercurrentes con riesgo de descompensación metabólica (infecciones, cirugías, vacunaciones, etc) han sido 14 casos (4 AG1, 3 VLCADD, 4 MCADD, 1 LCHADD, 1 CACT y 1 MADD).

Durante el periodo de estudio se registraron 33 episodios intercurrentes en estos 14 pacientes: 25 infecciones (75,8%), 3 cirugías (9,1%), 2 vacunas (6,1%) y 3 episodios de otro tipo. El número de episodios por paciente es de 1 (0-3), expresados como mediana y rango intercuartil.

El número de episodios (mediana y rango) por tipo de enfermedad es: en MCADD 1 (0-1), FAO de cadena larga 1,50 (0,25-2,75) y en la AG1 2 (1- 8,25), ver figura 25. En 29 de los 33 episodios (87,9 %), se utilizó el régimen de emergencia, 28 episodios (84,8%) precisaron ingreso y 10 (30,3%) cursaron con descompensación. La relación entre el tipo de enfermedad e ingreso fue no significativa ($p=0,301$).

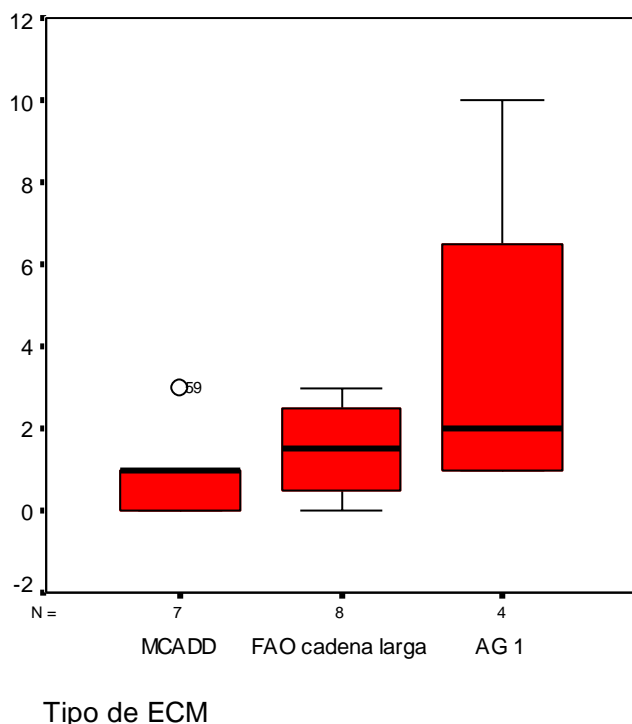


Figura 25: Número de episodios con riesgo de descompensación en los ECM.

Se utilizó el protocolo de emergencia según la enfermedad y régimen de emergencia en todos ellos excepto en uno de los pacientes con AG1. La familia no realizó las recomendaciones dadas en consulta a pesar de haber sido informados del tratamiento.

La duración de la hospitalización (mediana y rango) fue de 6 días (rango: 4-10,5), siendo mayor en los pacientes con AG1 (N=14): 7 días (rango: 4,75-18) frente a los trastornos de la oxidación de los ácidos grasos. En los casos con MCADD (N =4) fue de 3,5 días (rango: 3-4,75) y en los FAO de cadena larga (N =7) de 6 días (rango: 4-6) (figura 26). La media de días de hospitalización en los FAO fue de 5 días (rango: 3-6), frente a 7 días (4,75-18) en las acidurias orgánicas. Sin embargo la diferencia no es significativa ($p=0,064$).

La edad a la que ocurre el primer episodio susceptible de descompensación en el total de casos es de (mediana 213 días, rango: 84,25-398,00 días) (N=14). En los casos con MCADD fue a los 362 días de vida (202-493,50); en los FAO de cadena larga ocurrió a los 188 días (64,5-486) y en AG1 a los 130,50 días (33,25-407) (figura 27).

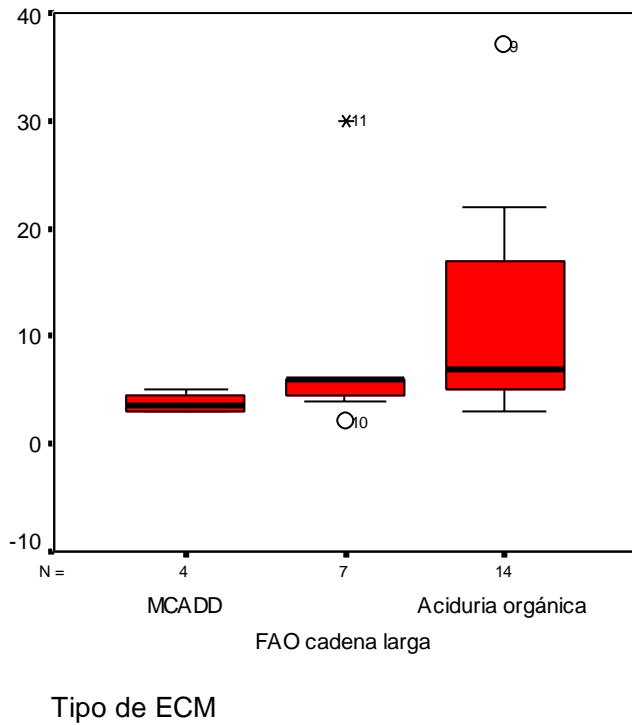


Figura 26: Tiempo de hospitalización (días) por tipo de ECM.

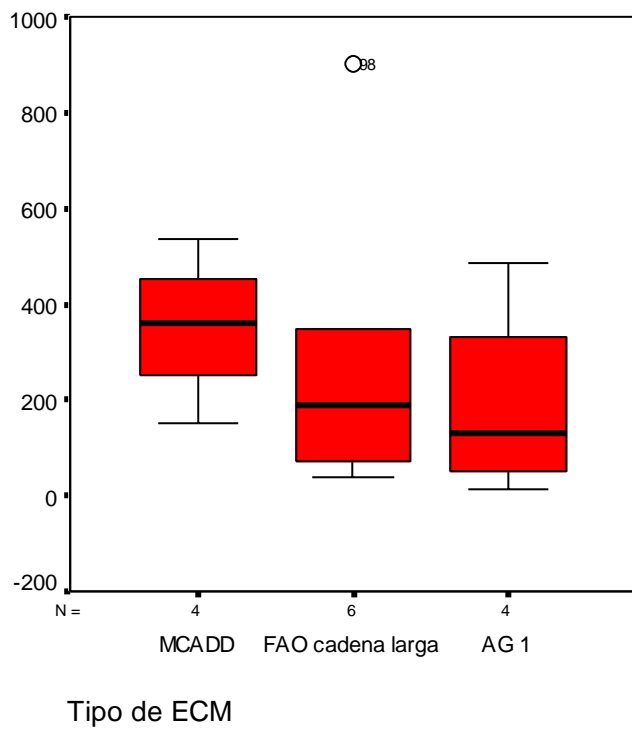


Figura 27: Edad (días) del primer episodio con riesgo de descompensación

No hemos encontrado diferencias significativas en cuanto al número de episodios susceptibles de descompensación entre el grupo de defectos de la oxidación de los ácidos grasos y el grupo de acidurias orgánicas ($p= 0,440$), ni la edad del primer episodio ($p=0,396$).

En la figura 28 se muestra los episodios susceptibles de descompensación por enfermedad.

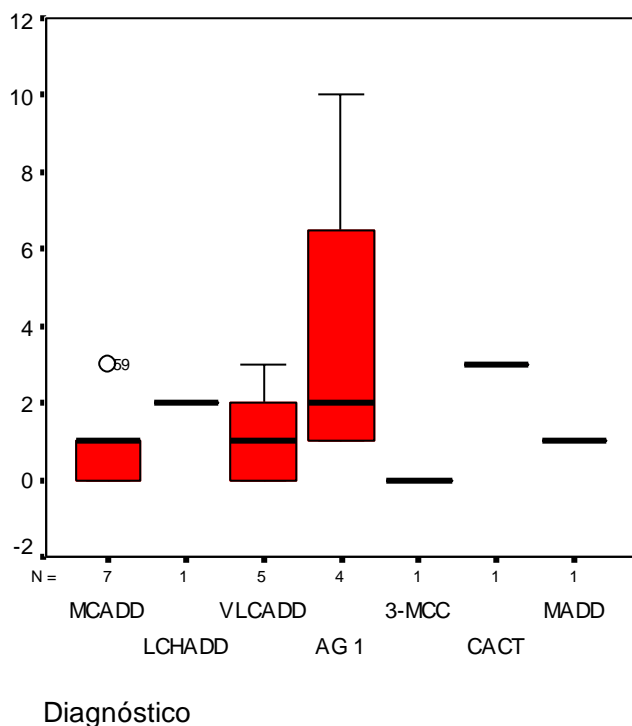


Figura 28: Número de episodios susceptibles de descompensación metabólica en relación con el tipo de ECM.

7.6.4.2.2. Descompensaciones metabólicas

Si tenemos en cuenta las descompensaciones metabólicas, ningún caso con MCADD ha presentado datos de descompensación metabólica. Los casos con FAO de cadena larga presentaron un número (mediana y rango) de 0,5 (rango: 0-1) y los de AG1 0,5 (rango: 0-2,5) (figura 29). Los pacientes con VLCADD que sufrieron descompensación presentaron rabdomiolisis y dos casos con AG1 una crisis encefalopática. Uno de estos no realizó el régimen de emergencia durante un cuadro febril con vómitos y el otro caso ocurrió tras una gastroenteritis visitando su país de origen (Sudan).

La edad a la que ocurre la primera descompensación es 399 días (mediana) (rango: 173-485); $N=7$. En los FAO de cadena larga fue de 399 días (rango: 210,50-682,50) y en la AG1 fue de 329 días (rango: 348-465) (figura 30).

No existen diferencias significativas entre el grupo de defectos de la oxidación de los ácidos grasos y las acidurias orgánicas en el número de descompensaciones metabólicas ($p= 0,482$), ni en la edad de la primera descompensación metabólica

(p=1). En las figuras 31 se muestra el número de descompensaciones por enfermedad.

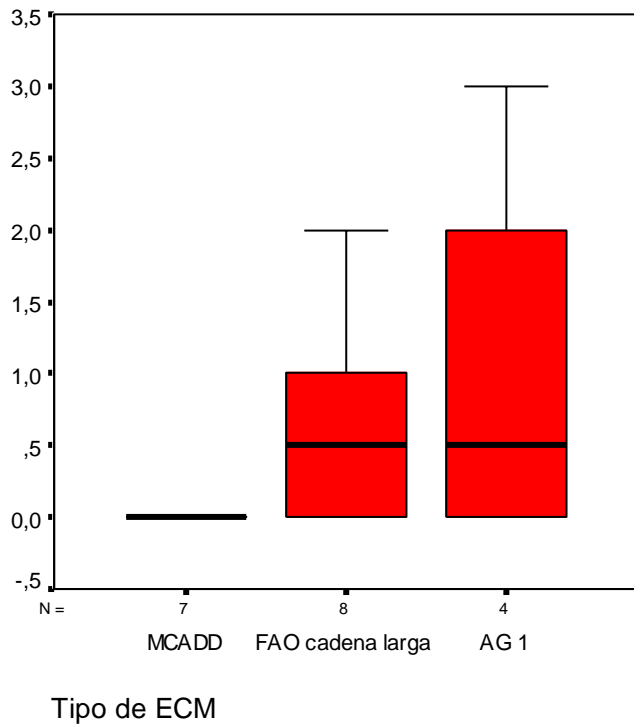


Figura 29: Número de descompensaciones metabólicas según tipo de ECM

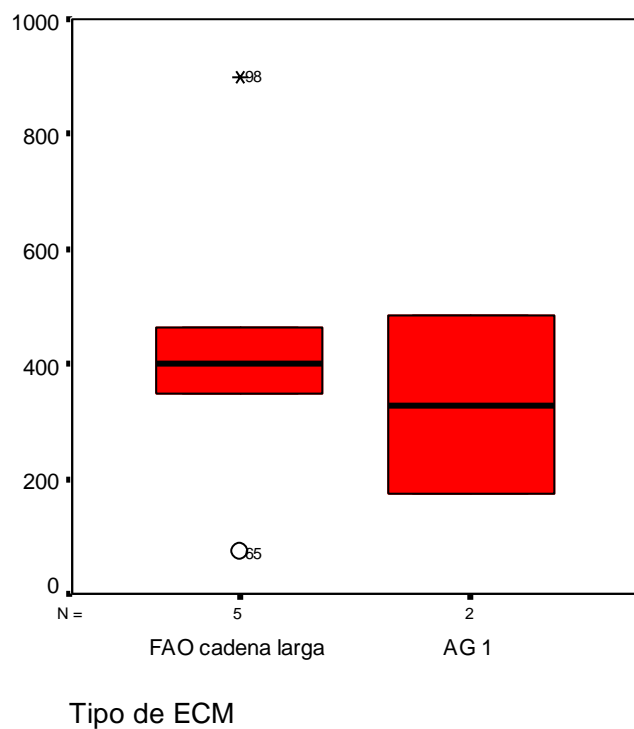
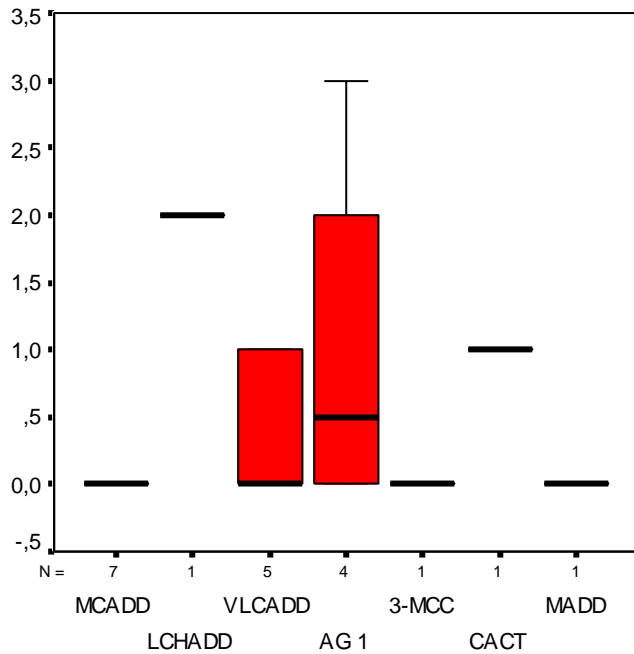


Figura 30: Edad (días) de la primera descompensación metabólica.



Diagnóstico

Figura 31: Número de descompensaciones metabólicas en relación con el tipo de ECM.

7.6.4.3. Sintomatología y signos clínicos durante el seguimiento

En cuanto a la sintomatología que presentan los pacientes en la última visita, el 80% (24/30) se mostraron asintomáticos (tabla 44).

Los casos diagnosticados de aminoacidopatías están asintomáticos. Dentro de las acidurias orgánicas 3 de 4 niños afectados de AG1 presentan síntomas neurológicos. Dos de ellos presentan secuelas tras una crisis encefalopática. Otro caso no sufrió crisis encefalopática pero presenta un retraso motor con buena evolución.

Un paciente diagnosticado de MCADD presentó datos de pérdida de bienestar fetal al nacimiento y presentó hipertonía de extremidades con muy buena evolución posterior.

El caso de LCHAD presentó miocardiopatía como síntoma predominante aunque a los 3 meses de edad se evidenció retraso psicomotor. Falleció tras una descompensación metabólica por empeoramiento de la miocardiopatía.

En total 100% de las aminoacidopatías están asintomáticas, el 40% (2/5) de las acidurias orgánicas y 81,2% (13/16) de los defectos de la oxidación de los ácidos grasos.

Se ha realizado resonancia magnética cerebral a dos pacientes con AG1. Una de ellas en periodo neonatal (caso 90) en la que ya presentaba alteración de la sustancia blanca y displasia opercular. En el otro paciente (caso 66) se realizó tras un episodio

de descompensación (en forma de crisis encefalopática) presentando alteración bilateral en ganglios de la base.

