

Tamizaje de Fibrosis Quística en la población chilena. Proyecto piloto de pesquisa en recién nacidos

Screening in Cystic Fibrosis in the Chilean population. Pilot project for screening in newborns

**María Lina Boza Costagliola^{a,f}, Gabriel Lobo Sotomayor^{b,f}, Susana Valdebenito Alcaino^{b,g},
Sandra Navarro Tapia^{c,h}, Hortensia Barrientos Ibañez^{a,f}, Nicolas Johnson Garcia^{d,e},
Carmen Berrios Duran^{b,i}, Viviana Ortega Balbi^{b,j}**

^aHospital Clínico San Borja Arriarán. Santiago, Chile.

^bHospital San Juan de Dios. Santiago, Chile.

^cPontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

^dHospital Gustavo Frick. Viña del Mar, Chile.

^eUniversidad de Valparaíso. Valparaíso, Chile.

^fUniversidad de Chile. Santiago, Chile.

^gQuímico Farmacéutico.

^hEnfermera Matrona.

ⁱBioquímico.

^jTecnólogo Médico.

Recibido: 19 de enero de 2024; Aceptado: 10 de mayo de 2024

¿Qué se sabe del tema que trata este estudio?

Primer estudio chileno piloto de 7 años de tamizaje neonatal en fibrosis quística determinando Tripsinógeno Inmunorreactivo y Proteína Asociada a Pancreatitis (IRT/PAP) que es costo efectivo, con valor predictivo menor a aquellos que usan determinación genética e IRT como tercer paso.

¿Qué aporta este estudio a lo ya conocido?

Aplicando la metodología IRT/PAP e IRT x PAP se ha determinado en esta población una incidencia de 1/7.109 RN, estableciendo valores de corte y percentiles de IRT, PAP e IRT x PAP aplicables para niños chilenos que debieran ser usados a futuro. Con adecuado financiamiento estatal estaríamos en condiciones de apoyar un diagnóstico precoz de fibrosis quística con tamizaje neonatal, asegurando a la población oportuno tratamiento y mayor sobrevida.

Resumen

El tamizaje neonatal se ha implementado internacionalmente con diferentes protocolos y se ha transformado en el método de rutina en etapa preclínica. Un diagnóstico tardío se acompaña de síntomas más severos con disminución de la sobrevida y mayor gasto en tratamientos. **Objetivos:** Estimar la incidencia de fibrosis quística; evaluar el rendimiento de los algoritmos de detección Tripsinógeno Inmunorreactivo y Proteína Asociada a Pancreatitis (IRT / PAP) y el producto de IRT x PAP; analizar el valor de corte para IRT, PAP e IRT x PAP y establecer una metodología para su evaluación permanente; evaluar calidad de mediciones IRT y PAP. **Pacientes y Método:** Se implementó un protocolo de tamizaje neonatal usando el protocolo IRT/PAP más el producto de IRT X PAP en un estudio piloto de 7 años. Entre 2015 al 2021 de un total de 371.724 muestras de sangre seca de talón, obtenidas en las maternidades y las unidades de neonatología provenientes de la red pública en 17 hospitales de Región Metropolitana (RM) y 15 de Valparaíso (RV), cumplieron con los criterios de inclusión 277.245 RN. **Resultados:** con IRT/PAP más IRT x PAP la incidencia fue de 1/ 7.109 RN. Se estableció el valor de corte y percentiles para IRT, PAP, IRT x PAP. La mejor sensibilidad y especificidad obtenida por análisis ROC dio un valor de IRT de 48.142 ng/mL (percentil 98.8), PAP de 1,68 ug/L e IRT x PAP de 140ug²/L². Se evaluó el rendimiento de los algoritmos de detección IRT / PAP, el producto de IRT x PAP y la calidad de las mediciones. **Conclusión:** Los resultados permiten informar que el protocolo IRT/PAP más IRT x PAP es posible de implementar en Chile, cumpliendo indicaciones internacionales, con un adecuado financiamiento estatal.

Palabras clave:

Tamizaje Neonatal;
Incidencia;
IRT Valores de Corte y Percentiles;
Algoritmos IRT/PAP e IRT x PAP;
Fibrosis Quística

Abstract

Neonatal screening has been implemented internationally with different protocols and has become the routine method in the preclinical stage. Late diagnosis is associated with more severe symptoms with decreased survival and higher treatment costs. **Objectives:** To estimate the incidence of cystic fibrosis; to evaluate the performance of the screening algorithms Immunoreactive Trypsinogen and Pancreatitis-Associated Protein (IRT/PAP) and the IRTxPAP product; to analyze the cut-off value for IRT, PAP, and IRTxPAP, and to establish a methodology for its ongoing evaluation; finally, to evaluate the quality of IRT and PAP measurements. **Patients and Method:** a neonatal screening protocol was implemented using the IRT/PAP assays plus IRTXPAP product in a 7-year pilot study. Between 2015 and 2021, a total of 371,724 heel dried blood spot samples were collected in maternity and neonatology units from the public healthcare network in 17 hospitals in the Metropolitan Region (RM) and 15 in the Valparaíso Region (RV). 277,245 newborns met the inclusion criteria. **Results:** with IRT/PAP plus IRT x PAP the incidence was 1/7,109 NB. The cut-off value and percentiles were established for IRT, PAP, IRT x PAP. The best sensitivity and specificity obtained by ROC analysis gave an IRT value of 48,142 ng/mL (98.8th percentile), PAP of 1.68 ug/L and IRT x PAP of 140ug²/L. The performance of the IRT/PAP detection algorithms, the IRT x PAP product, and the quality of measurements were evaluated. **Conclusion:** The results allow us to report that the IRT/PAP plus IRTxPAP protocol can be implemented in Chile, complying with international guidelines, with adequate government funding.

