

# Cribatge neonatal per a la detecció precoç d'hemoglobinopaties

Francesc Bastida<sup>1</sup>, Eduard Bastida<sup>2</sup>, Jordi Arenas<sup>1</sup>, Carlos Esporrín<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servei de Pediatria. Hospital Santa Caterina-IAS. Girona

<sup>2</sup> Servei de Pediatria. Complex hospitalari San Millán-San Pedro. Logroño (la Rioja)

## RESUM

**Objectiu.** Determinar la incidència d'hemoglobinopaties en la població que és natural de zones considerades d'alta prevalença, amb l'elaboració d'un arbre genealògic dels nounats afectats. Determinar la necessitat de fer un cribatge neonatal universal.

**Mètode.** Electroforesi en gel d'agarosa, en medi alcalí, de sang obtinguda de cordó umbilical de tots els nadons nascuts al nostre hospital, els pares dels quals vinguin de zones considerades de risc (subsaharians, magribins, sud-americans i asiàtics). En cas que el cribatge resulti positiu, efectuarem un estudi electroforètic a tota la família.

**Resultats.** De 472 nadons valorats, s'han detectat 32 casos d'hemoglobinopaties (6.78%), 27 dels quals eren heterozigots i 5 homozigots o doble heterozigots. Després de l'estudi familiar, el nombre de diagnosticats ha estat de 87 heterozigots i 6 homozigots o doble heterozigots.

**Conclusions.** L'electroforesi d'hemoglobines en gel d'agarosa en medi alcalí és un bon mètode de cribatge neonatal, i la tècnica està a l'abast de tots els hospitals. La incidència de les hemoglobinopaties detectades i les repercussions mèdiques que tenen expliquen la necessitat del cribatge. Hem de valorar fer universal el cribatge en el futur.

**Paraules clau:** Hemoglobinopaties. Cribatge neonatal. Electroforesi d'hemoglobines.

## CRIBADO NEONATAL PARA DETECCIÓN PRECOZ DE HEMOGLOBINOPATÍAS

**Objetivo.** Determinar la incidencia de hemoglobinopatías en aquella población que es natural de zonas consideradas de alta prevalencia, con elaboración de árbol genealógico

*Treball presentat parcialment a la XIII Reunió Anual de la Societat Catalana de Pediatria (Platja d'Aro, 10 i 11 de juny de 2005).*

### Correspondència:

Francesc Bastida Fenoy  
Servei de Pediatria  
Hospital Santa Caterina  
Dr. Castany s/n. 17196 Salt  
consulta@fbastida.com

*Treball rebut: 25-10-2005. Treball acceptat: 19-06-2006.*

Bastida F, Bastida E, Arenas J, Esporrín C.  
**Cribatge neonatal per a la detecció precoç d'hemoglobinopaties.**  
*Pediatr Catalana* 2006; 66: 226-229.

de los neonatos afectados. Determinar la necesidad de realizar un cribado neonatal universal.

**Método.** Electroforesis en gel de agarosa, en medio alcalino, de sangre obtenida de cordón umbilical en todo recién nacido en nuestro hospital, cuyos padres provienen de zonas consideradas de riesgo (subsaharianos, magrebíes, sudamericanos, asiáticos). En caso de positividad del cribado, efectuamos estudio electroforético a toda la familia.

**Resultados.** De 472 recién nacidos valorados, se han detectado 32 casos de hemoglobinopatías (6.78%), 27 de los cuales eran heterocigotos y 5 homocigotos o doble heterocigotos. Tras el estudio familiar, el número de diagnosticados ha sido de 87 heterocigotos y 6 homocigotos o doble heterocigotos.

**Conclusiones.** La electroforesis de hemoglobinas en gel de agarosa en medio alcalino es un buen método de cribado neonatal, y la técnica está al alcance de todos los hospitales. La incidencia de las hemoglobinopatías detectadas y sus repercusiones médicas explican la necesidad del cribado. Hemos de valorar con el tiempo hacer universal el cribado.