Tabla 44: Evolución clínica de los casos diagnosticados mediante el cribado.

| ECM | Casos confirmado (N) | Síntomas previos al resultado cribado | Edad diagnóstico (días) (mediana y rango) | Edad inicio tratamiento (días) (mediana y rango) | Situación actual | Tiempo de seguimiento (años) (mediana y rango) |
|--------|-------------------------|---------------------------------------|--|---|------------------|---|
| PKU | 3 | 0 | 12 (11,50-23,50) | 12 (11,50-12,50) | A | 2,15 (1,70-2,30) |
| HFA | 3 | 0 | 41 (34,6-44) | No tto | A | 2,20 (1,75-2,22) |
| PCBD | 1 | 0 | 14 | 32 | A | 2,40 |
| CBS | 1 | 0 | 21 | 22 | A | 2,53 |
| MAT | 1 | 0 | 45 | No tto | A | 2,04 |
| AG | 4 | 2 | 16 (15-20) | 10 (10-10,50) | A 1 S 3/4 | 1,66 (1,46-1,95) |
| 3-MCC | 1 | 0 | 27 | 195 | A | 0,88 |
| MCADD | 7 | 2 | 22 (17-28) | 16 (11-21) | A 6/7 S1/7 * | 2,49 (1,59-2,64) |
| CUD | 1 | 0 | 50 | 50 | A | 2,98 |
| LCHADD | 1 | 1 | 8 | 2 | † | 0,52 |
| VLCADD | 5 | 0 | 23 (21-29,50) | 24 (9,5-32,5) | A 5/5 | 2,66 81,65-2,97) |
| MADD | 1 | 0 | 5,32 | 196 | A | 0,91 |
| CACT | 1 | 1 | 9 | 1 | † | 0,74 |

A: asintomático; S: síntomas; †: fallecido; *secundarios a asfisia perinatal

7.6.4.4. Mortalidad

Durante el periodo de estudio han fallecido 3 pacientes. 1 caso diagnosticado de CACT a la edad de 12 meses, 1 caso con el diagnóstico de LCHADD a la edad de 7 meses, ambos tras una descompensación metabólica y un caso afecto de un síndrome dismórfico en el que no se detectó ECM falleció a la edad de 12 meses tras una infección respiratoria.

7.6.4.5. Valoración del neurodesarrollo

Se ha valorado el neurodesarrollo mediante la Escala de Bayley a 19 pacientes (17 con ECM y 2 casos no confirmados: 4 AG1, 3 MCADD, 2 VLCADD, 3 PKU, 2 HFA, 1

CBS, 1 MAT y 1 PCD). En otros pacientes no se ha realizado porque el desarrollo psicomotor es normal y su enfermedad no cursa con retraso del neurodesarrollo. En la tabla 45 se muestra la evolución clínica, descompensaciones metabólicas y Escala de Bayley en la última visita.

El número de valoraciones por tipo de ECM (mediana y rango) ha sido en las aminoacidopatías: 2 (rango: 1,25-3); FAO: 1 (rango: 1-1,50) y en las acidurias orgánicas: 3 (rango: 1,25-4) (Figura 32).

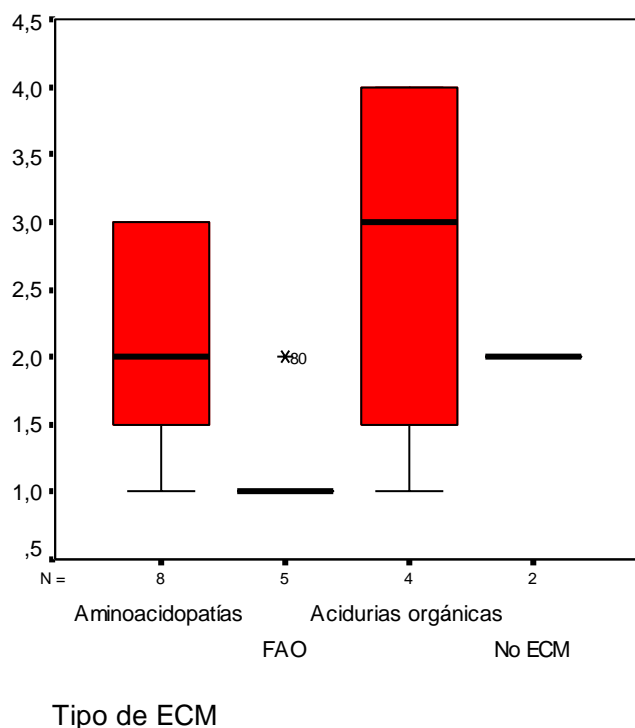


Figura 32: Número de valoraciones de neurodesarrollo por tipo de ECM.

El índice de desarrollo mental (mediana y rango) según el tipo de ECM es: 100 (rango: 93,25-105,25) en aminoacidopatías, 95 (rango: 94,50-101) en los FAO, 69,50 (rango: 50-93,50) en las acidurias orgánicas y 65,50 (50-81) en los dos casos sin confirmación de ECM (figura 33 A).

El índice de desarrollo motor (mediana y rango) es: 103,50 (rango: 100-109) en aminoacidopatías, 94 (rango: 87,50-102) en FAO, 50 (rango: 50-87,50) en las AG1 y 62,50 (50-75) en los no confirmados de ECM (figura 33 B).

Se ha estudiado si existe correlación entre el número de descompensaciones metabólicas y el índice de desarrollo mental y motor, siendo no significativo. Test no paramétrico Rho de Spearman, entre el número de descompensaciones metabólicas y el Índice de desarrollo mental (coeficiente de correlación -0,595, $p=0,091$), y con el Índice de desarrollo motor (coeficiente -0,566, $p=0,172$).

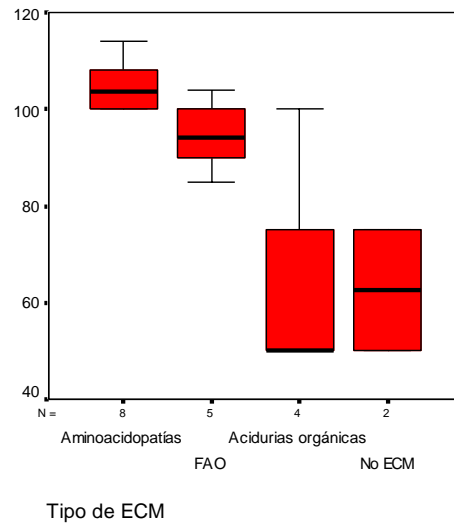
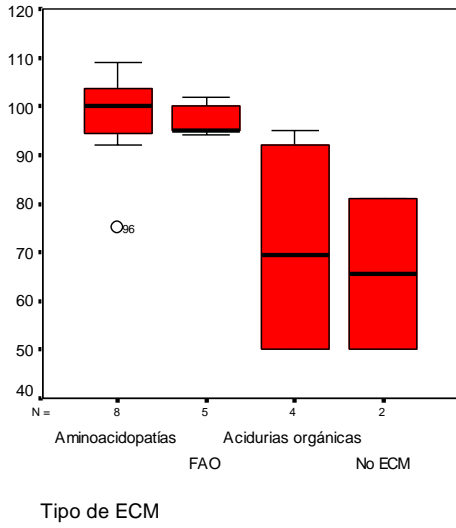


Fig 33A

Fig 33 B

Figura 33: A) Índice de desarrollo mental (Escala de Bayley) según tipo de ECM. B) Índice de desarrollo motor (Escala de Bayley) por tipo de ECM

Tabla 45: Evolución clínica, descompensaciones metabólicas y valoración del neurodesarrollo en los casos diagnosticados mediante cribado

| Diagnóstico | Caso | Genotipo | Síntomas previos al cribado | Episodios con riesgo de descompensación | Descompensación | Ingresos | Evolución clínica | Escala Bayley |
|--------------|------|---|-----------------------------|---|-----------------|----------|---------------------|---------------|
| PKU | 94 | c.754C>T (p.Arg252Trp)/c.1066-11G>A (IVS10-11g>a) (p.Gln335_Tyr356ins3) | | | | | Asintomático | 109/100 |
| | 95 | c.185_189delTGACC (p.Leu62Profs*3)/c.441+5G>T | | | | | Asintomático | 92/114 |
| | 96 | c.754C>T (p.Arg252Trp) /c.782G>A (p.Arg261Gln) | | | | | Asintomático | 75/105 |
| HFA | 52 | c.165T>G (p.Phe55Leu) /c.842+4A>G (?) | | | | | Asintomático | 97/110 |
| | 53 | c.60+5G>T (?) /c.158G>A (p.Arg53His) | | | | | Asintomático | - |
| | 54 | c.60+5G>C (?) /c.158G>A (p.Arg53His) | | | | | Asintomático | 100/100 |
| PCBD | 4 | c.292C>T (p.Gln 98Term) en homocigosis | | | | | Asintomático | 100/102 |
| CBS | 97 | c.572C>T (p.Ther191Met) en homocigosis | | | | | Asintomático | 100/100 |
| MAT | 55 | c.776C>T (p.Ala259Val) /- | | | | | Asintomático | 107/106 |
| AG1 | 64 | c.1234G>A (p.Val400Met) en homocigosis | | 3 | 3 | 3 | C encefalopática | <50/<50 |
| | 66 | c.278A>G (p.His93Arg) en homocigosis | | 1 | 1 | 1 | C encefalopática | <50/<50 |
| | 89 | c.1234G>A (p.Val400Met) /c.1240C>T (Arg402Trp) | + | 1 | 0 | 1 | Asintomático | 95/100 |
| | 90 | c.946G>A (p.Ala304Thr) /c.1240C>T (p.Arg402Trp) | + | 10 | 0 | 9 | Restraso psicomotor | 89/50 |
| 3-MCC | 57 | | | 0 | 0 | 0 | Asintomático | - |

| | | | | | | | | | | |
|---------------|-------------|--|---------------------------------------|---|---|---|---|---|--------------|---------|
| MCADD | 56 | c.985A>G (p.Lys329Glu) en homocigosis | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | Asintomático | - |
| | 59 | c.683C>A(p.Thr228Asn)/c.985A>G(p.Lys329Glu) | | 3 | 0 | 1 | 1 | 1 | Asintomático | - |
| | 60 | c.985A>G(p.Lys329Glu) en homocigosis | | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | Asintomático | - |
| | 80 | c.985A>G (p.Lys329Glu) /c.351A>G (p.Thr117Thr) | | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | Hipertonia | 102/90 |
| | 91 | c.985A>G(p.Lys329Glu) en homocigosis | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | Asintomático | 100/100 |
| | 92 | c.985A>G (p.Lys329Glu)/c.351A>G (p.Thr117Thr) | + | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | Asintomático | - |
| | 93 | c.250C>T (p.Leu84Phe)/c.985A>G (p.Lys329Glu) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | Asintomático | 95/85 |
| | 58 | c.680G>A(p.Arg227His) /c.824+1G>T(?) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | Asintomático | - |
| | 65 | c.453+1G>A (p.Met106fs) en homocigosis | + | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | † | - |
| | 45 | c.685C>T (p.Arg229Term)/c.848T>C (p.Val283Ala) | | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | Asintomático | - |
| VLCADD | 61 | c.685C>T(p.Arg229Term) /c.848T>C(p.Val283Ala) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | Asintomático | 94/104 |
| | 62 | c.761G>A (p.Gly254Asp) en homocigosis | | 3 | 0 | 2 | 2 | 2 | Asintomático | - |
| | 74 | c.990_994delCAAGG (p.Phe330fs)? | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | Asintomático | - |
| | 98 | c.520G>A(p.Val174Met)/(c.1097G>A;c.1844G>A)(p.Arg366His;p.Arg615Gln) | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | Asintomático | 95/94 |
| MADD | 77 | p.Arg56Term (severa) | | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | Asintomático | - |
| | CACT | 63 | c.536A>G (p.Asp179Gly) en homocigosis | + | 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | † |

7.7. Beneficios adicionales del cribado

7.7.1. Detección de otras enfermedades metabólicas no incluidas en el cribado debida a la alteración en alguno de los analitos

Se han diagnosticado otros ECM no incluidos en el cribado neonatal al hacer los estudios de confirmación. Se considera un beneficio adicional del cribado dado que los pacientes se pueden beneficiar de un tratamiento precoz, evitando una posible discapacidad.

Como hemos señalado anteriormente se ha detectado un déficit de CBS y un caso con déficit de MAT, un caso de 3-MCC y 2 defectos de la oxidación de los ácidos grasos (un caso de CACT y un caso de MADD) tras hacer el diagnóstico diferencial.

Además fueron diagnosticados 5 niños con déficit de vitamina B12. Esta déficit causa alteración metabólica, produciendo un aumento de homocisteína y ácido metilmalónico que permite el diagnóstico.

7.7.2. Detección de familiares afectos de ECM y/o portadores y consejo genético

Se ha estudiado a las familias de 52 (53%) de los casos remitidos, 23 de los casos presentaban ECM y se realizó estudio de portador a sus familias. En el resto de los casos (29) se realizó estudio a las madres de los casos por presentar alteración en el cribado en C0, C3 o C5OH.

Se han diagnosticado 3 madres con 3-MCC, 10 madres con deficiencia de carnitina libre y 3 madres con deficiencia de vitamina B12. Las alteraciones bioquímicas detectadas en las madres de los casos índices se muestran en las tablas 46, 47 y 48. Las madres se encuentran asintomáticas.

Se ha realizado estudio de portador a 22 padres, 49 madres y a 18 hermanos de los pacientes. En todos los padres de los casos diagnosticados de ECM se confirmó su estado de portador.

Se ha encontrado que el padre del caso diagnosticado de déficit de MAT presenta la misma mutación c.776C>T (pAla259Val) que causa déficit de MAT (herencia autosómica dominante). Se encuentra asintomático y presenta niveles de metionina y homocisteína normales.

Se han detectado 23 madres portadoras heterocigotas. 2 de ellas son portadoras de CUD y presentan niveles de carnitina libre inferiores a los normales (tabla 47).

Tras realizar el estudio genético (hermano del caso con CUD) se ha diagnosticado un hermano con el mismo defecto genético. Este paciente se encontraba asintomático y ha iniciado tratamiento.

Se realizó estudio prenatal en un hermano del caso con LCHAD, detectándose que era portador heterocigoto. A pesar del consejo genético 2 familias rechazaron realizar el estudio familiar y diagnóstico prenatal.

Tabla 46: Madres diagnosticadas tras el cribado de 3-metilcrotonilglicinuria. Valores de ácidos orgánicos y acilcarnitinas, y estudio molecular de la enfermedad.

| Madre de Caso | Ácidos orgánicos (mmol/mol creat) | Niveles acilcarnitinas (µmol/L) | Gen | Estudio molecular |
|---------------|--|---|-------|---------------------------------------|
| 10 | Ac 3-OH-isovalérico 156 (1-40) 3-Me-crotonilglicina 390 (nd) | C5OH 2,26 (0,01-0,05) C5:1 0,03 (0-0,04) C0 5,96 (21,5-64,58) | MCCC1 | c.872C>T (p.Ala291Val) en homocigosis |
| 12 | Ac 3-OH-isovalérico 177(1-40) 3-Me-crotonilglicina 28 (nd) | C5OH 1,52 (0,01-0,05) C0 8,11 (21,5-64,58) | MCCC2 | c.578G>A(p.Arg193His) en homocigosis |
| 41 | Ac 3-OH-isovalérico 67(2-40) 3-Me-crotonilglicina 11 (0-2) | | MCCC2 | c.1423G>A (p.Gly475Arg)/? |

Tabla 47: Déficits de vitamina B12 materna. Niveles de vitamina B12, Hcy y causa del déficit de B12.

| Madre de caso | B12 (pg/ml) VN: 200-753 | Hcy (µmol/L) VN: 2,9-7,3 | Causa |
|---------------|----------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| 79 | B12 116,6 | 8,3 | Gastritis atrófica |
| 81 | B12 85,42 | 50 | Gastritis atrófica |
| 82 | B12 164,30 | 9 | Secundaria a gastritis por H pylori |

Tabla 48: Déficits de carnitina materna. Niveles de C0 en las madres con niveles descendidos, estudio molecular del gen SLC22A5 y diagnóstico.

| Madre de Caso | C0 en plasma (µmol/L) VN 21,5-64,58 | Estudio molecular del gen SLC22A5 | Diagnóstico |
|--------------------------|--|---|---|
| 8 | 20,29 2º control 19,13 | No realizado | Hipocarnitinemia |
| 9 | 15,31 | No realizado | Hipocarnitinemia |
| 11 | 17,52 (postparto), Control posterior normal | No realizado | Hipocarnitinemia transitoria |
| 44 | 7,36 | c.466G>C(p.Gly156Arg)/ c.1179_1182delCTG (p.Leu394del) | CUD |
| 69 y 70 (gemelar) | 17,24 | No realizado | Hipocarnitinemia transitoria |
| 84 | 5 | No realizado | Hipocarnitinemia secundaria a tratamiento con ácido valproico |
| 85 | 15,74 | c.419G>A (p.Trp140 Ter)/? | Portador heterocigoto CUD |
| 86 | 12 | c.67-69delTTC (p.Phe23del)/- | Portador heterocigoto CUD |
| 87 | 12 Control posterior de 19,57 y 18,32 | Secuenciación negativa | Hipocarnitinemia |
| 88 | 6 | Secuenciación negativa | Hipocarnitinemia |

8. DISCUSIÓN

8.1. Datos epidemiológicos

8.1.1 Incidencia de los nuevos ECM incluidos en el cribado en la población diana.

La mayoría de los datos de incidencia en los ECM provienen de los programas de cribado neonatal. Si comparamos nuestros resultados con otros programas de cribado realizados en España, en nuestro estudio la incidencia es de 1/2.792 recién nacidos, siendo en Galicia de 1/2.060²¹ y en Murcia 1/1.884²². Otros programas de cribado han mostrado diferentes valores de incidencia según los distintos países. Así, en Alemania es de 1/2.400 recién nacidos²³, en Austria 1/2.855²⁶ y en Corea del Sur 1/2.000⁷ siendo similares a nuestro estudio. Otros países presentan una frecuencia menor: en la India 1/3600¹³, en América 1/4000^{27,131}, en China 1/5800¹³², en Australia 1/6591²⁸ y en Japón 1/9.330¹³³ aunque no se detectan las mismas enfermedades. Estos datos con frecuencia se calculan para el conjunto de enfermedades por lo que hay que ser cautos a la hora de compararlos.