Keywords:

Neonatal Screening;
Incidence;
IRT Cut-Off Values and Percentiles;
IRT/PAP and IRT x PAP Algorithms;
Cystic Fibrosis

Introducción

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad genética rara, hereditaria, autosómica recesiva en que la codificación de la proteína reguladora de conductancia de transmembrana (CFTR) esta reducida o ausente y como resultado se produce compromiso multisistémico fundamentalmente pulmonar y digestivo¹. Chile no cuenta con tamizaje para FQ, el diagnóstico es por sospecha clínica con una mediana de 2,3 años y de sobrevida de 27 años (2019), muy alejado de la experiencia internacional². En Estados Unidos y Europa

con excelentes registros, se diagnostica antes de los 3 meses con mediana de sobrevida actual de 47 años y en Canadá es de 53 años con acuerdo mundial sobre sus beneficios. Al año 2021 en Europa 25 países ya la tienen implementada, sumado a dos países en piloto y en Latinoamérica con 20 países, 12 tienen tamizaje para FQ con cobertura variable de recién nacidos (RN)^{3,4}. Esta patología es un problema de salud pública de importancia siendo una de las mayores fuentes de enfermedad pulmonar severa. Con el descubrimiento en 1979 de que el Tripsinógeno Inmunorreactivo (IRT) puede ser una estrategia válida para tamizaje de FQ en RN,

progresivamente se implementa en la mayoría de los países desarrollados y desde hace tres décadas se transforma en el método de rutina para el diagnóstico en etapa preclínica.

La medición de IRT como primer paso (*first tier*) es superior a otros usados previamente, como albúmina meconial o niveles de lactasa en meconio, por lo que se ha elegido para el diagnóstico en todos los protocolos actuales⁵. El valor fijado como punto de corte IRT en primera muestra es el que tiene mayor trascendencia para el funcionamiento de los programas utilizados mundialmente, sin embargo por el inconveniente de una alta tasa de falsos positivos hace necesario un segundo nivel (*second tier*) con varias alternativas como: un segundo IRT, Proteína Asociada a Pancreatitis (PAP), estudio genético, secuenciación de segunda generación (NGS) o combinaciones de ellos, lo que ha mejorado el diagnóstico, la calidad y años de vida con este trastorno potencialmente mortal^{6,7}.

No hay un solo modelo a implementar en cada país ya que puede haber muchas variables (económicas, étnicas, geográficas, metodológicas) por tanto se deben elegir aquellas posibles de realizar con buenos niveles de sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo⁸. Esta investigación utiliza como segunda línea PAP, siguiendo la experiencia de Sarles publicada el año 2005, que es una proteína ausente en los individuos sanos sintetizada en concentraciones elevadas en la sangre de los RN con FQ⁹. IRT/PAP presenta importantes ventajas ya que no requiere segunda muestra con pérdida de pacientes a la segunda citación, buena sensibilidad, no identifica portadores sanos, bajo número de diagnóstico inconcluso, implementación más sencilla, es accesible económicamente y con rendimiento similar comparada a los test genéticos¹⁰. El uso del producto IRT x PAP publicado por Wiedler y cols.¹⁰ lo propone como segundo filtro al compararlo con IRT/PAP con excelente discriminación en el valor de corte de $165 \mu\text{g}^2/\text{L}$ ^{2,11}.

El éxito de la pesquisa neonatal está dado por tres factores: primero es el desempeño analítico de las técnicas seleccionadas, que puede medirse mediante controles de calidad internos y externos para determinar la precisión y exactitud de las metodologías. segundo y muy importante, conocer el rendimiento de los algoritmos en donde es relevante evaluar la sensibilidad el valor predictivo positivo (VPP) y tercero, la calidad del método confirmatorio.

Los objetivos de este estudio son: 1. Estimar la incidencia de FQ; 2. Evaluar el rendimiento de los algoritmos de detección IRT / PAP y el producto de IRT x PAP; 3. Analizar el valor de corte para IRT, PAP e IRT x PAP y establecer una metodología para su evaluación permanente; 4. Evaluar calidad de mediciones IRT y PAP.

Pacientes y Método

Estudio prospectivo en que se aplicó determinación IRT/PAP e IRT x PAP en sangre de punción del RN procesado en Hospital San Juan de Dios, centro de referencia de tamizaje para hipotiroidismo congénito (HC) y fenilketonuria (PKU).

Reclutamiento de los RN y manejo de las muestras

En las maternidades y unidades de neonatología de la red pública, 17 hospitales de Región Metropolitana y 15 de Región de Valparaíso, previa información y firma de consentimiento informado que se concretó en el 80% de RN tamizados para HC y PKU, se obtuvo un total de 371.724 muestras de sangre. En la tarjeta Guthrie (papel filtro Grado 226 Ahlstrom), la misma que es utilizada para el diagnóstico de PKU e HC, se colocaron 5 gotas totales provenientes de la punción del RN que permitió el procesamiento de los 2 marcadores adicionales: IRT y PAP.

Criterios de inclusión

RN término ≥ 37 semanas de gestación, con sangre tomada entre las 40 a 48 horas de vida y prematuros con 36 y menores de 37 semanas de gestación con muestras tomadas a los 7 días y 15 días de nacimiento. La muestra debe ser suficiente como lo determinan las normas de tamizaje y con tiempo de traslado menor o igual a 7 días^{12,13}.

Criterios de exclusión

Clínicamente se excluyeron prematuros menores de 36 semanas, antecedentes de transfusión, sepsis, RN con genopatías, fallecidos, íleo meconial y hospitalizados. Desde el punto de vista preanalítico se excluyeron RN de 36 a 37 semanas con muestras antes de las 40 horas o tomadas después de los 7 días de vida, muestra insuficiente y adelantadas, datos incompletos e ingreso de registros erróneos. Quedaron para ser analizados una cohorte de 277.245 RN.