**Palabras clave:** Hemoglobinopatías. Cribado neonatal. Electroforesis de hemoglobinas.

## NEONATAL SCREENING FOR EARLY DETECTION OF HEMOGLOBINOPATHIES

**Objective.** To determine the incidence of haemoglobinopathies among immigrant population from endemic areas, to elaborate a genealogical tree of the affected newborns, and to determine the need for the implementation of a universal neonatal screening.

**Methodology.** Agarose gel electrophoresis in alkaline media of umbilical blood samples obtained from all newborns whose parents emigrated from endemic areas (Subsaharian and North Africa, South America, and Asia). In cases of positive screening, an electrophoresis study of all family members was performed.

**Results.** 472 newborns were evaluated, and 32 cases (6.8%) of haemoglobinopathy were detected (27 homozygous, 5 heterozygous of double heterozygous). After the families were studied, 87 heterozygous and 6 homozygous or double heterozygous were detected.

**Conclusion.** Hemoglobin agarose gel electrophoresis is a good neonatal screening method, which can be easily implemented in most hospitals. The detected incidence and the potential impact of an early diagnosis suggest that universal screening is needed.

**Key words:** Haemoglobinopathies. Neonatal screening. Haemoglobin electrophoresis.

## Introducció

Les hemoglobinopaties, i en especial la drepanocitosi, són malalties que veiem cada cop amb més freqüència, tant a la nostra comunitat com a tot Europa<sup>1-4</sup>, com a conseqüència directa dels moviments migratoris.

El nostre hospital presenta una alta incidència de nounats fills de pares procedents de zones de gran prevalença d'hemoglobinopaties (Taula I).

Des de fa quatre anys, al nostre hospital efectuem el cribatge neonatal d'hemoglobinopaties als nadons fills de pares de zones considerades d'alta prevalença d'hemoglobinopaties, amb l'objectiu de valorar la incidència d'hemoglobinopaties en aquests nounats, així com estudiar els familiars dels casos positius, per tal de poder iniciar un tractament precoç (prevenció d'infeccions, utilització de vacunes per a patògens encapsulats...) i un consell genètic.

El cost material i humà de les possibles seqüeles demostra l'efectivitat dels programes de cribatge<sup>5-6</sup>.

TAULA I

### Nounats anuals a l'hospital Santa Caterina

Hospital Santa Caterina	2002		2003		2004	
Totals	699		832		991	
Magribins	93	13.3%	130	15.63%	185	18.67%
Subsaharians	73	10.44%	107	12.86%	122	12.31%
Sud-americans	22	3.15%	23	2.76%	38	3.83%
Asiàtics	7	1.00%	6	0.72%	14	1.41%

## Material i mètodes

### Subjectes

Hem efectuat electroforesi a tots els nadons els pares dels quals, o al menys un d'ells, eren naturals de zones considerades d'alta prevalença (subsaharians, magribins, sud-americans i asiàtics) (Taula II).

TAULA II

### Percentatge de la mostra

Ètnia	Nombre de casos	Percentatge
Magribins	237	50.21%
Subsaharians	152	32.20%
Sud-americans	66	13.98%
Asiàtics	7	3.60%

## Mostra

Recollim en un tub d'hematologia 1 ml de sang obtinguda del cordó umbilical en la mateixa sala de parts. S'emmagatzema amb anticoagulant (EDTA) a una temperatura d'entre 2 °C i 8 °C. Centrifuguem la mostra, a 5.000 rpm, durant 5 minuts, descartant el plasma. Un cop obtingut el sediment amb les hematies, i després de dos rentats amb solució salina, s'efectua la separació electroforètica.

## Procediment i anàlisi

Fem l'electroforesi en medi alcalí (pH 8.5) en suport de gel d'agarosa sotmetent la mostra a l'acció d'un camp elèctric. En cas de resultat dubtós o poc definit efectuem també la determinació en medi àcid, que permet una separació de bandes que ens facilitarà la valoració diagnòstica (Fig. 1).