Si consideramos por grupos, la mayor incidencia se ha encontrado en el grupo de ECM de los ácidos grasos (1/5.235), a pesar que en la mayoría de los programas de cribado encuentra una frecuencia mayor de aminoacidopatías, concretamente de hiperfenilalaninemias^{21,23,26}. Por otro lado, otros programas de cribado realizados en otros países como Portugal²⁴, Australia o estados como Carolina del Norte^{28,134} encuentran el MCADD como el ECM más frecuente, incluso mayor a la PKU, al igual que en nuestro estudio.

Sería más correcto comparar las enfermedades de forma independiente. Los ECM diagnosticados con más frecuencia han sido los MCADD con una incidencia de 1/11.967, seguidos de VLCADD con una incidencia de 1/16.754 y la AG1 con una incidencia de 1/20.943. El MCADD presenta una incidencia similar a nuestro estudio en Inglaterra¹³⁵, Canadá^{119,120} o Portugal²⁴. Otros países como Holanda¹³⁶ o Alemania¹³⁷ presentan una incidencia mayor (1/6.600 y 1/8.100 respectivamente) y otros una menor como Australia con 1/19.200²⁸, USA con 1/19.300¹³⁸, Austria 1/24.900²⁶, Italia 1/26.000¹³⁹ o Japón con 1/51.000. Dentro de los programas de cribado realizados en nuestro país la incidencia en Galicia, Andalucía y Murcia es menor (1/18.736, 1/23.656 y 1/23.865 respectivamente)¹⁴⁰.

La incidencia de VLCADD en nuestro estudio es mucho más alta a la publicada por otros programas. Según los cribados de Australia, Alemania, Austria y USA la incidencia es de 1/63.481-1/88.927)^{26,28,99,141}.

La AG1 ha sido la aciduria orgánica más frecuente con una incidencia de 1/20.943, al igual que en Galicia²¹, aunque en nuestro estudio la frecuencia es incluso mayor. En España se ha publicado una incidencia global de 1/68.905¹⁴², en Austria 1/69.165²⁶, en USA 1/92.302¹⁴¹ y de 1/100.000 según Lindner et al⁴⁸. Se ha visto una frecuencia mayor en algunos grupos étnicos como los Amish en Pennsylvania¹⁴³ y algunos indios

Ojibway-Cree en Canada^{144,145}. En otros países como Alemania, Austria o USA encuentran la 3-MCC como la aciduria orgánica más frecuente^{26,134}.

La incidencia de PKU 1/27.924 así como de HFA en nuestro estudio es inferior a la publicada en Galicia con una incidencia de HFA de 1/6.005 y de PKU y de 1/12.363²¹, siendo según el último informe de AECNE la incidencia en España de PKU 1/18.625 e HFA 1/11.789¹⁴². A diferencia de Galicia y Portugal donde han encontrado una incidencia frecuente de MAT con 1/26.271, en nuestro caso solo se detectó un paciente^{21,24,146}. Se ha detectado un caso de CBS, resultando una incidencia mayor a la esperada^{21,147}.

Otras ECM como LCHADD, CACT, CUD y MADD presentan una incidencia menor (1/83.774) al igual que lo publicado en otros programas de cribado. Según datos de Australia, Alemania y USA el LCHADD/TFP presenta una incidencia de 1/150.000-750.000^{122,141} indicando algunos estudios que es más frecuente en el norte de Europa (especialmente cerca del Mar Báltico)^{148,149,150}. En España se ha reportado una incidencia de 1/258.396¹⁴². La incidencia de CUD es de 1/40.000 en Japón, 1/120.000 en Australia y de 142.236 en USA, siendo la más alta en las islas Faroes con hasta 1/297^{87,109,151}. En España se ha publicado una incidencia de 1/79.506¹⁴².

A pesar de los datos de incidencia, un programa de Salud Pública necesita estudios de coste-eficacia positivos para incluir en cada país o comunidad autónoma uno de los múltiples ECM en sus programas. Hay que tener en cuenta también a la sociedad ya que no puedes tener un programa que por abarcar más enfermedades tiene una tasa de rellamandas alta (por ejemplo del 4%) de los recién nacidos. Por ello es importante reevaluar los datos de forma periódica.

8.1.2. Enfermedades diagnosticadas según marcador primario.

La edad de remisión en nuestros casos es algo superior a la reportada por Lindner²⁹ 14 días frente a 7,1 días, así como la edad de confirmación del resultado (26 frente a 11 días) y la de inicio de tratamiento (18 días frente a 10 días), esto puede ser debido a que son los inicios del programa dado que parte de los casos pertenecen al estudio piloto. Así mismo, si nos fijamos en nuestros resultados los pacientes en los que se confirmó ECM fueron remitidos de forma más precoz que aquellos que no se confirmaron, esto es debido a que algunos eran casos dudosos que precisaron repetir la muestra retrasando la edad de remisión a la Unidad de seguimiento.

Los casos con aumento de tirosina en el cribado fueron diagnosticados de tirosinemia transitoria. Esto está presente en muchos recién nacidos, particularmente en prematuros y produce un gran número de segundas muestras¹⁰⁷. La cuantificación de succinilacetona en estos casos permite diferenciar los casos con tirosinemia tipo I. Por ello se ha añadido este marcador en el cribado con el fin de evitar falsos negativos. Los dos casos remitidos por aumento de metionina fueron diagnosticados de déficit de CBS y déficit de MAT. La experiencia en el cribado de la homocistinuria en países como Irlanda, Italia, Portugal y USA, ha permitido mejorar la sensibilidad de la prueba bajando el punto de corte^{30,152}. En nuestro estudio ambos casos presentaban un valor mayor de 40 µmol/L.

Con respecto a los niveles de acilcarnitinas determinados en el cribado hemos encontrado niveles más bajos de C0 en el caso confirmado de CUD o los casos con hipocarnitinemia materna que en los no confirmados.

Los niveles de C8 y diferentes ratios entre las acilcarnitinas se han utilizado en el cribado del MCADD. Los niveles de C8 en nuestros casos son mayores entre los casos confirmados frente a los no confirmados o portadores al igual que en otros trabajos¹³⁶. Por otra parte, los homocigotos para la mutación c.985A>G presentan niveles más altos al igual que en otros estudios^{77,119,140}.

Dos casos con MCADD presentaron acilcarnitinas normales en los estudios de confirmación. Por otro lado los ácidos orgánicos no mostraron alteraciones en algunos casos (suberilglicina, hexanoilglicina), incluso en dos homocigotos para la mutación c.985A>G. El estudio molecular del gen ACADM permitió confirmar el resultado en estos pacientes. El 42,8 % (3 de 7 MCADD) son homocigotos para la mutación c.985A>G, al igual que en otros estudios publicados de cribado donde encuentran un porcentaje similar^{79,119}, mientras que este porcentaje es mayor (80%) en los casos identificados tras presentar síntomas clínicos. Por otro lado no hemos encontrado pacientes con la mutación c.199T > C que sí ha sido encontrada frecuentemente en los casos MCADD diagnosticados por cribado en otros programas. El 35% de los casos remitidos resultaron portadores de MCAD, siendo más elevado que en otros estudios¹¹⁹. Con el fin de evitar el diagnóstico de portadores se ha propuesto referir solo los casos con niveles de C8 \geq de 0,5 mmol/L y con ratio C8/C10 \geq 1,0 mmol/L¹³⁵ sin embargo uno de nuestros pacientes no cumple este supuesto, porque a pesar de tener un valor C8 de 0,78 el ratio C8/C10 era < 1. En los programas de cribado se intenta que no haya falsos negativos por lo que es importante revisar el genotipo y fenotipo que presentan estos pacientes.

Dado que la prevalencia de MCADD es mayor en las poblaciones diagnosticadas por cribado y el genotipo de los pacientes difiere con los diagnosticados clínicamente, se ha sugerido que los casos diagnosticados por síntomas presentan formas más graves. Se están detectando mutaciones no descritas previamente, por lo que será preciso realizar más estudios a largo plazo para conocer la relevancia clínica.

Los casos confirmados de VLCADD presentan niveles más altos de C14:1 que los no confirmados. Uno de los casos confirmados de VLCADD con el valor de C14:1 más bajo (1,25 μ mol/L) presentaba también aumento de los ratios C14:1/C2, C14:1/C12:1, C14:1/C16. Se ha publicado que los casos con niveles > 1 μ mol/L sugieren el diagnóstico, sin embargo los que presentan niveles \leq 1 pero por encima del punto de corte no permiten discriminar bien entre pacientes, portadores o sanos por lo que es preciso realizar el estudio enzimático y/o genético con el fin de confirmar el resultado¹⁰⁰.

En los pacientes con AG1 hemos encontrado niveles variables de C5DC en el cribado, incluso niveles inferiores a los no confirmados en algunos casos, aunque los que tuvieron niveles más altos éstos fueron diagnósticos. No hemos encontrado confirmación de ECM en los casos con aumento de C3 pero se han encontrado pacientes con déficit de vitamina B12. Estos casos presentaban niveles inferiores de

propionilcarnitina con respecto a los no confirmados sin embargo el ratio C3/C2 era ligeramente superior.

8.1.3. Especificidad y VPP

Cualquier prueba conlleva un riesgo de falsos positivos. El VPP de la prueba y la especificidad (E) varía entre los diferentes programas. En algunos programas se considera falso positivo al caso con cribado alterado que tras repetir en una segunda muestra este resultado se normaliza y en otros tras realizar los estudio de confirmación necesarios. Esto explica la amplia diferencia. En nuestro estudio el VPP es del 30,61% y la E de 99,92%. Este valor es superior al publicado en otros estudios. En Alemania encuentran un VPP del 11.31%, y una E del 99,67%²³, en Austria el VPP fue de 12,62% y la E del 99,76%²⁶, en Portugal el VPP del 26% y E 99,9%²⁴, en Dinamarca VPP 37% y E de 99,99%¹⁵³, en Australia VPP del 42% y un ratio de FP del 0,01%¹²¹, en Galicia VPP 76,11%²¹ y en Murcia VPP 20,25%²².

No hemos encontrado resultados falsos negativos aunque el periodo de estudio es corto. En otras series como en el cribado en Galicia se ha encontrado 4 casos falsos negativos en los primeros 10 años²¹.

8.2. Evolución de los pacientes afectos ECM

Los datos de la evolución de los pacientes diagnosticados por cribado ampliado son escasos y difíciles de interpretar debido al pequeño número de pacientes, fenotipos diferentes, aumento de los casos por cribado, diferentes mutaciones entre los casos cribados y los que son diagnosticados por síntomas clínicos y por último con frecuencia el periodo de seguimiento es corto.

8.2.1. Sintomatología previa al resultado del cribado

El 20% (6 de 30) de los pacientes diagnosticados de ECM presentaron algún síntoma o alteración analítica previo al resultado del cribado ampliado. La definición de pacientes sintomáticos varía según los trabajos. Se ha publicado una frecuencia menor (entre un 6,6% al 8%) en algunos estudios^{21,23,29}.

En nuestra experiencia hemos encontrado que los pacientes con LCHAD y CACT presentaron síntomas previos al cribado al igual que en otros trabajos^{12,154}. Estos pacientes presentaron una evolución desfavorable. Se han visto resultados similares en otras revisiones, comunicándose resultados y mayor morbi-mortalidad²⁸.

Dos de los casos con AG1 (50%) presentaban macrocefalia al diagnóstico, siendo de un 26% de los casos según otros autores⁵⁴.

8.2.2. Tratamiento farmacológico

La edad media de inicio de tratamiento en nuestro estudio es de 18 días (rango: 11-31). Comparado con el grupo (1990-2011) se ha visto una diferencia significativa en el inicio precoz del tratamiento lo que confirma uno de los objetivos del cribado que es el tratamiento precoz con el fin de evitar morbimortalidad. Con respecto a otros programas de cribado Lindner et al. han descrito un inicio más precoz (a los 10 días)¹⁹, mientras que otros autores más tardío (25 días). Ésto es debido a la heterogeneidad de los programas de cribado, según se consideren diferentes grupos de enfermedades, incluido las hemoglobinopatías¹².

El fármaco más utilizado en los casos diagnosticados es la L-carnitina. Los pacientes con MCADD recibieron tratamiento con L-carnitina en todos los casos (dosis media de 50 mg/kg/día). En nuestro estudio se recomienda tratamiento en todos los casos de MCADD al menos durante los primeros años de vida, dado que esta enfermedad presenta en ocasiones niveles de C0 disminuidos. En los controles bioquímicos realizados antes y después del tratamiento los niveles permanecen en niveles normales, en todos los casos. No hay acuerdo en si estos pacientes deben ser tratados con L-carnitina y no se han realizado ensayos clínicos por lo que en algunos centros se tratan y en otros no. Un estudio realizado en 31 centros en Europa, Norte América, Asia y Australia mostró que en un 36% de los centros se suplementaba de forma rutinaria mientras que en un 32% solo se hacía si se demostraba un déficit de carnitina o durante una infección intercurrente. Couce et al. suplementa con L-carnitina (20-60mg/kg/día) si los niveles de C0 son inferiores a 12 $\mu\text{mol/L}$ en sangre seca o por debajo de 20 $\mu\text{mol/L}$ en plasma, siendo preciso en el 82% de sus pacientes¹⁴⁰. En otros trabajos los casos reciben L-carnitina a una dosis de 100 mg/kg/día¹²⁰. Nuestra experiencia ha sido buena a la dosis utilizada. Hay que tener en cuenta que los lactanes tienen muchos procesos intercurrentes (infecciones, vacunas) y precisan grandes aportes energéticos, siendo uno de los periodos más vulnerables de la vida. Un déficit de carnitina en un caso con MCAD puede tener graves consecuencias.

Otro fármaco utilizado ha sido la riboflavina en AG1 y MADD. A pesar de que no hay una evidencia clara de que mejore la evolución neurológica en los pacientes con AG1 se utiliza de forma amplia⁴⁴. El caso diagnosticado con MADD recibió riboflavina a 200 mg/día y ha normalizado los niveles de acilcarnitinas en los controles tal y como se ha descrito en otros estudios y no ha presentado complicaciones¹⁵⁴.

El ácido docosahexanoico (DHA) se añadió a los pacientes con LCHADD y CACT según recomendaciones tras presentar niveles plasmáticos o eritrocitarios descendidos⁹⁸. Esto es secundario a la dieta restringida en ácidos grasos esenciales.

El paciente con PCD fue tratado con BH4 durante 14 meses. Se retiró con buena tolerancia, al igual que otros casos publicados^{156,157,158}, no precisando tratamiento dietético-nutricional ni antes ni después.

8.2.3. Tratamiento nutricional

El 83% de nuestros pacientes precisan tratamiento dietético-nutricional, siendo similar al trabajo publicado por Wilcken²⁸. Los pacientes diagnosticados de LCHADD y CACT precisaron sonda nasogástrica y un caso con AG1 porta gastrostomía. El 60% toman al inicio del tratamiento leche de madre sola o acompañada de una fórmula especial. La leche de madre se ha recomendado para el tratamiento dietético en niños con fenilcetonuria aunque existen pocos datos publicados en otros ECM¹⁵⁹. En nuestros casos fue bien tolerado, con buen control metabólico.