Estrategia de búsqueda de laboratorio

Las muestras previo análisis de IRT se almacenaron refrigeradas a 4°C y aquellas con resultados de IRT positivos a -20°C hasta realizar el ensayo de PAP.

En la primera etapa se hizo la determinación del biomarcador IRT (fluorimetría tiempo resuelto en plataforma GSP/Perkin Elmer) y se utilizaron 2 valores: valor de corte analítico $\geq 36 \text{ ng/mL}$ (percentil 95,5) y valor de corte de acción que se fijó por investigadores en $\geq 45 \text{ ng/mL}$ (percentil 98,4), basado en la experiencia comunicada por Sarles⁹. El valor de corte analítico corresponde a $< 20\%$ del valor de corte de acción, considerando el coeficiente de variación de 10%. La determinación de IRT se realizó en duplicado en la mis-

ma muestra, pero en distintas manchas de sangre para minimizar el efecto de la variabilidad volumétrica de sangre seca⁶. Para la medición de PAP se tomó el promedio de tres IRT y si el resultado era igual o superior al valor de corte de acción, se procesó PAP en la misma muestra, en duplicado con el método fluorométrico a tiempo resuelto. Los valores de corte de PAP dependen del valor de IRT y se establecieron en mayor o igual a 2,5 ug/mL para IRT entre 45 y 99,9 ng/mL y $\geq 1,6$ ug/mL para IRT ≥ 100 ng/mL en el que paralelamente se enviaron para seguridad (safety net) a confirmación diagnóstica con test del sudor^{14,15}. Al mismo tiempo de la estrategia IRT/PAP, se realizó el cálculo del producto de resultados (IRT x PAP) como segundo filtro para reforzar la predicción de la enfermedad, establecido en $165 \text{ ug}^2/\text{L}^2$ ^{11,12} (figura 1).

Los RN con resultados de IRT/PAP e IRT x PAP positivos, fueron citados por vía telefónica al centro de referencia con el fin de confirmar el diagnóstico de FQ utilizando el test del sudor (*Gold Standard*) con Iontoforesis Cuantitativa de Pilocarpina Gibson-Cooke o Clorhidrometría. El valor de cloruro en sudor normal es menor o igual a 29 meq/l al tercer día de nacido, cualquier valor entre 30 y 59 meq/l (indeterminado) deberá repetirse entre 1 a 2 meses. Valor mayor o igual a 60 meq/l es diagnóstico.

Método de captura de falso negativo

Luego de capacitación de los hospitales referentes, se dio la indicación de estar alertas para referir los pacientes con tamizaje negativo y síntomas clínicos.