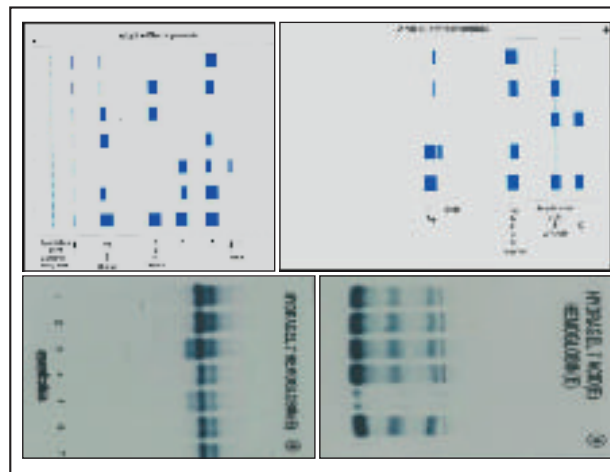


Fig. 1. Electroforesi en gel d'agarosa en medi alcalí i àcid.

## Seguiment dels casos

En tots els casos, positius o dubtosos, efectuem una nova determinació d'electroforesi passats els 6 mesos d'edat, per confirmar el diagnòstic i valorar la concentració de les diverses hemoglobines després del descens fisiològic de l'hemoglobina F.

## Resultats

De les 472 determinacions electroforètiques efectuades, en 32 casos es va determinar com a patològica, amb 27 heterozigots i 5 homozigots o doble heterozigots (Taula III i IV).

En efectuar l'arbre genealògic, en 7 dels casos estaven afectats tots dos pares i en els 25 restants, només un. Així mateix, es va detectar hemoglobina patològica en 22 germans (tots els germans eren

heterozigots). Només en un dels pares es va trobar una afectació doble heterozigota.

Per tant, de les 472 determinacions, s'han arribat a diagnosticar 87 heterozigots i 6 homozigots o doble heterozigots.

TAULA III

## Resultats de les electroforesis efectuades

Determinacions: .....		472	
Casos positius neonatals	32	Heterozigots	27
		Homozigots o doble heterozigots	5
Estudi familiar	Pares	Heterozigots	38
		Doble heterozigots	1
	Germans	Heterozigots	22

TAULA IV

## Hemoglobinopaties trobades

Determinacions: .....		472
Nounats	Heterozigots	27 HbAS
	Homozigots	2 HbSS
	Doble heterozigots	2 HbSC 1 HbSβ
Pares	Heterozigots	36 HbAS 2 HbAβ
		Doble heterozigots
	Germans	Heterozigots
HbAS (tret drepanocític); HbSS (drepanocitosi); HbSC (doble heterozigot S i C); HbSβ (tret drepanocític i betatalassèmia); HbAb (betatalassèmia)		

## Discussió

A l'inici, les primeres determinacions electroforètiques es processaven en suport de gel de cel·lulosa (Fig. 2), on la valoració de la migració de bandes electroforètiques era difícil d'interpretar, fet que donava un baix valor predictiu per la baixa sensibilitat, i estem segurs que poden haver-se produït falsos negatius, sobretot en cas d'heterozigots. Amb el canvi de tècnica sobre gel d'agarosa, amb una interpretació molt més fàcil, i quedant ben determinada en medi alcalí la separació electroforètica de les diverses bandes d'hemoglobina, ha augmentat la sensibilitat, així com el valor predictiu de les determinacions. El sistema utilitzat permet obtenir un gràfic de les diverses fraccions, amb una fàcil interpretació (Fig. 3).

Els mètodes de determinació més sofisticats<sup>7-8</sup>, com els mètodes de cromatografia líquida d'alta resolució (HPLC), requereixen una especialització i una inversió més altes, motiu pel qual no estan a l'abast de tots els laboratoris.