En cuanto a la evolución antropométrica existe un aumento del peso, talla y perímetro craneal durante la evolución con mejoría dentro de los parámetros normales.

Los casos con fenilcetonuria severa toleran menos de 5 g/día de proteínas de alto valor biológico y no respondieron al tratamiento con BH4.

Los casos con MCADD reciben una dieta baja en grasa además de evitar ayunos en función de la edad. Hacia el año de vida se suplementa la toma nocturna con almidón de maíz crudo que aumenta la tolerancia al ayuno^{119,140}.

El aporte de grasas de la dieta es menor del 25% en los defectos de cadena larga, con un aporte de LCT menor al 10%. Esta restricción es algo mayor que algunas recomendaciones publicadas⁹⁸. En los pacientes sintomáticos LCHADD y CACT se inició nutrición con fórmula especial baja en grasa con mayor contenido de MCT. No existe gran acuerdo en cuanto al tiempo de ayuno en los FAO. Nuestros pacientes evitan ayuno superior a 6 h en los mayores de 12 meses. Otros estudios refieren que pueden tolerar 6-8 h, o incluso más de 10-12h en mayores de 12 meses⁹⁸, de forma que existe variabilidad en el manejo clínico de los defectos de la beta oxidación^{97,160}.

El aporte de proteínas naturales en los pacientes con AG1 es similar a las recomendaciones, siendo superior el aporte del equivalente proteico durante los primeros meses¹⁶¹.

8.2.4. Episodios de descompensación metabólica

Los pacientes afectados de AG1 son los que sufrieron más descompensaciones metabólicas con una mediana de 0,5 (rango: 0-2,5) mientras que los FAO de cadena larga presentaron 0,5 (rango: 0-1) aunque la diferencia no fue significativa. Lindner et al. refieren que los defectos del ciclo de la urea, acidurias orgánicas y aminoacidopatías presentan un riesgo de descompensaciones mayor, más precoz y continuo. Sin embargo los MCAD tienen mucho menor riesgo, mientras que otros ECM de los ácidos grasos presentan un riesgo intermedio que comienza alrededor del final del primer año coincidiendo con infecciones intercurrentes o aumentos del ayuno²⁹.

Durante el tiempo de seguimiento ningún paciente con MCADD sufrió signos de descompensación metabólica habiendo presentado varios episodios susceptibles en los que siempre se aplicó el protocolo de emergencia. Tampoco ocurrió en los homocigotos para la mutación c.985A>G. Esto indica que con las medidas oportunas se puede disminuir el riesgo. Se ha descrito una reducción de las descompensaciones

metabólicas del 74% en pacientes con MCADD diagnosticados por cribado²⁸. Los casos no diagnosticados por cribado presentan más episodios graves o eventos adversos que los diagnosticados por cribado. Horvath et al. describen que durante los primeros 3 años de cribado, ningún caso tuvo descompensaciones metabólicas al igual que en nuestro estudio¹²⁰. Se ha visto una reducción de los días de ingreso en pacientes con MCADD diagnosticados por cribado comparado con los diagnosticados tras presentar síntomas¹²¹.

En cuanto a los ingresos se ha visto que muchos son profilácticos con el fin de evitar descompensaciones, como muestran nuestros datos. En nuestra experiencia el 84,8% de los episodios con riesgo de descompensación precisaron ingreso pero solo en el 30,3% cursaron con descompensación metabólica en el total.

Los casos con AG1 presentaron mayor número de ingresos. Esto se explica debido a que los pacientes son menores de 2 años y presentan riesgo de tener una crisis encefalopática. En otros trabajos también se ha visto un alto número de ingresos en pacientes detectados por cribado sin descompensación metabólica^{53,117}.

Los pacientes con AG1 detectados por cribado presentan mejor evolución, sin embargo algunos presentan descompensaciones como en nuestro estudio^{54,118}. El caso 64 no realizó tratamiento de emergencia y el caso 66 presentó una descompensación tras una infección durante un viaje a su país de origen (Sudán). Este paciente homocigoto para c.278A>G (p.His93Arg) presenta una mutación previamente no descrita. El tratamiento de emergencia en los episodios con riesgo de descompensación es lo más importante para evitar la crisis encefalopática¹¹⁷. Por otro lado, (el caso 90) presentó numerosos ingresos (10) por infecciones intercurrentes y una quemadura accidental extensa y en ningún episodio presentó crisis encefalopática, aunque tiene un retraso madurativo con buena evolución. También se ha descrito que un 10-20% de los pacientes con AG1 presentan enfermedad neurológica aún en ausencia de crisis encefalopática (comienzo insidioso)⁴⁶.

Dos pacientes con VLCADD presentaron descompensación metabólica con rabiomilolisis evolucionando favorablemente con el tratamiento.

8.2.5. Evolución clínica

El 80 % de los pacientes con ECM se encontraban asintomáticos en la última visita con un periodo medio de seguimiento de 2,03 años (rango: 1,40-2,53). Otros autores han encontrado un 95,5% asintomáticos en un tiempo de seguimiento medio de 54 meses²¹ y el 92 % asintomáticos durante un periodo de 13,5 meses (rango: 0,1–38 meses)²³. Nuestro resultado es algo inferior y podría ser debido a que un 20% de los pacientes habían presentado algún síntoma en el momento del cribado y a que tenemos mayor número de pacientes con AG1.

Los pacientes diagnosticados por cribado presentan menor mortalidad y menos síntomas clínicos que los no diagnosticados por cribado^{28,29}. El cribado ha identificado una incidencia mayor a la esperada, tratándose de niños asintomáticos en la mayoría de los casos¹⁶².

El 100% de las aminoacidopatías, el 81% de los defectos de la oxidación de ácidos grasos y el 40% de las acidurias orgánicas están asintomáticos en nuestro estudio. En otros trabajos se ha encontrado el 97% de las aminoacidopatías, el 92% de los FAO y el 71% de las acidurias orgánicas. Los casos con MCADD representan la mayoría de los FAO con buena evolución¹⁰³.

Diferentes estudios han demostrado mejoría en los síntomas neurológicos en los pacientes diagnosticados de AG1 presintomáticos mientras que la eficacia del tratamiento es baja si se comienza después del inicio de una crisis encefalopática^{47,53,117,118,163,164}. Algunas mutaciones como la p.Val400Met en al menos un alelo se asocian a una excreción baja o normal de ácido glutárico⁴⁵. Otras mutaciones severas como la p.R402W o p.A293T en ambos alelos no tienen actividad residual y muestran el patrón típico de metabolitos¹⁶⁵. Sin embargo no hay asociación entre el fenotipo clínico y la gravedad de la lesión genética (actividad residual)¹⁶⁵. El riesgo de descompensación metabólica con crisis encefalopática es el mismo en los altos excretores o en los bajos^{46,145,165}. Dos de nuestros pacientes (ambos bajos excretores) presentaron síntomas. Por otra parte, se han descrito hermanos con la misma mutación y diferentes fenotipos, como el caso 64, que tiene 3 hermanos afectados de la misma enfermedad, uno de ellos se diagnosticó mediante el estudio familiar y está asintomático a la edad de 10 años y los otros dos presentan secuelas graves tras una crisis encefalopática coincidiendo con una infección a pesar del diagnóstico precoz.

El diagnóstico de AG1 mediante el cribado permite un tratamiento precoz reduciendo de forma considerable la frecuencia de crisis aguda encefalopática y así la morbimortalidad^{44,118,163}. Es mayor el efecto del tratamiento de emergencia que el de mantenimiento⁵¹. La mayoría de los pacientes permanecen asintomáticos si el tratamiento se inicia en el periodo neonatal, aunque algunos presentan macrocefalia al nacimiento o alteraciones en la RM^{51,54,117,118,163}.

En pacientes con AG1, la RM cerebral realizada poco después del nacimiento habitualmente muestra alteraciones, atrofia frontoparietal con ensanchamiento de las cisuras de Silvio y a veces quistes aracnoideos^{53,54,166}. Esto puede reflejar un desarrollo del cerebro anormal durante el crecimiento intrauterino y por tanto se podría decir que se trata más de una hipoplasia que de una atrofia. Por otra parte, también se ha descrito que estas alteraciones llegan a revertir en pacientes tratados precozmente. Uno de nuestros casos presentaba alteraciones en ganglios de la base en la RM en el primer mes de vida, sin haber presentado crisis encefalopáticas clínicas, como se ha descrito en otros casos¹⁶⁷. El control posterior a los 17 meses no presentaba alteraciones en los ganglios basales aunque sí alteración de la sustancia blanca próxima a los atrios ventriculares. Las lesiones cerebrales ocasionadas por la AG1, afecta áreas que están asociadas con habilidades de planificación motora, afectación estriatal y fronto-temporal, explican la clínica que presentan estos pacientes¹⁶⁸.

Se ha detectado un aumento de los casos diagnosticados de MCADD tras el cribado. Previo a este avance científico-técnico, un 25% de los pacientes fallecían, un 40% requerían múltiples hospitalizaciones y hasta un tercio presentaban déficits neurológicos graves⁷⁸. El cribado para MCADD previene mortalidad y discapacidad en muchos niños con esta enfermedad. Se estima que 1 de cada 6 niños nacidos con

MCADD morirán durante la infancia en ausencia de cribado¹³⁵, al menos la mitad de los pacientes presentarán una descompensación metabólica y 1 de cada 10 desarrollarán una discapacidad¹²¹. A pesar de que el genotipo varía con los diagnosticados por síntomas, siendo menos frecuentes los homocigotos para la mutación c.985A>G (el genotipo más asociado con una forma clínica grave). En nuestra experiencia la evolución ha sido buena independientemente del genotipo. Otros trabajos encuentran síntomas en 11% de los pacientes, todos homocigotos para la c.985A>G¹⁴⁰. Estos datos contrastan con el resultado de pacientes que fueron diagnosticados tras presentar síntomas en el que el 16% tenía debilidad muscular, un 14 % crisis convulsivas, 10% fallo de medro y un 9% parálisis cerebral¹⁶⁹.

En nuestro estudio el trastorno más frecuente de los FAO de cadena larga diagnosticado es el VLCADD. La experiencia global con el cribado no es muy larga (5-10 años). No hay datos publicados de pacientes diagnosticados por cribado en España. La evolución suele ser buena, estando asintomáticos la mayoría al diagnóstico y durante el seguimiento con medidas dietéticas (evitar ayuno, restricción de las grasas de cadena larga y suplementos con MCT)⁹⁷. Sin embargo algunos pueden presentar rabdomiolisis después del ejercicio físico a una edad más tardía¹⁷⁰. Nuestros pacientes tienen un buen estado de salud y no han presentado complicaciones graves. Se desconoce cuantos pacientes detectados por cribado permanecerían asintomáticos a lo largo de su vida^{99,100}.

Las anomalías de las acilcarnitinas de cadena larga detectadas en el cribado pueden desaparecer tanto en pacientes afectos de VLCADD como en no afectos, lo que no permite diferenciarlos¹⁷¹. Esto puede ser debido a que los niños pequeños no hacen ayuno. En aquellos casos con sólo una mutación como uno de nuestros pacientes, solo el análisis enzimático permite diferenciar si puede ser un portador o un afecto de la enfermedad.

El paciente con CACT ha sido publicado, junto con otros 3 casos españoles¹⁷². El déficit de CACT (OMIM 212138) fue reconocida en 1992. Suele presentar síntomas en el periodo neonatal (en el 82% de los casos) o en la infancia temprana (18%) con manifestaciones cardíacas (arritmias, cardiomiopatía, bloqueo cardíaco), debilidad muscular, crisis, anomalías de la función hepática y episodios graves de hipoglucemia e hiperamonemia desencadenados por infecciones o ayuno¹⁷². Sólo se han reportado en la literatura internacional 55 pacientes^{173,174,175,176}.

El caso con LCHADD tuvo una evolución desfavorable y falleció. Presentó síntomas previos al cribado y posteriormente una descompensación metabólica grave. La mitad de los pacientes con esta enfermedad presentan síntomas en el momento del cribado y el tratamiento precoz no previene los síntomas en muchos niños^{96,97}. LCHADD es una enfermedad tratable pero la mayoría de los pacientes sufren episodios de hipoglucemia hipocetótica y rabdomiolisis y la mortalidad es alta⁹⁴. Una proporción de casos desarrollarán retinitis pigmentaria, otra proporción neuropatía periférica y la mayoría están en riesgo de episodios de descompensación a pesar del tratamiento con dieta restrictiva en ácidos grasos de cadena larga y evitando el catabolismo. En la Unidad seguimos un paciente que fue diagnosticado por su sintomatología que en la actualidad tiene 12 años y tiene un buen estado de salud a pesar de haber sufrido descompensaciones metabólicas.

8.2.6. Mortalidad

Los dos pacientes diagnosticados de CACT y LCHADD fallecieron tras una descompensación resultando una mortalidad de un 6,7% (2/30). El porcentaje de muerte en otros trabajos es menor, un 2-3% (siendo los más frecuentes LCHADD y acidurias orgánicas)^{21,23,134}. Nuestros casos presentaron síntomas graves desde el primer día de vida, antes de la realización del cribado, lo que indica que se trata de formas neonatales severas y son los que menos se benefician del mismo. Sin embargo, gracias al cribado se diagnostican algunos casos que hubieran podido pasarse por alto y se puede hacer consejo genético. La mortalidad en CACT es alta (65%), la mayoría durante el primer año de vida debido a miocardiopatía o muerte súbita (como en nuestro paciente). Con frecuencia existe en la historia clínica datos de muerte súbita en la familia en el periodo neonatal como en nuestro paciente. La mayoría presenta síntomas justo después del nacimiento^{172,173,175,176,177}. A pesar del tratamiento con carnitina, dieta baja en grasa enriquecida con MCT y ácidos grasos esenciales, evitar ayuno y el tratamiento de emergencia en las situaciones agudas, algunos pacientes presentan muerte súbita en el periodo de lactante o en la infancia temprana^{92,172}.

La mortalidad en LCHADD es alta (34%) según algunos autores^{96,122,149}. El tratamiento de emergencia es crucial para la supervivencia de los neonatos detectados por cribado. A pesar de su diagnóstico precoz algunos casos fallecen^{28,109} y no se ha probado todavía que la detección temprana mejore significativamente el pronóstico.

El cribado neonatal ha demostrado que reduce la mortalidad, especialmente en el MCADD^{82,121,137,178}. En un estudio realizado en pacientes con MCAD a los 6 años de edad el riesgo de muerte entre los pacientes diagnosticados por síntomas era del 14% comparado con un 4% en la cohorte de cribado siendo muy bajo el riesgo de cualquier morbilidad en los que sobreviven²⁸. En nuestra serie todos los casos diagnosticados tienen un buen estado de salud.

La mortalidad es más alta en los FAO y en las acidurias orgánicas mientras que otras aminoacidopatías como la PKU solo se asocia a morbilidad.

8.2.7. Valoración del neurodesarrollo

La valoración del neurodesarrollo ha sido objetivo de algunos trabajos en pacientes con diferentes ECM diagnosticados por cribado neonatal¹⁷⁹. Hemos utilizado la Escala de Bayley dado que los pacientes en el momento del estudio eran menores de dos años. Si comparamos la evolución de neurodesarrollo en nuestros pacientes, los peores resultados pertenecen a los casos con AG1. Dos presentaron crisis encefalopáticas, lo que conlleva un deterioro neurológico. Algunos trabajos realizados en pacientes con AG1 mayores de 3 años detectados por cribado muestran alteración en la motricidad fina y el lenguaje a pesar del tratamiento precoz^{179,180}. Otro estudio realizado en 6 pacientes diagnosticados por cribado muestra una función cognitiva y la

motricidad gruesa normal en 5, con algunas deficiencias en la motricidad fina y diferentes niveles de trastorno del lenguaje¹¹⁷.

Existe una asociación entre las descompensaciones metabólicas y el desarrollo intelectual²⁹. Se ha demostrado una correlación negativa entre el número de descompensaciones metabólicas y el CI en pacientes afectados de acidemia propiónica¹⁸¹. En nuestra experiencia no hemos objetivado una correlación significativa en los pacientes diagnosticados de AG1 y otros defectos de la oxidación de cadena larga. Sin embargo existe una tendencia a la significación que podría ser evidente con un estudio realizado en más casos.