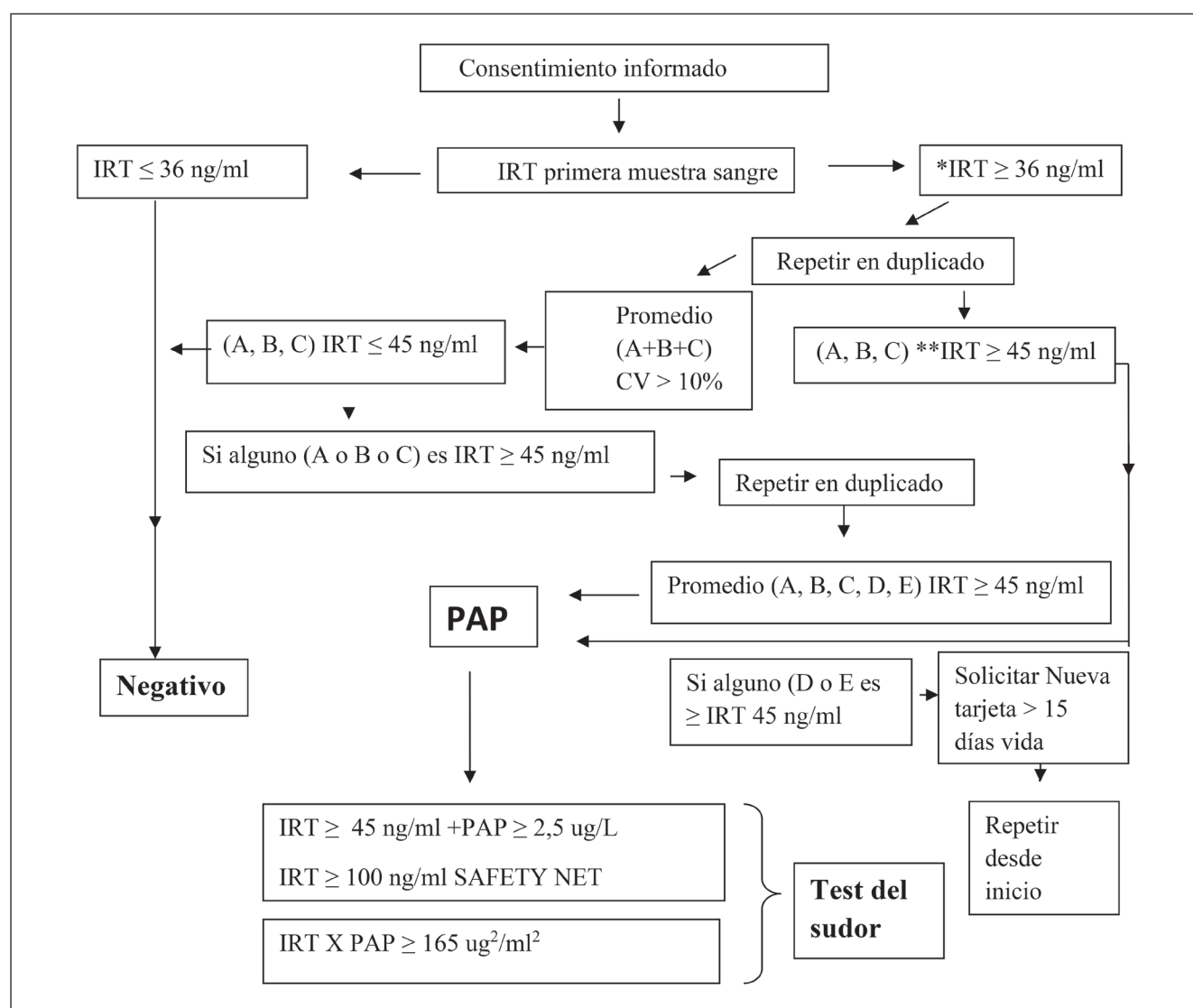


Figura 1. Estrategia global de búsqueda IRT/ PAP e IRT x PAP. IRT Tripsinógeno Inmunorreactivo; PAP: Proteína Asociada a Pancreatitis; A: determinación IRT; B: primera repetición IRT; C: segunda repetición IRT; D: tercera repetición IRT; E: cuarta repetición IRT. *Valor corte analítico. **Valor corte de acción. CV: coeficiente de variación.

Métodos estadísticos utilizados

A la base de datos Excel depurada, se aplicó software SPSS Statistics V.24 para estadística descriptiva, cálculo y comprobación de valor de corte, curvas COR, cálculo de percentiles, sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valores de p por Fisher y Xchi². Para calcular valor de corte IRT x PAP se utilizó metodología publicada en el año 2016¹¹.

Evaluación de valores de corte

Se dispuso de una base de datos suficiente para determinar nuestros propios valores de corte y percentiles. Se calculó la distribución de frecuencias de IRT y se realizaron los análisis ROC para IRT, PAP y ROC modificado IRT x PAP según propuesta de Weidler¹¹.

Control de calidad: Precisión, exactitud y validación.

1. Control de precisión: IRT y PAP.

1a. Niveles de control IRT: Dos controles de primera opinión proporcionada por el fabricante con rango entre 30 ng/mL a 110 ng/mL y un control tercera opinión CDC, (EE. UU.) entre 16,6 y 231,3 ng/mL.

2a. Niveles de control PAP: Dos sets de 3 controles analizados en duplicado entregados por el fabricante con rango entre 0,6 µg/L y 3,0 µg/L.

2. Control de exactitud: Tres Controles externos:

FBA Fundación Bioquímica Argentina con frecuencia bimestral.
CDC (EE. UU) con frecuencia trimestral QUARTER 1-2-3.
RfB (Alemania) Referenzinstitut für Bioanalytik con frecuencia cuatrimestral.

3. Validación de resultados IRT y PAP: Se utilizaron las curvas Levy-Jennings y combinación de 6 reglas Westgard¹⁷.

Resultados

En la figura 2 se objetiva como se llegó al resultado de los 38 pacientes con FQ partiendo de una población de tamizaje para HC y PKU de 465.725 en que el 80% de los padres firmaron consentimiento informado, el 75% quedaron incluidos.

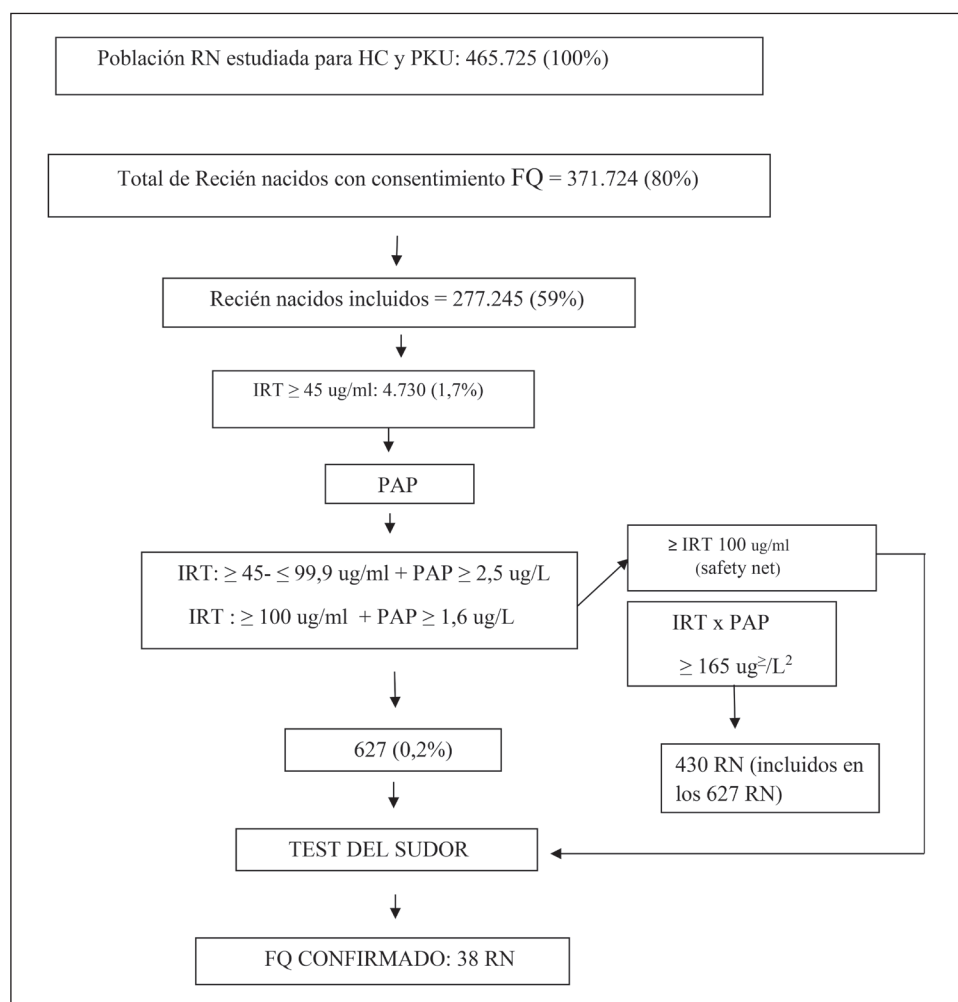


Figura 2. Algoritmo aplicado a Región Metropolitana y Valparaíso. FQ: Quística; HC: Hipotiroidismo congénito; PKU: Fenilcetonuria; IRT: Tripsinógeno inmunoreactivo; PAP: Proteína asociada a Pancreatitis; RN: Recién nacidos.