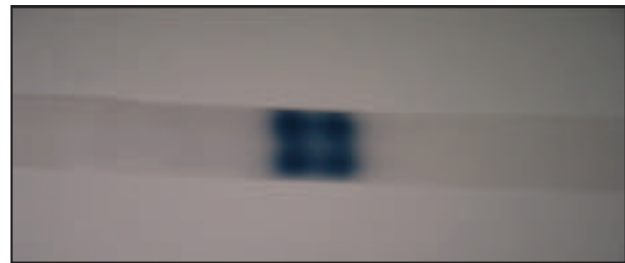


Fig. 2. Electroforesi en gel de cel·lulosa.

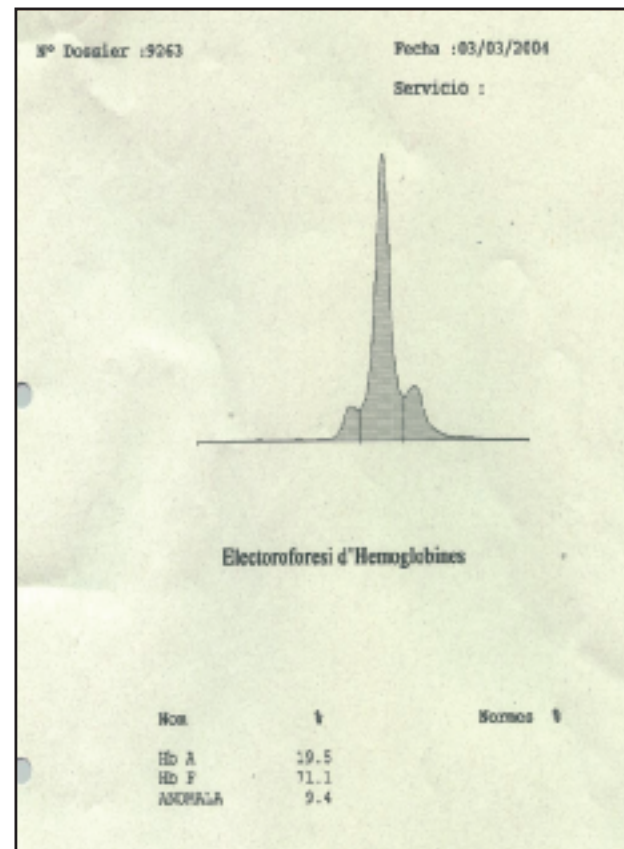


Fig. 3. Representació gràfica del percentatge d'hemoglobines.

En un primer moment ens havíem plantejat efectuar l'estudi únicament en la població subsahariana, ja que hi esperàvem trobar més incidència (tal com ha passat). No obstant això, de les 32 famílies estudiades, dues corresponen a ètnia magribina (tots dos casos betatalassèmia heterozigota) i una a família sud-americana (hemoglobina S heterozigota).

Una dada que cal tenir en compte és el grau de consanguinitat que vam obtenir: del 28.27% per a l'ètnia magribina i del 33.55% entre els subsaharians. En la resta de poblacions estudiades no existien casos de consanguinitat entre els pares.

A mesura que van passant les generacions, el percentatge de mestissatge va en augment. En el nostre cas el mestissatge és escàs en referir-nos a les ètnies magribines i subsaharianes (el 3.38% de casos entre els magribins, en tots els casos la mare era europea, i l'1.97% entre els subsaharians), però aquesta incidència augmentava en els casos dels asiàtics (5.88%) i els sud-americans (31.82%).

Totes aquestes dades són referides a la població de la zona d'influència del nostre centre hospitalari (Selva interior i part del Gironès), però no varia gaire de la resta de poblacions d'altres zones<sup>9</sup>. Creiem que seria convenient poder centralitzar els resultats dels diversos cribatges, per poder conèixer la veritable incidència d'aquestes patologies.