En pacientes con MCADD se ha visto que el riesgo estimado de retraso mental o una discapacidad intelectual es del 6% en los casos diagnosticados por síntomas. Esto indica que las descompensaciones pueden producir secuelas neurológicas. En un estudio realizado en 120 pacientes diagnosticados por síntomas se encontró que el 32% tiene resultados en los test anormales, 22% dificultades de lenguaje y un 11% déficit de atención¹⁶⁹. Sin embargo otro estudio realizado en 20 pacientes con MCADD diagnosticados por cribado con edades de 5-29 meses encontró que todos presentaban un índice normal¹⁸². En otro trabajo en 10 pacientes afectados de MCADD diagnosticados por el cribado (con edades entre 5 meses a 4 años) mostraron desarrollo psicomotor normal y ningún episodio de descompensación al igual que en nuestro estudio¹²⁰.

No se han visto diferencias en los valores de los test neuropsicológicos entre los pacientes con MCADD diagnosticados por cribado y los diagnosticados por síntomas, aunque sí pobreza en el lenguaje y alteración en algunas funciones ejecutivas específicas en este último grupo^{121,183}.

En nuestro trabajo se les realizó una valoración neuropsicológica a pocos pacientes con FAO dado que presentaban un desarrollo psicomotor normal. Existen pocos estudios en los pacientes con FAO de cadena larga, siendo mayores en casos de MCADD y PKU^{184,185}. Sin embargo se ha publicado un estudio realizado en niños con FAO detectados por cribado en el que hasta un 54 % tenían problemas de desarrollo. El 11% presentaban un score <85 en los test de desarrollo o inteligencia, el 31% retraso del lenguaje y un 29% retraso motor¹⁸⁶. Se ha objetivado que los FAO manifiestan algunas alteraciones neuropsicológicas incluso cuando son diagnosticados y tratados precozmente, antes de la aparición de crisis metabólicas. Es preciso realizar una evaluación progresiva a todos ellos con el fin de detectar estas alteraciones.

8.3. Beneficios adicionales del cribado

8.3.1 Detección de otras enfermedades metabólicas no incluidas en el cribado debida a la alteración en alguno de los analitos

Los dos casos con aumento de metionina fueron diagnosticados de ECM de la vía de la metionina: un déficit de CBS y un déficit de MAT. La incidencia de homocistinuria por déficit de CBS en Europa es de 1/100.000 y en todo el mundo de 1/344.000. El

tratamiento precoz en la homocistinuria reduce la morbilidad significativamente, de forma que los tratados precozmente presentan un CI normal, por ello supone un beneficio al detectarlo en el cribado^{187,188}. La evolución clínica de nuestro paciente ha sido satisfactoria.

El déficit de metionina adenosiltransferasa (MAT I/III) está causado por mutaciones en el gen MAT1A. Es una enfermedad metabólica caracterizada por una hipermetioninemia sin elevación de tirosina. MAT1A se expresa solo en las células maduras del hígado. Esta enzima es la encargada de activar la metionina a S-adenosilmetionina. Se han descrito formas autosómicas recesivas, pero también existen formas dominantes¹⁸⁹. La mutación R264H (791G-A) es la predominante mostrando una herencia dominante que puede causar hipermetioninemia leve sin manifestación neurológica^{146,190,191}. Así mismo se han descrito padres con la misma mutación que se encontraban asintomáticos. Se desconoce el beneficio de intervención precoz en estos casos. Sin embargo los pacientes homocigotos o heterocigotos compuestos deben monitorizarse y pueden requerir tratamiento. Algunos pacientes presentan afectación cognitiva y alteración en la mielina o en la sustancia blanca, posiblemente relacionado con concentraciones muy altas de metionina y/o déficit de adenosilmetionina en el cerebro. Estos pacientes, especialmente los homocigotos o heterocigotos compuestos se pueden beneficiar de un tratamiento precoz. Nuestro caso presenta una mutación diferente, c.776C>T (p.Ala259Val), no precisa tratamiento y se encuentra asintomático.

Entre los casos con déficit de la oxidación de los ácidos grasos, mediante el análisis de acilcarnitinas, se ha detectado un caso de CACT y otro con MADD, aunque no están en el listado de las comprendidas en el cribado neonatal de la Comunidad de Madrid. La ventaja del diagnóstico ha sido la de poder tratar a estos pacientes con los mismos recursos humanos y técnicos.

Dentro de las acidurias orgánicas se detectó un caso con déficit de 3-metilcrotonil CoA carboxilasa (3-MCC). Este paciente se encuentra asintomático aunque no se ha podido hacer un seguimiento prolongado, dado que se fue a vivir a otro país.

El 3-MCC es un trastorno del catabolismo de la leucina. Tiene un espectro clínico variable, desde casos asintomáticos, retraso mental, cetoacidosis, hipoglucemia y síndrome Reye-like. A veces se han descrito síntomas distintos incluso dentro de la misma familia. Pueden ocurrir episodios graves de cetoacidosis durante infecciones intercurrentes. A nivel bioquímico pueden ser frecuente que tengan un déficit de carnitina secundaria. Es importante conocer bien la enfermedad así como intentar correlacionar el genotipo-fenotipo con el fin de tratar adecuadamente a los pacientes^{162,192}.

8.3.2. Detección de familiares afectos de ECM y/o portadores y consejo genético

La detección prospectiva o retrospectiva de hermanos afectos u otros miembros de la familia de los casos diagnosticados es otro efecto positivo del cribado ampliado. Además puede suponer un beneficio indirecto difícil de valorar el derivado del consejo

genético a las familias. Éste permite el diagnóstico prenatal y preimplantacional para futuros embarazos.

El cribado no solo conlleva el diagnóstico a los neonatos, también contribuye al descubrimiento de enfermedades en las madres que no habían sido sospechadas. Hemos diagnosticado 3 madres con un déficit de 3-MCC. Los recién nacidos muestran alteraciones compatibles con la enfermedad pero más tarde se normalizan debido a que son las madres las que lo padecen. Diferentes programas de cribado han encontrado resultados similares a nuestro trabajo^{22,24,26,29}.

Se han detectado un apreciable número de casos de MCC asintomáticos en recién nacidos así como en madres¹⁹³. Esto ha hecho replantearse las enfermedades incluidas en algunos programas, excluyendo de los paneles la MCC así como el SCADD en países como Alemania. Sin embargo hay que tener en cuenta que algunos presentan formas severas. Por ello es importante reevaluar los resultados y el seguimiento de los pacientes con el fin de llegar a conclusiones definitivas.

La carnitina es transferida de la placenta al feto durante la vida intrauterina. Por tanto, poco tiempo después de nacer la carnitina del niño es un reflejo de los niveles de la madre lo que conduce a un FP en el niño y un VP en la madre^{194,195}. Tras el estudio familiar se detectaron varias madres con hipocarnitinemia. De forma que niveles bajos en el niño, reflejan los niveles bajos en sus madres cuando tienen CUD.

Los valores de carnitina en recién nacidos varían en función de si están alimentados con leche de madre o con fórmula y “el estado de carnitina de las madres” durante y después del embarazo. Es conocido que durante el embarazo hay un descenso en los niveles de carnitina en plasma y algunos también han mostrado un aumento en las pérdidas urinarias de carnitina que podrían tener impacto en los niveles de carnitina de los niños alimentados con leche de madre⁸³. Esto podría explicar algunos casos con hipocarnitinemia materna transitoria postparto como hemos visto en nuestros resultados.

El espectro clínico de CUD es variable. Se han descrito madres asintomáticas^{196,197}, existiendo también casos de madres con muerte súbita por arritmias o cardiomiopatía^{87,88}. Otras mujeres refieren fatigabilidad o disminución de la resistencia, la cual parece el síntoma más común en este grupo. Estos síntomas pueden ser evidentes durante el embarazo debido a un aumento del consumo de energía, cambios en el metabolismo así como a un descenso fisiológico de la carnitina en esta situación. Esto explica que el CUD pueda manifestarse o exacerbarse en el embarazo⁸³.

Se recomienda suplementar con carnitina en adultos a pesar de que los individuos estén asintomáticos, dado que presentan riesgo de descompensación y muerte súbita como en otros FAO que se encuentran asintomáticos hasta que tienen un episodio agudo durante una infección o estrés. La dieta proporciona un 75% de los requerimientos diarios de carnitina, pero esta también puede ser sintetizada a partir de la lisina y metionina en el hígado y el riñón⁸³. Esto puede tener un papel en modular la variabilidad y gravedad de los síntomas en pacientes con CUD. Con el cribado se están diagnosticando más niños y adultos con presentaciones leves o asintomáticas

encontrando que la prevalencia de esta enfermedad es más alta de lo que se había esperado^{87,91,99,196,197}.

Se ha descrito que los heterocigotos de CUD suelen tener niveles normales o en el límite bajo en plasma, tal como hemos visto en algunas madres y niños¹⁹⁸. Se pueden encontrar niveles bajos de carnitina en otros ECM. El estudio de acilcarnitinas permite realizar el diagnóstico diferencial. Se han descrito madres afectas de una AG1 que presentaba de forma secundaria niveles bajos de carnitina, dando resultados anormales en el niño en el cribado. Otras causas posibles de hipocarnitinemia son una dieta deficiente (vegetarianas), fármacos que aumentan la eliminación de carnitina (ácido valproico) como una de las madres estudiadas, el ácido piválico o inhibidores del transporte de carnitina (verapamilo, antibióticos beta-lactámicos), malnutrición, disfunción tubular renal, prematuridad, nutrición parenteral total prolongada si no está suplementada en carnitina y otras situaciones como ayuno o infección, que aumentarían las demandas de oxidación de ácidos grasos de cadena larga dependientes de carnitina^{83,99}.

A pesar de que el déficit de vitamina B12 no es un objetivo primario del cribado ampliado, la medición de la C3 puede detectar este defecto al realizar el diagnóstico diferencial. El ser humano no es capaz de sintetizar la vitamina B12 y por ello debe introducirse mediante la dieta (especialmente de la carne, huevo, pescado y leche). La vitamina B12 interviene en el funcionamiento correcto de dos reacciones metabólicas, la metilación de homocisteína a metionina (a través de la conversión de metiltetrahidrofolato a tetrahidrofolato) y el paso de metilmalonil-CoA a succinil-CoA. La vitamina B12 transformada en cobalamina (adenosilcobalamina y metilcobalamina), actúa como cofactor de las enzimas metionina sintasa y metilmalonil-CoA mutasa respectivamente. Cuando los niveles de cobalamina son deficientes produce un acumulo de los precursores de las reacciones mencionadas afectando a la síntesis de ADN, producción y regeneración de ADN y al desarrollo del SNC¹²⁴. La clínica suele empezar entre los 6-12 meses con vómitos, letargia, temblor, movimientos anormales, retraso del crecimiento, hipotonía y regresión psicomotora¹⁹⁹. A nivel bioquímico se puede detectar un aumento de homocisteína (Hcy), ácido metilmalónico y propionilcarnitina o C3. Se ha visto que los niveles de ácido metilmalónico y Hcy son marcadores más sensibles del estado de B12 que los niveles de la vitamina en sangre en adultos y existe una relación inversa con los niveles de B12. Los niveles de ácido metilmalónico y Hcy suelen aumentar en niños deficientes de B12 antes de que desarrollen alteraciones hematológicas y neurológicas²⁰⁰.

Se han encontrado 5 casos de déficit de vitamina B12, pero solo 3 por déficit materno. La incidencia de deficiencia de vitamina B12 materna en nuestro trabajo es de 1/27.924. La incidencia reportada varía desde de 1/5.000 nacimientos¹²⁴, 1/30.000²⁰⁰ hasta 1/100.000¹²⁵. Los niños detectados en nuestro trabajo estaban asintomáticos cuando se inició el tratamiento y los marcadores bioquímicos se normalizaron posteriormente, siendo similar a otros estudios^{124,200}. Sin embargo se ha visto que aquellos diagnosticados de forma tardía presentan síntomas neurológicos como hipotonía generalizada, retraso del crecimiento, anemia o trombopenia¹⁹⁹. La detección precoz permite tratar a los pacientes antes de la aparición de los síntomas con el consiguiente beneficio para el niño. Además el diagnóstico realizado en las madres

permite el tratamiento y evita la aparición de otros síntomas. En nuestro estudio dos madres tenían gastritis atrófica y otra una gastritis por *H. pylori* lo que origina un déficit de vitamina B12 por anomalías en la absorción intestinal. Otras causas frecuentes son restricciones en la dieta de forma que las personas estrictamente vegetarianas o incluso veganas pueden tener niveles bajos de vitamina B12 y sus hijos recién nacidos muestran niveles elevados de ácido metilmalónico²⁰¹. También se han descrito casos secundarios a una anemia perniciosa no conocida previamente, una cirugía de bypass gástrico, o síndrome de intestino corto¹²⁴.

Los programas de cribado neonatal han contribuido a poner de manifiesto la profunda incidencia de déficit de cobalamina incluso en países industrializados, que sugieren que es más común de lo que se pensaba previamente y señalan que las condiciones no hereditarias son secundarias principalmente a una déficit materna^{202,203}. Se debería determinar los niveles de vitamina B12 a las embarazadas, sobre todo si realizan dietas insuficientes en B12 o tuvieran riesgo de malabsorción con el fin de realizar un tratamiento precoz en las mismas.

Este trabajo presenta ciertas limitaciones, fundamentalmente que el tiempo de estudio es corto. Dado su gran interés, sería bueno estudiar la evolución a largo plazo con el fin de mejorar los programas de cribado.

9. CONCLUSIONES

Presentamos los primeros resultados de los pacientes diagnosticados de errores congénitos del metabolismo mediante el cribado neonatal ampliado en la Comunidad de Madrid dando a conocer la incidencia de estas enfermedades y su evolución clínica.

El programa del cribado cumple su función principal, que es realizar un diagnóstico precoz de forma que permite prevenir la morbi-mortalidad y las discapacidades asociadas.

1. La especificidad del cribado es muy alta (99,92%) y la TFP es del 0,08 %. El VPP de la prueba es del 30,61%.
2. Se han diagnosticado 30 casos con ECM en el Hospital Universitario Doce de Octubre durante los dos primeros años de cribado ampliado.
3. La incidencia total de ECM (1/2.792 recién nacidos) es similar a otros programas de cribado aunque las enfermedades incluidas difieren entre las comunidades autónomas y países.
4. La incidencia de aminoacidopatías es de 1/9.308 recién nacidos vivos, de los trastornos de la oxidación de los ácidos grasos 1/5.235 y de las acidurias orgánicas 1/16.754.
5. Los ECM más frecuentes han sido los MCADD seguidos de VLCADD, con una incidencia de 1/11.967, 1/16.754 respectivamente y la AG1 cuya incidencia es de 1/20.943 y la PKU con 1/1/27.924.
6. Entre los ECM, un 20% de los casos presentaron algún síntoma o alteración analítica previa al resultado del cribado, tal es el caso de LCHADD y CACT.
7. El inicio del tratamiento es significativamente más precoz en los pacientes diagnosticados por cribado con respecto al grupo de pacientes diagnosticados en la Unidad tras presentar sintomatología.
8. En cuanto al tratamiento, el fármaco más utilizado ha sido la L-carnitina.
9. Han recibido tratamiento nutricional el 83% de los pacientes. El 60% han tomado lactancia materna sola o acompañada de una fórmula especial. Entre los ECM de los aminoácidos y ácidos orgánicos, los pacientes fenilcetonúricos toleran menos cantidad de proteínas naturales de alto valor biológico (5 g/día).
10. El tiempo máximo de ayuno en los pacientes con ECM de los ácidos grasos es < 4-6 h en los menores de 12 meses de edad y < 6-8 h de ayuno en los mayores de 12 meses. El aporte de grasas (LCT) de la dieta en los FAO de cadena larga es <10% del valor calórico total.
11. Las medidas antropométricas de los pacientes estaban dentro de lo normal al inicio del tratamiento mejorando durante el seguimiento indicando un buen control metabólico.