1. Incidencia: En la población global fue de 1/7.109 con diferencias entre regiones a saber Región Metropolitana 1/7.966 RN y región de Valparaíso 1/4.622 RN con un p (XChi²) no significativo de 0,01370 (99% de intervalo de confianza) (tabla 1).
2. Evaluación del rendimiento de los algoritmos: IRT / PAP e IRT x PAP combinadas y separadas engloban: sensibilidad, especificidad y VPP.
 - Concordancia: Al aplicar las 2 estrategias concordaron en detectar 35 casos. Cada estrategia no detectó en forma cruzada 1 caso, sumado a uno que se envió directo a test del sudor (safety net IRT > 100 ng/mL) dio un total de 38 casos (tabla 2).

Tabla 1. Rendimiento IRT/PAP e IRTxPAP separada por Regiones

	Región Metropolitana		Región Valparaíso	
Población RN	231.016		46.229	
Estrategia	IRT/PAP	IRTxPAP	IRT/PAP	IRTxPAP
FQ positivo	27	28	9	9
FQ negativo	230.457	230.629	46.158	46.184
Falso positivo	530	358	61	35
Falso negativo	-	-	1	1
FQ no detectado	2	1	-	-
Sensibilidad %	93,1	96,5	90,0	90,0
Especificidad%	99,8	99,8	99,9	99,9
VPP%	4,8	7,5	14,1	22,2
Incidencia	1/7.966 ¹		1/4.622 ¹	

¹p > 0,05 aproximación Normal y Fisher sin diferencias. FQ: Fibrosis Quística; IRT: Tripsinógeno inmunoreactivo; PAP: Proteína asociada a Pancreatitis; VPP: Valor Predictivo Positivo.

Tabla 2. Estrategias IRT/PAP e IRT x PAP separadas y combinadas en la población total

	Estrategias combinadas IRT/PAP + IRTx PAP	Estrategias separadas IRT/PAP IRTx PAP	
Población RN	277.245	277.245	277.245
FQ positivo	38	36	37
FQ negativo	276.839	276.615	276.813
Falso positivo	368	591	393
Falso negativo	1	1	1
FQ no detectado	-	2	1
Sensibilidad %	97,4	92,3	94,9
Especificidad%	99,8	99,8	99,8
VPP%	9,4	6,2	9,0
Incidencia	1/7.109	1/7.109	

FQ: Fibrosis Quística; IRT: Tripsinógeno Inmunoreactivo; PAP: Proteína asociada a Pancreatitis; VPP: valor predictivo positivo.

- Falso negativo: Un paciente con síntomas clínicos y tamizaje negativo se confirmó con estudio genético a los 6 meses de vida.
 - Test del sudor dudoso: En 9 RN hubo resultados de cloruro en sudor entre 30 a 59 meq/l, en 7 de ellos se confirmó FQ con genética, financiado por los padres y 2 están en seguimiento con diagnóstico inconcluso. "Cystic Fibrosis Screen Positive Inconclusive Diagnosis" (CFSPID)¹⁸.
3. Análisis de valor de corte y percentiles IRT, PAP, IRT x PAP: Al volver a calcular los valores de corte, la mejor sensibilidad y especificidad obtenida por análisis ROC dio un valor de IRT de 48.142 ng/mL (percentil 98,8), PAP de 1,68 ug/L e IRT x PAP de 140 ug²/L². La figura 3 muestra en la población estudiada los valores en percentiles y distribución de frecuencia de valores de IRT obteniéndose un valor promedio de 17,92 ng/ml. El valor de percentil 95 fue de 35,1 ng/ml y percentil 99 fue de 50,3 ng/ml.
 4. Evaluación de la calidad de mediciones IRT y PAP: Los resultados que se obtuvieron en precisión con el coeficiente de variación para IRT fue de 5% y para PAP entre 10,83 a 15,26%. Evaluación de exactitud: el promedio de error relativo de IRT fue de -10,78 (valor target -4,7 y -16,86 L) y para el PAP el promedio D/Dmax fue de -0,09.

Discusión

El tamizaje neonatal de FQ es una necesidad indudable dada la diferencia significativa en sobrevida, siendo éste el parámetro más importante y por tanto es necesario probarla, validarla e implementarla en nuestra población con diversidad étnica y variables genéticas causantes de la enfermedad¹⁹. El Ministerio de Salud a partir de 2014 financia el plan piloto para la Región Metropolitana y posteriormente la región de Valparaíso en el 50% de los RN sometidos a tamizaje para hipotiroidismo congénito (HC) y fenilketonuria (PKU) correspondientes al sector público²⁰. Esta actividad se desarrolla en el laboratorio de pesquisa neonatal del Hospital San Juan de Dios en la Región Metropolitana donde se ejecuta desde 1992 el programa de tamizaje nacional (HC) con toda la capacidad instalada y la experiencia para el mejor funcionamiento de un protocolo nuevo con control de calidad interno y externos internacionales para ambos marcadores.