En conclusió, és necessari efectuar un cribatge d'hemoglobinopaties<sup>10-11</sup> i iniciar-lo sobretot a les zones en què hi hagi un percentatge elevat d'immigrants de zones d'alta incidència<sup>2,9</sup>. Per efectuar el cribatge no cal disposar d'alta tecnologia; les tecnologies més sofisticades s'han de reservar per estudiar els casos patològics. La situació actual es beneficiaria d'un registre centralitzat, per poder valorar millor la veritable incidència de les hemoglobinopaties en l'actualitat. Amb el temps, caldrà universalitzar el cribatge d'hemoglobinopaties<sup>12-13</sup>, ja que la convivència de les diverses ètnies comportarà a la llarga una barreja, amb més incidència d'hemoglobinopaties i les diverses variants.

## Bibliografia

- 1 Almeida AM, Henthorn JS, Davies SC. Neonatal screening for haemoglobinopathies: the results of a 10-year programme in an English Health Region. *Br J Haematol* 2001; 112: 32-35.
- 2 Bardakjian J, Benkerrou M, Bernaudin F, Briard ML, Ducrocq R, Lambilliotte A et al. Travail du Groupe sur le depistage neonatal de la drepanocytose. Neonatal screening of sickle cell anemia in metropolitan France. *Arch Pediatr* 2000; 7: 1261-1263.
- 3 Gulbis B, Cotton F, Hansen V, Ferster A, Toppet M, Cochaux P et al. Prevention of hemoglobinopathies in Brussels: a necessity? *Rev Med Brux* 2001; 22: 133-140.
- 4 Peres MJ, Carreiro MH, Machado MC, Seixas T, Picanco I et al. Neonatal screening of hemoglobinopathies in a population residing in Portugal. *Acta Med Port* 1996; 9: 135-139.
- 5 Gessner BD, Teutsh SM, Shafer PA. A cost-effectiveness evaluation of newborn hemoglobinopathy screening from the perspective of stste health care systems. *Early Hum Dev* 1996; 45: 257-275.
- 6 Cronin EK, Normand C, Henthorn JS, Hickman M, Davies SC. Costing modelo for neonatal screening and diagnosis of hemoglobinopathies. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1998; 79: 161-167.
- 7 Daniel YA, Turner C, Haynes RM, Hunt BJ, Dalton RN. Rapid and specific detection of clinically significant haemoglobinopathies using electrospray mass spectrometry-mass spectrometry. *Br J Haematol* 2005; 130: 635-643.
- 8 Gilbert-Barness EF, Kenison KS, Shrago E, Spennetta TL, Giulian GG. Comparison of an isoelectric focusing technique and high-performance liquid chromatography for determination of fetal hemoglobin levels. *Am J Clin Pathol* 1991; 96: 109-110.
- 9 Cabot A, Casado M, Barberán J, Roqueta M, Martorell Q, Bosch A, Rovira JM. Screening neonatal de drepanocytosis en el Consorci Sanitari de Mataró. Justificación y primeros resultados. *An Esp Pediatr* 1998; 49: 157-160.
- 10 Dulín E, Cantalejo MA, Cela ME, Galarón P. Detección precoz neonatal de anemia falciforme y otras hemoglobinopaties en la comunidad autónoma de Madrid. Estudio piloto. *An Pediatr* 2003; 58: 146-155.
- 11 Bergman AB. Is universal neonatal hemoglobinopathy screening costeffective? (letter). *Arch Pediatr Adolesc Med* 1995; 149: 466.
- 12 Shafer FE, Lorey F, Cunningham GC, Klumpp C, Vichinsky E, Lubin B. Newborn screening for sickle cell disease: 4 years of experience from California's newborn screening program. *J Pediatric Hematol Oncol* 1996; 18: 36-41.
- 13 Gulbis B, Cotton F, Hansen V, Ferster A, Toppet M, Cochaux P, et al. Prevention of hemoglobinopathies in Brussels: A necessity? *Rev Med Brux* 2001; 22: 133-140.