12. Ningún caso diagnosticado de MCADD presentó descompensación metabólica. La detección precoz del MCADD disminuye la morbimortalidad que puede evitarse con un tratamiento fácil sin grandes costes.
13. Algunos pacientes con AG1 y con FAO de cadena larga presentaron descompensaciones metabólicas. No hemos encontrado diferencias significativas en cuanto al número de descompensaciones ni a la edad de la primera descompensación entre ambos grupos.
14. El 80% de los pacientes con ECM se encontraban asintomáticos en la última visita (el 100% de las aminoacidopatías, el 81% de los FAO y el 40% de las acidurias orgánicas) con un periodo medio de seguimiento de 2,03 años (1,40-2,53).
15. Sólo han fallecido dos pacientes diagnosticados de CACT y LCHADD que presentaron síntomas en el primer día de vida.
16. Los casos con AG1 presentan peor desarrollo neurocognitivo, ya que las secuelas de las crisis dejan lesiones cerebrales irreversibles. No hemos encontrado una correlación significativa entre el valor del índice de desarrollo mental y el índice de desarrollo motor y el número de descompensaciones.
17. El cribado neonatal permite el diagnóstico precoz en los recién nacidos y los beneficios obtenidos alcanzan a la detección de enfermedades en aquellas madres no diagnosticadas previamente así como a los hermanos del recién nacido.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Dulin-Iñiguez E, Espada M, Egileor-Guturbai I. Programas de cribado neonatal. *An Pediatr Contin* 2006;4(1):61-5
2. Marín Soria JL, Aldamiz-Echevarría L, Castiñeiras Ramos DE, Dalmau Serra J, Fernández Sánchez A, González Lamuño D et al. Documento de consenso. Programas de cribado neonatal en España: Actualización y propuestas de futuro.
3. Wilson JM, Jungner G. Principle and Practice of Screening for Disease. (Public Health Paper Numer 34). Geneva: World Health Organization, 1968
4. American College of Medical Genetics Newborn Screening Expert Group. Newborn screening: Toward a uniform screening panel and system. *Genet Med* 2006;8 Suppl 1: S1-252.
5. González Lamuño D, Aldámiz-Echevarría L, Couce Pico ML. Manual clínico del cribado metabólico. 2012. ISBN 978-84-9887-869-1
6. Guthrie R, Susi A. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. *Pediatrics* 1963; 32:334-338
7. Miu Mak C, Hencher Lee HC, Yan-Wo Chan, Lam CW. Inborn errors of metabolism and expanded newborn screening: review and update. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2013;50(6):142-62
- 8 .http://www.saludmadrid.org/cs/Satellite?cid=1142620124030&language=es&pagename=PortalSalud%2FPage%2FPTSA_pintarContenidoFinal&vest=1142599649775
9. Bodamer OA, Hoffmann GF, Lindner M. Expanded newborn screening in Europe 2007. *J Inherit Metab Dis* 2007; 30:439-444
10. American College of Medical Genetics: Region 4 Collaborative Project. <http://www.region4genetics.org>
11. Region 4 Collaborative Project. www.clir-r4s.org
12. Bugard P, Cornel M, Di Filippo F, Haege G, Hoffmann GF, Lindner M et al. Report on the practices of newborn screening for rare disorders implemented in Members States of the European Union, Candidates, Potential Candidates and EFTA Countries. http://ec.europa.eu/eahc/documents/news/Report_NBS_Current_Practices_201001_08_FINALpdf
13. Therrell BI, Padilla CD, Loeber JG, Kneisser I, Saadallah A, Borrajo GJC, et al. A Current status of newborn screening worldwide:2015. *Seminars in Perinatology* 2015; 39:171-187.

14. Watson MS, Mann MY, Lloyd-Puryear A, Rinaldo P, Howell RR. Newborn Screening: Toward a Uniform Screening Panel and System-Executive Summary. *Pediatrics* 2006; 117:S296
15. Boletín Oficial del Estado (BOE) Núm. 269, Jueves 6 de noviembre de 2014 Sec. I. Pág. 91369. Orden SSI/2065/2014, de 31 de octubre, por la que se modifican los anexos I, II y III del Real Decreto 1030/2006, de 15 de septiembre, por el que se establece la cartera de servicios comunes del Sistema Nacional de Salud y el procedimiento para su actualización.
16. Programas de cribado neonatal en España. Datos actualizados a Diciembre de 2012, XIX Reunión de los centros de Cribado Neonatal. Barcelona 3 de Septiembre de 2013. Preparado por el Comité de la Calidad de AECNE. Fuente: Responsables Centros de Cribado en España. Asociación Española de Cribado Neonatal (AECNE). www.aecne.es
17. Dulín Iñiguez E, Espada Sáez-Torre M, García Silva MT. Acidemia glutárica tipo I. En: Manual de medicina perinatal. Estudio de los Errores Congénitos del Metabolismo en el Laboratorio Clínico. Directores: Varo Sánchez GM, Bobillo Lobato J, Tejedor Hernández E. Madrid. AEBM. 2014. p.141-148
18. Actualización del programa gallego para la detección precoz de enfermedades endocrinas y metabólicas en período neonatal. Resultados 2010. Xunta de Galicia. Conselleria de Sanidade. C 1933-2011.
19. Boletín oficial de la Comunidad de Madrid (BOCM 2011) 10 de Mayo de 2012. RESOLUCIÓN 2/2012, de 21 de febrero, de la Dirección General de Atención Primaria del Servicio Madrileño de Salud, por la que se constituye y establece la composición, renovación, atribuciones y funciones del Comité de Expertos asesor del cribado universal de recién nacidos para la detección, diagnóstico y tratamiento precoz de enfermedades endocrino-metabólicas congénitas en recién nacidos de la Comunidad de Madrid.
20. Boletín oficial de la Comunidad de Madrid (BOCM 2011) 31 de Mayo de 2012. RESOLUCIÓN 8/2012, de 8 de mayo, de la Dirección General de Atención Primaria, por la que se designan los miembros del Comité de Expertos Asesor del cribado universal de recién nacidos para la detección, diagnóstico y tratamiento precoz de enfermedades endocrino-metabólicas congénitas en recién nacidos de la Comunidad de Madrid.
21. Couce ML, Castiñeiras DE, Bóveda MD, Baña A, Cocho JA, Iglesias AJ. Evaluation and long-term follow-up of infants with inborn errors of metabolism identified in an expanded screening programme. *Mol Genet Metab* 2011; 104:470-475
22. Juan-Fita MJ, Egea-Mellado JM, González-Gallego I, Moya-Quiles MR, Fernández-Sánchez A. Cribado neonatal ampliado en la Región de Murcia. Experiencia de tres años. *Med Clin (Barc)* 2011.doi:10.1016/j.medcli.2011.10.007

23. Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D, Olgemöller K, Mayatepek E, Hoffmann GF. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. *Pediatrics*. 2003 Jun;111(6 Pt 1):1399-406.
24. Vilarinho L, Rocha H, Sousa C, Marcao A, Fonseca H, Bogas M et al. Four years of expanded newborn screening in Portugal with tandem mass spectrometry. *J Inherit Metab Dis* 2010 doi 10.1007/s10545-010-9048-z
25. Loukas YL, Soumelas GS, Dotsikas Y, Georgiou V, Molou E, Thodi G et al. Expanded newborn screening in Greece: 30 months of experience. *J Inherit Metab Dis* 2010; DOI 10.1007/s10545-010-9181-8
- 26 . Kasper DC, Ratschmann R, Metz TF, Mechtler TP, Möslinger D, Konstantopoulou V et al. The National Austrian Newborn Screening Program – Eight years experience with mass spectrometry. Past, present and future goals. *Wien Klin Wochenschr* 2012; 122:607-613
27. Marsden D. Expanded newborn screening by tandem mass spectrometry: the Massachusetts and New England experience. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2003;34 Suppl 3:111-4.
28. Wilcken B, Haas M, Joy P, Wiley V, Bowling F, Carpenter K, et al. Expanded Newborn Screening: Outcome in Screened and Unscreened Patients at Age 6 Years. *Pediatrics* 2009; 124:e241-249
29. Lindner M, Gramer G, Haege G, Fang-Hoffmann J, Schwab KO, Tacke U. Efficacy and outcome of expanded newborn screening for metabolic diseases – Report of 10 years from South-West Germany. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2011; 6:44
30. McHugh D, Cameron CA, Abdenur JE, Abdulrahman M, Adair O, Al Nuaimi SA et al. Clinical validation of cutoff target ranges in newborn screening of metabolic disorders by tandem mass spectrometry: a worldwide collaborative project. *Genet Med*. 2011 Mar;13(3):230-54. doi: 10.1097/GIM.0b013e31820d5e67.
31. Cocho de Juan JA, Castiñeiras Ramos DE, Bóveda Fontán MD, Colón Mejeras C, Fernández Marmiesse A, Couce Pico ML, et al. Cribado neonatal de los errores congénitos del metabolismo. En: Sanjurjo P, Baldellou A. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias. 4^o edición. Madrid. Ergon.2014. p45-68
32. Pampols T. Inherited metabolic rare diseases. En: *Rare disease epidemiology*. Adv Exp Med Biol 2010. Vol 686: 397-431.
33. Saudubray JM. Clinical approach to inborn errors of metabolism in Pediatrics. En: Saudubray, Van den Berghe, Walter (eds). *Inborn Metabolic Diseases. Diagnosis and treatment*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2012. 5th edition. p. 3-54

34. Lambruschini N, Pérez- Dueñas B, Vilaseca MA, Mas A, Artuch R, Gassio R, et al. Clinical and nutritional evaluation of phenylketonuric patients on tetrahydrobiopterin monotherapy. *Mol Genet Metab* 2005; 86Suppl 1;S54-60
35. Vockley J, Andersson HC, Antshel KM, Braverman NE, Burton BK, Frazier DM et al. Phenylalanine hydroxylase deficiency: diagnosis and management guideline. *Genet Med* 2014; 16:188-200
36. Desviat LR, Pérez B, Belanguer-Quintana A, Castro M, Aguado C, Sánchez et al. Tetrahydrobiopterin responsiveness: results of the BH4 loading test in 31 Spanish PKU patients and correlation with their genotype. *Mol Genet Metab* 2004;83 (1-2):157-62
37. Singh RH, Rohr F, Frazier D, Cunningham A, Mofidi S, Ogata B, Splett PL, Moseley K, Huntington K, Acosta PB, Vockley J, Van Calcar SC. Recommendations for the nutrition management of phenylalanine hydroxylase deficiency. *Genet Med*. 2014;16(2):121-31
38. Dalmau Serra J, Fernández Sánchez A, Sánchez-Valverde F, Vitoria Miñana I. Enfermedad de orina de jarabe de arce. En: Sanjurjo P, Baldellou A eds. *Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias*. 4º ed. Madrid; Ergon; 2014.p.531-42
39. Rodríguez-Pombo P, Navarrete R, Merinero B, Gómez-Puertas p, Ugarte M. Mutational spectrum of maple syrup urine disease in Spain. *Hum Mutat* 2006;27(7):715
40. Couce Pico ML, Castiñeiras Ramos DE, Bóveda Fontán MD, Iglesias Rodríguez AJ, Cocho de Juan JA, Fraga Bermúdez JM. Avances en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de jarabe de arce, experiencia en Galicia, *An Pediatr (Barc)* 2007;67 (4):337-43
41. Simon E, Fingerhut R, Baumkötter J, Konstantopoulou V, Ratschmann R, Wendel U. Maple syrup urine disease: Favourable effect of early diagnosis by newborn screening on the neonatal course of the disease. *J Inherit Metab Dis* 2006; 29:532-537
42. Couce ML, Dalmau J, del Toro M, Pintos-Morell G, Aldámiz-Echevarría L; Spanish Working Group on Tyrosinemia type 1. Tyrosinemia type 1 in Spain: mutational analysis, treatment and long-term outcome. *Pediatr Int*. 2011;53:985-9.
43. Couce ML, Aldámiz-Echevarría L, Baldellou A, Blasco J, Bueno MA, Dalmau J, et al. Recommendations and management of type I hereditary or hepatorenal tyrosinemia. *An Pediatr (Barc)*. 2010;73(5):279.e1-4. doi: 10.1016/j.anpedi.2010.03.005.
44. Kölker S, Garbade S, Greenberg CR, Leonard JV, Saudubray JM, Ribes A et al. Natural history, outcome, and treatment efficacy in children and adults with glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *Pediatr Res* 2006;59(6):840-7.

45. Hedlund GL, Longo N, Pasquali M. Glutaric acidemia type 1. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2006;142C(2):86-94.
46. Lindner M, Ho S, Fang-Hoffmann J, Hoffmann GF, Kölker S. Neonatal screening for glutaric aciduria type I: strategies to proceed. *J Inher Metab Dis*. 2006;29(2-3):378-82
47. Lindner M, Kölker S, Schulze A, Christensen E, Greenberg CR, Hoffmann GF. Neonatal screening for glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *J Inher Metab Dis* 2004;27(6):851-9.
48. Kölker S, Christensen E, Leonard JV, Greenberg CR, Boneh A, Burlina AB et al. Diagnosis and management of glutaric aciduria type I – revised recommendations. *J Inher Metab Dis* 2011;34:677–694 DOI 10.1007/s10545-011-9289-5
49. Busquets C, Merinero B, Christensen E, Gelpi JL, Campistol J, Pineda M et al. Glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency in Spain: evidence of two groups of patients, genetically and biochemically distinct. *Pediatr Res* 2000;48(3):315-22.
50. Goodman SI, Stein DE, Schlesinger S, et al. Glutaryl-CoA dehydrogenase mutations in glutaric acidemia (type I): review and report of thirty novel mutations. *Hum Mutat* 1998; 12:141–144.
51. Heringer J, Boy SPN, Ensenauer R et al. Use of guidelines improves the neurological outcome in glutaric aciduria type I. *Ann Neurol* 2010;68:743–752
52. Couce Pico ML, Castiñeiras Ramos DE, López Sousa M, Fernández Seara MJ, Eirís Puñal J, Cocho de Juan JA. Importancia del diagnóstico precoz y el tratamiento temprano en el pronóstico de la aciduria glutárica tipo I. *An Pediatr (Barc)*. 2008; 69(3):239-43.
53. Viau K(1), Ernst SL, Vanzo RJ, Botto LD, Pasquali M, Longo N. Glutaric acidemia type 1: outcomes before and after expanded newborn screening. *Mol Genet Metab*. 2012;106(4):430-8. doi: 10.1016/j.ymgme.2012.05.024.
54. Bijarnia S, Wiley V, Carpenter K, Christodoulou J, Ellaway CJ, Wilcken B. Glutaric aciduria type I: outcome following detection by newborn screening. *J Inher Metab Dis* 2008; 31:503-517
55. Vockley J, Ensenauer R. Isovaleric acidemia: new aspects of genetic and phenotypic heterogeneity. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2006; 142C(2):95-103.
56. Ensenauer R, Vockley J, Willard JM, Huey JC, Sass JO, Edland SD et al. A common mutation is associated with a mild, potentially asymptomatic phenotype in patients with isovaleric acidemia diagnosed by newborn screening. *Am J Hum Genet* 2004; 75(6): 1136-42.
57. Abdenur JE, Chamoles NA, Guinle AE, Schenone AB, Fuertes AN. Diagnosis of isovaleric acidemia by tandem mass spectrometry: false positive result due to

pivaloylcarnitine in a newborn screening programme. *J Inherit Metab Dis* 1998; 21(6): 624-30.

58. Dionisi-Vici C, Deodato F, Röschinger W, Rhead W, Wilcken B 'Classical' organic acidurias, propionic aciduria, methylmalonic aciduria and isovaleric aciduria: long-term outcome and effects of expanded newborn screening using tandem mass spectrometry. *J Inherit Metab Dis* 2006; 29(2-3):383-9.

59. Merinero B, Pérez-Cerdá C. Acidemia isovalérica. Alteraciones del catabolismo de leucina y valina. En: Sanjurjo P, Baldellou A eds. *Diagnóstico y tratamiento de enfermedades metabólicas hereditarias*. 4ª ed. Madrid: Ergon. 2014;555-568.

60. Vilaseca Busca MA, Ribes Rubio A, Briones Godino P, Cusi Sánchez V, Baraibar Castelló R, Gairi Taull JM. Sudden death of a patient with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A lyase deficiency] *An Esp Pediatr* 1990;32(2):149-53.

61. Pié J, López-Viñas E, Puisac B, Menao S, Pié A, Casale C et al. Molecular genetics of HMG- CoA lyase deficiency. *Mol Genet Metab* 2007; 92(3):198-209

62. Søvik O. Mitochondrial 2-methylacetoacetyl-CoA thiolase deficiency: an inborn error of isoleucine and ketone body metabolism. *J Inherit Metab Dis* 1993; 16(1):46-54.