Como primer objetivo en nuestros resultados se reporta una incidencia de FQ es de 1/7.109 RN, calculado en una cohorte con consentimiento informado firmado por la madre, cifra que podría cambiar al tener una evaluación de todo el país. La incidencia en Europa es

P (%)	IRT ng /mL
95	35,1
95,5	35,9
96	36,9
96,5	38,0
97	39,1
97,5	40,7
98	43,2
98,5	46,3
98,7	47,6
98,8	48,4
98,9	49,4
99	50,3
99,5	57,5
99,9	77,8

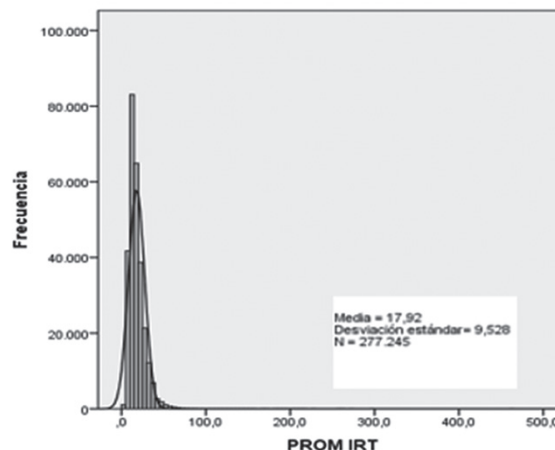


Figura 3. Percentiles y Distribución de frecuencia de Tripsinógeno inmunoreactivo (IRT).

variable desde 1/1.353 RN a 1/25.000 RN dependiendo de la ubicación geográfica y de 1/4.500 a 1/6.000 RN en Europa oriental y central-occidental respectivamente³. En Latinoamérica con falta de registros, población étnicamente mixta y escasez de programas de tamizaje se calcula entre 1/8.000 a 1/10.000 RN³.

Valores de corte de IRT y percentiles: En el año 2019 USA recomienda un valor entre el percentil 95 a 97 y en Europa el percentil 99^{21,22}. Al inicio del estudio se toma la decisión por los investigadores fijar como valor de corte de acción de IRT 45 ng/mL y al volver a calcular en la base de datos por análisis ROC, este valor resulta en 48,12 ng/mL (percentil 98,8) y 50,3 ng/mL (percentil 99) más bajos al compararnos con otros países cuyos rangos fluctúan entre 63,6 ng/mL (Sudamérica) y 94,8 ng/mL (África) probablemente se deba dado a la diversidad étnica, temperatura ambiental y metodología empleada en los países^{4,9} (tabla Suplementaria 1, *disponible versión online*).

El uso de percentiles permite compararnos internacionalmente y por tanto los investigadores proponen un valor de corte analítico para IRT en el percentil 98, de acción en el percentil 99 y valor de seguridad (safety net) en el percentil 99,9 los cuales debieran ser usados en cada ensayo y junto con valores de corte flotante²³. La calidad de las mediciones de valores de precisión y exactitud obtenidas son aceptables y confiables.

La estrategia IRT/PAP en estudios internacionales ha sido exitosa con una especificidad y sensibilidad cercana al 100% que concuerda con los resultados de este estudio con cifras de 99,8% y 97,4% respectivamente. En concordancia con publicaciones que evalúan el rendimiento de la metodología IRT/PAP e IRT

x PAP (protocolo bioquímico) el VPP está en límites bajos similar al rango publicado con valores entre 7,8% a 15,3%, lo que nos da seguridad de la metodología empleada²³.

En el año 2016 se reporta la utilidad de calcular el producto de IRT x PAP¹¹. La medición debe efectuarse siempre en relación con IRT previamente medido, lo cual mejora la sensibilidad de PAP. La utilización del producto se puede considerar una estrategia de seguridad para PAP cuando se asocia a algoritmo IRT/PAP sin embargo no se obtiene mejoría del VPP, el uso combinado de ambas estrategias favorece el aumento de la sensibilidad, lo que se corrobora en este estudio (tabla Suplementaria 2, *disponible versión online*).

Para aumentar el VPP algunos países desarrollados han incorporado un tercer nivel con análisis genético o IRT, pero el costo es muy superior. La alteración de proteínas IRT y PAP son consecuencia del daño pancreático de la enfermedad que puede ser variable, a diferencia de las variantes genéticas (mutaciones) que son la causa.

El valor de corte de IRT x PAP que obtuvimos según análisis ROC fue de 140 $\mu\text{g}^2/\text{L}^2$ menor al publicado de 165 $\mu\text{g}^2/\text{L}^2$ que pudiera deberse a que los valores de IRT en este estudio son más bajos. El aplicar esta fórmula, disminuye la angustia de los padres, economía en los costos de la confirmación y la carga asistencial del personal de salud. Se sugiere continuar con esta aplicación usando ambas metodologías IRT/PAP e IRT x PAP para eventualmente no perder pacientes como se demostró en la concordancia de este estudio.

El tamizaje neonatal FQ es de costo variable siendo la de mayor valor la que contempla estudio genético,

todos los métodos de tamizaje son costo efectivos siendo IRT/PAP el más costo efectivo en términos de caso detectado y años de vida ganados, que en nuestro caso el valor asciende a 3 dólares americanos, muy por debajo del costo al usar genética²⁴.

La evaluación de la sobrevida del tamizaje neonatal presenta dificultad dado que el seguimiento debe ser a largo plazo. La cohorte de Sídney con un seguimiento de 30 años establece diferencia entre pacientes con o sin tamizaje en sobrevida y trasplante pulmonar²⁵. Al instaurarse tamizaje en todo Chile, cada 5 años se podrá evaluar el impacto en la población.

Los resultados presentados permiten establecer la factibilidad de implementación del diseño siguiendo las sugerencias de las guías europeas del año 2018 que plantean los puntos importantes a cumplir y los elementos esenciales para que sea útil el tamizaje^{3,26}.

FQ una vez diagnosticada está incorporada desde 2007 al sistema de garantías explícitas en salud (GES), sin embargo, el tamizaje no está incluido siendo previo al diagnóstico y cabe destacar que actualmente está en estudio el apoyo financiero estatal para convertirse en una prestación gratis y obligatoria para todo RN²⁷.

Las recomendaciones para la implementación indican que debería hacerse en países con una incidencia de FQ menor que 1:25.000 usando protocolo IRT/ADN a menos que no esté disponible o no sea factible, con sensibilidad mínima del 95%, la confirmación del diagnóstica en sudor debe ser dentro de las 4 semanas de edad, tener programa de evaluación de pruebas, incluidos planes de seguimiento, actualización y además de tener disponibilidad de un completo equipo especialista en FQ⁵. Siguiendo estas recomendaciones la organización de un programa nacional deberá ser paulatino, con creación de nuevos centros de referencia entrenados en el cuidado de esta enfermedad, atención multiprofesional para el seguimiento de los pacientes, dotación de equipos para la determinación confiable de cloruro en sudor con control de calidad de medidas y procesos, herramienta fundamental para el diagnóstico y guías clínicas revisadas por especialistas que ya están publicadas^{2,28}.

Tamizaje neonatal no solo debe considerarse desde el punto de vista de sensibilidad, especificidad y costo efectividad sino como un derecho del RN. La aparición de tratamiento con moduladores cambiará muchos aspectos de la enfermedad incluyendo la sobrevida en que el diagnóstico precoz es aún más relevante^{29,30}.

Limitaciones del estudio: Este es un piloto que no abarcó a todos los RN chilenos por lo que los resultados son parciales. Un 20% de madres no firmaron documentos de consentimiento por falta comprensión idiomática o no fue presentado en el momento oportuno. Al inicio del protocolo hubo errores preanalíticos y durante estos 7 años, 49.000 muestras no se incorpora-

ron al análisis de datos. En el 1,1% hubo error en toma de muestra, 2,5 % muestras insatisfactorias, 27,1%, sangre tomada antes de 48 hrs o después de 5 días y en 69,3% más de 7 días de traslado de la tarjeta. Esto demuestra la necesidad de adiestramiento permanente para el personal de maternidad encargado que, aunque fueron mejorando en el tiempo, es todavía insuficiente y debe ser modificable con una mayor frecuencia de entrenamiento y vigilancia.

En relación a la confirmación del diagnóstico el resultado del test del sudor fue en promedio 20 días, sin embargo, los niños con muestra insuficiente de sudor (7%) demoraron en promedio 60 días para la repetición, esto puede ser modificado aumentando la frecuencia de toma del sudor que actualmente tiene una agenda restringida.

Conclusiones

Chile está en condiciones de implementar, con protección financiera estatal, tamizaje neonatal para todos los RN con los beneficios conocidos.

La incidencia de FQ global en los RN con consentimiento informado e incluidos en el estudio es de 1/7.019 que se encuentra dentro de los rangos esperados cuya cifra podría modificarse al implementar tamizaje para todo Chile.

La combinación de estrategia IRT/PAP e IRT x PAP tiene buena sensibilidad y especificidad, pero con VPP en límite bajo, descrito con esta técnica y que es posible mejorar con un tercer nivel: IRT o estudio genético. Los investigadores sugieren continuar con estas 2 aplicaciones por los buenos resultados obtenidos usando los valores de corte en percentiles para IRT analítico (percentil 98) de acción (percentil 99) y valor de seguridad (safety net) (percentil 99,9).

Responsabilidades Éticas

Protección de personas y animales: Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos: Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado: Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Financiamiento

El ministerio de salud (MINSAL) provee financiamiento al laboratorio referido a reactivos e insumos, recurso humano profesional técnico, control de calidad externo, mantención de equipos y sistema informático.

Agradecimientos

Dra. María Teresita Henríquez por su dedicación, contribución con el diagnóstico, apoyo en la confirmación y control clínico de los RN en la región Valparaíso. TM. Ximena Espinoza por su contribución en el desarrollo, aplicación de métodos, sistemas de detección y control de calidad del laboratorio de pesquisa neonatal. Ing. Eric Parra por la aplicación de métodos estadísticos y análisis de control de calidad.