63. Fukao T, Scriver CR, Kondo N. t2 Collaborative Working Group The clinical phenotype and outcome of mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase deficiency (beta-ketothiolase or T2 deficiency) in 26 enzymatically proved and mutation-defined patients. *Mol Genet Metab* 2001 ;72(2):109-14

64. Fukao T, Nakamura H, Nakamura K, Pérez-Cerdá C, Baldellou A, Barrionuevo CR et al. Characterization of six mutations in five Spanish patients with mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase deficiency: effects of amino acid substitutions on tertiary structure. *Mol Genet Metab* 2002; 75(3):235-43

65. Korman SH. Inborn errors of isoleucine degradation: a review. *Mol Genet Metab* 2006; 89(4):289-99

66. De las Heras J, Andrade F, Llarena M, Aldámiz-Echevarría L. Acidemias metilmalónica (AMM) y propiónica (AP). En: Sanjurjo P, Baldellou A eds. *Diagnóstico y tratamiento de enfermedades metabólicas hereditarias*. 4ª ed. Madrid: Ergon. 2014. P.543-554

67. Chace DH, DiPerna JC, Kalas TA, Johnson RW, Taylor EW. Rapid diagnosis of methylmalonic and propionic acidemias: quantitative tandem mass spectrometric análisis of propionylcarnitine in filter-paper blood specimens obtained from newborns. *Clin Chem* 2001; 47(11): 2040-4

68. Fowler B, Leonard JV, Baumgartner MR. Causes of and diagnostic approach to methylmalonic acidurias. *J Inherit Metab Dis* 2008;31:350-60

69. Merinero B, Pérez B, Pérez-Cerdá C, Rincón A, Desviat LR, Martínez MA et al. Methylmalonic acidemia: examination of genotype and biochemical data in 32

patients belonging to mut, cblA or cblB complementation group. *J Inher Metab Dis* 2008; 31(1):55-6

70. Carrillo-Carrasco N. Combined methylmalonic acidemia and homocystinuria, cblC type. I. Clinical presentations, diagnosis and management. *J Inherited Metab Dis* 2012;35:91-102

71. Carrillo-Carrasco N. Combined methylmalonic acidemia and homocystinuria, cblC type. II, Complications, pathophysiology and outcomes. *J Inherited Metab Dis* 2012;35:103-14

72. Grünert SC, Müllerleile S, De Silva L, Barth M, Walter M, Walter K, et al. Propionic acidemia: clinical course and outcome in 55 pediatric and adolescent patients. *Orphanet J Rare Dis*. 2013;8:6. doi: 10.1186/1750-1172-8-6

73. Pena L, Franks J, Chapman KA, Gropman A, Ah Mew N, Chakrapani A, et al. Is. Natural history of propionic acidemia. *Mol Genet Metab*. 2012 ;105(1):5-9

74. Baumgartner MR, Hörster F, Dionisi-Vici C, Haliloglu G, Karall D, Chapman KA, et al. Proposed guidelines for the diagnosis and management of methylmalonic and propionic acidemia. *Orphanet J Rare Dis*. 2014;9:130. doi:10.1186/s13023-014-0130-8

75. Grünert SC, Müllerleile S, de Silva L, Barth M, Walter M, Walter K, et al. Propionic acidemia: neonatal versus selective metabolic screening. *J Inher Metab Dis*. 2012;35(1):41-9

76. Sutton VR, Chapman KA, Gropman AL, MacLeod E, Stagni K, Summar ML, et al. Chronic management and health supervision of individuals with propionic acidemia. *Mol Genet Metab*. 2012;105(1):26-33

77. Couce ML, Castiñeiras DE, Moure JD, Cocho JA, Sánchez-Pintos P, García-Villoria J, et al. Relevance of expanded neonatal screening of medium-chain acyl co-a dehydrogenase deficiency: outcome of a decade in galicia (Spain). *JIMD Rep*. 2011;1:131-6. doi: 10.1007/8904_2011_28.

78. Schatz UA, Ensenauer R. The clinical manifestation of MCAD deficiency: challenges towards adulthood in the screened population. *J Inher Metab Dis*. 2010;33(5):513-20.

79. Leonard JV, Dezateux C. Newborn screening for medium chain acyl CoA dehydrogenase deficiency. *Arch Dis Child* 2009;94:235-238

80. Chace DH, Hillman SL, Van Hove JL, Naylor EW. Rapid diagnosis of MCAD deficiency: quantitatively analysis of octanoylcarnitine and other acylcarnitines in newborn blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1997; 43(11):2106-13.

81. Martínez G, Ribes A, Briones P, Rodés M, Baldellou A, Pineda M et al. Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in Spain. *J Inher Metab Dis* 1998; 21(6):693-4.

82. Nennstiel-Ratzel U, Arenz S, Maier EM, et al. Reduced incidence of severe metabolic crisis or death in children with medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency homozygous for c.985A.G identified by neonatal screening. *Mol Genet Metab* 2005;85:157–9.
83. Magoulas PL, El-Hattab AW. Systemic primary carnitine deficiency: an overview of clinical manifestations, diagnosis, and management. *Orphanet J Rare Dis* 2012; 7:68
84. Stanley CA, DeLeeuw S, Coates PM, Vianey-Liaud C, Divry P, Bonnefont JP, et al. I. Chronic cardiomyopathy and weakness or acute coma in children with a defect in carnitine uptake. *Ann Neurol* 1991;30:709-16.
85. Stanley CA. Carnitine deficiency disorders in children. *Ann NY Acad Sci* 2004;1033:42-51
86. Cederbaum SD, Koo-McCoy S, Tein I, Hsu BY, Ganguly A, Vilain E, et al. Carnitine membrane transporter deficiency: a long-term follow up and OCTN2 mutation in the first documented case of primary carnitine deficiency. *Mol Genet Metab* 2002;77:195-201
87. El-Hattab AW, Li FY, Shen J, Powell BR, Bawle EV, Adams DJ, et al. Maternal systemic primary carnitine deficiency uncovered by newborn screening: clinical, biochemical, and molecular aspects. *Genet Med* 2010;12: 19–24.
88. Chen YC, Chien YH, Chen PW, Tang N LS, Chiu PC, Hwu WL, et al. Carnitine uptake defect (Primary carnitine deficiency): risk in genotype-phenotype correlation. *Hum Mutat* 2012; DOI:10.1002/humu.22286
89. Rose EC, di San Filippo CA, Ndukwe Erlingsson UC, Ardon O, Pasquali M, Longo N. Genotype–phenotype correlation in primary carnitine deficiency. *Hum Mutat* 2012; 33:118–123.
90. Kilic M, Özgül Rk, Coşkun T, Yücel D, Karaca M, Sivri HS et al. Identification of mutations and evaluation of cardiomyopathy in Turkish patients with primary carnitine deficiency. *JIMD Reports* DOI 10.1007/8904_2011_36
91. Li FY, El-Hattab AW, Bawle EV, Boles RG, Schmitt ES, Scaglia F, Wong LJ. Molecular spectrum of SLC22A5 (OCTN2) gene mutations detected in 143 subjects evaluated for systemic carnitine deficiency. *Hum Mutat* 2010;31:E1632-E1651
92. Spiekerkoetter U. Mitochondrial fatty acid oxidation disorders: clinical presentation of long-chain fatty acid oxidation defects before and after newborn screening. *J Inher Metab Dis* 2010;33:527-32
93. Pons R, Roig M, Riudor E, Ribes A, Briones P, Ortigosa L et al. The clinical spectrum of long- chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Pediatr Neurol* 1996; 14(3):236-43.

94. den Boer ME, Wanders RJ, Morris AA, IJlst L, Heymans HS, Wijburg FA. Long-chain 3- hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency: clinical presentation and follow-up of 50 patients. *Pediatrics* 2002; 109(1):99-104.
95. Gutiérrez Junquera C, Balmaseda E, Gil E, Martínez A, Sorli M, Cuartero I et al. Acute fatty liver of pregnancy and neonatal long-chain 3-hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase (LCHAD) deficiency. *Eur J Pediatr* 2009; 168(1):103-6
96. Olpin SE, Clark S, Andresen BS, Bischoff C, Olsen RK, Gregersen N et al. Biochemical, clinical and molecular findings in LCHAD and general mitochondrial trifunctional protein deficiency. *J Inherit Metab Dis* 2005; 28(4):533-44.
97. Spiekerkoetter U, Lindner M, Santer R et al. Management and outcome in 75 individuals with long-chain fatty acid oxidation defects: results from a workshop. *J Inherit Metab Dis* 2009;32:488-97
98. Spiekerkoetter U, Lindner M, Santer R, Grotze M, Baumgartner MR, Boehles H et al. Treatment recommendations in long-chain fatty acid oxidation defects: consensus from a workshop. *J Inherit Metab Dis* 2009;32:498-505
99. Spiekerkoetter U, Sun B, Zytovicz T, Wanders R, Strauss AW, Wendel U. MS/MS-based newborn and family screening detects asymptomatic patients with very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *J Pediatr* 2003;143(3):335-42.
100. Liebig M, Schymik I, Mueller M, Wendel U, Mayatepek E, Ruitter J et al. Neonatal screening for very long-chain acyl-coA dehydrogenase deficiency: enzymatic and molecular evaluation of neonates with elevated C14:1-carnitine levels. *Pediatrics* 2006; 118(3):1065-9.
101. Boneh A, Andresen BS, Gregersen N, Ibrahim M, Tzanakos N, Peters H et al. VLCAD deficiency: pitfalls in newborn screening and confirmation of diagnosis by mutation analysis. *Mol Genet Metab* 2006; 88(2):166-70.
102. Espada M, Dulín E. Comisión errores metabólicos (SEQC). Procedimiento para la obtención y recogida de especímenes de sangre sobre papel de filtro en los programas de detección precoz neonatal de errores congénitos del metabolismo. *Química Clínica* 2001;20:81-88
103. Garg U, Dasouki M. Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry: Clinical and laboratory aspects. *Clinical Biochemistry* 2006; 39:315-32
104. Rinaldo P, Zafari S, Tortorelli S, Dietrich M. Making the case for objective performance metrics in newborn screening by tandem mass spectrometry. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2006; 12:255-61
105. Dietzen DJ, Rinaldo P, Whitley RJ, Rhead WJ, Hannon WH, Garg UC, et al. Practice Guidelines: Follow-Up Testing for Metabolic Disease Identified by Expanded newborn Screening Using Tandem Mass Spectrometry; Executive Summary. *Clin Chem* 2009; 55:1615-26

106. Kronn D, Mofidi S, Braverman N et al. Diagnostic guidelines for newborns who screen positive in newborn screening. *Genet Med* 2010; 12:S251-5
107. la Marca G, Malvagia S, Casetta B, Pasquini E, Donati MA, Zammarchi E. Progress in expanded newborn screening for metabolic conditions by LC-MS/MS in Tuscany: update on methods to reduce false tests. *J Inherit Metab Dis* 2008;31 Suppl 2:S395-404. doi: 10.1007/s10545-008-0965-z.
108. Boemer F, Schoos R, de Halleux V, Kalenga M, Debray FG. Surprising causes of C5-carnitine false positive results in newborn screening. *Mol Genet Metab.* 2014;111(1):52-4. doi: 10.1016/j.ymgme.2013.11.005.
109. Wilcken B, Wiley V, Hammond J, Carpenter K. Screening Newborns for Inborn Errors of Metabolism by Tandem Mass Spectrometry. *N Engl J Med* 2003;348:2304-2312
110. Hoffmann GF, von Kries R, Klose D, Lindner M, Schulze A, Muntau AC et al. Frequencies of inherited organic acidurias and disorders of mitochondrial fatty acid transport and oxidation in Germany. *Eur J Pediatr* 2004; 163:76-80
111. Klose DA, Kolker S, Heinrich B, et al. Incidence and short-term outcome of children with symptomatic presentation of organic acid and fatty acid oxidation disorders in Germany. *Pediatrics* 2002;110:1204–11.
112. Boneh A, Beauchamp M, Humphrey M, Watkins J, Peters H, Yapliito-Lee J. Newborn screening for glutaric aciduria type I in Victoria: treatment and outcome. *Mol Genet Metab.* 2008;94(3):287-91. doi: 10.1016/j.ymgme.2008.03.005
113. Kölker S, Garbade Sf, Boy N eta l 2007. Decline of acute encephalopathic crises in children with glurayl-CoA dehydrogenase deficiency identified by newborn screening in Germany. *Pediatr Res* 62:357-63
114. Kennedy S, Potter BK, Wilson K, Fisher L, Geraghty M, Milburn J, et al. The first three years of screening for medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MCADD) by newborn screening ontario. *BMC Pediatr* 2010;10:82 doi: 10.1186/1471-2431-10-82.
115. Horvath GA, Davidson AGF, Stockler-Ipsiroglu SG, Lillquist YP, Waters PJ, Olpin S et al. Newborn screening for MCAD deficiency. *Revue Canadienne de Santé Publique* 2008;99:276-80 (Can J Public Health)
116. Wilcken B, Haas M, Joy P, Wiley V, Chaplin M, Black C et al. Outcome of neonatal screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in Australia: a cohort study. *Lancet* 2007; 369:37-42
117. Sykut-Cegielska J, Gradowska W, Piekutowska-Abramczuk D, Andresen BS, Olsen RK, Oltarzewski M, et al. Urgent metabolic service improves survival in long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (LCHAD) deficiency detected by symptomatic identification and pilot newborn screening. *J Inherit Metab Dis* 2011;34(1):185-95. doi: 10.1007/s10545-010-9244-x.

118. Schoen EJ, Baker JC, Colby CJ, To TT. Cost-benefit analysis of universal tandem mass spectrometry for newborn screening. *Pediatrics*. 2002;110(4):781-6.
119. Cipriano LE, Rupar CA, Zaric GS. The cost-effectiveness of expanding newborn screening for up to 21 inherited metabolic disorders using tandem mass spectrometry: results from a decision-analytic model. *Value Health*. 2007;10(2):83-97.
120. Pandor A, Eastham J, Beverley C, Chilcott J and Paisley S. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of neonatal screening for inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry: a systematic review. *Health Technology Assessment* 2004;8(12):iii, 1-121
121. Pandor A, Eastham J, Chilcott J, Paisley S, Beverley C. Economics of tandem mass spectrometry screening of neonatal inherited disorders. *Int J Technol Assess Health Care* 2006; 22: 321-326
122. Hamers FF, Rumeau-Pichon C. Cost-effectiveness analysis of universal newborn screening for medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in France. *BMC Pediatrics* 2012;12:60 doi: 10.1186/1471-2431-12-60
123. Walter JH, Arguments for early screening: a clinician's perspective. *Eur J Pediatr* 2003; 162:S2-S4
124. Scolamiero E, Villani GR, Ingenito L, Pecce R, Albano L, Caterino M, et al.. Maternal vitamin B12 deficiency detected in expanded newborn screening. *Clin Biochem*. 2014 doi: 10.1016/j.clinbiochem.2014.08.020.
125. Hinton CF, Ojodu JA, Fernhoff PM, S.A. Rasmussen, K.S. Scanlon, W.H. Hannon et al. Maternal and neonatal vitamin B12 deficiency detected through expanded newborn screening - United States, 2003–2007. *J Pediatr* 2010;157:162–3.
126. M. Marble, S. Copeland, N. Khanfar, D.S. Rosenblatt. Neonatal vitamin B12 deficiency secondary to maternal subclinical pernicious anemia: identification by expanded newborn screening. *J Pediatr* 2008;152:731–733
127. Weber-Ferro W, Hertzberg C, Röder H, Timme K, Rossi R. Intact recovery from early 'acquired methylmalonic aciduria' secondary to maternal atrophic gastritis. *Acta Paediatr* 2011;100(9):e138-40
128. Garcia P, Martins E, Diogo L, Rocha H, Marcão A, Gaspar E, et al. Outcome of three cases of untreated maternal glutaric aciduria type I. *Eur J Pediatr*. 2008;167:569-73.
129. Lin HJ, Neidich JA, Salazar D, Thomas-Johnson E, Ferreira BF, Kwong AM, et al. Asymptomatic maternal combined homocystinuria and methylmalonic aciduria (cbIC) detected through low carnitine levels on newborn screening. *J Pediatr* 2009;155:924-7
130. <http://www2.cbm.uam.es/~cedem/>