Referencias

- Grasemann H, Ratjen F. Cystic Fibrosis. *N Engl J Med*. 2023;389(18):1693-707. doi: 10.1056/NEJMra2216474.
- Boza ML, Melo J, Barja S, et al. Consenso chileno para la atención integral de niños y adultos con fibrosis quística. *Rev Chil Enferm Respir*. 2020;(4):1-66. doi: 10.4067/S0717-73482020000400268E
- Bell SC, Mall MA, Gutierrez H, et al. The future of cystic fibrosis care: a global perspective. *Lancet Respir Med*. 2020;8(1):65-124. doi: 10.1016/S2213-2600(19)30337-6
- Borrajó GJC. Newborn screening in Latin America: A brief overview of the state of the art. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2021;187(3):322-8. doi: 10.1002/ajmg.c.31899.
- Pederzini F, Faraguna D, Giglio L, et al. Development of a screening system for cystic fibrosis: meconium or blood spot trypsin assay or both? *Acta Paediatr Scand*. 1990;79(10):935-42. doi:10.1111/j.1651-2227.1990.tb11355.x.
- Sommerburg O, Lindner M, Muckenthaler M, et al. Initial evaluation of a biochemical cystic fibrosis newborn screening by sequential analysis of immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein (IRT/PAP) as a strategy that does not involve DNA testing in a Northern European population. *J Inher Metab Dis*. 2010;33(Suppl 2):S263-71. doi: 10.1007/s10545-010-9174-7.
- Hammond KB, Abman SH, Sokol RJ, et al. Efficacy of statewide neonatal screening for cystic fibrosis by assay of trypsinogen concentrations. *N Engl J Med*. 1991;325(11):769-74. doi: 10.1056/NEJM199109123251104.
- Sarles J, Berthéze P, Le Louarn C, et al. Combining immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein assays, a method of newborn screening for cystic fibrosis that avoids DNA analysis. *J Pediatr*. 2005;147(3):302-5. doi: 10.1016/j.jpeds.2005.05.017.
- Scotet V, Gutierrez H, Farrell PM. Newborn Screening for CF across the Globe-Where Is It Worthwhile? *Int J Neonatal Screen*. 2020;6(1):18. doi: 10.3390/ijns6010018.
- Weidler S, Stopsack KH, Hammermann J, et al. A product of immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein as second-tier strategy in cystic fibrosis newborn screening. *J Cyst Fibros*. 2016;15(6):752-8. doi: 10.1016/j.jcf.2016.07.002.
- Norma Nacional MINSAL Fenil cetonuria e hipotiroidismo. Revisado 25 de mayo 2022 https://dipre.minsal.cl/wrdprss_minsal/wcontent/uploads/2015/10/2007
- Programa de Pesquisa Neonatal Chileno. Norma General Técnica N°93/Res. Ex. N°206 del 20/04/2007
- Vernooij-van Langen AM, Loeber JG, Elvers B, et al. CHOPIN Study Group. Novel strategies in newborn screening for cystic fibrosis: a prospective controlled study. *Thorax*. 2012;67(4):289-95. doi: 10.1136/thoraxjnl-2011-200730.
- Sommerburg O, Stahl M, Hammerling S, et al. Final results of the southwest German pilot study on cystic fibrosis newborn screening - Evaluation of an IRT/PAP protocol with IRT-dependent safety net. *J Cyst Fibros*. 2022;21(3):422-33. doi: 10.1016/j.jcf.2021.10.007.
- Zeyda M, Schanzer A, Bask P, et al. Cystic Fibrosis Newborn Screening in Austria Using PAP and the Numeric Product of PAP and IRT Concentrations as Second-Tier Parameters. *Diagnostics (Basel)*. 2021;11(2):299. doi: 10.3390/diagnostics11020299.
- Daniel W, Tholen MS, Anders Kallner MD, et al. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline-Second Edition;24(25). CLSI EP5-A2 ISBN1-56238-542-9 ISSN 0273-3099
- Sinha A, Southern KW. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-related metabolic syndrome/cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis (CRMS/CFSPID). *Breathe (Sheff)*. 2021;17(3):210088. doi: 10.1183/20734735.0088-2021.
- Lay-Son G, Puga A, Astudillo P, et al. Collaborative Group of the Chilean National Cystic Fibrosis Program. Cystic fibrosis in Chilean patients: Analysis of 36 common CFTR gene mutations. *J Cyst Fibros*. 2011;10(1):66-70. doi: 10.1016/j.jcf.2010.10.002.
- Instituto Nacional de Estadísticas (INE). Boletín de Estadísticas Vitales. Cifras provisionales 2020. https://www.inec.cl/docs/default-source/nacimientos-matrimonios-y-defunciones/publicaciones-y-anuarios/s%C3%ADntesis-anuarios-de-estad%C3%ADsticas-vitales/anuario-de-estad%C3%ADsticas-vitales-2020-s%C3%ADntesis.pdf?sfvrsn=81c6c3e3_6
- CLSI Detección de fibrosis quística en recién nacidos 2° ed. Directriz CLSI NBS05. Wayne PA Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio 2019;30.
- Sommerburg O, Hammermann J, Lindner M, et al. Five years of experience with biochemical cystic fibrosis newborn screening based on IRT/PAP in Germany. *Pediatr Pulmonol*. 2015;50(7):655-64. doi: 10.1002/ppul.23190.
- Kloosterboer M, Hoffman G, Rock M, et al. Clarification of laboratory and clinical variables that influence cystic fibrosis newborn screening with initial analysis of immunoreactive trypsinogen. *Pediatrics*. 2009;123(2):e338-46. doi: 10.1542/peds.2008-1681.
- Sommerburg O, Hammermann J. Pancreatitis-Associated Protein in Neonatal Screening for Cystic Fibrosis: Strengths and Weaknesses. *Int J Neonatal Screen*. 2020;6(2):28. doi: 10.3390/ijns6020028.
- Schmidt M, Werbruggen A, Verhaeghe N, et al. Strategies for newborn screening for cystic fibrosis: A systematic review of health economic evaluations. *J Cyst Fibros*. 2018;17(3):306-15. doi: 10.1016/j.jcf.2018.03.002.

25. Dijk FN, McKay K, Barzi F, et al. Improved survival in cystic fibrosis patients diagnosed by newborn screening compared to a historical cohort from the same centre. *Arch Dis Child*. 2011;96(12):1118-23. doi: 10.1136/archdischild-2011-300449.
26. Castellani C, Duff AJA, Bell SC, et al. ECFS best practice guidelines: S, Oxley: the 2018 revision. *J. Cyst. Fibros. Off. J. Eur. Cyst. Fibros. Soc*. 2018;17:153-78. doi: 10.1016/j.jcf.2018.02.006.
27. Garantias Explicitas de Salud. Fibrosis Quística, 51 <https://auge.minsal.cl/problemasdesalud/index/51>
28. Cirilli N, Southern KW, Buzzetti R, et al. ECFS Diagnostic Network Working Group. Real life practice of sweat testing in Europe. *J Cyst Fibros*. 2017;S1569-1993(17)30881-0. doi: 10.1016/j.jcf.2017.09.002.
29. Wang Y, Ma B, Li W, et al. Efficacy and Safety of Triple Combination Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Modulators in Patients With Cystic Fibrosis: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Front Pharmacol*. 2022;13:863280. doi: 10.3389/fphar.2022.863280.
30. Li Q, Liu S, Ma X, et al. Effectiveness and Safety of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Modulators in Children With Cystic Fibrosis: A Meta-Analysis. *Front Pediatr*. 2022;10:937250. doi: 10.3389/fped.2022.937250.