131. Zytkevicz TH, Fitzgerald EF, Marsden D, Larson CA, Shih VE, Johnson DM, et al. Tandem mass spectrometric analysis for amino, organic, and fatty acid disorders in newborn dried blood spots: a two-year summary from the New England Newborn. Screening Program. *Clin Chem* 2001;47:1945-55
132. Gu X, Wang Z, Ye J, Han L, Qiu W. Newborn screening in China: phenylketonuria, congenital hypothyroidism and expanded screening. *Ann Acad Med Singapore* 2008;37:107-4
133. Yamaguchi S. Newborn screening in Japan: restructuring for the new era. *Ann Acad Med Singapore* 2008;37:13-5.
134. Frazier DM, Millington DS, McCandless SE, Koeberl DD, Weavil SD, Chaing SH et al. The tandem mass spectrometry newborn screening experience in North Carolina:1997-2005. *J Inher Metab Dis* 2006; 29:76-85
135. Oerton J, MKhalid J, Besley G, Dalton RN, Downing M, Green A, et al. Newborn screening for medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in England: prevalence, predictive value and test validity based on 1.5 million screened babies. *J Med Screen* 2011;18:173–181
136. Derks TGJ, Boer TS, van Assen A, Bos T, Ruiter J, Waterham HR et al. Neonatal screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency in The Netherlands: the importance of enzyme analysis to ascertain true MCAD deficiency. *J Inher Metab Dis* 2008;31:88-96
137. Maier EM, Pongratz J, Muntau AC, Liebl B, Nennstiel-Ratzel U, Busch U, et al. Dissection of biochemical borderline phenotypes in carriers and genetic variants of medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: implications for newborn screening [corrected]. *Clin Genet* 2009;76:179–87 26
138. Nichols MJ, Saavedra-Matiz CA, Pass KA, Caggana M. Novel mutations causing medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: under-representation of the common c.985 A.G mutation in the New York state population. *Am J Med Genet A* 2008;146A:610–19
139. la Marca G, Malvagia S, Donati MA, Morrone A, Pasquini E, Zammarchi E. Rapid diagnosis of medium chain Acyl Co-A dehydrogenase (MCAD) deficiency in a newborn by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2003;17:2688-92
140. Couce ML, Sánchez-Pintos P, Diogo L, Leão-Teles E, Martins E, Santos H, et al. Newborn screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: regional experience and high incidence of carnitine deficiency. *Orphanet J Rare Dis* 2013;8:102. doi: 10.1186/1750-1172-8-102.
141. Therrell Jr BL, Lloyd-Puryear MA, Camp KM, Mann MY. Inborn errors of metabolism identified via newborn screening: ten year incidence data and costs of nutritional interventions for research agenda planning. *Mol Genet Metab* 2014;113:14-26

142. Programas de cribado neonatal en España. Datos actualizados Diciembre 2013. XX Reunión de los centros de Cribado Neonatal, Barcelona. 28 de Noviembre 2014. Fuente: Responsables centros de cribado en España.
143. Morton DH, Bennett MJ, Seargeant LE, Nichter CA, Kelley RI. Glutaric aciduria type I: a common cause of episodic encephalopathy and spastic paralysis in the Amish of Lancaster County, Pennsylvania. *Am J Med Genet* 1991;41:89-95.
144. Haworth JC, Booth FA, Chudley AE, deGroot GW, Dilling LA, Goodman SI, et al. Phenotypic variability in glutaric aciduria type I: Report of fourteen cases in five Canadian Indian kindreds. *J Pediatr* 1991;118:52-8.
145. Greenberg CR, Prasad AN, Dilling LA, Thompson JR, Haworth JC, Martin B, et al. Outcome of the first 3-years of a DNA-based neonatal screening program for glutaric acidemia type 1 in Manitoba and northwestern Ontario, Canada. *Mol Genet Metab*. 2002;75:70-8
146. Marcao A, Couce ML, Nogueira C, Fonseca H, Ferreira F, Fraga JM, Bóveda MD, Vilarinho. Newborn screening for homocystinuria revealed a high frequency of MAT I/III deficiency in Iberian península. *JIMD Reports* 2015; DOI 10.1007/8904_2014_400
147. García-Jiménez MC, Baldellou A, García-Silva MT, Dalmau-Serran J, García-Cazorla A, Gómez-López L, Pedrón-Giner C et al. Estudio epidemiológico de las enfermedades metabólicas con homocistinurias en España. *An Pediatr (Barc)* 2012;76:133-139
148. Hagenfeldt L, Venizelos N, von Döbeln U. Clinical and biochemical presentation of long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency. *J Inherit Metab Dis* 1995;18(2):245-8.
149. Tyni T, Pihko H. Long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Acta Paediatr* 1999;88:237-45.
150. den Boer ME, Ijlst L, Wijburg FA, Oostheim W, van Werkhoven MA, van Pampus MG, Heterozygosity for the common LCHAD mutation (1528g>C) is not a major cause of HELLP syndrome and the prevalence of the mutation in the Dutch population is low. *Pediatr Res* 2000;48:151-4.
151. Rasmussen J, Nielsen OW, Janzen N, Duno M, Køber L, Steuerwald U, Lund AM. Carnitine levels in 26,462 individual from the nationwide screening program for primary carnitine deficiency in the Faroe Islands. *J Inherit Metab Dis* 2013 DOI 10.1007/s10545-013-9606-2
152. Huemer M, Kozich V, Rinaldo P, Baumgartner MR, Merinero B, Pasquini E, et al. Newborn screening for homocystinurias and methylation disorders: systematic review and proposed guidelines. *J Inherit Metab Dis* 2015;DOI 10.1007/s10545-015-9830-z
153. Lund AM, Hougaard DM, Simonsen H, Andresen BS, Christensen M, Dunø M, et al. Biochemical screening of 504,049 newborns in Denmark, the Faroe Islands

and Greenland--experience and development of a routine program for expanded newborn screening. *Mol Genet Metab.* 2012;107:281-93. doi: 10.1016/j.ymgme.2012.06.006.

154. Wilson C, Kerruish NJ, Wilcken B, Wilshire E, Bendikson K, Webster D. Diagnosis of disorders of intermediary metabolism in New Zealand before and after expanded newborn screening. *N Z Med J* 2012;125(1348):42-50

155. Olsen RK, Olpin SE, Andresen BS, Miedzybrodzka ZH, Pourfarzam M, Merinero B, et al. ETFDH mutations as a major cause of riboflavin-responsive multiple acyl-CoA dehydrogenation deficiency. *Brain* 2007;130(Pt 8):2045-54

156. Longo N. Disorders of bipterin metabolism. *J Inherit Metab Dis* 2009;32:333-342

157. Thöny B, Neuheiser F, Kierat L, Blaskovics M, Arn PH, Ferreira P, et al. Hyperphenylalaninemia with high levels of 7-biopterin is associated with mutations in the PCBD gene encoding the bifunctional protein pterin-4 α -carbinolamine dehydratase and transcriptional coactivator (DcoH). *Am J Hum Genet* 1998;62:1302-1311

158. Thöny B, Neuheiser F, Kierat L, Rolland MO, Guibaud P, Schlüter T, Germann R et al. Mutations in the pterin-4 α -carbinolamine dehydratase (PCBD) gene cause benign form of hyperphenylalaninemia. *Hum Genet* 1998;103:162-167

159. Huner G, Baykal T, Demir F, Demirkol M Breast-feeding experience in inborn errors of metabolism other than phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 2005; 28:457–465

160. Potter BK, Little J, Chakraborty P, Kronick JB, Evans J, Frei J et al. Variability in the clinical management of fatty acid oxidation disorders: results of a survey of Canadian metabolic physicians. *J Inherit Metab Dis* 2012;35:115-23

161. Kölker S, Christensen E, Leonard JV, Greenberg CR, Boneh A, Burlina A et al. Diagnosis and management of glutaric aciduria type I-revised recommendations. *J Inherit Metab Dis* 2011;34:677-694

162. Arnold GL, Salazar D, Neidich JA, Suwannarat P, Graham BH, Lichter-Konecki U, et al. Outcome of infants diagnosed with 3-methyl-crotonyl-CoA-carboxylase deficiency by newborn screening. *Mol Genet Metab.* 2012;106:439-41

163. Naughten E, Mayne PD, Monavari AA, Goodman Si, Sulaiman G, Croke DT 2004. Glutaric aciduria type I: Outcome in the Republic of Ireland. *J Inherit Metab Dis* 27:917-20.

164. Kyllerman M, Steen G. Glutaric aciduria. A "common" metabolic disorder?. *Arch Fr Pediatr* 1980;37:279

165. Christensen E, Ribes A, Merinero B, Zschocke J. Correlation of genotype and phenotype in glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *J Inherit Metab Dis* 2004; 27: 861–868.

166. Twomey EL, Naughten Er, Donoghue VB, Ryan S. Neuroimaging findings in glutaric aciduria type 1. *Pediatr Radiol* 2003;33:823-30.
167. Strauss KA, Lazovic J, Wintermark M, Morton DH. Multimodal imaging of striatal degeneration in Amish patients with glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *Brain* 2007;130:1905-20.
168. Harting I, Neumaier-Probst E, Seitz A, Maier EM, Assmann B, Baric I, et al. Dynamic changes of striatal and extrastriatal abnormalities in glutaric aciduria type I. *Brain*. 2009;132:1764-82.
169. Iafolla AK, Thompson RJ Jr, Roe CR. Medium-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency: clinical course in 120 affected children. *J Pediatr* 1994;124:409-15.
170. Laforêt P, Acquaviva-Bourdain C, Rigal O, Brivet M, Penisson-Besnier I, Chabrol B, et al. Diagnostic assessment and long-term follow-up of 13 patients with Very Long-Chain Acyl-Coenzyme A dehydrogenase (VLCAD) deficiency. *Neuromuscul Disord* 2009;19:324-9.
171. Schymik I, Liebig M, Mueller M, Wendel U, Mayatepek E, Strauss AW, et al. Pitfalls of neonatal screening for very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency using tandem mass spectrometry. *J. Pediatr* 2006;149:128–130
172. Vitoria I, Martín-Hernández E, Peña-Quintana L, Bueno M, Quijada-Fraile P, Dalmau J, et al. Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency: experience with four cases in Spain and review of the literature. *JIMD Reports* DOI 10.1007/8904_2014_382
173. Rubio-Gozalbo ME, Vos P, Forget PPh, Van der Meer SB, Wanders RJA, Waterham HR et al. Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency: case report and review of the literature. *Acta Paediatr* 2003;92:501-4
174. Rubio-Gozalbo ME, Bakker JA, Waterham HR, Wanders RJA. Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency, clinical, biochemical and genetic aspects. *Molecular Aspects of Medicine* 2004;25:521-32
175. Lam CW, Lai CK, Chow CB, et al. Ethnic-specific splicing mutation of the carnitine-acylcarnitine translocase gene in a Chinese neonate presenting with sudden unexpected death. *Chin Med J (Engl)* 2003;116:1110–2
176. Lee RS, Lam CW, Lai CK, et al. Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency in three neonates presenting with rapid deterioration and cardiac arrest. *Hong Kong Med J* 2007;13:66–8.
177. Lopriore E, Gemke RJJ, Verhoeven NM, Jakobs C, Wanders RJA, Roeleveld-Versteeg CR et al. Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency: phenotype, residual enzyme activity and outcome. *Eur J Pediatr* 2001;160:101-4

178. Wilcken B. Fatty acid oxidation disorders: outcome and long-term prognosis. *J Inherit Metab Dis* 2010;33:501-506
- 179 . Brown A, Crowe L, Beauchamp MH, Anderson V, Boneh A. Neurodevelopmental profiles of children with glutaric aciduria type I diagnosed by newborn screening: a follow-up case series. *JIMD Reports* DOI 10.1007/8904_2014_360
180. Beauchamp MH, Boneh A, Anderson V. Cognitive, behavioural and adaptive profiles of children with glutaric aciduria type I detected through newborn screening *J Inherit Metab Dis* 2009;32 Suppl 1:S207-13
181. Grunert SC, Wendel U, Lindner M, Leichsenring M, Schwab KO, Vockley J, et al. Clinical and neurocognitive outcome in symptomatic isovaleric acidemia. *Orphanet J Rare Dis* 2012;7:1–9.
182. Waisbren SE, Albers S, Amato S, Ampola M, et al. Effect of expanded newborn screening for biochemical genetic disorders on child outcomes and parental stress. *JAMA* 2003;290:2564–2572.
183. Joy P, Black C, Rocca A, Haas M, Wilcken B. Neuropsychological functioning in children with medium chain acyl coenzyme a dehydrogenase deficiency (MCADD): the impact of early diagnosis and screening on outcome. *Child Neuropsychol* 2009;15:8-20
184. Blau N, MacDonald A, van Spronsen F. There is no doubt that the early identification of PKU and prompt and continuous intervention prevents mental retardation in most patients. *Mol Genet Metab* 2011;104 Suppl:S1. doi: 10.1016/j.ymgme.2011.10.007.
185. Burgard P, Rey F, Rupp A, Abadie V, Rey J. Neuropsychologic functions of early treated patients with phenylketonuria, on and off diet: results of a cross-national and cross-sectional study. *Pediatr Res* 1997;41:368-74.
186. Waisbren SE, Landau Y, Wilson J, Vockley J. Neuropsychological outcomes in fatty acid oxidation disorders: 85 cases detected by newborn screening. *Dev Disabil Res Rev* 2013;17:260-68
187. Yap S, Rushe H, Howard PM, Naughten ER The intellectual abilities of early-treated individuals with pyridoxine-nonresponsive homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency. *J Inherit Metab Dis* 2001;24:437-47.
188. Walter JH, Wraith JE, White FJ, Bridge C, Till J. Strategies for the treatment of cystathionine beta-synthase deficiency: the experience of the Willink Biochemical Genetics Unit over the past 30 years. *Eur J Pediatr* 1998;157 Suppl 2:S71-6.
189. Barić I, Inherited disorders in the conversion of methionine to homocysteine. *J Inherit Metab Dis* 2009;32:459-71. doi: 10.1007/s10545-009-1146-4.

190. Furujo M, Kinoshita M, Nagao M, Kubo T. Methionine adenosyltransferase I/III deficiency: Neurological manifestations and relevance of S-adenosylmethionine. *Mol Genet Metab* 2012;107:253-256
191. Couce ML, Bóveda MD, Castiñeiras DE, Corrales FJ, Mora MI, Fraga JM et al. Hypermethioninaemia due to methionine adenosyltransferase I/III (MAT I/III) deficiency: diagnosis in an expanded neonatal screening programme. *J Inher Metab Dis* 2008; 31:S233-239
192. Arnold GL, Saavedra-Matiz CA, Galvin-Parton PA, Erbe R, DeVincentis E, Dronn D et al. Lack of genotype-phenotype correlations and outcome in MCAD deficiency diagnosed by newborn screening in New York State. *Mol Gene Metab* 2010;99:263-8
193. Stadler Sc, Polanetz R, Maier EM, Niederer B, Mayerhofer PU, Lagler F, et al. Newborn screening for 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency: population heterogeneity of MCCA and MCCB mutations and impact on risk assessment. *Human Mutat* 2006; 27:748-759
194. Scaglia F, Longo N. Primary and secondary alterations of neonatal carnitine metabolism. *Semin Perinatol* 1999;23:152–161.
195. Christodoulou J, Teo SH, Hammond J, Sim KG, Hsu BY, Stanley CA, Watson B, et al. First prenatal diagnosis of the carnitine transporter defect. *Am J Med Genet* 1996;66:21-24.
196. Vijay S, Patterson A, Olpin S, Henderson MJ, Clark S, Day C, et al. Carnitine transporter defect: diagnosis in asymptomatic adult women following analysis of acylcarnitines in their newborn infants. *J Inher Metab Dis* 2006;29:627-630
197. Schimmenti LA, Crombez EA, Schwahn BC. Expanded newborn screening identifies maternal primary carnitine deficiency. *Mol Genet Metab* 2007;90: 441-445.
198. Scaglia F, Wang Y, Singh RH, Dembure PP, Paquali M, Fernhoff PM, Longo N. Defective urinary transport in heterozygotes for primary carnitine deficiency. *Genet Med* 1998;1:34-39
199. Bicakci Z. Growth retardation, general hypotonia, and loss of acquired neuromotor skills in the infants of mothers with cobalamin deficiency and the possible role of succinyl-CoA and Glycine in the pathogenesis. *Medicine* 2015;94:e584 doi: 10.1097/MD.0000000000000584.
200. Sarafoglou K, Rodgers J, Hietala A, Matern D, Bentler K. Expanded newborn screening for detection of vitamin B12 deficiency. *JAMA* 2011;305:1198–12
201. Kühne T, Bubl R, Baumgartner R. Maternal vegan diet causing a serious infantile neurological disorder due to vitamin B12 deficiency. *Eur J Pediatr* 1991;150:205-8.

202. Lücke T, Korenke GC, Poggenburg I, Bentele KH, Das AM, Hartmann H. Maternal vitamin B12 deficiency: cause for neurological symptoms in infancy. *Z Geburtshilfe Neonatol* 2007; 211:157-61.

203. Campbell CD, Ganesh J, Ficicioglu C. Two newborns with nutritional vitamin B12 deficiency: challenges in newborn screening for vitamin B12 deficiency. *Haematologica* 2005;90(suppl):ecr45.